

## **Sintesis Protein dan Kode Genetik**

Tiga kemajuan yang utama di tahun 1950an membentuk pikiran kita terhadap pengetahuan terkini tentang biosintesis protein. Pada awal 1950an, Paulus Zamecnik dan para rekan-rekannya merancang satu set eksperimen untuk menyelidiki pertanyaan: Dibagian mana dalam sel protein? Mereka menyuntik asam amino radioaktif ke dalam tikus, dan pada interval waktu yang berbeda setelah suntikan hati dipindahkan, dibuat sejenis, dan dipecah dengan sentrifugasi. Fraksi subselular kemudian diuji untuk menguji keberadaan protein radioaktif. Sesudah beberapa hari setelah suntikan asam amino yang diberi label, semua fraksi subselular bersisi protein berlabel. Ketika hati itu dipindahkan dan dipecah hanya beberapa menit setelah suntikan asam amino yang diberi label, protein yang diberi label hanya ditemukan pada pecahan yang berisi partikel ribonukleoprotein kecil. Partikel, yang ditemukan sebelumnya dalam jaringan binatang dengan mikroskopi elektron, yang kemudian dikenali sebagai lokasi sintesis protein dari asam amino; yang kemudian dinamai ribosom (Gb. 26-1).

Kemajuan yang kedua dibuat oleh Mahlon Hoagland dan Zamecnik; mereka menemukan bahwa ketika dikubasi dengan ATP dan fraksi ytosolic sel-sel hati, asam amino "diaktifkan." Asam amino ditempel dengan bentuk spesial RNA panas yang dapat larut yang stabil, yang kemudian disebut RNA transfer (RNA pemindah), untuk membentuk aminoasil-tRNA. Enzim yang mengkatalisasi proses ini adalah aminoasil-tRNA synthetase.

Kemajuan ketiga yang paling utama terjadi ketika Francis Crick bertanya: Bagaimana informasi genetika yang dikode dalam empat huruf asam nukleik yang diterjemahkan ke dalam dua puluh huruf protein? Crick menganggap bahwa RNA transfer harus berperan sebagai adaptor, bagian dari molekul RNA yang mengikat asam amino khusus dan beberapa bagian lain RNA yang mengenali susunan nukleotida pendek di dalam mRNA yang mengkode asam amino (Gb. 26-2). Gagasan ini segera dibuktikan. Orang yang mengadaptasikan tRNA "menerjemahkan" susunan nukleotida dari satu mRNA ke dalam susunan asam amino polipeptida. Proses menyeluruh dari sintesis protein mRNA yang dipandu sering disebut translation.

Kemajuan ini mengantarkan pada pengenalan tahapan utama sintesis protein dan akhirnya pada penerangan kata-kata kode genetic untuk asam amino. Sifat alami kode ini merupak fokus dari pembahasan ini.

## Kode Genetik Sudah Ditemukan

Semenjak tahun 1960an semakin nyata bahwa ada paling sedikit tiga residu nukleotida DNA diperlukan untuk mengkode untuk masing-masing asam amino. Empat huruf kode DNA (A, T, G, dan C) dalam grup dua huruf menghasilkan  $4^2 = 16$  kombinasi yang berbeda, tidak cukup untuk mengkode 20 asam amino. Empat basa tiga huruf menghasilkan  $4^3 = 64$  kombinasi yang berbeda. Genetik eksperimen awal membuktikan bahwa tidak hanya kode genetik atau kodon untuk asam amino berupa susunan tiga huruf (triplet) dari nukleotida tetapi juga bahwa kodon tidak tumpang-tindih dan tidak ada jeda antara kodon residu asam amino yang berurutan (Gb. 26-3, 26-4). Susunan asam amino protein kemudian digambarkan oleh suatu susunan yang linier dari kodon triplet yang berdekatan. Kodon yang pertama pada susunan menetapkan suatu kerangka pembacaan (reading frame), di mana kodon yang baru dimulai pada setiap tiga residu nukleotida. Pada skema ini, ada tiga kerangka pembacaan yang mungkin untuk setiap urutan DNA yang diberi, dan masing-masing secara umum akan memberi suatu urutan berbeda terhadap kodon (Gb. 26-5). Meski terlihat jelas sekarang bahwa hanya satu kerangka pembacaan yang mungkin berisi informasi yang diperlukan untuk protein yang diuji, pertanyaan terakhir yang masih sayup: kode triplet khusus apa yang digunakan untuk asam amino yang berbeda? Bagaimana kode triplet tersebut dikenali secara eksperimen?

Pada tahun 1961 Marshall Nirenberg dan Heinrich Matthaei mengumumkan hasil observasi yang mengusulkan terobosan pertama. Mereka menginkubasi polyribonucleotide polyuridylylate sintetis (poly(U) yang didesign) dengan ekstraksi *E. coli*, GTP, dan campuran 20 asam amino dalam 20 tabung berbeda. Pada masing-masing tabung suatu asam amino yang berbeda diberi label secara radioaktif. Poly(U) dapat dikatakan sebagai mRNA tiruan yang berisi triplet UUU berurutan, dan triplet ini harus mempromosikan sintesis polipeptida hanya dari salah satu 20 asam amino yang berbeda –yang dilabel dengan triplet UUU. Suatu polipeptida radioaktif dibentuk di dalam salah satu dari 20 tabung, yang berisi fenilalanin radioaktif. Nirenberg dan Matthaei menyimpulkan bahwa triplet UUU cocok untuk fenilalanin. Pendekatan yang sama mengungkapkan bahwa polyribonucleotide polycytidylylate atau poly(C) sintetis mengkode formasi.

Polipeptida yang hanya berisi prolina (polyproline), dan ilyadenylate atau poly(A) mengkode polylysine. Dengan demikian triplet CCC mengkode daftar prolina dan triplet AAA untuk lisina.

Polinukleotida sintetik yang digunakan dalam eksperimen dibuat sedemikian dengan aksi fosforilase polinukleotida, menganalisis formasi polimer RNA dari ADP, UDP, CDP dan GDP. Enzim ini tidak memerlukan template polimer dan membuat polimer dengan sebuah komposisi basa bahwa secara langsung mencerminkan konsentrasi yang relatif dari precursor nukleotida 5'-diphosphate di dalam medium. Jika fosforilase polynukleotida diperkenalkan dengan UDP, hal ini hanya poly(U). Jika diperkenalkan dengan suatu campuran dari lima bagian ADP dan satu CDP, akan membuat polimer di mana  $\frac{5}{6}$  residu adalah adenylate dan  $\frac{1}{6}$  sytidylate. Polimer acak seperti itu mungkin memiliki banyak triplet urutan AAA, sedikit triplet AAC, ACA, dan CAA, beberapa triplet ACC, CCA, dan CAC, dan sangat sedikit; triplet CCC (Tabel 26-1). Dengan penggunaan mRNA tiruan yang berbeda yang dibuat dari fosforilase polinukleotida dari campuran permulaan ADP, GDP, UDP, dan CDP yang berbeda, komposisi basa triplet yang mengkode hampir semua asam amino diidentifikasi segera. Bagaimanapun, eksperimen-eksperimen ini tidak bisa mengungkapkan urutan basa pada setiap kode triplet.

Ditahun 1964 Nirenberg dan Filipus menemukan terobosan baru. Mereka menemukan bahwa ribosom bakteri *E.coli* yang terisolasi akan mengikat suatu aminoasil-tRNA khusus jika polinukleotida sintetik yang sesuai ada. Sebagai contoh, ribosom yang diinkubasi dengan poly(U) dan phenylalanyl-tRNA<sup>Phe</sup> (atau Phti-tRNA<sup>Phe</sup>) akan mengikat kedua polimer, tetapi jika ribosom diinkubasi dengan poly(U) dan beberapa aminoacyl-tRNA yang lain, aminoasil-tRNA itu tidak akan terikat karena itu tidak akan mengenali triplet UUU pada poly(U) (Meja 26-2). (perlu dicatat bahwa oleh konvensi, identitas tRNA ditandai superscript dan aminoacylated -tRNA ditandai dengan nama yang menyambung garis. Sebagai contoh, aminoacylated tRNA<sup>Ala</sup> yang benar adalah alanyl-tRNA<sup>Ala</sup> atau Ala-tRNA<sup>Ala</sup>. Jika tRNA tersebut adalah salah aminoacylated, misalkan dengan valina, akan memiliki Val-tRNA<sup>Ala</sup>.) Polinukleotida terpendek yang bisa mempromosikan ikatan khusus Phe-tRNA<sup>Phe</sup> adalah trinucleotida UUU. Dengan menggunakan trinucleotida sederhana dari urutan yang dikenal, hal ini mungkin untuk menentukan aminoasil-tRNA yang mana yang terikat dengan masing-masing dari sekitar 50 dari 64 kodon triplet yang mungkin. Beberapa kodon,

baik tidak ada aminoasil-tRNA akan berikatan, atau lebih dari satu terikat. Metoda lain diperlukan untuk melengkapi dan mengkonfirmasi seluruh kode genetik.

Saat ini, suatu pendekatan yang komplementer diperkenalkan oleh H.Gobind Khorana, yang mengembangkan metoda-metoda untuk mensintesis polyribonucleotida dengan yang digambarkan, susunan pengulangan dari dua sampai empat basa. Polipeptida yang dihasilkan dengan memakai RNAs ini sebagai pengirim pesan (messenger) mempunyai satu atau beberapa asam amino dengan pola berulang. Pola-pola ini, ketika dikombinasikan dengan informasi dari polimer acak yang digunakan oleh Nirenberg dan rekan-rekannya, memunculkan tugas kodon yang tidak jelas. Copolymer (AC)<sub>n</sub> misalnya, mempunyai kodon ACA dan CAC bertukar-tukar, dengan urutan reading frame:



Polipeptida yang disintesis responnya atas polimer ini ditemukan untuk memiliki jumlah treonina dan histidina yang sama. Karena eksperimen yang digambarkan pada Table 26-1 yang mengungkapkan kodon histidiae dengan satu A, dan dua Cs, CAC harus mengkode histidina dan ACA mengkode treonina.

Dengan cara yang sama, satu RNA dengan tiga basa pada pola pengulangan harus menghasilkan tiga jenis polipeptida yang berbeda. Masing-masing polipeptida berasal dari kerangka pembacaan (reading frame) yang berbeda dan berisi suatu jenis asam amino. Satu RNA dengan empat basa pada pola pengulangan harus menghasilkan satu jenis polipeptida dengan pola pengulangan empat asam amino (Tabel 26-3). Hasil dari semua percobaan dengan polimer ini menghasilkan tugas dari kodon 61 dan 64 yang mungkin. Dan tiga yang lain diidentifikasi sebagai kodon penghentian (termination), sebagian karena ketiganya mengacaukan pola persandian asam amino ketika dimasukkan dalam urutan dari RNA polimer sintesis (Gb. 26-6; Tabel 26-3).

Dengan pendekatan ini, urutan basa dari semua kode triplet masing-masing asam amino dibentuk tahun 1966. Sejak itu, kode ini telah diuji melalui banyak cara. "kamus" lengkap kodon untuk asam amino ditunjukkan oleh Gambar 26-7. Urutan kode genetik diakui sebagai penemuan terbesar di tahun 1960an.

## Kode Genetik Mempunyai Beberapa Karakteristik Penting

Kunci organisasi informasi genetika dalam protein dapat ditemukan pada kodon dan pada susunan kodon pada kerangka pembacaan (reading frame). Perlu diingat bahwa tanpa tanda baca atau isyarat diperlukan untuk menandai ujung kodon dan permulaan kodon berikutnya. Kerangka pembacaan harus ditetapkan dengan benar pada permulaan molekul mRNA dan lalu dipindahkan secara berurutan dari satu triplet ke triplet berikutnya. Jika kerangka pembacaan awal diputus oleh satu atau dua basa, atau jika ribosom tanpa sengaja melompati suatu nukleotida dalam mRNA, semua kodon berikutnya akan berantakan dan akan menjurus kepada pembentukan protein "missense" dengan susunan asam amino yang kacau.

Beberapa kodon memiliki fungsi khusus. Kodon inisiasi, AUG, menandakan awal dari rantai polipeptida. AUG tidak hanya adalah kodon inisiasi dari prokaryota dan eukaryot tetapi juga mengkode residu Met pada posisi internal polipeptida. Dari 64 triplet nukleotida yang mungkin, tiga (UAA, UAG, dan UGA) tidak mengkode asam amino yang dikenal (Gb. 26-7); ketiganya dikenal sebagai kodon penghentian (termination) (juga disebut stop codon atau nonsense codon), yang secara normal menandai akhir sintesis rantai polipeptida. Ketiga kodon penghentian dinamai "nonsense codon" karena kodon-kodon ini pertama kali ditemukan berasal dari mutasi basa tunggal bakteri *E.coli* di mana rantai polipeptida tertentu diakhiri secara prematur. Mutasi nonsens ini, dinamai *amber*, *ochre*, dan *opal*, membantu identifikasi yang mungkin dari UAA, UAG, dan UGA sebagai kodon penghentian.

Pada urutan acak nukleotida, satu dari setiap 20 kodon pada masing-masing kerangka pembacaan, rata-rata, merupakan kodon penghentian. Dimana kerangka pembacaan ada tanpa kodon penghentian dari 50 atau lebih kodon, daerah itu disebut satu kerangka pembacaan terbuka (open reading frame). Kerangka pembacaan terbuka panjang biasanya berhubungan dengan gen yang mengkode protein. Pengkodean gen protein khusus tak terputuskan dengan berat molekular 60,000 akan memerlukan open reading frame dengan 500 atau lebih kodon. Lihat Kotak 26-1 (p. 900) untuk melihat beberapa perkecualian dari pola umum ini.

Barangkali ciri kode genetik yang paling mencolok adalah **degenerate** (degenerasi), maksudnya suatu asam amino yang diuji bisa dispesifikasi lebih dari satu kodon (Tabel 26-4). Hanya metionin dan triptofan yang mempunyai kodon tunggal. Degenerasi tidak

berarti tak sempurna; kode genetik jelas karena tidak ada kodon yang mengkode asam amino lebih dari satu. Perlu diketahui bahwa degenerasi kode tidaklah seragam. Sebagai contoh, leusina dan serina mempunyai enam kodon, glisina dan alanina mempunyai empat kodon, dan glutamat, tirosina, dan histidina mempunyai dua kodon.

Ketika satu asam amino mempunyai kodon ganda, perbedaan antara kodon biasanya terlihat pada basa yang ketiga (pada ujung 3'). Sebagai contoh, alanina dikode oleh triplet GCU, GCC, GCA, dan GCG. Kodon tersebut, hampir semua asam amino disimbolkan dengan  $XY \frac{A}{G}$  atau  $XY \frac{U}{C}$ . Dua huruf pertama dari tiap kodon kemudian faktor penentu yang utama dari kekhususan. Hal ini memberikan beberapa konsekuensi yang menarik.

### **Goyangan Menyebabkan Beberapa Memiliki Lebih Dari Satu Kodon**

Transfer RNAs mengenali kodon dengan pasangan basa antara kodon mRNA dan urutan tiga basa pada tRNA disebut antikodon. Kedua RNAs dipasangkan antisejajar, first-base dari kodon (al- (jalan?cara yang membaca di dalam 5'-'3' arah) memasangkan dengan dasar yang ketiga dari t antikodon (Buah ara. 26-8)

Satu hal yang diharapkan dari triplet antikodon mRNA yang diuji untuk menyadari satu triplet kodon melalui pasangan basa Watson-Crick, sehingga akan ada tRNA yang berbeda untuk masing-masing kodon asam amino. Namun, jumlah tRNA yang berbeda untuk masing-masing amino tidaklah sama jumlah kodon-kodonna. Lebih dari itu, sebagian dari tRNA berisi **nukleotida inosinate** (I yang ditunjuk), yang berisi hiposantin basa yang tidak umum (lihat Gb. 12-5b). Model molekular menunjukkan bahwa **inosinate** dapat membentuk ikatan hidrogen dengan tiga nukleotida yang berbeda, U, C, dan A, tetapi pemasangan ini agak lemah dibandingkan dengan ikatan hidrogen yang kuat antara pasangan basa Watson-Crick  $G \equiv C$  dan  $A = U$ . Dalam yeast misalnya, satu  $tRNA^{Arg}$  mempunyai antikodon (5')ICG, yang bisa mengenali tiga kodon arginin yang berbeda, (5')CGA, (5')CGU, dan (5')CGC. Dua basa pertama kodon ini bersifat serupa (CG) dan membentuk pasangan basa Watson-Crick yang kuat (biru) dengan basa antikodon yang sesuai:

## **Translational Frameshifting dan Editing RNA: mRNA yang mengubah horse dalam Midstream**

Protein disatukan sesuai dengan pola dari kodon triplet yang berdekatan. Begitu kerangka pembacaan dibentuk, kodon dalam urutan diterjemahkan, tanpa tumpang-tindih atau pemberian tanda baca, sampai kodon penghentian ditemukan. Biasanya, kerangka pembacaan lain yang mungkin dalam gen berisi informasi genetika tidak bermanfaat. Namun, beberapa gen terstruktur sehingga ribosom "cegukan" pada suatu titik tertentu dalam terjemahan mRNA, menyebabkan perubahan di dalam kerangka pembacaan dari titik tersebut. Dalam beberapa hal muncul mekanisme yang digunakan untuk menghasilkan dua atau lebih protein yang terkait dari suatu transkrip atau untuk mengatur sintese dari suatu protein.

Contoh bagus yang didokumentasikan terjadi dalam terjemahan mRNA untuk gen *gag* dan gen *pol* virus sarkoma Rons (lihat Gb. 25-31). Kedua gen tersebut tumpang-tindih, dengan *pol* yang dikode oleh kerangka pembacaan di mana masing-masing kodon merupakan pengganti pasangan basa yang hilang (-1 kerangka pembacaan) sehubungan dengan *gag* (Gb. 1). Produk gen *pol* (transkriptase balik; p.882) pada awalnya diterjemahkan sebagai suatu protein pelebur *gag-pol* lebih besar yang menggunakan mRNA yang sama yang digunakan untuk protein *gag* sendiri. Protein pelebur ini kemudian dimasukkan pada transkriptase balik dewasa dengan pencernaan proteolitik. Protein pelebur besar yang dihasilkan, dengan **translational frameshift**, terjadi di dalam daerah yang tumpang-tindih dan membiarkan ribosom mempercepat kodon penghentian UAG pada ujung gen *gag* (yang ditunjukkan dengan warna merah pada Gb. 1). Frameshift pada 5% dari peristiwa terjemahan, sehingga protein peleburan *gag-pol*, dan pada akhirnya transkriptase balik, disintesis pada level yang sesuai untuk replikasi genom viral yang efisien- sekitar 20-lipatan kurang dari pada protein *gag*. Suatu mekanisme yang serupa digunakan untuk menghasilkan subunit  $\lambda$  and  $\gamma$  DNA polymerase III bakteri *E. coli* dari transkrip *dnaX* gene (lihat Tabel 24-2).

Satu contoh dari pemakaian mekanisme regulasi ini terjadi di dalam gen *E. coli* faktor pelepas 2 (RF<sub>2</sub>), suatu protein yang diperlukan untuk penghentian sintesis protein di kodon penghentian UAA dan UGA (dijelaskan kemudian dalam bab ini). Kodon yang ke 26 dari gen untuk RF<sub>2</sub> adalah UGA, yang akan secara normal menghentikan sintesis protein. Sisa dari gen tersebut di dalam +1 kerangka pembacaan (menggantikan satu pasangan basa di sebelah kanan) sehubungan dengan kodon UGA ini. Level rendah RF<sub>2</sub>

menjurus kepada suatu jeda translational pada kodon ini, karena UGA tidak dikenali sebagai suatu kodon penghentian kecuali jika RF<sub>2</sub> berikatan dengan nya. Ketidakhadiran dari RF<sub>2</sub> mencegah penghentian sintesis protein pada UGA ini dan memberikan waktu untuk pada frame shift sehingga UGA ditambahkan C yang mengikuti (UGAC) dibaca sebagai GAC = Asp. Terjemahan berlanjut pada kerangka pembacaan yang baru untuk melengkapi sintesis RF<sub>2</sub>. Dengan cara ini, RF<sub>2</sub> mengatur sintesanya sendiri loop balik.

Mekanisme frameshifting tidak biasa, terjadi melalui editing mRNA sebelum terjemahan. Gen pada mitokondria DNA yang mengkode subunit oksidase sitokrom II dalam beberapa protista tidak mempunyai kerangka pembacaan terbuka yang bersesuaian dengan produk protein yang. Sebagai gantinya, kodon terminal amino protein dalam kerangka pembacaan yang berbeda dari kodon terminal carboxyl. Permasalahan tersebut tidak dikoreksi di ribosom, tetapi oleh suatu editing post-transcriptional proses di mana empat uridin ditambahkan untuk membuat tiga kodon yang baru dan menggeser kerangka pembacaan sehingga seluruh gen dapat diterjemahkan secara langsung, seperti yang ditunjukkan di dalam Gambar 2a; residu uridina yang ditambahkan ditunjukkan dengan warna merah. Hanya suatu bagian kecil dari gen (daerah yang dipengaruhi dengan editing) yang ditunjukkan. Fungsi maupun mekanisme dari proses editing ini belum dipahami. Suatu kelas khusus dari molekul RNA yang dikode oleh mitokondria telah dideteksi memiliki urutan mRNA komplementer pada ujungnya, mRNAs yang dimunculkan. Molekul RNA ini bertindak sebagai cetakan untuk proses editing dan dikenal sebagai RNAs pemandu (Gb. 2b). perlu diingat bahwa pasangan basa melibatkan sejumlah pasangan basa G=U (yang ditandai dengan titik-titik warna biru), yang bersifat umum dalam molekul RNA.

Bentuk berbeda dari RNA editing terjadi di dalam gen komponen B apolipoprotein dari lipoprotein yang kepadatannya rendah pada hewan bertulang belakang. Satu wujud dari B apolipoprotein, disebut apoB-100 (Mr 513,000), disintesis di dalam hati. Bentuk yang kedua, apoB-48 (Mr 250,000), disintesis di dalam usus. Keduanya disintesis dari satu mRNA yang dihasilkan dari gen apoB-100. Enzim deaminase sitosina yang hanya ditemukan dalam usus berikatan pada mRNA pada kodon 2,153 (CAA =Gln) dan mengkonversi C menjadi U untuk memperkenalkan kodon penghentian UAA pada posisi ini. ApoB-48 yang dihasilkan dalam usus dari mRNA yang dimodifikasi merupakan singkatan yang sederhana (sesuai dengan terminal separuh amino) apoB-100 (Gb. 3). Reaksi ini menyebabkan sintese dari dua protein yang berbeda dari satu gen

dengan perlakuan jaringan khusus dalam. Basa ketiga kodon arginina (A, U, dan C) membentuk ikatan hidrogen yang agak lemah dengan residu I di posisi pertama antikodon. Pengujian kodon ini dengan kodon yang lain-anti kodon mengantarkan Crick untuk menyimpulkan bahwa basa ketiga dari kebanyakan pasangan kodon agak bebas dengan basa yang sesuai dari antikodonna; menggunakan cara Crick, basa kodon yang ketiga masuk kedalam kodon "goyangan". Crick mengusulkan satu set empat hubungan hipotesis yang disebut wobble hypothesis:

1. Dua basa pertama di dalam RNA kurir selalu membentuk pasangan basa Watson-Crick yang kuat dengan basa yang sesuai dari antikodon di dalam tRNA dan memberikan banyak kode khusus.
2. Basa pertama dari beberapa antikodon (mengikuti arah 5'→3' arah bahwa basa ini dipasangkan dengan tida basa kodon) menentukan banyaknya kodon-kodon yang dibaca tRNA yang diuji. Ketika basa pertama dari antikodon itu adalah C atau A, ikatan dikatakan spesifik dan hanya kodonna yang dibaca oleh tRNA pemindah itu. Namun, ketika basa pertama itu adalah U atau G, ikatannya dikatakan lebih sedikit yang spesifik dan dua kodon yang berbeda bisa terbaca. Ketika **inosinate** (I) adalah yang pertama, atau wobble, nukleotida antikodon, tiga kodon yang berbeda dapat dibaca oleh tRNA. Ini adalah jumlah maksimal kodonyang dapat dikenal oleh tRNA h. Hubungan ini diringkas pada Tabel 26-5.
3. Ketika satu asam amino ditetapkan oleh beberapa kodon yang berbeda, kodon tersebut yang berbeda pada dua pertama basa memerlukan t RNA yang berbeda.
4. Sedikitnya 32 tRNA diperlukan untuk menerjemahkan keseluruhan 61 kodon.

Alasan apa yang mungkin untuk kompleksitas tak terduga dari interaksi antikodon-kodon? Pendek kata, dua basa pertama kodon memberikan kekhasan kodon-anti kodon. Goyangan (atau ketiga) dasar dari kodon berperan untuk kekhasan, karena hanya berpasangan dengan basa yang sesuai di dalam antikodon, menghasilkan pemisahan cepat tRNA kodon selama sintesis protein. Jika ketiga basa mRNA memakai Watson-Crick kuat dengan ke tiga basa dari antikodon tRNA, tRNA akan memisahkan dengan pelan-pelan sekali dan membatasi tingkat sintesis protein. Interaksi kodon-antikodon mengoptimalkan ketelitian dan kecepatan.

## **Tumpang tindih Gen di Reading Frames berbeda ditemukan Pada Beberapa Viral DNAs**

Meski urutan nukleotida yang diuji dapat, pada prinsipnya, terbaca di dalam setiap tiga kerangka pembacaannya, kebanyakan urutan DNA mengkode suatu produk protein hanya dalam satu kerangka pembacaannya. Pada bingkai pengkodean tidak boleh ada kodon penghentian, dan masing-masing kodon harus berpasangan dengan asam amino yang sesuai. Seperti yang digambarkan di dalam Gambar 26-9, kode genetik memaksakan batas tegas angka dari asam amino yang dapat dikode oleh kodon dari kerangka pembacaan 2 tanpa mengubah asam amino yang ditetapkan oleh kerangka pembacaan 1. Kadang-kadang satu asam amino (dan kodon nya yang sesuai) bisa diganti dengan yang lain di dalam kerangka pembacaan 1 namun tetap mempertahankan fungsi protein yang dikode, membuatnya lebih mungkin bahwa kerangka pembacaan 2 atau 3 juga mengkode protein yang bermanfaat; tetapi bahkan mempertimbangkan faktor-faktor ini, fleksibilitas di dalam kerangka pembacaan yang lain sangat dibatasi.

Meski hanya satu kerangka pembacaan yang secara umum digunakan untuk mengkode protein dan gen-gen yang tidak tumpang-tindih, ada beberapa perkecualian yang menarik. Di dalam beberapa virus, urutan basa DNA yang sama mengkode protein yang berbeda dengan memanfaatkan dua kerangka pembacaan yang berbeda. Penemuan "gen dalam gen" muncul dari pengamatan bahwa DNA dari bakteriofage  $\phi$ X174, yang berisi 5,386 residu nukleotida ulang, bukanlah cukup panjang untuk mengkode sembilan protein yang berbeda yang diketahui sebagai produk  $\phi$ X174 DNA genom, kecuali jika gen tersebut tumpang-tindih. Seluruh urutan nukleotida  $\phi$ X174 kromosom dibandingkan dengan susunan asam amino dari protein yang dikode oleh gen  $\phi$ X174; hal ini menandai beberapa overlap urutan-urutan gen. Gb 26-10 menunjukkan bahwa B dan E gen diserang dalam A dan D, secara berurutan. Ada juga lima kasus (tidak ditunjukkan) di mana kodon inisiasi dari salah satu gen tumpang-tindih pada kodon penghentian dari gen yang lain. Gambar 26-11 menunjukkan bagaimana D dan E gen berbagi segmen DNA tetapi menggunakan kerangka pembacaan yang berbeda; situasi sama yang ada untuk gen-gen A dan B. Jumlah dari semua urutan yang tersarang dan overlap menunjukkan dengan sepenuhnya ukuran  $\phi$ X174 genom yang diserang dibandingkan dengan banyaknya residu asam amino di dalam sembilan protein untuk yang mana asam amino ini mengkode.

Penemuan ini kemudian dengan cepat diikuti oleh pengamatan-pengamatan yang serupa tentang DNAs virus lain, termasuk fage  $\lambda$ , kanker yang menyebabkan simian virus 40 (SV40), RNA fage seperti Q $\beta$  dan Q17, dan fag G4, family dekat dari  $\phi$ X174. Fag G4 adalah luar biasa karena setidaknya-tidaknya satu kodon dibagi bersama oleh tiga gen yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa overlap gen atau gen dalam gen bisa ditemukan hanya pada virus karena ukurannya ukuran kecil dari kapsid virus memerlukan batasan jumlah DNA untuk mengkode berbagai protein yang terkena kena infeksi sel inang dan mereplikat di dalamnya. Juga, karena virus memproduksi kembali (dan oleh karena itu meningkatkan) lebih cepat dari sel inangnya, virus bisa menggambarkan sesuatu yang berharga dalam pelurusan biologi.

Kode genetik hampir universal. Dengan membangkitkan ketertarikan terhadap perkecualian beberapa variasi-variasi yang kecil yang telah ditemukan di dalam mitokondria beberapa bakteri, dan genom eukariot seltunggal (kotak 26-2, p.906) kodon asam amino bersifat serupa pada semua species yang telah diuji. Manusia, E.coli, tembakau, ampibi, dan virus memiliki kode genetic yang sama. Dengan demikian, makhluk hidup satu nenek moyang evolusiner yang umum dengan satu kode genetik yang dipelihara sepanjang keadaan evolusi biologi.

Kode genetik menunjukkan bagaimana informasi urutan protein disimpan di dalam asam nukleat dan memberikan petunjuk bagaimana informasi tersebut diterjemahkan kedalam protein. Sekarang kita beralih pada pembahasan mekanisme molecular dari proses terjemahan.

### **Sintesis Protein**

Seperti yang sudah kita ketahui tentang DNA dan RNA, sintese dari biomolekule polymeric dapat dibedakan menjadi inisiasi, pemanjangan, dan penghentian. Dalam proses sintesis protein tidak ada perkecualian. Pengaktifan precursor asam amino sebelum penggabungan ke dalam polipeptida dan pengolahan post-translational polipeptida yang diselesaikan melembagakan dua hal yang penting dan langkah-langkah terutama tambahan kompleks dalam sintesis protein, dan oleh karena itu memerlukan diskusi terpisah. Komponen selular yang diperlukan untuk masing-masing dari lima langkah-langkah di dalam E.coli dan bakteri lain didaftarkan di Table 26-6. Persyaratan

di dalam sel-sel eukariota hampir sama. Satu ikhtisar langkah-langkah ini akan memberikan satu garis besar yang bermanfaat diskusi yang sedang berlangsung.

Langkah 1: Pengaktifan Asam Amino. Selama langkah ini, yang berlangsung di dalam sitosol, bukan di ribosom, masing-masing dari 20 asam amino adalah dihubungkan secara kovalen dengan tRNA yang spesifik dengan memakai energi ATP. Reaksi ini dikatalisasi oleh kelompok  $Mg^{2+}$ -enzim pengaktif bergantung yang disebut aminoasil-tRNA synthetases, masing-masing khusus untuk satu asam amino dan tRNA yang sesuai. Di mana dua atau lebih tRNA ada karena asam amino yang diuji, satu sintetase aminoasil-tRNA secara umum semuanya aminoacylates. tRNA Aminoacylated biasanya dikenal sebagai mahluk "yang dibebankan."

### **Variasi Alami dalam Kode Genetik**

Di dalam biokimia, seperti disiplin ilmu yang lain, perkecualian untuk aturan-aturan umum dapat menimbulkan permasalahan bagi para pendidik dan membuat frustrasi para siswa. Pada waktu yang sama hidup mengajar kita bahwa hidup adalah kompleks dan mengilhami kita untuk menemukan kejutan yang lain tentang hidup. Memahami perkecualian tersebut bahkan dapat menguatkan aturan yang asli dengan cara yang mengejutkan.

Hal tersebut akan menunjukkan bahwa ada ruang kecil untuk variasi genetik dalam kode genetik. Ingat dari bab 6 dan 7 bahwa penggantian asam amino tunggal dapat mengganggu struktur protein. Umpamakan bahwa di suatu tempat ada suatu sel bakteri di mana salah satu kodonnya menetapkan alanina kemudian tiba-tiba mulai menetapkan arginina; hasil penggantian arginina untuk alanina pada posisi ganda dalam sejumlah protein akan menyebabkan kematian. Variasi dalam kode terjadi pada beberapa organismae, dan variasi ini adalah menarik dan mengandung banyak pelajaran. Sangat jarang terdapat variasi dan jenis variasi yang terjadi bersamaan memberikan bukti tangguh tentang asal-muasal umum yang evolusiner dari semua makhluk hidup.

Mekanisme untuk mengubah kode tersebut langsung: perubahan harus terjadi dalam satu atau lebih banyak tRNA, dengan target yang nyata untuk merubah antikodon. Hal ini akan menjurus pada insersi yang sistematis asam amino pada kodon yang tidak menetapkan asam amino tersebut dalam kode yang normal (Gb. 26-7). Kode genetik,

pada hakekatnya, digambarkan oleh antikodon pada tRNA (yang menentukan di mana asam amino ditempatkan di suatu polipeptida yang tumbuh) dan dengan kekhususan enzymes-amino-acyl-tRNA synthetases-yang dilakukan oleh tRNA (yang menentukan identitas asam amino terkait dengan yRNA yang diuji).

Oleh karena perubahan kode katastrofik berpengaruh secara mendadak pada protein selular, dapat diprediksi bahwa perubahan kode akan terjadi jika di mana hanya sedikit protein yang terpengaruh. Hal ini bisa terjadi dalam pengkodean genom kecil pada sedikit protein. Konsekuensi biologi dari suatu perubahan kode dapat dibatasi dengan pembatasan pada ketiga kodon penghentian, karena hal tidak secara umum terjadi pada gen (lihat Box 26-1 untuk pengecualian pada aturan ini). Suatu perubahan yang mengkonversi suatu kodon penghentian menjadi penetapan kodon satu asam amino akan mempengaruhi penghentian di dalam produk suatu subset gen, dan kadang gen pelengkap karena beberapa gen ganda (berlebih-lebihan) kodon penghentian. Pola ini kenyataannya diamati.

Perubahan kode genetik sangat jarang. Variasi kode yang ditandai terjadi di dalam mitokondria, genom yang mengkode hanya 10 sampai 20 protein. Mitokondria mempunyai tRNA sendiri, variasi kode tidak mempengaruhi banyak genom seluler. Perubahan yang paling umum pada mitokondria, dan satu-satunya perubahan-perubahan yang diamati pada genom seluler, melibatkan kodon penghentian.

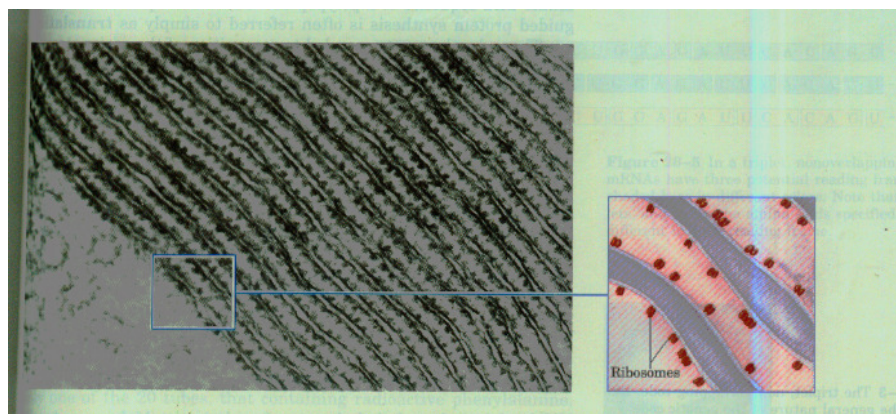
Pada mitokondria jenis perubahan bisa dilihat sebagai Streamlining genomik. Hewan bertulang belakang mDNA memiliki gen yang mengkode 13 protein, 2 rRNAs dan 22 tRNA (lihat Fig. 18-29). Satu set aturan wobble mengizinkan 22 tRNA memecah kode ke-64 yang mungkin dari triplet kodon, dibanding 32 tRNA diperlukan kode yang normal. Empat family kodon (di mana asam amino ditentukan oleh dua nukleotida pertama) dikodekan oleh tRNA dengan U (atau wobble) posisi pada antikodon. U dengan empat basa pada posisi ketiga atau "dua dari tiga" mekanisme yang digunakan pada kasus (misalnya, tidak ada pemasangan terjadi di posisi ketiga kodon). tRNA lain mengenali kodon dengan A atau G di dalam posisi yang ketiga, dan menyadari U atau C, sehingga hampir semua mampu menyadari dua atau empat kodon.

Pada kode normal, hanya dua asam amino yang ditetapkan oleh kodon tunggal, methionine dan tryptophan (Tabel 26-4). Jika semua mitokondria tRNA yang menyadari dua kodon. Kodon tambahan Met dan Trp diharapkan ada di mitokondria. Oleh karena

variasi kode tunggal umum yang diamati pada spesifikasi UGA, dari "penghentian" Trp. tRNA<sup>Trp</sup> tunggal dapat digunakan untuk mengenali dan menyisipkan residu Trp di kodon UGA dan kodon Trp yang UGG kodon Trp normal. Mengubah AUA dari satu Ile kodon ke kodon Met mempunyai kesamaan pengaruh; kodon Met normal adalah AUG, dan tRNA digunakan untuk kedua kodon. Hal ini menghasilkan banyak variasi umum kode mitokondria. Variasi kode disusun pada table 1.

Kembali pada perubahan yang jarang pada kode selular (berbeda dengan mitokondria) genome, kita menemukan bahwa a variasi yang hanydikenal pada prokariota adalah pemakaian UGA untuk mengkode residuTrp dalam sel bakteri bebas yang paling sederhana mycoplasma capricolum. Pada eukaryotik extramitochondrial yang dikenal sebagai pengkode terjadi dalam beberapa jenis cilia protista-protista, di mana kodon penghentian UAA dan UAG yang kedua-duanya menetapkan glutamin.

Perubahan di dalam kode harus mutlak- kodon tidak perlu selalu menkode asam amino yang sama. Di dalam E.coli ada dua contoh asam amino.



Gb.1 mikorograp electron dan gambaran skematik porsi sel pancreas, menunjukkan penempelan ribosom pada bagian depan reticulum endoplasmic (sitisolik). Ribosom diperlihatkan dengan sejumlah besar titik yang membatasi layer parallel membrane.