

▶ MOBILITAS PROTEIN PADA PERMUKAAN MEMBRAN PLASMA

Filosofi dan Sains Biologi

Synodalia C. Wattimena ▶ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura Ambon. Email: s.wattimena@fmipa.unpatti.ac.id Received on 20th June 2016, and accepted on 27th June 2016 ▶ 6/20/2016

Abstract

Single particle tracking (SPT) telah digunakan sejak tahun 1980-an untuk mempelajari gerakan protein pada membrane plasma. Studi ini telah memberikan informasi tentang model-model gerakan protein seperti gerak random, gerak terbatas, dan gerak terarah. Penemuan ini berbeda dengan model membran 'fluid mosaic, yang hanya mengenal gerak random protein pada membrane plasma, Model fluid mosaic, dengan demikian, perlu direvisi dalam kaitannya dengan model gerak protein. Para ahli saat ini percaya bahwa model gerakan protein pada membrane plasma berhubungan dengan fungsinya.

Keywords: *SPT, protein, plasma, mosaic*



MOBILITAS PROTEIN PADA PERMUKAAN MEMBRAN PLASMA

I. Pendahuluan

Sel mengatur lokalisasi, asembli dan agregasi protein dalam membran plasma sedemikian rupa sehingga menciptakan keadaan yang cocok bagi berfungsinya protein ini. Struktur adhesi antara sel (cell-cell adhesion structures) (Kusumi dkk, 1990) dan hubungan sinaptik (synaptic junctions) (Dubinski dkk., 1989), misalnya, terbentuk oleh asembli dari protein-protein yang spesifik untuk menjalankan fungsi tertentu. Proses lokalisasi, asembli dan agregasi protein ini dimungkinkan oleh mobilitas protein pada permukaan membran plasma. Dengan demikian untuk mempelajari proses-proses tersebut di atas, pengetahuan tentang mobilitas protein pada permukaan membran sangatlah penting.

Metoda yang sangat populer dalam mengukur mobilitas protein saat ini adalah “fluorescence after photobleaching” (FRAP) dan “single particle tracking” (SPT). Metode

FRAP melibatkan protein dalam jumlah yang banyak dan meliputi permukaan membran plasma yang relatif luas. Hasil pengukuran mobilitas protein yang biasanya direpresentasikan oleh koefisien difusinya, oleh karena itu, adalah merupakan nilai rata-rata dari semua protein yang terlibat dalam pengukuran dimaksud. SPT di lain pihak adalah metoda yang melibatkan protein tunggal. Dengan demikian, protein yang menjadi subjek penelitian dapat dipilih dan dipelajari. Menggunakan SPT untuk mengamati berbagai jenis protein dapat memberikan informasi tentang berbagai jenis gerakan protein. Hal yang terakhir ini dapat mengarah pada penelitian untuk mengamati hubungan antara jenis-jenis gerakan pada protein dengan fungsi dari protein itu sendiri.

Review ini membahas penggunaan SPT dalam mengamati gerakan protein pada permukaan membran plasma dan hasil-hasil penelitian tentang gerakan protein sebagai konsekuensi digunakannya metoda SPT. Pembahasan lebih diarahkan untuk mengkomunikasikan hasil-hasil penelitian tentang gerakan protein pada membran dan konsekuensinya terhadap model membran yang dikemukakan oleh Singer dan Nicolson pada tahun 1972 (Singer dan Nicolson, 1972). Diharapkan review ini dapat menjadi pengetahuan tambahan baik untuk mahasiswa maupun untuk tenaga pengajar.

2. Single Particle Tracking (SPT)

Hambatan terbesar dalam pengamatan gerakan protein adalah bahwa ukuran protein itu sendiri sangat kecil sehingga tidak dapat diamati dengan bantuan

mikroskop biasa. Di lain pihak mikroskop elektron tidak dapat membantu mengamati gerakan dari suatu benda, karena sampel harus diletakan di dalam ruang vakum. Sebagai pemecahannya, para peneliti berusaha untuk melabel protein dengan benda tertentu yang relatif besar sehingga dapat diamati dengan mikroskop biasa. Ukuran benda tersebut tidak terlalu besar sehingga tidak mengganggu mobilitas protein itu sendiri.

Dalam SPT, protein dihubungkan dengan antibodi partikel koloid yang bersifat fluoresen yang dapat diamati dengan mikroskop digital. Mikroskop digital ini dihubungkan dengan video yang dikontrol dengan komputer untuk merekam jejak partikel yang diamati. Dengan cara ini jejak protein dapat dipetakan dan jenis gerakan yang dilakukan protein dapat disimpulkan.

3. Gerakan Protein pada Membran

Dalam menganalisa jejak dari partikel biasanya dihitung perpindahan rata-rata kuadrat atau dikenal dengan istilah mean square displacement (MSD). Besaran ini difenisikan sebagai perpindahan posisi partikel dalam suatu interval waktu tertentu terhadap posisi awalnya. Interval waktu yang dimaksud adalah $N\Delta t$, di mana N adalah jumlah potret yang diambil dan Δt adalah interval waktu terkecil yang dapat capai oleh video dalam hal ini dalam bisa mencapai $3e-9$ detik.

Model MSD untuk jenis-jenis gerakan seperti terbatas (confined), random atau Brownian (diffusion) dan terarah (flow+diffusion) telah dirumuskan secara

teoritis (Wilson dkk., 1996; Manzo C., 2015). Model teoritis kemudian digunakan untuk memfit MSD data dari hasil pengukuran untuk mengetahui model gerakan dan juga parameter-parameter dalam mobilitas protein itu sendiri, misalnya koefisien difusi.

Seperti dikemukakan oleh Singer dan Nicolson, Pengamatan gerakan protein dengan SPT menunjukkan bahwa protein bergerak secara acak atau bebas pada permukaan membran. Walaupun demikian, pengamatan lainnya menunjukkan bahwa ada juga protein yang bergerak tidak secara acak tetapi dibatasi pada suatu daerah tertentu. Kusumi dkk (Kusumi dkk., 1993) dari University of Tokyo Jepang, mempelajari gerakan E-cadherin (epidermal growth factor receptor) dalam kultur membran (cultured mouse keratinocyte) dan menyimpulkan bahwa pada permukaan membran protein ini bergerak secara acak, tetapi terbatas pada suatu domain tertentu dengan diameter sekitar 300-600 nm dalam waktu sekitar 3-30 detik sebelum berpindah ke domain yang lainnya. Kusumi kemudian mengemukakan model “membrana skeleton fence” (MSF). Dalam model MSF cytoskeleton pada membran berfungsi sebagai pembatas bagi gerakan protein. Dalam waktu 3-30 detik, protein hanya bisa bergerak secara acak dalam suatu domain karena dihalangi gerakannya oleh sitoskeleton. Kenyataan yang menunjukkan bahwa protein dapat menyeberang ke domain yang lain diperkirakan karena adanya dinamika atau fluktuasi dari protein tersebut yang pada saat-saat tertentu berhasil melampui pembatas sitoskeleton. Faktor lainnya adalah

ukuran dari protein itu sendiri; protein yang relative panjang akan sulit untuk melewati pembatas sitoskeleton. Model MSF ini ditunjang oleh penelitian lainnya di mana perusakan sitoskeleton secara kimiawi mengurangi jumlah pembatas dalam gerakan protein (Sako dan Kusumi, 1994).

Jenis gerakan protein lainnya ditemukan pada tahun 1993 oleh Schmidt dkk. (Schmidt dkk., 1993) pada saat mempelajari gerakan integrins pada fibroblas (Fibroblasts). Hasil analisis dari MSD menunjukkan bahwa gerakan integrin dapat dikategorikan sebagai gerakan terarah yang cenderung menuju ke periperal sel (cell periphery). Jenis gerakan yang sama juga ditemukan pada saat mempelajari gerakan glikoprotein pada keratocyte (keratocytes) (Kucik dkk., 1989).

4. Revisi Model Membran

Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang dikemukakan di atas, maka model membran yang dikemukakan oleh Singer dan Nicolson perlu mengalami perubahan. Hanya satu jenis gerakan yaitu gerakan acak yang dikemukakan oleh Singer dan Nicolson. Pada tahun 1995, Jacobson dkk., mengusulkan revisi model membran tersebut dan mengikutsertakan jenis-jenis gerakan lainnya yang telah ditemukan (Jacobson dkk., 1995).

5. Kekurangan SPT

Salah satu kekurangan SPT yang sangat jelas adalah partikel yang dihubungkan dengan protein yang dipelajari mempunyai

ukuran yang lebih besar daripada protein dan dengan sendirinya lebih berat daripada protein. Kenyataan ini menimbulkan pertanyaan sejauh mana pengaruh partikel itu dalam pengukuran mobilitas protein pada permukaan membran. Penelitian-penelitian lanjutan untuk mempelajari pengaruh ini masih dilaksanakan saat ini. Salah satu hasil penelitian yang cukup signifikan dalam menjawab permasalahan ini adalah ukuran partikel yang dihubungkan dengan protein tidak mempengaruhi gerakan protein pada membran (Sheets dkk., 1997). Terlepas dari kenyataan ini, penelitian gerakan protein dengan menggunakan SPT saat ini masih dilaksanakan secara ekstensif dan diarahkan pada hubungan antara gerakan protein dengan fungsinya pada membran plasma.

6. Kesimpulan

Penggunaan metoda single particle tracking dalam mempelajari gerakan protein pada permukaan membran plasma telah membantu mengungkapkan jenis-jenis gerakan protein selain gerakan acak yang dikemukakan oleh Singer dan Nicolson dalam model membran fluida mosaik. Dengan penemuan ini, model fluida mosaik perla direvisi dan penelitian lanjutan tentang hubungan antara jenis-jenis gerakan protein dan fungsinya masih dipelajari secara ekstensif.

Daftar Pustaka

[1]. Dubinsky J.M., D.J.Loftus, G.D.Fischbach dan E.L.Elson. 1989. Formation of acetylcholine receptor clusters in chick myotubes:migration or new insertion? *J. Cell Biol.* 109:1733-1743.

[2]. Jacobson K., D. Erin, M.P. Sheetz dan R. Simson. 1995. Revisiting the fluid mosaic model of membranes. **Science** 268:1441-1442.

[3]. Kucik D.F., E.L.Elson, M.P. Sheetz. 1989. Forward transport of glycoproteins on leading lamellipodia in locomating cells. **Nature** 340:315-317.

[4]. Kusumi A., A.Tsuji, M. Murata, Y.Sako, S.Kagiwada, T.Hayakawa dan S.Ohnishi. 1990. Development of time resolved microfluorimetry and its application to studies of cellular membranes. In Time resolved laser spectroscopy in biochemistry II.

[5]. Manzo C dan M.F. Garcia-Parajo. 2015. A review of progress in single particle tracking: from methods to biophysical insight. **Reports on Progress in Physics** 78: 124601.

[6]. Sako Y. Dan A. Kusumi. 1994. Compartmentalized structure of the plasma membrane for receptor movements as revealed by a nanometer-level motion analysis. **J. Cell Biol.** 125:1251-1264.

[7]. Schmidt C.E., A.F. Horwitz, D.A. Lauffenburger, M.P. Sheetz. 1993. Integrin-cytoskeletal interactions in migrating fibroblasts are dynamic, asymmetric and regulated. **J. Cell Biol.** 123:977-991.

[8]. Sheets E.D., G.M. Lee, R. Simson dan K. Jacobson. 1997. Transient confinement of a glycosylphosphatidylinositol-anchored protein in the plasma membrane. **Biochemistry** 36:12449-12458.

[9]. Singer S.J. dan G.L. Nicolson. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. **Science** 175:721-731.

[10]. Wilson K.M., I.E.G. Morisson, P.R. Smith, N. Fernandez dan R.J. Cherry. 1996. Single particle tracking of cell surface HLA-DR molecules using R-phycoerythrin labelled monoclonal antibodies and fluorescence digital imaging. **J. Cell Sci.** 109:2101-2109.