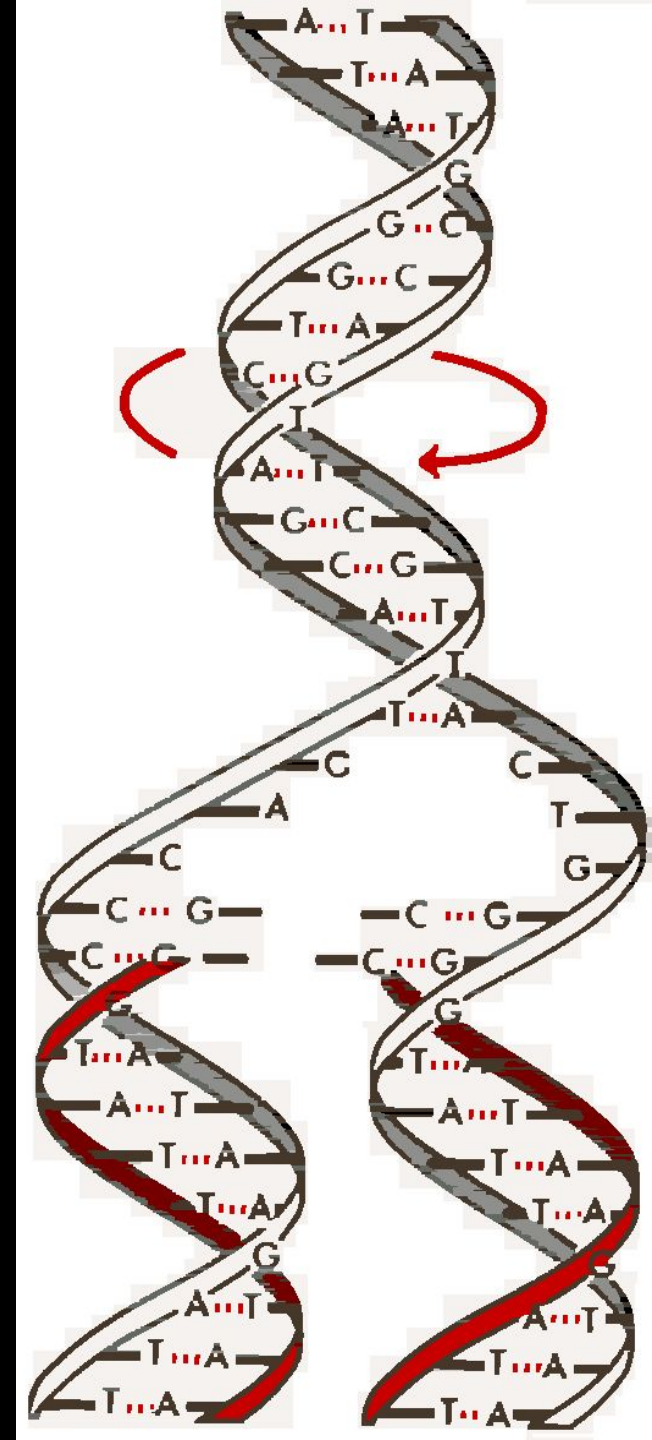
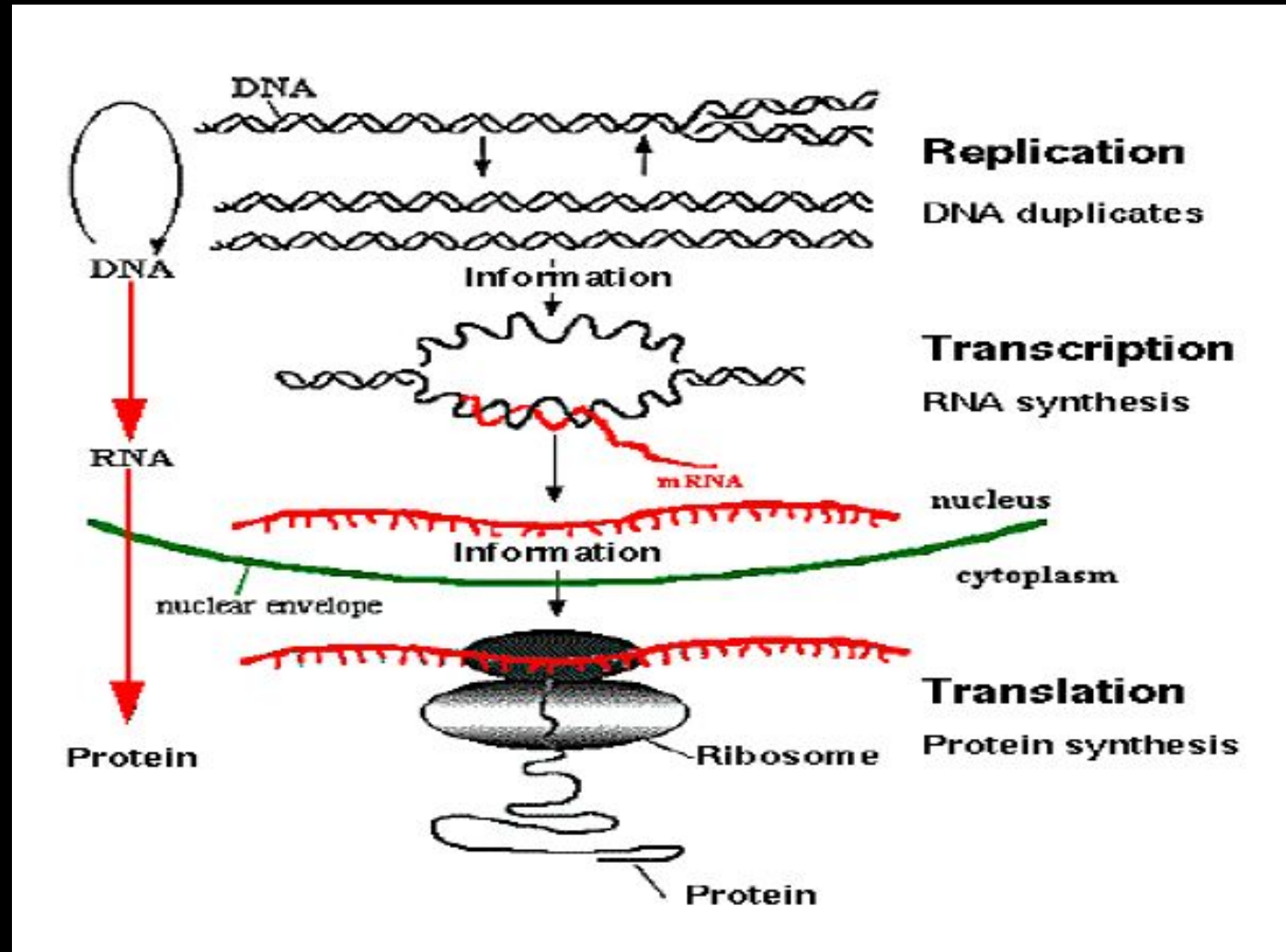


REPLIKASI DNA

Febriana Dwi Wahyuni, M.Si.



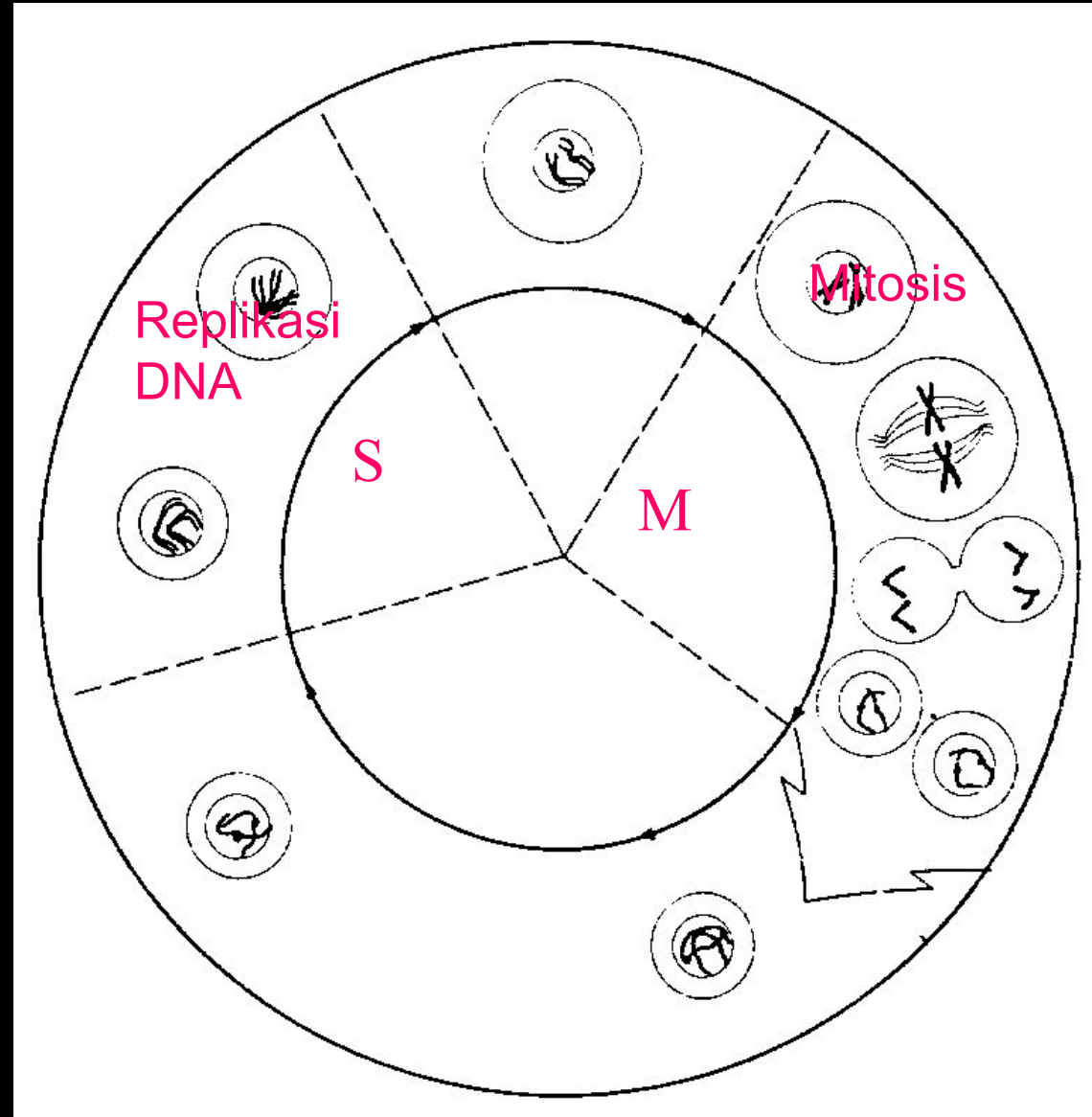
The flow of genetic information in eucaruotic cell
(THE CENTRAL DOGMA/ DOGMA SENTRAL BIOLOGI MOLEKULER)



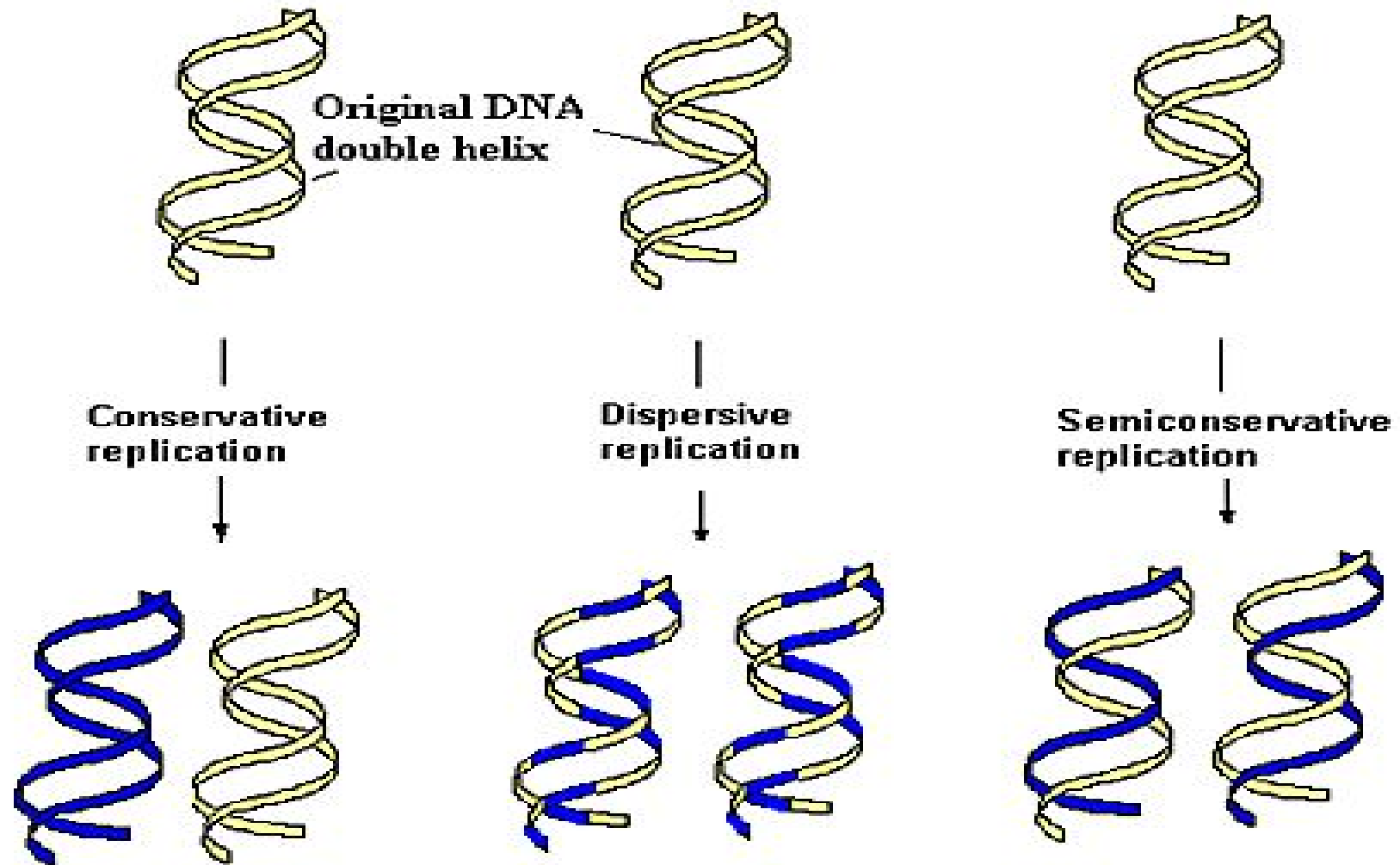
REPLIKASI

- REPLIKASI adalah memperbanyak diri menghasilkan produk baru yang sama dengan dirinya
- Pada tingkat molekul kimia hanya DNA yang dapat melakukan replikasi (dengan pengecualian RNA genom virus)
- Arah 5' ke 3' dari untai DNA yang disintesis
- Dikatalisis oleh DNA polimerase

REPLIKASI DNA & REPRODUKSI SEL



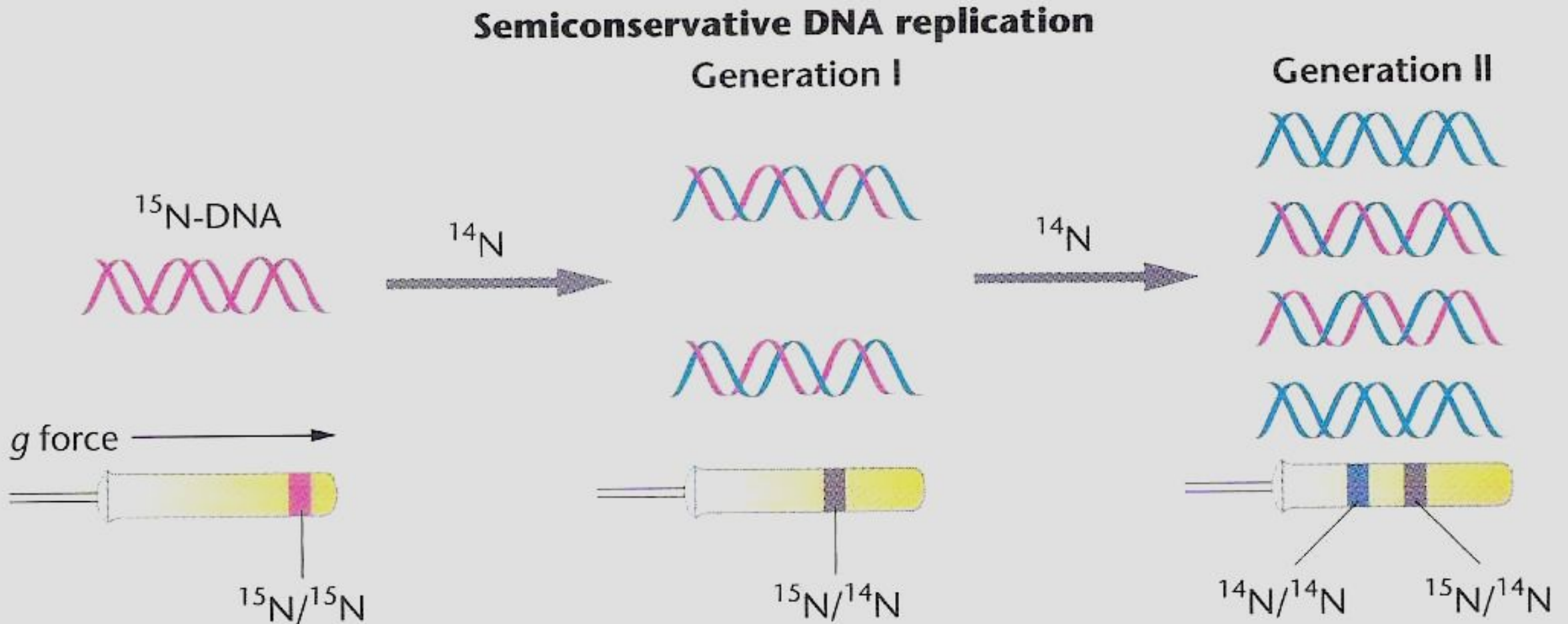
MODEL REPLIKASI DNA



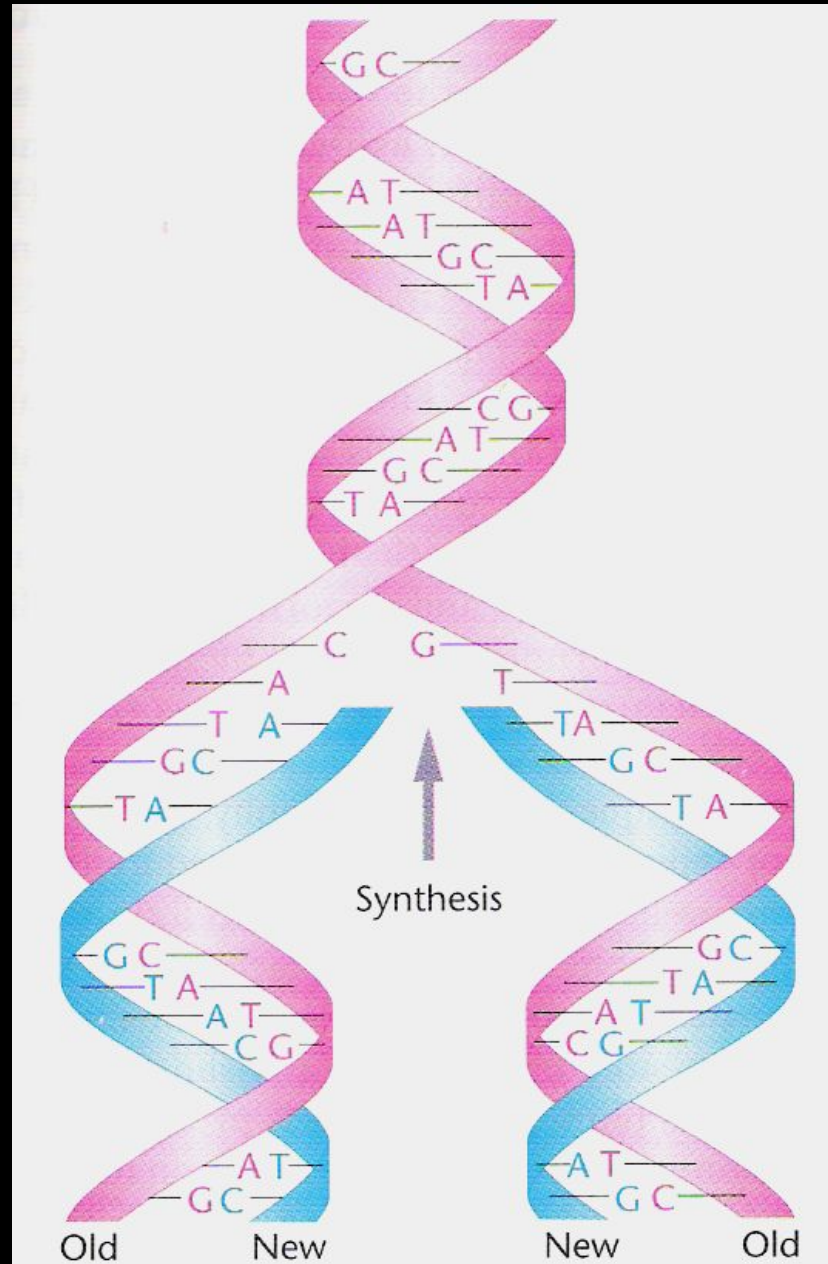
Possible Models of DNA Replication

Interpretasi Percobaan Meselson-Stahl

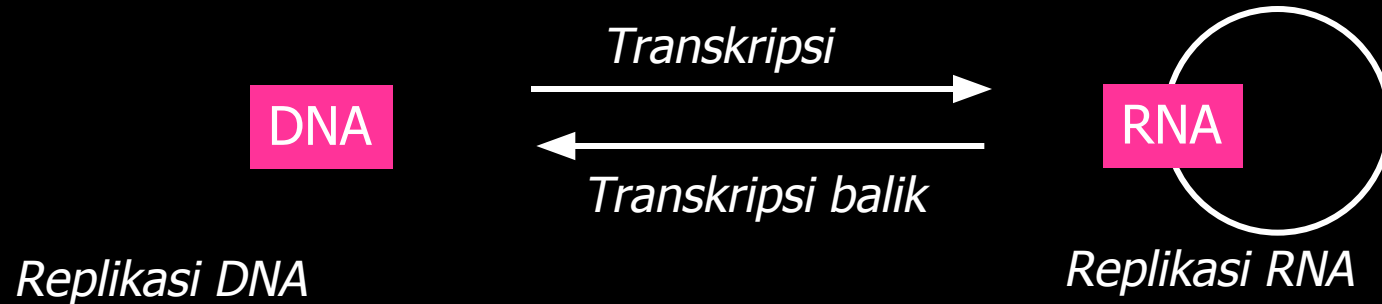
- Replikasi DNA mengikuti model/pola semikonservatif



MODEL REPLIKASI DNA



Sintesis asam nukleat



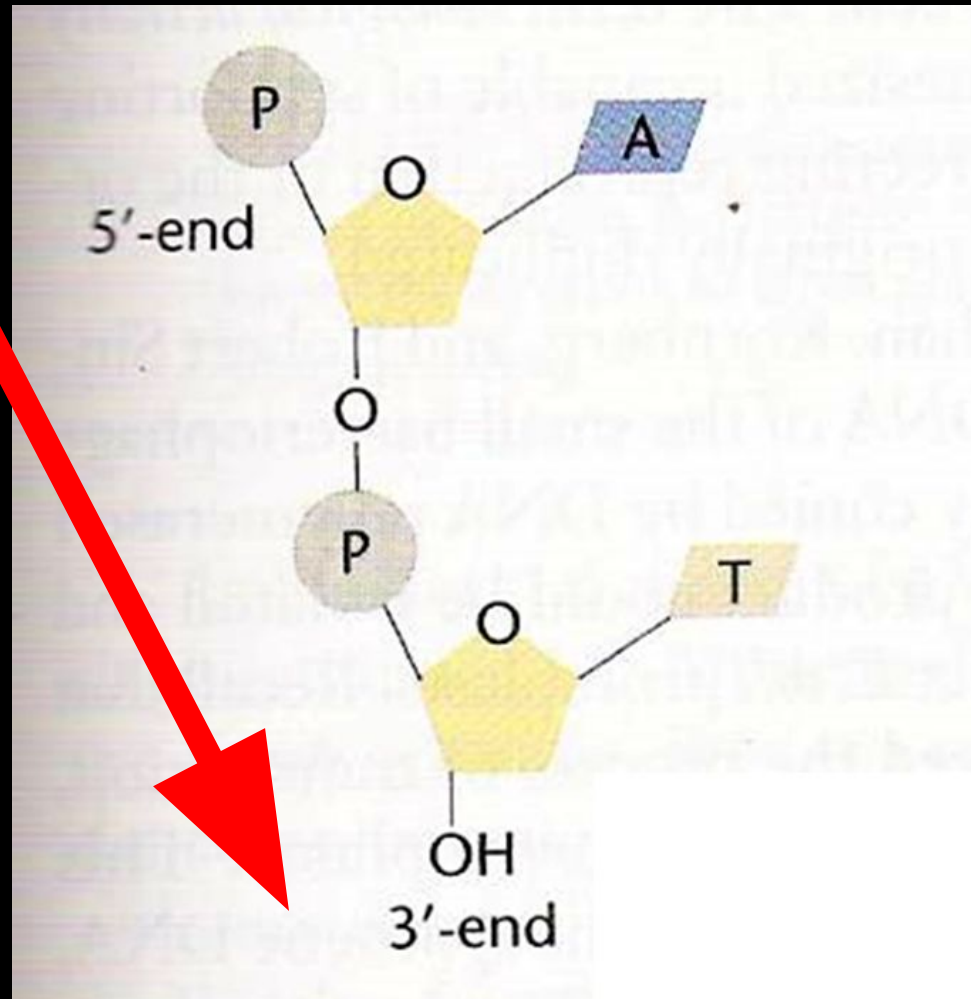
- Butuh rantai polinukleotida sebagai cetakan
 - DNA → replikasi, transkripsi
 - RNA → replikasi, transkripsi balik
- Butuh enzim katalisator
 - DNA polimerase → replikasi DNA
 - RNA polimerase → transkripsi dari DNA ke RNA
 - Transkriptase balik (reverse transcriptase) → transkripsi dari RNA ke DNA

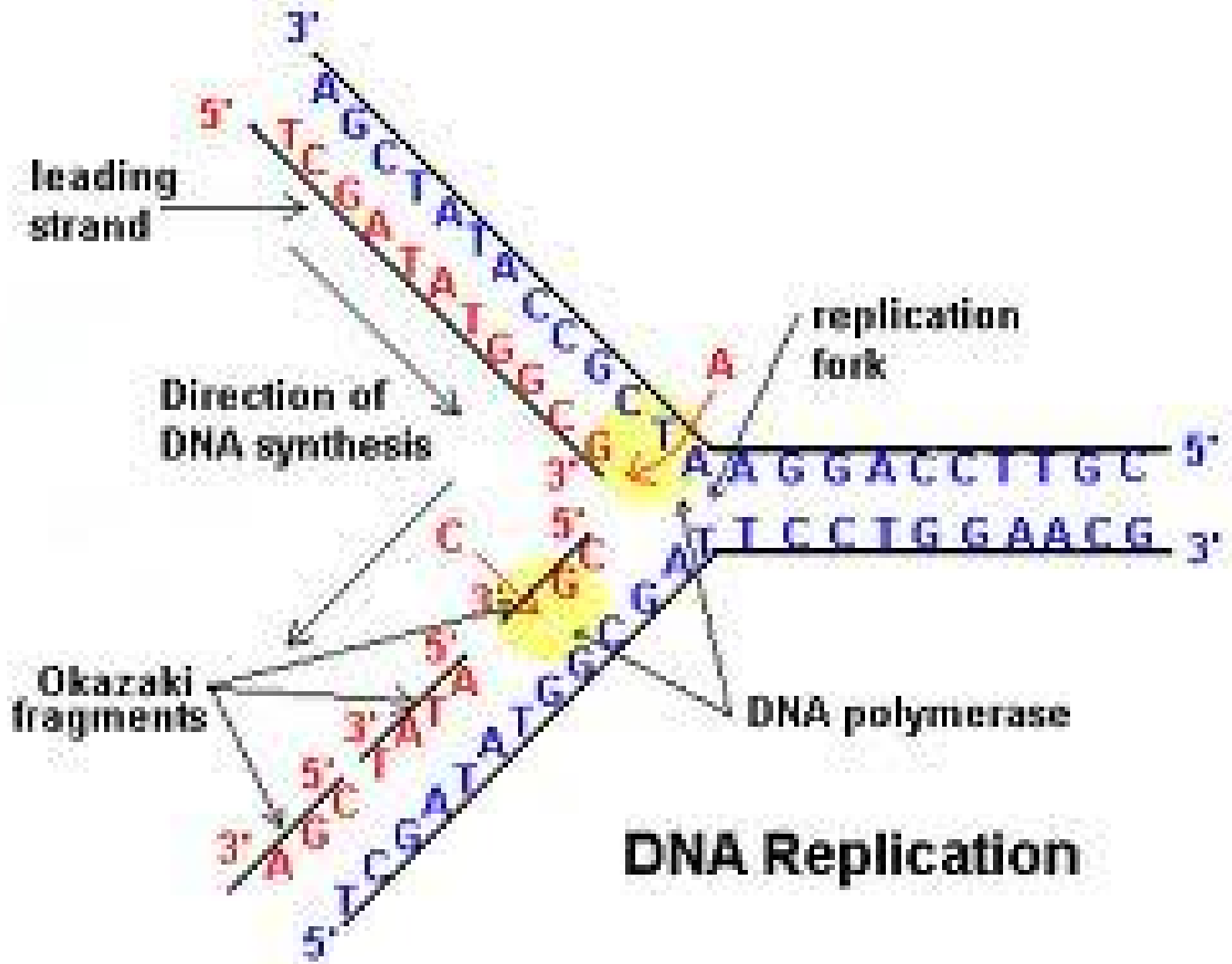
Mekanisme Dasar Replikasi DNA

- Denaturasi awal terjadi pada bagian DNA yang dikenal sebagai ORI (*origin of replication*) atau titik awal replikasi.
- Replikasi DNA dimulai dengan membukanya DNA double helix pada suatu daerah yang disebut *Replication fork* (garpu replikasi)
- Untaian DNA baru yang terbentuk merupakan komplemen untai DNA induk

ARAH REPLIKASI

- Untai DNA baru selalu disintesis dalam arah 5' ke 3'.
- 5' triphosphate hanya dapat ditambahkan ke gugus 3' OH dari deoxyribose





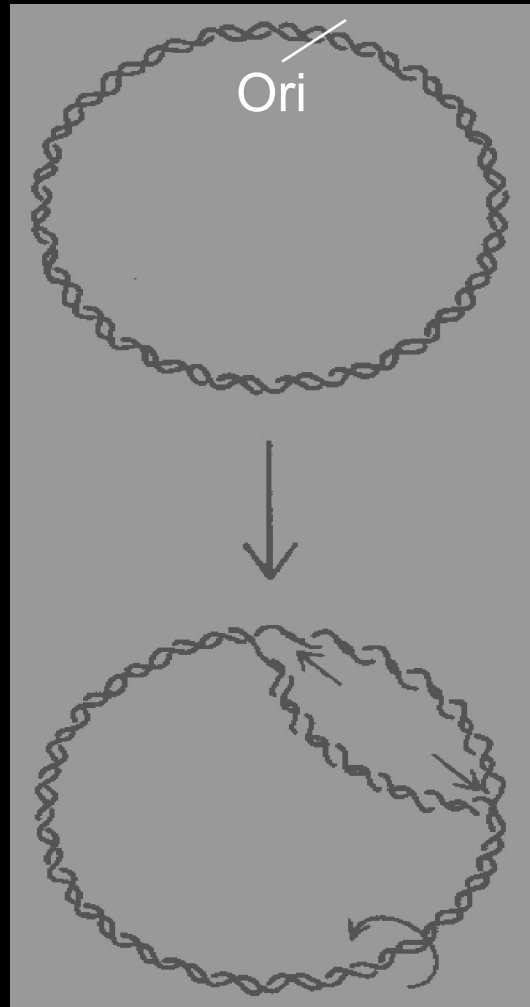
REPLIKASI DNA

- Pola semikonservatif
Setiap sintesis utas ganda DNA hanya satu utas yang dibentuk baru sedangkan yang lain berasal dari utas lama
- Dimulai dari titik asal replikasi (ori)
Hanya DNA yang mempunyai titik ori (*origin of replication*) yang dapat bereplikasi
- Sintesis DNA bergerak dwiarah atau uniarah dengan pertumbuhan 5-3
 - DNA disintesis mulai dari titik Ori ke dua arah
 - Nukleotida baru ditambahkan pada ujung 3'OH

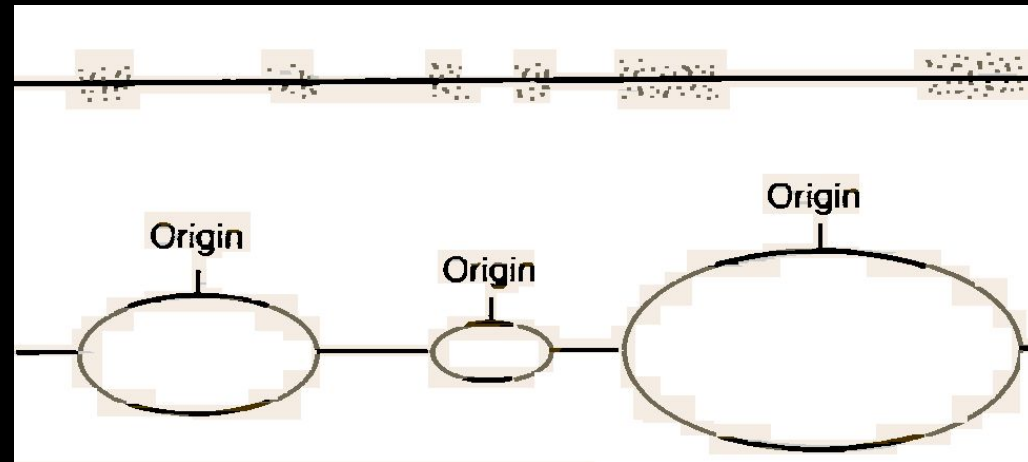
TITIK AWAL REPLIKASI (ORI)

- Titik Ori adalah runtunan basa yang menjadi tanda (signal) bagi DNA polimerase untuk memulai replikasi
 - Ori C (kromosom E.coli)
 - Ori V (replikasi plasmid F)
 - Ori T (replikasi plasmid F untuk ditransfer)
- Jumlah Ori dalam suatu DNA beragam
 - Kromosom bakteri : 1 (satu)
 - Kromosom eukariot : banyak
 - Plasmid F : Ori-T dan Ori-V

TITIK ORI PADA PROSES REPLIKASI



Bakteri



Eukariot

KOMPONEN PENTING DALAM REPLIKASI

1. DNA cetakan
2. Molekul deoksi ribonukleotida
3. Enzim DNA polimerase → mengkatalisis polimerisasi nukleotida
4. Enzim primase → mengkatalisis sintesis primer
5. Enzim pembuka ikatan untai DNA induk → helikase dan girase
6. Protein SSB → menstabilkan untai DNA yang sudah terbuka
7. Enzim DNA ligase

Mekanisme Sintesis DNA

Replikasi DNA berlangsung dalam beberapa tahap

1. Denaturasi untai DNA induk
2. Inisiasi sintesis DNA
3. Pemanjangan untai DNA
4. Ligasi fragmen-fragmen DNA
5. Terminasi sintesis DNA

□ Tahapan replikasi

1. Pengenalan titik asal replikasi (ori)

- Oleh DnaA dari DNA polimerase

2. Pengudaran pilinan heliks ganda

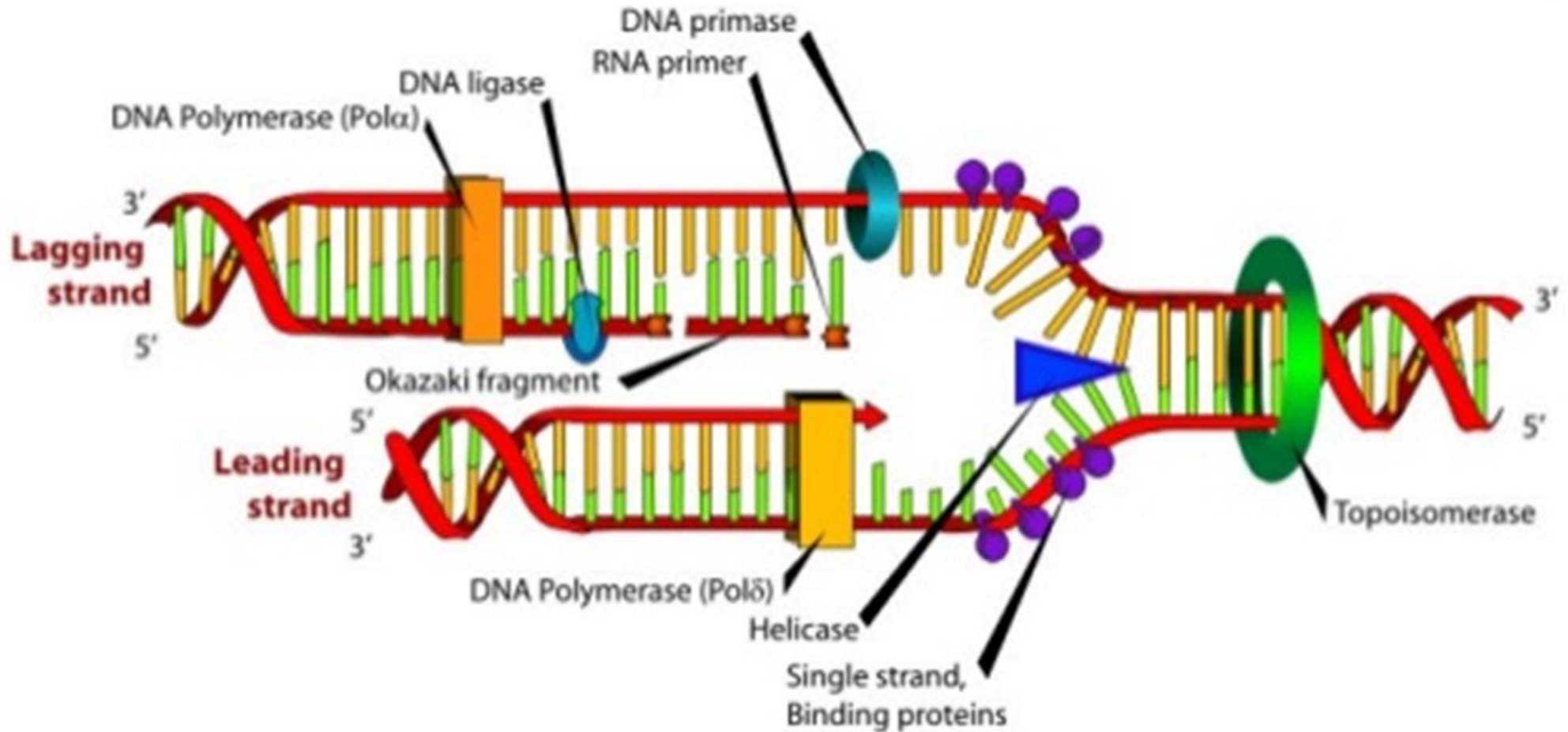
- Helikase: mengudar pilinan dengan menghilangkan ikatan H dan memisahkan kedua utas DNA (oleh Rep pada *E. coli*)
- Girase: menghilangkan tegangan (membuka pilinan ke arah berlawanan dari pilinan → kiri)
- SSBP: melindungi utas tunggal DNA dari renaturasi dan dari degradasi oleh nuklease, mencegah transkripsi

3. Sintesis nukleotida baru

- Inisiasi
 - RNA primer (RNA pol: *rpo*; primase: *dnaG*)
 - Primosom (praprimosom+primase)
- Perpanjangan rantai polinukleotida
 - DNA pol (I, II, III): polimerase & eksonuklase
 - DNA pol I → eksonuklease 5-3 & 3-5
 - DNA pol III → eksonuklease 3-5
 - eksonuklease 3-5 → ketelitian
 - eksonuklease 5-3 → membersihkan RNA primer
 - DNA pol III: enzim inti + holoenzim (celah lebar dari RNA primer)
 - Enzim inti: 3 sub unit (celah sempit)
 - ϵ (*dnaE* = *polC*): polimerisasi (ketelitian)
 - θ (*dnaQ*): kontrol ketelitian polimerisasi
 - χ

- Holoenzim: 4 sub unit
 - b (*dnaN*)
 - g (*dnaZ*)
 - d (*dnaX*)
 - hasil *dnaX-Z*
- DNA pol I (*polA*)
 - mengganti DNA pol III
 - mengisi celah di antara fragmen okazaki
 - membuang RNA primer
- Penyambungan fragmen okazaki
 - ligase (*lig*)
 - energi: NAD (*E.coli*), ATP (fage & mamalia)

REPLIKASI DNA



PROTEIN DAN ENZIM YANG TERLIBAT DALAM PROSES REPLIKASI DNA

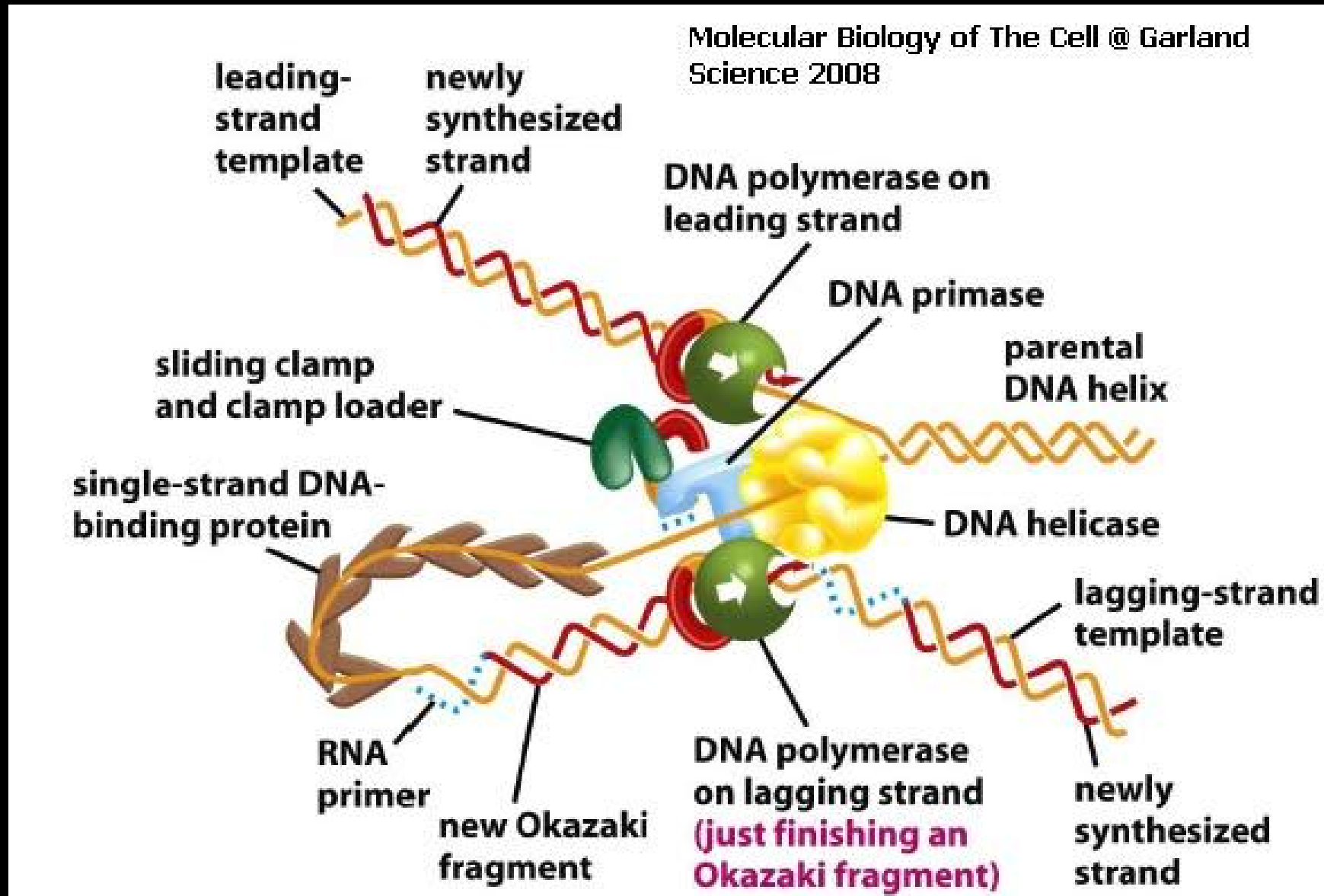
1. Pengudaran Heliks Ganda

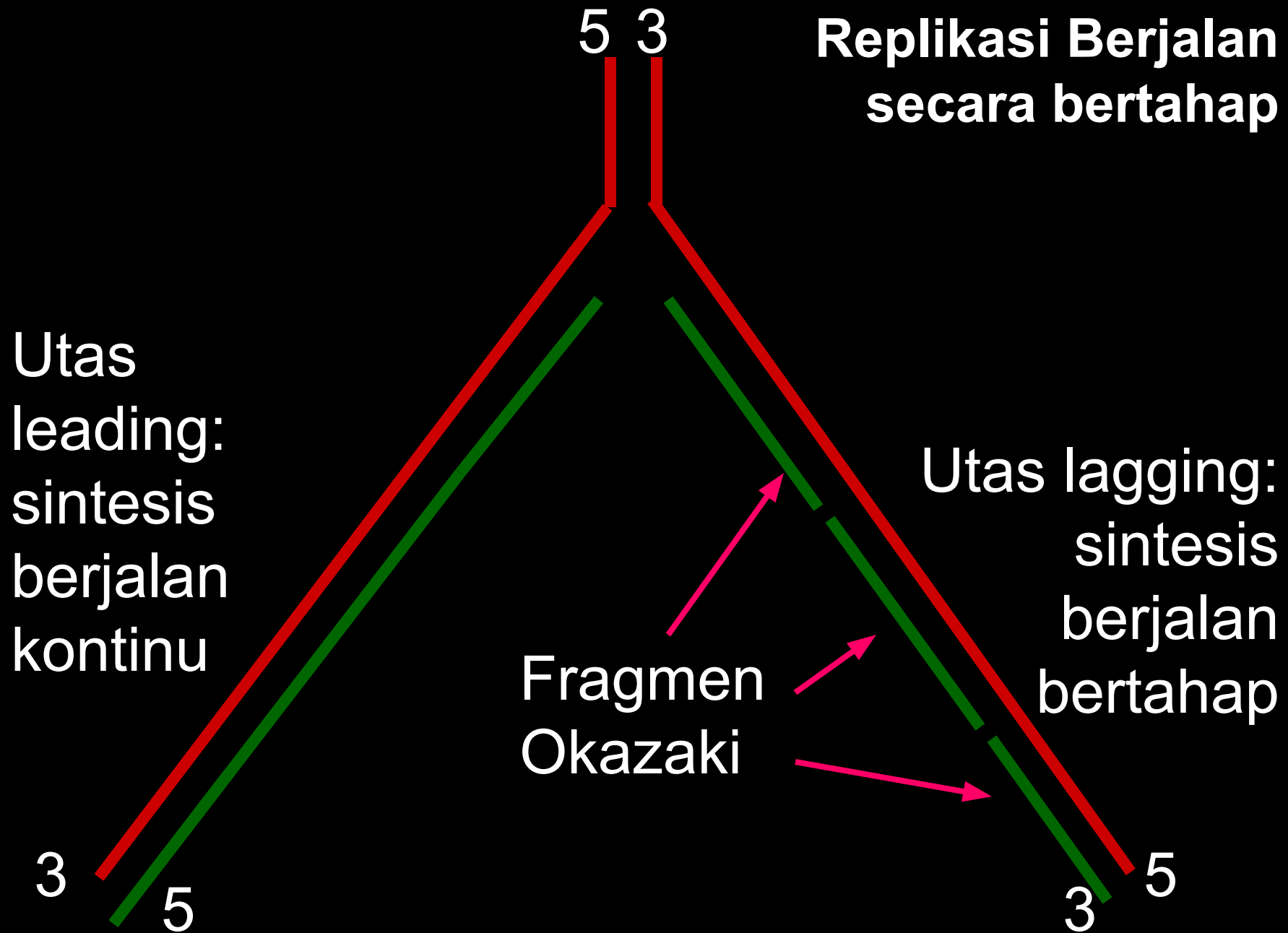
- Helikase : Berfungsi mengudar heliks ganda
- Girase : Menghilangkan tegangan pada pangkal percabangan replikasi
- Protein SSB : Mencegah utas tunggal bergabung membentuk kembali heliks ganda

2. Sintesis Utas Baru

- RNA Polimerase: Sintesis RNA primer
- DNA Polimerase III: Sintesis perpanjangan utas DNA baru
- DNA Polimerase I: Pengisian celah antara dua fragmen Okazaki dan membuang RNA primer
- Ligase: menyambung dua fragmen Okazaki

Enzim dalam Replikasi



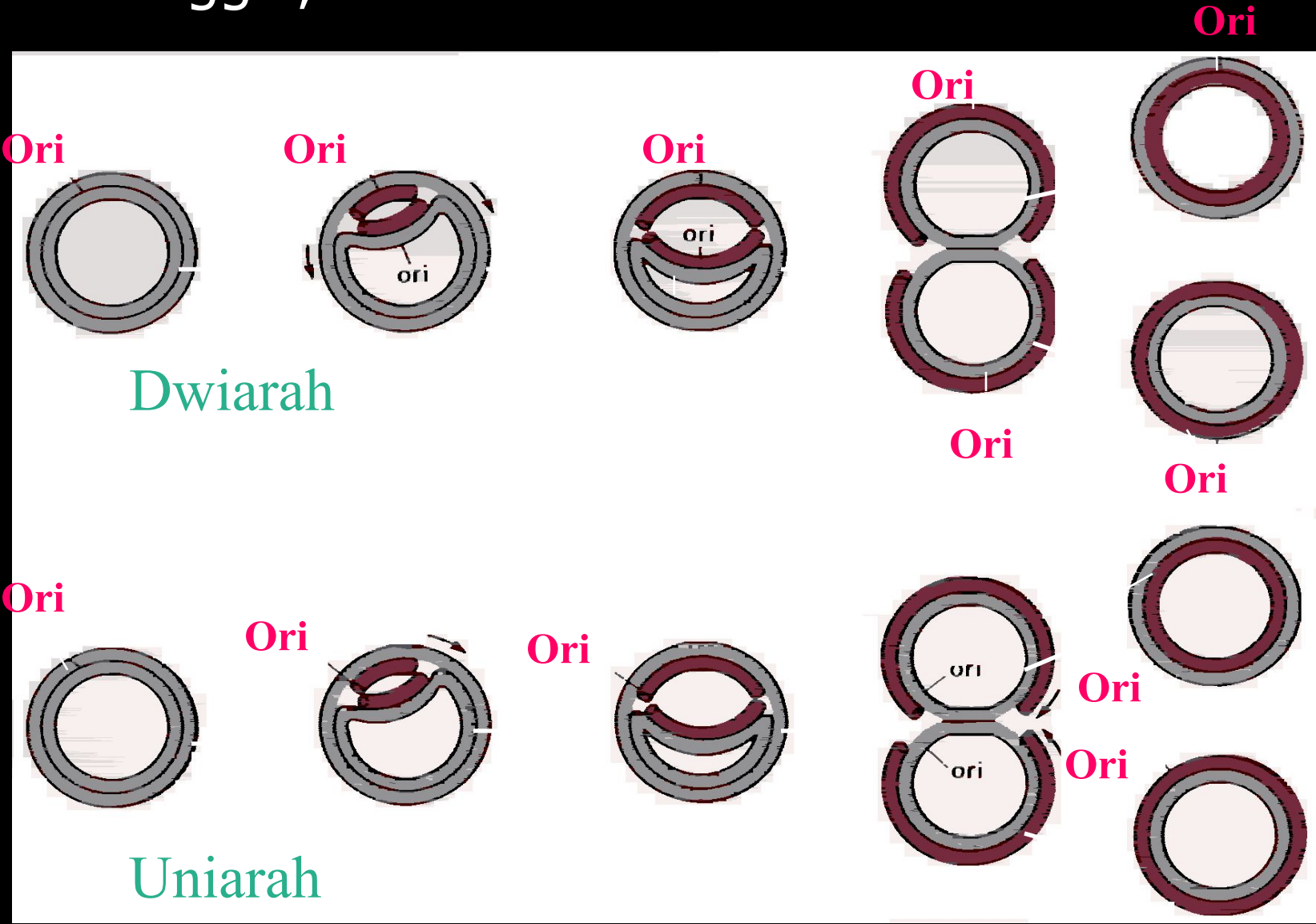


MEKANISME REPLIKASI BERBAGAI JENIS DNA

1. Kromosom Eukariot : Terbentuk percabangan replikasi, dimulai dari banyak titik Ori berjalan dwiarah
2. Model θ pada kromosom bakteri sirkular: terbentuk percabangan replikasi, mulai dari satu titik Ori berjalan dwiarah atau uniarah
3. Model σ pada plasmid atau virus sirkular: Tidak terbentuk percabangan replikasi, mulai dari satu titik berjalan uniarah
4. DNA mitokondria: Setiap utasan DNA mempunyai satu titik Ori, dari masing-masing Ori dimulai sintesis utas baru berjalan uniarah

MODEL REPLIKASI KROMOSOM BAKTERI

Ori-tunggal, Dwiarah atau Uni-arah

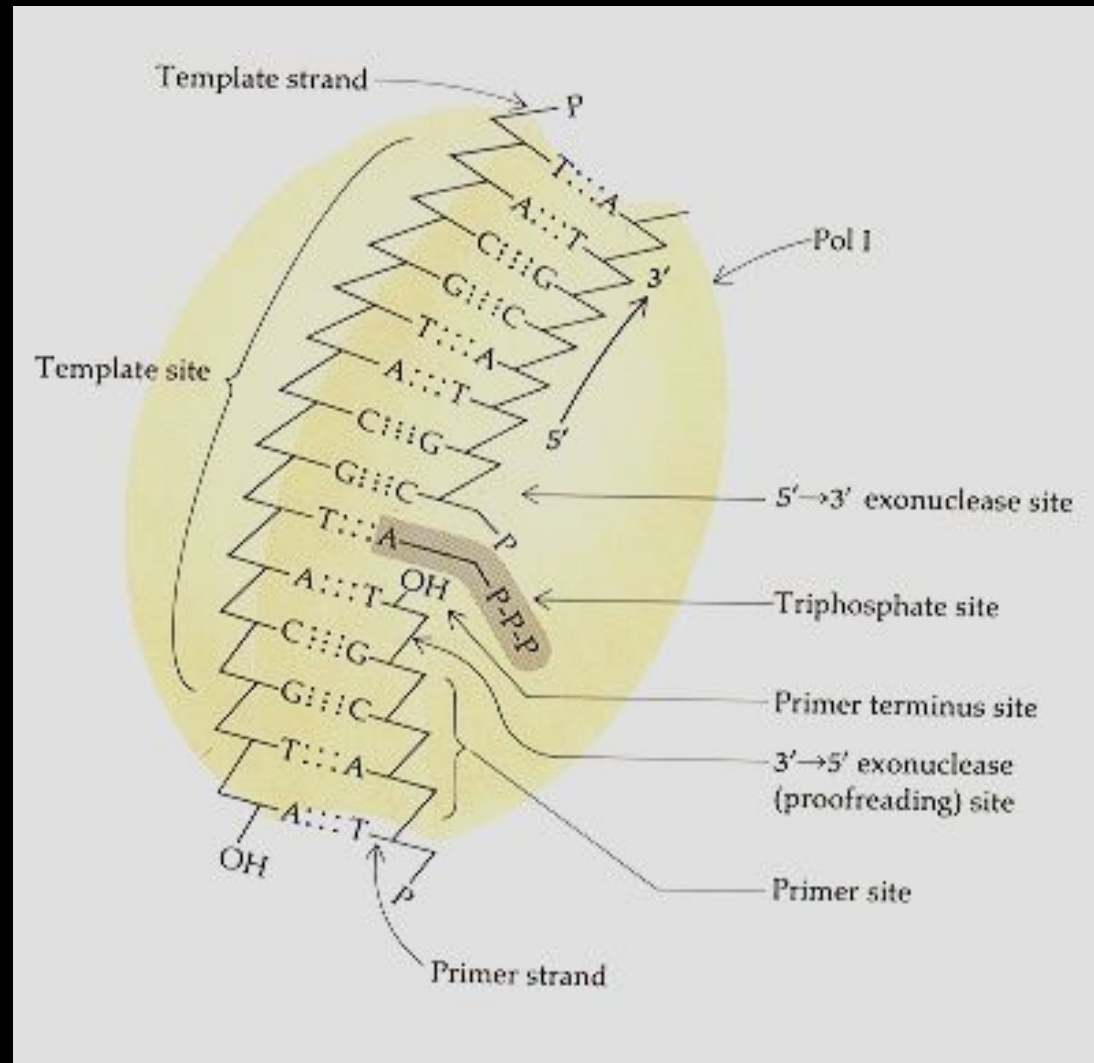


SISTEM KOREKSI DALAM REPLIKASI DNA

1. **Sistem pembacaan ulang** oleh DNA Polimerase, saat replikasi
 - DNA Polimerase (Bakteri) mempunyai kemampuan aktivitas eksonuklease 3-5 yang berfungsi membuang nukleotida yang salah pada saat replikasi
2. **Sistem koreksi pasca replikasi**
 - Setelah replikasi selesai terdapat protein/enzim yang dapat mengenali pasangan basa DNA yang tidak serasi. Basa yang tidak tepat akan diganti dengan yang seharusnya

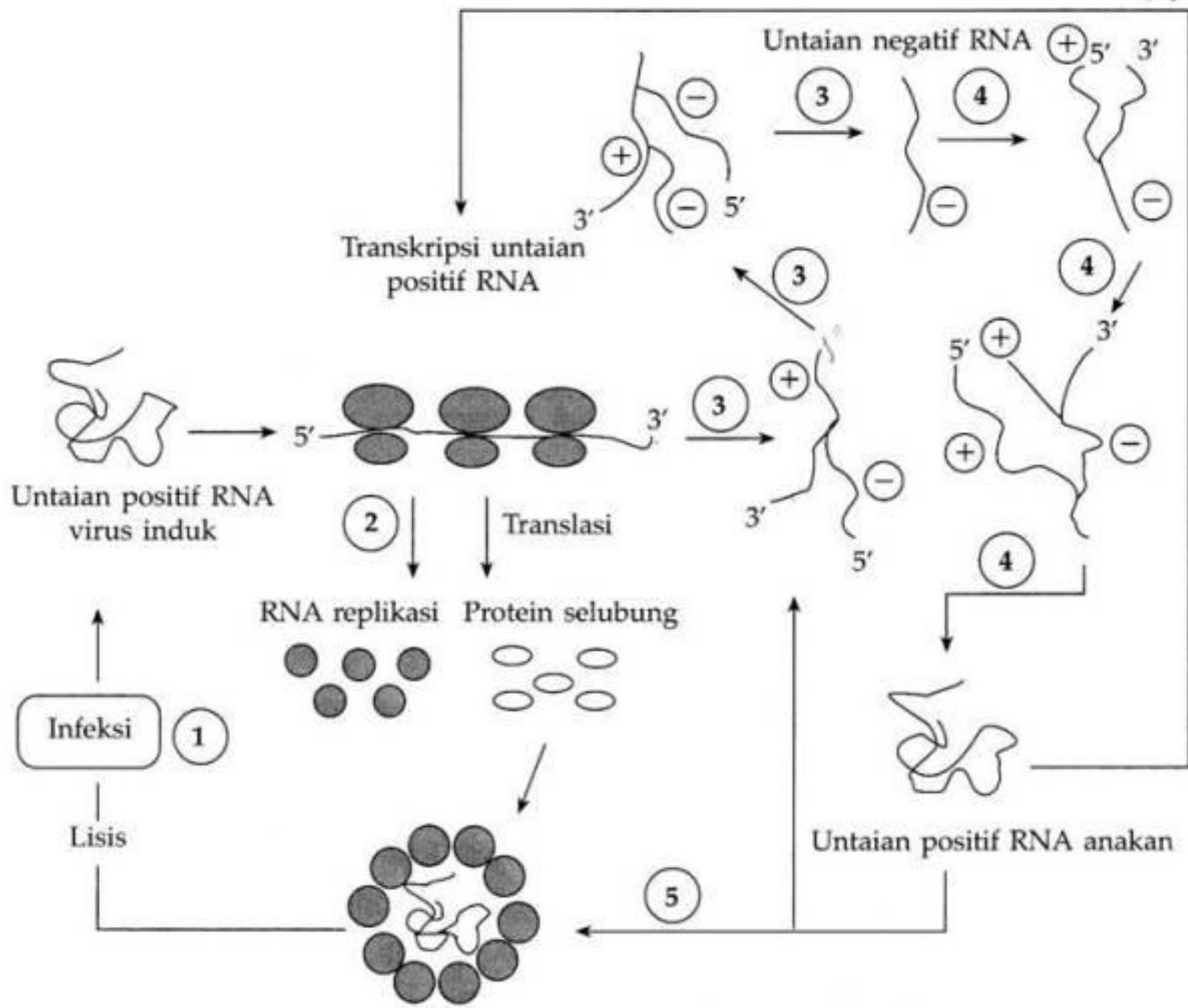
STRUKTUR POLIMERASE DNA

Menjamin ketepatan yang tinggi dalam Replikasi



REPLIKASI RNA GENOM VIRUS

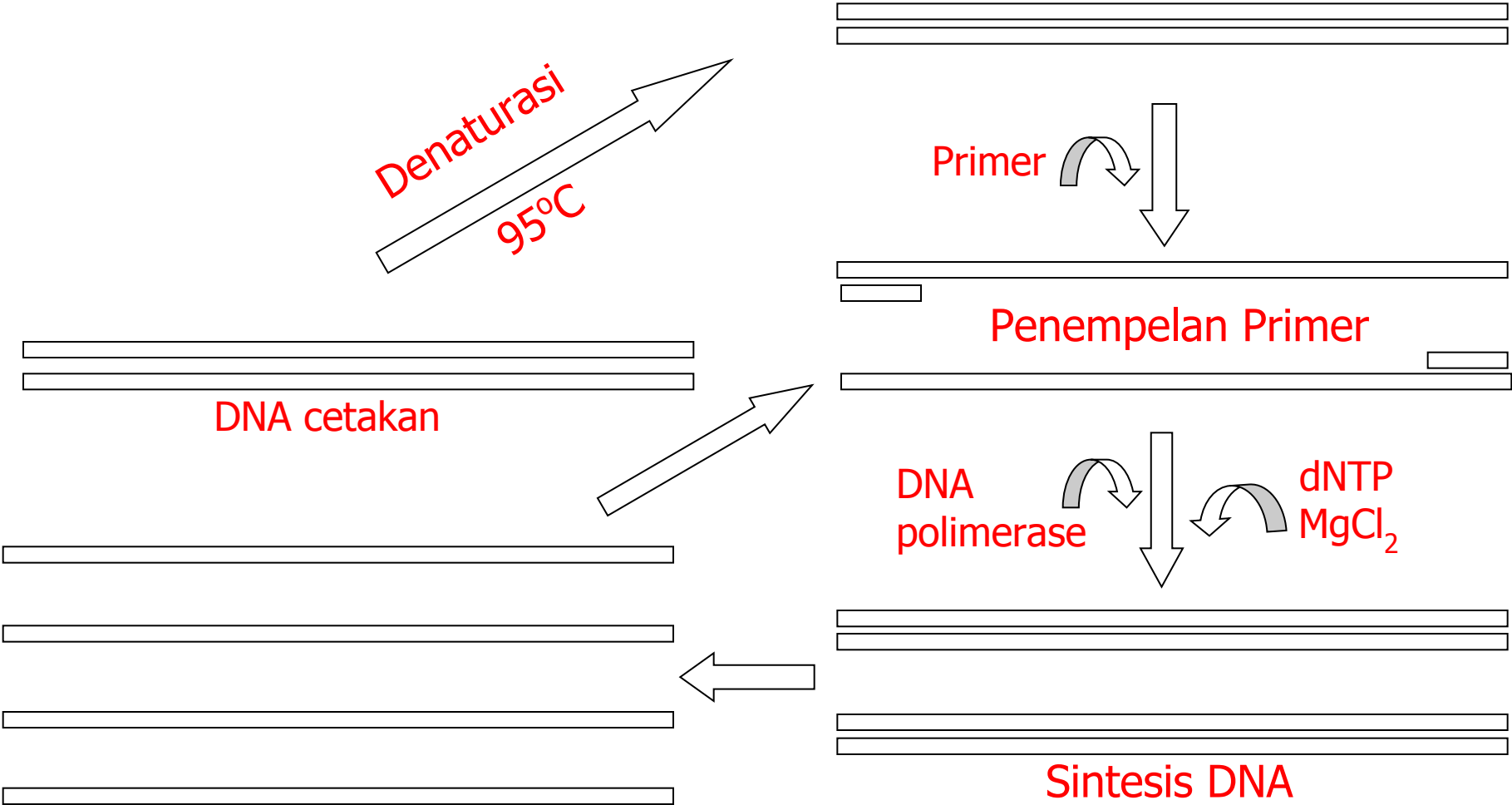
- Replikasi RNA berlangsung dalam perbanyakan virus RNA
- Replikasi RNA mengikuti Model Konservatif
- Replikasi RNA dimulai dengan proses infeksi sel inang
- RNA virus yang masuk ke dalam sel inang selanjutnya ditranslasi sehingga menghasilkan beberapa kopi enzim replikase dan protein selubung
- Replikase kemudian melakukan sintesis untai (-) dengan untai RNA induk (untai +) sebagai cetakan
- Untai (-) baru yang terbentuk, kemudian digunakan oleh replikase sebagai cetakan untuk proses sintesis untai (+)
- Untai (+) yang terbentuk tersebut mempunyai urutan nukleotida yang identik dengan urutan RNA virus yang pertama kali menginfeksi sel inang
- Selanjutnya, protein selubung yang disintesis saat translasi, akan mengenali untai RNA (+) tertentu



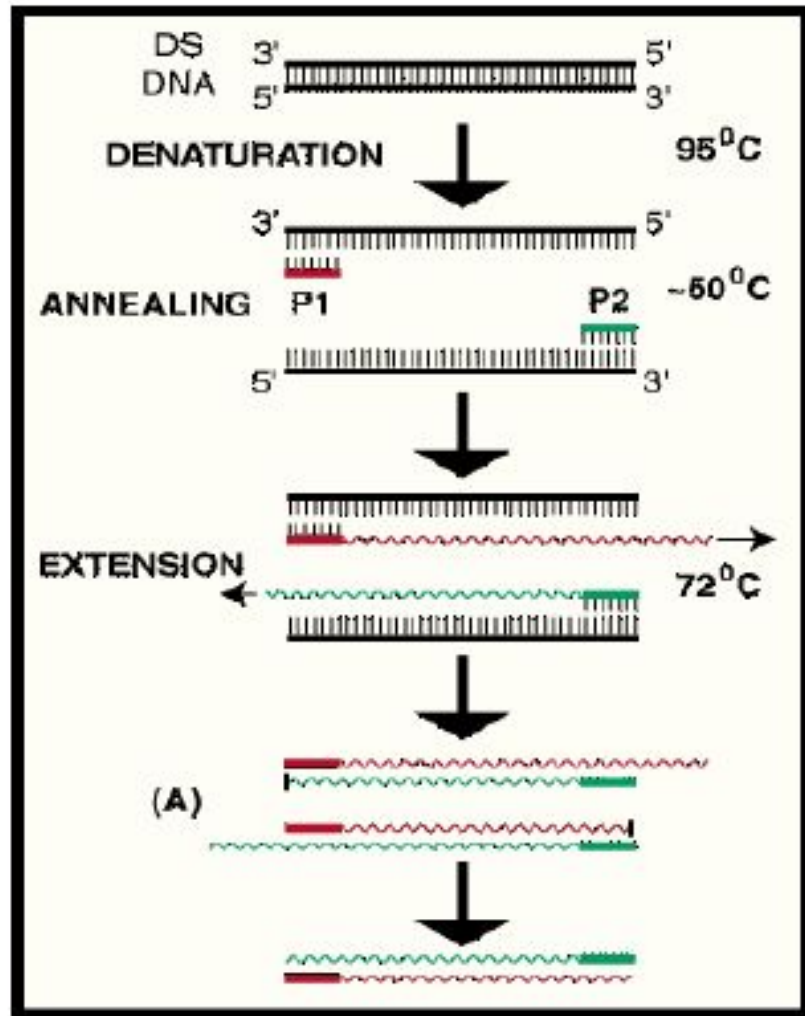
Gambar 7.11 Mekanisme replikasi virus RNA TMV (*tobacco mosaic virus*). (Diadaptasi dari Paoletta, 1997.)

Replikasi DNA secara in vitro

- Perbanyak DNA dg PCR



Polymerase Chain Reaction (PCR)



Kary Mullis, penemu PCR
Pemenang hadiah Nobel



KOMPONEN PCR

- cetakan DNA
- oligonukleotida pendek (primer)
- DNA polimerase termostabil : *Taq* Polymerase (*Thermus aquaticus*) & buffer
- dNTP (dATP, dTTP, dCTP dan dGTP)

