Peran Topoisomerase dalam Proses Biologi Sel

Indri Windarti
Bagian Patologi Anatomi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Abstrak

DNA di dalam sel berada dalam bentuk yang sangat padat untuk mengakomodasi seluruh materi DNA ke dalam nukleus yang luasnya terbatas. Struktur yang sangat padat ini dicapai dengan cara membentuk DNA *supercoil. Supercoil* adalah sifat intrinsik suatu DNA yang diregulasi dengan ketat, karena *supercoil* akan berpengaruh terhadap berbagai proses biologis di dalam sel. Peran topoisomerise pada *supercoil* adalah pada proses *unwinding* dan relaksasi DNA, topoisomerase menentukan sejauh mana DNA mengalami *unwinding.* Jika yang terjadi adalah sebaliknya yaitu *overwinding* pada saat akan memulai proses biologis seperti replikasi dan segregsi maka akan menghambat proses tersebut sehingga menimbulkan ketidakstabilan struktur kromosom dan berpotensi letal terhadap sel ataupun menginduksi sel kearah keganasan. DNA topoisomerase mampu menguraikan *overwinding* DNA tersebut dengan cara membuat celah sementara pada suatu segmen DNA yang dapat dilalui oleh segmen DNA lain sebelum akhirnya enzim menutup kembali celah tersebut.

Kata kunci: biologi sel, DNA *supercoil,* topoisomerase

Pendahuluan

Proses-proses biologis di dalam sel yang meliputi replikasi, segregasi, dan transkripsi DNA sangat bergantung pada konformasi dan topologi DNA.[1] Ketika terjadi penguraian untai ganda DNA (misalnya saat replikasi dan transkripsi) penguraian suatu segmen DNA akan mengakibatkan *overwinding* segmen lain.[2,3] *Overwinding* segmen DNA ini dapat menimbulkan berbagai masalah, antara lain: terhambatnya replikasi dan segregasi sehingga menimbulkan ketidakstabilan struktur kromosom dan berpotensi letal terhadap sel ataupun menginduksi sel kearah keganasan.[2] DNA topoisomerase mampu menguraikan *overwinding* DNA tersebut, dengan cara membuat celah sementara pada suatu segmen DNA yang dapat dilalui oleh segmen DNA lain sebelum akhirnya enzim menutup kembali celah tersebut.[4]
Mengingat pentingnya peran Topoisomerase pada berbagai proses biologis, maka dalam makalah ini akan ditelaah mengenai mekanisme kerja Topoisomerase khususnya dalam proses replikasi dan transkripsi.

Biologi Topoisomerase

Topoisomerase adalah enzim di dalam inti sel yang mampu memodifikasi topologi DNA dan berperan pada replikasi, transkripsi dan rekombinasi yang sangat penting dalam pembentukan struktur kromosom, kondensasi/dekondensasi serta segregasi kromosom.[5]

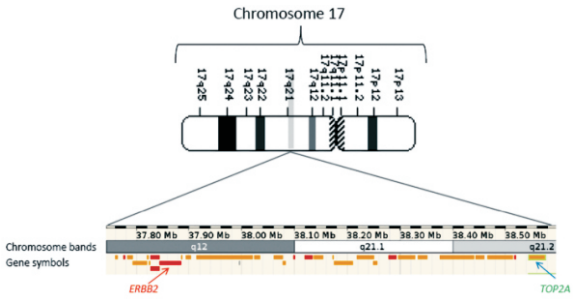
DNA Topoisomerase dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu:
DNA Topoisomerase tipe I: secara struktural terdiri atas satu monomer, tidak membutuhkan kofaktor berenergi tinggi, dan berfungsi merubah susun heliks materi DNA dengan cara melewatkan satu untai DNA melalui celah yang dibentuk pada untai pasangannya kemudian menutup kembali celah tersebut. Yang termasuk dalam kelompok ini adalah:

1. Prokariota: Topoisomerase bakteri I dan III
2. Eukariota: Topoisomerase eukariota I dan III.[6]

DNA Topoisomerase tipe II: secara struktural merupakan protein multisubunit yang membutuhkan ATP untuk aktivitas katalitiknya, enzim ini bekerja dengan cara melewatkan untai ganda DNA melalui celah yang dibentuk pada untai lainnya kemudian menyambungkan kembali celah yang terbentuk.[6] Hal ini membuat DNA Topoisomerase tipe II dapat memodifikasi *under* dan *overwinding* untai ganda DNA.[6] Yang termasuk dalam kelompok ini adalah:

1. Topoisomerase IIA:
   - Prokatiota: Topoisomerase bakteri II (DNA gyrase), Topoisomerase bakteri IV
   - Eukariota: Topoisomerase II (TOP2) yang terdiri atas dua isoform berbeda pada mamalia yaitu α dan β
2. Topoisomerase IIB: Topo VI dan Spo 11.[6]

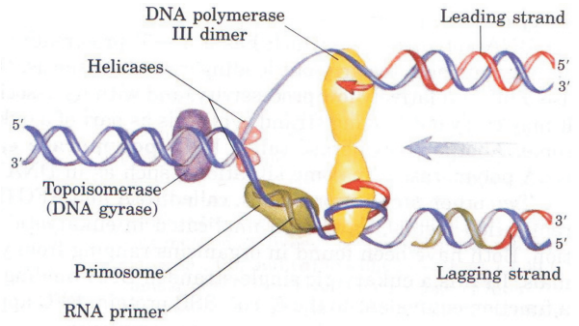
Topoisomerase IIA dikode oleh gen yang berlokasi pada kromosom 17q21-22 mengandung 35 ekson. Gen Topoisomerase IIA mentranskripsi mRNA yg mengandung 4.590 nukleotida yg menghasilkan 1.530 asam amino, sedangkan Topoisomerase IIB dikode oleh gen yang berada pada kromosom 3p24 mengandung 36 ekson. Gen



Gambar 1. Gen topoisomerase IIA terletak di kromosom 17q21-22.

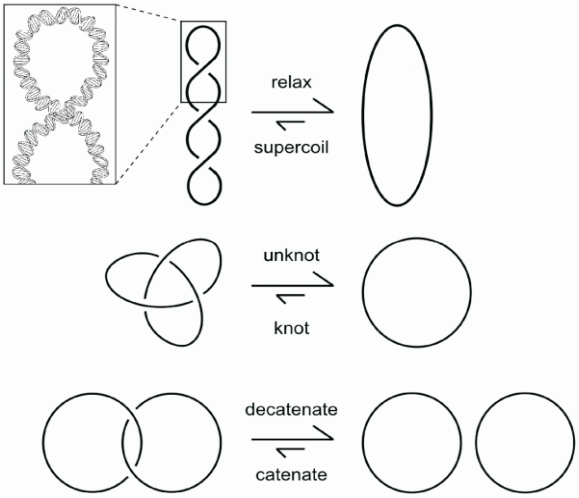
Peran Topoisomerase pada Proses Replikasi dan Transkripsi

Proses replikasi atau transkripsi dimulai dengan penguraian DNA untai ganda. Proses penguraian untai ganda ini dapat menyebabkan pembentukan struktur katenasi, *knotting* dan *supercoil*.[1]



Gambar 2. Proses replikasi DNA[1]

Katenasi adalah terbentuknya struktur DNA baru (*daughter* DNA) yang saling membelit, *knotting* adalah stuktur dimana DNA melilit dirinya sendiri, sedangkan *supercoil* adalah keadaan *overwinding* dari struktur DNA (Gambar 3).[1]



Gambar 3. Struktur DNA (supercoil, knotting dan katenasi) masing-masing garis merepresentasikan DNA untai ganda.

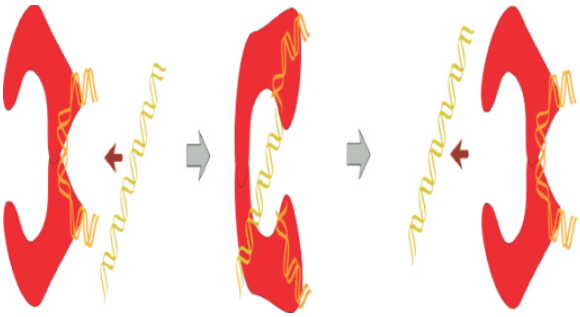
Dalam hal regulasi topologi DNA, fungsi topoisomerase yaitu untuk mengubah keadaan overwinding dari DNA menjadi bentuk underwinding dengan cara memotong salah satu untai DNA, dan melewatkan untai DNA yang lain melalui celah yang telah

terbentuk, kemudian menyambungkan kembali untai DNA tersebut.[1]

Pada proses trankripsi akan terjadi negative supercoiling dibelakang kompleks transkripsi dan terjadi positive supercoiling di depan kompleks transkripsi, maka Topoisomerase dibutuhkan untuk merelaksasi DNA dan memfasilitasi elongasi. Topoisomerase IIB membentuk kompleks dengan kompleks inisiasi transkripsi pada region promoter gen-gen yang berperan pada proses perbaikan DNA.[2]

Mekanisme Kerja Topoisomerase

Topoisomerase bekerja untuk mengubah topologi DNA dari keadaan katenasi menjadi dekatenasi, knotting menjadi unknotting, dan supercoil menjadi relaksasi dengan cara mengikat segmen G DNA sehingga membentuk struktur seperti hairpin dan kemudian segmen T dari DNA dapat melewati segmen G melalui celah yang dibentuk oleh struktur hairpin tersebut. Top2A juga dapat menyambungkan kembali/ religasi DNA yang terpotong.6,9,10 Pemotongan untai DNA oleh topoisomerase terjadi melalui pengenalan DNA dengan reaksi transesterifikasi, dimana residu tirosinnya membentuk ikatan fosfotirosin dengan gugus fosfat DNA.[1]



Gambar 4. Topoisomerase (merah) terikat pada segmen G DNA hairpin-like conformation.

Anti Topoisomerase

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian yang mengaitkan ekspresi Topoisomerase dengan keganasan antara lain keganasan pada payudara, ovarium dan dan limfoma.[11-15] Jaringan tumor yang mengekspresikan Topoisomerase IIA yang tinggi cenderung memiliki sifat yang lebih agresif. Hal ini menjadikan Topoisomerase sebagai salah satu molekul target dalam pengobatan keganasan. Peningkatan ekspresi Topoisomerase IIA dalam jaringan tumor menyebabkan hipersensitifitasnya terhadap obat yang menargetkan Topoisomerase II.[11]

Beberapa penelitian preklinik menunjukkan mekanisme anti tumor terhadap Topoisomerase IIA adalah dengan membuat stabil kompleks DNA-Topoisomerase II dan menghambat penyambungan kembali/ religasi dari DNA yang telah terurai. Hal ini dikarenakan anti Topoisomerase dapat menempatkan diri antara Topoisomerase IIA dan untai DNA sehingga menyebabkan kestabilan kompleks kovalen DNA-Topoisomerase II dan juga dapat menghambat penyambungan kembali untai DNA yang terurai. Hal ini menyebabkan akumulasi DNA yang terurai sehingga terjadi kematian sel.[14] Peningkatan ekspresi Topoisomerase IIA dalam jaringan tumor menyebabkan hipersensitifitasnya terhadap obat yang menargetkan Topoisomerase IIA, sehingga tumor yang mengekspresikan Topoisomerase IIA yang tinggi merupakan calon yang baik untuk menerima terapi Topoisomerase IIA.[11]

Simpulan, DNA Topoisomerase adalah enzim di dalam inti sel yang dapat dijumpai dalam jumlah yang tidak sedikit dan telah ditemukan berbagai jenis topoisomerase dalam berbagai mahluk hidup. Enzim ini memiliki berbagai fungsi biologis yang sangat penting bagi kelangsungan hidup sel khususnya pada proses replikasi, transkripsi.

Daftar Pustaka

Liu Z, Deibler RW, Chan HS, Zechiedrich L. Survey and summary the why and how of DNA unlinking. Nucleic Acids Res.2009;37(3): 661-71.

Nitiss JL. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological function. Cancer. 2009;3: 327-37.

Vologogskii A. Survey and summary theoretical models of DNA topology simplification by type IIA DNA topoisomerase. Nucleic Acid Res.2009;37(10):3125-33.

Roca J. Survey and summary topoisomerase II: a fitted mechanism for the chromatin landscape. Nucleic Acid Res.2009;37(3):721-30.

Nittis JL, Beck WT. Antitopoisomerase drug action and resistance. Eur J Cancer. 1996; 32: 958-66.

Ammon SJF, Osheroff N. Topoisomerase poisons: harnessing the dark side of enzyme mechanism. J Biol Chem. 1995; 270: 21429-32.

Fry AM, Chresta CM, Davies SM. Relationship between topoisomerase II level and chemosensitivity in human tumor cell lines. Cancer Res 1991; 51: 6592–5.

Zhirong L, Deibler RW, Hue SC, Lynn Z. The why and how DNA unlinking. Nucleic acids Res. 2009; 37: 661-71.

Burden DA, Kingma PS, Ammon SJF, Bjornstii MA, Patchan MW, Thompson RB, et al. Topoisomerase II-etoposide interactions direct the formation of drug-induced enzyme-DNA cleavage complexes. J Biol Chem. 1996; 271: 29238–44.

Nitiss JL. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. Nat Rev Cancer. 2009; 9: 338–50.

Tanner M, Isola J, Wiklund T. Topoisomerase IIA gene amplification predicts favorable treatment response to tailored and dose escalated anthracycline-based adjuvant chemotherapy in HER2/neu amplified breast cancer. J Clin Oncol 2006; 24: 2428–38.

Rosenwald A, Wright G , Han WCC, Connors JM, Ampo EC, Fisher RI , et al. The use of molecular profiling to predict survival After chemotherapy for diffuse large-b-cell lymphoma. N Engl J Med. 2002; 346: 1937-46.

Pantheroudakis G, Goussia A, Voulgaris E, Nikolaidis K, Ioannidou E, Papoudoubai, et al. High levels of topoisomerase IIα protein expression in diffuse large B-cell lymphoma are associated with high proliferation, germinal center immunophenotype, and response to treatment. Leuk Lymphoma 2010; 51: 1260–8.

Cardoso F, Durbecq V, Larsimont D, Paesmans M, Leroy JY, Rouas G, et al. Correlation between complete response to anthracycline-based chemotherapy and topoisomerase II-α gene amplification [Abstract]. Int J Oncol. 2004; 24: 21-9.

Page CL, David G. Huntsman DG, Provencher DM, Masson AM. studies. Cancers 2010; 2: 913-54.

Predictive and prognostic protein biomarkers in epithelial ovarian cancer: recommendation for future