

**BIOLOGI
MOLEKULER**

**STIKES NOTOKUSUMO
YOGYAKARTA**



**POST
TRANSKRIPSI
DAN
TRANSLASI**

**PERTEMUAN 5
7 OKTOBER 2024**

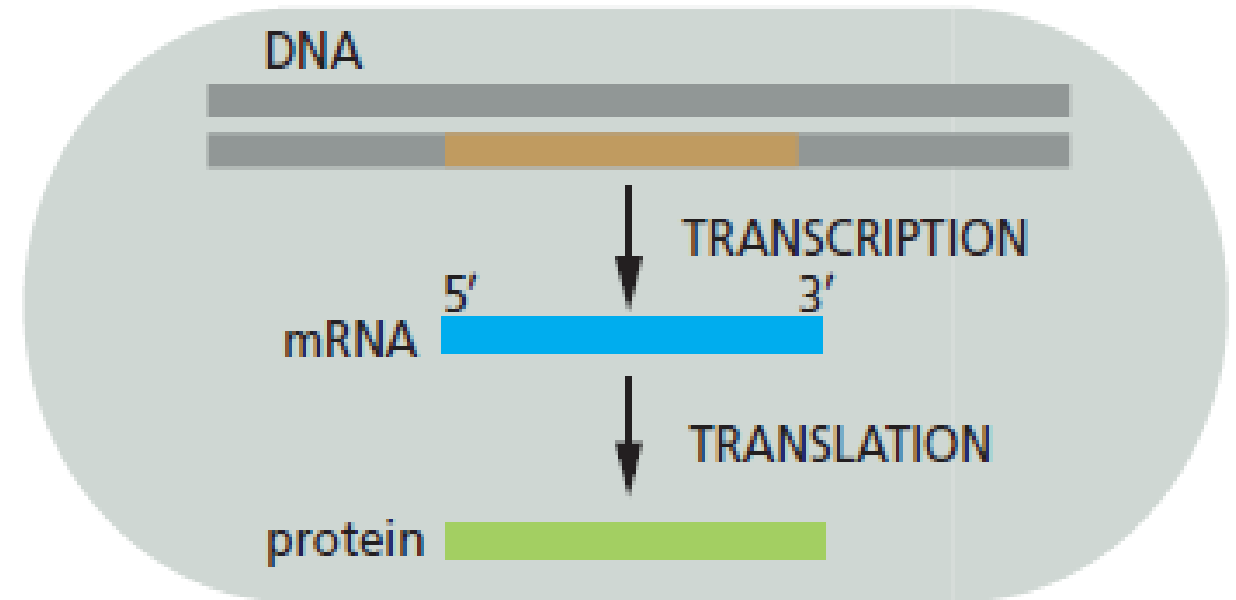
apt. Desi Novita Revianawati., M.Farm

Pada prokariot proses transkripsi dan translasi berlangsung hampir secara serentak

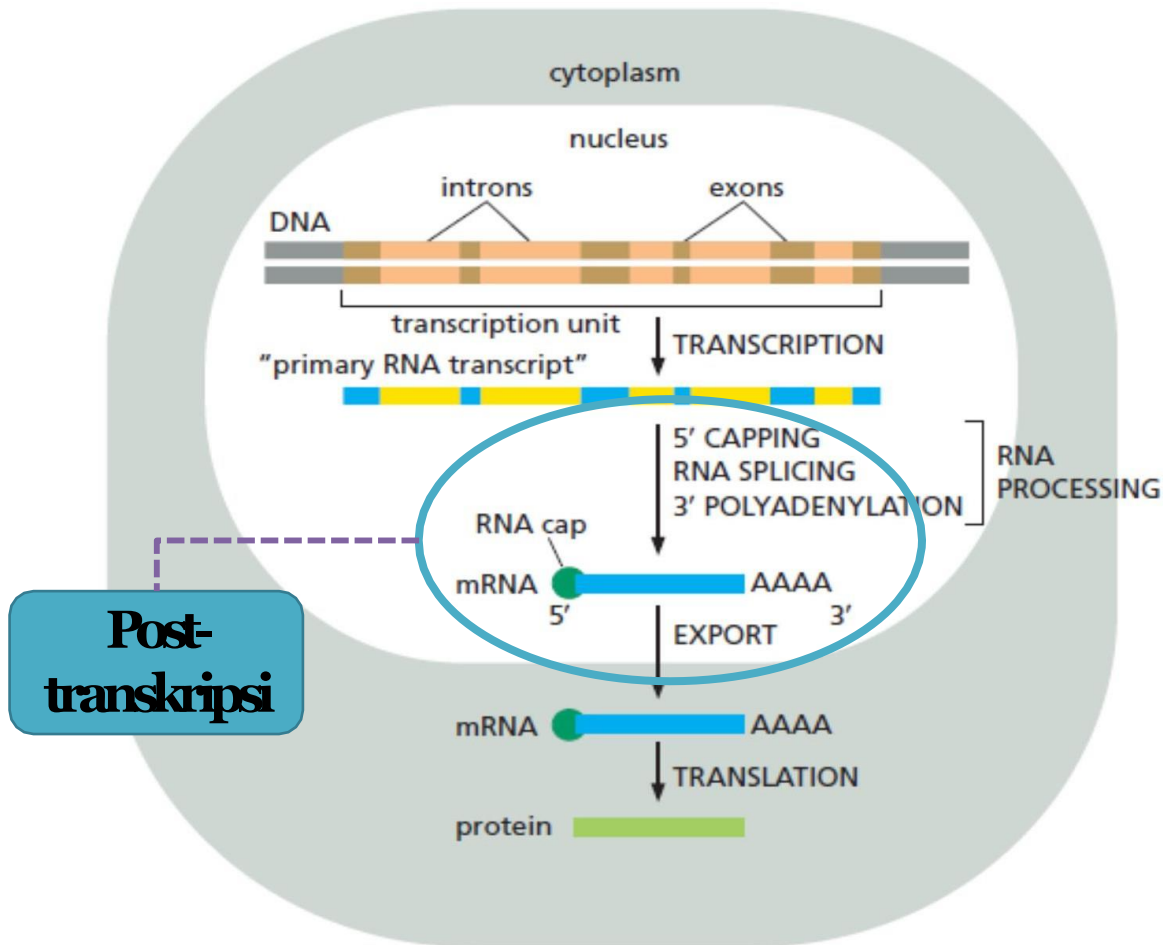
Sebelum transkripsi selesai dilakukan, translasi sudah dapat dimulai

Hal ini dikarenakan pada prokariot tidak ada hambatan struktural sel karena semua komponen transkripsi dan translasi terletak pada ruangan sitoplasma yang sama

PROKARYOTES



(A) EUKARYOTES



Pada eukariot transkripsi berlangsung di dalam nukleus sedangkan translasi baru dapat berlangsung di dalam sitoplasma.

Translasi baru dapat berjalan jika proses transkripsi sudah selesai

Jeda waktu dari proses transkripsi ke proses translasi ini disebut dengan fase Post-Transkripsi.

Fase post – transkripsi terdiri atas : capping mRNA, Pemotongan dan penyambungan RNA, poliadenilasi

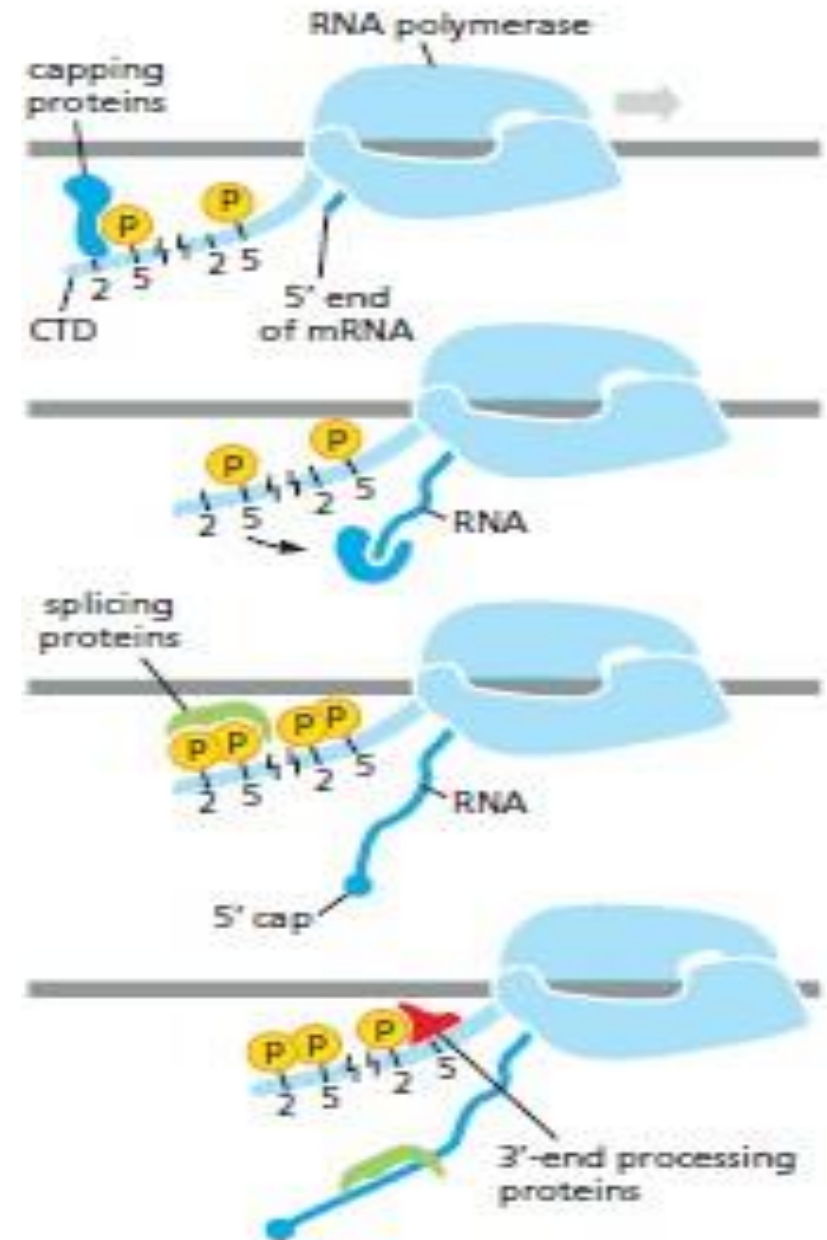
CAPPING mRNA

mRNA pada eukariot mengalami metilasi pada ujung 5' mRNA → tudung mRNA (mRNA cap).

Tahapan :

1. Enzim **RNA Trifosfatase** memotong gugus fosfat pada ujung pre-mRNA
2. Enzim **guanil transferase** (guanosin monofosfat) menambahkan GMP
3. Enzim **metil transferase** melakukan metilasi tudung guanosin pada N7 pada gugus 2'OH

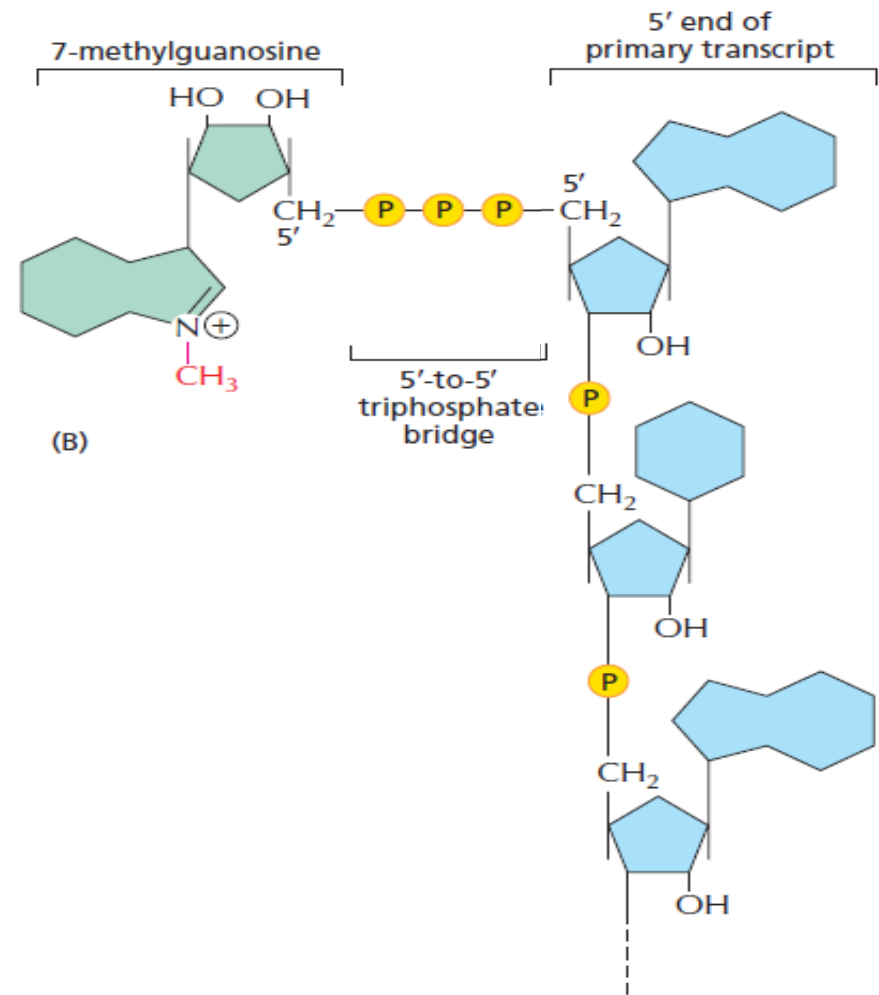
Proses tersebut berlangsung pada tahapan awal transkripsi sebelum transkrip mencapai panjang 30 nukleotida



CAPPING mRNA

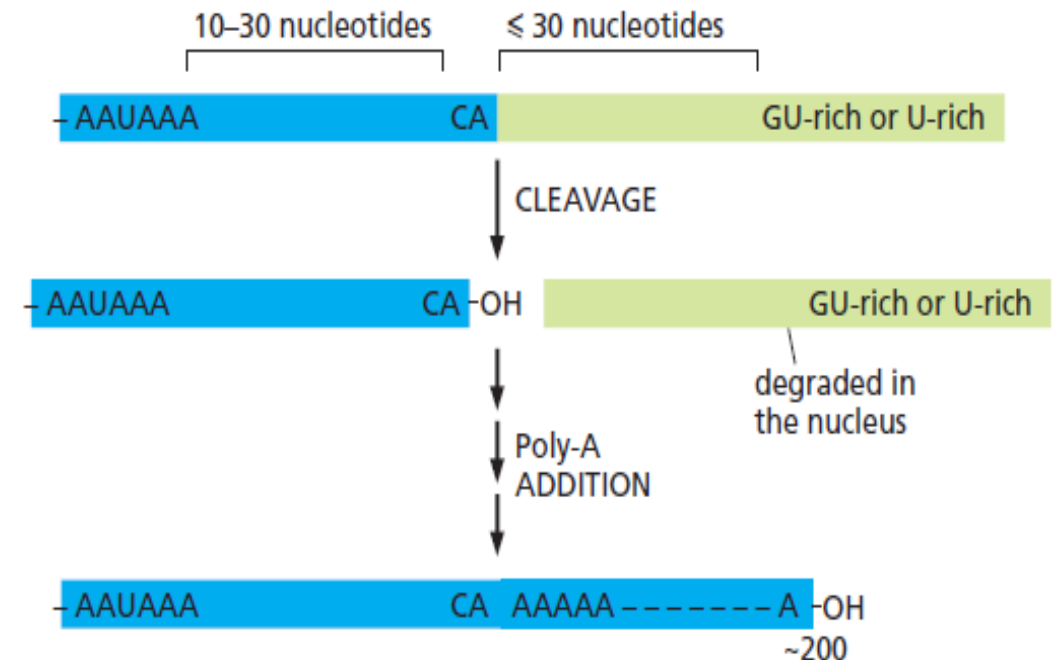
Fungsi cap RNA :

1. Melindungi mRNA dari degradasi
2. Meningkatkan efisiensi translasi mRNA
3. Meningkatkan pengangkutan mRNA dari nucleus ke sitoplasma
4. Meningkatkan efisiensi proses *splicing mRNA*



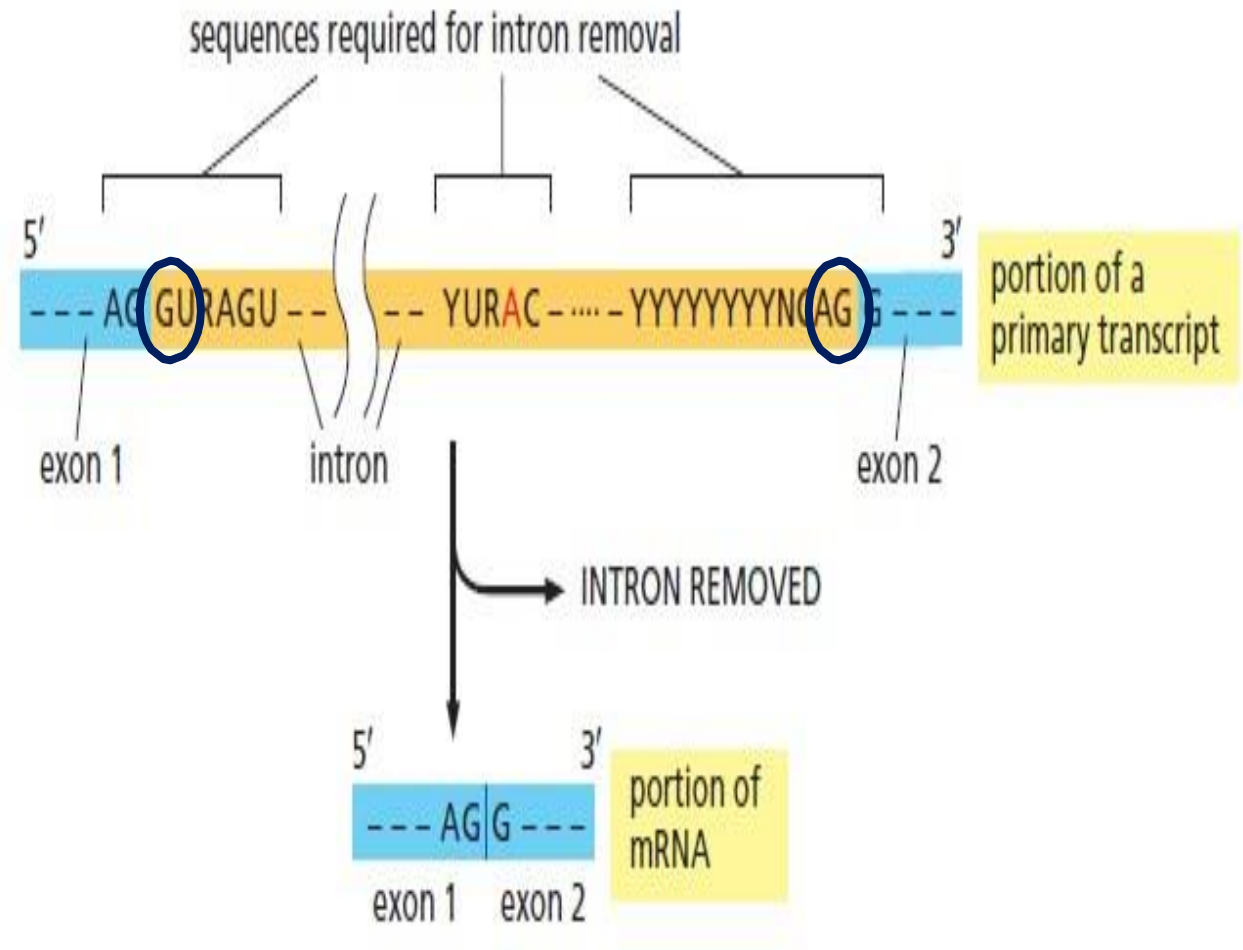
Poliadenilasi mRNA

- Poliadenilasi dilakukan pada precursor mRNA bahkan sebelum terjadi terminasi transkripsi
- Transkrip mRNA pada eukariot mengalami pemrosesan dalam bentuk penambahan poliA (rantai AMP) pada ujung 3' sepanjang kurang lebih 200 – 350 nukleotida.
- Enzim yang berperan dalam penambahan poliA yaitu *poli(A) polymerase* yang terdapat dalam nukleus.
- Penambahan poliA pada ujung 3' meningkatkan stabilitas mRNA sehingga mRNA mempunyai umur yang lebih Panjang dibanding mRNA yang tidak mempunyai poliA. Selain itu, poliadenilasi meningkatkan efisiensi transport mRNA dari nucleus ke sitoplasma
- Tempat dilakukannya poliadenilasi dicirikan oleh suatu **sinyal poliadenilasi** → terdiri atas rangkaian nukleotida AAUAAA yang diikuti oleh sekitar 20 nukleotida GU



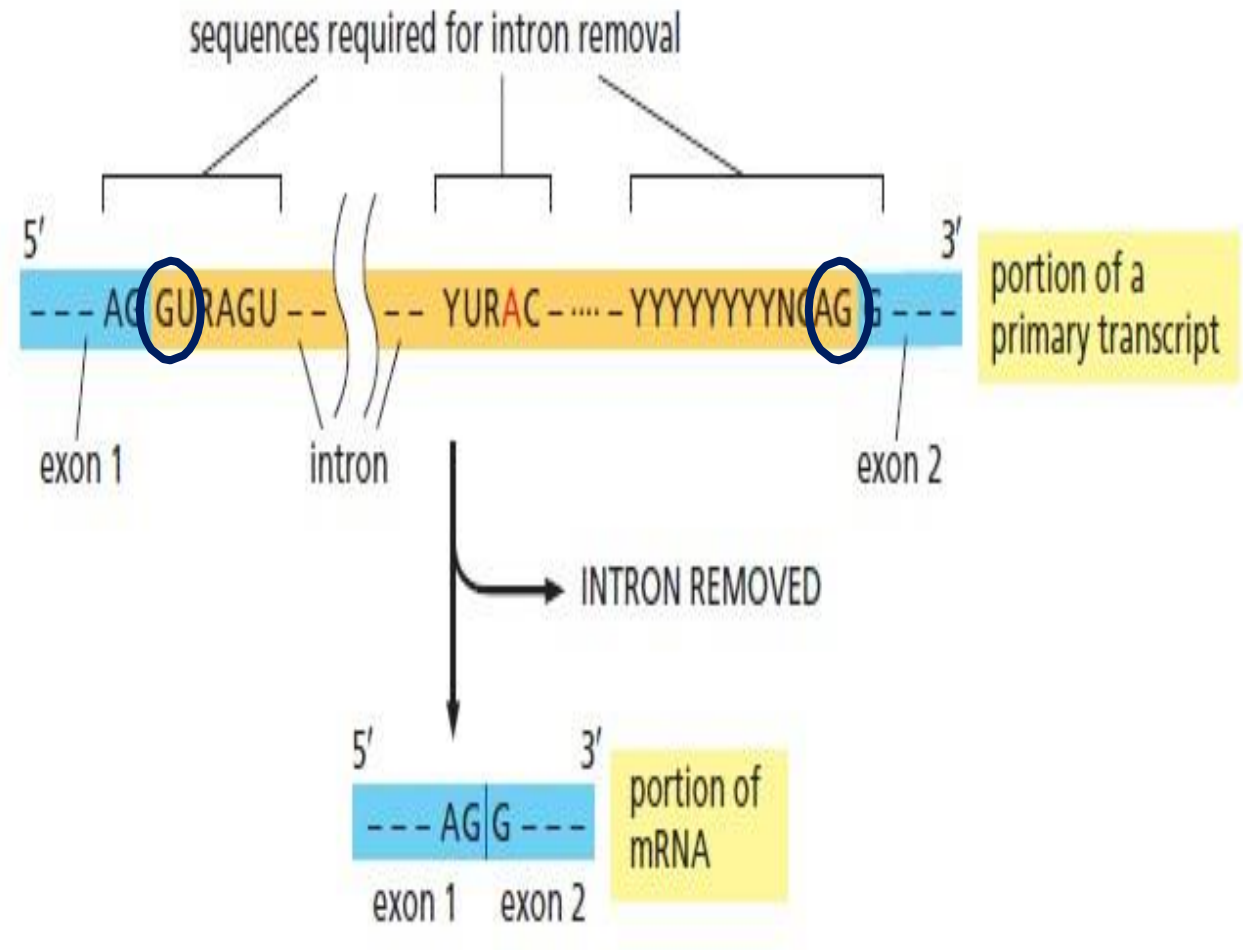
PEMOTONGAN DAN PENYAMBUNGAN RNA

- Gen terdiri atas ekson dan intron ditranskripsi menghasilkan **pre-mRNA** (transkripsi primer) → masih mengandung sekuens intron.
- Intron akan dipotong dari pre-mRNA dan ekson-ekson selanjutnya disambung menjadi **mRNA 'matang' (mature mRNA)** → selanjutnya ditranslasi
- Proses pemotongan dan penyambungan kembali ekson-ekson disebut sebagai proses **penyambungan RNA (RNA splicing)**



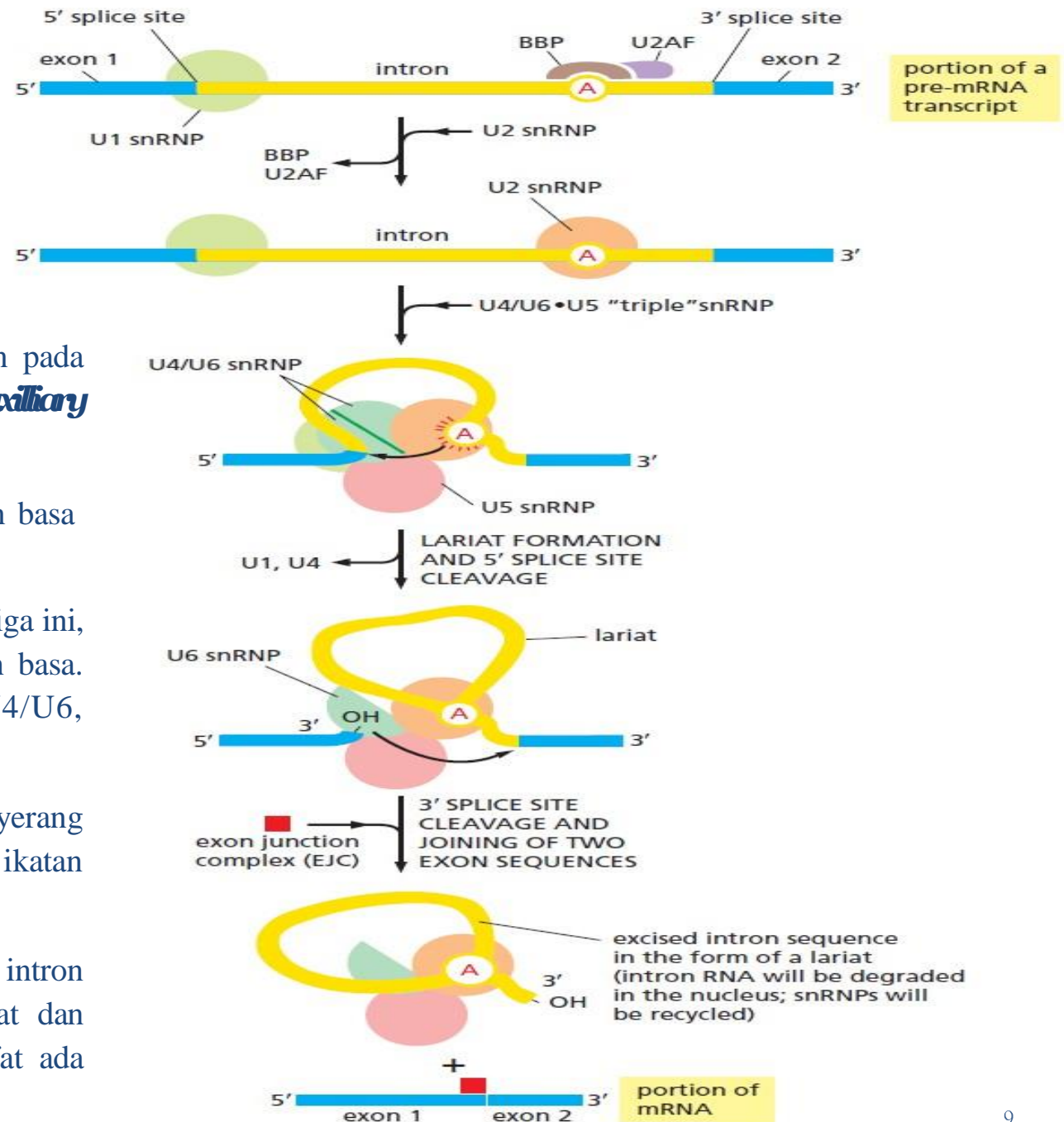
PEMOTONGAN DAN PENYAMBUNGAN RNA

- Intron pada pre-mRNA dipotong dengan mekanisme reaksi 2-Langkah yang dilakukan oleh partikel ribonucleoprotein yang berukuran 40S yang disebut **spliceosome**. Partikel ini berperan dalam proses *splicing* karena pre-mRNA yang mengalami mutasi dari A → C pada titik percabangan tidak dapat mengalami *splicing*.
- Faktor lain yang juga berperan dalam proses *splicing* yaitu **small nuclear RNA (snRNA)** yang berasosiasi dengan suatu protein membentuk kompleks **small ribonuclear protein (snRNP)**
- Kompleks tersebut berupa U1, U2, U4, U5, dan U6



PEMOTONGAN DAN PENYAMBUNGAN RNA

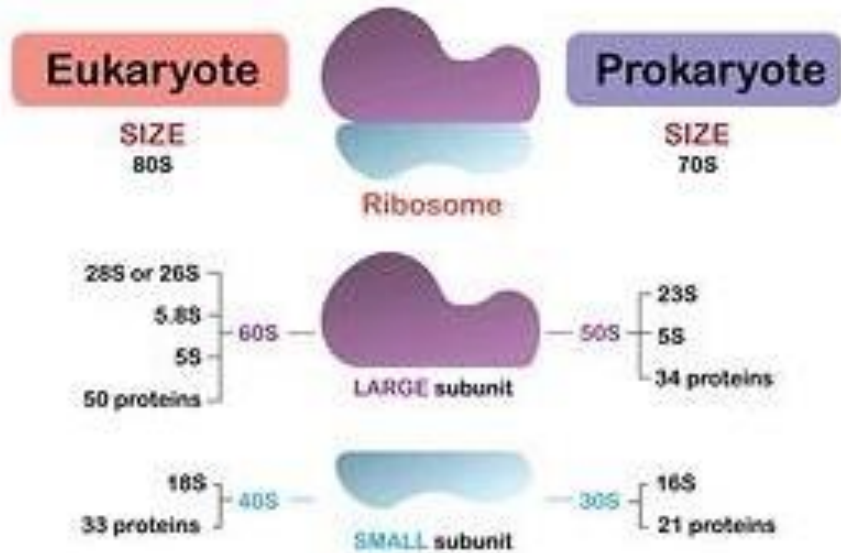
- U1 snRNP membentuk pasangan basa dengan tempat pemotongan pada ujung 5' → BBP (*Branch-point Binding Protein*) dan U2AF (*U2 auxiliary factor*) mengenali situs titik cabang
- U2 snRNP menggantikan BBP dan U2AF dan membentuk pasangan basa dengan urutan konsensus situs titik cabang
- U4/U6•U5 "tiga" snRNP memasuki reaksi. Dalam snRNP rangkap tiga ini, snRNA U4 dan U6 disatukan dengan kuat oleh interaksi pasangan basa. Penataan ulang berikutnya memecah pasangan basa U4/U6, memungkinkan U6 untuk menggantikan U1 pada sambungan 5'.
- Gugus 2'-OH nukleotida adenin yang ada dalam intron akan menyerang ikatan fosfodiester yang menghubungkan ekson 1 dengan intron → ikatan tersebut putus menghasilkan ekson 1 yang bebas.
- Ujung 3'-OH pada ekson 1 menyerang ikatan fosfodiester antara intron dengan ekson 2 → menghasilkan struktur intron berbentuk lariat dan ekson 1/ekson 2 menyambung yang diperantarai oleh gugus fosfat ada ujung 5' ekson 2.



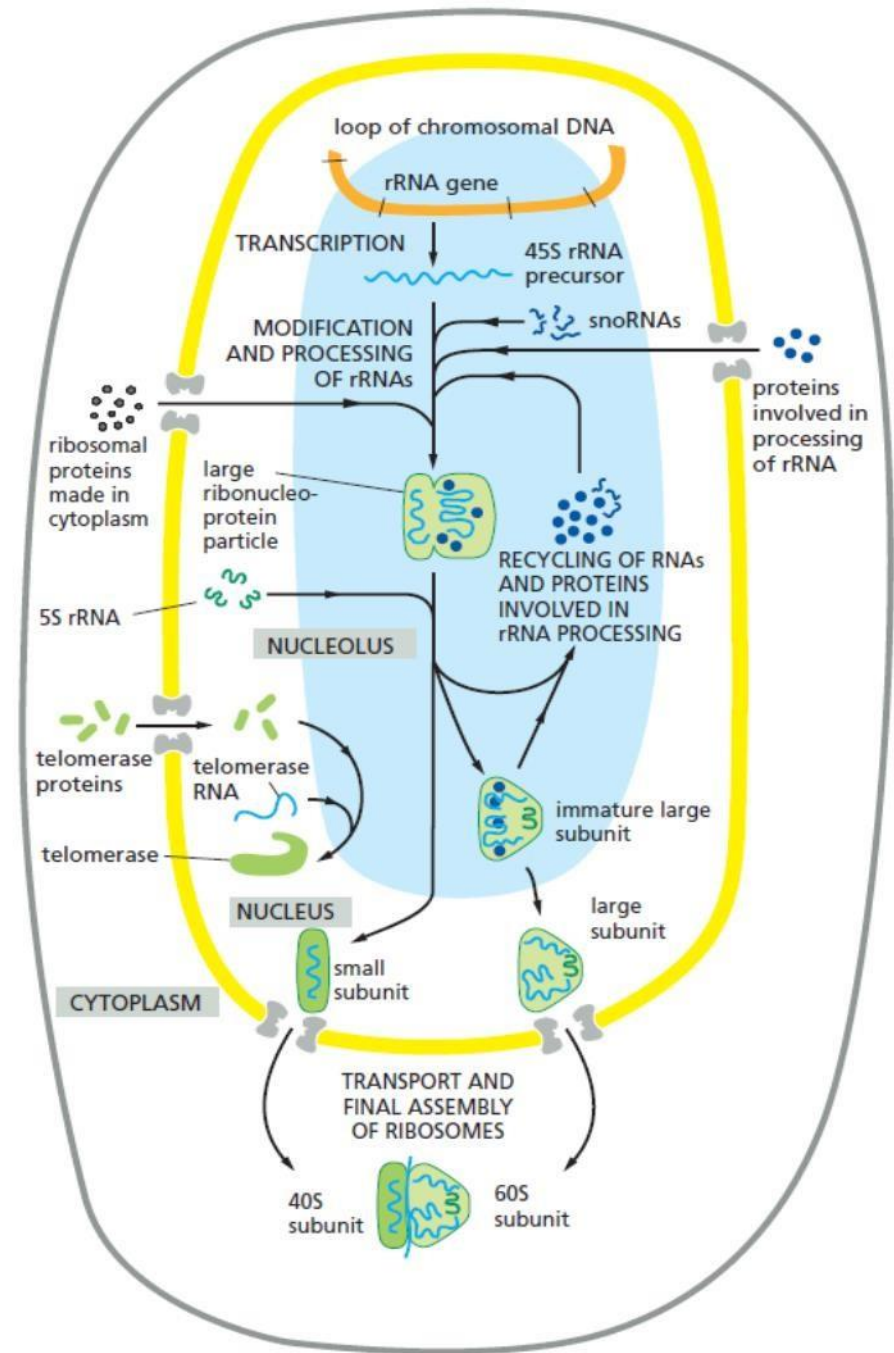
Pemrosesan rRNA

BIOLOGY ● ● ●

Ribosomal RNA subunits

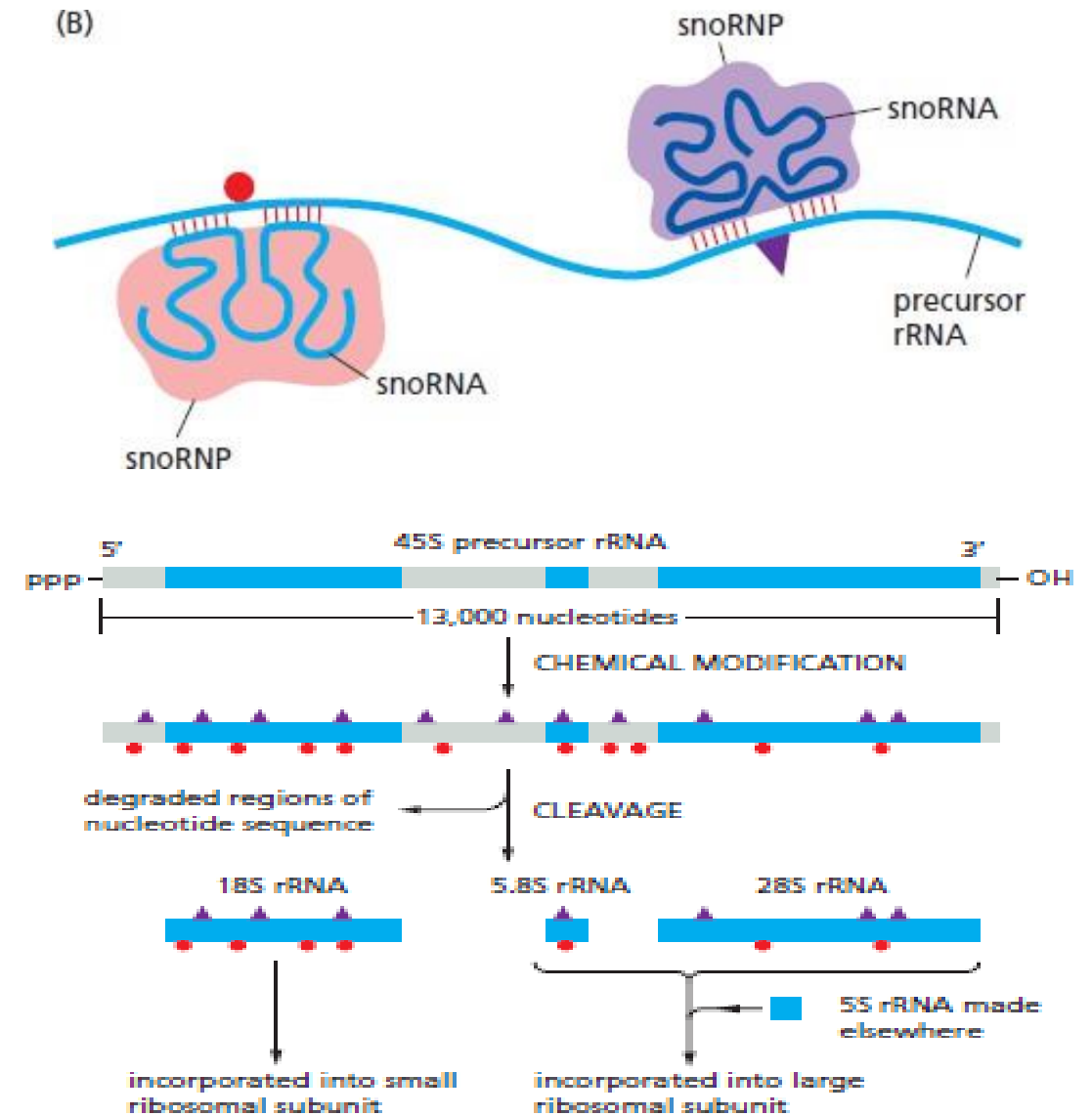


shutterstock.com · 1971126839



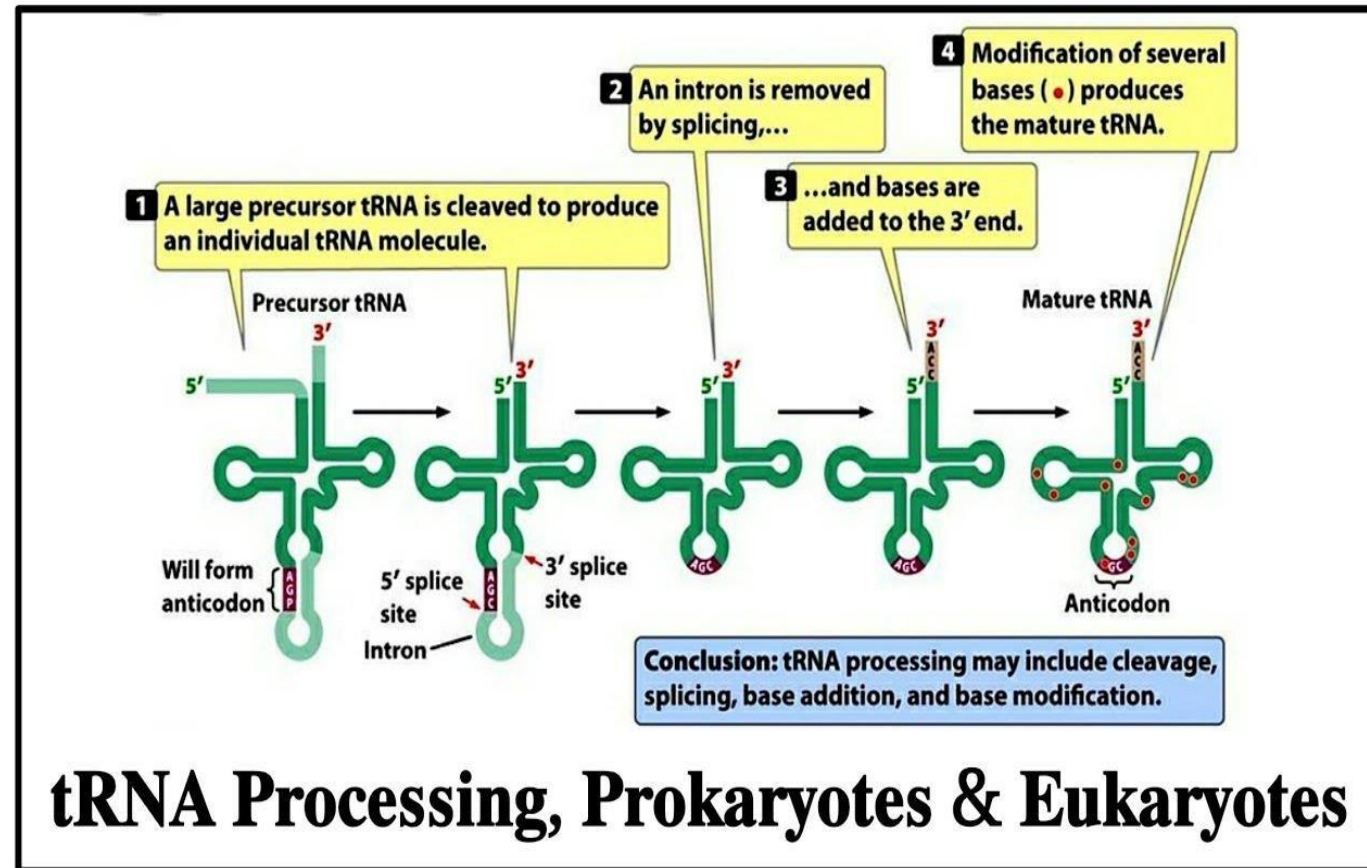
Pemrosesan rRNA

- Molekul rRNA disintesis di daerah khusus inti sel yang disebut nukleolus, yang muncul sebagai daerah padat di dalam nukleus dan berisi gen yang mengkode rRNA. Pemrosesan diatur oleh **small nucleolar RNAs (snoRNAs)**, yang terkait dengan protein **small nucleolar ribonucleoproteins (snoRNPs)**
- Prekursor rRNA berukuran 45S yang terdiri atas 28S, 18S, dan 5,8S
- Nukleotida dipotong untuk menghasilkan unit-unit fungsional yang lebih kecil.
- Pada pemrosesan rRNA tidak ada proses penyambungan kembali → *unit independent*



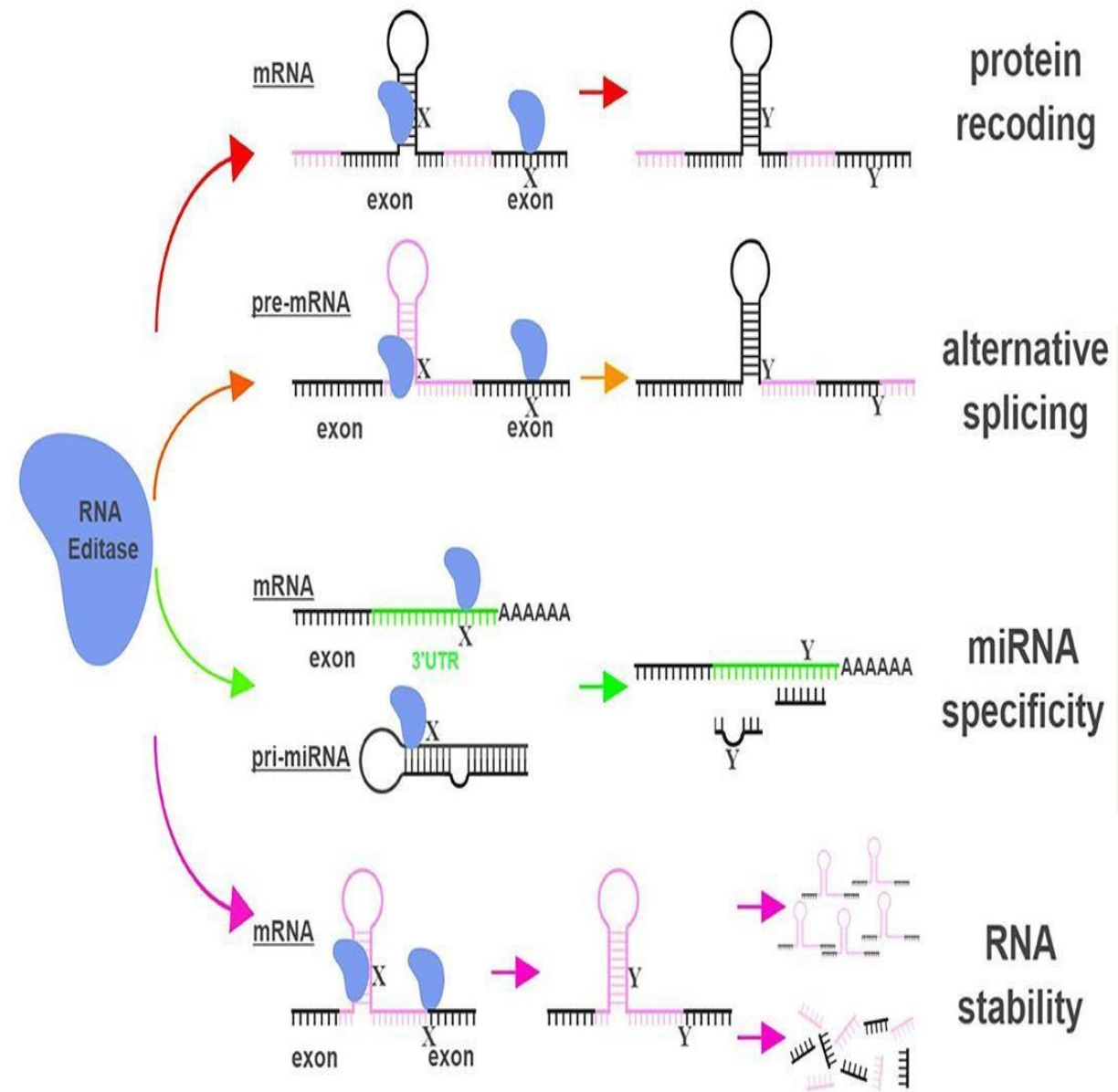
Pemrosesan tRNA

- tRNA disintesis dalam bentuk precursor
- Fungsi tRNA adalah membawa molekul asam amino untuk dirangkai menjadi polipeptida di ribosom
- Tahapan :
 1. RNase P menghilangkan ujung 5'
 2. Menghilangkan ujung 3'
 3. Pemotongan intron pada tRNA oleh enzim *splicing endonuclease (tRNA endonuclease)*, kemudian disambung oleh *splicing ligase (RNA ligase)* menjadi tRNA 'matang'
 4. Penambahan CCA pada ujung 3'
 5. Modifikasi pada beberapa residu



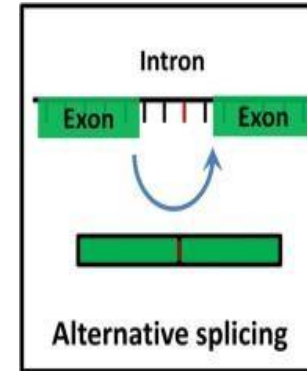
Penyuntingan RNA

- Penyuntingan RNA (modifikasi RNA) adalah proses molekuler di mana beberapa sel dapat membuat perubahan pada urutan nukleotida tertentu dalam molekul RNA setelah dihasilkan oleh *RNA polimerase*.
- Ini terjadi pada semua organisme hidup dan merupakan salah satu sifat RNA yang paling dilestarikan secara evolusioner.
- Tidak seperti penyuntingan DNA, yang bersifat permanen, efek penyuntingan RNA bersifat sementara dan tidak diwariskan. Oleh karena itu, pengeditan RNA dianggap kurang berisiko.

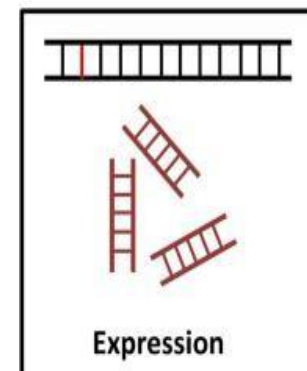


Penyuntingan RNA

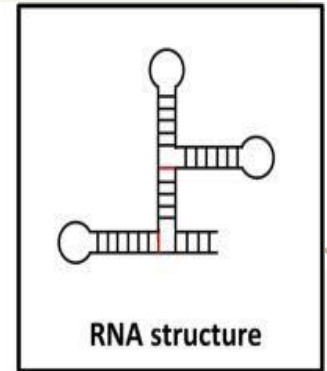
1. Penyuntingan dapat mengubah proses termasuk translasi mRNA dengan mengubah kodon
2. Penyuntingan dapat mengubah pola penyambungan pre-mRNA dengan mengubah urutan pengenalan lokasi sambungan
3. Penyuntingan dapat mempengaruhi degradasi RNA dengan memodifikasi urutan RNA yang terlibat dalam pengenalan nuclease (enzim pemotong)
4. Penyuntingan dapat mempengaruhi stabilitas genom RNA misalnya pada virus dengan mengubah template dan urutan produk selama replikasi RNA;
5. Penyuntingan berpotensi dapat memengaruhi aktivitas yang bergantung pada struktur RNA yang memerlukan pengikatan RNA oleh protein



Intron editing
Modifies splice sites
resulting in varying
protein isoforms
pre-mRNA splicing

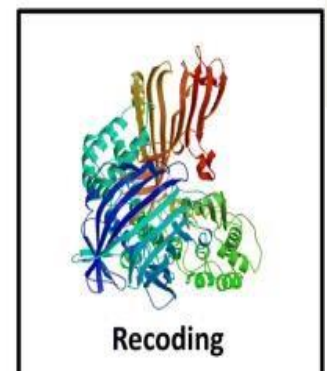


Non-coding editing
Stabilizes RNA
secondary structures
and alters accessibility
RNA stability

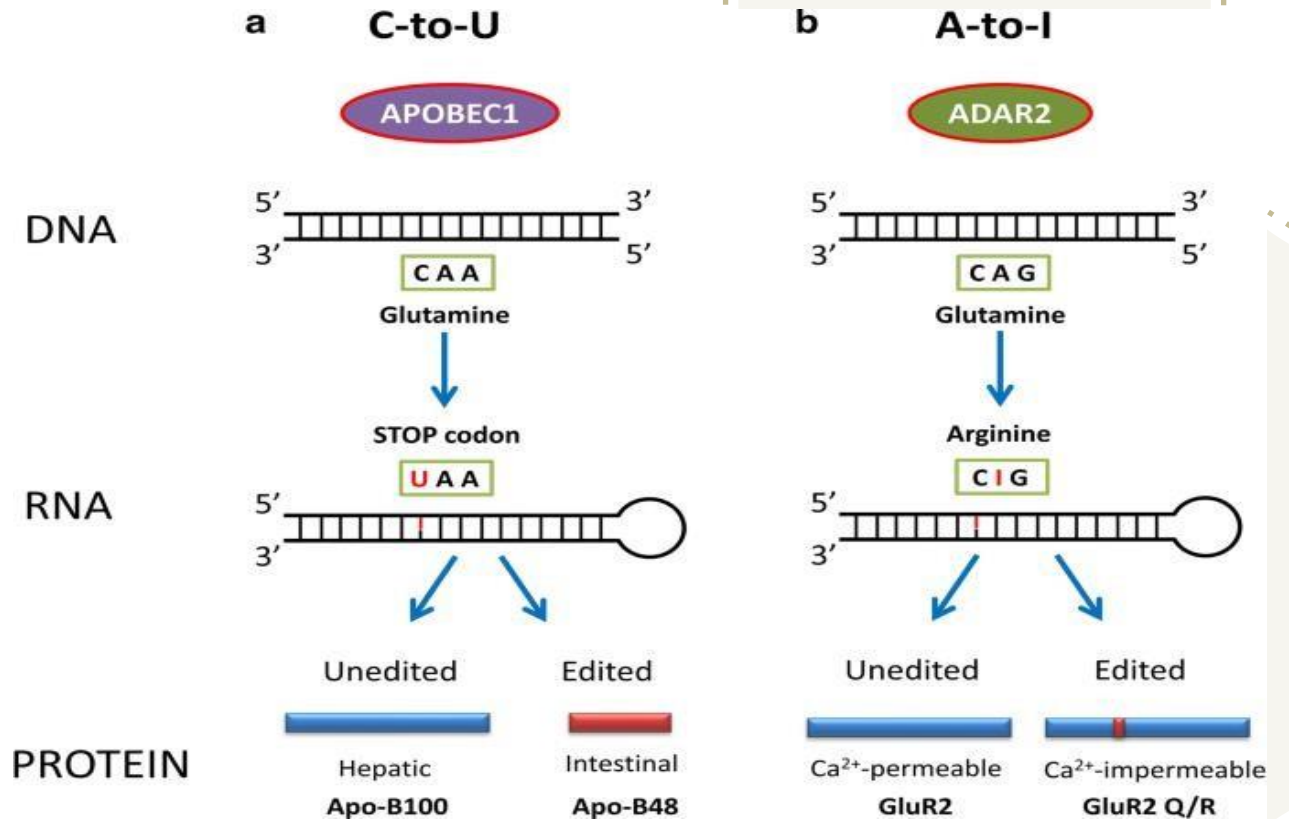
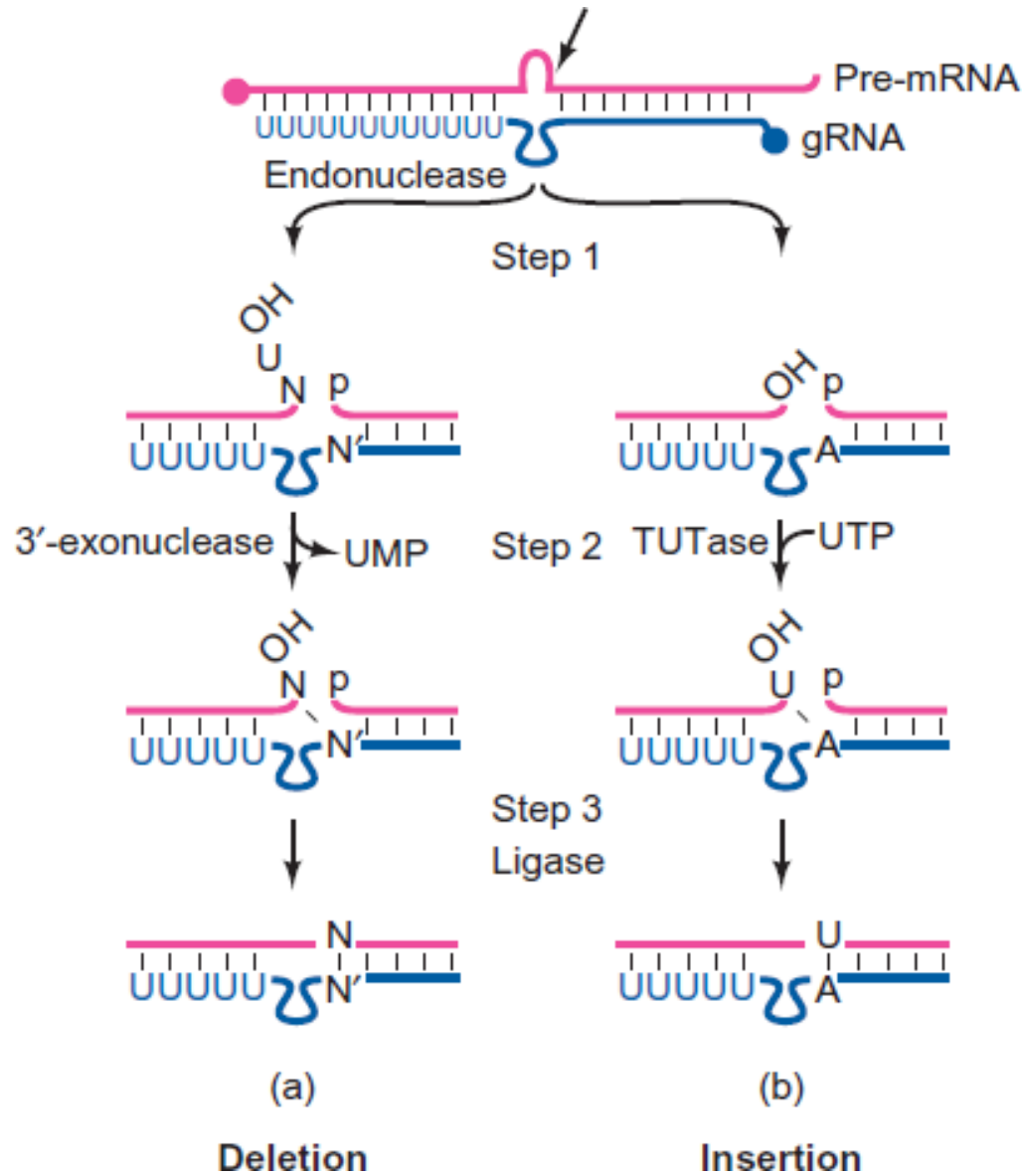


Exon editing
Protein recoding
through amino
acid changes
mRNA translation

3' UTR / miRNA editing
Regulates gene expression
through miRNA biogenesis
and target recognition
miRNA regulation



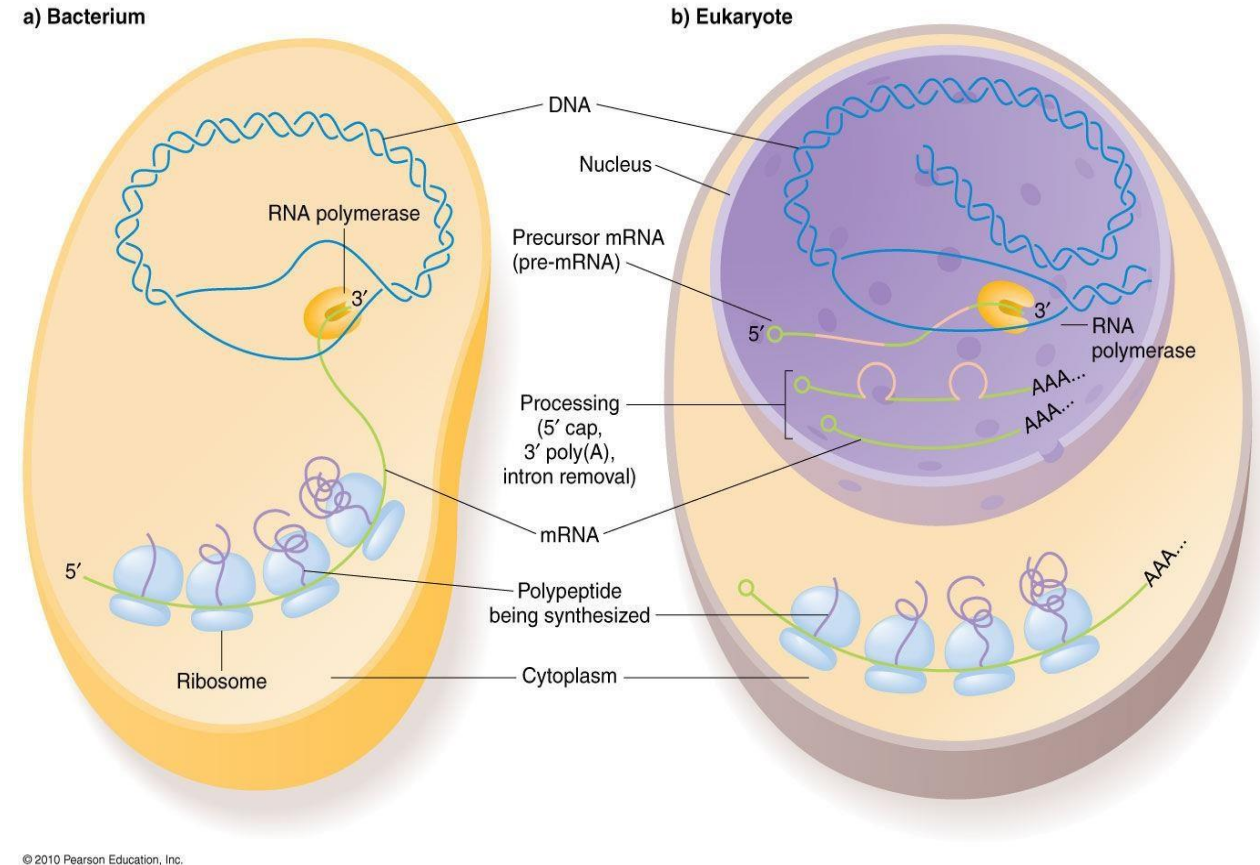
Deaminasi



- Penyuntingan RNA mencakup modifikasi nukleobasa seperti deaminasi sitidin (C) menjadi uridin (U) dan adenosin (A) menjadi inosin (I)
- Pengeditan RNA dalam mRNA secara efektif mengubah urutan asam amino dari protein yang dikode

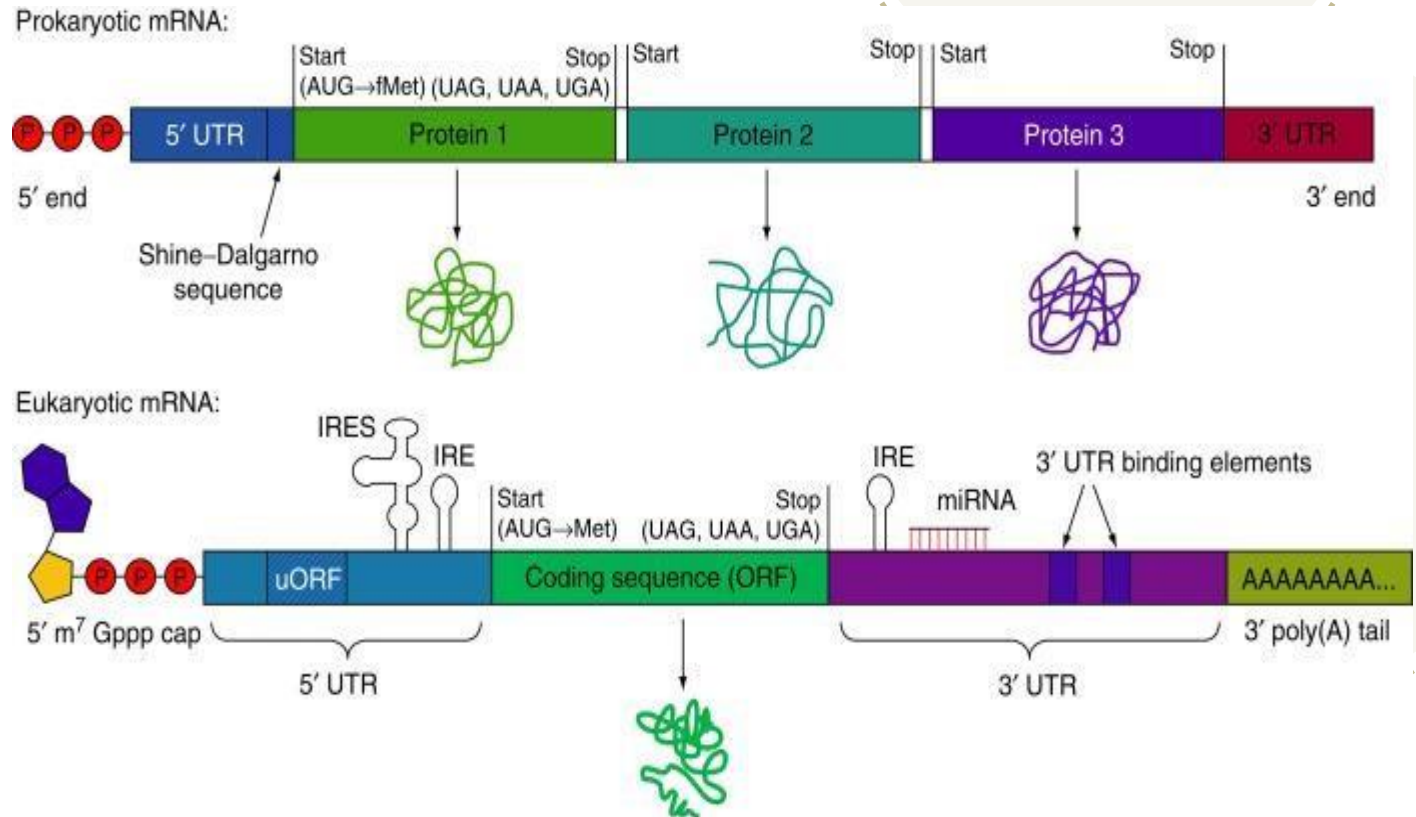
Translasi

- Proses penerjemahan urutan nukleotida yang ada pada molekul mRNA menjadi rangkaian asam-asam amino yang Menyusun suatu polipeptida atau protein
- Molekul RNA yang mengalami translasi hanya mRNA, sedangkan rRNA dan tRNA tidak ditranslasi
- Translasi berlangsung di dalam ribosom. Pada prokariot ribosom tersebar di seluruh bagian sel, sedangkan pada eukariot ribosom terletak di sitoplasma khususnya pada bagian permukaan membrane reticulum endoplasma

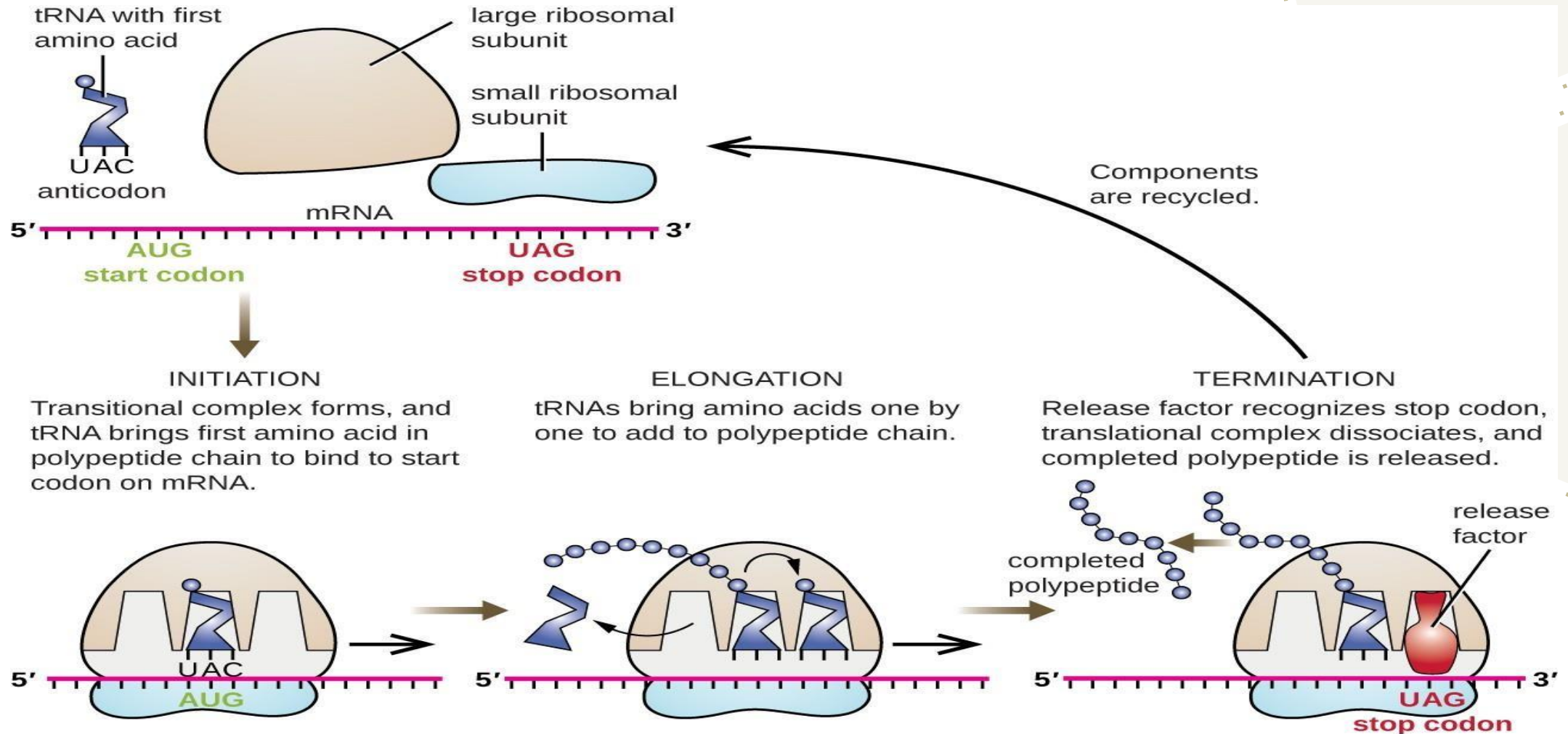


Translasi

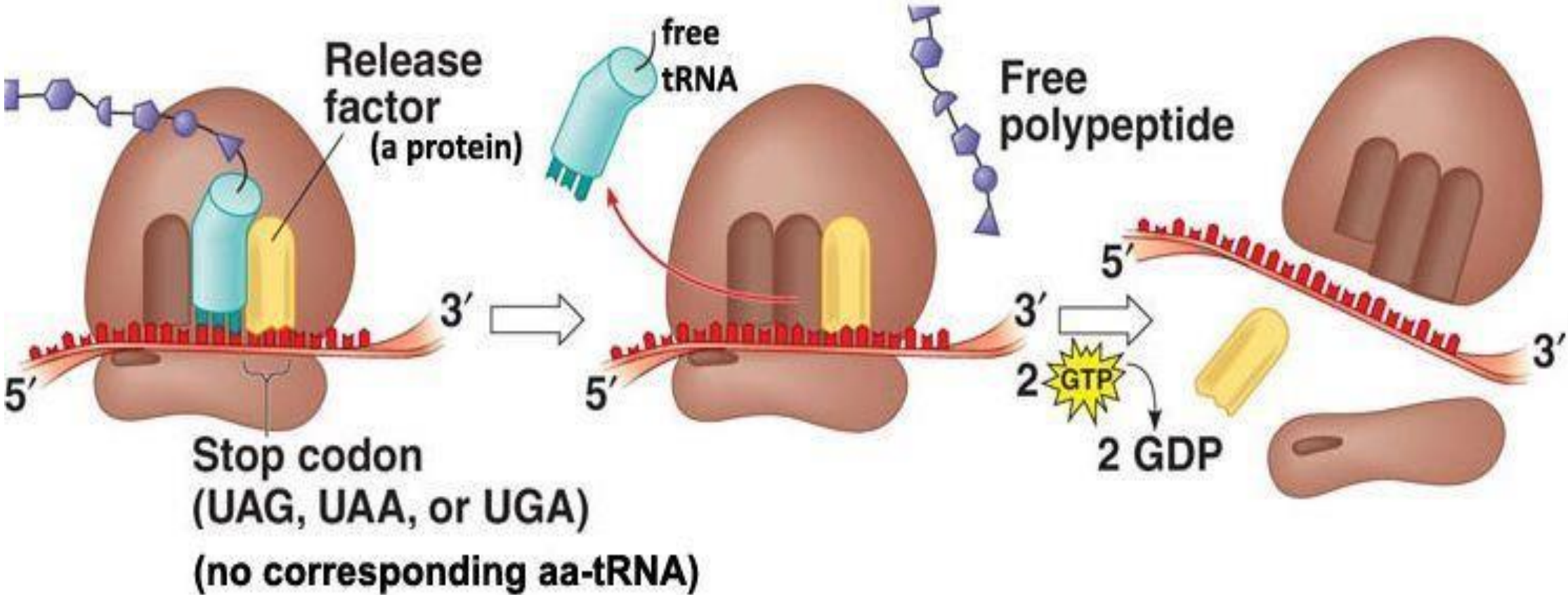
- Molekul mRNA merupakan Salinan urutan DNA yang menyun suatu gen dengan membentuk ORF (*open reading frame*)
- ORF terdiri atas
 1. Kodon inisiasi translasi yaitu urutan ATG (pada DNA) atau AUG (pada mRNA) → asam amino metionin
 2. Serangkaian urutan nukleotida
 3. Kodon terminasi, yaitu TAA (UAA pada mRNA), TAG (UAG pada mRNA) atau TGA (UGA pada mRNA)



Mekanisme translasi



Mekanisme translasi



Translasi

Prokariot

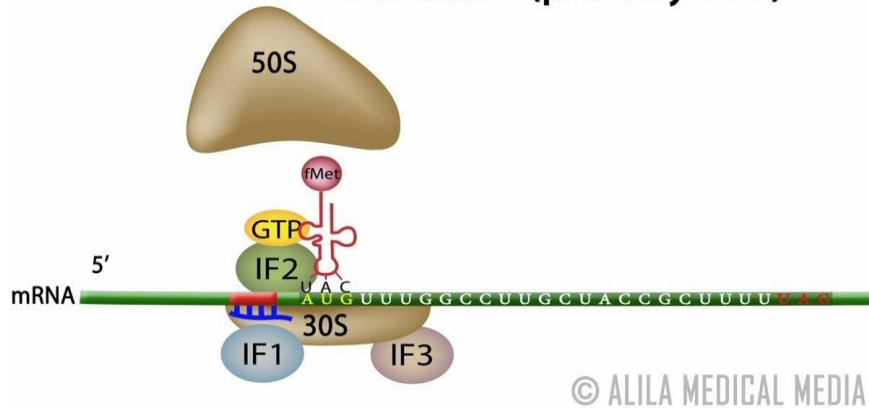
- mRNA : polisitronik
- Ribosom 70S
- Kodon start berupa formil Metionin (fMet)
- Inisiasi factor yang terlibat : IF-1, IF-2, dan IF-3
- Pengenalan tempat inisiasi : sekuens Shine-Dalgarno (SD) → tempat pengikatan ribosom (***ribosome binding site***)

Eukariot

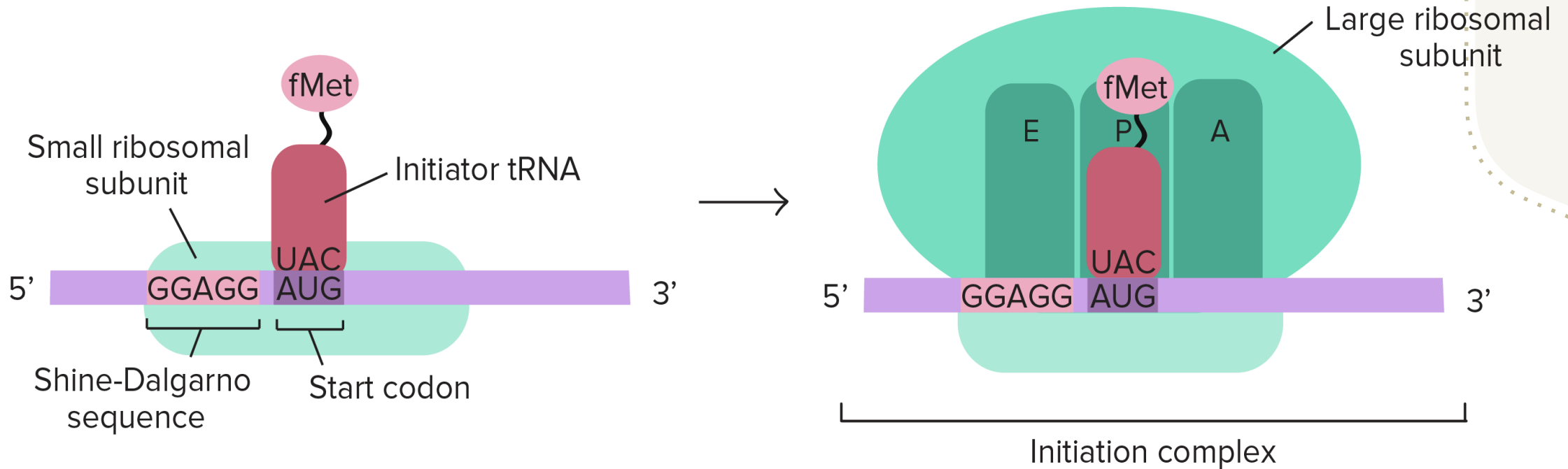
- mRNA : monosistronik
- Ribosom 80S
- Kodon start : Metionin
- Inisiasi faktor yang terlibat : eIF-1, eIF-2, eIF-3, eIF-4, eIF-5, dan eIF-6 (e = eukariot)
- Pengenalan tempat kodon awal : scanning oleh ribosom dengan tRNA metionin berikatan pada ujung 5' (tudung) untuk menemukan kodon start (AUG)

Inisiasi Translasi PROKARIOT

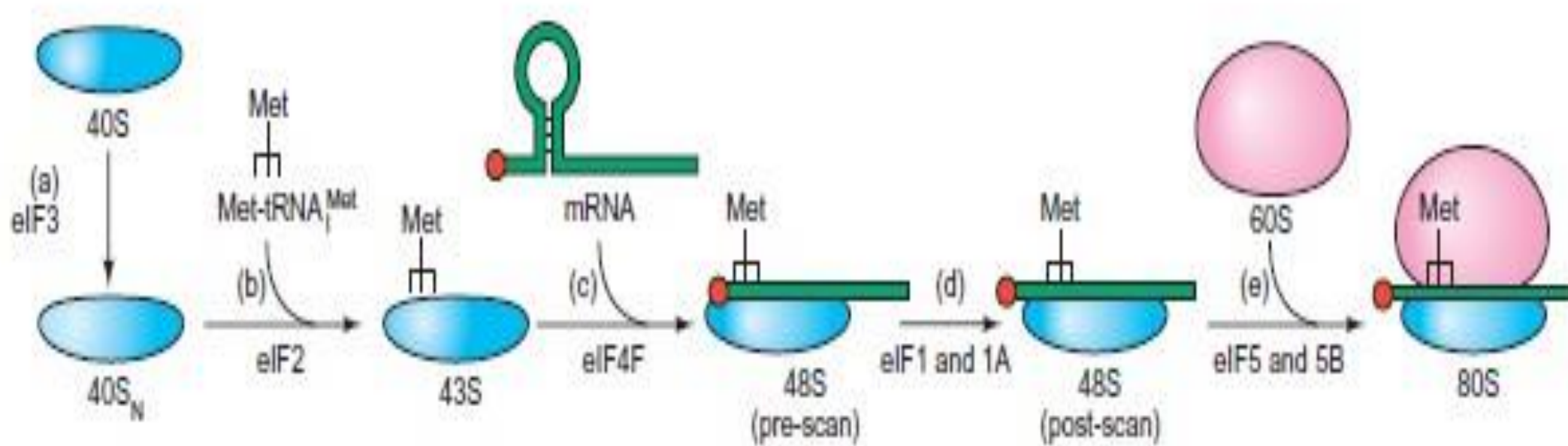
Initiation (prokaryotes)



Bacterial translation initiation

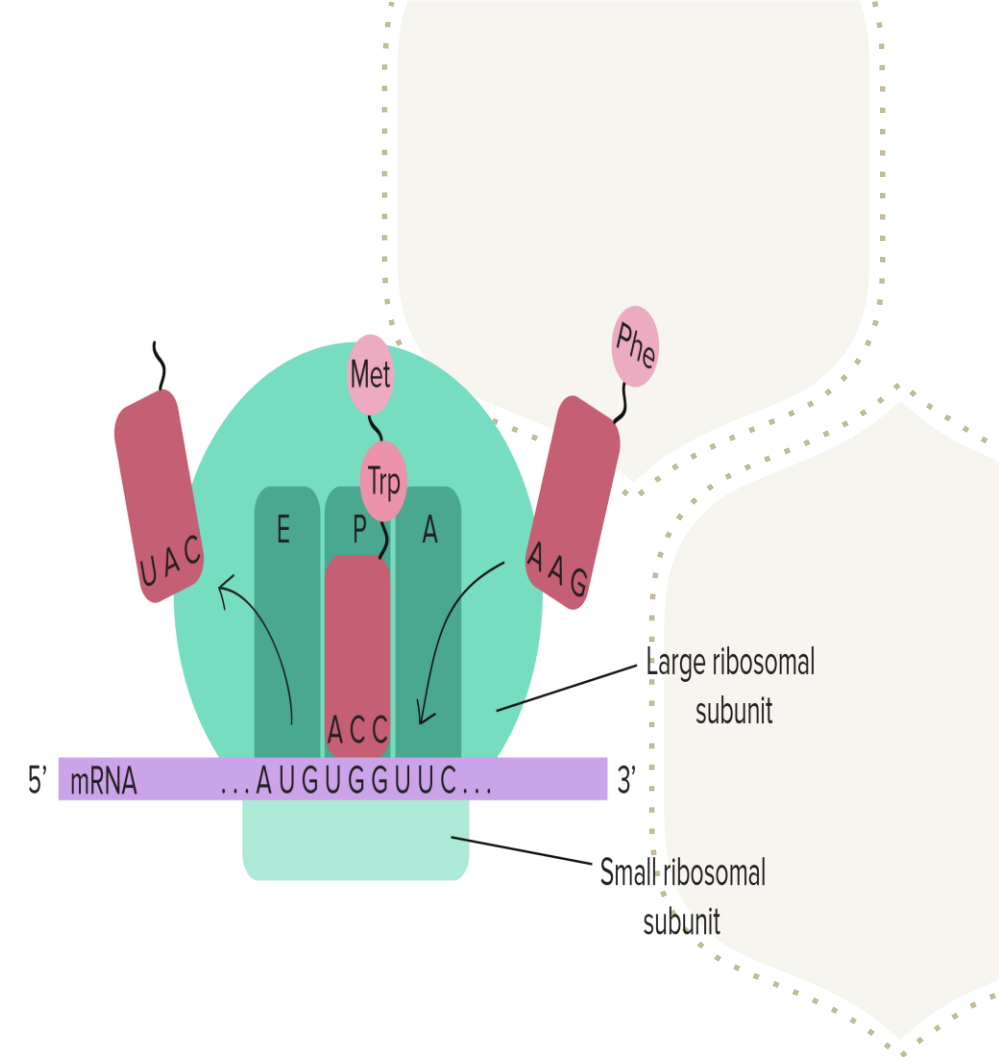


Inisiasi Translasi EUKARIOTA

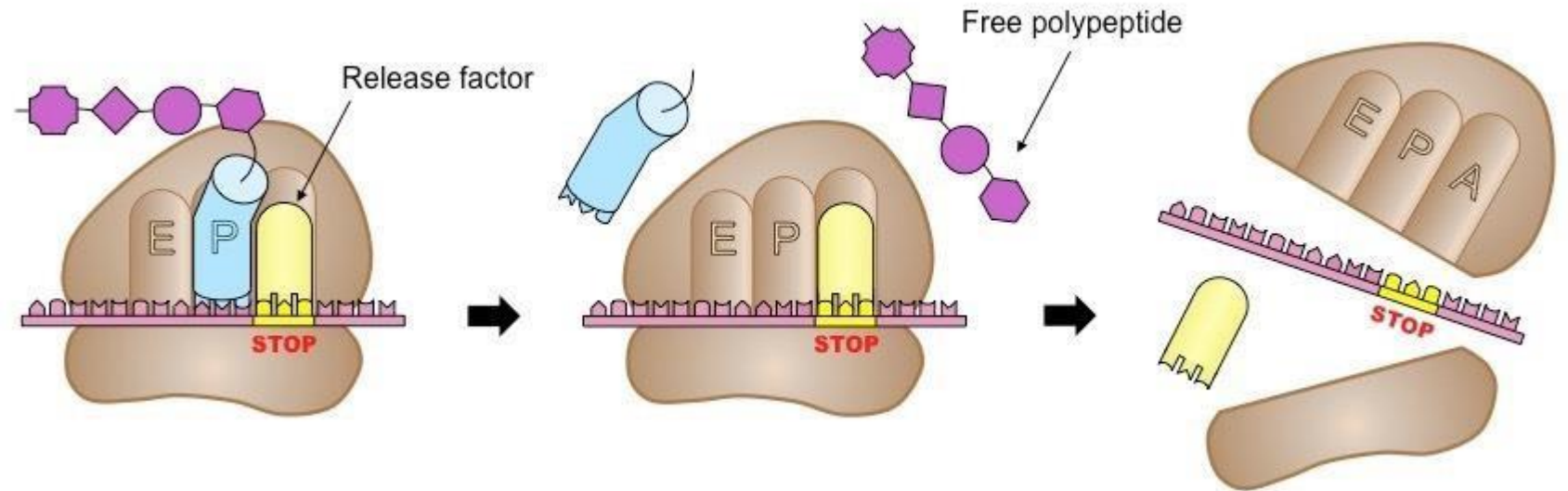


Proses pemanjangan

1. Pengikatan aminoasil-tRNA pada sisi A yang ada di ribosom. Penyisipan aminoasil-tRNA ke posisi A dilakukan oleh protein yang disebut faktor pemanjangan Tu (elongation factor TU, EF-Tu)
2. Pemindahan rantai polipeptida yang tumbuh dari tRNA yang ada pada sisi P (peptidyl) ke arah sisi A dengan membentuk ikatan peptide oleh enzim *Peptidyl Transferase*
3. Translokasi ribosom sepanjang mRNA ke posisi kodon selanjutnya yang ada di sisi A, sedangkan tRNA kosong yang tadinya menempati sisi P ditranslokasi ke sisi E (exit). Proses translokasi ini membutuhkan GTP dan faktor pemanjangan G (elongation factor –G, EF-G)



Terminasi



- Berakhir ketika mencapai ketiga kodon terminasi : UAA, UGA UAG
- Sinyal penghentian
 - Pada prokariot : release factor (RF)
 - RF 1: UAA atau UAG, RF 2 : UAA atau UGA
 - Pada eukariot : release factor (eRF).
- Penempelan RF mengaktifkan enzim peptidyl transferase yang menghidrolisis ikatan antara polipeptida dengan tRNA pada sisi P dan menyebabkan tRNA yang kosong mengalami translokasi ke sisi E.
- Ribosom kemudian akan terdisosiasi dan dapat digunakan untuk sintesis protein berikutnya