



www.esaunggul.ac.id

REKAYASA GENETIKA

IBD 131

By Seprianto S.Pi, M.Si

Pertemuan 12

DNA Polimorfisme 1



Sasaran Perkuliahan

- Mahasiswa memahami dan menjelaskan tentang pemanfaatan DNA polimorfisme dalam menentukan keragaman genetik makhluk hidup (Biodivesitas)
- Dapat menjelaskan Tentang SNP dan kegunaan dalam forensik
- Menjelaskan dan memahami proses penggunaan RFLP dalam menentukan keragaman genetik tanaman
- Pemafaatan VNTR dan STR dalam melihat hubungan kekerabatan spesies



DNA Polimorfisme

- SNP (Single Nucleotide Polymorphism)
- DNA Mikrosatelit /Short Tandem Repeat (STR)
- Variable Number of Tandem Repeat (VNTR)
- Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)
- Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)
- Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)
- Sequence Characterized Amplified Region (SCAR)
- DNA barkoding (Barcoding DNA)



Polymorphism

- A DNA **polymorphism** is a sequence difference compared to a reference standard that is present in at least 1–2% of a population.
- Polymorphisms can be single bases or thousands of bases.
- Polymorphisms may or may not have phenotypic effects.



Polymorphic DNA Sequences

- Polymorphisms are found throughout the genome.
- If the location of a polymorphic sequence is known, it can serve as a landmark or **marker** for locating other genes or genetics regions.
- Each polymorphic marker has different versions or **alleles**.

Types of Polymorphic DNA Sequences

- **RFLP**: restriction fragment length polymorphisms
- **VNTR**: variable number tandem repeats (8 to >50 base pairs)
- **STR**: short tandem repeats (1–8 base pairs)
- **SNP**: single-nucleotide polymorphisms

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

- Analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) adalah salah satu teknik pertama yang secara luas digunakan untuk mendeteksi variasi pada tingkat sekuen DNA.
- Deteksi RFLP dilakukan berdasarkan pada adanya kemungkinan untuk membandingkan profil pita-pita yang dihasilkan setelah dilakukan pemotongan dengan enzim restriksi terhadap DNA target

Berbagai keunggulan penerapan marker RFLP antara lain :

1. Menduga hubungan kekerabatan dari beberapa individu yang dianalisis,
2. Menduga ada tidaknya variasi genetik dari koleksi plasma nutfah
3. Memonitor proses seleksi (melalui linkage) berbagai karakter
4. Memilah-milah komponen genetik dari karakter kuantitatif
5. Menganalisis gen yang berasal dari proses transformasi genetik
6. Bersifat kodominan sehingga dapat mendeteksi adanya heterozigositas
7. Memiliki kemampuan penegelompokan pada tingkat spesies, populasi.

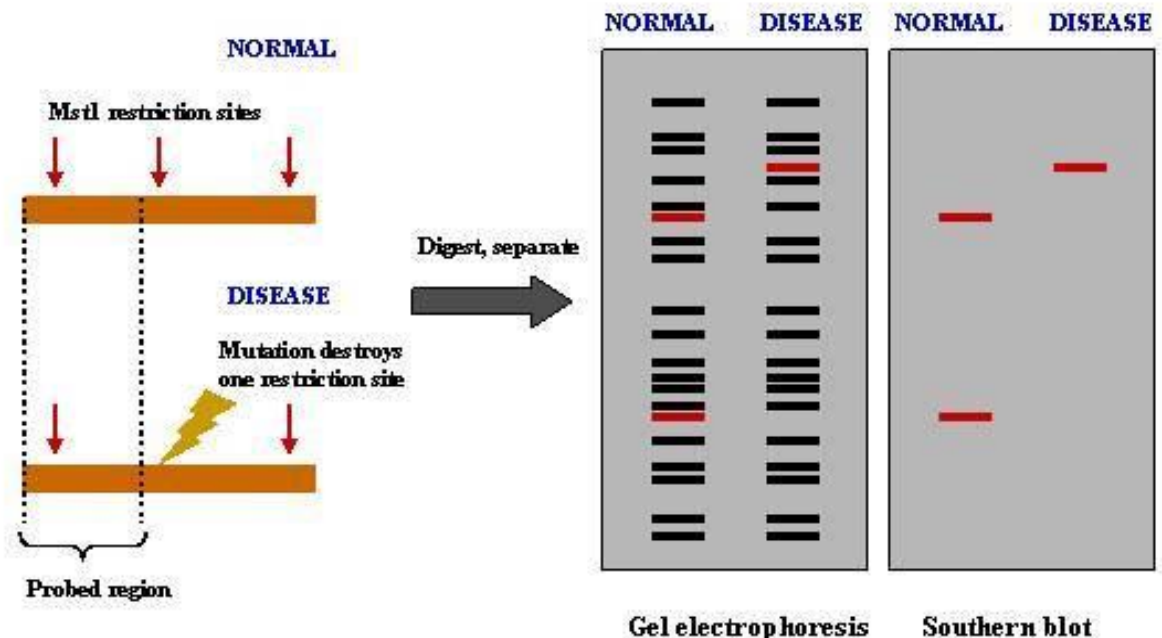


Aplikasi RFLP

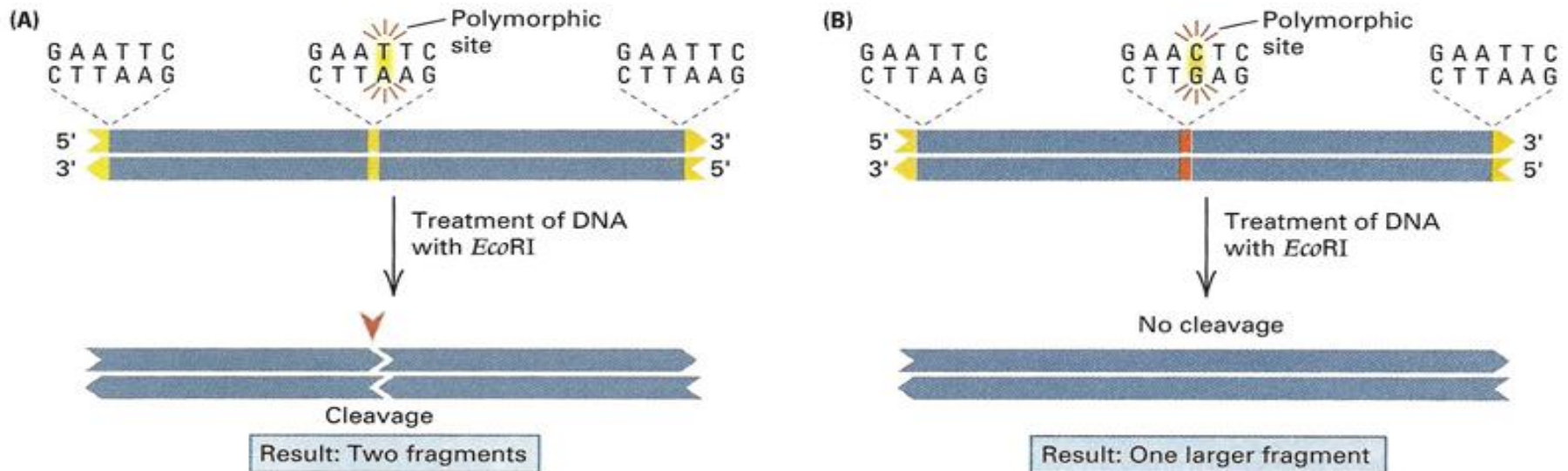
1. pemetaan genom,
2. genome typing,
3. tes paternitas,
4. forensic dan
5. diagnostik hereditas penyakit.

Tahapan RFLP meliputi 4 tahapan

1. isolasi DNA,
2. Pemotangan DNA dengan enzim restriksi endonuklease,
3. Elektroforesi hasil pemotangan DNA
4. Southern blot

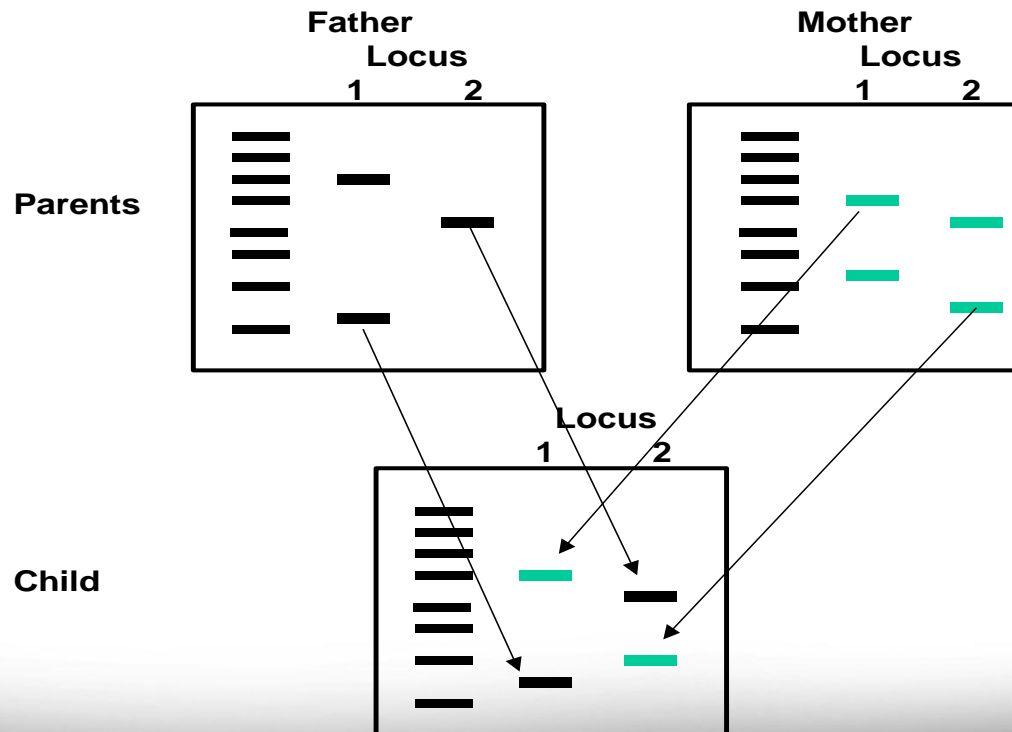


Restriction fragment length polymorphism (RFLP)



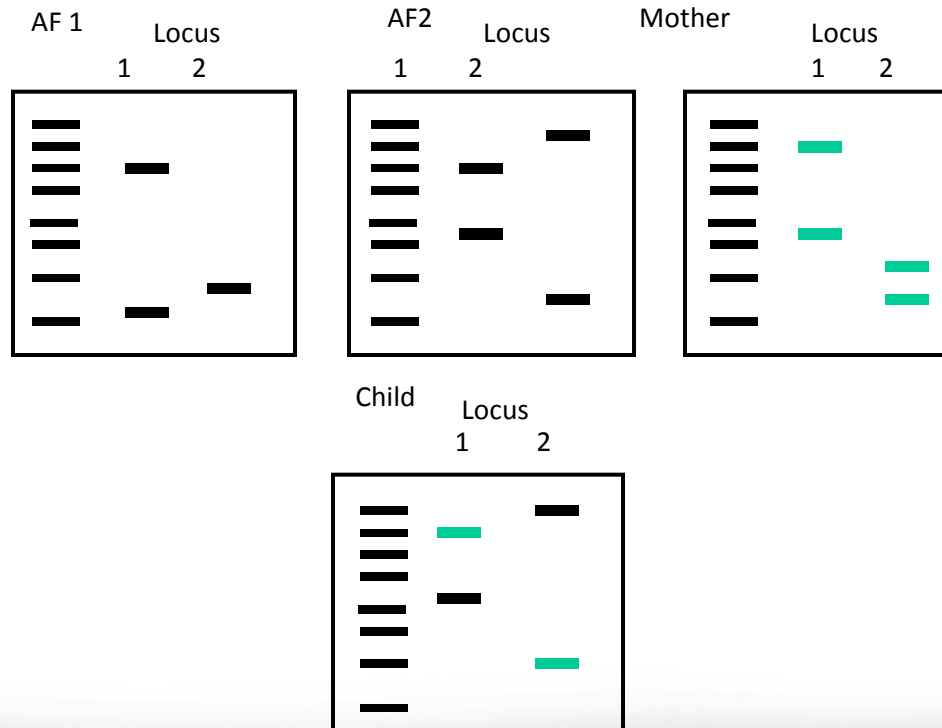
Restriction Fragment Length Polymorphisms

- RFLP genotypes are inherited.
- For each locus, one allele is inherited from each parent.



Parentage Testing by RFLP

Which alleged father's genotype has the paternal alleles?





SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*)

1. SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) adalah variasi urutan DNA yang terjadi ketika sebuah nukleotida tunggal A, T, C, dan G dalam suatu genom (atau urutan bersama lainnya) berbeda antara anggota suatu spesies biologis atau kromosom dipasangkan

SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*)

- Dua fragmen DNA *sequencing* dari individu yang berbeda AACCTTA ke AAGCTTA,.
- Dalam hal ini kita dapat mengatakan ada dua alel. Hampir semua SNP mempunyai dua alel.
- Distribusi SNP tidak homogen,
- SNP terjadi pada daerah *noncoding*



SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*)

SNP dapat terjadi baik pada *coding* maupun *noncoding region* pada genom :

a) ***Coding***

Synonymous polymorphism : tidak merubah asam amino

b) ***Non coding***

Bisa terjadi di intron, pseudogene, 5' UTR, 3' UTR, intergenic regions

Replacement polymorphism

Functional : mengubah asam amino tapi memiliki fungsi yang sama

Nonfunctional : mengubah asam amino dan fungsinya juga berbeda



Keberdaan SNP

SNPs telah banyak dideteksi di: manusia, hewan dan tanaman khususnya tanaman pertanian

Frekuensi SNPs

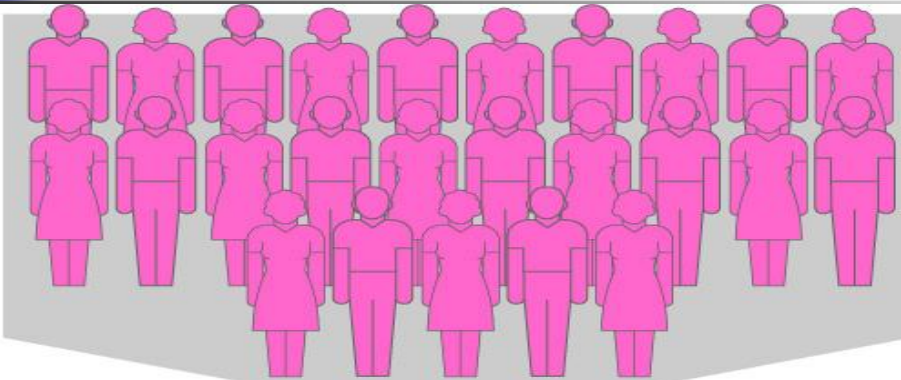
- Diperkirakan 90% variasi genetik di manusia dalam bentuk SNPs
- Dolphin: 254 bp
- Mamalia (simpanse): 400 bp
- Barley (11 varietas): 131 bp
- Jagung: 28-124 bp
- Ubi : 62 bp
- Kentang: 21 bp



Profil SNP pada Manusia

1. Genome setiap individu mengandung pola SNP yang berbeda.
2. Orang dapat dikelompokkan berdasarkan profil SNP.
3. SNPs Profil penting untuk mengidentifikasi respons terhadap Terapi Obat.
4. Korelasi mungkin muncul antara profil SNP tertentu dan tanggapan spesifik terhadap pengobatan.

SNP Profiles

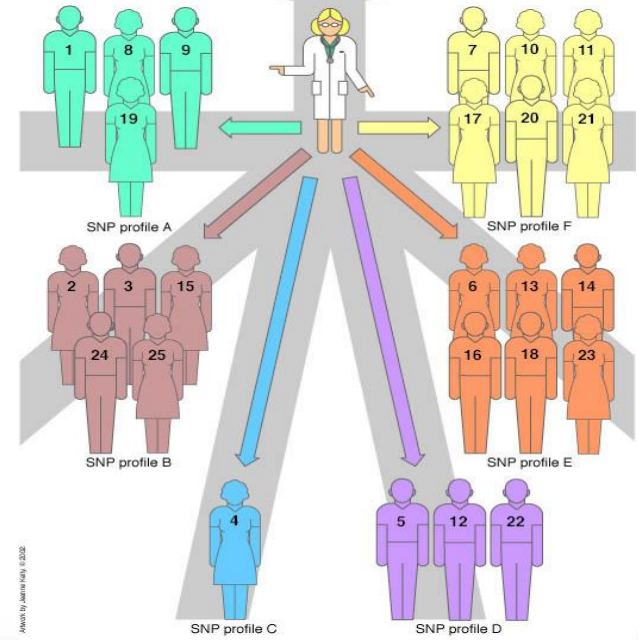
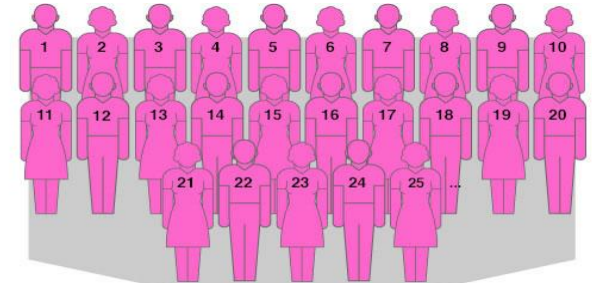


All chromosomes are sequenced
 All SNPs are recorded

SNP location

ATTCCCGGG
 ATTCCCGGG
 ATTCCCGGG
 ATTCCCGGG

SNP Data
 SNP #1, Chromosome 1, Position 20, G → C
 SNP #2, Chromosome 1, Position 25, C → G





Kegunaan SNP

1. Pemetaan penyakit kompleks dan asosiasinya, forensik dan inference sejarah populasi pada manusia
2. Identifikasi individu hewan dan analisa tetuanya
3. Identifikasi hibrid, cth: spruce (*Picea glauca*, *P. mariana* dan *P. rubens*): 2-4 SNPs, 96-100% mampu membedakan antar ketiga spruce
4. ketahanan terhadap patogen , cth: pada kentang Asosiasinya dengan karakter ekonomis seperti gen yang terkait dengan pembentukan pati pada padi, kentang dll.

SNP genotyping methods for detecting genes contributing to susceptibility or resistance to multifactorial diseases, adverse drug reactions:

=> case-control association analysis

case

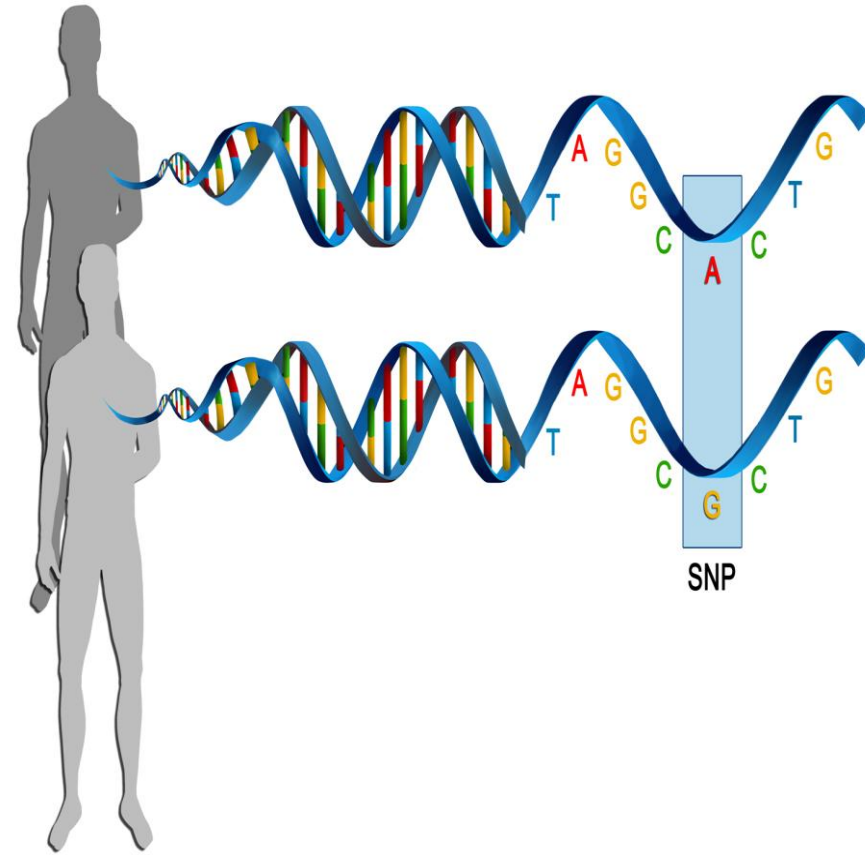
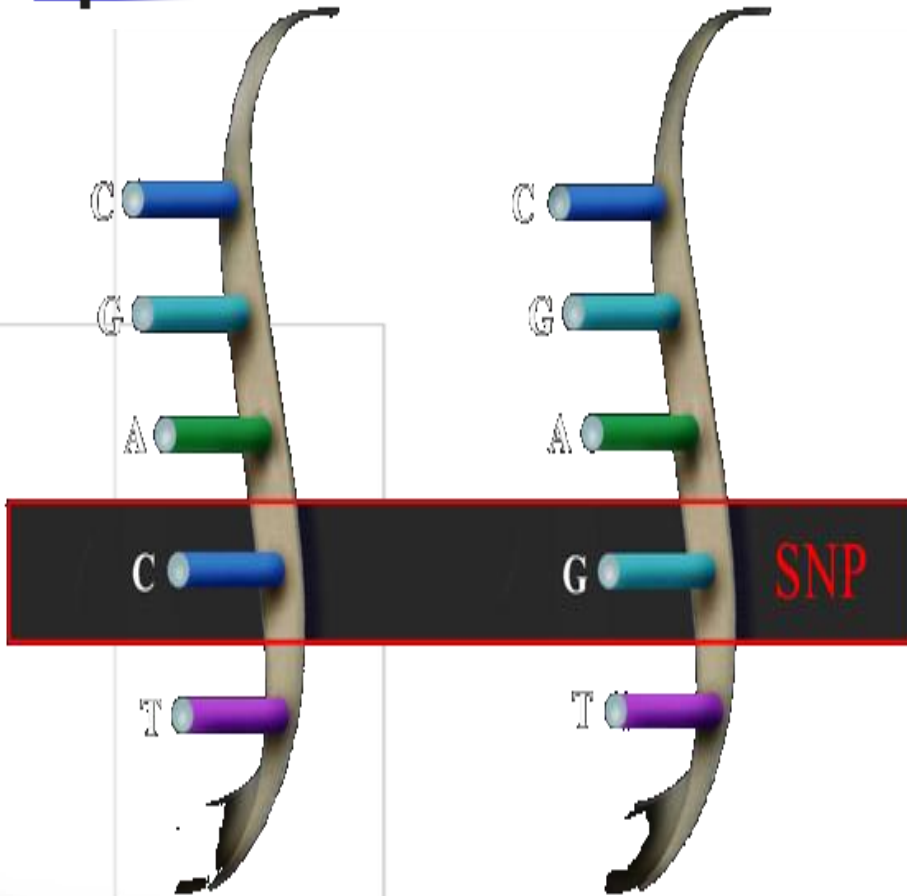
... . GCC**G**TTGAC... .
... . GCC**A**TTGAC... .

control

... . GCC**A**TTGAC... .
... . GCC**A**TTGAC... .



Single Nucleotide Polymorfisme (SNP)





VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)

- Lokasi dalam genom di mana nukleotida pendek diatur sebagai pengulangan tandem
- Ini dapat ditemukan pada banyak kromosom dan panjangnya bervariasi
- Setiap varian bertindak sebagai alel turunan yang memungkinkan digunakan untuk identifikasi
- Berguna dalam genetika, penelitian biologi, forensik, dan sidik jari DNA



VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)

- VNTR adalah jenis pengulangan tandem di antara mereka yang memiliki unit berulang yang terdiri dari 10 sampai 100 nukleotida. VNTR adalah jenis minisatellite. Mengulang tandem ini dapat ditemukan di banyak kromosom
- VNTRs menunjukkan polimorfisme ulang tandem di antara individu.
- Panjang VNTR di lokasi tertentu dari kromosom sangat bervariasi antar individu karena variasi jumlah unit pengulangan yang diatur dalam bagian DNA tersebut



VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)

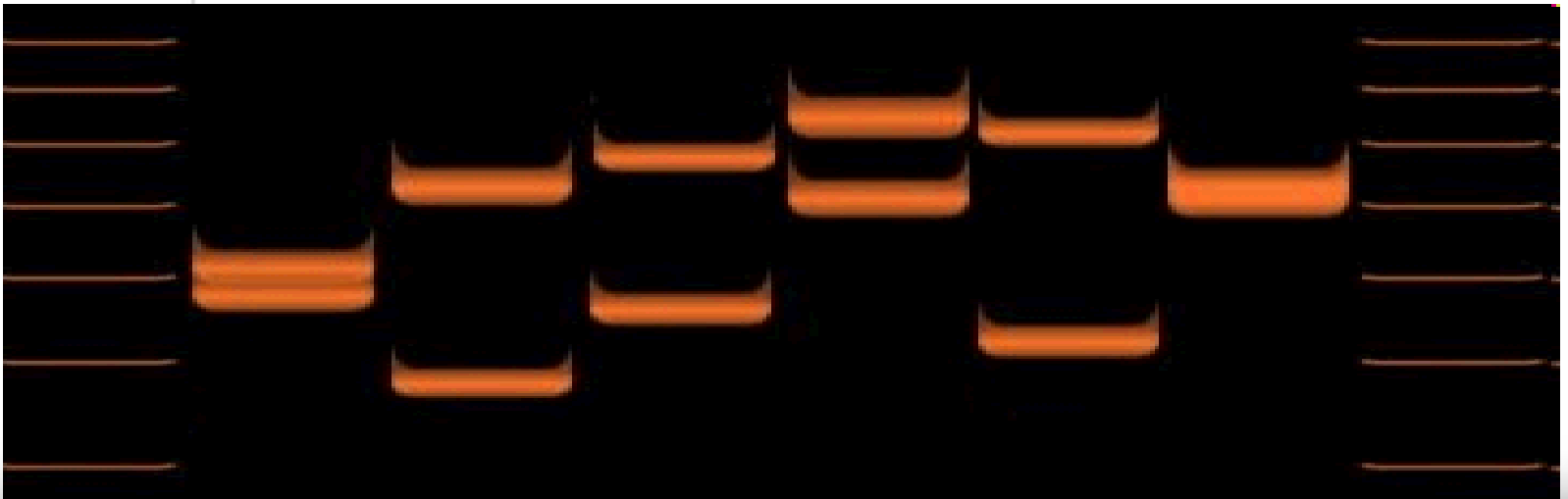
- VNTR adalah penanda genetik pertama yang digunakan untuk menghitung transplantasi sumsum tulang belakang. VNTRs juga merupakan penanda polimorfik pertama yang digunakan dalam pembuatan profil DNA di forensik.

VNTR Analysis

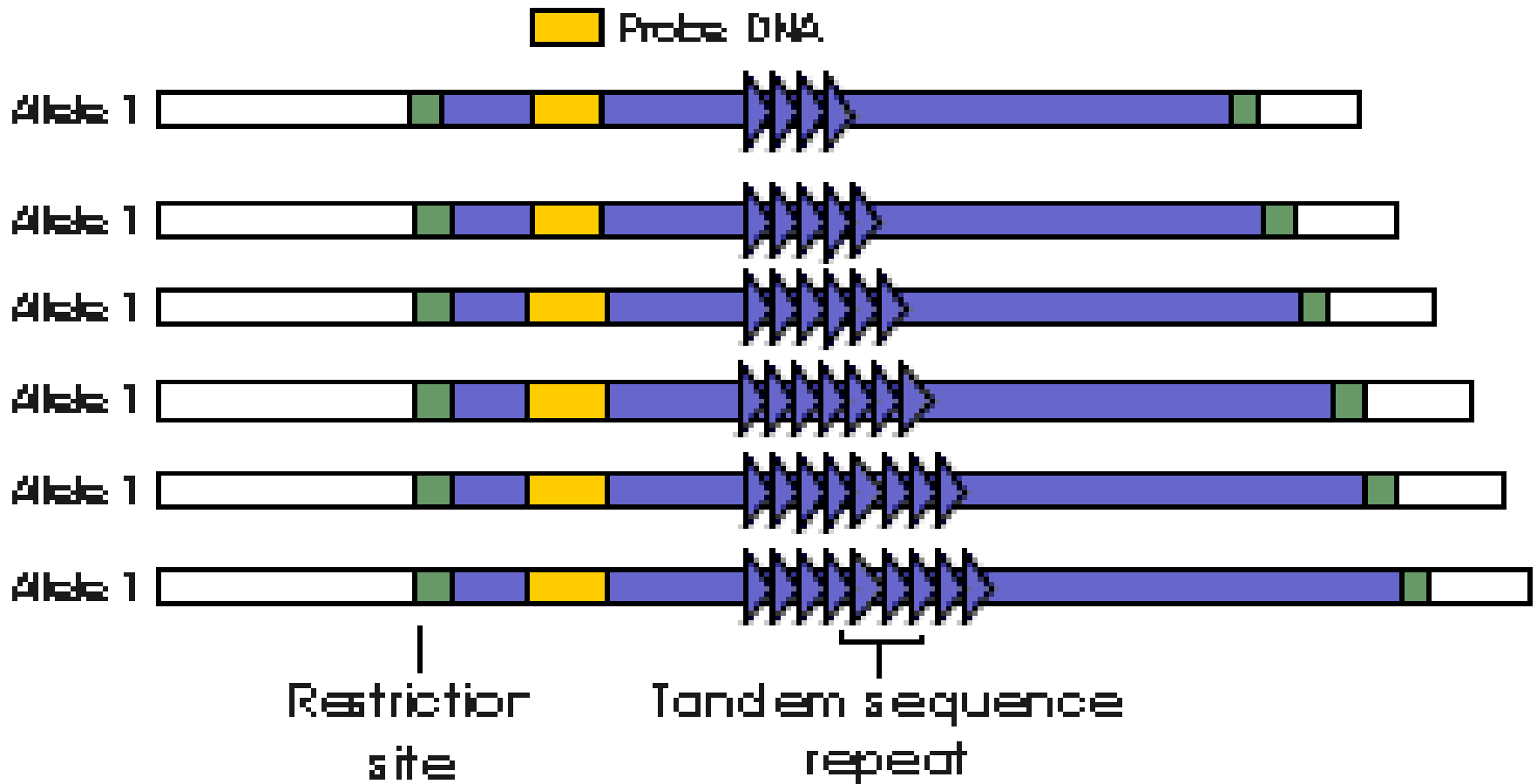
- used in linkage analysis (mapping) of genomes.
- Has become essential to forensic crime investigation.
- May use PCR.
- Size determined by gel electrophoresis and Southern blotting to produce pattern of bands unique to each individual.
- The likelihood of 2 unrelated individuals having same allelic pattern extremely improbable.
- VNTR also being used to study genetic diversity and breeding patterns in animals.

VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)

- VNTR blocks can be extracted with restriction enzymes and analyzed by RFLP or amplified by PCR and size determined by electrophoresis
- The picture below illustrates VNTR allelic length variation among 6 individuals.



VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)



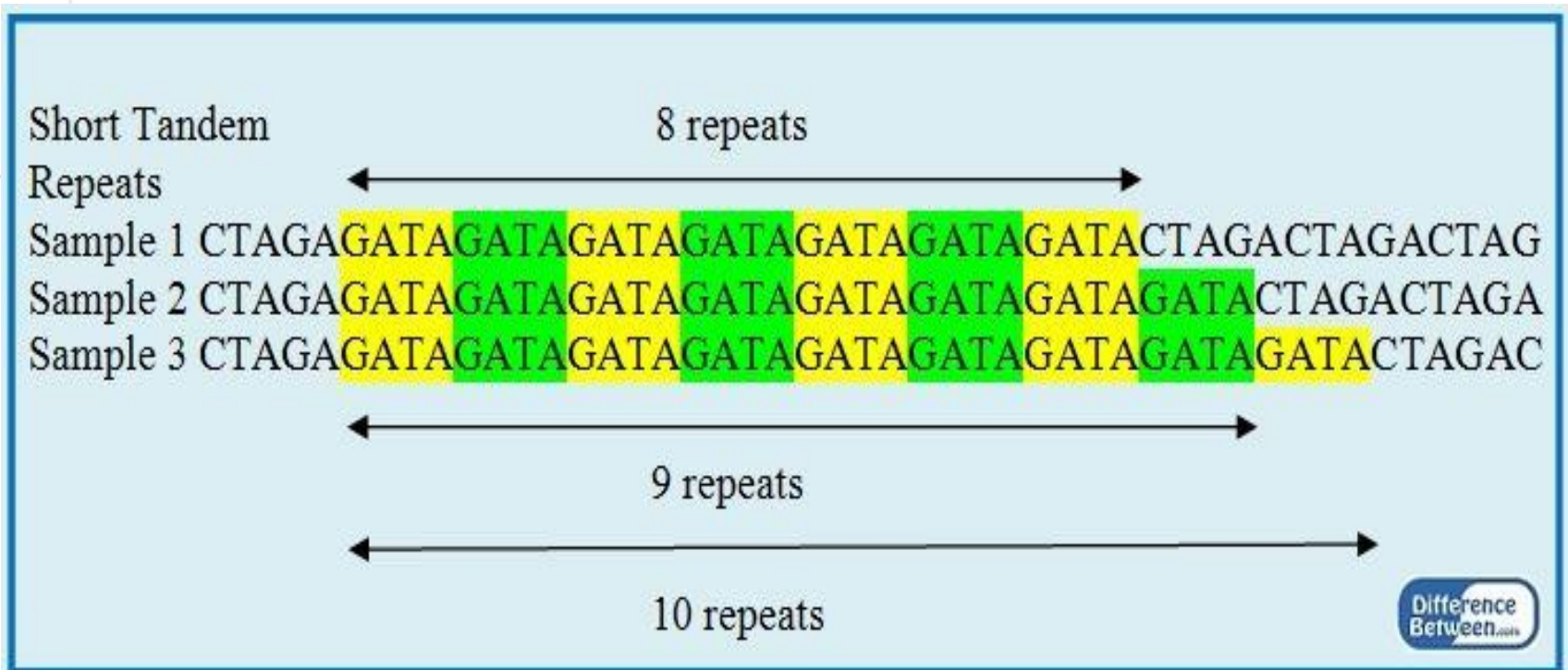
Short Tandem Repeat Polymorphisms (STR)

- STR adalah bagian DNA yang sangat repetitif yang terdiri dari dua sampai tiga belas unit pengulangan nukleotida yang disusun secara tandem.
- STR mirip dengan VNTR. Tapi itu bervariasi dari VNTR dari jumlah nukleotida dalam urutan berulang dan jumlah pengulangan. STR adalah sejenis mikrosatelit

Short Tandem Repeat Polymorphisms (STR)

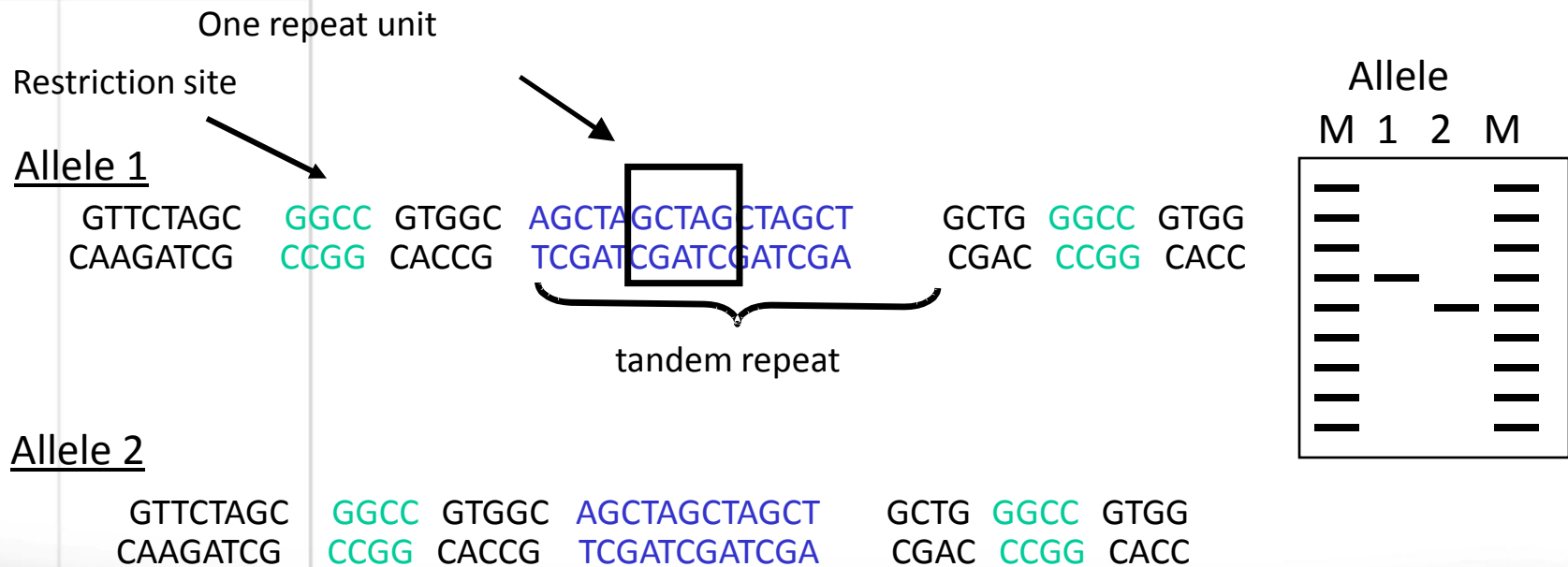
- STR are repeats of nucleotide sequences.
 - AAAAAA... - mononucleotide
 - ATATAT... - dinucleotide
 - TAGTAGTAG... - trinucleotide
 - TAGTTAGTTAGT... - tetranucleotide
 - TAGGCTAGGCTAGGC... - pentanucleotide
- Different alleles contain different numbers of repeats.
 - TTCTTCTTCTTC - four repeat allele
 - TTCTTCTTCTTCTTC - five repeat allele

Short Tandem Repeat Polymorphisms (STR)



Short Tandem Repeat Polymorphisms

STR alleles can be analyzed by fragment size (Southern blot).



STR – Applications

- Forensics
 - The Federal Bureau of Investigation (FBI) has chosen 13 specific STR loci to serve as the standard for CODIS.
 - Mass disasters
 - Paternity testing
 - Military DNA “dog tag”
 - Convicted felon DNA databases
- Bone marrow transplant follow up
 - Important for establishing graft rejection and disease relapse
 - The ratio of allele peak heights between donor and recipient good indication of success

Apa persamaan Antara VNTR dan STR?

- VNTR dan STR adalah DNA tanpa kode.
- Keduanya mengulangi tandem.
- Keduanya menunjukkan polimorfisme antar individu karena perbedaan panjang bagian DNA.
- Keduanya digunakan sebagai penanda genetik yang kuat dalam pencetakan jari DNA dan dalam studi forensik.

Apa Perbedaan Antara VNTR dan STR?

- **VNTR** adalah DNA berulang yang tidak berulang yang memiliki urutan nukleotida pendek yang diulang dengan cara tandem.
- **STR** adalah bagian DNA yang sangat repetitif yang terdiri dari dua sampai tiga belas unit pengulangan nukleotida yang disusun secara tandem.
- **Ukuran**
VNTR lebih besar dari STR.
STR lebih kecil dari VNTR.
- **Jumlah Nukleotida dalam Repeating Sequence**
Unit pengulangan VNTR terdiri dari 10 sampai 100 nukleotida.
Unit pengulangan STR terdiri dari 2 sampai 13 nukleotida.

THANK
YOU



607132.wordpress.com

Noviani's Blog

