

SINTESIS NUKLEOTIDA BERTANDA [γ - 32 P]ATP SECARA ENZIMATIS DENGAN DL-GLISERALDEHID-3-FOSFAT

Wira Y Rahman^{1*}, Endang Sarmini¹, Herlina¹, Triyanto¹, Hambali¹, Abdul Mutalib¹,
Santi Nurbaiti²

¹ Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR) - BATAN
Gd.11 Kawasan PUSPIPTEK Serpong Tangerang 15313, *Tel/fax : (021)7563141

² Kelompok Keahlian Kimia ITB

*email: wira@batan.go.id

ABSTRAK

Dalam perkembangan biologi molekuler, radionuklida dalam bentuk senyawa bertanda telah digunakan sebagai perunut deoxyribonucleic acid (DNA)/ribonucleic acid (RNA) untuk mendalami berbagai macam proses fisiologi dan patologi. Pada penelitian ini akan dibuat senyawa nukleotida bertanda yang dapat digunakan sebagai perunut dalam biologi molekuler. Salah satu senyawa tersebut adalah nukleotida bertanda fosfor-32 (32 P) [γ - 32 P]-adenosine triphosphate {[γ - 32 P]-ATP}. Pembuatan senyawa nukleotida bertanda [γ - 32 P]-ATP ini melalui reaksi enzimatik dengan prekursor DL-glyceraldehyde 3-phosphate, adenosine di-phosphate (ADP) dan $H_3^{32}PO_4$, menggunakan enzim gliseraldehid 3-phosphat dehidrogenase, 3-phosphogliserat-kinase dan laktat dehidrogenase. Pemurnian [γ - 32 P]-ATP hasil sintesis dilakukan berdasarkan metoda pemisahan dari Schendel dan Wells, dengan menggunakan kolom kromatografi DEAE-Sephadex. Dari proses sintesis dan pemurnian yang telah dilakukan berhasil diperoleh [γ - 32 P]-ATP dengan aktifitas 1,977 mCi dan kemurnian radiokimia 99,65%. Dengan berhasilnya dilakukan sintesis dan pemurnian [γ - 32 P]-ATP, maka Pusat Teknologi Radiosotop dan Radiofarmaka akan dapat menyediakan nukleotida bertanda tersebut untuk menunjang penelitian biologi molekuler di Indonesia.

Kata-kata kunci: nukleotida bertanda [γ - 32 P]ATP, sintesis, reaksi enzimatik, pemurnian

PENDAHULUAN

Pemanfaatan teknologi nuklir untuk kesejahteraan manusia telah merambah berbagai bidang kehidupan seperti kesehatan, industri, riset kebumiharian, energi, pangan dan pertanian, ilmu fisika dan kimia, serta kelautan dan hidrologi, dan lain-lain. Selama dekade terakhir ini aplikasi radioisotop telah berkembang dengan cepat, tidak hanya digunakan dalam pencitraan untuk memperoleh informasi fungsional suatu senyawa, melainkan juga untuk mendalami berbagai proses fisiologi dan patologi [1, 3, 5].

Salah satu aplikasi teknologi nuklir dalam bidang kesehatan yang dikombinasikan dengan teknik biologi molekuler adalah deteksi human papilloma virus (HPV) penyebab kanker serviks. Deteksi ini dilakukan melalui penentuan urutan asam nukleat DNA virus menggunakan teknik polymerase chain reaction (PCR) dan hibridisasi dot blot. Teknik

hibridisasi membutuhkan pelacak (probe) yang berperan untuk mendeteksi fragmen DNA virus yang spesifik tersebut. Pelacak merupakan asam nukleat rantai pendek beruntai tunggal (untai tunggal RNA atau DNA) yang memiliki sekuens spesifik yang akan dideteksi dan berlabel radioaktif P-32, salah satunya adalah [γ - 32 P]ATP [2, 7, 8]. Teknik penggunaan pelacak DNA/RNA untuk mendeteksi gen atau fragmen DNA yang diinginkan atau untuk mendeteksi klon yang benar dikenal dengan nama teknik Southern Blotting [7, 8].

Pelacak DNA/RNA yang digunakan untuk mendeteksi gen atau fragmen DNA yang diinginkan atau untuk mendeteksi klon yang benar [6, 8]. Pendeteksian dilakukan dengan memisahkan sampel DNA utas ganda menjadi utas tunggal dan mentransferkannya ke membran nilon. Saat diinkubasi dengan membran dalam larutan,

pelacak mengikat bagian-bagian yang merupakan pasangannya dalam DNA dan "melekat" pada membran. Setelah itu, dilakukan kontak antara membran dengan selembur film fotografis yang sensitif terhadap emisi radioaktif. Hanya bagian-bagian dari sampel tempat lokasi gen yang terlihat sebagai titik gelap pada film, karena hanya bagian itulah yang terikat pada pelacak radioaktif [8, 11].

Seiring dengan perkembangan biologi molekul di Indonesia maka kebutuhan akan senyawa nukleotida bertanda untuk perunut menjadi sangat penting. Untuk itu penguasaan teknik sintesa nukleotida bertanda akan sangat mendukung peningkatan kemampuan di bidang biologi molekul. Penelitian ini bertujuan untuk membuat senyawa nukleotida bertanda [γ - ^{32}P]ATP yang akan digunakan untuk penelitian dalam bidang biologi molekul. Sintesa [γ - ^{32}P]ATP dalam penelitian ini dilakukan menggunakan reaksi enzimatis dengan bahan dasar DL-gliseraldehid-3-fosfat dan radioisotop ^{32}P , yang kemudian diikuti dengan pemurnian dengan menggunakan penukar anion DEAE-Sephadex.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ bebas pengemban dengan kemurnian radiokimia diatas 97% yang dibuat oleh Pusat Teknologi Radioisotop dan Radiofarmaka (PTRR)-BATAN. Enzim gliseraldehid-3-phosphat dehidrogenase (80 unit/mg) 10 mg/mL, phosphogliserasat kinase (450 unit/mg) 10 mg/mL, fruktosa-1,6-disfosfat, sodium piruvat, dithiothreitol, tris-HCl, etilendiamin-tetraasetat (EDTA), DL-gliseraldehid 3-fosfat dari Sigma Aldrich. Sedangkan laktat dehidrogenase (250 unit/mg) 5 mg/mL, adenosin di-fosfat (ADP), β -nikotinamida adenin dinukleotida (NAD), magnesium klorida diperoleh dari E.Merck, Jerman.

Bahan penunjang yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu kolom kromatografi Dowex AG 50 (1x8) dari BioRad, kolom kromatografi DEAE-Sephadex (Sigma Aldrich) dengan pendingin, kromatografi lapisan

tipis (KLT) plastik polyethyleneimine (PEI) cellulose dari E.Merck, kertas indikator pH universal (E.Merck), peralatan gelas dan tabung mikro.

Peralatan yang digunakan yaitu sentrifuga berpendingin (refrigerated centrifuge) (Allegra Beckman Coulter), penangas air (Mettler), Mini TLC Scanner (Bioscan AR-2000), dan Liquid Scintillation Counter (LSC) (MicroBeta Trilux).

Metode

1. Preparasi campuran yang digunakan
Pembuatan larutan campuran A: 100 μL campuran berikut ini dibuat dalam satu tabung mikro

| | | |
|---------|-------------------|--------------------|
| | Air (aquabidest) | 25 μL |
| 0,5 M | Tris-HCl | 50 μL |
| 0,3 M | Magnesium Klorida | 20 μL |
| 0,125 M | Natrium piruvat | 12,5 μL |
| 5 mM | ADP | 12,5 μL |
| 0,2 M | Dithiothreitol | 30 μL |
| 0,02 M | DL-glyceraldehyde | 25 μL |
| 20 mM | β -NAD | 25 μL |

2. Preparasi pereaksi campuran untuk buffer pelet enzim
Pembuatan larutan campuran B: 50 μL larutan berikut disiapkan dalam satu tabung mikro

| | | |
|-------|-------------------|--------------------|
| | Air | 42,5 μL |
| 0,5 M | Tris-HCl | 2,5 μL |
| 0,3 M | Magnesium Klorida | 2,5 μL |
| 0,2 M | Dithiothreitol | 2,5 μL |

3. Preparasi campuran enzim
Pembuatan campuran enzim: 12 μL campuran enzim berikut dibuat di dalam satu tabung mikro

| | | |
|---|------------------|--------------|
| Glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase | 50 μL | (40 units) |
| Lactate dehydrogenase | 50 μL | (62,5 units) |
| 3-phosphoglycerate kinase | 50 μL | (225 units) |

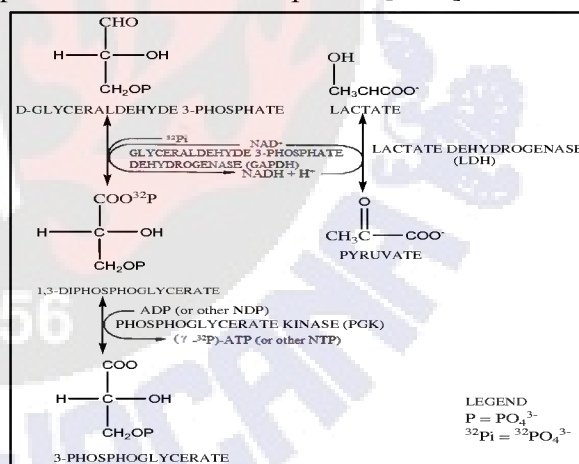
Campuran enzim tersebut disentrifugasi pada kecepatan 15000 rpm selama 20 menit.

Setelah diambil supernatannya, endapan enzim kemudian dilarutkan dengan 50 μL larutan campuran B.

4. Proses pembuatan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$
 Ke dalam tabung mikro bervolume 1,5 mL dimasukkan 200 μL $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ (aktivitas terukur) pH diatur menjadi 8-9 dengan penambahan larutan 2M NaOH. Selanjutnya, ke dalam larutan tersebut ditambahkan berturut-turut 200 μL larutan campuran A dan 50 μL campuran enzim. Campuran reaksi kemudian diinkubasi selama (t) menit dan dicuplik setiap waktu tertentu selama 1 jam. Reaksi enzimatik kemudian dihentikan dengan memasukkan tabung mikro ke dalam penangas air bersuhu 70°C selama 3 menit. $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ yang terbentuk kemudian dimurnikan dengan menggunakan kolom penukar ion DEAE-Sephadex.
5. Proses pemisahan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ hasil sintesa
 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ hasil sintesa dipisahkan dengan menggunakan kolom DEAE-Sephadex berpendingin (4°C) yang telah dikondisikan dengan NH_4HCO_3 0,01 M filtrat ditampung dalam botol polietilen A. Kolom dielusi dengan 20 mL NH_4HCO_3 0,01 M untuk mengelusi enzim dari kolom filtrat ditampung dalam botol polietilen B. Kemudian kolom dielusi dengan 10 mL NH_4HCO_3 0,1 M untuk menghilangkan sisa ADP dan ATP yang tidak bereaksi, filtrat ditampung dalam botol polietilen C. Kolom dielusi kembali dengan 15 mL NH_4HCO_3 0,23 M (fraksi 1 – 10) untuk menghilangkan P-32 yang tidak bereaksi. ATP yang telah ditandai P-32, $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ selanjutnya dielusi dari kolom dengan 10-15 mL NH_4HCO_3 0,4 M (fraksi 11 – 21). Aktivitas masing-masing fraksi diukur dan dibuat grafik antara aktivitas terhadap nomor fraksi. Puncak ATP ditentukan dengan LSC dan KLT PEI Cellulose.
6. Karakterisasi hasil sintesis $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$
 Hasil penandaan dikarakterisasi dengan KLT dengan menggunakan PEI Cellulose sebagai fasa diam dan larutan KH_2PO_4 0,5 M pH 3,5 sebagai fasa gerak yang kemudian ditentukan R_f -nya dengan Bioscanner.

HASIL DAN DISKUSI

Dalam proses sintesis nukleotida bertanda P-32 menggunakan DL-gliseraldehid 3-fosfat terjadi reaksi oksidasi gliseraldehid-3-fosfat menjadi 1,3-difosfoglisarat. Selanjutnya fosfo-gliseraldehid bereaksi dengan asam fosfat ($\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$) dengan aktivitas yang digunakan 3,94 mCi, menghasilkan 1,3-disfosfoglisarat. Senyawa 1,3-difosfoglisarat berubah menjadi asam 1,3-difosfoglisarat dengan bantuan enzim gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase, kofaktor ion Mg^{++} serta koenzim NAD^+ . Selama reaksi berlangsung molekul NAD^+ akan berubah menjadi NADH. Molekul NADH ini dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase akan berubah kembali menjadi NAD^+ disertai pengubahan asam piruvat menjadi asam laktat. Senyawa 1,3-difosfoglisarat selanjutnya berubah menjadi 3-fosfoglisarat dengan bantuan enzim fosfoglisarat kinase, disertai dengan perubahan ADP menjadi ATP. Proses pemisahan dan pemurnian $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dilakukan dengan menggunakan kromatografi penukar anion DEAE-Sephadex [4, 10].

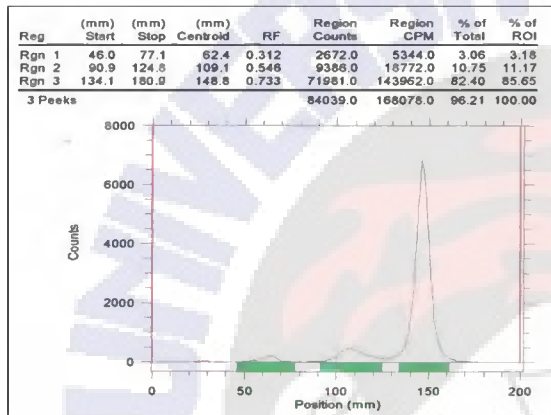


Gambar 1. Reaksi enzimatik pembentukan ADP menjadi ATP dengan penambahan fosfat radioaktif ($\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$)

Oleh karena dalam proses penyiapan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dibutuhkan ^{32}P dalam bentuk $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$, maka hal pertama yang dilakukan adalah melakukan uji kualitas $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ yang akan digunakan dalam proses penandaan. Hal ini dilakukan karena radionuklida ^{32}P berupa larutan $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ (dalam bentuk orto-fosfat) cenderung tidak stabil dalam

penyimpanan dan mudah berubah menjadi senyawa polifosfat.

Hasil pemeriksaan $H_3^{32}PO_4$ dengan sistem KLT menggunakan PEI Cellulose sebagai fasa diam dan larutan KH_2PO_4 0,5 M pH 3,5 sebagai fasa gerak, memperlihatkan adanya dua komponen dalam larutan $H_3^{32}PO_4$ yang diuji. Hasil penentuan kemurnian radiokimia dari larutan $H_3^{32}PO_4$, terdapat hanya 85,65% sebagai $H_3^{32}PO_4$ ($R_f = 0,7$) seperti terlihat pada **Gambar 2**.

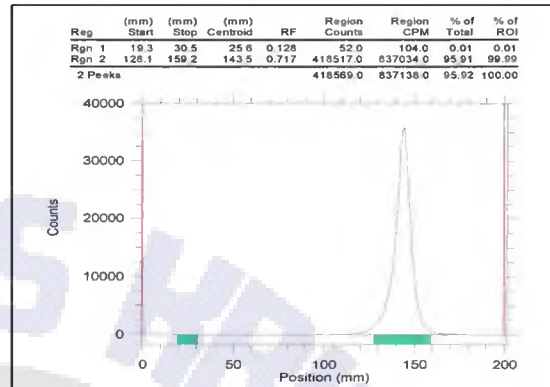


Gambar 2. Radiokromatogram dari larutan $H_3^{32}PO_4$ sebelum proses pemurnian

Dalam proses sintesis $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ diperlukan kemurnian radiokimia ^{32}P dalam bentuk $H_3^{32}PO_4 > 97\%$. Kemurnian radiokimia ^{32}P dalam bentuk $H_3^{32}PO_4$ yang $< 97\%$ dapat menghambat reaksi enzimatis yang akan dilakukan [10, 12]. Untuk mengatasi hal tersebut $H_3^{32}PO_4$ (kemurnian $< 97\%$) harus dimurnikan terlebih dahulu sehingga diperoleh larutan $H_3^{32}PO_4$ dengan kemurnian radiokimia yang tinggi ($> 97\%$) dan layak digunakan untuk pembuatan nukleotida bertanda $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$.

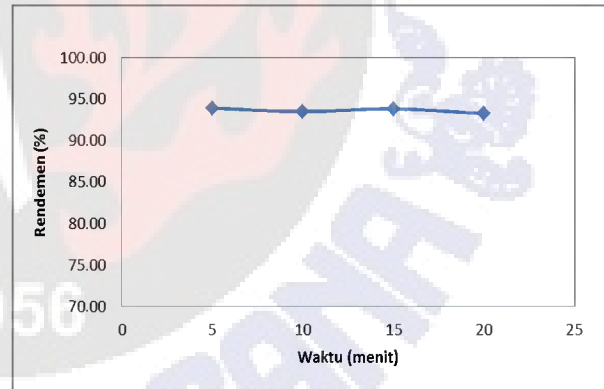
Pemurnian dilakukan dengan melewati $H_3^{32}PO_4$ (kemurnian 85,65%) pada kolom penukar kation Dowex AG 50 (1 x 8) yang telah dikondisikan dengan HCl 1M. Fraksi-fraksi hasil elusi kemudian ditampung dan dianalisa dengan sistem KLT menggunakan PEI cellulose sebagai fasa diam dan larutan KH_2PO_4 0,5M pH 3,5 sebagai fasa gerak. Radiokromatogram $H_3^{32}PO_4$ yang telah dimurnikan dengan kolom penukar

kation Dowex AG 50 (1 x 8) dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Radiokromatogram larutan $H_3^{32}PO_4$ setelah proses pemurnian

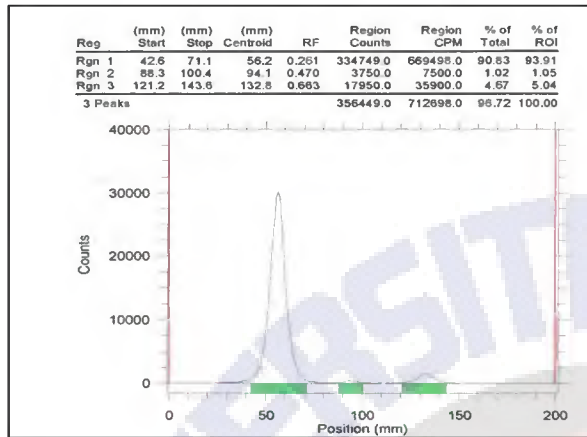
Pembentukan $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ diamati dengan cara mencuplik sejumlah tertentu sampel setiap (t) menit reaksi yang kemudian dianalisis dengan sistem KLT dengan menggunakan PEI Cellulose sebagai fasa diam dan larutan KH_2PO_4 0,5 M pH 3,5 sebagai fasa gerak. Hasil inkubasi setelah 20 menit yang dicuplik setiap 5 menit dapat dilihat pada **Gambar 4** berikut :



Gambar 4. Rendemen hasil optimasi pembentukan $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$

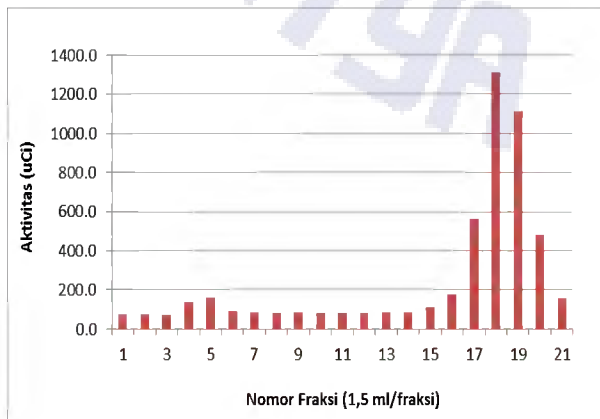
Waktu yang optimal untuk inkubasi pembentukan nukleotida bertanda P-32 $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ adalah 5 menit, karena dengan bertambahnya waktu tidak menambah rendemen pembentukannya. Radiokromatogram cuplikan yang diambil 5 menit setelah proses inkubasi dapat dilihat pada **Gambar 4**. Dari kromatogram ini dapat dilihat persentase kelimpahan penandaan $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ sebesar 93,91%, (R_f 0,281). Dari kromatogram yang sama

juga dapat dilihat masih terdapat 5,04% $H_3^{32}PO_4$ (R_f 0,663) bebas atau yang tidak terikat pada ATP.



Gambar 5. Radiokromatogram pembentukan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ setelah inkubasi (60) menit

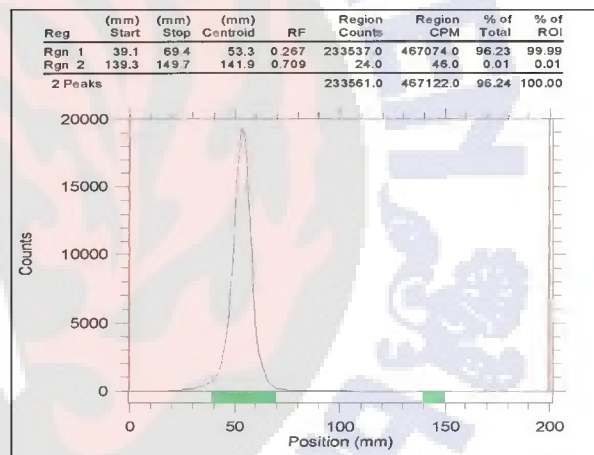
Untuk mendapatkan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dengan kemurnian radiokimia > 90%, dilakukan proses pemisahan yang digunakan oleh Schendel dan Wells [10], yaitu dengan menggunakan larutan $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ pH 7,5 dengan konsentrasi 0,01 M; 0,1 M; 0,23 M dan 0,4 M sebagai eluen. Pada proses pemurnian ini $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ hasil sintesis dilewatkan ke dalam kolom DEAE-Sephadex yang telah dikondisikan dengan 10 mL NH_4HCO_3 0,01 M. Kolom kemudian berturut-turut dielusi dengan 20 mL NH_4HCO_3 0,01 M untuk menghilangkan enzim, dengan 10 mL NH_4HCO_3 0,1 M untuk menghilangkan ADP dan ATP yang tidak bereaksi dan dengan 15 mL NH_4HCO_3 0,23 M untuk menghilangkan P-32 yang tidak bereaksi. Kolom kemudian dielusi dengan 10 mL NH_4HCO_3 0,4 M untuk mendapatkan ATP yang telah ditandai P-32, $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$.



Gambar 6. Profil elusi pemisahan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dengan kolom kromatografi penukar anion DEAE Sephadex menggunakan NH_4HCO_3 sebagai larutan pengelusi

Gambar 6 memperlihatkan profil elusi pemurnian $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dengan kolom kromatografi penukar anion DEAE Sephadex menggunakan NH_4HCO_3 sebagai eluen. Analisa fraksi-fraksi hasil elusi dengan KLT menggunakan PEI Cellulose sebagai fasa gerak dan larutan KH_2PO_4 0,5 M pH 3,5 sebagai fasa diam memperlihatkan bahwa fraksi 4, 5 dan 6 merupakan P-32 bebas yang tidak bereaksi menjadi $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ ($R_f = 0,6$). Sementara itu fraksi 17, 18, 19 dan 20 merupakan fraksi $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ dengan kemurnian radiokimia >90%.

Gambar 7 memperlihatkan kromatogram dari fraksi 19 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ ($R_f = 0,2$), dengan kemurnian radiokimia > 95%.



Gambar 7. Radiokromatogram fraksi 19 dari hasil proses pemurnian $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ menggunakan kolom penukar anion DEAE Sephadex dan NH_4HCO_3 sebagai eluen

Fraksi 17, 18, 19 dan 20 kemudian dikumpulkan, aktivitas yang diperoleh 1,977 mCi. Untuk mendapatkan $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ selanjutnya dilakukan pencucian dengan menggunakan aquabidest menggunakan rotary evaporator untuk menghilangkan garam NH_4HCO_3 . Kemudian dikondisikan dengan larutan Tricine 0,01 M pH 7,6 sehingga bisa digunakan untuk aplikasi teknologi nuklir dalam bidang kesehatan.

KESIMPULAN

Setelah proses pemurnian dengan cara melewatkan $H_3^{32}PO_4$ dengan kemurnian radiokimia 86,48% ke dalam kolom penukar kation Dowex AG 50 (1 x 8) yang telah dikondisikan dengan HCl 0,1M. Kemurnian radiokimia $H_3^{32}PO_4$ meningkat secara signifikan ($> 99\%$). Sementara itu rendemen sintesis $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ dengan menggunakan DL-gliseraldehid 3-fosfat 93,91% dengan waktu inkubasi optimum selama 5 menit. Proses pemurnian $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ dengan menggunakan eluen NH_4HCO_3 memberikan hasil $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ dengan kemurnian radionuklida $\sim 99,99\%$.

Dengan berhasilnya dilakukan proses pemurnian $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ dari raw product, membuka peluang proses pembuatan berkelanjutan untuk memproduksi nukleotida bertanda ^{32}P lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Aris Tjahjoleksono, "Teknologi DNA Rekombinan", Jurusan Biologi FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- [2] Budiawan, "Pengembangan Teknik ^{32}P -Postlabelling untuk Mendeteksi Dini Resiko Kanker", Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi, 2000.
- [3] Dwi Suryanto, "Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler", Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- [4] F. Sakamoto, M. Izumo, K. Hashimoto, Y. Fuji, "Study of Optimum Condition for Synthesis of $[\gamma\text{-}^{32}P]ATP$ with High Specific Radioactivity", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 239, No.2 (1999) 423-427.
- [5] Fatchiyah dan Estri Laras Arumningtyas. "Kromosom, Gen, DNA, Synthesis Protein dan Regulasi", Laboratorium Biologi Molekuler dan Selluler Universitas Brawijaya, Malang, 2006
- [6] Lehringer, A.L, "Dasar-Dasar Biokimia Jilid I", Erlangga, Jakarta, 1982
- [7] Maria Lina R, Budiman Bela dan Andi Yasmon, "Deteksi Mutasi Gen KATG (MyobacteriumTuberculosis) dengan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction) – Hibridisasi Dot Blot menggunakan Pelacak Oligonukleotida Bertanda ^{32}P ", Jurnal Aplikasi Isotop dan Radiasi, 2000.
- [8] Mukh. Syaifudin dan Devita Tetriana, "Analisis Mutasi Gen inhA untuk Uji Resistensi M.Tuberculosis terhadap Isoniazid dengan Metode SSCP radioaktif", Pusat Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi, BATAN, Jakarta.
- [9] Nunuk Priyani, "Sifat Fisik dan Kimia DNA", Program Studi Biologi dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, 2004
- [10] Paul F. Schendel and Robert D. Wells, "The Synthetic and Purification of $[\gamma\text{-}^{32}P]$ Adenosine Triphosphate with High Specific Activity", The Journal of Biology Chemistry, Vol. 248, No. 23, Issue of December 10.
- [11] Suharsono, "Struktur dan Ekspresi Gen", Jurusan Biologi FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- [12] Wira Y Rahman, Endang Sarmini, Herlina, dkk, " Sintesa ATP Bertanda P-32 sebagai Perunut Biologi Molekul", Pertemuan Ilmiah Radioisotop, Radiofarmaka dan Siklotron, 2010.

DISKUSI

Pertanyaan: Apa saja enzim yang digunakan?

Jawab: terdiri dari 3 enzim yaitu

- Glycerldehyde-3-Phosphate
- Lactate dehydrogenase
- 3-phosphoglycerate kinase

Pertanyaan: Mengapa hanya pada posisi gamma, tidak pada posisi lain?

Jawab: Karena pada posisi gamma inilah lebih mudah ditandai dengan berhasilnya posisi ini akan lebih mudah untuk menggeser p-32 pada posisi berikutnya

Pertanyaan: Aplikasinya untuk apa saja?

Jawab: Aplikasi yang telah dilakukan adalah untuk identifikasi HIV Pada pasien dengan mengambil sampel DNA nya kemudian diinkubasi dengan fragmen DNA yang sudah ditandai gamma-32p Atp dengan fil fotografis jika memberikan hasil yang gelap menandakan bahwa pasioen terinfeksi HIV bagian yang gelap menandakan fragmen DNA tersebut terikat pada pelacak radiokatif.

Cara yang sama untuk penderita TB apakah sudah terjadi mutasi atau tidak sehingga pengobatannya lebih tepat.

