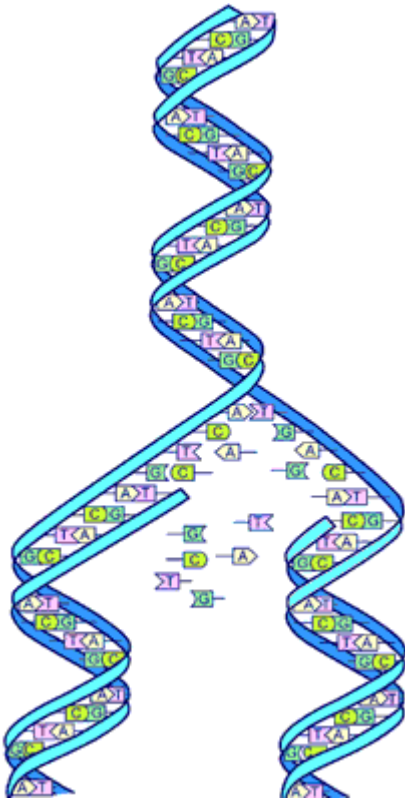


Replikasi DNA

Dari Wikipedia bahasa Indonesia, ensiklopedia bebas



Replikasi DNA yang terjadi, disebut replikasi semikonservatif, karena masing-masing dari kedua rantai DNA induk bertindak sebagai cetakan/templat untuk pembuatan dua rantai DNA dengan untai ganda yang baru.^{[1][2]}

Replikasi DNA adalah proses penggandaan rantai ganda [DNA](#). Pada [sel](#), replikasi DNA terjadi sebelum [pembelahan sel](#). [Prokariota](#) terus-menerus melakukan replikasi DNA. Pada [eukariota](#), waktu terjadinya replikasi DNA sangatlah diatur, yaitu pada fase S [siklus sel](#), sebelum [mitosis](#) atau [meiosis](#) I. Penggandaan tersebut memanfaatkan [enzim DNA polimerase](#) yang membantu pembentukan ikatan antara [nukleotida-nukleotida](#) penyusun polimer DNA. Proses replikasi DNA dapat pula dilakukan *in vitro* dalam proses yang disebut [reaksi berantai polimerase \(PCR\)](#).

Daftar isi

[[sembunyikan](#)]

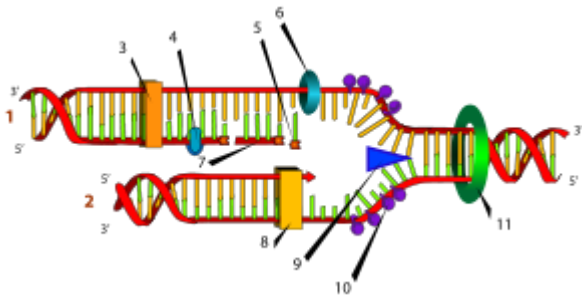
- [1 Garpu replikasi](#)
 - [1.1 Pembentukan leading strand](#)
 - [1.2 Pembentukan lagging strand](#)
 - [1.3 Dinamika pada garpu replikasi](#)
- [2 Replikasi di prokariota dan eukariota](#)
 - [2.1 Replikasi DNA prokariota](#)
 - [2.2 Replikasi DNA eukariota](#)
- [3 Pengaturan replikasi](#)
- [4 Rujukan](#)
- [5 Lihat pula](#)

Garpu replikasi

Garpu replikasi atau cabang replikasi (*replication fork*) ialah struktur yang terbentuk ketika DNA bereplikasi. Garpu replikasi ini dibentuk akibat enzim [helikase](#) yang memutus [ikatan-ikatan hidrogen](#) yang menyatukan kedua untai DNA, membuat terbukanya untai ganda tersebut menjadi dua cabang yang masing-masing terdiri dari sebuah untai tunggal DNA. Masing-masing cabang tersebut menjadi "cetakan" untuk pembentukan dua untai DNA baru berdasarkan urutan nukleotida komplementernya. DNA polimerase

membentuk untaian DNA baru dengan memperpanjang oligonukleotida yang dibentuk oleh enzim *primase* dan disebut *primer*.

DNA polimerase membentuk untaian DNA baru dengan menambahkan nukleotida—dalam hal ini, deoksiribonukleotida—ke ujung 3'-hidroksil bebas nukleotida rantai DNA yang sedang tumbuh. Dengan kata lain, rantai DNA baru disintesis dari arah 5'→3', sedangkan DNA polimerase bergerak pada DNA "induk" dengan arah 3'→5'. Namun demikian, salah satu untaian DNA induk pada garpu replikasi berorientasi 3'→5', sementara untaian lainnya berorientasi 5'→3', dan helikase bergerak membuka untaian rangkap DNA dengan arah 5'→3'. Oleh karena itu, replikasi harus berlangsung pada kedua arah berlawanan tersebut.



Replikasi DNA. Mula-mula, heliks ganda DNA (merah) dibuka menjadi dua untai tunggal oleh enzim helikase (9) dengan bantuan topoisomerase (11) yang mengurangi tegangan untai DNA. Untaian DNA tunggal dilekati oleh protein-protein pengikat untai tunggal (10) untuk mencegahnya membentuk heliks ganda kembali. Primase (6) membentuk oligonukleotida RNA yang disebut *primer* (5) dan molekul DNA polimerase (3 & 8) melekat pada seuntai tunggal DNA dan bergerak sepanjang untai tersebut memperpanjang primer, membentuk untaian tunggal DNA baru yang disebut *leading strand* (2) dan *lagging strand* (1). DNA polimerase yang membentuk *lagging strand* harus mensintesis segmen-segmen polinukleotida diskontinu (disebut fragmen Okazaki (7)). Enzim DNA ligase (4) kemudian menyambungkan potongan-potongan *lagging strand* tersebut.

Pembentukan *leading strand*

Pada replikasi DNA, untaian pengawal (*leading strand*) ialah untaian DNA yang disintesis dengan arah 5'→3' secara berkesinambungan. Pada untaian ini, DNA polimerase mampu membentuk DNA menggunakan ujung 3'-OH bebas dari sebuah primer RNA dan sintesis DNA berlangsung secara berkesinambungan, searah dengan arah pergerakan garpu replikasi.

Pembentukan *lagging strand*

Lagging strand ialah untaian DNA yang terletak pada sisi yang berseberangan dengan *leading strand* pada garpu replikasi. Untaian ini disintesis dalam segmen-segmen yang disebut [fragmen Okazaki](#). Pada untaian ini, primase membentuk primer RNA. DNA polimerase dengan demikian dapat menggunakan gugus OH 3' bebas pada primer RNA tersebut untuk mensintesis DNA dengan arah 5'→3'. Fragmen primer RNA tersebut lalu disingkirkan (misalnya dengan RNase H dan DNA Polimerase I) dan deoksiribonukleotida baru ditambahkan untuk mengisi celah yang tadinya ditempati oleh RNA. [DNA ligase](#) lalu menyambungkan fragmen-fragmen Okazaki tersebut sehingga sintesis *lagging strand* menjadi lengkap.

Dinamika pada garpu replikasi

Bukti-bukti yang ditemukan belakangan ini menunjukkan bahwa enzim dan protein yang terlibat dalam replikasi DNA tetap berada pada garpu replikasi sementara DNA membentuk gelung untuk mempertahankan pembentukan DNA ke dua arah. Hal ini merupakan akibat dari interaksi antara DNA polimerase, *sliding clamp*, dan *clamp loader*.

Sliding clamp pada semua jenis makhluk hidup memiliki struktur serupa dan mampu berinteraksi dengan berbagai DNA polimerase prosesif maupun non-prosesif yang ditemukan di sel. Selain itu, *sliding clamp* berfungsi sebagai suatu faktor prosesivitas. Ujung-C *sliding clamp* membentuk gelungan yang mampu berinteraksi dengan protein-protein lain yang terlibat dalam replikasi DNA (seperti DNA polimerase dan *clamp loader*). Bagian dalam *sliding clamp* memungkinkan DNA bergerak melaluinya. *Sliding clamp* tidak membentuk interaksi spesifik dengan DNA. Terdapat lubang 35Å besar di tengah *clamp* ini. Lubang tersebut berukuran sesuai untuk dilalui DNA dan air menempati tempat sisanya sehingga *clamp* dapat bergeser pada sepanjang DNA. Begitu polimerase mencapai ujung templat atau mendeteksi DNA berutas ganda (lihat di bawah), *sliding clamp* mengalami perubahan konformasi yang melepaskan DNA polimerase.

Clamp loader merupakan protein bersubunit banyak yang mampu menempel pada *sliding clamp* dan DNA polimerase. Dengan [hidrolisis ATP](#), *clamp loader* terlepas dari *sliding clamp* sehingga DNA polimerase menempel pada *sliding clamp*. *Sliding clamp* hanya dapat berikatan pada polimerase selama terjadinya sintesis utas tunggal DNA. Jika DNA rantai tunggal sudah habis, polimerase mampu berikatan dengan subunit pada *clamp loader* dan bergerak ke posisi baru pada *lagging strand*. Pada *leading strand*, [DNA polimerase III](#) bergabung dengan *clamp loader* dan berikatan dengan *sliding clamp*.

Replikasi di prokariota dan eukariota

Replikasi DNA prokariota

Replikasi DNA [kromosom prokariota](#), khususnya bakteri, sangat berkaitan dengan siklus pertumbuhannya. Daerah ori pada *E. coli*, misalnya, berisi empat buah tempat pengikatan protein inisiator DnaA, yang masing-masing panjangnya 9 pb. Sintesis protein DnaA ini sejalan dengan laju pertumbuhan bakteri sehingga inisiasi replikasi juga sejalan dengan laju pertumbuhan bakteri. Pada laju pertumbuhan sel yang sangat tinggi; DNA kromosom prokariota dapat mengalami reinisiasi replikasi pada dua ori yang baru terbentuk sebelum putaran replikasi yang pertama berakhir. Akibatnya, sel-sel hasil pembelahan akan menerima kromosom yang sebagian telah bereplikasi.

Protein DnaA membentuk struktur kompleks yang terdiri atas 30 hingga 40 buah molekul, yang masing-masing akan terikat pada molekul ATP. Daerah ori akan mengelilingi kompleks DnaA-ATP tersebut. Proses ini memerlukan kondisi superkoiling negatif DNA (pilinan kedua untai DNA berbalik arah sehingga terbuka). Superkoiling negatif akan menyebabkan pembukaan tiga sekuens repetitif sepanjang 13 pb yang kaya dengan AT sehingga memungkinkan terjadinya pengikatan protein DnaB, yang merupakan enzim [helikase](#), yaitu enzim yang akan menggunakan energi ATP hasil hidrolisis untuk bergerak di sepanjang kedua untai DNA dan memisahkannya.

Untai DNA tunggal hasil pemisahan oleh helikase selanjutnya diselubungi oleh [protein](#) pengikat untai tunggal atau single-stranded binding protein (Ssb) untuk melindungi DNA untai tunggal dari kerusakan fisik dan mencegah renaturasi. Enzim DNA primase kemudian akan menempel pada DNA dan menyintesis RNA primer yang pendek untuk memulai atau menginisiasi sintesis pada untai pengarah. Agar replikasi dapat terus berjalan menjauhi ori, diperlukan enzim helikase selain DnaB. Hal ini karena pembukaan heliks akan diikuti oleh pembentukan putaran baru berupa superkoiling positif. Superkoiling negatif yang terjadi secara alami ternyata tidak cukup untuk mengimbangnya sehingga diperlukan enzim lain, yaitu [topoisomerase](#) tipe II yang disebut dengan [DNA girase](#). Enzim DNA girase ini merupakan target serangan [antibiotik](#) sehingga pemberian antibiotik dapat mencegah berlanjutnya replikasi DNA [bakteri](#).

Seperti telah dijelaskan di atas, replikasi DNA terjadi baik pada untai pengarah maupun pada untai tertinggal. Pada untai tertinggal suatu kompleks yang disebut primosom akan menyintesis sejumlah RNA primer dengan interval 1.000 hingga 2.000 basa. Primosom terdiri atas helikase DnaB dan DNA primase.

Primer baik pada untai pengarah maupun pada untai tertinggal akan mengalami [elongasi](#) dengan bantuan holoenzim DNA polimerase III. Kompleks multisubunit ini merupakan dimer, separuh akan bekerja pada untai pengarah dan separuh lainnya bekerja pada untai tertinggal. Dengan demikian, sintesis pada kedua untai akan berjalan dengan kecepatan yang sama.

Masing-masing bagian dimer pada kedua untai tersebut terdiri atas subunit α , yang mempunyai fungsi polimerase sesungguhnya, dan subunit ϵ , yang mempunyai fungsi penyuntingan berupa [eksonuklease 3' – 5'](#). Selain itu, terdapat subunit β yang menempelkan polimerase pada DNA.

Begitu primer pada untai tertinggal dielongasi oleh DNA polimerase III, mereka akan segera dibuang dan celah yang ditimbulkan oleh hilangnya primer tersebut diisi oleh DNA polimerase I, yang mempunyai aktivitas polimerase 5' – 3', eksonuklease 5' – 3', dan eksonuklease penyuntingan 3' – 5'. Eksonuklease 5' – 3' membuang primer, sedangkan polimerase akan mengisi celah yang ditimbulkan. Akhirnya, fragmen-fragmen Okazaki akan dipersatukan oleh enzim [DNA ligase](#). Secara *in vivo*, dimer holoenzim DNA polimerase III dan primosom diyakini membentuk kompleks berukuran besar yang disebut dengan replisom. Dengan adanya replisom sintesis DNA akan berlangsung dengan kecepatan 900 pb tiap detik.

Kedua garpu replikasi akan bertemu kira-kira pada posisi 180 °C dari ori. Di sekitar daerah ini terdapat sejumlah terminator yang akan menghentikan gerakan garpu replikasi. Terminator tersebut antara lain berupa produk gen *tus*, suatu inhibitor bagi helikase DnaB. Ketika replikasi selesai, kedua lingkaran hasil replikasi masih menyatu. Pemisahan dilakukan oleh enzim [topoisomerase](#) IV. Masing-masing lingkaran hasil replikasi kemudian disegregasikan ke dalam kedua sel hasil pembelahan.

Replikasi DNA eukariota

Pada [eukariota](#), replikasi DNA hanya terjadi pada fase S di dalam [interfase](#). Untuk memasuki fase S diperlukan regulasi oleh sistem protein kompleks yang disebut siklin dan kinase tergantung siklin atau cyclin-dependent protein kinases (CDKs), yang berturut-turut akan diaktivasi oleh sinyal pertumbuhan yang mencapai permukaan sel. Beberapa CDKs akan melakukan fosforilasi dan mengaktifkan protein-protein yang diperlukan untuk inisiasi pada masing-masing ori.

Berhubung dengan kompleksitas struktur [kromatin](#), garpu replikasi pada eukariota bergerak hanya dengan kecepatan 50 pb tiap detik. Sebelum melakukan penyalinan, DNA harus dilepaskan dari [nukleosom](#) pada garpu replikasi sehingga gerakan garpu replikasi akan diperlambat menjadi sekitar 50 pb tiap detik. Dengan kecepatan seperti ini diperlukan waktu sekitar 30 hari untuk menyalin molekul DNA kromosom pada kebanyakan [mamalia](#).

Sederetan sekuens tandem yang terdiri atas 20 hingga 50 replikon mengalami inisiasi secara serempak pada waktu tertentu selama fase S. Deretan yang mengalami inisiasi paling awal adalah [eukromatin](#), sedangkan deretan yang agak lambat adalah [heterokromatin](#). Daerah [sentromer](#) dan [telomer](#) dari DNA bereplikasi paling lambat. Pola semacam ini mencerminkan aksesibilitas struktur kromatin yang berbeda-beda terhadap faktor inisiasi.

Seperti halnya pada prokariota, satu atau beberapa DNA helikase dan Ssb yang disebut dengan protein replikasi A atau *replication protein A* (RP-A) diperlukan untuk memisahkan kedua untai DNA. Selanjutnya, tiga DNA polimerase yang berbeda terlibat dalam elongasi. Untai pengarah dan masing-masing fragmen untai tertinggal diinisiasi oleh RNA primer dengan bantuan aktivitas primase yang merupakan bagian integral enzim DNA polimerase α . Enzim ini akan meneruskan [elongasi](#) replikasi tetapi kemudian segera digantikan oleh DNA polimerase δ pada untai pengarah dan DNA polimerase ϵ pada untai tertinggal. Baik DNA polimerase δ maupun ϵ mempunyai fungsi penyuntingan. Kemampuan DNA polimerase δ untuk menyintesis DNA yang panjang disebabkan oleh adanya [antigen](#) perbanyakan nuklear sel atau proliferasi sel nuklear antigen (PCNA), yang fungsinya setara dengan subunit γ holoenzim DNA polimerase III pada *E. coli*. Selain terjadi penggandaan DNA, kandungan [histon](#) di dalam sel juga mengalami penggandaan selama fase S.

Mesin replikasi yang terdiri atas semua enzim dan DNA yang berkaitan dengan garpu replikasi akan diimobilisasi di dalam matriks nuklear. Mesin-mesin tersebut dapat divisualisasikan menggunakan mikroskop dengan melabeli DNA yang sedang bereplikasi. Pelabelan dilakukan menggunakan analog [timidin](#), yaitu bromodeoksiuridin (BUDR), dan visualisasi DNA yang dilabeli tersebut dilakukan dengan imunofluoresensi menggunakan antibodi yang mengenali BUDR.

Ujung kromosom linier tidak dapat direplikasi sepenuhnya karena tidak ada DNA yang dapat menggantikan RNA primer yang dibuang dari ujung 5' untai tertinggal. Dengan demikian, informasi genetik dapat hilang dari DNA. Untuk mengatasi hal ini, ujung kromosom eukariota (telomer) mengandung beratus-ratus sekuens repetitif sederhana yang tidak berisi informasi genetik dengan ujung 3' melampaui ujung 5'. Enzim telomerase mengandung molekul RNA pendek, yang sebagian sekuensnya komplementer dengan sekuens repetitif tersebut. RNA ini akan bertindak sebagai cetakan (templat) bagi penambahan sekuens repetitif pada ujung 3'.

Hal yang menarik adalah bahwa aktivitas [telomerase](#) mengalami penekanan di dalam sel-sel somatis pada organisme multiseluler, yang lambat laun akan menyebabkan pemendekan kromosom pada tiap generasi sel. Ketika pemendekan mencapai DNA yang membawa informasi genetik, sel-sel akan menjadi layu dan mati. Fenomena ini diduga sangat penting di dalam proses penuaan sel. Selain itu, kemampuan penggandaan yang tidak terkendali pada kebanyakan sel [kanker](#) juga berkaitan dengan reaktivasi enzim telomerase.