

Analisis polimorfisme sekuens gen Adenosin Trifosfat (ATP) sintase subunit beta

Inggriani Listiawan, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=71508&lokasi=lokal>

Abstrak

Ruang Lingkup dan Cara Penelitian: Adenosin Trifosfat (ATP) sintase berfungsi sebagai tempat sintesis ATP dari ADP dan Pi dengan menggunakan energi gradien proton. Kompleks ATP sintase merupakan satu dari enzim penting yang sangat diperlukan untuk metabolisme sel secara umum. Enzim ini terdiri dari dua bagian, yaitu bagian yang mengandung situs katalitik (F1) dan bagian proton channel (F0). Subunit dari F1 merupakan salah satu subunit kunci karena memiliki situs aktif atau situs katalitik bagi ATP dan merupakan protein yang highly conserved memiliki 70 % homologi antara manusia dengan E. coli, yang memberikan indikasi akan pentingnya bagian tersebut.

Saat ini telah diketahui secara lengkap dua sekuens gen ATP sintase subunit yaitu dari Ohta S. et al.(1988) dan Neckelmann et. al. (1989) yang menunjukkan adanya variasi polimorfik. Karena perbedaan sekuens dapat mempengaruhi ekspresi dan fungsi protein ATP sintase subunit dalam metabolisme energi mitokondia, dan mungkin berasosiasi dengan keadaan patologis tertentu, maka dalam penelitian ini dilakukan studi untuk mencari bukti adanya variasi polimorfik ATP sintase subunit dengan memanfaatkan keragaman etnik di Indonesia. Sekuens DNA dari gen ATP sintase subunit ditentukan dengan menentukan disain primer dan mengamplifikasi daerah penyandi asam amino (ekson 1 sampai dengan ekson 10) dari gen tersebut. Penapisan varian polimorfik dilakukan dengan metode PCR-RFLP.

Hasil dan Kesimpulan: Hasil sekuens DNA pada dua individu populasi Indonesia ternyata serupa dengan sekuens Neckelmann dan memiliki banyak perbedaan dengan sekuens Ohta. Dari hasil metoda PCR-RFLP serta analisis hasil sekuensing ini ditemukan adanya delapan artefak sekuens pada daerah penyandi asam amino pada sekuens gen ATP sintase subunit hasil publikasi Ohta S. et al. Oleh karena itu sekuens gen ATP sintase subunit hasil publikasi Ohta S. et. al. tidak dapat digunakan sebagai sekuens referensi. Dengan menggunakan sekuens referensi baru ditemukan adanya polimorfisme pada sekuens gen ATP sintase subunit pada etnik Jawa dengan frekuensi 20 % dan frekuensi alel 10%.

Varian polimorfik baru yang ditemukan, mengakibatkan perubahan asam amino dari prolin menjadi leusin (P12L). Perubahan asam amino P12L dari ATP sintase subunit ini terletak pada daerah presekuens sehingga tidak berpengaruh terhadap struktur maupun fungsi dari ATP sintase subunit akan tetapi mungkin berpengaruh pada efektivitas penghantaran protein subunit ke membran dalam mitokondria.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: (1) Sekuens Ohta tidak dapat digunakan sebagai sekuens referens karena mengandung sejumlah artefak. (2) Konservasi gen ATP sintase subunit tinggi karena sebagian besar populasi Indonesia termasuk Papua sama dengan populasi Kaukasia dan Jepang. (3) Ditemukan polimorfisme baru pada sekuens gen ATP sintase subunit (P12L) pada populasi etnik Indonesia dengan: (a) alel frekuensi polimorfisme pada populasi Jawa sebesar 10%, (b) terdapat perubahan asam amino yang non konservatif, (c) P12L terdapat pada daerah presekuens yang unik untuk manusia. (4) Ada empat kumparan heliks yang memperlihatkan adanya gambaran amfipatik.