

BAB 1 PENDAHULUAN

Penemuan kemampuan dsRNA dalam membungkam gen diawali dengan penelitian sederhana yaitu menyuntikkan RNA untai ganda (dsRNA) pada cacing *Caenorhabditis elegans*, yang menghasilkan pembungkaman gen yang *sequence*-nya ditambahkan oleh dsRNA (Fire, 1998). Pada penelitian sebelumnya sekitar akhir tahun 1980 dan awal tahun 1990, para ahli biologi tanaman mengenalkan kopian gen-gen bunga warna ungu pada bunga petunias (tumbuhan). Hasil penelitian tersebut menunjukkan hasil yang tak terduga, warna bunga tidak menjadi ungu gelap melainkan berwarna putih atau warna yang tak sempurna. Gen-gen yang dikenalkan (*transgenes*) telah dibungkam oleh mereka sendiri dan oleh gen warna ungu milik tanaman itu sendiri (petunias) (Napoli, *et al.*, 1990; van der Krol, 1990).

Kemampuan dsRNA dalam membungkam ekspresi gen pada cacing *Caenorhabditis elegans* dan petunias, kini diimplementasikan dalam prinsip terapi gen pada manusia. Gen yang dibungkam (*silencing*) dimaksudkan agar gen tidak meneruskan pesan atau ekspresi gen yang jelek, abnormal, atau menyebabkan penyakit (Malik, 2005). dsRNA diketahui membungkam gen dengan menandai perantara mereka, yaitu mRNA untuk dihancurkan. Mekanisme pembungkaman ini terjadi pada tahap translasi dan tahap transkripsi. Pembungkaman ekspresi gen oleh molekul dsRNA disebut RNA *interference* (RNAi) (Novina and Sharp, 2004).

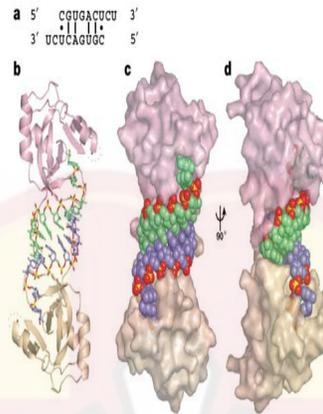
Mekanisme kerja RNAi adalah melibatkan suatu intermediet aktif yang disebut *small interfering RNA* (siRNA). Molekul siRNA berukuran kecil yaitu hanya 21-25 nukleotida dengan 2 nukleotida pada kedua ujung yang tidak berpasangan. Molekul ini dihasilkan dari hasil kerja enzim Dicer.

Enzim RISC kemudian memisahkan antara untai yang berbeda dari siRNA. Untai *sense* akan didegradasi dan untai *antisense* akan digunakan untuk memimpin kompleks menuju target yang akan dibungkam. Untai *antisense* ini memiliki mekanisme yang berbeda, tergantung pada organismenya. Pada alat buah dan mamalia, untai *antisense* langsung membentuk kompleks dengan RISC (Novina and Sharp, 2004). Komponen utama dari kompleks RISC adalah protein Argonaute (Ago) dengan bobot molekul 100 kDa dan mengandung PAZ dan PIWI domain (Ikeda, *et al.*). Enzim RISC ini yang semula tidak aktif, setelah menjadi kompleks dengan siRNA akan menjadi aktif dan akan memotong mRNA pada bagian yang mengandung *sequence* homolog dengan siRNA sehingga ekspresi gen yang salah atau cacat dapat dibungkam (*silence*) (Agrawal, *et al.*, 2003; Lucentini, 2004; Pray, 2004; Provost, *et al.*, 2002; Tang, 2005).

Kompleks Argonaute-siRNA seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.1, akan dipelajari dengan menggunakan simulasi dinamika molekul. Dalam simulasi ini, sifat struktural dan dinamik kompleks diamati dengan perhitungan parameternya. Parameter yang digunakan untuk mempelajari sifat strukturalnya, adalah RMSD (*root mean square deviation*), ikatan hidrogen, sudut torsional, sedangkan parameter yang digunakan untuk mempelajari sifat dinamik adalah RMSF (*root mean square fluctuation*).

Interaksi elektrostatik pada kompleks Argonaute-siRNA dihitung menggunakan metode *particle mesh* Ewald (PME). Dasar dari penjumlahan *particle mesh* Ewald ini adalah menggantikan penjumlahan langsung dari interaksi energi antara partikel-partikel dengan penjumlahan jarak sebenarnya (*real space sum*) dan penjumlahan jarak gambaran (*reciprocal space sum*). Pada jarak sebenarnya, partikel diasumsikan berada pada lokasi kubus dengan diameter tertentu dalam kondisi batas periodik. Energi elektrostatik untuk jarak sebenarnya pada penjumlahan Ewald adalah *short-*

range dan dianggap sebagai energi selama penentuan titik muatan oleh muatan berlawanan Gaussian. Pada jarak gambaran, dievaluasi kontribusi *long-range*.



Gambar 1.1. Struktur PAZ (Argonaute)-siRNA, PAZ domain berwarna merah muda dan krem. RNA berwarna biru dan hijau, golongan fosfat pada RNA berwarna kuning dan oksigen berwarna merah (Ma and Ye, 2004).

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana stabilitas kompleks Argonaute-siRNA selama simulasi menggunakan metode PME.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari kestabilan kompleks Argonaute-siRNA yaitu dengan mengamati sifat-sifat struktural dan dinamika kompleks Argonaute-siRNA pada simulasi dinamika molekular. Hipotesis penelitian dari rumusan masalah adalah kestabilan kompleks yaitu sifat struktural dan dinamika kompleks Argonaute-siRNA dapat dipelajari dengan simulasi dinamika molekular, yaitu dengan metode PME. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang interaksi kompleks Argonaute-siRNA yang dapat digunakan untuk mempelajari lebih lanjut tentang pengenalan siRNA dan Argonaute.