



TOPIK VII



**PLANT
TRANSGENESIS**

Email *:
paramita@uny.ac.id

Paramita Cahyaningrum Kuswandi*

FMIPA UNY

2014

Pengertian *Plant Transgenesis*

2

- Plant transgenesis adalah transfer gen secara langsung ke dalam tanaman
- Gen yang dimasukkan bisa antar tanaman berkerabat jauh
- Metode yang digunakan bervariasi, dari menggunakan bakteri atau dengan cara fisik tertentu

Plant transgenics

3

- Transfer of genes to plants directly accelerates selective breeding practices used in the past.
 - Cotton fiber strength
 - ✦ increased 1.5% per year through conventional breeding
 - ✦ Increased 60% by inserting a single gene into the plant
 - Corn and soybean have been targets of much genetic engineering

Transfer gen secara konvensional

4

- **Persilangan dan seleksi** merupakan proses transfer gen untuk membentuk tanaman hibrida
- Tapi proses panjang dan hanya terbatas pada tanaman dalam satu spesies
- Antar genus lebih sulit untuk dilakukan

Transfer Gen Dengan Bioteknologi Modern

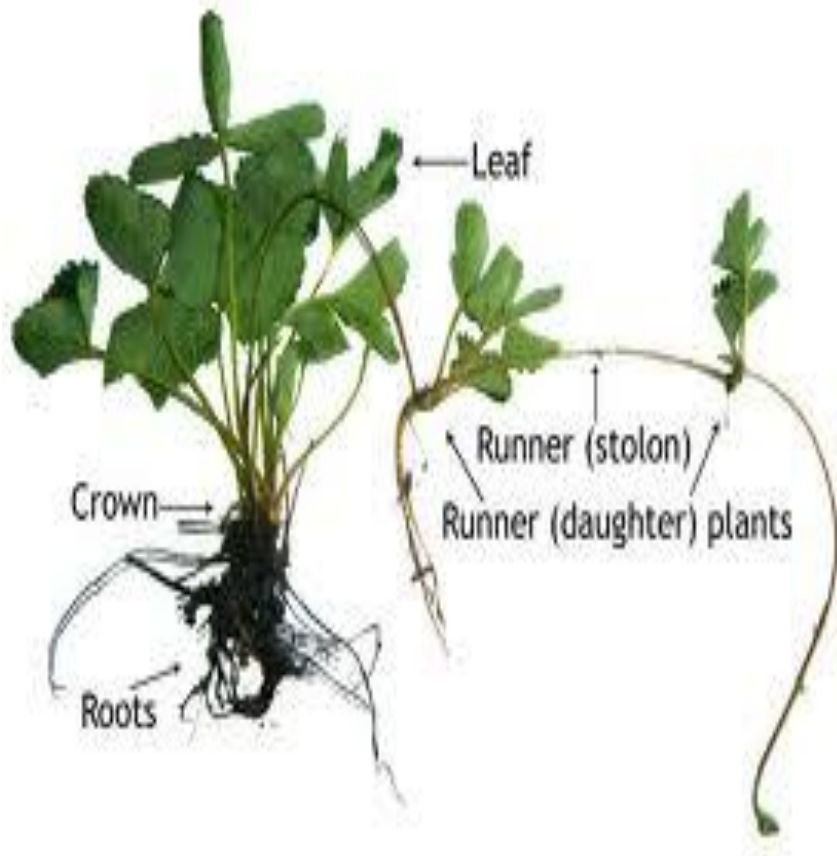
5

- Memanfaatkan kultur jaringan untuk proses regenerasi tanaman setelah gen dimasukkan
- Teknik fusi protoplas dapat menggabungkan gen dari dua individu tanaman yang berbeda
- Penggunaan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dapat membantu transfer gen asing ke dalam tanaman
- Penggunaan alat untuk memasukkan gen secara langsung
- Teknik baru dalam rekayasa genetika dengan perkembangan penelitian genetika molekuler yang membantu dalam pembentukan varietas tanaman baru

1. Cloning

6

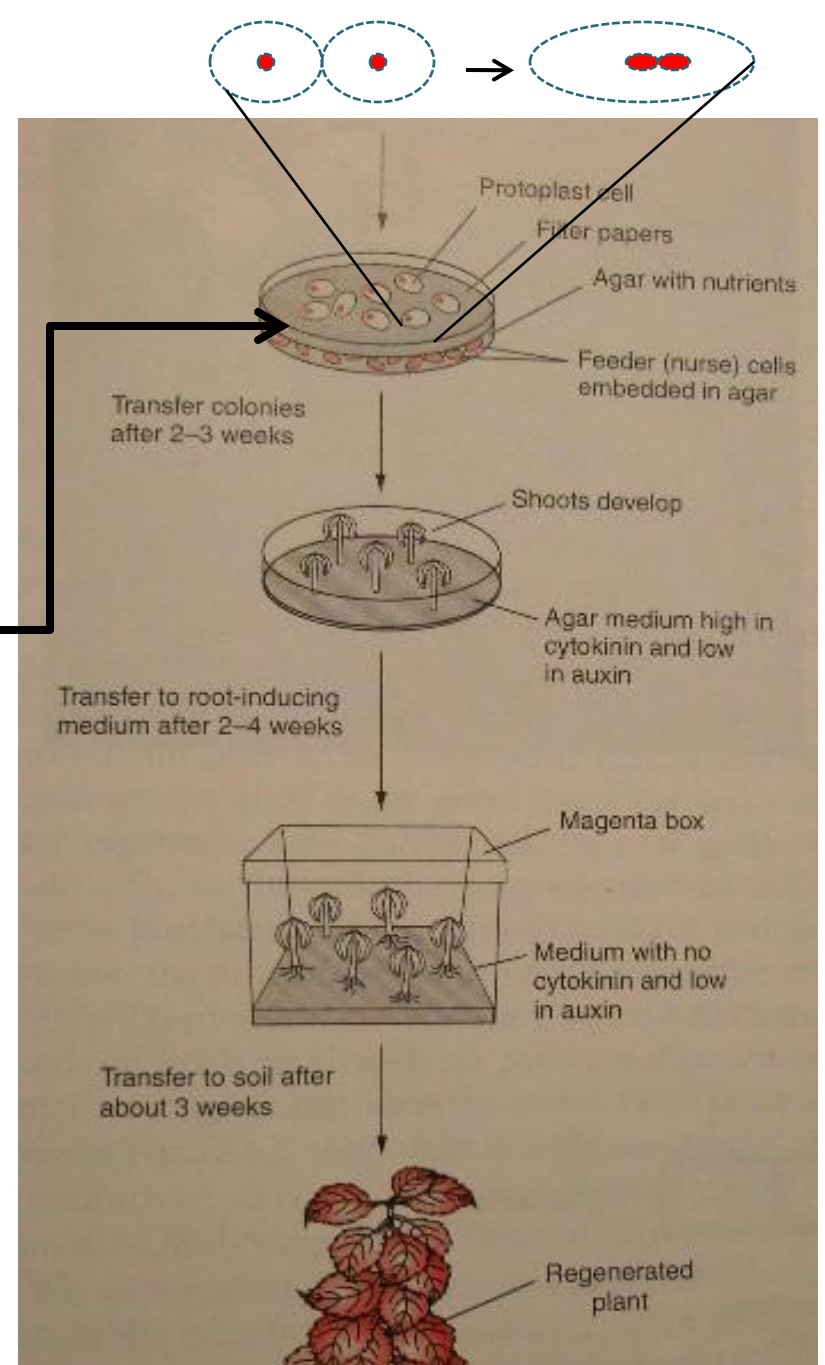
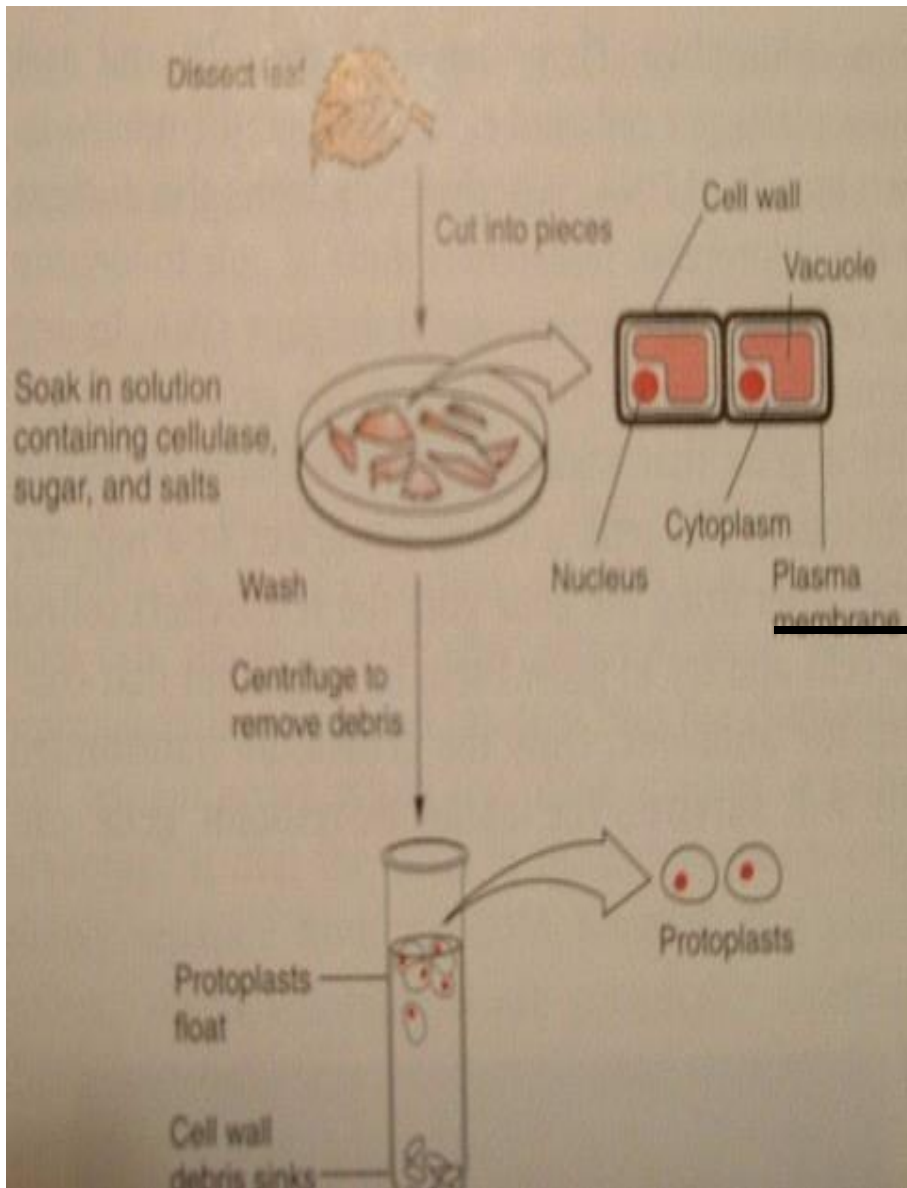
- Dari satu sel dapat tumbuh banyak tanaman / bibit
- Tanaman yang dihasilkan akan sama dengan sel induk (klon = clone)
- Secara konvensional 'cloning tanaman' sudah dilakukan misal pada ubikayu atau tanaman lain yang diperbanyak dengan stek
- Dengan kultur jaringan, hasil klon lebih banyak dan tidak merusak pohon induk



2. Protoplast Fusion

8

- Protoplas dari spesies yang berbeda dapat disatukan (fusi) untuk mendapat sel yang akan tumbuh menjadi tanaman hibrid
- Seperti persilangan tapi secara langsung 'menyilangkan' sel-sel
- Dinding sel tanaman perlu didegradasi menggunakan enzim cellulase



Protoplast fusion

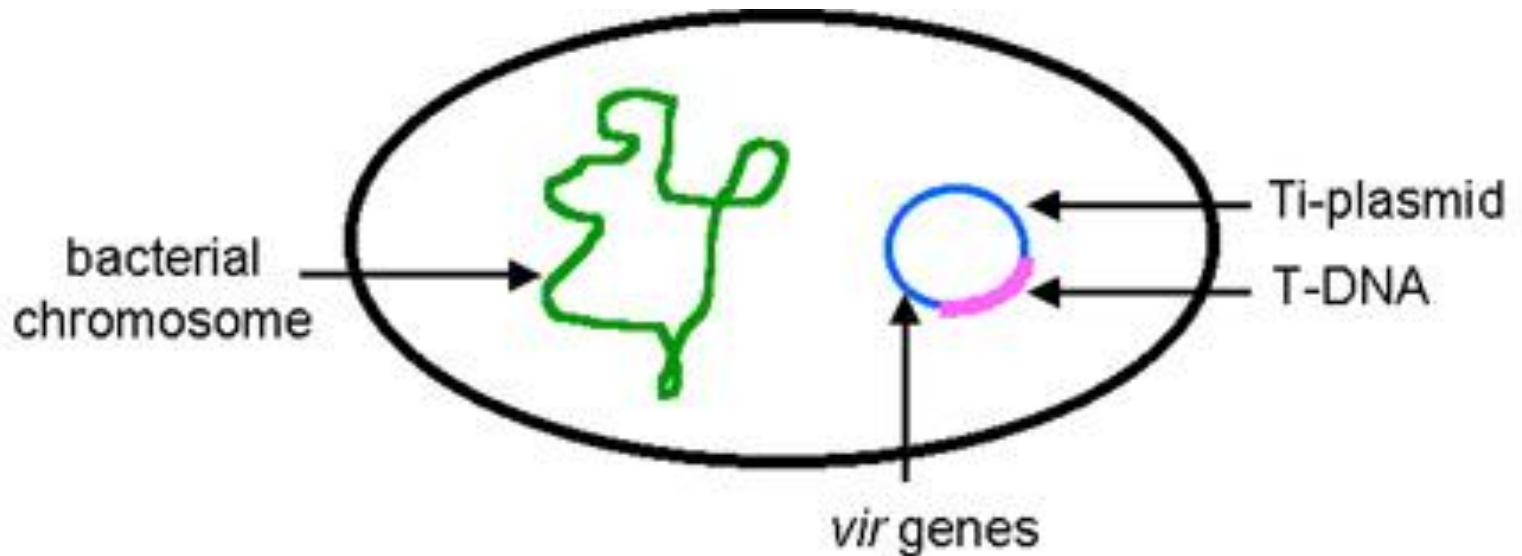
3. Leaf Fragment Technique

10

- Teknik ini memanfaatkan bakteri agrobacterium tumafaciens
- Saat ini diklasifikasikan menjadi Rhizobium radiobacter
- Tapi masih disebut dengan agrobacter

Agrobacterium tumefaciens as a vector for transferring foreign genes into plant chromosome

- This bacterium naturally infects plant cells causing cancerous growths - crown gall disease
- Infection (*vir*) genes carried on Ti plasmid





Gall on stem



Gall on leaf

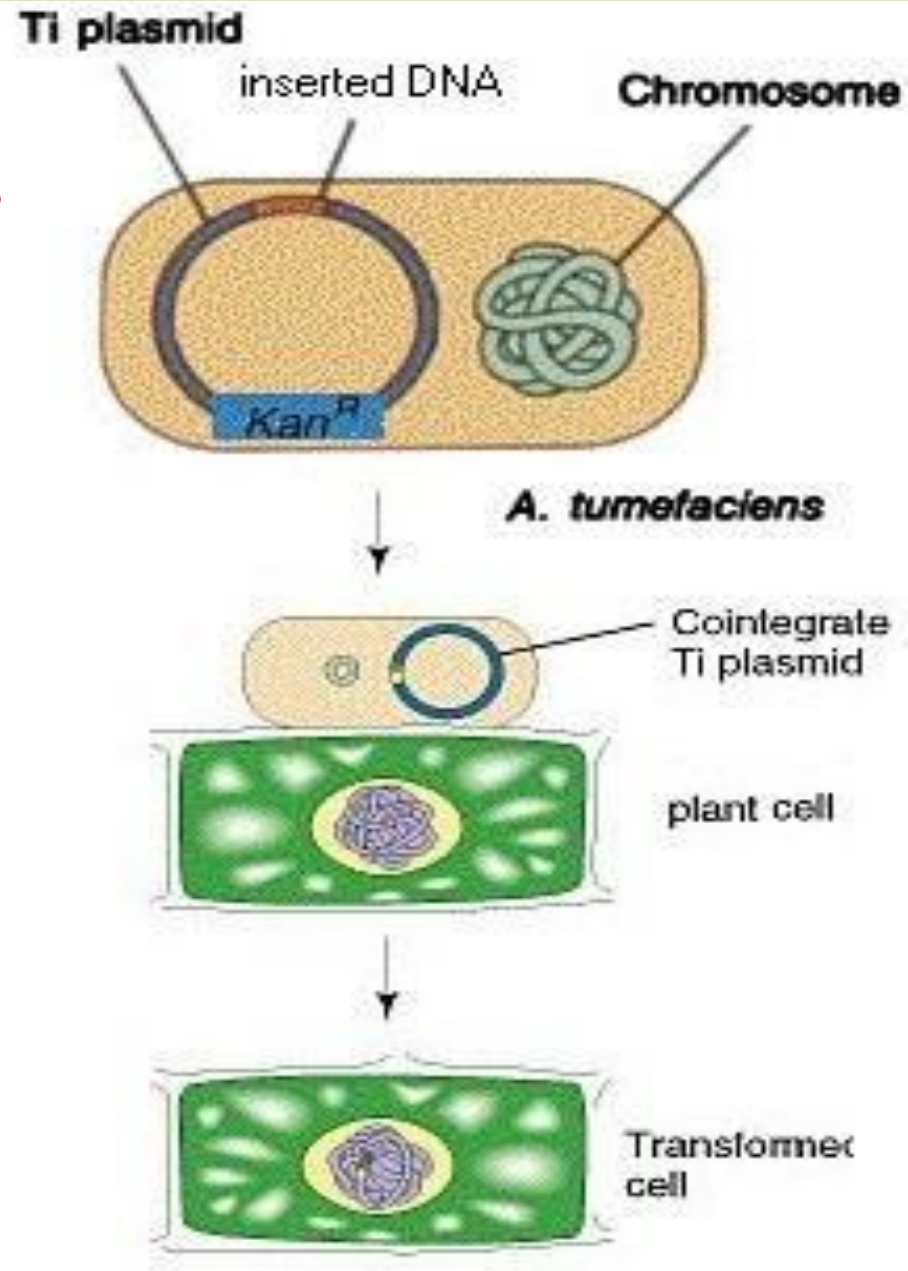


copyright: IFFF (BOKU)

Infection Process

- Vir genes copy T-DNA
- Open channel in bacterial cell membrane for T-DNA to pass through
- T-DNA enters plant through wound, integrates itself into plant chromosome

13

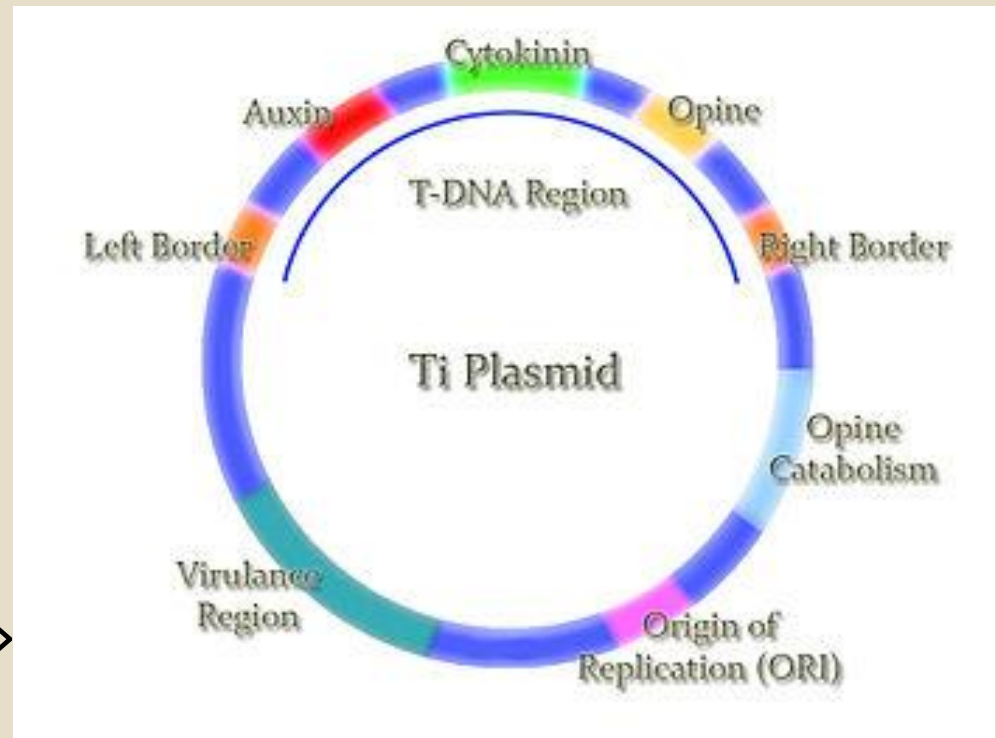


- **Plasmid Ti (Tumor inducing plasmid) yang mengandung:**

14

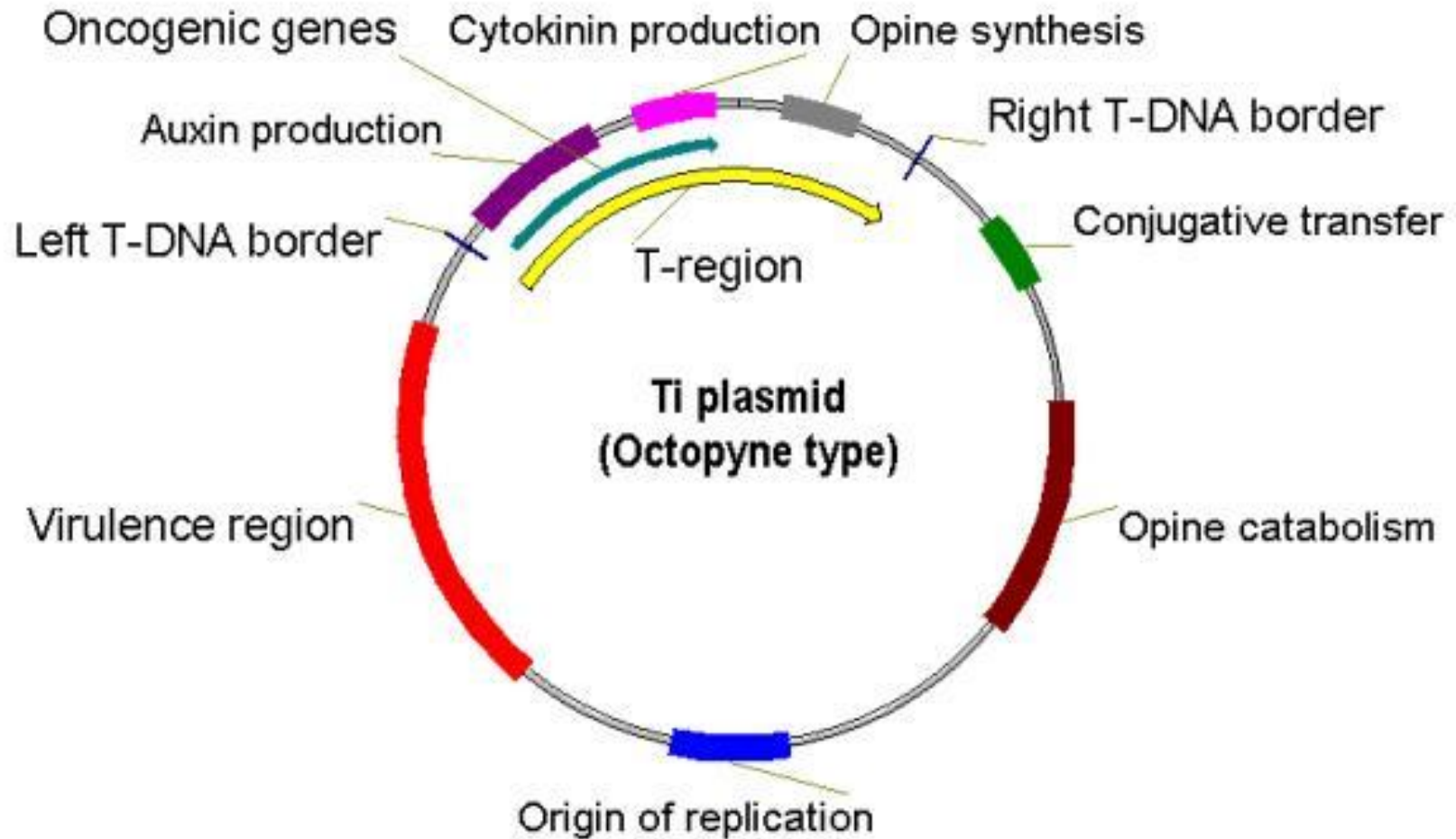
- T-DNA (bagian dari plasmid Ti yang di transfer ke genom tanaman) mengandung gen-gen: *iaaM/tms1*, *iaaH/tms2*, *tmr/ipt*, opine, right border, left border
- gen vir (virulensi)
- katabolisme opine (sumber energi *A. tumefaciens*)

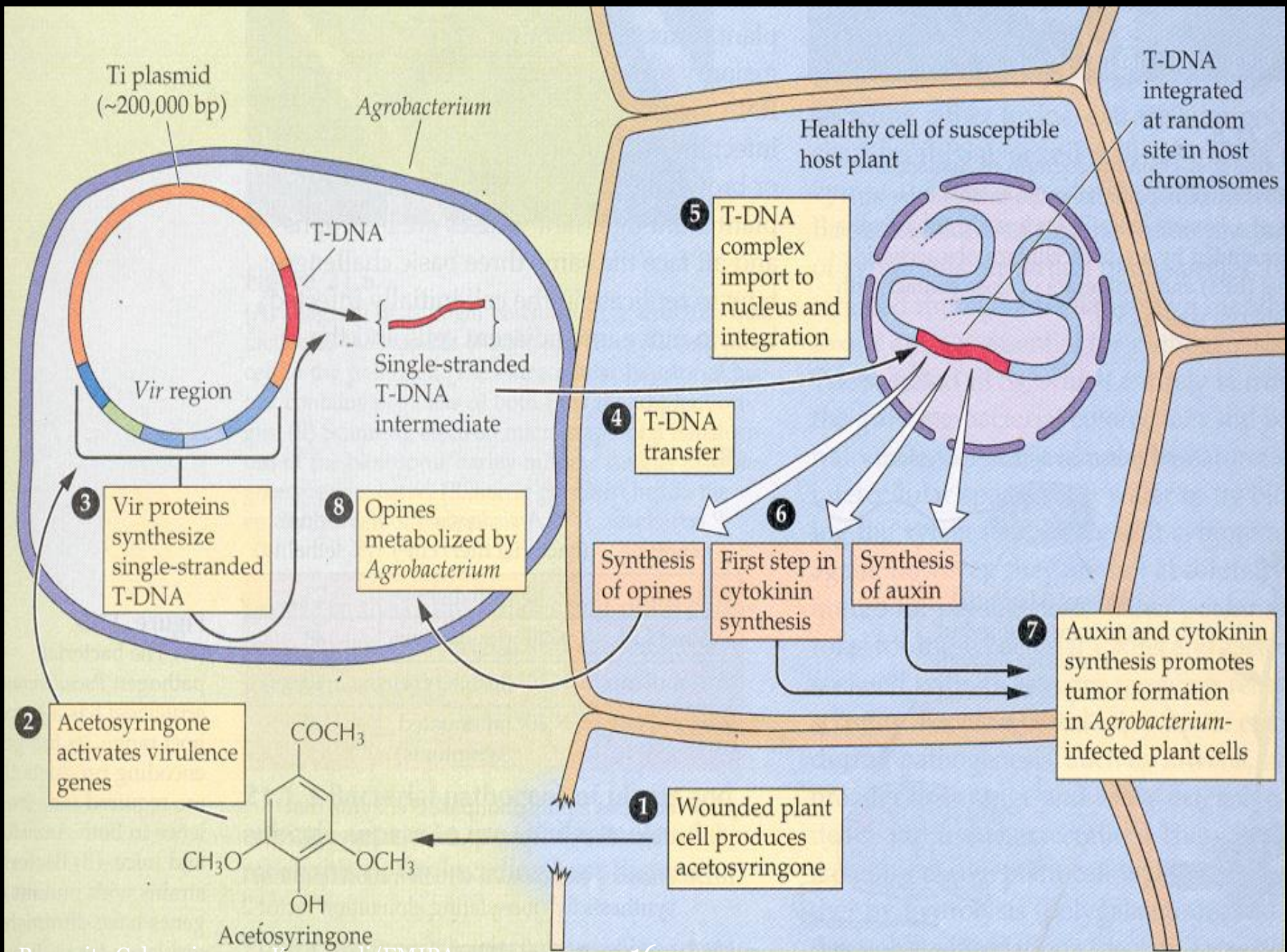
Peta plasmid Ti »



Ti Plasmid

15

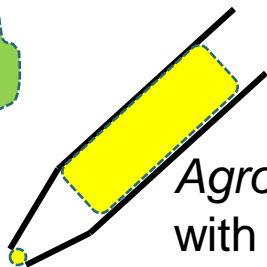
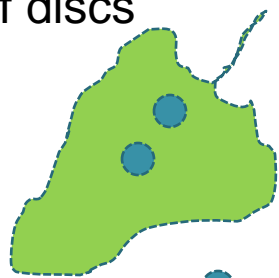




- Potongan daun berbentuk bulat dikultur untuk membentuk tanaman baru
- Pada tahap awal proses regenerasi, bacterium *Agrobacterium tumefaciens* yang membawa Ti plasmid dimasukkan ke dalam kultur
- DNA plasmid akan menyatu dengan kromosom tanaman
- Potongan daun ditambah hormon untuk menginduksi tunas dan akar
- Tanaman dipindah ke media tanah

Leaf fragment technique

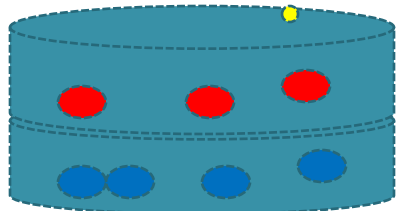
Make leaf discs



Agrobacterium
with Ti plasmid
with foreign gene



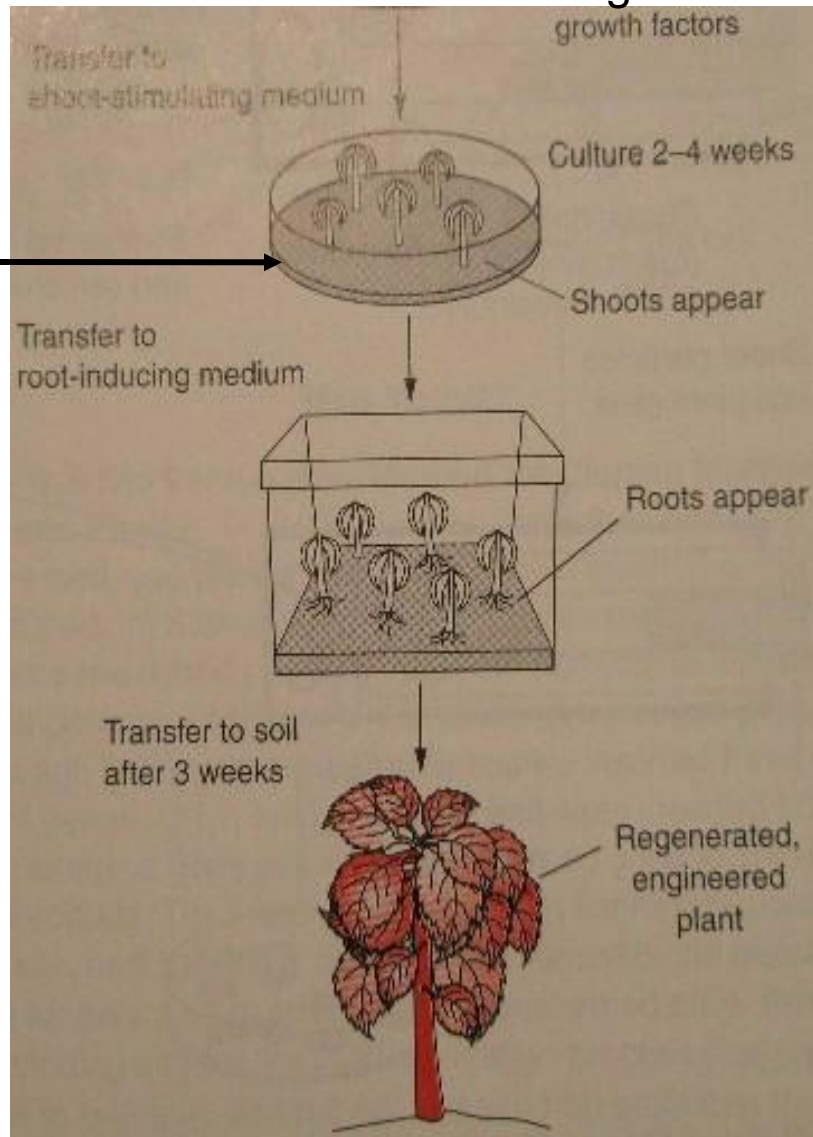
Briefly culture
discs with
genetically
modified
Agrobacterium



Transfer to filter
paper over nurse
cells

Culture 2-3 days

Transfer to shoot stimulating medium



- Metode ini biasanya digunakan untuk tanaman dikotil seperti : tomat, kentang, apel dan kedelai
- Untuk tanaman monokotil seperti jagung dan gandum lebih sulit diinfeksi oleh Agrobacter

4. Gene guns

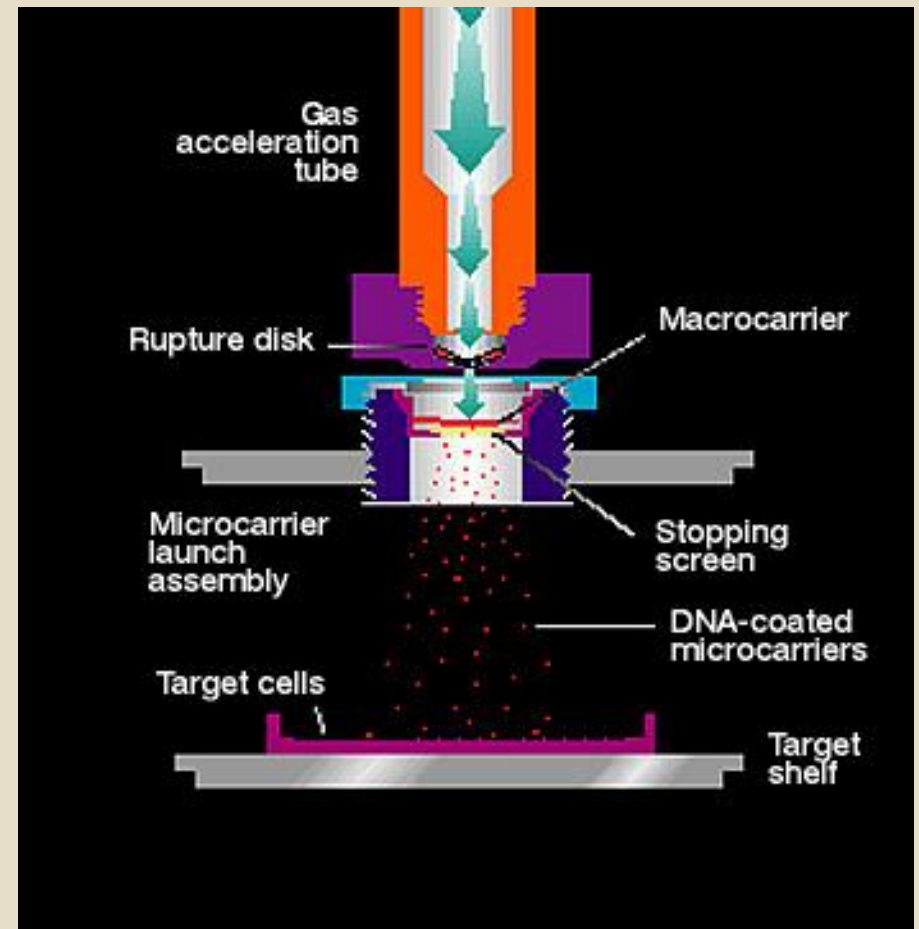
20

- Gene gun digunakan untuk menembakkan peluru logam yang sudah dilapisi dengan DNA ke dalam sel embrionik tanaman
- Hasilnya random, tapi biasanya ada sel-sel yang ‘tertembak’ oleh DNA asing tersebut
- Target gen gun : nukleus atau kloroplas
- Untuk identifikasi sel yang telah menerima DNA asing maka DNA yang dimasukkan biasanya membawa gen penanda (marker gene atau reporter gene)

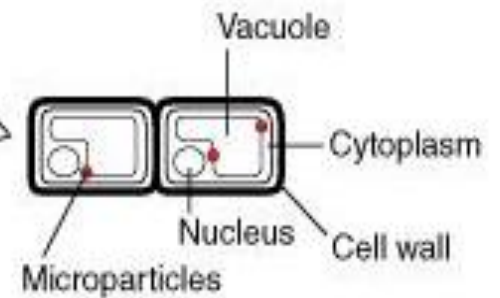
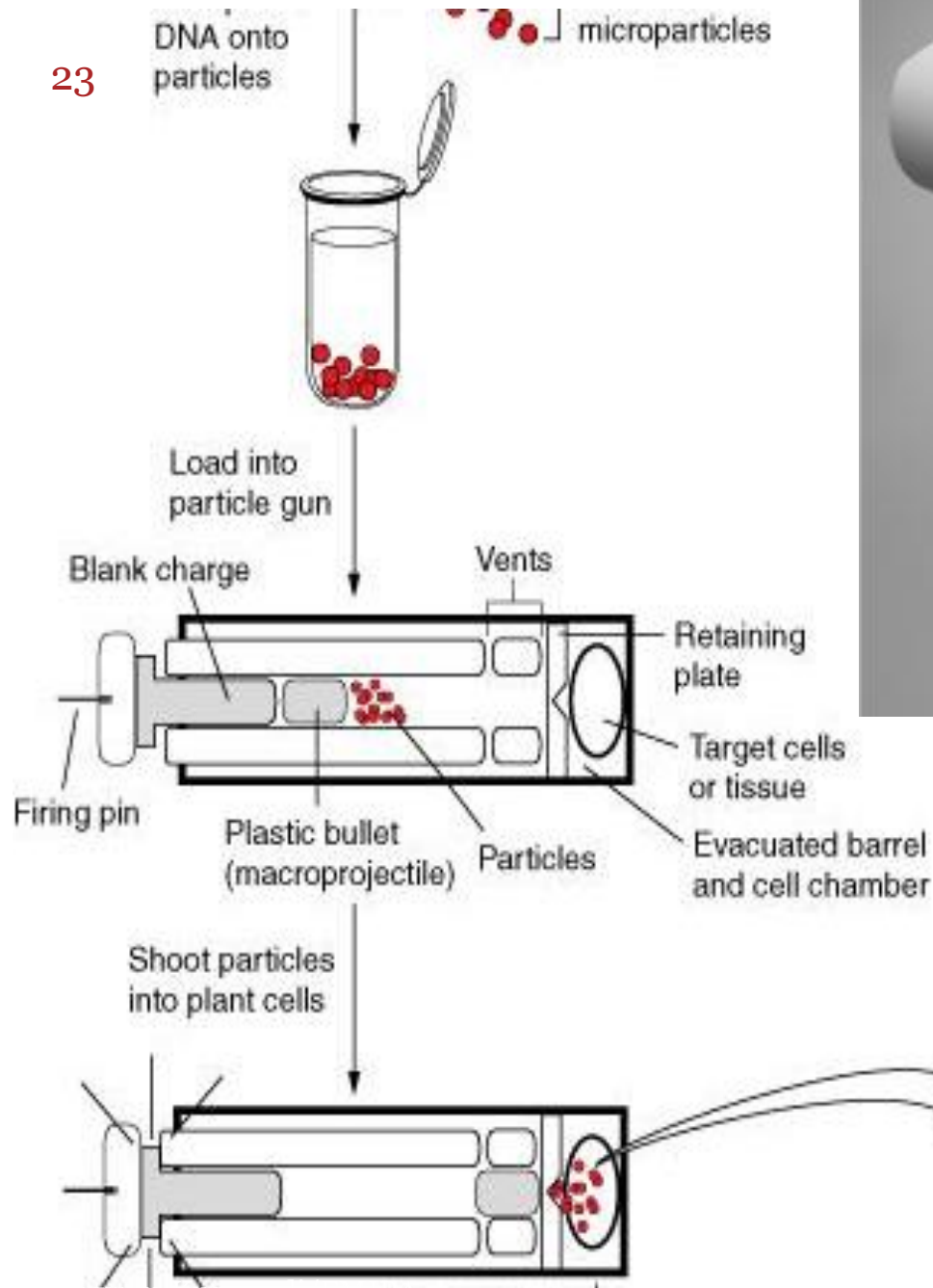
- Gen penanda biasanya berupa gen resistensi terhadap antibiotik tertentu
- Sehingga jika sel telah mendapat DNA asing maka akan menunjukkan resistensi thdp antibiotik trsbt

Gene Gun

- Invented by Cornell researcher, John Sanford



23





5. Chloroplast engineering

25

- DNA kloroplas dapat menerima beberapa gen asing pada saat yang bersamaan
- Kebanyakan gen asing yang dimasukkan juga tetap aktif saat tanaman menjadi dewasa
- DNA kloroplas juga terlepas dari DNA polen sehingga tidak terjadi penyebaran gen yang sudah diubah ke tanaman lain (melalui angin atau metode penyebaran lainnya)

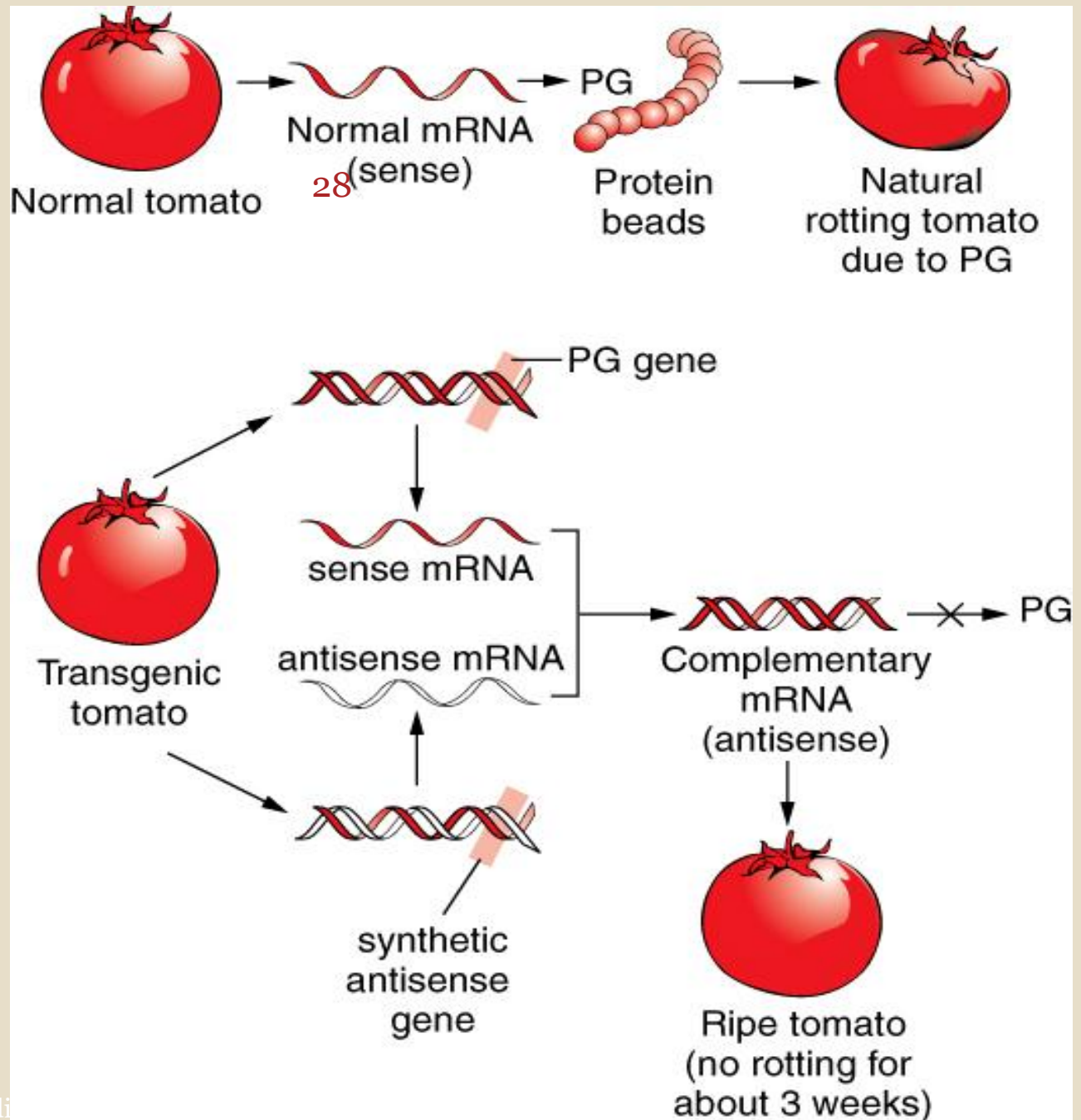
6. Antisense Technology

26

- Gen untuk sifat tertentu diambil dari sel tanaman dan digunakan untuk menghasilkan kopian dirinya (yang komplementer)
- = cDNA (complementary DNA)
- cDNA dimasukkan lagi ke dalam tanaman menggunakan Agrobacter
- Tanaman hasil teknologi tsbt akan menghasilkan mRNA normal yang akan bersatu dengan mRNA komplementer
- Sehingga produk mRNA tidak dihasilkan

- Contoh : enzim PG (polygalactouranase) pada buah tomat
- Enzim PG menyebabkan buah tomat memecah pectin sehingga buah cepat membusuk
- Teknologi antisense digunakan untuk menghambat mRNA yang akan membentuk enzim PG
- Sehingga menghambat pembusukan pada buah tomat
- Pada tahun 1994 dihasilkan tomat Flavr Savr yang buahnya bisa tetap segar selama beberapa minggu

Antisense molecules



7. Gene Silencing

29

- Gen tertentu dapat dihilangkan jika tidak menguntungkan bagi manusia
- Misal : gen yang menyebabkan kentang berubah warna saat dikupas atau terluka dapat dihilangkan
- Hal ini bermanfaat saat pengiriman kentang jarak jauh, untuk mengurangi kerusakan akibat gesekan selama perjalanan

Next week

30

- MID
- Materi bu Evy + Biotek Tanaman 1 dan 2