

## BAB 1

### PENDAHULUAN

Beberapa tahun ini, terapi gen sudah mulai berkembang. Terapi gen dilakukan dengan mengganti gen yang rusak dan menyisipkan gen yang baik untuk menggantikan fungsi gen yang rusak tersebut. Yang digunakan untuk menggantikan gen tersebut adalah *ribonucleic acid* (RNA) karena RNA telah dianggap cukup mewakili seluruh informasi genetik. Untuk menggantikan keberadaan gen yang rusak, kita perlu mengetahui dengan jelas posisi gen yang dianggap ‘bermasalah’. Banyak penelitian yang dilakukan oleh para ilmuwan tetapi baru pada tahun 1998, dua orang professor asal Amerika Serikat yaitu Andrew Z. Fire (Stanford University) dan Craig C. Mello (University of Massachusetts) dapat menjelaskan mekanisme RNAi secara detail. Mereka mendapatkan nobel atas penemuannya yang menjelaskan bahwa *double-stranded RNA* (dsRNA) dapat “membungkam” (*silence*) aktivitas atau ekspresi dari suatu gen tertentu secara *homology-dependent*. Proses ini yang dikenal dengan *RNA interference* (RNAi) (Fire *et al.*, 1998). Mereka menggunakan *C.elegans* dan membuktikan bahwa injeksi dsRNA kedalam tubuh cacing ini dapat membungkam target gen yang diinginkan dan efeknya jauh lebih hebat dibandingkan hanya dengan menggunakan *sense* atau *anti-sense* (*single-stranded RNA*) saja.

Pada awalnya, proses “gangguan” (*interference*) menggunakan RNA tidak berhasil karena para peneliti menggunakan dsRNA dengan panjang lebih dari 30 nucleotides (nt). Hal ini menyebabkan supresi dari gen yang tidak seharusnya terbungkam (*non-specific suppression gene*). Dalam perkembangannya, penggunaan dsRNA dengan nt yang lebih pendek, 21-23 nt, berhasil membungkam ekspresi gen yang dikehendaki pada sel mamalia, yang kita kenal dengan nama *small interfering RNA* (siRNA). Kualitas dan

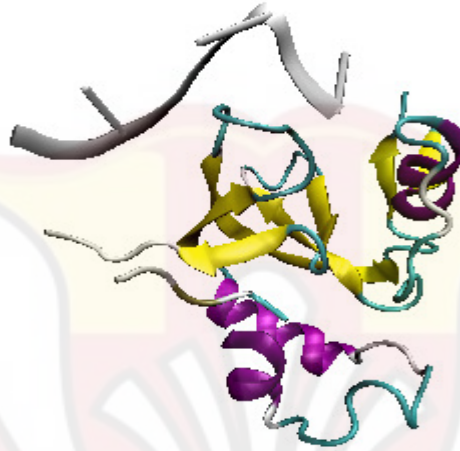
mutu terapi gen dapat ditingkatkan melalui berbagai macam bentuk penelitian dan pengembangan. Salah satu diantaranya adalah mengetahui efektivitas dan keamanan terapi gen tersebut. Hal ini dilakukan dengan tujuan agar terapi gen dapat digunakan secara benar dan aman serta efektif.

Dalam penelitian ini digunakan protein *Argonaute* dan siRNA. Digunakan protein *Argonaute* karena protein ini sebagai perantara pada proses *gene silencing* (*RNA interference*). Protein *Argonaute* (Ago) merupakan komponen kunci dari *RNA induced silencing complex* (RISC) dengan berat molekul lebih kurang 100 kDa dan mengandung PAZ dan PIWI (Carmell *et al.*, 2002; Sasaki *et al.*, 2003). Protein *Argonaute* memiliki aktivitas endonuklease langsung terhadap mRNA *strands* sebagai pemecah ikatan miRNA. *Argonaute* juga bertanggungjawab untuk memilih *guide strand* dan menghancurkan *passenger strand*. *Incorporated strand* dikenal sebagai *guide strand* dan dipilih oleh protein *Argonaute* dengan dasar stabilitas 5' akhir.

Pada manusia, protein *Argonaute* yang berada dalam *RNA induced silencing complex* (RISC) akan mengenali siRNA dan berinteraksi dengan siRNA sehingga RISC menjadi aktif. RISC yang aktif akan segera mencari *messenger RNA* (mRNA) yang baru keluar dari inti sel, setelah proses transkripsi dari DNA. Kemudian siRNA di dalam RISC akan mengenali target dan mengikat basa komplementnya di mRNA.

Pada penelitian ini, digunakan kompleks siRNA dan *Argonaute*, yaitu 2,6 Å struktur kristal PAZ *domain* dari *Argonaute* manusia eIF2c1 yang terikat pada kedua ujung dari sebuah 9-mer siRNA. PAZ ini akan melekat pada 2-nukleotida 3'*overhang* siRNA dengan ikatan tahanan yang kuat, dan mengamankan rangkapannya dengan ikatan 7-nukleotida fosfodiester dari *overhang* dan pada 5'-residu terminal dari untaian tambahan (Ma and Ye, 2004). Kompleks siRNA-*Argonaute* ini kemudian akan dipisahkan pada jarak yang berdekatan seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.1. Proses

pengenalan siRNA-Ago membentuk suatu kompleks akan diamati dalam penelitian ini. Metode yang digunakan adalah *particle mesh Ewald* (PME) yaitu dengan menghitung energi interaksi elektrostatik (Frenkel, 2003; Darden, 1993).



**Gambar 1.1.** Kompleks siRNA –*Argonaute* yang dipisahkan,  $\alpha$ -helix (violet),  $\beta$ -sheet (kuning), *turn* (hijau) dan RNA (putih) (Ma *et al.*, 2006).

Masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana proses pengenalan siRNA terhadap protein *Argonaute*. Adapun tujuan penelitian yang dilakukan adalah untuk mengamati proses pengenalan siRNA terhadap protein *Argonaute*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang proses pengenalan siRNA terhadap protein *Argonaute*.