

# DETERMINASI SEKS



Determinasi seks pada *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans* membahas tentang bagaimana jalur dan penentuan jenis kelamin hewan pada tahap awal perkembangan. Dengan pengetahuan jalur dan determinasi seks kita bisa menjawab berbagai hal terkait pengelolaan keanekaragaman hayati dan kelainan genetik.

Secara umum, buku ini terdiri dari lima bab. Bab pertama merupakan pendahuluan tentang biologi *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans*. Bab kedua membahas tentang fenomena determinasi seks pada tahapan perkembangan kedua hewan ini. Bab ketiga membahas tentang gen yang terlibat dalam mekanisme determinasi seks. Bab keempat membahas tentang jalur perkembangan secara molekuler. Kemudian diakhir bab membahas tentang determinasi seks pada *Caenorhabditis elegans*.



Penerbit Insan Cendekia Mandiri  
Perumahan Gardena Maisa 2 Blok A03,  
Krote Baru, Kab. Sukoharjo, SURABAYA  
Email: insan.cendekiemandiri@gmail.com  
Website: www.insan.cendekiemandiri.co.id



**IKAPI**  
IKATAN PENERBIT INDONESIA

PENDIDIKAN

ISBN 978-602-71210-2



9 786231 793652

Determinasi Seks *Drosophila melanogaster* dan  
*Caenorhabditis elegans*

Dwi Rini Kurnia Fitri  
Rina Delfita



# DETERMINASI SEKS



*Drosophila melanogaster* dan  
*Caenorhabditis elegans*



Dwi Rini Kurnia Fitri  
Rina Delfita

# **DETERMINASI SEKS**

*Drosophila melanogaster*

**dan**

*Caenorhabditis elegans*

## UU No 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta

### Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

### Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. penggunaan kutipan singkat ciptaan dan/atau produk hak terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. penggunaan ciptaan dan/atau produk hak terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. penggunaan ciptaan dan/atau produk hak terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan fonogram yang telah dilakukan pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu ciptaan dan/atau produk hak terkait dapat digunakan tanpa izin pelaku pertunjukan, produser fonogram, atau lembaga penyiaran.

### Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

# DETERMINASI SEKS

*Drosophila melanogaster*

dan

*Caenorhabditis elegans*

*Dwi Rini Kurnia Fitri*

*Rina Delfita*



**PT Insan Cendekia  
Mandiri Group**

Determinasi Seks *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans*

Dwi Rini Kurnia Fitri, Rina Delfita

Editor:  
**Jenofri Mardian**

Desainer:  
**Fifi Adrianti**

Sumber Gambar Kover:  
**www.freepik.com**

Penata Letak:  
**Jenofri Mardian**

Proofreader:  
**Tim ICM**

Ukuran:  
**x, 128 hlm, 17,6 x 25 cm**

ISBN:  
**978-623-179-365-2**

Cetakan Pertama:  
**September 2023**

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari Penerbit.

**Anggota IKAPI: 020/SBA/20**

**PENERBIT PT INSAN CENDEKIA MANDIRI GROUP**

Perumahan Gardena Maisa 2, Blok A03, Koto Baru, Kec. Kubung,  
Kabupaten Solok, Provinsi Sumatra Barat, Indonesia. 27361

HP/WA: 0813-7272-5118

Website: [www.insancendekiamandiri.com](http://www.insancendekiamandiri.com)

E-mail: [insancendekiamandirigroup@gmail.com](mailto:insancendekiamandirigroup@gmail.com)

# Daftar Isi

Prakata.....	ix
BAB 1 Pendahuluan .....	1
A. <i>Drosophila melanogaster</i> .....	1
1. Biologi <i>Drosophila melanogaster</i> .....	1
2. Siklus Hidup .....	3
3. Reproduksi Betina .....	6
4. Reproduksi Jantan .....	6
5. Pemeliharaan <i>Drosophila melanogaster</i> .....	7
B. <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	8
1. Biologi <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	8
2. Siklus Hidup .....	11
3. Bentuk Seksual .....	13
4. Reproduksi .....	15
5. Pemeliharaan <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	16
BAB 2 Fenomena Determinasi Seks .....	19
A. Fenomena Perbedaan Jenis Kelamin pada <i>Drosophila</i> <i>melanogaster</i> .....	19
1. Dimorfisme Seksual.....	19
2. Kompensasi Dosis .....	21

3. Gambaran Terhadap Regulasi Penentuan Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis pada <i>D. melanogaster</i> ...	24
4. Determinasi Primer Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis pada <i>Drosophila melanogaster</i> .....	27
B. Fenomena Determinasi pada <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	34
1. Dimorfisme seksual.....	34
 BAB 3 Gen yang Terlibat Dalam Mekanisme Determinasi	
Seks .....	41
A. Gen yang Terlibat dalam Mekanisme Determinasi Seks pada <i>Drosophila melanogaster</i> .....	41
B. Gen yang Terlibat dalam Mekanisme Determinasi Seks pada <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	46
 BAB 4 Determinasi Seks <i>Drosophila melanogaster</i> .....	
A. Pengatur Utama Determinasi Seks .....	58
B. Model untuk Transisi Mekanisme Determinasi Seks .....	59
C. Kaskade Genetik yang Menentukan Jenis Kelamin <i>D.</i> <i>melanogaster</i> .....	60
D. Mekanisme Penentuan Jenis Kelamin .....	66
1. Gen Sxl: Dua Promotor, Penyambungan Alternatif, dan Beberapa Situs Poliadenilasi Menghasilkan Produk Spesifik-Jenis Kelamin. ....	70
2. Pengaktifan Sxl pada Embriogenesis Awal: Counting-Kromosom X dan Pilihan Promotor .....	73
3. Connting-X Lanjutan: Aktivasi SxlPm dan Transisi ke Kontrol Splicing .....	80

4. Pemeliharaan Sxl ON: Autoregulasi Splicing Loop ....	82
5. Regulasi Gen Sxl .....	86
6. Gen Target Sxl: Imposing Perspektif Perkembangan Betina.....	87
 BAB V Determinasi Seks <i>Caenorhabditis elegans</i> .....	93
A. Penentuan Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis .....	94
1. Kontrol xol-1 oleh Rasio X:A.....	94
2. Kontrol Gen sdc oleh xol-1 .....	97
B. Penentuan Jenis Kelamin Somatik.....	98
1. Pengaturan TRA-2A oleh HER-1 .....	98
2. Regulasi Aktivitas TRA-1A oleh Protein FEM .....	101
3. Kontrol Nasib Sel Somatik oleh TRA-1A (Conradt, and Horvitz, .....	103
4. Penentuan Jenis Kelamin Germ line.....	104
5. Interaksi Langsung Antara TRA-2 dan TRA-1A Mempromosikan Spermatogenesis .....	108
C. Spermatogenesis Hermafrodit.....	109
1. Represi translasi mRNA tra-2.....	109
2. Oogenesis Hermafrodit Memerlukan Kontrol Pasca Transkripsi fem-3 .....	112
3. Aktivitas mRNA fem-3 .....	112
D. Persinyalan Sel-sel dan Penentuan Jenis Kelamin.....	113
1. Putaran dan Cabang Regulasi di Jalur yang Mengontrol Perkembangan Seksual .....	113

DAFTAR PUSTAKA .....	117
TENTANG PENULIS.....	127

# Prakata

Alhamdulillah dipanjatkan ke hadirat Allah Swt., yang telah melimpahkan rahmat, nikmat dan pertolongan-Nya, sehingga naskah buku ini dapat diselesaikan. Naskah buku ini merupakan kumpulan jurnal Perkembangan dan Molekuler berupa *review* literatur (penelitian kepustakaan). Tulisan ini tidak semata-mata buah pikiran penulis, tetapi hasil kajian beragam jurnal yang dilakukan secara mendalam yang kemudian disusun sedemikian rupa. Tulisan ini disusun berdasarkan berbagai sumber referensi yang relevan tentang jalur perkembangan dan determinasi seks *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans*, yang semuanya adalah jurnal dan buku acuan yang berlaku pada skala internasional.

Determinasi seks pada *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans* merupakan salah satu pokok bahasan pada mata kuliah Biologi perkembangan dan molekuler yang membahas bagaimana jalur dan penentuan jenis kelamin hewan pada tahap awal perkembangan. Biologi perkembangan dan molekuler merupakan mata kuliah yang membahas tentang dasar molekul dari aktivitas biologi di dalam sel, termasuk sintesis, modifikasi, mekanisme dan interaksi molekuler. Dengan pengetahuan jalur dan determinasi seks akan bisa menjawab berbagai hal terkait pengelolaan keanekaragaman hayati dan kelainan genetik. Selain itu juga menjadi referensi dalam memahami *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans* sebagai hewan model pada penelitian biologi perkembangan, genetika, kedokteran, berbagai penyakit, pemuliaan hewan dan lain-lain. Buku-buku tentang jalur dan determinasi seks sangat terbatas. Untuk itulah buku ini ditulis.

Secara umum, buku ini terdiri dari lima bab. Bab pertama merupakan pendahuluan yang membahas tentang biologi *Drosophila melanogaster* dan *Caenorhabditis elegans*. Bab kedua membahas tentang fenomena determinasi seks pada tahapan perkembangan kedua hewan ini. Bab ketiga membahas tentang gen yang terlibat dalam mekanisme determinasi seks. Bab keempat membahas tentang determinasi seks pada *Drosophila melanogaster*. Pada bab ke empat ini juga membahas jalur perkembangan secara molekuler. Bab kelima membahas tentang determinasi seks pada *Caenorhabditis elegans*. Pada bab ke empat ini juga membahas jalur perkembangannya secara molekuler.

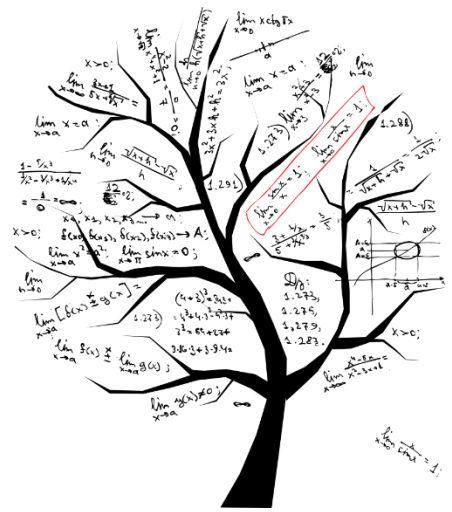
Karena keterbatasan waktu selama penulisan buku ini, disadari tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga masih diperlukan penyempurnaan. Akhirnya penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang membantu penulis dalam menyusun buku ini.

Semoga buku ini bermanfaat bagi pembaca, terutama mahasiswa S1, S2 dan S3 Pendidikan Biologi/Biologi yang sedang mendalami dan penelitian di bidang genetika, biologi perkembangan dan biologi, serta dapat menjadi bahan pengayaan bagi guru Biologi SMA atau MA dan guru IPA SMP atau MTs.

**Penulis,**  
Dwi Rini Kurnia Fitri,  
Rina Delfita

# BAB 1

## Pendahuluan



### A. *Drosophila melanogaster*

#### 1. Biologi *Drosophila melanogaster*

*Drosophila melanogaster*, yang dalam bahasa sehari-hari dikenal sebagai lalat buah atau lalat cuka merupakan salah satu lalat buah menjadi hewan model/uji yang digunakan dalam ilmu biomedis (Breyer, Look, and Cifra, 2015). Salah satu alasan digunakan lalat buah ini karena biaya rendah, waktu generasi yang cepat, dan genetik yang sangat baik Organisme ini mulai digunakan secara luas dalam riset pemodelan beberapa jenis penyakit dan penemuan obat baru (Elrod-Erickson, Mishra, and Schneider, 2000). Dengan menggunakan hewan model ini, peneliti dapat melakukan skrining kandidat obat secara paripurna pada satu hewan utuh (*whole animal*), yang tampaknya masih sulit dilakukan pada hewan-hewan model tradisional seperti mencit, tikus, dan lainnya.

Lalat buah *D. melanogaster* merupakan hewan tidak bertulang belakang, dari spesies serangga famili Drosophilidae. Lalat ini menjadi pusat perhatian setelah Thomas Hunt Morgan memperkenalkan penggunaannya sebagai organisme model dalam riset genetika pada awal tahun 1900-an. *D. melanogaster*

telah diaplikasikan secara luas untuk menjelaskan berbagai fenomena biologis penting yang juga terdapat pada manusia, mulai dari peran apoptosis dan fagositosis dalam perkembangan dan imunitas (Nonaka et al. 2017). *D. melanogaster* merupakan hewan tidak bertulang belakang (invertebrata) dengan ukuran tubuh sekitar 3 mm. Genom serangga famili Drosophilidae ini berukuran sekitar 180 MB (Mega basa) yang tersebar pada empat kromosom. Dengan jumlah kromosom yang sedikit, *D. melanogaster* menjadi organisme pilihan untuk mempelajari mekanisme penyusunan gen pada kromosom, pengaturan aktivitas dan fungsi gen, serta pola mutasi pada organisme eukariota. Walaupun memiliki genom yang sederhana, lalat buah *D. melanogaster* diperkirakan memiliki kemiripan genetik dengan manusia sebesar 75 % (Chien et al. 2002). Hal inilah yang mendasari potensinya sebagai organisme model dalam riset mekanisme penyakit dan penemuan obat.



**Gambar 1.1.** *D. Melanogaster*  
(<http://p2k.unkris.ac.id/>, *D. melanogaster*)

Adapun klasifikasi *D. melanogaster* adalah sebagai berikut:

Kingdom:	<b>Animalia</b>
Phylum:	<b>Arthropoda</b>
Class:	<b>Insecta</b>
Order:	<b>Diptera</b>
Family:	<b>Drosophilidae</b>
Genus:	<b>Drosophila</b>
Subgenus:	<b>Sophophora</b>
Species group:	<i>melanogaster</i>
Species subgroup:	<i>melanogaster</i>
Species complex:	<i>melanogaster</i>
Species:	<b><i>D. melanogaster</i></b>

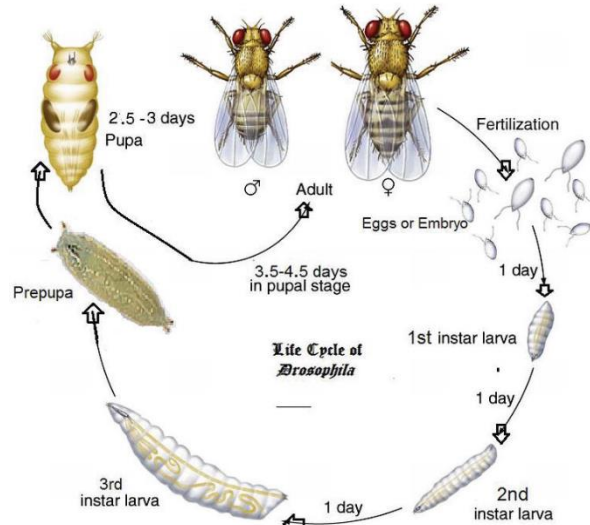
(<https://www.itis.gov/>)

## 2. Siklus Hidup

Di bawah kondisi pertumbuhan yang optimal yaitu pada 25 °C, umur *D. melanogaster* adalah sekitar 50 hari dari telur sampai mati. Periode perkembangan *D. melanogaster* bervariasi dengan suhu. Waktu pengembangan terpendek (telur hingga dewasa), 7 hari, dicapai pada 28 °C . Waktu pengembangan menurun pada suhu yang lebih tinggi (11 hari pada 30 °C) karena tekanan panas. Dalam kondisi ideal, waktu pengembangan pada 25 °C adalah 8,5 hari, pada 18 °C dibutuhkan 19 hari dan pada 12 °C dibutuhkan lebih dari 50 hari. Dalam kondisi ramai, waktu pengembangan meningkat sedangkan lalat yang muncul lebih kecil (Linford et al., 2013).

Betina bertelur sekitar 400 telur (embrio), sekitar lima telur sekaligus, ke dalam buah yang membusuk atau bahan lain yang sesuai seperti jamur yang membusuk dan fluks getah. *D. melanogaster* merupakan serangga *holometabola*, sehingga mengalami metamorfosis penuh. Siklus hidup mereka terdiri dari 4 tahap: embrio, larva, pupa, dewasa (Fernández-Moreno et al., 2007).

- a. Telur. Telur panjangnya sekitar 0,5 mm, menetas setelah 12–15 jam (pada 25 °C).
- b. Larva yang dihasilkan tumbuh selama sekitar 4 hari (pada 25 °C) saat berganti kulit dua kali (menjadi larva instan kedua dan ketiga), sekitar 24 dan 48 jam setelah menetas. Selama waktu ini, mereka memakan mikroorganisme yang menguraikan buah, serta gula dari buah itu sendiri. Induknya meletakkan kotoran pada kantung telur untuk membentuk komposisi mikroba yang sama dalam usus larva yang telah bekerja secara positif untuk dirinya sendiri.
- c. Pupa. Pupa mengalami metamorfosis selama 4 hari (pada suhu 25 °C), setelah itu larva dewasa keluar (muncul).
- d. Dewasa/imago. *Drosophila* jantan memiliki ukuran yang lebih kecil daripada *Drosophila* betina. Pada abdomen bagian dorsal lalat 14 betina memiliki tanda yang berwarna gelap atau hitam, sedangkan pada lalat jantan tidak ada. Pada lalat jantan terdapat *sex comb* (sisir kelamin) yang terletak pada kaki depan, sedangkan lalat betina tidak memiliki *sex comb* (sisir kelamin), hal tersebut dapat memudahkan proses identifikasi.



**Gambar 1.2 .Siklus hidup lalat (Perveen, 2018)**

Karena siklus hidupnya yang cepat dan dapat diperoleh banyak generasi dalam waktu singkat, *D. melanogaster* cocok untuk observasi penurunan sifat dan variasinya. Siklus hidup serangga ini dibagi menjadi tujuh fase. Pada umumnya satu siklus berlangsung selama 60 – 80 hari, tergantung kondisi kultur. Fase pertama adalah telur. Kemudian telur menetas dan memasuki fase kedua, yaitu larva *instar* 1. Pada fase ketiga, perkembangan selanjutnya adalah larva *instar* 2. Larva bertumbuh dan berkembang hingga memasuki fase 4 menjadi larva *instar* 3. Selanjutnya larva memasuki fase 5 ketika persiapan menjadi pupa, yaitu *prepupa*. Sesaat setelah menjadi pupa pada fase ke-6, di dalam pupa lalat bermetamorfosis. Ketika proses metamorfosis selesai, memasuki fase ke-7 imago (dewasa) menetas dari pupa (Perveen, 2018; Jennings, 2011).

### 3. Reproduksi Betina

Betina menjadi reseptif untuk merayu jantan sekitar 8-12 jam setelah kemunculannya (Ewart dan Howells, 1998). Kelompok neuron tertentu pada betina telah ditemukan mempengaruhi perilaku kawin dan pilihan pasangan. Salah satu kelompok tersebut di tali saraf perut memungkinkan lalat betina untuk menghentikan gerakan tubuhnya untuk kawin. Aktivasi neuron-neuron ini menginduksi betina untuk berhenti bergerak dan mengarahkan dirinya ke arah jantan untuk memungkinkan kawin. Berbagai sinyal kimia seperti feromon jantan sering kali mampu mengaktifkan neuron tersebut.

Secara morfologi, *Drosophila* mengalami *sexual dimorphism* yang berarti jantan dan betina dalam satu spesies memiliki penampilan yang berbeda. Betina akan tampak lebih besar ukuran tubuhnya daripada jantan, tetapi faktor ini tetap dipengaruhi oleh usia, kondisi media, dan gen lalat. Perbedaan selanjutnya tampak pada bagian abdomennya. Lalat betina memiliki ujung abdomen yang lebih runcing sedangkan jantan membulat. Di ujung segmen abdomennya, akan terlihat bercak hitam pada lalat jantan dan betina yang sudah tidak “*virgin*” lagi. Sedangkan pada betina yang belum kawin, posterior abdomennya akan berwarna lebih terang (Gambar 1.1).

### 4. Reproduksi Jantan

*D. melanogaster* jantan menunjukkan pola belajar reproduksi yang kuat. Artinya, dengan pengalaman seksual, lalat ini cenderung mengubah perilaku kawin mereka di masa depan

dengan berbagai cara. Perubahan ini termasuk peningkatan selektivitas untuk memilih pasangan hanya secara *intraspesifik*.

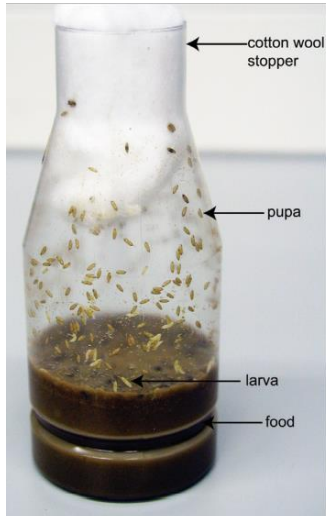
Adapun perilaku kawin yaitu pertama, pejantan mengorientasikan diri saat mencari pasangan dengan merentangkan dan menggetarkan sayapnya secara horizontal. Segera setelah itu, pejantan memosisikan dirinya di bagian belakang perut betina dalam postur rendah untuk mengetuk dan menjilat alat kelamin betina. Akhirnya, pejantan menggulung perutnya dan mencoba kopulasi. Betina dapat menolak jantan dengan menjauh, menendang, dan mengeluarkan ovipositorinya. Sanggama berlangsung sekitar 15-20 menit, di mana pria mentransfer beberapa ratus, sel sperma yang sangat panjang (1,76 mm) dalam cairan mani ke betina. Betina menyimpan sperma dalam wadah berbentuk tabung dan dalam dua *spermathecae* berbentuk jamur; sperma dari beberapa perkawinan bersaing untuk pembuahan.

##### **5. Pemeliharaan *Drosophila melanogaster***

Untuk pengembangbiakan *D. melanogaster* untuk studi toksikologi, penting untuk memelihara lalat cadangan karena mereka memiliki umur pendek. Untuk kemudahan pembiakan dan pemindahan lalat, dibutuhkan botol dan *vial* yang seragam. Penting juga untuk benar-benar bersih dan mensterilkan botol dan *vial* untuk mencegah wabah penyakit. Media pemeliharaan *Drosophila*:

- a. 105g tepung jagung,
- b. 21 g ragi,
- c. 105 g glukosa,

- d. dan 13 g agar-agar;
- e. 0,4% dari Etil 4-hidroksibenzoat ditambahkan ke diet untuk mencegah pertumbuhan jamur (Hugo dan Peter, 2008).



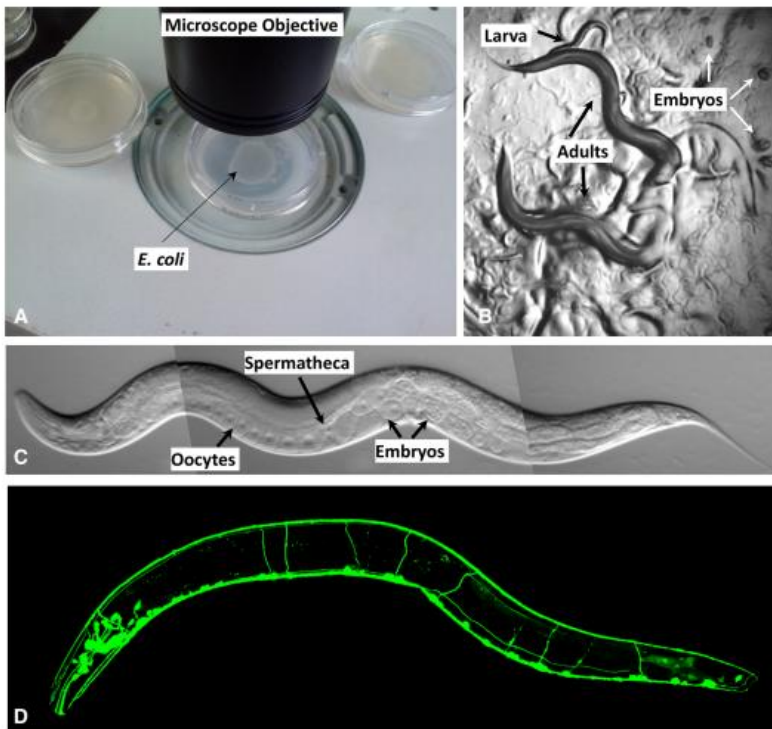
**Gambar 1.3.** Botol mengandung larva dan *pupa Drosophilla* (Jennings, 2011).

## B. *Caenorhabditis elegans*

### 1. Biologi *Caenorhabditis elegans*

*Caenorhabditis elegans* adalah nematoda kecil yang hidup bebas yang ditemukan di seluruh dunia. Larva yang baru menetas berukuran 0,25 mm dan dewasa panjangnya 1 mm. Hewan kecil ini bisa diamati dengan mikroskop bedah, dengan per besaran hingga 100X-1000X. Mikroskop bedah dan mikroskop *confocal* digunakan untuk mengamati cacing pada cawan *petri* (Gambar 3, A dan B) saat mereka bergerak, makan, berkembang, kawin, dan bertelur. Mikroskop majemuk atau *confocal* memungkinkan pengamatan pada resolusi yang jauh lebih halus (Gambar 1.4 C), memungkinkan peneliti untuk melakukan eksperimen yang menjawab pertanyaan terkait

perkembangan dan fungsi sel pada resolusi sel tunggal. Karena *C. elegans* transparan, sel individual dan detail subselular mudah divisualisasikan menggunakan optik Nomarski (kontras interferensi diferensial, DIC) (Gambar 1C). Detail sel dapat dilihat dengan menggunakan protein fluoresen untuk menandai protein atau kompartemen subselular (Gambar 1.4 D). Protein fluoresen juga dapat digunakan untuk mempelajari proses perkembangan, menyaring mutan yang memengaruhi perkembangan dan fungsi sel, mengisolasi sel, dan mengkarakterisasi interaksi protein *in vivo* (Corsi, Wightman, and Chalfie, 2015).



**Gambar 1.4.** *C. elegans*. (A) Cawan petri diletakkan di dasar mikroskop stereo yang membedah. Bakteri terlihat di permukaan agar di dalam petri tetapi *C. elegans* terlalu kecil untuk dilihat dalam tampilan ini. (B) *C. elegans* dilihat melalui mikroskop bedah. (C) Hermafrodit dewasa dilihat dengan mikroskop. Pada semua gambar, anterior di kiri dan ventral di bawah. *C. elegans* bergerak di sisi kiri atau kanannya; dalam gambar ini permukaan menghadap penonton adalah sisi kiri. Karena hewan ini transparan, dapat dilihat dari kiri ke kanan pada sisi ventral, oosit berkembang dalam gonad. (sel persegi panjang dengan inti bulat yang jelas di dalamnya) diikuti oleh *spermatheca* (tempat oosit dibuahi), dan beberapa embrio di dalam rahim. (D) Gambar neon menunjukkan sistem saraf berlabel reporter GFP (Corsi et al., 2015).

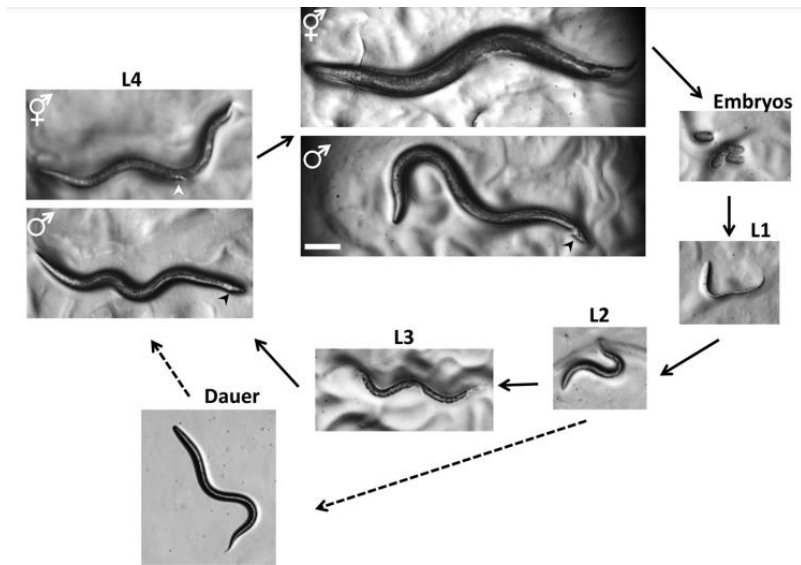
Adapun klasifikasi *C. elegans* adalah sebagai berikut:

Kingdom:	<b>Animalia</b>
Phylum:	<b>Nematoda</b>
Class:	<b>Chromadorea</b>
Order:	<b>Rhabditida</b>
Family:	<b>Rhabditidae</b>
Genus:	<b>Caenorhabditis</b>
Species:	<b><i>C. elegans</i></b>

(<https://www.itis.gov/>)

## 2. Siklus Hidup

*C. elegans* memiliki siklus hidup yang pendek (3 hari pada 25° dari telur hingga dewasa bertelur) dan hidup terutama sebagai hermafrodit yang membuahi sendiri, meskipun pejantan muncul dengan frekuensi <0,2% (Gambar 1.5).



**Gambar 1.5.** Siklus Hidup *C. elegans*. Hewan bertambah besar ukurannya selama empat tahap larva, tetapi jenis kelamin individu tidak mudah dibedakan sampai L4. Pada tahap L4, hermafrodit memiliki ekor meruncing dan vulva yang sedang berkembang (panah putih) dapat dilihat sebagai setengah lingkaran bening di tengah sisi perut. Jantan memiliki ekor yang lebih lebar (mata panah hitam) tetapi tidak ada kipas yang terlihat pada tahap ini. Pada orang dewasa, kedua jenis kelamin dapat dibedakan dengan lingkaran lebih luas dan ekor meruncing dari hermafrodit dan lingkaran lebih ramping dan ekor berbentuk kipas (panah hitam) dari jantan. Oosit dapat dibuahi oleh sperma dari hermafrodit atau sperma yang diperoleh dari jantan melalui perkawinan (Corsi et al., 2015).

Embriogenesis *C. elegans* membutuhkan waktu sekitar 16 jam pada suhu 20° (Gambar 1.5). Cangkang telur yang hampir kedap air terbentuk setelah pembuahan, memungkinkan embrio berkembang sepenuhnya terlepas dari induknya. Namun, embrio biasanya dipertahankan dalam hermafrodit sampai tahap 24 sel saat mereka diletakkan. Embrio hermafrodit menetas dengan 558 nukleus (beberapa nukleus berada dalam *syncytia multi-nuklir*, sehingga jumlah selnya lebih rendah) dan menjadi larva tahap pertama (L1). Hewan mulai makan dan berkembang melalui empat tahap larva (L1-L4). Tahap L1 berdurasi ~16 jam;

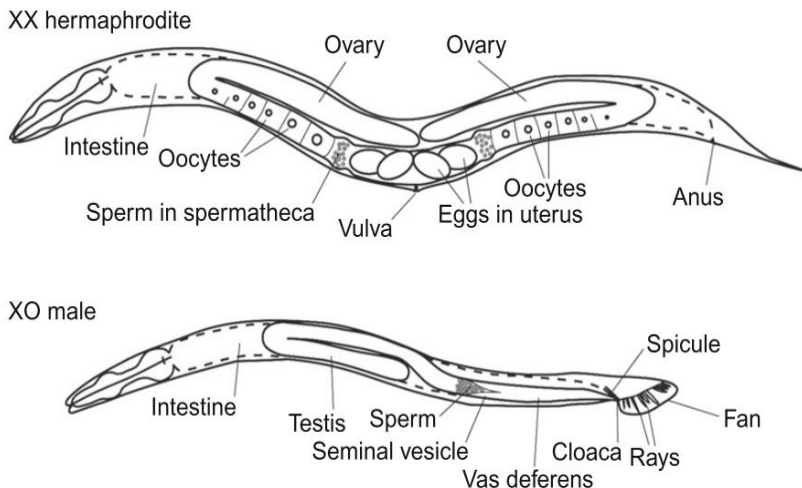
tahap lainnya berdurasi ~12 jam. Setiap tahap diakhiri dengan periode tidak aktif seperti tidur yang disebut *lethargus* (Raizen et al., 2008), di mana kutikula baru (lapisan kolagen luar) dibuat. Kelesuan diakhiri dengan pergantian kutikula lama. Kira-kira 12 jam setelah pergantian kulit L4, hermafrodit dewasa mulai menghasilkan keturunan selama 2-3 hari sampai mereka menggunakan semua sperma yang diproduksi sendiri; keturunan tambahan dapat dihasilkan jika pasangan hermafrodit yang kehabisan sperma. Setelah masa reproduksi, hermafrodit dapat hidup beberapa minggu lagi sebelum mati karena penuaan.

### 3. Bentuk Seksual

*C. elegans* tipe liar memiliki dua bentuk seksual: hermafrodit dan pejantan (Gambar 1.6 dan Gambar 1.5 A dan B). Gonad hermafrodit membentuk ovotestis yang mula-mula menghasilkan sperma amoeboid haploid yang disimpan dalam *spermatheca* pada tahap L4 dan kemudian mendekati masa dewasa *germ line* mengubah takdir untuk menghasilkan oosit yang jauh lebih besar. Pada dasarnya hermafrodit adalah betina yang gonadnya sementara menghasilkan sperma sebelum menghasilkan oosit. Hermafrodit dapat menghasilkan hingga 300 keturunan sendiri yang dibuahi oleh sperma yang disimpan. Jika dikawinkan dengan pejantan, hermafrodit mampu menghasilkan ~1000 keturunan, menunjukkan bahwa sperma yang dihasilkan hermafrodit merupakan faktor pembatas dalam pembuahan sendiri. Kedua jenis kelamin diploid untuk lima kromosom autosomal. Jenis kelamin berbeda karena hermafrodit memiliki dua kromosom X dan jantan memiliki

satu kromosom X. *C. elegans* tidak memiliki kromosom Y dan genotipe jantan disebut sebagai XO.

Jenis kelamin ditentukan oleh rasio X terhadap autosom (X:A) (Zarkower, 2006). Mayoritas keturunan yang dihasilkan melalui pembuahan sendiri adalah hermafrodit; hanya 0,1-0,2% dari keturunannya adalah jantan karena non-disjungsi meiosis kromosom X yang jarang terjadi. Karena hermafrodit membuat spermanya sendiri, dalam persilangan genetik *self-progeny* (oosit yang dibuahi oleh sperma hermafrodit) perlu dibedakan dari progeni silang. Misalnya, ketika hermafrodit homozigot untuk mutasi resesif yang menyebabkan fenotipe mutan yang terlihat dikawinkan dengan pejantan tipe liar, hermafrodit keturunan sendiri menunjukkan fenotipe mutan dan tidak hermafrodit keturunan silang.



**Gambar 1.6.** *C. elegans* jantan dan hermafrodit. Kedua jenis kelamin berbeda dalam ukuran tubuh dan jaringan yang mendukung reproduksi, termasuk gonad, sistem saraf, dan struktur ekor (Wolff and Zarkower, 2008).

#### 4. Reproduksi

Jenis kelamin *C. elegans* menampilkan beberapa perbedaan anatomi yang jelas pada gonad somatik, struktur seksual sekunder s, dan ukuran tubuh (Gambar 1.6). Gonad somatik terletak di tengah tubuh berdampingan dengan usus. Dalam hermafrodit gonad terdiri dari dua tabung berbentuk U bayangan cermin; gonad pada jantan terdiri dari satu *lobus* berbentuk U (Gambar 1.6). Kedua gonad menampung *germline* tempat oosit dan sperma berkembang (Hubbard dan Greenstein, 2005). Gonad somatik dan *germline* berkembang bersama selama tahap larva sampai hewan mencapai kematangan pada tahap dewasa muda.

Keuntungan yang kuat untuk mempelajari *germline* *C. elegans* adalah bahwa seseorang dapat mengamati semua tahap meiosis sekaligus karena *germline* adalah gradien perkembangan yang terlihat (Hubbard dan Greenstein, 2005). Mempelajari *germline* telah menjadi model untuk meiosis, perkembangan gamet, fertilisasi, biologi sel punca, dan bahkan pembentukan tumor Struktur perkawinan seksual sekunder adalah vulva pada hermafrodit dan ekor berbentuk kipas pada jantan. Vulva berkembang di tengah epidermis di sisi perut hermafrodit dan merupakan saluran masuknya sperma dari pejantan dan bertelur dari rahim (Sternberg, 2005). Mempelajari vulva *morphogenesis* telah memberikan wawasan tentang persinyalan oleh jalur Notch, EGF, dan Wnt yang mengoordinasikan perkembangan *spatiotemporal organ*.

Jantan dewasa lebih kurus daripada hermafrodit (karena gonadnya yang lebih kecil dan tidak adanya perkembangan embrio), dan ekornya diratakan menjadi kipas dari bahan kutikula dengan 18 proyeksi neuron dan terkait mendukung sel yang disebut sinar (Gambar 1.6 B). Morfologi luar jantan dan hermafrodit ditentukan oleh kaskade pengatur yang mengontrol faktor transkripsi TRA-1 (Zarkower, 2006). Aktivitas TRA-1 bergantung pada rasio X terhadap autosom (atau X:A). Pada jantan, *TRA-1* tidak aktif dan menyebabkan nasib jantan dan produksi sperma. Dalam hermafrodit, *TRA-1* aktif dan mengarah pada nasib somatik betina dan pembentukan gamet betina.

*C. elegans* juga memiliki sistem kompensasi dosis yang menurunkan regulasi ekspresi gen pada kromosom X pada hermafrodit untuk menyamakan *X-linked* ekspresi antara jenis kelamin. Kompleks kompensasi dosis spesifik jenis kelamin, analog dengan *kondensin* kompleks kromatin yang digunakan dalam mitosis dan meiosis, menghiasi kromosom X dalam hermafrodit dan menurunkan regulasi terkait-X gen sebesar 50% untuk menyamai ekspresi gen dari satu kromosom X pada laki-laki (Meyer, 2005).

## 5. Pemeliharaan *Caenorhabditis elegans*

Di laboratorium, hewan biasanya dibiakkan di petri berisi agar-agar yang berisi bakteri *Escherichia coli*. Setelah hewan menghabiskan bakteri, mereka memanfaatkan pasokan lemaknya. Tanpa makanan, perkembangan hewan tahap larva muda terhenti. Sebagai hasil dari memasuki stasis ini, hewan

dapat bertahan hidup setidaknya selama satu bulan dan sebagai persediaan, mereka tidak memerlukan pemberian makan yang konstan. Setiap kali diperlukan hewan yang sehat dan tumbuh, sepotong agar-agar dari piring lama dapat dipindahkan ke piring baru dengan bakteri. Hewan pindah ke bakteri baru dan melanjutkan perkembangannya.

Ada beberapa hal menyebabkan pemeliharaan *C. elegans* mudah yaitu *Pertama*, *C. elegans* adalah hermafrodit yang membuahi sendiri, satu hewan dapat menempati piring. *Kedua*, populasi hewan dapat dibekukan selama bertahun-tahun dan dihidupkan kembali bila diperlukan. *Ketiga*, ukuran hewan yang kecil berarti banyak yang bisa tumbuh di tempat yang kecil. *Keempat*, hewan dapat tumbuh pada suhu berkisar antara 12° hingga 25°; Q10 mereka untuk pertumbuhan adalah ~2 (yaitu, peningkatan 10° mempercepat pertumbuhan dua kali lipat). Pertumbuhan pada suhu yang berbeda memungkinkan untuk mengontrol laju perkembangan hewan dan membantu dalam isolasi dan penggunaan mutan yang sensitif terhadap suhu. Pertumbuhan terus-menerus di atas 25° tidak mungkin karena hewan menjadi steril. Eksposur yang lebih singkat ke suhu yang lebih tinggi dimungkinkan untuk percobaan kejutan panas dan untuk meningkatkan produksi pejantan. *Kelima*, hewan dapat disinkronkan dengan mengisolasi larva yang baru menetas atau dengan memperlakukan dewasa  *gravid* dengan pemutih (yang mendekontaminasi dengan membunuh semua kecuali embrio) dan mengisolasi telur, yang resistan terhadap pengobatan pemutih. *Keenam*, untuk memudahkan kajian biokimia, hewan

dapat ditumbuhkan secara massal dalam media cair. Kesimpulannya, hewan-hewan itu tidak mahal dan mudah dipelihara.

# BAB 2

## *Fenomena Determinasi Seks*



Seks merupakan kriteria biologis yang membedakan jantan dan betina, yang dipengaruhi oleh kromosom individu, gonad, morfologi (internal dan eksternal) serta karakteristik hormon. Kromosom seks yang terbentuk pada individu mendasari terjadinya perbedaan jenis kelamin. Jenis kelamin adalah perbedaan bentuk, sifat, dan fungsi biologis antara jantan dan betina yang menentukan perbedaan peran mereka dalam menyelenggarakan upaya meneruskan garis keturunan. Determinasi seks adalah proses penentuan jenis kelamin pada makhluk hidup berdasarkan kromosom kelamin (genosom) yang diwariskan secara bebas oleh gamet parental kepada keturunannya melalui proses meiosis. Kompensasi dosis merupakan mekanisme untuk menghasilkan jumlah produk gen yang sama di antara individu betina dengan individu jantan.

### **A. Fenomena Perbedaan Jenis Kelamin pada *Drosophila melanogaster***

#### **1. Dimorfisme Seksual**

*D. melanogaster* dewasa menunjukkan dimorfisme seksual somatik dalam warna, morfologi, dan pola struktur yang

menyusun *eksosleton* kitin mereka. Perbedaan kutikula utama antara kedua jenis kelamin adalah:

- a. jumlah segmen perut;
- b. pigmentasi yang lebih luas pada segmen perut posterior pada jantan;
- c. adanya deretan bulu yang unik secara morfologis, jengger kelamin, pada kaki depan jantan; dan
- d. morfologi alat kelamin dan Analia.

Sebagian besar studi pada kontrol perbedaan seksual somatik berfokus pada peristiwa yang menentukan karakteristik kutikula ini. Perbedaan perilaku dan biokimia antara jenis kelamin yang dihasilkan dari dimorfisme seksual dalam jaringan somatik internal juga diketahui. Data terbatas yang tersedia sangat menyarankan bahwa hasil studi tentang kontrol diferensiasi seksual dalam sel yang menghasilkan kutikula mewakili peristiwa di semua jaringan somatik.

Studi tentang asal-usul struktur dewasa dimorfik seksual mengungkapkan bahwa dalam banyak kasus mereka berasal dari sel nenek moyang yang sama pada kedua jenis kelamin dan dengan demikian mewakili jalur perkembangan alternatif yang dapat diikuti sel-sel ini. Pengecualian tunggal adalah bahwa pada lalat, seperti pada mamalia, terdapat primordial terpisah untuk alat kelamin jantan dan betina dan saluran kelamin dalam di setiap embrio (Epper and Niithiger, 1982). Selama perkembangan tipe liar hanya primordium yang sesuai dengan jenis kelamin lalat yang tumbuh dan terdiferensiasi.

Silsilah sel yang menimbulkan soma dan *germline* dewasa menjadi terpisah satu sama lain serta dari *sel progenitor* jaringan larva pada awal perkembangan embrionik. Dimorfisme seksual pada jaringan larva belum dilaporkan. Selama periode larva dan awal kepompong, *sel progenitor* jaringan somatik dewasa hadir sebagai kelompok yang tidak terdiferensiasi yang disebut cakram *imaginal* dan *histoblas*. Sampai sel-sel ini berhenti membelah dan menjalani diferensiasi selama periode kepompong, sel-sel ini secara morfologis tidak dapat dibedakan satu sama lain dan dari sel embrionik. Namun demikian, selama periode embrionik dan larva banyak peristiwa pengaturan terjadi yang menentukan pola diferensiasi seksual yang akan dialami *sel progenitor* dewasa. Pada peristiwa pengaturan inilah yang akan kami fokuskan.

## 2. Kompensasi Dosis

Kompensasi Dosis diamati sebagai aktivitas yang sama per sel gen terkait-X pada jantan dengan satu kromosom dan betina dengan dua kromosom X. Adanya kompensasi dosis telah diuji dalam empat cara (Baker and Belote, 1983)

- a. Efek fenotipe mutan terkait-X pada jantan dan betina;
- b. Jumlah produk gen atau aktivitas enzim untuk gen terkait-X yang diketahui;
- c. Aktivitas transkripsi kromosom X atau segmen *substerial* dari X sebagaimana ditentukan dalam 3H *-uridine pulse* label kelenjar ludah dengan *autoradiografi*;
- d. Tampilan *sitologis* dari kromosom *polytene* dari sel-sel kelenjar ludah: kromosom X tunggal pada jantan lebih

menyebarkan ("kembang") dan pewarnaan lebih ringan daripada satu kromosom X pada betina.

Dengan satu atau lebih dari tes ini, sifat kompensasi dosis berikut telah ditunjukkan. Pada *Drosophila*, tidak seperti mamalia, gen pada kedua kromosom X pada betina aktif di setiap sel. Kompensasi dosis terjadi pada tingkat transkripsi: satu kromosom X pada jantan menghasilkan jumlah RNA yang sama dengan dua kromosom X pada betina. Kompensasi dosis dapat dideteksi pada larva *instar* ketiga, tahap paling awal. Ini telah dibuktikan dalam sel-sel larva *polytene*, cakram *imajinal*, dan dewasa dan kemungkinan besar terjadi pada semua jenis sel.

Mesin pengatur yang bertanggung jawab atas kompensasi dosis bertindak untuk mengontrol tingkat transkripsi gen individu atau segmen kecil kromosom X secara mandiri. Jadi, gen yang terkandung dalam potongan kromosom X yang relatif kecil yang telah dimasukkan ke dalam kromosom lain melalui penyisipan translokasi terus menjadi kompensasi dosis. Potongan-potongan yang dipindahkan oleh translokasi ini, meskipun kecil secara *sitologis*, mengandung banyak lokus dan mungkin panjangnya ratusan kb. Demikian pula, dalam satu kasus yang diperiksa, gen autosomal tidak menjadi kompensasi dosis ketika lokus sekitarnya ditranslokasikan ke kromosom X (Roehrdanz et al., 1977). Selain itu, mutan-mutan *cis-acting* diketahui pada atau dekat beberapa lokus terkait-X yang menghilangkan kompensasi dosis pada lokus tersebut. Apakah mutan semacam itu hanya memengaruhi lokus individu sebagai lawan dari kelompok kecil gen yang berdekatan tidak diketahui;

yaitu belum diketahui apakah kompensasi dosis dimediasi di tingkat lokus atau di tingkat regional. Kemungkinan terakhir ini mungkin didukung oleh temuan terbaru bahwa lokus autosomal (merah: gen struktural untuk *xanthine dehydrogenase*; *Ddc*: gen struktural untuk *dopadecarboxylase*) yang diperkenalkan ke dalam kromosom X melalui transformasi yang dimediasi faktor P menunjukkan setidaknya kompensasi dosis parsial (Baker and Belote, 1983).

Hampir semua gen terpaut-X diberi kompensasi dosis; memang, lokus kromosom X yang diketahui yang alel tipe liarnya tidak di kompensasi dosisnya adalah kasus pengecualian yang ideal yang membuktikan aturan tersebut. Kasus pertama adalah lokus *bobbed*, yang terdapat pada kromosom X dan Y dan dengan demikian biasanya terdapat dalam dua salinan pada setiap jenis kelamin. Lokus tak ter kompensasi kedua adalah gen *protein-Ia* (*LSP-Ia*) serum larva. Berikut perbandingan filogenetik jantan menyarankan bahwa gen ini mungkin merupakan kedatangan baru secara evolusioner pada kromosom X dari salinan lokus yang awalnya autosomal. Selain itu, telah dicatat bahwa jika gen *LSP-Ia* dan dua gen autosomal terkait (*LSP-II3* dan *LSP-I'Y*) mempertahankan fungsi yang sama, maka perbedaan dosis fungsional antara kedua jenis kelamin akan menjadi 5:6 daripada 1:2 dan dengan demikian mungkin ada tekanan yang kurang selektif untuk menyamakan ekspresi gen *LSP-Ia* pada kedua jenis kelamin. Contoh ketiga yang diketahui dari lokus terkait-X yang tampaknya tidak ter kompensasi dosis adalah tiga gen protein kuning telur (YP).

Gen-gen ini biasanya diekspresikan hanya pada betina dan dengan demikian mereka tidak diharapkan untuk diberi kompensasi dosis. Bahwa mereka tidak diberi kompensasi dosis disarankan oleh pengamatan bahwa mutan pada lokus *Doublesex*, yang mengubah kromosom sebagian besar individu jantan dan betina menjadi interseks yang tidak dapat dibedakan secara morfologis memungkinkan ekspresi gen YP pada kedua jenis individu dan dalam kasus seperti itu kompensasi dosis tidak diamati (Ota et al., 1981).

### 3. Gambaran Terhadap Regulasi Penentuan Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis pada *D. melanogaster*

Fungsi genetik yang berkaitan dengan penentuan jenis kelamin dan kompensasi dosis dapat dengan mudah dibagi menjadi tiga kategori berdasarkan posisi yang mereka tempati dalam hierarki pengaturan yang bertanggung jawab atas proses ini, yaitu:

- a. *Kelompok pertama* adalah gen yang berkepentingan dengan penentuan kromosom X: rasio autosom (rasio X:A), penentu utama dari jenis kelamin somatik dan *germline* serta kompensasi dosis.
- b. *Kelompok kedua*, ada satu set setidaknya sebelas gen pengatur yang berfungsi untuk membentuk dan/atau mempertahankan jenis kelamin dan/atau kompensasi dosis. Karena sebagian besar gen ini telah ditemukan secara kebetulan, kemungkinan layar sistematis akan mengungkapkan lokus pengaturan tambahan. Salah satu lokus ini, *Sex-lethal* (*Sxl*), tampaknya bekerja pada atau segera setelah pemantauan rasio X:A dan mengontrol

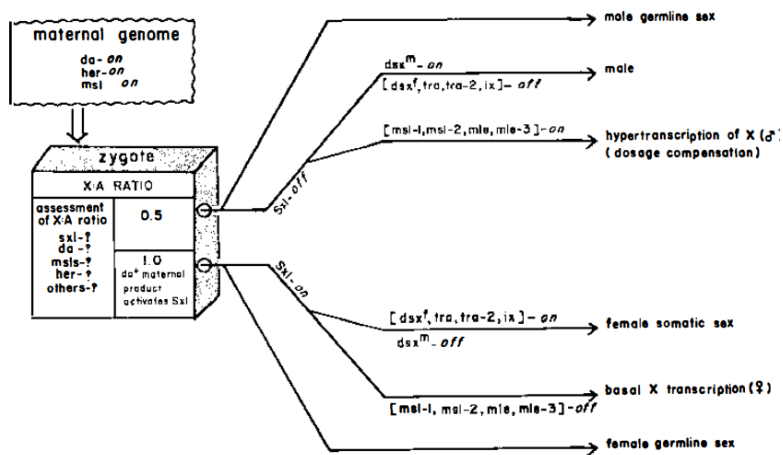
penentuan jenis kelamin somatik dan kompensasi dosis pada betina (Gambar I). Lokus kedua, *daughterless (da)*, bertindak secara maternal dan menentukan produk yang dibutuhkan dalam embrio untuk fungsi *Sxl+*. Lokus hermafrodit yang baru ditemukan juga berperan untuk mengontrol kedua jenis kelamin tersebut. Sisa dari lokus regulasi sejauh ini tampaknya mengontrol penentuan jenis kelamin somatik yaitu:

- 1) *transformer (tra)*,
- 2) *transformer-2 (tra-2)*,
- 3) *Doublesex (dsx)*,
- 4) *intersex (ix)*
- 5) atau kompensasi dosis [*maleless (mle)* , *male specific lethal-1 (msl-1)*, *male specific lethal-2 (msl-2)*, *male specific lethal-3 (msl-3)*].

Meskipun *Sxl* dan *da* mungkin, seperti yang dibahas di bawah, berkaitan dengan penilaian rasio X:A, lokus lainnya tampaknya bertindak hilir dari rasio X:A dalam hierarki peraturan ini dan aktivitas mereka ditetapkan sebagai respons terhadap penentuan rasio ini.

Karena penentuan jenis kelamin pada *germline* pada awalnya ditentukan oleh rasio X:A dan set lokus yang digunakan pada kedua jenis kelamin untuk melakukan meiosis dan gametogenesis sebagian besar tidak tumpang tindih tampaknya ada lokus pengatur. mengendalikan diferensiasi seksual dalam *germline* analog dengan yang mengatur diferensiasi seksual somatik. Namun, lokus

tersebut belum teridentifikasi. Pada tingkat ketiga dalam hierarki ini adalah fungsi diferensiasi terminal yang ekspresinya pada akhirnya dikendalikan oleh gen pengatur di atas. Dalam kasus kompensasi dosis, ini terdiri dari hampir semua gen pada kromosom X. Sehubungan dengan diferensiasi seksual somatik, beberapa fungsi genetik spesifik jenis kelamin atau produk gen telah diidentifikasi dan terbukti berada di bawah kendali lokus pengatur di atas.



**Gambar 2.1.** Outline hierarki regulasi yang mengendalikan jenis kelamin dan kompensasi dosis pada *D. melanogaster* (Baker and Belote, 1983).

- c. *Kelompok ketiga.* Pada tingkat ketiga dalam hierarki ini adalah fungsi diferensiasi terminal yang ekspresinya pada akhirnya dikendalikan oleh gen pengatur di atas. Dalam kasus kompensasi dosis, ini terdiri dari hampir semua gen pada kromosom X. Sehubungan dengan diferensiasi seksual somatik, beberapa fungsi genetik spesifik jenis kelamin atau produk gen telah diidentifikasi dan terbukti berada di bawah kendali lokus pengatur di atas.

#### 4. Determinasi Primer Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis pada *Drosophila melanogaster*

##### a. *Penilaian Rasio X:A: Studi Poliploid dan Aneuploid Kromosom*

Seks somatik. Rasio X : A adalah penentu utama *seks somatic D. melanogaster* diungkapkan oleh penemuan Bridges tentang poliploid dan aneuploid kromosom. Individu dengan kromosom X setengah dari set autosom (1X:2A) adalah jantan, individu dengan jumlah X yang sama kromosom dan set autosom (2X:2A, 3X:3A, dan 4X:4A) adalah betina dan, yang paling mencolok, individu dengan perantara rasio (2X:3A) adalah *intersexual* (Baker and Belote, 1983).

Bridges juga mengemukakan teori keseimbangan penentuan jenis kelamin menjelaskan pengamatan ini. Dia mengusulkan bahwa mayoritas *lokus* autosomal itu mempengaruhi penentuan jenis kelamin adalah penentuan jantan, sedangkan kromosom X mengandung lebih banyak lokus penentu betina. Jenis kelamin lalat adalah disarankan untuk ditentukan oleh rasio gen penentu jantan-betina. Bridges memandang lokus ini sebagai produk yang menentukan yang bersaing di tingkat perusahaan fenotipe akhir untuk mendorong diferensiasi dalam satu arah atau yang lain. Dari sudut pandang modern dari proses pengaturan baik teori keseimbangan Bridges, maupun alternatif yang diajukan oleh Goldschmidt berdasarkan "hukum waktu", mungkin benar atau berguna secara

*heuristik*. Untuk alasan ini mereka tidak akan dipertimbangkan lebih lanjut di sini.

Hanya berdasarkan pandangan penentuan jenis kelamin yang dikondisikan oleh keseimbangan teori, dua genotipe aneuploid lainnya, 1X3A dan 3X2A, diberi nama jantan super dan betina super masing-masing. Namun, kedua genotipe ini menampilkan tipe fenomena seksual somatik jantan normal (1X3A) dan betina normal (3X2A), dan dengan demikian tidak ada alasan empiris untuk percaya bahwa perkembangan seksual mereka berbeda dari jantan dan betina normal. Telah dikemukakan bahwa individu 1X3A dan 3X2A disebut *metamale* dan *metafemale* masing-masing. Individu 4X3A juga jantan. Dengan demikian, di semua poliploid dan aneuploid kromosom kecuali 2X3A, rasio X:A mengarah ke seluruh organisme yang menjalani seksual somatik jantan atau betina diferensiasi.

Pemeriksaan *interseks triploid* (2X3A) mengungkapkan bahwa individu-individu ini adalah mosaik di mana penilaian rasio X:A mengarah, pada tingkat sel, hanya diferensiasi seksual jantan normal atau betina normal. Terlepas dari pola mosaik diferensiasi seksual, dalam *interseks triploid* semua sel mempertahankan konstitusi kromosom 2X3A. Namun, dalam *interseks* 2X3A, bagian dimorfik seksual yang berbeda dari lalat menunjukkan kemungkinan yang sangat berbeda untuk mengalami diferensiasi jantan-lawan-betina. Karena ada sedikit

percampuran sel selama perkembangan *Drosophila*, ini menunjukkan bahwa rasio X:A dapat bertindak secara *ireversibel* untuk menentukan jenis kelamin di awal perkembangan, dan bahwa tambalan *interseks* 2X3A mencerminkan garis keturunan sel.

Meskipun *interseks* 2X3A menampilkan variasi yang luas dalam keseluruhan fenotipe seksual, sel-sel individu selalu tampak mengalami diferensiasi seksual jantan atau betina. Sejauh dapat dipastikan dari literatur yang diterbitkan, dalam *interseks triploid* (2X3A) yang mengandung duplikasi atau defisiensi untuk sebagian kecil genom, sel-sel individual juga selalu terdiferensiasi sebagai jantan atau betina, meskipun proporsi sel dari kedua jenis sel ini lagi dapat sangat bervariasi. Namun, dalam *interseks* 2X3A, bagian dimorfik seksual yang berbeda dari lalat menunjukkan kemungkinan yang sangat berbeda untuk mengalami diferensiasi jantan-lawan-betina. Misalnya, kaki depan mengalami diferensiasi seksual laki-laki (yaitu, bentuk sisir seks) di semua kecuali *interseks* mirip-betina yang paling *ekstrim*, sedangkan lempeng anus berkembang sebagai jantan hanya pada *interseks* mirip-jantan yang paling *ekstrim*. Semua struktur dimorfik seksual lainnya dapat disusun di antara ekstrem ini. Dasar dari probabilitas yang berbeda dari perkembangan jantan versus betina di jaringan yang berbeda tidak jelas.

1) *Germline* Seks. Transplantasi sel *progenitor* dari *germline* (disebut sel kutub) telah menunjukkan bahwa

sel dari satu tipe kromosom (1X2A atau 2X2A) tidak memunculkan gamet fungsional dalam soma dari tipe kromosom lainnya. Jadi, jenis kelamin sel benih ditentukan setidaknya sebagian oleh rasio X:A. Ovarium 3X2A dan lalat 4X3A dapat menghasilkan ovum fungsional konsisten dengan hipotesis bahwa penilaian awal jenis kelamin dalam *germline* juga dapat menjadi fenomena ambang batas. Pada *interseks triploid* (XXY3A) yang membedakan testis, ditemukan sperma tetapi mereka abnormal, dan pada gonad 2X3A yang terdiferensiasi sebagai ovarium, oosit matang diamati dalam beberapa kasus. Alasan kegagalan banyak sel germinal untuk mengalami maturasi pada *interseks triploid* tidak jelas. Bisa jadi soma dari fenotipe yang sama merupakan persyaratan untuk diferensiasi sel germinal atau jenis kelamin sel germinal ini tidak ditentukan secara pasti. Terlepas dari ketidakpastian ini, kami mendukung hipotesis penyederhanaan bahwa pada *germline*, seperti pada soma, penilaian rasio X:A adalah fenomena ambang dan sel individu selalu ditentukan sebagai jantan atau betina.

- 2) Kompensasi Dosis. Studi awal yang menunjukkan bahwa rasio X:A adalah penentu utama laju transkripsi kromosom X (kompensasi dosis) telah banyak diteliti. Meskipun semua peneliti setuju bahwa rasio X:A adalah penentu utama tingkat transkripsi kromosom X, ada

perbedaan dengan tingkat X ekspresi *gen-linked* dalam beberapa genotipe aneuploid.

Hasil penelitian dari Lucchesi, Maroni, Plaut, dan rekan-rekannya tentang kompensasi dosis adalah sebagai berikut:

- 1) Di dalam individu dengan konstitusi autosomal tertentu (diploid atau *triploid*), mengubah jumlah kromosom X tidak mengubah jumlah produk per sel yang diproduksi oleh gen kromosom X. Jadi, individu 1X2A, 2X2A, dan 3X2A semuanya memiliki jumlah produk yang dikodekan X yang sama per sel. Individu 1X3A, 2X3A, dan 3X3A juga memiliki jumlah produk yang dikodekan X yang setara per sel.
- 2) Perbandingan individu dengan dua-versus tiga set autosom menunjukkan bahwa individu *triploid* berbasis per sel memiliki jumlah produk yang dikodekan-X yang 1,5 kali lipat dari yang ditemukan pada individu diploid.
- 3) Ketika jumlah produk per gen kromosom X dalam aneuploid kromosom ini dihitung, ditemukan lima tingkat transkripsi X yang berbeda. Dengan demikian, berbeda dengan interpretasi semua-atau-tidak sama sekali dari rasio X:A sehubungan dengan penentuan jenis kelamin, data ini menunjukkan bahwa tingkat transkripsi kromosom X dapat terus disesuaikan. Pengamatan ini semua konsisten dengan, dan sebagian membentuk dasar untuk, hipotesis bahwa tingkat

transkripsi kromosom X berada di bawah kontrol positif oleh produk dari satu (atau beberapa) *lokus* autosomal yang terbatas dalam jumlah dan yang kromosom X kompetisi lokus.

**b. Waktu, Otonomi, dan Irreversibilitas Penilaian Rasio X:A (Baker and Belote, 1983)**

Rasio X:A bertindak dalam diploid untuk menentukan jenis kelamin dengan cara otonom sel karena *gynandromorphs* (mosaik 1X2A-2X2A) terdiferensiasi sebagai mosaik seksual di mana sel 1X2A adalah jantan dan sel 2X2A betina. Pada kompensasi dosis *gynandromorphs* juga sel otonom. Dengan demikian, sel-sel dari jenis kromosom tidak menghasilkan molekul yang dapat menyebar yang mempengaruhi baik kompensasi dosis atau diferensiasi seksual somatik dalam sel-sel genotipe lainnya.

Beberapa data terbaru menunjukkan bahwa penilaian rasio X:A terjadi pada awal perkembangan dan menghasilkan penentuan jenis kelamin dan laju transkripsi kromosom X yang *ireversibel*. Dalam studi mutan yang mempengaruhi stabilitas mitosis kromosom, tercatat bahwa pada betina 2X2A beberapa mutan ini kadang-kadang menyebabkan hilangnya kromosom X dalam sel individu selama perkembangan dan dengan demikian menghasilkan klon 1 sel X2A. Klon 1X2A dikenali bagian perut berpigmen, dimorfik dan menghasilkan fenotipe jantan. Meskipun ada bukti bahwa mutan yang menghasilkan klon ini memengaruhi stabilitas kromosom selama

perkembangan, analisis ukuran klon jantan yang diamati menunjukkan hal itu mereka muncul hanya selama periode embrionik.

Baru-baru ini diketahui bahwa ada waktu tertentu dalam perkembangan di mana sel menilai rasio X:A mereka dan secara permanen menentukan jenis kelamin mereka dan keturunan mereka. Dalam studi ini berbagai manipulasi genetik menghilangkan kromosom X dari sel betina 2X2A pada berbagai waktu selama perkembangan dan jenis kelamin dan karakteristik pertumbuhan klon 1X2A yang dihasilkan diperiksa pada individu dewasa. Klon diperiksa di segmen perut dorsal dan jenis kelamin dinilai berdasarkan pigmentasi. Hasil menunjukkan klon 1X2A yang dihasilkan selama bagian awal periode embrio secara *fenotip* jantan dan ukuran besar yang diharapkan untuk klon yang diproduksi di awal pengembangan. Namun, klon 1X2A diproduksi pada awal periode kepompong sangat kecil (yaitu, tumbuh buruk) dan tipe *fenotip* seksual betina meskipun konstitusi kromosom jantan euploid mereka. Hasil ini menunjukkan bahwa ada waktu awal dalam perkembangan di mana penilaian dari X: sebuah rasio secara *ireversibel* menentukan jenis kelamin sel dan keturunannya.

Data lebih lanjut yang berkaitan dengan waktu rasio X:A dinilai berasal dari studi yang memanfaatkan sensitivitas suhu perkembangan seksual pada *interseks* 2X3A: tingkat feminisasi individu 2X3A meningkat dengan suhu tinggi sementara viabilitas organisme menurun. Lauge

Lauge (1969) menunjukkan bahwa suhu tinggi efektif dalam meningkatkan perkembangan wanita di cakram genital hanya jika diberikan sebelum *instar* ketiga; periode sensitivitas maksimum adalah selama *instar* pertama dan kedua. Di sisi lain, periode di mana perkembangan seksual gonad sensitif terhadap suhu sangat awal pada periode embrionik. Dasar untuk efek suhu yang relatif terlambat pada cakram genital tidak jelas. Meskipun ini dapat menunjukkan bahwa jenis kelamin ditentukan selarut ini pada cakram genital, harus diingat bahwa individu 2X3A adalah mosaik sel jantan dan betina dan bahwa, meskipun denyut suhu tidak memengaruhi kelangsungan hidup organisme, mereka dapat memiliki perbedaan, mempengaruhi pertumbuhan atau kelangsungan hidup sel jantan dan betina.

Bahwa peran rasio X:A dalam menentukan jenis kelamin mungkin juga ireversibel dalam *germline* sesuai temuan bahwa sel-sel diplo-X yang muncul sebelum masa prameiotik pada jantan dapat menghasilkan sperma fungsional.

## **B. Fenomena Determinasi pada *Caenorhabditis elegans***

### **1. Dimorfisme seksual**

Nematoda *C. elegans* memiliki dua jenis kelamin yaitu jantan dan hermafrodit. Kedua jenis kelamin berbeda secara luas dalam jaringan somatik, dengan banyak dimorfisme anatomi, fisiologis, dan perilaku yang diperlukan untuk kesuburan diri

dan silang yang efisien. Hermafrodit lebih besar dari jantan dan memiliki 959 inti somatik, sedangkan jantan memiliki 1031 inti somatik, sebagian besar karena neuron khusus jantan yang memediasi sanggama (Sulston dan Horvitz, 1977). Jenis kelamin ditentukan secara genetis pada *C. elegans*: hermafrodit memiliki dua kromosom X (XX) dan jantan memiliki satu (XO). Jantan dapat muncul baik secara spontan, karena hilangnya kromosom X secara meiosis, atau melalui perkawinan jantani/hermafrodit, dan kehadiran mereka memungkinkan pertukaran materi genetik antar individu. Secara keseluruhan, sepertiga atau lebih sel somatik menunjukkan spesialisasi seksual yang jelas dan perbedaan jenis kelamin ini mempengaruhi semua jenis jaringan. Di antara dimorfisme yang paling menonjol adalah yang terlibat langsung dalam reproduksi, termasuk struktur sanggama, bagian dari sistem saraf yang mengendalikan perkawinan dan peletakan telur, dan gonad somatik.

*C. elegans* adalah salah satu hewan uji di mana studi intensif tentang penentuan jenis kelamin telah dimungkinkan. Jalur genetik yang mengendalikan penentuan jenis kelamin adalah jalur regulasi pertama yang dijelaskan dalam *C. elegans* (Hodgkin dan Brenner, 1977).

Tiga dekade berikutnya analisis genetik, dipasangkan baru-baru ini dengan studi molekuler, telah mengarah pada pemahaman rinci tentang mekanisme yang menentukan jalur seksual embrio *C. elegans* dan mengarahkan pelaksanaan program perkembangan berikutnya. Ada lima konsep yang muncul dari studi perkembangan seksual pada *C. elegans*.

- a. Sinyal utama untuk penentuan jenis kelamin, rasio kromosom X terhadap set autosom, atau rasio X:A, menunjukkan kepekaan yang luar biasa terhadap komposisi kromosom dan bertindak melalui sejumlah sinyal cis- dan *trans-acting*, baik autosomal maupun jenis kelamin. terkait.
- b. Target proksimal dari sinyal X:A, master regulator *xol-1*, memasang kompensasi dosis anatomi seks dengan kromosom seks dengan secara terkoordinasi mengatur pembentukan kompleks kompensasi dosis kromosom X dan aktivitas jalur pengaturan penentuan jenis kelamin.
- c. Jalur penentuan jenis kelamin mengontrol semua aspek diferensiasi seksual somatik, termasuk anatomi, fisiologi, dan perilaku, dengan mengatur faktor transkripsi keluarga Ci/GLI TRA-1. XOL-1 dan TRA-1 masing-masing dapat dianggap sebagai regulator utama hulu dan hilir untuk penentuan jenis kelamin. Regulator tambahan telah berevolusi untuk memungkinkan gametogenesis campuran-seks di hermafrodit.
- d. Hilir dari jalur penentuan jenis kelamin “global” adalah pengatur seksual khusus yang mengontrol aspek-aspek terbatas dari diferensiasi seksual serta pengatur perkembangan umum yang aktivitasnya dibuat khusus untuk jenis kelamin dalam sel-sel tertentu melalui jalur global. Kelima, perbandingan jalur penentuan jenis kelamin nematoda dengan hewan lain telah mengungkapkan bahwa prosesnya cair dan berkembang cepat tetapi tampaknya

melibatkan beberapa faktor pengatur yang relatif kuno dengan fungsi analog.

## 2. Sinyal Seks Primer secara Genetik pada *C. elegans* : Rasio X:A

Pada *C. elegans* tidak ada kromosom Y, dan penentu utama jenis kelamin adalah rasio X/A, sama seperti pada *Drosophila*. Bahwa rasio kromosom X terhadap set autosom sangat penting dalam menentukan jenis kelamin, daripada jumlah absolut kromosom X itu sendiri, pertama kali diakui oleh Nigon. Nigon awalnya menunjukkan bahwa hewan diploid dengan dua kromosom X ( $2X/2A = 1$ ) adalah hermafrodit, sedangkan hewan dengan kromosom X tunggal ( $1X/2A = 0,5$ ) adalah jantan. Dalam penelitian selanjutnya dia menunjukkan bahwa hewan tetraploid dengan empat kromosom X ( $4X/4A = 1$ ) atau tiga kromosom X ( $3X/4A = 0,75$ ) adalah hermafrodit, sedangkan yang memiliki dua kromosom X ( $2X/4A = 0,5$ ) adalah jantan. Madl dan Herman (1979) lebih lanjut menunjukkan bahwa hewan *triploid* dengan tiga kromosom X ( $3X/3A = 1$ ) adalah hermafrodit, sedangkan yang memiliki dua kromosom X ( $2X/3A = 0,67$ ) adalah (biasanya) jantan. Jadi, rasio 0,75 atau lebih menghasilkan perkembangan hermafrodit, sedangkan rasio 0,67 atau kurang menghasilkan perkembangan jantan.

Madl dan Herman (1979) juga menunjukkan bahwa penambahan duplikasi parsial kromosom X (*Dps*) pada hewan  $2X/3A$  dapat menyebabkan pergeseran ke arah perkembangan hermafrodit. Hewan  $2X/3A$  yang membawa duplikasi besar *mnDpl0* sepenuhnya bergeser ke nasib hermafrodit, sedangkan

hewan 2X/3A yang membawa salah satu dari dua duplikasi yang lebih kecil, *mnDp9* atau *mnDp25*, dapat berkembang sebagai hermafrodit, jantan, atau *interseks*. Dua duplikasi lainnya, *mnDp8* dan *mnDp27*, tidak berpengaruh pada percobaan ini. Disimpulkan bahwa kromosom X mengandung setidaknya tiga situs yang sensitif terhadap dosis yang secara kumulatif terdiri dari pembilang rasio X/A.

Sebagai konsekuensi dari mekanisme penentuan jenis kelamin primer, laki-laki (XO) dan hermafrodit (XX) memiliki jumlah kromosom X yang berbeda dan, karenanya, dosis yang berbeda dari semua gen terkait-X. *Caenorhabditis elegans* mengkompensasi perbedaan dalam dosis gen terkait-X ini dengan menyamakan tingkat transkrip spesifik-X antara kedua jenis kelamin. Tingkat ekspresi kromosom X, seperti pilihan nasib seksual, tampaknya diatur sebagai respons terhadap sinyal penentu jenis kelamin primer, rasio X/A (Meyer dan Casson, 1986).

Karena satu-satunya perbedaan genetik antara jantan dan hermafrodit adalah dosis relatif kromosom X, maka *C. elegans* harus memiliki beberapa mekanisme untuk “menghitung” kromosom. Organisme harus menilai nilai rasio X/A dan kemudian mengirimkan informasi ini ke gen yang mengontrol penentuan jenis kelamin dan gen yang mengontrol kompensasi dosis kromosom X. Sejumlah besar gen yang bertindak dalam jalur bercabang yang menghubungkan sinyal awal dengan konsekuensi utamanya (yaitu, diferensiasi seksual jantan atau hermafrodit dan tingkat ekspresi gen terkait-X yang sesuai) telah

diidentifikasi (Tabel 1). Beberapa gen tampaknya bertindak pada langkah awal dalam hierarki pengaturan untuk secara terkoordinasi mengontrol penentuan jenis kelamin dan kompensasi dosis sebagai respons terhadap sinyal X/A; ini telah diidentifikasi berdasarkan mutasi yang secara bersamaan mengganggu kedua proses. Gen lain bertindak pada langkah-langkah dalam hierarki setelah kontrol kedua proses ini menyimpang. Beberapa dari gen ini diperlukan hanya untuk pemilihan nasib seksual yang tepat, sementara yang lain tampaknya hanya terlibat dalam pengendalian ekspresi kromosom X.

**Tabel 2.1.** *Fenotip* Penentuan Jenis Kelamin dan Mutan Kompensasi Dosis

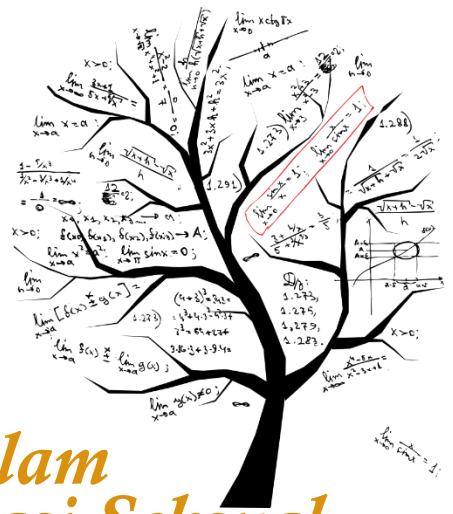
Gen	Jumlah alel	<i>Fenotip XX</i>	<i>Fenotip X0</i>
<b>Gen diperlukan untuk penentuan jenis kelamin dan kompensasi dosis</b>			
Tipe liar		<i>Hemaprodit</i>	Jantan
<i>sdcl(lf)</i>	15	Kecil, hermafrodit kecil, <i>pseudojantan</i> dan <i>interseks</i>	<i>Egl</i> dan Jantan
<i>sdcl2(lf)</i>	8	<i>Pseudomale</i> kecil, jarang <i>interseks</i> , dan <i>Egl</i> hermafrodit	Jantan
<i>Sdcl2(lf)</i>	>20	Mati, maskulin	Jantan
<i>xol-1(lf)</i>	5	<i>Hemaprodit</i>	Mati, <i>feminim</i>
<b>Gen untuk penentuan jenis kelamin yang tepat</b>			
<i>her-1(lf)</i>	>25	<i>Hemaprodit</i>	<i>Hemaprodit</i>
<i>her-1(lf)</i>	2	<i>Egl</i> maskulin, hermafrodit, <i>interseks</i> , dan <i>pseudojantan</i>	Jantan
<i>tra-1(lf)</i>	>50	Jantan dengan fertilitas rendah	Jantan

<b>Gen</b>	<b>Jumlah alel</b>	<b>Fenotip XX</b>	<b>Fenotip X0</b>
tra-1(gf)	>20	Betina	Betina
tra-2(lf)	>50	<i>Incomplete</i> , jantan tidak kawin	Jantan
tra-2(gf)	12	Betina	Jantan
tra-3(lf)	4	<i>Incomplete</i> , jantan tidak kawin	Jantan
fem -1 (lf)	>25	Betina, beberapa <i>interseks</i>	Betina, beberapa <i>interseks</i>
Fem-2(lf)	11	Betina (Komplit betina)	Betina (lebih kuat betina)
fem-3(gf)	9	Garis germinal jantan, soma betina	Jantan
fog-1	>40	<i>Female germ line</i> , male soma	Jantan
fog-2(lf)	16	Betina	Jantan
<b>Gen untuk kompensasi dosis</b>			
dpy-21 (lf)	>20	<i>dpy, Egl hermaphrodite</i>	Jantan
dpy-26(lf)	4	Sedikit <i>dpy, mati, Egl hermaphrodite</i>	Jantan
dpy-27(lf)	13	Sedikit <i>dpy, mati, Egl hermaphrodite</i>	Jantan
dpy-28(lf)	2	Sedikit <i>dpy, mati, Egl hermaphrodite</i>	Jantan
Dpy-29(lf)	11	Sedikit <i>dpy, mati, Egl hermaphrodite</i>	Jantan

(Villeneuve and Meyer 1990).

# BAB 3

## Gen yang Terlibat dalam Mekanisme Determinasi Seksual



### A. Gen yang Terlibat dalam Mekanisme Determinasi Seks pada *Drosophila melanogaster*

Analisis molekuler *Sxl*, *tra* dan *dsx* adalah gen yang terlibat dalam penentuan jenis kelamin. Ketiga gen tersebut telah dikloning dan dipetakan dengan menggunakan pengaturan ulang kromosom.

#### 1. *Sex-lethal* (*Sxl*)

*Sex-lethal* (*Sxl*) gen sakelar utama untuk penentuan jenis kelamin somatik pada *D. melanogaster* (Shen et al., 2009), dengan memodulasi rasio kromosom seks menjadi autosom (X:A). *Sxl* mempromosikan perkembangan oogenik dalam sel germinal betina, tetapi tidak pada sel germinal jantan. Pada wanita, *Sxl* mengaktifkan gen *trafo* (*tra*) dengan *splicing* yang benar, sementara *tra* fungsional mengatur *splicing* gen *Doublesex* (*dsx*) dengan *transformer 2* (*tra-2*) sebagai kofaktor untuk menghasilkan *DsxF*, *Dsx* khusus betina. Sebaliknya, jantan tidak memiliki protein *tra* fungsional dan mengekspresikan *DsxM* khusus jantan. Oleh karena itu, protein

*DsxF* dan *DsxM* ini menginduksi perubahan fenotipe spesifik jenis kelamin, dan ada tidaknya *tra* atau *tra-2* memainkan peran penting dalam menentukan diferensiasi seksual. Kompensasi dosis kromosom seks diatur secara berbeda berdasarkan jenis kelamin, dan kompleks *male-specific lethal (MSL)* adalah pemain kunci dalam mesin kompensasi dosis pada *Drosophila*. Pada wanita, kompensasi dosis diblokir oleh represi *msl-2* yang bergantung pada *Sxl*, yang mengkodekan subunit pembatas dari kompleks *MSL*. Meskipun beberapa penelitian menunjukkan bahwa gen yang terlibat dalam jalur penentu jenis kelamin memainkan peran penting dalam ekspresi sifat dimorfik seksual, kontribusinya sendiri untuk menentukan fenotipe *protogyny* belum dilaporkan hingga saat ini (Seong and Kang, 2022).

Mesin kompensasi dosis tidak dipasang pada *Drosophila* betina, karena *msl-2*, gen kunci terlibat dalam perakitan kompleks *MSL*, ditekan oleh *Sxl*. *Knockdown msl-2* berhasil menginduksi semi-mematikan khususnya pada jantan yang pada gilirannya mengurangi ekspresi *msl-2* pada jantan. Namun, *msl-2 knockdown* tidak mengubah perbedaan seksual durasi kepompong, menunjukkan bahwa dosis kromosom seks mesin kompensasi tidak berkomitmen pada fenotipe (Seong and Kang, 2022).

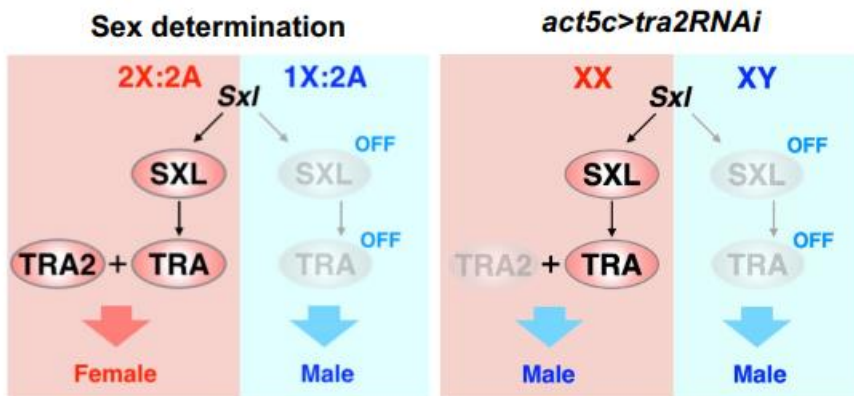
## 2. Transformator (*tra* dan *tra-2*)

Penyambungan RNA *pre-messenger Doublesex* telah menjadi model utama untuk proses penyambungan RNA alternatif di semua organisme tingkat tinggi. Penting untuk penyambungan ini adalah *Tra-2*, protein yang mengandung domain kaya

*arginin*/sering yang terlibat dalam interaksi protein-protein. Gambaran umum ini akan menguraikan proses penyambungan yang kompleks, menyoroti pentingnya penyambungan/*splicing* alternatif, dengan perhatian khusus diberikan pada peran protein *transformer 2* (Baker and Wolfner, 1988).

Dalam istilah yang paling umum, *splicing* adalah penghilangan *intron*, bagian tertentu dari rantai nukleotida, dari antara dua *exon* yang mengapit (bagian dari RNA pra-utusan yang mengkode protein). Proses ini diatur oleh protein tertentu yang disebut faktor sambatan, dan bergantung pada keberhasilan konstruksi mesin sambatan, khususnya struktur yang dikenal sebagai *spliceosome*, kompleks *multi-protein* yang dirakit langkah demi langkah selama proses *splicing*. Penyambungan alternatif menghasilkan spesies RNA *messenger* alternatif, tergantung pada pola penghilangan *intron* (Baker and Wolfner 1988). Bayangkan *intron*, bentangan nukleotida yang akan dihilangkan, dikurung di antara dua *exon*, satu di hulu dan satu di hilir. Dalam kasus pra-mRNA *Doublesex*, *intron* yang akan dihilangkan terletak di antara *exon 3* dan *4*. Ketika *intron* khusus ini dihilangkan secara produktif, diproduksi mRNA *Doublesex* spesifik betina. MRNA *Doublesex* spesifik betina, seperti namanya, mengkode protein *Doublesex* spesifik betina yang akan menghasilkan perkembangan alat betina. Ketika *intron* tidak dihilangkan secara produktif, *exon 3* menjadi disambungkan ke *exon 5* hilir, menghasilkan produksi mRNA *Doublesex* spesifik jantan, dan akibatnya perkembangan alat jantan (Baker and Wolfner, 1988).

Gen *tra-2* dari *Drosophila* diperlukan tidak hanya untuk diferensiasi seksual betina tetapi juga untuk spermatogenesis normal pada jantan. Protein *tra-2* diduga memiliki domain yang homolog dengan protein pengikat RNA. Hal ini menunjukkan bahwa *protein tra-2* mungkin mencapai penyambungan transkrip *dsx* khusus betina, gen penentu jenis kelamin yang mode ekspresinya bergantung pada *tra-2*. Wilayah pengodean protein transkrip *tra-2* identik pada jantan dan betina. Pada kedua jenis kelamin, transkrip tingkat rendah hadir di soma dan tingkat tinggi di *germ-line*. Ini menunjukkan bahwa *tra-2* diatur dengan cara yang berbeda dari gen penentu jenis kelamin lainnya (Amrein, Gorman, and Nöthiger, 1988).



**Gambar 3.1.** Skema jalur penentuan jenis kelamin dan efek mengubah ekspresi *tra-2* (Seong and Kang, 2022).

### 3. Gen *Doublesex* (*dsx*) (Nagoshi and Baker, 1990)

Pada *Drosophila*, pilihan antara perkembangan somatik pria atau wanita ditentukan oleh penilaian rasio X/A, jumlah kromosom X relatif terhadap jumlah set autosom. Rasio X/A menentukan diferensiasi seksual somatik dengan mengendalikan ekspresi gen *bifungsional Doublesex* (*dsx*). Pada

lalat betina dengan kromosom ( $X/A = 1 : 1$ ), hierarki gen pengatur bertindak sebagai respons terhadap rasio  $X/A$  untuk menyebabkan *dsx* diekspresikan khusus betina. Produk *Dsx* betina menekan diferensiasi betina. Sebaliknya, pada lalat jantan ( $X/A = 1 : 2$ ) *dsx* dinyatakan dalam male-specific dan produk jantan *dsx* bertindak untuk menekan diferensiasi jantan. Dalam hal ini *dsx* unik di antara lokus terlibat dalam diferensiasi seksual somatik dalam mengatur perkembangan kedua jenis kelamin. Mutasi hilangnya fungsi *dsx* menyebabkan perkembangan *intersexual* pada lalat jantan dan betina secara kromosom.

Dasar bifungsional dari gen *dsx* diturunkan dari pemrosesan RNA spesifik jenis kelamin. Gen *dsx* menghasilkan mRNA spesifik jantan dan betina yang berasal dari pre-mRNA umum dan memiliki tiga *exon* 5' pertama yang sama. Mereka berbeda dalam *exon* 3' mereka sebagai konsekuensi dari penggunaan akseptor sambatan khusus jenis kelamin dan situs poli (A). Satu RNA betina 3,5 kb dan dua transkrip khusus jantan 2,9 dan 3,9 kb terdeteksi pada analisis Northern blot. Kedua RNA jantan muncul dari penggunaan situs poli (A) diferensial pada *exon* nonkode khusus pria terakhir. Pemrosesan RNA alternatif khusus jantan dan betina ini menghasilkan polipeptida spesifik jenis kelamin yang berbeda dalam domain terminal karboksi mereka.

## B. Gen yang Terlibat dalam Mekanisme Determinasi Seks pada *Caenorhabditis elegans*

Tujuh gen autosom yang mengontrol pilihan nasib seksual pada *C. elegans* tetapi tidak diperlukan untuk kompensasi dosis kromosom X. Gen-gen ini tampaknya terlibat dalam menentukan nasib seksual di semua jaringan tempat dimorfisme seksual diamati. Perkembangan seksual hermafrodit membutuhkan aktivitas gen *tra* (transformator); mutasi kehilangan fungsi pada gen ini mengubah hewan XX menjadi jantan subur atau *pseudojantan*. Perkembangan jantan, sebaliknya, membutuhkan aktivitas gen *her-1* (hermafroditisasi) dan gen *fem* (feminisasi). Mutasi hilangnya fungsi pada *her-1* mengubah hewan XO menjadi hermafrodit subur, dan mutasi hilangnya fungsi pada gen pakis mengubah hewan XO menjadi betina tanpa sperma (tetapi *cross-fertil*). Gen *fem* juga diperlukan untuk spermatogenesis pada hermafrodit, sehingga hewan *fem* XX adalah betina juga. Adapun tujuan gen tersebut adalah

### 1. *tra-1*

Gen *tra-1* diwakili oleh lebih dari 50 alel kehilangan fungsi resesif dan lebih dari 20 alel fungsi yang dominan. Kelas yang paling umum dari alel kehilangan fungsi *tra-1* (yang mencakup banyak mutasi kuning) menghasilkan transformasi hewan XX menjadi jantan kawin yang normal, terkadang subur. Namun, jantan *tra-1* XX ini kurang subur dibandingkan jantan XO tipe liar. Pemeriksaan yang cermat mengungkapkan bahwa sementara jaringan non gonad berkembang dengan morfologi jantan normal, untuk beberapa alel, gonad jantan terkadang kecil, secara morfologis abnormal, dan mengandung jumlah

sperma yang berkurang. Untuk alel lain, morfologi gonad somatik jantan adalah normal tetapi hanya sejumlah kecil spermatogenesis yang terjadi, setelah itu dihasilkan beberapa oosit (Villeneuve and Meyer 1990).

Meskipun peran utama *tra-1* adalah untuk mempromosikan perkembangan hermafrodit pada hewan XX, *tra-1* juga tampaknya memainkan peran kecil pada pejantan XO. Secara khusus, kehilangan fungsi alel yang kuat dapat menyebabkan perkembangan gonad yang abnormal, penurunan spermatogenesis, dan beberapa oogenesis pada jantan XO dan XX (Schedl et al., 1989).

Alel *tra-1 gain-of-function* yang dominan memiliki efek yang berlawanan dengan efek mutasi *loss-of-function*. Untuk beberapa alel, hewan *tra-1(gf)/+* XO berkembang sebagai betina subur yang benar-benar feminin baik dalam garis soma maupun germinal; untuk feminisasi alel lain hewan XO tidak lengkap, mengarah ke perkembangan *intersexual*. Semua alel juga memfemininkan *germ lines* hewan *tra-1(gf)/+* XX dan hewan *tru-1(gf)/+IDf* XX hewan yang diuji. Eksperimen dosis gen dengan alel *tru-1(e1575gf)* menunjukkan bahwa mutasi feminisasi yang dominan ini memengaruhi regulasi *tra-1* spesifik jenis kelamin dan spesifik *germ line* daripada sekadar meningkatkan level aktivitas *tra-1*. Pemetaan genetik struktur halus dengan beberapa alel *tra-1* menunjukkan bahwa mutasi dominan dan resesif memetakan ke dua wilayah berbeda dari gen *tra-1*, dan bahwa gen itu sendiri cukup besar (~0,2 unit peta) (Villeneuve and Meyer, 1990).

Analisis fenotipe *intersexual* yang diproduksi pada lebih dari 200 hewan XX yang secara genetik mosaik untuk *tra-1* telah mengarah pada kesimpulan bahwa fungsi *tra-1* sel (atau garis keturunan) secara otonom dalam penentuan nasib seksual. Ada atau tidak adanya gen *tra-1* tipe liar dalam sel tertentu (atau garis keturunan sel) menentukan apakah sel tersebut akan mengadopsi nasib hermafrodit atau jantan. Secara khusus, sel-sel yang mengadopsi nasib [*tra-1(-)*] jantan selalu terkait secara *klonal* dalam percobaan ini, menunjukkan bahwa hilangnya *tra-1(+)* dalam garis keturunan sel tertentu memengaruhi sel-sel itu, dan hanya sel-sel itu, yang diturunkan. dari garis keturunan itu. Satu-satunya pengecualian untuk generalisasi ini adalah bahwa induksi perkembangan vulva1 dalam sel hipodermis ventral bergantung pada keberadaan *tra-1(+)* dalam sel jangkar gonad yang tidak berhubungan secara *germ line*. Bahwa kehadiran (atau ketiadaan) *tra-1(+)* dalam sel tertentu sangat penting (daripada dalam sel leluhur pada beberapa titik awal dalam garis keturunan sel) hanya ditunjukkan secara langsung untuk garis keturunan sel usus, di mana nasib dimorfik seksual dari sel saudara dapat dengan mudah diperiksa. Beberapa contoh usus mosaik telah diidentifikasi di mana satu sel gagal mengekspresikan protein kuning telur (seperti yang diuji dengan hibridisasi *in situ* ke mRNA protein kuning telur di usus yang dibedah sebagian), menunjukkan bahwa sel saudara dapat mengekspresikan nasib seksual yang berbeda (Villeneuve and Meyer, 1990).

## 2. *tra-2*

Mutasi hilangnya fungsi resesif pada *tra-2* juga menyebabkan maskulinitas pembentukan hewan XX. Mutasi kehilangan fungsi yang kuat mengubah hewan XX menjadi *pseudojantan* yang tidak kawin. *Pseudomale tra-2 XX* ini memiliki gonad jantan di mana terjadi spermatogenesis ekstensif, ekor jantan dan struktur sanggama, setidaknya beberapa otot khusus jantan, dan sistem saraf jantan yang berkembang sebagian. Selain itu, tidak seperti beberapa mutan *tra-1(lf)* yang kuat, *pseudomale tra-2(0) XX* tidak pernah menghasilkan oosit. Namun, struktur ekor jantan secara morfologis tidak normal, dan hewan tidak pernah menunjukkan perilaku kawin jantan, mungkin karena cacat sistem saraf (Villeneuve and Meyer 1990).

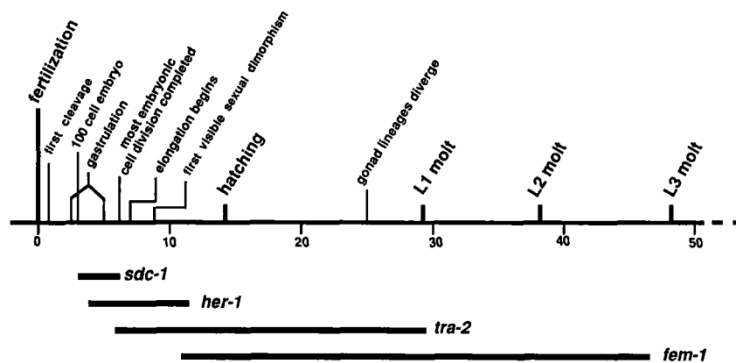
Tingkat absolut aktivitas *tra-2* tampaknya sangat penting untuk fungsi *tra-2* yang tepat dalam mempromosikan pengembangan hermafrodit. Indikasi terkuat dari hal ini adalah kenyataan bahwa lokus *tra-2* tidak cukup *haplo*: hewan XX dengan hanya satu dosis gen tipe liar [*tra2(0)/+* atau *Of/ +*] memperlihatkan *penetran* telur yang tidak lengkap-peletakan fenotipe cacat (*Egl*) akibat kurangnya sepasang neuron motorik spesifik hermafrodit, HSNs. HSN biasanya mati selama embriogenesis pada embrio jantan, dan ketidakhadirannya pada hewan XX ini merupakan indikasi transformasi seksual ringan. Alel *tra-2* kehilangan fungsi yang lemah, *n1106*, sebenarnya diidentifikasi berdasarkan fenotipe HSN-*Egl* pada hermafrodit homozigot *n1106/n1106* (Desai dan Horvitz, 1989).

Eksperimen pergeseran suhu menggunakan alel *tra-2(b202ts)* dilakukan untuk menentukan periode sensitif suhu (TSPs) untuk *tra-2* dalam pengembangan berbagai fitur dimorfik seksual. TSP untuk fenotipe seksual gonad yang ditentukan dalam percobaan ini meluas dari pertengahan embriogenesis (-8 jam sebelum menetas pada suhu 20°C) hingga pergantian larva L1; periode ini berakhir segera setelah garis keturunan sel gonad menyimpang antara jantan dan hermafrodit tetapi jauh sebelum morfogenesis gonad yang signifikan terjadi. Untuk perkembangan ekor jantan, TSP meluas dari pertengahan embriogenesis hingga pertengahan tahap larva L1. TSP ini berakhir setelah beberapa sel *blast* spesifik jantan telah mengambil penampilan karakteristik spesifik jantan tetapi sebelum mereka mulai membelah, dan juga sebelum divergensi banyak garis keturunan lain yang memunculkan struktur ekor jantan. TSP untuk kemampuan menghasilkan oosit meluas dari waktu ke waktu sebelum menetas sampai larva *molting* L4, berakhir beberapa jam sebelum permulaan oogenesis pada dewasa.

### 3. *Tra-3*

Gen *tra-3* juga diperlukan untuk diferensiasi seksual hermafrodit. Seperti *tra-2*, mutasi hilangnya fungsi pada *tra-3* mengubah hewan XX menjadi *pseudojantan* yang tidak kawin. Tidak seperti *tra-2*, bagaimanapun, mutasi *tra-3* menunjukkan penyelamatan ibu yang kuat sehingga keturunan *tra-3* homozigot dari *maternal tra-3/+* heterozigot berkembang sebagai hermafrodit; hermafrodit ini menghasilkan keturunan

dari keturunan sendiri yang seluruhnya terdiri dari hewan XX yang maskulin. Ekspresi *Zygotic tra-3(+)* juga cukup untuk menyediakan fungsi tipe liar, karena *tra-3/+* keturunan silang dari maternal *tra-3/tru-3* adalah hermafrodit tipe liar. Maskulinisasi yang diamati pada hewan *tra-3 XX* agak kurang lebih banyak daripada mutan *tra-2(0)*. Secara khusus, sejumlah kecil hewan *tra-3* menunjukkan perkembangan interseksual dan beberapa subur sendiri, terutama pada suhu rendah. Hanya empat alel *tra-3* yang telah diidentifikasi hingga saat ini, mungkin sebagian karena fakta bahwa efek penyelamatan ibu menghalangi isolasi mereka pada generasi F2. Tiga dari empat alel adalah mutasi kuning. Alel amber ini dapat sepenuhnya ditekan oleh mutasi penekan ambar yang sangat lemah, menunjukkan bahwa produk gen *tra-3* mungkin diperlukan hanya dalam jumlah kecil untuk mendorong perkembangan hermafrodit (Villeneuve and Meyer, 1990).



**Gambar 3.2.** Periode sensitif suhu untuk fenotipe seksual gonad somatik. Garis waktu menunjukkan berbagai penanda selama perkembangan embrio dan larva *C. elegans*; angka di bawah garis menunjukkan jam setelah pemuahan pada 20°C. Batang di bawah garis membandingkan TSP untuk fenotipe seksual gonad somatik yang ditentukan untuk gen penentu jenis kelamin *sdc-1*, *her-1*, *tra-2*, dan *fem-1*. Urutan temporal TSP untuk gen ini sepenuhnya konsisten dengan urutan fungsi gen yang disimpulkan dari *epistasis genetic* (Villeneuve and Meyer, 1990).

4. *her-1* (Trent et al., 1991)

Gen *her-1* telah ditentukan oleh mutasi resesif, kehilangan fungsi (*lf*) yang mengubah hewan XO menjadi hermafrodit fenotipe dan oleh mutasi dominan, peningkatan fungsi (*gf*) yang mengubah hewan XX menjadi jantan tidak lengkap. Oleh karena itu, produk gen *her-1* yang aktif diperlukan untuk perkembangan jantan normal pada hewan XO, dan kehadirannya cukup untuk menginduksi diferensiasi jantan pada hewan XX. Jadi *her-1* adalah gen kontrol perkembangan yang terlibat dalam menentukan identitas seksual pada *C. elegans*: tingkat aktivitas gen ini (atau produknya) dapat menentukan keputusan antara fenotipe seksual alternatif.

5. *fem-1* (Kimble, Edgar, and Hirsh, 1984)

Di sini kami menjelaskan dua gen tambahan, *fem-1*(IV) dan *fem-2*(III), yang mempengaruhi penentuan jenis kelamin pada *C. elegans*, Mutasi *fem-1* atau *fem-2* membuat hewan XX dan XO menjadi feminin. Sensitif terhadap suhu alel dari salah satu gen ini, *pakis-1*, sebelumnya telah dijelaskan dengan nama *isx-1*. Namun, peran *pakis* dalam penentuan jenis kelamin sulit dipahami karena dua alasan. *Pertama*, tidak seperti mutasi *tra* atau *genny*, efek alel *fem* yang dijelaskan terbatas pada gonad somatik dan garis benih. *Kedua*, aksi *fem-1* tidak dapat dipasang dengan rapi ke dalam jalur pengatur. Di soma, fenotipe mutan *tra-1* bersifat epistatik dengan *fem-1*, tetapi pada *germ line*, *fem-1* bersifat epistatik dengan *tra-1*. Dfek gen *fem* pada jenis kelamin struktur non gonad serta pada jenis kelamin struktur gonad yang diketahui sebelumnya. Efek global dari gen *fem* ini

menunjukkan bahwa keduanya terlibat secara sentral dalam saklar penentuan jenis kelamin.

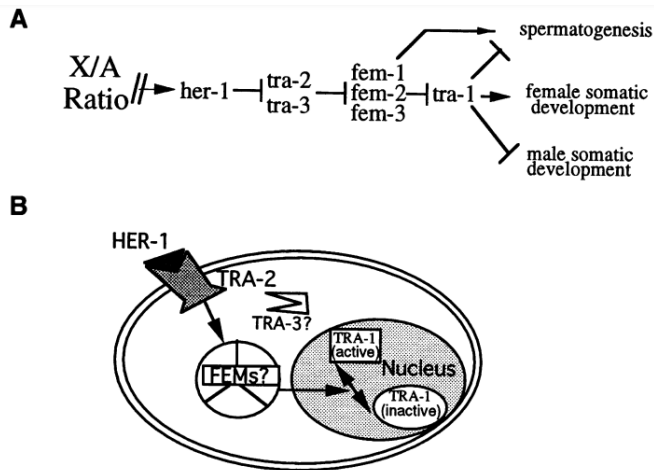
6. *fem-2* (Kimble et al., 1984)

Gen *fem-2* memainkan peran sentral dalam seluruh jalur penentuan jenis kelamin. Mereka dibutuhkan untuk nasib sel jantan tidak hanya di soma dan *germline* jantan XO tetapi juga selama periode spermatogenesis pada hermafrodit XX. Alel mutan homozigot dari gen ini dapat menyebabkan feminisasi hewan. Misalnya, hewan homozigot untuk nol alel *fem-2(e2105)* semua berkembang sebagai betina pada suhu 25 °C terlepas dari kariotipe mereka. Protein *fem-2* mengandung terminal-C-*serin/treonin fosfatase* tipe 2C (PP2C)<sub>2</sub>-like domain dan menunjukkan aktivitas defosforilasi *in vitro*, menunjukkan bahwa fosforilasi dan/atau defosforilasi mungkin bertindak sebagai mekanisme kontrol dalam penentuan jenis kelamin *C. elegans*. Memang, mutasi yang menghilangkan aktivitas fosfatase *fem-2* sangat mengurangi efek penyelamatan mereka di *fem-2(e2105)* nematoda, meskipun substrat untuk *fem-2* tetap ada tidak dikenal. Berbeda dari PP2C klasik, *fem-2* menampung sebuah domain N-terminal besar tambahan tanpa kesamaan urutan dengan domain lain yang diketahui hingga saat ini. Menariknya, *fem-2* mutan dengan penghapusan N-terminal juga gagal menjadikan fenotipe hewan *fem-2(e2105)*, menunjukkan peran yang sangat diperlukan untuk domain ini dalam penentuan jenis kelamin. Namun, bagaimana domain N-terminal *fem-2* berpartisipasi dalam mengatur perkembangan seksual pada *C. elegans* masih belum jelas.

## 7. *fem-3*

Gen *fem-3* *C. elegans* diperlukan untuk perkembangan laki-laki. Baik *fem-3* ibu dan *Zygotic* kegiatan yang diperlukan untuk spermatogenesis di XX *germline* hermafrodit dan untuk perkembangan laki-laki di jaringan somatik dan germinal hewan XO (jantan). RNA *fem-3* berkontribusi pada embrio sebagai produk maternal dan bahwa RNA ini terdegradasi awal dalam perkembangan embrio. Ekor poli (A) embrionik *fem-3* RNA secara substansial lebih panjang dari orang dewasa hermafrodit yang menunjukkan ekor poli (A) pemanjangan mungkin terjadi pada atau segera setelah pembuahan. Jumlah *fem-3* RNA di XX dan XO embrio setara, menunjukkan regulasi khusus jenis kelamin aktivitas maternal *fem-3* terjadi pasca-transkripsi (Ahringer et al., 1992).

Gen *fem-3* bertindak dalam kaskade pengatur gen penentu jenis kelamin untuk memengaruhi fenotipe seksual. Dalam jaringan somatik, *fem-3*, bersama dengan *fem-1* dan *fem-2*, secara negatif mengatur *tra-1*, gen kontrol yang bekerja di ujung kaskade. Data terbaru menunjukkan bahwa *tra-1* mungkin merupakan pengatur transkripsi. Karena aktivitas *tra-1* mengarahkan perkembangan somatik betina, *fem-3* diperlukan untuk mematikan *tra-1* pada hewan XO untuk memungkinkan diferensiasi jantan. Sebaliknya, pada soma XX, *fem-3* sendiri harus dimatikan agar *tra-1* dapat mengarahkan perkembangan betina. Di *germline*, *tra-1* bukanlah gen terminal. Sebaliknya, *fem-3*, bersama dengan gen *fem* lainnya dan *fog-1*, mengarahkan spermatogenesis sebagai gen terakhir dalam kaskade.



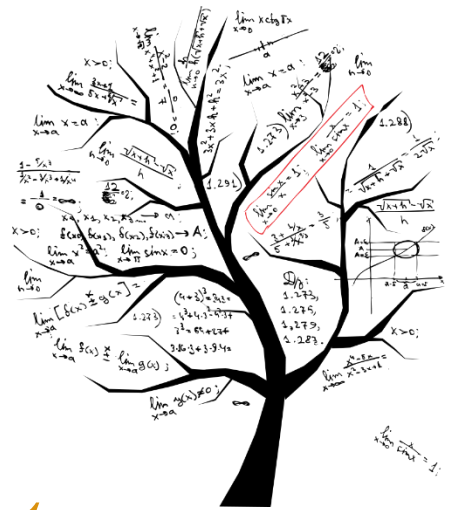
**Gambar 3.3.** (A) Model interaksi genetik antara gen yang terlibat dalam penentuan jenis kelamin somatik dan *germline* pada *C. elegans*. Hanya gen hilir *her-1* yang diilustrasikan, dan gen hanya memengaruhi penentuan jenis *germ line*. Panah menunjukkan interaksi positif, dan bar menunjukkan interaksi negatif atau represif. (B) Model interaksi molekuler dalam penentuan jenis kelamin somatik pada *C. elegans*. (Ahringer et al., 1992)

Aktivitas *fem-3* tipe liar harus disumbangkan oleh genom ibu dan *zygotic* untuk perkembangan normal. Kurangnya aktivitas ibu dan *zygotic fem-3* mengubah hewan XX dan XO menjadi betina (hermafrodit tanpa sperma). Ketika aktivitas *fem-3* ibu tidak ada, hewan XX dan XO sebagian *difeminisasi*. Hewan XO memerlukan aktivitas *fem-3* maternal untuk diferensiasi jantan jaringan somatik dan *germline*, sedangkan pada XXs hanya diperlukan pada *germline* untuk spermatogenesis. Persyaratan *maternal* menunjukkan bahwa *fem-3* RNA atau protein *fem-3* (atau keduanya) dikontribusikan ke embrio oleh oosit. Karena produk maternal *fem-3* ini memiliki peran yang berbeda pada hewan XX dan XO, ia mungkin dikendalikan dengan cara yang spesifik jenis kelamin, dan regulasi ini mungkin terjadi pasca-transkripsi pada embrio.



# BAB 4

## *Determinasi Seks Drosophila Melanogaster*



Pelestarian hewan dengan reproduksi seksual adalah aturan di dalam dunia hewan. Jantan dan betina berbeda pada tingkat morfologis, fisiologis, dan perilaku. Dimorfisme seksual ini dihasilkan dari integrasi dua proses yaitu penentuan jenis kelamin (determinasi seks) dan diferensiasi seksual. Determinasi seks mengacu pada program perkembangan yang mengikat embrio ke jalur jantan atau betina. Gen yang mendasari program ini adalah gen penentu jenis kelamin. Diferensiasi seksual mengacu pada ekspresi gen *sex-cytodifferentiation* (yang dikendalikan oleh gen penentu jenis kelamin), ekspresi yang memunculkan pembentukan struktur dimorfik seksual yang menjadi ciri jantan dan betina dewasa.

Dunia hewan memiliki banyak mekanisme determinasi seks (Bull, 1983). Mekanisme ini bisa diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama tergantung pada: (1) asalnya sinyal penentuan jenis kelamin primer; (2) genetik, yang bisa jadi *Zygotic*; (3) maternal atau lingkungan (Sánchez, 2008).

Penentuan jenis kelamin dapat didasarkan pada perbedaan kromosom, satu jenis kelamin homomorfik dan heteromorfik lainnya

untuk kromosom seks. Ini terlihat di *Drosophila*, di mana penentuan seks didasarkan pada rasio antara X dan kromosom autosomal: betina adalah 2X;2A dan jantan adalah X;2A (X adalah singkatan dari kromosom X dan A adalah haploid komplemen autosom). Baru-baru ini, telah dilaporkan bahwa sinyal X/A memprediksi nasib seksual alih-alih secara aktif menentukannya, sehingga itu adalah jumlah kromosom X daripada X/A sinyal apa yang memiliki peran instruktif dalam penentuan jenis kelamin.

Pada sebagian besar spesies, jenis kelamin suatu individu ditetapkan pada saat pembuahan, seperti pada *Drosophila*, di mana konstitusi kromosom zigot menjadi konsekuensi langsung dari konstitusi kromosom gamet. Penentuan jenis kelamin juga dipengaruhi lingkungan. Rasio jenis kelamin beberapa spesies bergantung pada suhu di mana embrio berkembang.

### **A. Pengatur Utama Determinasi Seks**

Determinasi seks adalah proses di mana embrio berkembang menjadi betina atau jantan, disebabkan oleh isyarat genetik atau lingkungan. Sinyal genetik yang ditemukan termasuk kromosom/gen tunggal determinasi seks, kromosom/gen majemuk determinasi seks, ploidi/heterozigositas, dan pencetakan genom. Isyarat lingkungan yang terdokumentasi termasuk suhu, fotoperiode, dan kepadatan populasi. Meskipun banyak organisme memanfaatkan determinasi seks dalam menghasilkan jenis kelamin yang terpisah, mekanisme determinasi seks tidak dilestarikan dengan baik pada tiap taksa. Evolusi cepat determinasi seks sering terjadi untuk perubahan regulator atas jalur determinasi seks. Sinyal utama jalur determinasi

seks bahkan dapat bervariasi dalam satu spesies, dalam apa yang dikenal sebagai determinasi seks poligenik atau *multifaktorial*. Selain itu, determinasi seks dapat terjadi saat transisi antara lingkungan dan genetik (Wilkins, 1995).

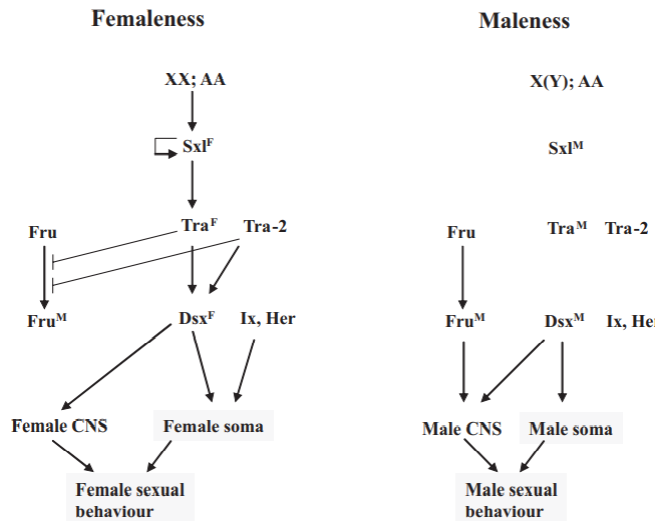
## **B. Model untuk Transisi Mekanisme Determinasi Seks**

Beberapa hipotesis telah diajukan untuk menjelaskan transisi evolusioner determinasi seks. *Pertama*, determinasi seks baru dapat berlangsung pada populasi jika menguntungkan diri mereka atau terkait dengan alel menguntungkan. Seleksi antagonis seksual, yang bertindak berdasarkan sifat atau mutasi yang bermanfaat bagi satu jenis kelamin tetapi merusak jenis kelamin lainnya, mungkin merupakan kekuatan pendorong yang penting untuk transisi di puncak jalur determinasi seks, varian penentu jenis kelamin baru dapat menyelesaikan konflik seksual dengan membiarkan alel antagonis seksual diwariskan hanya pada jenis kelamin di mana itu bermanfaat. *Kedua*, seleksi rasio–sex dapat mendorong invasi faktor penentu jenis kelamin baru jika suatu populasi memiliki rasio jenis kelamin non-ekuilibrium atau mekanisme determinasi seks tidak seimbang. Jenis kelamin yang jarang, memiliki keunggulan selektif karena jenis kelamin yang lebih langka cenderung memiliki lebih banyak pasangan yang tersedia. Faktor penentu determinasi seks dapat menyamakan rasio jenis kelamin yang bias. *Terakhir*, pergantian evolusioner dari determinasi seks dapat terjadi melalui serangkaian keadaan perantara netral di mana penentuan jenis kelamin poligenik ada (Saunders et al., 2018).

## C. Kaskade Genetik yang Menentukan Jenis Kelamin

### D. *melanogaster*

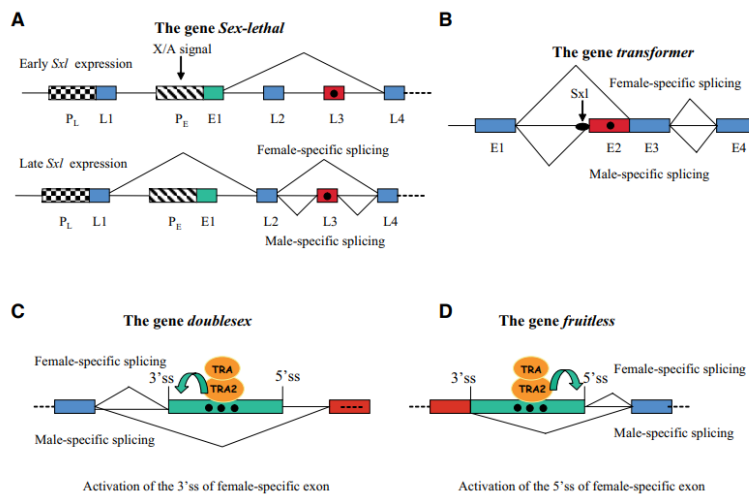
Kaskade (deretan gen yang bekerja dalam penentuan jenis kelamin) disajikan pada Gambar 4.1



**Gambar 4.1.** Kaskade gen penentu jenis kelamin pada *Drosophila melanogaster*. Sxl<sup>F</sup> dan Sxl<sup>M</sup> masing-masing mewakili protein Sxl jantan fungsional dan betina non-fungsional. Tra<sup>F</sup> dan Tra<sup>M</sup> masing-masing mewakili protein Tra betina fungsional dan non-fungsional. Dsx<sup>F</sup> dan Dsx<sup>M</sup> masing-masing mewakili protein Dsx fungsional pada betina dan jantan. Fru<sup>M</sup> adalah singkatan dari protein Fru fungsional pada jantan. Dengan tidak adanya sinyal X/A pada jantan, status gagal sesuai dengan produksi protein Sxl<sup>M</sup>, Tra<sup>M</sup>, Dsx<sup>M</sup>, dan Fru<sup>M</sup>. Protein Ix dan Her diproduksi pada kedua jenis kelamin. SSP, sistem saraf pusat. (Saunders et al., 2018)

Pada *D. melanogaster* terjadi penentuan jenis kelamin karena adanya kombinasi genetik dan molekuler yang tersedia untuk digunakan oleh serangga ini. Germ-line menunjukkan dimorfisme seksual, seperti halnya jaringan somatik. Sel dengan konstitusi kromosom 2X;2A mengikuti jalur oogenik, sedangkan sel XY;2A berkembang menjadi sperma. Pada *D. melanogaster*, penentuan jenis kelamin berada di bawah kendali gen Sex lethal (Sxl). Hubungan epistatik antara Sxl dan gen penentu jenis kelamin

lainnya transformer (*tra*<sup>+</sup>), transformer-2 (*tra*-2) dan Doublesex (*dsx*) telah mengungkapkan bahwa interaksi hierarkis ada di antara mereka (Baker dan Ridge, 1980). Karakterisasi mereka telah menunjukkan bahwa splicing/penyambungan khusus jenis kelamin dari kontrol ekspresi transkrip utama mereka selama perkembangan, produk dari satu gen yang mengendalikan jenis kelamin tertentu penyambungan premRNA dari hilir gen dalam kaskade



**Gambar 4.2.** Kotak dan garis tipis masing-masing mewakili *exon* dan *intron*. (A) Sxl menghasilkan dua set transkrip yang berbeda secara temporer sesuai dengan fungsi dua promotor awal (PE) dan akhir (PL). Sinyal X/A bekerja pada promotor awal (PE). Transkrip primer Sxl awal mengikuti pola penyambungan tetap di mana *exon* L2 dan *exon* spesifik pria L3 (berwarna merah) dikecualikan, dan di mana *exon* spesifik awal E1 (berwarna hijau) langsung disambung ke *exon* L4. *Exon* L4 dan *exon* di hilirnya ada di mRNA Sxl awal dan akhir. Titik di dalam *exon* L3 khusus pria menunjukkan adanya *kodon* stop terjemahan. (B) Elips hitam mewakili urutan yang mengikat protein Sxl dan U2AF. Pengikatan yang pertama mencegah pengikatan yang terakhir. Titik di dalam *exon* E2 khusus jantan menunjukkan adanya terjemahan *stop kodon*. (C, D) Bola hitam kecil di dalam *exon* khusus betina (kotak merah) menunjukkan situs pengikatan Tra-Tra2. Kompleks ini mengaktifkan situs 3'*splicing* (3'ss) dari *exon* khusus betina di pra-mRNA *dsx*, sedangkan kompleks ini mengaktifkan 5's (situs *splicing* 5') dari *exon* khusus betina pada *fru* pre-mRNA. Kotak biru, merah, dan hijau masing-masing mewakili *exon* umum dan khusus jantan dan betina (Sánchez, 2008).

Gen Sxl, yang berada di puncak kaskade ini, memiliki dua promotor, yang disebut promotor awal dan akhir (lihat Gambar 4.2 A). Promotor awal hanya berfungsi pada betina dan merespons sinyal genetik primer (rasio kromosom X dengan set autosom), yang ditransmisikan pada lalat 2X;2A (betina) tetapi tidak pada lalat XY;2A (jantan); ini mengontrol Sxl pada tingkat *transkripsional*). Sxl diaktifkan pada betina tetapi tidak pada jantan (kromosom Y tidak berperan dalam aktivasi Sxl); hasilnya adalah produksi protein Sxl awal pada betina tetapi tidak pada jantan. Setelah aktivitas Sxl ditentukan, peristiwa yang terjadi di sekitar tahap *blastoderm*, sinyal X/A tidak lagi diperlukan dan aktivitas Sxl tetap. Kapasitas Sxl untuk berfungsi sebagai saklar genetik yang stabil sepanjang perkembangan dan selama masa dewasa disebabkan oleh fungsi *autoregulasi* positif dari gen ini yang merupakan perangkat memori untuk penentuan jenis kelamin. Oleh karena itu, peran biologis dari sinyal X/A genetik primer adalah untuk "mengaktifkan" promotor Sxl awal secara sementara, memberi betina protein Sxl awal yang dibutuhkan untuk terbentuk kontrol khusus betina dari Sxl setelah promotor *konstitutif* gen *late* ini memulai fungsinya. Identifikasi satu set *genterlibat* dalam langkah awal aktivasi Sxl menunjukkan bahwa sistem genetik konvensional berdasarkan sinyal X/A.

Setelah tahap *blastoderm*, promotor Sxl akhir mulai berfungsi pada kedua jenis kelamin, dan produksi transkrip Sxl akhir tetap ada sepanjang sisa perkembangan dan kehidupan dewasa. Transkrip jantan berbeda dari betina dengan dimasukkannya *exon* khusus pria yang menempatkan *kodon* stop

dalam kerangka pembacaan terbuka mRNA dewasa. Ini menimbulkan protein Sxl yang terpotong dan tidak berfungsi. Pada betina, *exon* khusus jantan ini disambung/*splicing* dan protein Sxl fungsional diproduksi. Oleh karena itu, kontrol Sxl setelah tahap *blastoderm* dan selama perkembangan dan kehidupan dewasa terjadi dengan penyambungan/*splicing* transkrip spesifik jenis kelamin, sehingga protein Sxl fungsional hanya diproduksi pada betina (Gambar 4.2A). Fungsi autoregulasi Sxl terjadi pada tingkat penyambungan/*splicing*: protein Sxl berpartisipasi dalam penyambungan/*splicing* khusus betina dari transkrip primernya sendiri. *Splicing*/penyambungan khusus betina dari pra-mRNA *late* Sxl membutuhkan, selain protein Sxl, fungsi gen lain, seperti *sans fille* (*snf*). Gen-gen ini, bagaimanapun, tidak berperan dalam pola penyambungan transkrip *aerly* Sxl.

Sxl mengontrol penyambungan pra-mRNA dari hilir gen *tra*. Gen ini ditranskripsi pada kedua jenis kelamin, tetapi RNA-nya mengikuti jalur penyambungan alternatif (Gambar 4.2B). *Tra* pra-mRNA memiliki dua situs sambungan 3' alternatif; yang satu khusus betina dan yang lainnya khusus non-jenis kelamin. Ketika yang terakhir digunakan, transkrip non-seks-spesifik dihasilkan membawa *kodon* stop translasi dalam kerangka pembacaan terbuka, yang mengarah ke produksi protein *Tra* non-fungsional yang terpotong. Pada betina, sekitar setengah dari *tra* pra-mRNA disambung secara berbeda, situs sambungan 3' khusus betina digunakan karena intervensi protein Sxl. Akibatnya, peregangan yang mengandung *kodon* terminasi tidak termasuk dalam transkrip matang dan sintesis protein *Tra* panjang penuh terjadi. Gen *fl(2)d*

juga diperlukan untuk penyambungan *tra* pra-mRNA khusus betina. Analisis genetik telah mengesampingkan peran langsung *snf* dalam penyambungan *tra* premRNA. Produk *tra* dan produk dari gen *konstitutif tra-2* mengontrol penyambungan pra-mRNA spesifik jenis kelamin dari gen *Doublesex (dsx)*. Gen ini berada di bagian bawah kaskade penentuan jenis kelamin dan ditranskripsi pada kedua jenis kelamin, tetapi memunculkan dua protein yang berbeda *DsxF* pada betina dan *DsxM* pada jantan. Kedua protein *Dsx* ini adalah faktor transkripsi yang mengontrol aktivitas gen target akhir yang terlibat dalam diferensiasi seksual. Kedua protein berbagi domain N-terminal, yang berisi domain pengikat DNA (domain DM). Namun, mereka berbeda dalam domain terminal-C mereka, yang memberikan protein ini dengan fungsi spesifiknya.

Protein yang akhirnya diproduksi bergantung pada hasil penyambungan spesifik jenis kelamin dari transkrip primer (Gambar 4.2C). Penyambungan khusus jantan mewakili mode *default*. Penggabungan *exon* khusus wanita alih-alih *exon* khusus pria disebabkan oleh aktivasi situs akseptor sambatan khusus wanita yang lemah. Aktivasi ini diberikan oleh pengikatan kompleks *Tra-Tra2* ke urutan berulang 13-nukleotida (*DsxRE*), ditambah pengikatan anggota spesifik dari keluarga SR - RBP1 - ke pengulangan, dan akhirnya pengikatan *dSF2/ASF* ke elemen kaya purin (PRE) di *exon* khusus wanita. Hal ini memungkinkan situs sambungan 3' spesifik wanita yang lemah untuk dikenali dan digunakan oleh “mesin” penyambung.

Produk *Tra* dan produk dari gen *konstitutif tra-2* juga mengontrol penyambungan pra-mRNA spesifik jenis kelamin dari

gen yang tidak berbuah (buah) (Gambar 4.2D). Gen ini, serta *dsx*, terlibat dalam perkembangan seksual jantan dari sistem saraf pusat (SSP) yang diperlukan untuk perilaku pacaran jantan. Ini adalah gen kompleks, ditranskripsi pada kedua jenis kelamin, dengan empat promotor (P1-P4), yang menghasilkan berbagai jenis mRNA dengan penyambungan alternatif dari transkrip primer. MRNA ini menyandikan protein *Fru* berbeda yang berbeda pada domain C-terminalnya. Protein *Fru* memiliki domain BTB di N-terminusnya dan, dengan pengecualian beberapa varian, dua Motif Zn-finger di C-terminus mereka. Protein *FruM* khusus jantan dihasilkan dari transkrip primer yang disambung khusus jenis kelamin dari promotor P1. Pada betina, kompleks *Tra-Tra2* mengontrol *splicing* spesifik jenis kelamin dari transkrip P1-primer: pengikatan kompleks ini ke situs target mereka di *exon* khusus betina mempromosikan inklusi ke dalam mRNA matang. *Exon* ini mengandung *kodon* penghentian translasi sehingga pada betina tidak ada protein *FruM* yang diproduksi. Pada pria, di mana tidak ada protein *Tra* yang tersedia, *exon* khusus wanita disambungkan.

Promotor P2-P4 berfungsi dalam jaringan saraf dan non-saraf dari tahap embrio dan mengkodekan protein *Fru* yang mengerahkan fungsi vital pada kedua jenis kelamin. Fungsi promotor P1 terbatas pada ~2% neuron di SSP, di berbagai wilayah otak dan ganglia ventral, mulai dari larva *instar* ketiga dan seterusnya. Untuk hal ini, perlu disebutkan bahwa perilaku seksual jantan *Drosophila* diprogram secara *ireversibel* selama periode kritis yang berlangsung dari sesaat sebelum pembentukan *puparium* hingga metamorfosis awal Perilaku seksual, bagaimana

pun, tidak ditinjau di sini. Gen *interseks (ix)* ditranskripsi pada kedua jenis kelamin. Pre-mRNA nya tidak mengikuti penyambungan spesifik jenis kelamin, menunjukkan bahwa protein *Ix* ada pada kedua jenis kelamin. *Ix* berinteraksi dengan *DsxF* tetapi tidak dengan *DsxM*.

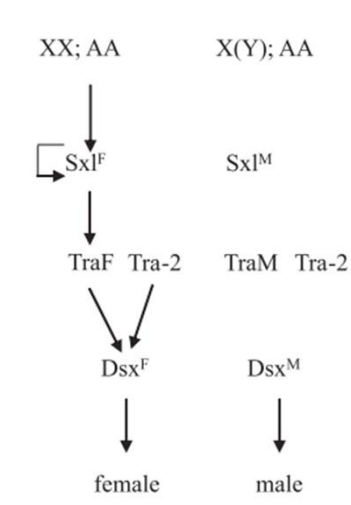
Gen *interseks (ix)* ditranskripsi pada kedua jenis kelamin. PremRNA-nya tidak mengikuti penyambungan spesifik jenis kelamin, menunjukkan bahwa protein *Ix* ada pada kedua jenis kelamin. *Ix* berinteraksi dengan *DsxF* tetapi tidak dengan *DsxM*, menunjukkan bahwa *Ix* dan *DsxF* membentuk kompleks untuk mengontrol diferensiasi terminal betina. Gen hermafrodit (nya) memiliki fungsi ganda. Ekspresi materialnya diperlukan untuk aktivasi *Sxl awal*, meskipun ekspresi *Zygotiknya* diperlukan untuk diferensiasi terminal betina dan beberapa aspek diferensiasi terminal jantan (Pultz dan Baker, 1995; Li dan Baker, 1998).

#### **D. Mekanisme Penentuan Jenis Kelamin**

Kaskade penentuan jenis kelamin pada *D. melanogaster* dapat dilihat pada Gambar 3. Dari Gambar 3 diketahui bahwa protein *Dsx* menunjukkan tingkat konservasi yang tinggi, menunjukkan adanya seleksi pemurnian yang kuat yang bekerja pada *dsx* untuk melestarikan mekanisme kerja protein *Dsx*. Ini lebih lanjut menunjukkan fungsi penting yang dimiliki *dsx* dalam mengendalikan perkembangan seksual pada *Drosophila*. Tingkat konservasi protein *Dsx* kontras dengan tingkat variabilitas protein *Tra*. Ini menunjukkan tingkat divergensi evolusi yang luar biasa tinggi, namun motif RS (daerah protein dengan banyak di peptida

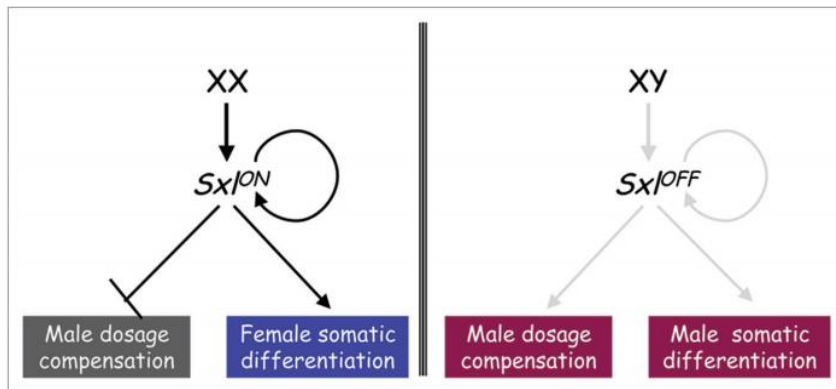
arginin-serin) dilestarikan. Tingkat variabilitas yang berbeda dalam protein *Dsx* dan *Tra* mungkin disebabkan oleh persyaratan struktural protein *Tra* yang kurang dibatasi sehubungan dengan kemampuan untuk menjalankan fungsinya. Domain RS tampaknya menjadi bagian fungsional utama dari protein *Tra*, dan kehadiran hanya 10 - 20% di peptida RS dalam protein *Tra* tampaknya cukup untuk memberikan fungsionalitas. Oleh karena itu, protein *Tra* mungkin mengalami tingkat evolusi netral yang tinggi setiap kali mereka mempertahankan tingkat di peptida RS yang sesuai.

Perbandingan protein *Sxl* spesies diptera telah menunjukkan dua domain pengikat RNA (RBD) mereka sangat terkonservasi, sedangkan domain N- dan C-terminal menunjukkan variasi yang signifikan. Sebagian besar perubahan nukleotida dalam RBD tampaknya identik, menunjukkan bahwa seleksi pemurnian bekerja pada mereka (Serna et al., 2004). Hasil ini mendukung anggapan bahwa modifikasi utama yang menginvestasikan protein *Drosophila Sxl* dengan spesifisitas fungsionalnya terletak di domain terminalnya, di luar domain pengikat RNA yang terkonservasi dengan baik (Meise et al., 1998 ; Saccone et al., 1998; Serna et al., 2004).



**Gambar 4.3.** Kaskade gen penentu jenis kelamin pada *Drosophila* (Meise et al., 1998).

Salah satu keputusan terpenting dalam perkembangan adalah apakah menjadi jantan atau betina. Pada *Drosophila melanogaster*, kebanyakan sel membuat pilihan ini terlepas dari tetangganya sehingga sel diploid dengan satu kromosom X (XY) adalah jantan dan mereka yang memiliki dua Kromosom X (XX) adalah betina. Jumlah Kromosom X diekspresikan melalui protein pengatur yang bertindak bersama untuk mengaktifkan *Sex-lethal* (Sxl) pada hewan XX. Gen SXL-spesifik betina yang dihasilkan protein pengikat RNA memodulasi ekspresi satu set gen hilir, yang pada akhirnya mengarah ke struktur dimorfik seksual dan perilaku. Terlepas dari kesederhanaan yang tampak dari mekanisme ini, Aktivitas gen Sxl dikendalikan oleh sejumlah mekanisme transkripsi dan pasca transkripsi yang menyesuaikan fungsinya dengan skenario perkembangan tertentu.



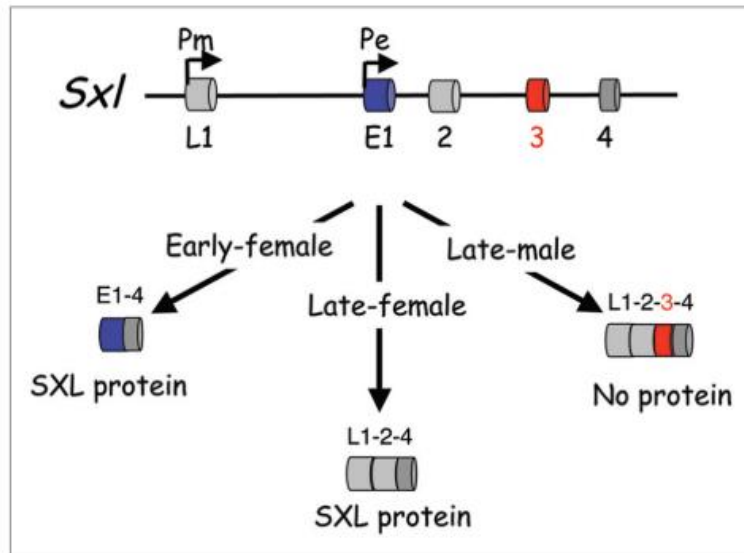
**Gambar 4.4.** Sxl adalah saklar genetik yang dimorfik secara seksual. Sxl diekspresikan dalam XX tetapi tidak pada hewan XY. Setelah diekspresikan, loop umpan balik autoregulasi memastikan ekspresi yang berkelanjutan sepanjang sisa pengembangan. Ada atau tidaknya Sxl memodulasi ekspresi sekumpulan gen hilir yang produknya diperlukan untuk pengendalian penentuan jenis kelamin somatik/perilaku seksual dan kompensasi dosis (Salz and Erickson, 2010).

Pengamatan bahwa determinasi seks pada *Drosophila* berada di bawah kendali genetik dilaporkan 90 tahun yang lalu. Dalam studi ini, Calvin Bridges mengamati bahwa pada sel diploid jenis kelamin ditentukan oleh jumlah kromosom X dan kromosom Y tidak berperan di dalam proses ini. Kita sekarang tahu bahwa gen Sxl adalah saklar betina atau jantan penentu jenis kelamin lalat (Gambar. 4.4). Pada hewan XX, Sxl aktif dan ekspresinya mengarahkan semua aspek perkembangan betina. Ekspresi gen Sxl pada betina juga mencegah aktivasi sistem kompensasi dosis khusus jantan. Pada hewan XY, Sxl tetap tidak aktif, kompensasi dosis diaktifkan, dan perkembangan jantan terjadi. Berdasarkan hal di atas sebuah kaskade regulasi yang mencakup kompensasi dosis, hilangnya fungsi Sxl pada hewan XX menghasilkan kematian khusus pada betina, dan ekspresi Sxl yang tidak tepat pada hewan XY mengarah ke spesifik kematian pada jantan.

## 1. Gen Sxl: Dua Promotor, Penyambungan Alternatif, dan Beberapa Situs Poliadenilasi Menghasilkan Produk Spesifik-Jenis Kelamin.

Rilis FlyBase 5.4 data base tentang *Drosophila* menunjukkan bahwa Sxl mengkodekan 21 produk transkripsi yang berbeda (Tweedie et al., 2009). Berdasarkan studi Samuels et al. (1991), 21 produk Sxl ini dapat dibagi menjadi tiga kelompok: yaitu *late female-specific*, *late male-specific* dan *early female-specific* (Gambar 4.5).

*Late female-specific* dan *male-specific mRNAs* diekspresikan dari “*maintenance*” promoter, SxlPm, dari stadium seluler *blastoderm* tahapan menuju dewasa. Meskipun transkripsi ini semuanya memiliki pola umum umum 5' *exon* (*exon* L1), mereka disambung khusus untuk jenis kelamin menghasilkan mRNA dengan potensi pengkodean yang berbeda. Pada jantan, semua transkrip termasuk *exon* ketiga yang mengakhiri terjemahan dan menyandikan protein terpotong dan tidak aktif. Pada betina, *exon* ketiga adalah selalu dilewati untuk menghasilkan mRNA pengkodean protein. Tambahan perbedaan struktural muncul dari penyambungan internal alternatif, dan Variasi ujung 3', termasuk *exon* terminal tambahan atau alternatif dan/atau poliadenilasi alternatif. Varian struktural ini yang dilestarikan secara evolusioner, menyandikan protein yang sedikit berbeda. Protein dengan bentuk dan fungsi tertentu ini secara kolektif disebut sebagai protein SXL.



**Gambar 4.5.** Struktur & produk gen *Sxl*. Skema yang mengilustrasikan bagian dari 11 *exon* ~20 kb gen *Sxl* yang memunculkan tiga kelas utama transkrip spesifik jenis kelamin melalui penggunaan diferensial dari dua promotor dan *splicing* alternatif. *Exon* khusus embrio (E1) berwarna biru. *Exon* ketiga khusus jantan yang mengakhiri terjemahan berwarna merah. *Exon* lainnya berwarna abu-abu. Mekanisme yang mendorong penyambungan pre-mrNA *SxlPe* sehingga *exon E1* bergabung langsung ke *exon 4* tidak dipahami (Zhu et al., 1997).

MRNA *early female-specific Sxl* bersifat sementara diekspresikan dalam embrio *praselular* dari promotor ke-2, yaitu promotor "pendirian/*establishment*" *SxlPe*. Seperti *late mRNAs*, berbagai macam *early RNA* berbeda satu sama lain pada variasi pada ujung 3' mereka, sementara memiliki *exon 5'* yang sama (*exon E1*) yang bergabung langsung ke *exon 4* melalui lompatan *exon 2* dan *3*. Dengan demikian, *early mRNA* menyandikan protein *Sxl* yang sama dengan *late female-specific products*, selain dari perbedaan 25 asam amino di terminal N mereka. Apakah domain N-terminal ini menganugerahkan properti unik untuk bentuk SXL yang diekspresikan sementara

ini tidak diketahui. Semua fungsi biologis SXL diyakini sebagai hasil dari kemampuannya untuk mengenali dan secara selektif mengikat RNA targetnya. SXL berisi dua domain pengikat RNA tipe RRM yang sangat terkonservasi pada intinya (Clery et al., 2008).

Analisis *in vitro* menggunakan SELEX menunjukkan bahwa SXL secara istimewa berikatan dengan target dengan regangan poli (U) panjang yang diinterupsi oleh *guanosin* (Singh, 1995). Yang menarik adalah susunan gennya yang relatif umum yaitu UUU UGU U(G/U) U(G/U) UUU (G/U)UU, dengan ribuan salinan teridentifikasi dalam genom (Robida et al, 2007). Mengingat jumlah pengikatan tampaknya tidak mungkin bahwa satu urutan pengikatan konsensus cukup untuk perekrutan SXL yang spesifik, efisien dan/atau fungsional untuk targetnya. Lalu bagaimana *spesifisitas* dicapai? Analisis nilai biologis target target SXL, yang dijelaskan di bagian berikut, menunjukkan bahwa:

- a. Ketika situs pengikatan SXL dipindahkan, mereka gagal berfungsi efisien di lokasi endogennya;
- b. Situs pengikatan SXL jarang ditemukan sendiri: beberapa situs dapat dikelompokkan bersama dan di lokasi yang jauh; dan
- c. SXL tidak bekerja sendiri: Fungsi SXL bergantung pada interaksi silang atau komunikasi antar protein yang terikat pada tempat yang berbeda. Bersama-sama, pengamatan ini menunjukkan bahwa selain aktivitas pengikatan RNA-nya, SXL memerlukan interaksi protein-protein untuk mencapai

pengikatan selektif dan spesifik pada RNA targetnya. Namun demikian, karakteristik yang menentukan dari kluster target SXL yang relevan secara biologis tetap tidak jelas dan sebagai konsekuensinya, tugas untuk mengidentifikasi target otentik dari *sekuens genomik* saja penuh dengan kesulitan.

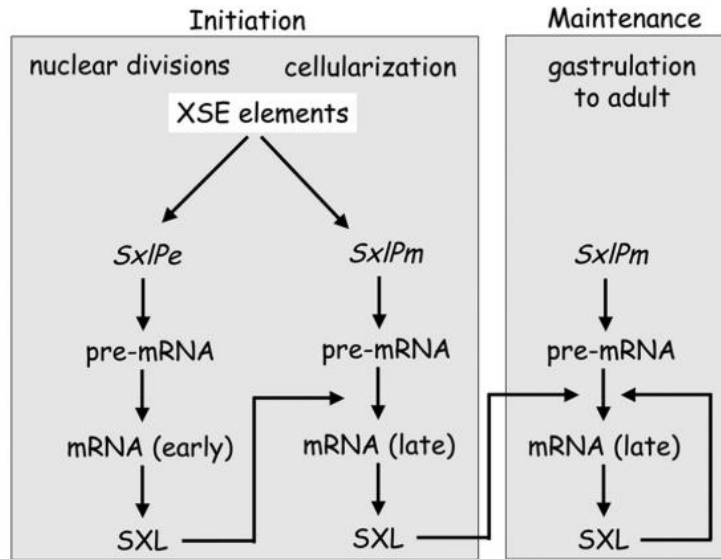
## 2. Pengaktifan Sxl pada Embriogenesis Awal: Counting-Kromosom X dan Pilihan Promotor

Regulasi Sxl dalam sel somatik dapat dibagi menjadi dua fase: inisiasi, dan pemeliharaan (Gambar 4.6). Inisiasi merupakan respons transkripsi oleh *SxlPe* terhadap dosis kromosom X. Peluang untuk inisiasi adalah periode singkat yang berakhir pada tahap *blastoderm* seluler, ketika promotor *SxlPe* ditutup dan Sxl mulai ditranskripsi dari *SxlPm*. Pemeliharaan bergantung pada kontrol penyambungan *autoregulasi* positif dari transkrip "late" yang dihasilkan dari *SxlPm*. Setelah kontrol *splicing* dibuat, Sxl dikunci ke mode ON untuk mengingatkan masa hidup lalat.

### a. Aktivasi transkripsi pada embrio XX.

Keputusan apakah akan mengaktifkan Sxl atau tidak tergantung pada tingkat ekspresi empat protein yang dikodekan X, yang secara kolektif disebut elemen sinyal terkait-X (XSE). Keempat protein ini, yang dikodekan oleh *scute*, *sisA*, *runt*, *unpaired* berfungsi sebagai penentu utama dosis X (Sefton et al., 2000). XSE *Scute* mengkodekan faktor transkripsi kelas *bHLH* ketika terikat pada mitra *heterodimeriknya*, *Daughterless (Da)*, secara langsung mengaktifkan *SxlPe*. Gen *sisA* dan *runt*, yang menyandikan

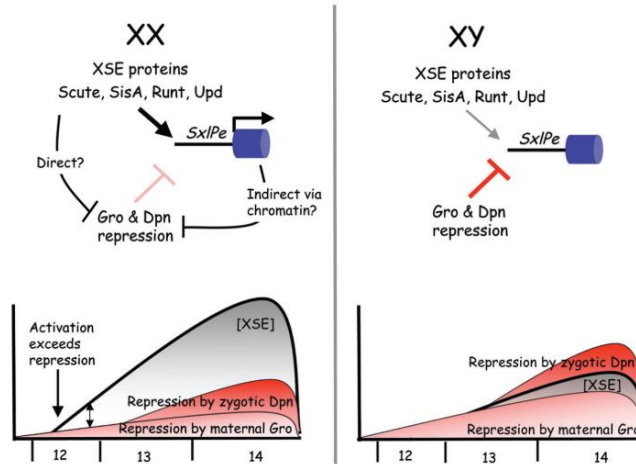
anggota keluarga *bZIP* dan *Runx*, juga diduga mengikat dan mengaktifkan *SxlPe* sebagai *heterodimer*, meskipun pasangan seksnya belum teridentifikasi (Erickson et al., 1993). *XSE* tidak berpasangan mengkodekan ligan pengaktif untuk jalur *Jak-Stat* dan memberikan efeknya pada *SxlPe* melalui pengaktifan faktor transkripsi Stat92E yang disuplai secara maternal (Avila et al., 2007). Pertimbangan dari kinetika akumulasi produk *XSE* dan waktu ekspresi *SxlPe* menunjukkan bahwa *Pe* merespons langsung ke konsentrasi ambang batas protein *XSE*. Ambang *XSE* pertama kali dicapai pada betina selama siklus syncytial 12 dan kemudian dilampaui atau dipertahankan selama sekitar 30-40 menit sampai *SxlPe* mati di awal siklus 14 (Avila et al., 2007). Hal ini menyebabkan ledakan singkat mRNA *Sxl early* (*exon E1* hingga 4 bentuk splice) dan protein SXL. Pada jantan, protein *XSE* tidak pernah melebihi ambang batas dan *Pe* tetap tidak aktif (Keyes et al, 1992).



**Gambar 4.6.** Tinjauan pengaturan yang menjamin ekspresi protein Sxl pada hewan XX. Selama fase inisiasi, yang terjadi selama blastoderm syncytial, transkripsi *SxlPe* diaktifkan sebagai respons terhadap dua produk *XSE* senilai dua kromosom X. Protein Sxl yang dihasilkan dari transkrip *SxlPe* mengarahkan penyambungan rRNA yang baru ditranskripsi dari promotor *SxlPm*. Selama fase pemeliharaan, setelah *SxlPe* dimatikan dan *SxlPm* diekspresikan baik pada pria maupun wanita, autoregulatory *splicing* loop mengubah keputusan untuk mengaktifkan Sxl menjadi komitmen yang tidak dapat diubah (Keyes et al, 1992).

Pertanyaan sentral sehubungan dengan inisiasi determinasi seks adalah bagaimana *SxlPe* dengan andal membedakan antara satu kromosom X dan dua. Agaknya, beberapa bentuk amplifikasi sinyal mengubah perbedaan dua kali lipat betina/jantan dalam konsentrasi protein *XSE* menjadi merespons semua atau tidak sama sekali *SxlPe*. Pekerjaan terbaru telah mengidentifikasi *corepressor Groucho* (Gro) sebagai mediator kunci dari amplifikasi sinyal *XSE* karena ketika *gro* maternal bermutasi, atau ketika tidak dapat direkrut ke DNA Sxl, *SxlPe* diekspresikan pada kedua jenis kelamin dalam proporsi langsung dengan dosis

XSE (Lu et al., 2008). Dengan kata lain, ketika *Gro* maternal tidak ada, atau tidak dapat diasosiasikan dengan *SxlPe*, tidak ada amplifikasi sinyal XSE.



**Gambar 4.7.** Model respons ambang batas. *Korepresor Gro* yang diberikan secara maternal menetapkan ambang awal untuk mengukur dosis elemen XSe. pada embrio XX, tingkat protein XSe melebihi ambang batas ini pada siklus 12. Setelah transkripsi *SxlPe* dimulai, represi diredam untuk memungkinkan protein XSE merangsang transkripsi *SxlPe* secara lebih efisien selama siklus 13 dan 14. Hal ini dapat terjadi secara langsung, jika aktivitas *Gro* dimusuhi oleh XSe, atau secara tidak langsung, jika pengikatan *Gro* berkurang dalam menghadapi perubahan yang diinduksi transkripsi dalam arsitektur kromatin. pada embrio XY, represi yang dimediasi-*gro* cukup untuk membuat *SxlPe* diam di hadapan kadar XY dari protein XSe hingga siklus 13. Setelah itu, ekspresi *Dpn* zgotik, dikombinasikan dengan *Gro*, meningkatkan ambang batas, dengan demikian memastikan bahwa *SxlPe* akan tetap diam melalui *blastoderm* seluler (Lu et al., 2008).

Bagaimana *Gro* memperkuat sinyal XSE dan memastikan pengoperasian yang tepat dari sakelar *SxlPe* ?. *Gro* tidak memiliki aktivitas pengikatan DNA tetapi berfungsi melalui interaksi dengan berbagai protein pengikat DNA termasuk *Deadpan (Dpn)*, regulator negatif *SxlPe* lainnya yang diketahui (Younger-Shepherd et al., 1992).

Lu et al. (2008) menyatakan amplifikasi terjadi karena aksi protein XSE mengganggu represi yang dimediasi *Gro* pada XX, tetapi tidak pada embrio XY (Gambar 4.7). Fitur utama dari model ini adalah

- 1) embrio XX mengakumulasi cukup protein XSE pada siklus 12 untuk mengatasi represi yang dimediasi *Gro* dan mengaktifkan *SxlPe*, sedangkan embrio XY tidak.
- 2) setelah *SxlPe* aktif, XSEs terus melawan represi yang dimediasi *Gro* untuk merangsang transkripsi tingkat yang lebih tinggi dari *SxlPe* memastikan SXL yang cukup hadir untuk memodulasi peralihan berikutnya ke kontrol pemeliharaan. Ini dapat terjadi secara langsung, jika XSE memusuhi fungsi *Gro*; atau secara tidak langsung, melalui perubahan terkait transkripsi dalam struktur kromatin yang mengurangi kemampuan *Gro* untuk berasosiasi dengan *SxlPe*.
- 3) meskipun protein XSE terus terakumulasi selama siklus 13 dan 14, *SxlPe* tetap diam dalam embrio XY karena represi yang dimediasi *Gro* ditambah dengan ekspresi represor *Dpn Zygotic*. Dalam proses ini, *Dpn* berfungsi untuk membuat sistem ini "anti bocor" dengan menyesuaikan ambang aktivasi *SxlPe* ke atas sehingga mengkompensasi protein XSE yang terakumulasi selama siklus selanjutnya. Efek bersih dari antagonisme spesifik jenis kelamin dari represi yang dimediasi *Gro* adalah bahwa perbedaan dua kali lipat dalam dosis XSE diubah

menjadi respons semua atau tidak sama sekali yang kuat pada *SxlPe*.

**b. Model rasio X:A sudah tidak berlaku, model long live X-counting.**

Penentuan jenis kelamin berdasarkan rasio X:A pertama kali muncul tahun 1920-an adalah bahwa rasio X:A adalah nilai kromosom X untuk rasio autosom yang menandakan seks. Hipotesis X:A tidak sesuai dengan pemahaman molekuler saat ini tentang regulasi *Sxl*. Gagasan bahwa rasio X:A daripada jumlah kromosom X menandakan seks berasal dari eksperimen klasik Calvin Bridges yang menunjukkan bahwa hewan dengan dua kromosom X dan tiga set autosom (XX;AAA - rasio 0,67) berkembang sebagai *interseks* daripada betina, dan bahwa sel haploid (X;A - rasio 1) berkembang sebagai betina daripada jantan.

Secara istilah molekuler, apa yang membedakan model rasio X:A dari skema penghitungan kromosom X adalah prediksi bahwa aktivitas *XSEs* diukur dengan latar belakang faktor-faktor yang bekerja secara *Zygotic*, dikodekan secara autosom, yang memusuhi fungsi *XSE*. Namun, hanya satu elemen autosomal yang dapat diidentifikasi secara genetik, lokus *Dpn* yang relatif lemah dan bekerja lambat, tampaknya ada (Wrischnik et al., 2007). Banyak faktor secara maternal yang berpartisipasi dalam regulasi *Sxl* telah diidentifikasi, menunjukkan bahwa komponen maternal, daripada elemen autosomal, dapat menjadi referensi utama untuk menilai dosis *XSE* (Barbash

and Cline, 1995). Jadi, maternal *gro* adalah faktor kunci dalam amplifikasi sinyal.

Terlepas dari keraguan ini, model rasio X:A bertahan sebagian, karena memberikan penjelasan mengapa sel haploid berkembang sebagai betina dan hewan *triploid* XX;AAA berkembang sebagai mosaik seksual, temuan tampaknya bertentangan dengan model penghitungan X sederhana. Pemeriksaan molekuler baru-baru ini dari dinamika aktivasi *Sxl*, bagaimanapun, menunjukkan bahwa seks dalam haploid dan *triploid* sepenuhnya konsisten dengan pemahaman molekuler tentang aktivasi *SxlPe* dan ketergantungannya pada pencapaian konsentrasi ambang produk gen *XSE* (Erickson and Quintero, 2007). Kuncinya di sini adalah bahwa jendela peluang intensitas untuk aktivasi *SxlPe* terbatas dan berakhir tiba-tiba di *blastoderm*. Pada haploid, pembentukan *blastoderm* seluler tertunda oleh satu siklus pembelahan sel dan terjadi selama siklus inti 15. Menindaklanjuti pengamatan ini, Erickson and Quintero (2007) menemukan bahwa *SxlPe* diaktifkan dalam embrio haploid karena pembelahan inti tambahan ini hanya cukup waktu untuk memungkinkan pembentukan produk *XSE* mencapai tingkat yang sama seperti pada sel XX sebelum *selulerisasi* dan penghentian *SxlPe* secara permanen. Secara timbal balik, fenotipe mosaik seksual *triploid* XX;AAA ditemukan disebabkan, setidaknya sebagian, oleh onset dini *selulerisasi*, selama siklus 13, yang membuat proses penghitungan X berhenti sebelum cukup.

SXL diproduksi untuk memastikan bahwa semua sel dapat berhasil melakukan *splicing autoregulatory*.

Bersama-sama, data ini menunjukkan bahwa jenis kelamin tidak ditetapkan secara statis evaluasi rasio X:A, melainkan ketika konsentrasi ambang produk gen *XSE* telah tercapai selama waktu singkat antara awal transkripsi *Zygotic* dan awal *selulerisasi*. Pembentukan *blastoderm* seluler menandai penyelesaian transisi maternal ke *Zygotic*, serangkaian peristiwa pemrograman ulang yang mengarah pada penghapusan banyak transkrip dan protein, dan aktivasi sebagian besar genom *Zygotic* (Tadros and Lipshitz, 2009). Jadi tidak mengherankan jika mesinery yang mengontrol waktu transisi maternal ke *Zygotic* juga mengontrol waktu penghentian *SxlPe*.

### 3. *Connting-X* Lanjutan: Aktivasi *SxlPm* dan Transisi ke Kontrol *Splicing*

Meskipun *SxlPe* jelas merupakan fokus utama dari sistem penghitungan X, itu bukan satu-satunya targetnya, karena promotor “pemeliharaan” *SxlPm* juga diatur oleh dosis kromosom X (Gonzalez et al., 2008). Sebagian besar masa hidup, dimulai sebelum gastrulasi, dan berlangsung sampai dewasa, *SxlPm* tampaknya diekspresikan dalam semua sel somatik dari kedua jenis kelamin. Pandangan bahwa *SxlPm* adalah promotor “*housekeeping*” yang membuat temuan bahwa *SxlPm* diaktifkan lebih awal, dan awalnya diekspresikan lebih kuat pada betina daripada jantan. Omset awal pada betina, yang menyebabkan aktivasi *SxlPm* untuk tumpang tindih dengan

*SxlPe* pada awal siklus 14, dikendalikan sebagian oleh elemen *XSE*, yang dikodekan oleh gen *scute* dan *runt* (serta protein *da* yang disediakan secara maternal) yang bekerja melalui penambah yang sama untuk kedua promotor. Hebatnya, respons perbedaan jenis kelamin ini, yang dimulai dengan keterlambatan 10-15 menit, dan periode ekspresi *SxlPm* yang lebih rendah pada jantan.

Mengapa perbedaan peraturan yang begitu halus antara jantan dan betina dilestarikan?. Untuk betina, tumpang tindih antara *SxlPe* dan *SxlPm* masuk akal. Ini akan memastikan bahwa jumlah yang cukup dari *SXL* dan substrat pra-mRNA hadir bersama untuk secara efisien melibatkan kontrol penyambungan. Dalam konteks ini, penting untuk dicatat bahwa meskipun kadang-kadang ada kecenderungan untuk melihat reaksi *splicing autoregulatory* *Sxl* sebagai hampir sangat sensitif, keterlibatan yang stabil kemungkinan membutuhkan sejumlah besar *SXL* (Louis et al., 2003). Namun, untuk jantan, sepertinya tidak perlu juga untuk menunda pengaktifan *SxlPm*, atau mengungkapkannya di tingkat yang lebih rendah, karena kegagalan mereka untuk mengaktifkan *SxlPe* akan membuat masalah ini diperdebatkan. Jawabannya mungkin sistem yang secara aktif memfasilitasi transisi dari penilaian sinyal seks ke pengaturan pemeliharaan dalam sel XX, juga harus bekerja untuk mencegah kesalahan dalam sel XY. Misalnya, bahkan jika fluktuasi acak pada level *XSE* menyebabkan aktivasi *SxlPe*, *SXL* yang diekspresikan secara keliru akan dicabut dari substrat pra-mRNA, dan *loop splicing* tidak akan diaktifkan.

#### 4. Pemeliharaan Sxl ON: Autoregulasi *Splicing Loop*

Selama fase pemeliharaan, Sxl mengubah sinyal dosis kromosom X sementara menjadi memori seluler jangka panjang dengan mengatur ekspresinya sendiri pada tingkat penyambungan. Tanpa Protein Sxl, seperti pada embrio XY, transkrip yang diekspresikan dari promotor *SxlPm* tidak berfungsi karena mengandung *exon* ketiga yang mengakhiri terjemahan. Pada embrio XX, keberadaan protein Sxl memaksa *exon* ketiga, khusus pada jantan dilewati, sehingga hanya menghasilkan mRNA menyandi protein. Keterlibatan dari mekanisme penyambungan *autoregulasi* ini mengubah keputusan nasib-seks yang dibuat lebih awal. Bagaimana SXL mempromosikan melewati *exon* Sxl jantan ?. Studi *in vivo*, menggunakan reporter transgenik yang berisi seluruh wilayah *exon* 2-3-4, telah mengungkapkan bahwa regulasi *splicing* yang dimediasi SXL bergantung terutama pada situs pengikatan yang terletak >200 nukleotida di hilir, dan >200 nukleotida di hulu *exon* jantan (Younger-Shepherd et al., 1993). Meskipun pengenalan situs pengikatan yang tepat oleh SXL sangat penting untuk melewati *exon*, SXL tidak bertindak sendiri.

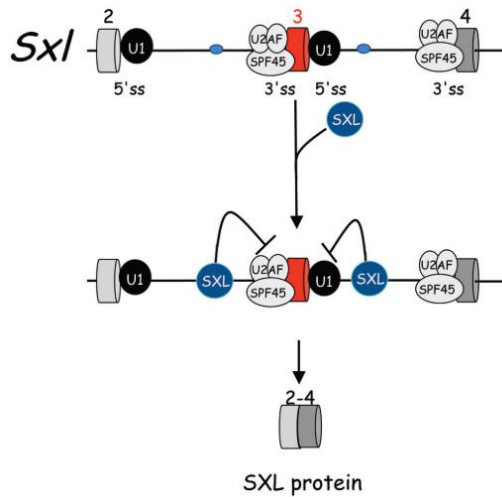
Tabel 4.1. Protein inti spliceosomal diperlukan untuk melewati Sxl male-*exon Drosophila* (Salz and Erickson, 2010).

Nama Gen <i>Drosophila</i>	Nama Protein Manusia	Peranan
<i>sans-fille (snf)</i>	UIA/U2B	Komponen UI snRNP&U2 snRNP
<i>UI-70K</i>	UI-70K	Komponen UI snRNP

Nama Gen <i>Drosophila</i>	Nama Protein Manusia	Peranan
<i>SPF-45</i>	SPF-45	<i>3'splice site recognition &amp; recruitment of U2 snRNP</i>
<i>U2AF-50</i>	U2AF-65	<i>3'splice site recognition &amp; recruitment of U2 snRNP</i>
<i>U2AF-38</i>	U2AF-35	<i>3'splice site recognition &amp; recruitment of U2 snRNP</i>
<i>fi(2)d</i>	WTAP	Tidak diketahui/ditemukan dalam <i>spliceosom</i> yang terpurifikasi
<i>Virilizer (vir)</i>	fSAPi21	Tidak diketahui/ditemukan dalam <i>spliceosom</i> yang terpurifikasi

Model ini didukung oleh studi genetik dan biokimia, menunjukkan bahwa SXL berinteraksi dengan dan memusuhi fungsi beberapa faktor penyambungan umum (Tabel 1). Sebuah versi dari model ini pertama kali disarankan oleh studi genetik di mana Sansfille (SNF), sebuah komponen protein dari snRNPs U1 dan U2, terbukti penting untuk autoregulasi splicing Sxl. Hubungan antara snRNP U1 dan SXL sangat penting untuk autoregulasi dengan menunjukkan bahwa SXL membentuk kompleks yang stabil dengan komponen snRNP U1 integral, SNF dan U1-70K, dan dengan menunjukkan bahwa hilangnya U1-70K, atau SNF, mengganggu regulasi splicing Sxl secara *in vivo*. Menariknya, ketika analisis CHIP digunakan untuk memvisualisasikan rekrutmen kotranskripsi SXL dan SNF sepanjang gen Sxl pada embrio betina, ditemukan bahwa SXL tidak mengganggu pengendapan snRNP U1 di situs sambungan

exon 5' jantan. Data ini, menunjukkan bahwa SXL memerlukan interaksi dengan beberapa faktor penyambungan umum lainnya, termasuk heterodimer U2AF dan SPF45 (Wahl et al, 2009), mendukung model SXL memblokir penyambungan dengan berinteraksi dengan faktor penyambungan umum yang terikat ke situs penyambungan asli mereka (Gambar 4.7).



**Gambar 4.7.** Autoregulasi penyambungan Sxl melalui loncatan *exon* yang dimediasi SXL. pada jantan dan betina, *spliceosome* mulai berkumpul pada *exon* spesifik pria 3 (merah), dengan pengikatan snRNP U1 ke situs *splice* 5' (ss) dan pengikatan protein U2AF/SPF45 di dekat 3' situs sambungan. pada betina, SXL memaksa *exon* 3 dilewati dengan mengikat urutan (oval biru) di *intron* mengagapit dan memusuhi fungsi faktor penyambungan umum, termasuk snRNP U1, kompleks U2AF, SPF45, FL(2)d (tidak ditampilkan) dan vir (tidak ditampilkan) (Younger-Shepherd et al., 1993).

Rakitan *spliceosome* dimulai dengan pengendapan snRNP U1 di lokasi sambungan 5' dan U2AF di dekat lokasi sambungan 3'. jadi SXL bisa perakitan blok segera, atau penyambungan dapat dilanjutkan, hanya terhenti kemudian di jalur. Menariknya, studi biokimia telah menunjukkan bahwa U1 snRNP, U2AF dan SPF45 hanya secara sementara dikaitkan dengan *spliceosome* yang tumbuh saat ia berkumpul pada

substrat penyambungan dan dilepaskan sebelum pembentukan kompleks B/C yang aktif secara katalistik (Herold et al., 2009). Dengan demikian kemungkinan SXL bertindak sebelum katalisis dimulai. Pangkalan 48 pasangan *sekuens* Sxl *intronik* yang termasuk dalam substrat ini berisi situs sambungan *exon* 3' jantan dan situs pengikatan SXL yang bersebelahan, yang studi sebelumnya telah terbukti dapat dibuang *in vivo*. Jadi, sementara studi ini jelas menunjukkan SXL mampu memblokir tanggal 2 langkah penyambungan, relevansi temuan ini dengan Sxl auto-regulasi tetap menjadi pertanyaan terbuka.

Studi genetik baru-baru ini menunjukkan bahwa ekspresi Sxl tunduk pada penguatan positif dari target hilirnya yaitu gen transformator (*tra*). *Tra* mengikat RNA dan adanya pasangan tandem dari situs pengikatan *tra* di *intron* hulu *exon* jantan adalah sugesti, terutama mengingat bahwa situs pengikatan konsensus *tra* hanya terjadi 42 kali dalam genom *Drosophila*. Studi biokimia harus mengklarifikasi bagaimana *tra* dapat menambah atau memperkuat keputusan untuk melewati *exon* 3 pada betina.

Protein lain baru-baru ini diidentifikasi sebagai bagian dari mesin diperlukan untuk melewati *exon* jantan adalah *Protein Partner of Sansfille* (*PPS*), protein *Drosophila* yang paling dekat hubungannya dengan protein pengikat *H3K4me3* histon ragi *BYE1*. Diidentifikasi sebagai protein yang berinteraksi dengan *U1 snRNP*, SXL dan *pra-mRNA* Sxl. *PPS* dimuat secara ko-transkripsi ke RNA di *SxlPm*. Meskipun menunjukkan hubungan antara regulasi Sxl dan struktur

kromatin, belum jelas apakah *PPS* memiliki aktivitas pengikatan kromatin dan jika demikian, apakah aktivitas ini diperlukan untuk perannya dalam mengatur penyambungan *Sxl*. Namun demikian, ada preseden untuk peran protein pengikat kromatin dalam penyambungan alternatif (Allemand et al., 2008). Dengan demikian orang dapat membayangkan bahwa *PPS* bertindak bersama mesin transkripsi untuk mempromosikan *male-exon skipping*. Misalnya, *PPS* dapat berfungsi sebagai protein penghubung untuk mempercepat perekrutan *SXL* ke transkrip yang baru terbentuk, atau mungkin memfasilitasi pembentukan interaksi *snRNP SXL/UI* yang menghambat.

## 5. Regulasi Gen *Sxl*

Sejumlah penelitian telah menetapkan bahwa perubahan moderat dalam stoikiometri protein pengikat RNA dapat berdampak besar pada spesifisitas target, oleh karena itu mungkin tidak mengherankan (dalam retrospeksi) untuk menemukan bahwa distribusi protein *Sxl* subseluler diatur dengan ketat. Kejutan datang ketika ditemukan bahwa di beberapa jaringan, seperti cakram sayap, distribusi nuklir/sitoplasma dikendalikan oleh jalur persinyalan *Hedgehog* (*Hh*) (Horabin et al., 2003). Karena redistribusi *SXL* dari sitoplasma ke nukleus cenderung menyebabkan perubahan ekspresi gen target *Sxl*, mekanisme ini dapat dimanfaatkan oleh sel untuk menghasilkan fitur spesifik jenis kelamin yang juga spesifik sel dan jaringan. Sebagai contoh, persimpangan dari dua jalur ini mungkin menyesuaikan dengan kendali *Hh* atas ukuran tubuh dan mengatur perbedaan ukuran antara jenis kelamin-

fenomena di bawah kendali Sxl, tetapi independen dari *tra* (Cline, 1984).

Akumulasi protein Sxl yang tidak terkontrol dapat bersifat letal pada betina. Hal ini menunjukkan bahwa mungkin ada mekanisme untuk membatasi kadar protein Sxl. Penelitian telah menunjukkan bahwa penghapusan satu set situs pengikatan Sxl di wilayah 3' yang tidak diterjemahkan (UTR) dari transkrip Sxl menghasilkan akumulasi protein yang berlebihan (Wang and Lin, 2007). Jadi, ada kemungkinan bahwa SXL meregulasi ekspresinya sendiri dengan mengintervensi terjemahan dengan cara yang hampir sama dengan meregulasi terjemahan *msl-2* secara negatif.

## 6. Gen Target Sxl: Imposing Perspektif Perkembangan

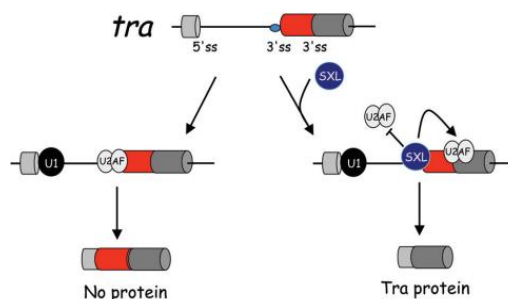
### Betina

Aktivitas Sxl mengatur perkembangan dan perilaku spesifik jenis kelamin dengan memodulasi ekspresi sekumpulan gen hilir, yaitu:

#### a. transformator (*tra*)

Umumnya aspek dari disfungsi dimorfisme seksual dan perilaku dikendalikan melalui kaskade peristiwa khusus jenis kelamin yang dimulai dengan SXL yang mengatur penyambungan transkrip *tra*. Sxl mengontrol produksi protein *tra* khusus betina dengan mengontrol penggunaan sepasang situs sambungan 3' alternatif di ujung *intron* pertama (Gambar 4.8). Jika SXL tidak ada, sambatan/*splice* proksimal selalu digunakan dan mRNA tanpa bingkai pembacaan terbuka yang panjang diproduksi. Jika SXL ada,

50% dari pra-mRNA diproses menggunakan situs sambatan 3' hilir sehingga menghasilkan mRNA pengkode protein. *Tra* pra-mRNA berisi situs pengikatan SXL tunggal yang terletak tepat di atas situs sambungan proksimal 3'. Studi biokimia menunjukkan bahwa SXL antagonis dalam penggunaan situs sambungan proksimal 3' dengan bersaing dengan subunit terbesar *U2AF*, *U2AF*, untuk berikatan ke situs pengikatan yang tumpang tindih dan saling eksklusif. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa mekanisme di mana SXL memusuhi penggunaan situs sambungan proksimal 3' mungkin lebih rumit daripada kompetisi sederhana dengan *U2AF*. Satu kemungkinan yang menarik, SXL mampu berasosiasi dengan kompleks *U2AF*, SXL pengalihan *U2AF*50 untuk mengikat dan mengaktifkan sambungan lokasi 3' hilir (Nagengast et al., 2009).



**Gambar 4.8.** Sxl mengontrol ekspresi *tra* dengan mengatur pemilihan lokasi sambungan 3'. dengan tidak adanya SXL, kompleks *U2AF* mengikat secara istimewa ke situs sambatan 3' proksimal (ss) dan mRNA non-coding diproduksi. Situs pengikatan SXL (oval biru) tumpang tindih dengan situs pengikatan *U2AF* proksimal. SXL keluar bersaing dengan *U2AF* untuk pengikatan ke situs ini, sehingga memungkinkan *U2AF* untuk mengikat situs sambungan 3' distal yang lebih lemah. Tanda panah menunjukkan bahwa SXL dapat mempromosikan pengikatan *U2AF* ke situs sambungan 3' alternatif ini. (Nagengast et al., 2009)

**b. *Male-specific-lethal-2 (msl-2).***

Pada betina, kompleks *msl* kompensasi dosis dibiarkan tidak dirakit karena SXL menekan produksi protein *msl-2*. Peran SXL dalam proses ini beragam. SXL berfungsi di dalam nukleus, di mana ia mencegah *intron* pertama, yang terletak di UTR 5', dari penyambungan (retensi *intron*), dan di sitoplasma, di mana ia menghambat translasi. Retensi *intron* dianggap membutuhkan dua set situs pengikatan SXL *intronik*: satu situs pengikatan terletak berdekatan dengan situs sambungan 5' dan yang lainnya terletak tepat di atas situs sambungan 3'. Kedekatan situs pengikatan dengan situs *splicing*/sambatan, bersama dengan data dari uji *splicing in vitro*, menunjukkan mekanisme di mana SXL mencegah pengenalan *intron* dengan memindahkan *U2AF* di situs sambatan 3' dan *snRNP U1* di situs sambatan 5' (Merendino et al., 1999).

Sementara proses penyambungan itu sendiri tidak diperlukan untuk peraturan *msl-2*, situs pengikatan SXL dipertahankan dalam *intron* ini, dikombinasikan dengan empat situs pengikatan SXL tambahan yang terletak di 3' UTR penting untuk menghambat translasi. Dengan memeriksa kompleks SXL terikat 5' dan 3' secara independen, studi pada sistem bebas sel dan sel kultur jaringan menunjukkan bahwa SXL dapat memblokir dua langkah berurutan dalam inisiasi translasi. SXL terikat 3' memblokir perekrutan ribosom 43S kompleks pra-inisiasi ke ujung 5' mRNA, sedangkan SXL terikat 5' tidak

mengganggu perekrutan 43S melainkan mencegah kompleks pemindaian 43S mencapai *kodon* AUG inisiator (Merendino et al., 1999).

**c. *Notch*.**

Meskipun *tra* jelas merupakan efektor utama di mana *Sxl* mengontrol diferensiasi seksual, *tra* tidak mengontrol semua perbedaan fenotipe antara kedua jenis kelamin. Seperti disebutkan di atas, dimorfisme ukuran dewasa dapat dipengaruhi oleh *Sxl*, tetapi tidak oleh mutasi *tra*. Ternyata, *Sxl* mengontrol perbedaan morfologis ini dengan mengatur *Notch* secara negatif, yang aktivitasnya telah lama diketahui mengontrol jumlah bulu pada kutikula dewasa.

Studi terbaru telah menunjukkan bahwa kehadiran protein *Sxl* meningkatkan jumlah bulu pada A5 dengan mengurangi akumulasi *Notch*. Efek *SXL* pada protein *Notch* akumulasi tampaknya cenderung langsung, karena mRNA *Notch* berisi satu set situs pengikatan *SXL* dalam UTR 5' dan 3' dan *SXL* mampu mengikat mRNA *Notch*. Dengan demikian, *SXL* mungkin menurunkan regulasi akumulasi protein *Notch* dengan mengganggu terjemahan dengan cara yang sama seperti mengatur terjemahan *msl-2* secara negatif (Penn and Schedl, 2007).

**d. Target lain yang relevan secara biologis.**

Meskipun secara umum diasumsikan bahwa *SXL* hanya memiliki sedikit gen target yang relevan secara biologis, berapa tepatnya tidak diketahui. Pendekatan *bioinformatik* baru-baru ini telah mengidentifikasi dua target yang masuk

akal, dan sepertinya kemungkinan bahwa lebih banyak target masih harus ditemukan. Sebagai contoh, telah diusulkan bahwa SXL menurunkan regulasi ekspresi sekelompok gen terpaut-X, yang semuanya mengandung banyak situs pengikatan SXL dalam UTR 3' mereka (Kelley et al., 1995).

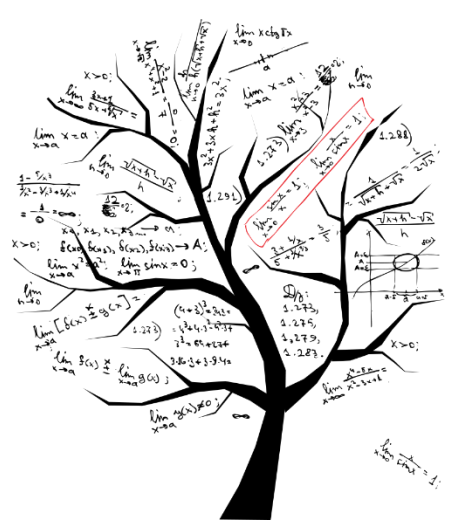
**e. Sxl pada Germline**

Pengamatan bahwa baik hilangnya fungsi Sxl dalam sel germinal XX maupun perolehan fungsi Sxl dalam sel germinal XY tidak menyebabkan pembalikan jenis kelamin telah digunakan untuk menyatakan bahwa Sxl tidak mengontrol identitas seksual dalam *germline*. Akan tetapi, ekspektasi pembalikan jenis kelamin sepenuhnya, bahkan untuk mutasi pada “gen saklar induk”, hal ini mungkin tidak realistis mengingat bahwa diferensiasi sel benih bukanlah sel otonom dan membutuhkan interaksi dengan sel gonad somatik di sekitarnya. Bahkan, selama *embryogenesis*, perilaku spesifik jenis kelamin sel germinal mencerminkan fenotipe seksual sel gonad somatik di sekitarnya daripada jenis kelamin kromosom sel germinal itu sendiri: sel germinal XY memulai program khusus betina ketika dalam gonad embrionik betina dan sel germinal XX memulai program khusus jantan ketika dalam gonad embrionik jantan. Menariknya, program khusus betina teraktivasi pada sel germinal XY yang berada pada gonad betina meliputi Sxl. Dengan demikian keputusan untuk mengaktifkan Sxl pun dapat dilakukan oleh lingkungan somatik sekitarnya,

terlepas dari konstitusi kromosom seks intrinsik. Waktu ekspresi Sxl dalam sel benih primordial (sel kutub) selanjutnya menunjukkan bahwa aktivasi tergantung pada kontak dengan mesoderm gonad, karena protein Sxl tidak terdeteksi dalam sel kutub sampai setelah mereka bermigrasi ke bagian dalam embrio dan menjajah dugaan gonad (Kelley et al., 1995). Studi lain menunjukkan bahwa ekspresi Sxl di *germline* diatur oleh faktor ekstrinsik, dan ekspresi Sxl dipertahankan oleh *loop splicing autoregulatory* positif yang tampaknya, dengan semua kriteria, serupa dengan yang digunakan dalam soma (Hager and Cline, 1997).

# BAB 5

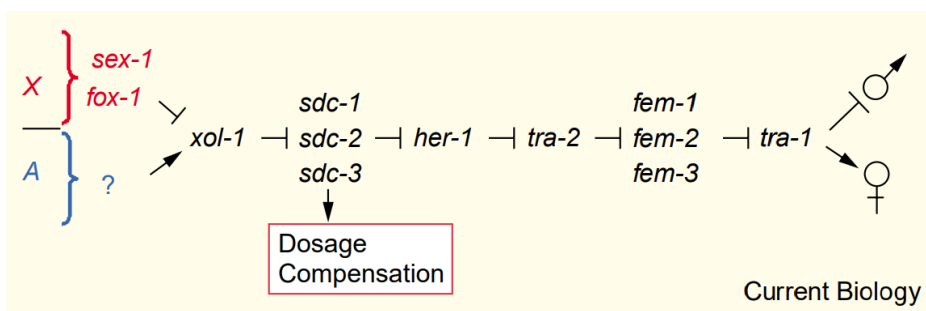
## *Determinasi Seks Caenorhabditis elegans*



Nematoda *Caenorhabditis elegans* memiliki dua jenis kelamin: jantan dan hermafrodit. Hermafrodit pada dasarnya adalah hewan betina yang menghasilkan sperma selama perkembangan larva dan oosit selama masa dewasa. Karenanya, hermafrodit mampu fertilisasi sendiri, serta fertilisasi silang oleh pejantan. Meskipun beberapa struktur dewasa seperti faring mirip pada jantan dan hermafrodit, kebanyakan jaringan dan banyak aspek perilaku berbeda. Misalnya jantan hanya menghasilkan sperma dan gonad mereka memiliki morfologi unik yang memberikan sperma ini ke kloaka. Hipodermis mereka dan otot berbeda, untuk memungkinkan kawin, dan mereka sistem saraf telah dimodifikasi untuk mengendalikan ini struktur unik. Bahkan usus mereka berbeda: sedangkan usus hermafrodit menghasilkan protein kuning telur, jantan tidak.

Dalam beberapa tahun terakhir mekanisme molekuler mengendalikan banyak aspek penentuan jenis kelamin telah terungkap. Analisis ini telah mengidentifikasi a sejumlah interaksi molekuler kunci, beberapa di antaranya diatur secara temporal dan spasial. Selain itu tampaknya jalurnya tidak linier dan bahwa beberapa *loop* dan cabang

di jalur memainkan peran penting dalam menentukan seksual perkembangan. Ada kemungkinan bahwa kompleksitas yang terkait dengan penentuan jenis kelamin *C. elegans* dapat terjadi dari evolusi hermafroditisme, di mana pada dasarnya soma betina harus membuat sperma terlebih dahulu oosit. Mungkin juga kompleksitas ini terungkap suatu kebutuhan akan jalur perkembangan utama sangat diatur sehingga untuk meminimalkan kesalahan dalam spesifikasi dari nasib sel (Goodwin and Ellis, 2002).



**Gambar 5.1.** Jalur Dasar Penentuan Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis. Panah menunjukkan interaksi positif dan bar menunjukkan negatif interaksi. Elemen sinyal yang mempromosikan hermafrodit pengembangan berwarna merah, dan yang mempromosikan jantan pembangunan berwarna biru (Goodwin and Ellis, 2002).

## A. Penentuan Jenis Kelamin dan Kompensasi Dosis

### 1. Kontrol *xol-1* oleh Rasio X:A

Sinyal utama untuk penentuan jenis kelamin adalah rasio kromosom X dengan set autosom, yang menyebabkan hewan XX menjadi hermafrodit dan XO hewan menjadi jantan. Di awal perkembangan, rasio ini mengatur aktivitas *xol-1* (Gambar 5.1), sebuah kunci gen saklar perkembangan yang mengontrol kedua jenis kelamin penentuan dan kompensasi dosis. *xol-1* mengkodekan protein baru, dan selama embriogenesis awal,

aktivitas protein *xol-1* tinggi sehingga perkembangan menjadi hewan jantan dan tingkat aktivitas rendah mendorong perkembangan hermafrodit. Selanjutnya, kehilangan fungsi mutasi pada *xol-1* menghasilkan feminisasi hewan XO, dan menyebabkan kematian mereka karena gangguan dosis kompensasi (Miller et al., 1998).

Waktu awal di mana *xol-1* bertindak adalah target langsung dari sinyal X:A. Sinyal ini harus melibatkan elemen pada X dan elemen pada autosom yang dibandingkan, sehingga dua kali lipat perbedaan antara jantan dan hermafrodit di amplifikasi menjadi aktivitas XOL-1 tingkat tinggi atau rendah. Analisis genetik menunjukkan bahwa kromosom X sinyal bersifat poligenik, dan bahwa aksi gabungan dari elemen sinyal X ini diperlukan untuk menghambat *xol-1* aktivitas dalam hermafrodit. Setidaknya empat daerah berbeda, daerah 1-4, dari X berisi elemen sinyal, dan dua unsur ini telah diidentifikasi secara molekuler: jenis kelamin-1 (daerah 4, lihat) dan *fox-1* (daerah 3). Meningkatkan dosis unsur-unsur ini di XO hewan menekan *xol-1*, mempromosikan hermafrodit perkembangan dan menyebabkan kematian karena kompensasi dosis diaktifkan. Mengurangi dosis hewan XX mengaktifkan *xol-1*, mendorong perkembangan jantan, dan menyebabkan kematian karena kegagalan inisiasi kompensasi dosis. Sampai saat ini, tidak ada sinyal autosomal elemen telah diidentifikasi (Goodwin and Ellis, 2002).

Mekanisme molekuler apa yang menginterpretasikan rasio X:A?. Dua garis bukti menunjukkan bahwa *sex-1* mengatur

transkripsi *xol-1*. *Pertama*, gen *sex-1* mengkode reseptor homolog hormon inti. *Kedua*, kerugian aktivitas *sex-1* menyebabkan transkripsi *xol-1* yang menyimpang dalam embrio XX, mengakibatkan perkembangan *lethality* dan maskulin. Menariknya, *SEX-1* juga mengandung aktivasi fungsi 2 motif, yang dibutuhkan oleh orang lain reseptor hormon nuklir untuk aktivasi yang bergantung pada ligan. Kehadiran domain ini menunjukkan hal itu interaksi sel-sel mungkin berkontribusi pada awal langkah penentuan jenis kelamin pada cacing. Sebagai wilayah 1 juga muncul untuk mengontrol transkripsi *xol-1*, satu model yang menarik adalah ligan untuk *SEX-1* dikodekan oleh elemen di wilayah kromosom X ini (Goodwin and Ellis, 2002).

Berbeda dengan *sex-1*, *fox-1* dan region 2 bertindak pasca transkripsi untuk mengatur ekspresi *xol-1*. Gen *fox-1* mengkode protein dengan protein ribonuklear (RNP) motif, menunjukkan bahwa itu mungkin mengikat RNA *xol-1*. Ada kemungkinan bahwa protein *FOX-1* mengatur penyambungan alternatif *xol-1*, atau mungkin mengatur yang lain aspek metabolisme *xol-1* mRNA (Goodwin and Ellis, 2002).

Mengapa setidaknya ada dua mekanisme berbeda itu mengontrol ekspresi *XOL-1*? Satu kemungkinan adalah efek kombinasi dari mekanisme pengaturan ini memungkinkan nematoda untuk membedakan secara akurat antara perbedaan kecil dalam rasio X:A. Sebagai contoh, rasio X:A sebesar 0,67 menyebabkan perkembangan laki-laki, sedangkan salah satu dari 0,75 menyebabkan perkembangan hermafrodit. Model ini

juga didukung oleh pengamatan bahwa inaktivasi elemen sinyal X tunggal menghasilkan beberapa XX mematkan dan *maskulinisasi*, sedangkan penghapusan dua elemen menyebabkan kematian penuh (Goodwin and Ellis, 2002).

## 2. Kontrol Gen *sdc* oleh *xol-1* (DeLong et al., 1993)

Tiga gen terlibat pada hewan XX agar dipromosikan pengembangannya menjadi hermafrodit yaitu *kompensasi dosis -sdc-1*, *sdc-2*, dan *sdc-3*. Sarana utama di mana XOL-1 mentransmisikan sinyal X:A tampaknya oleh regulasi negatif *sdc-2*, karena *SDC-2* tidak diekspresikan dalam embrio XO tipe liar, tetapi diekspresikan pada embrio *xol-1* XO. Bagaimana *XOL1* mengontrol ekspresi *sdc-2* tidak diketahui. Meskipun *SDC-3* hadir di XX dan XO embrio, kadarnya lebih rendah pada embrio XO muda dan embrio XX muda, dan tidak ada pada hewan XO yang lebih tua. Dengan demikian, *sdc-3* mungkin juga menjadi target XOL-1. Mutasi *null* pada *sdc-2* dan *sdc-3* tidak berpengaruh pada Hewan XO tetapi menyebabkan pembalikan nasib seksual sepenuhnya pada hewan XX; mutasi *null* di *sdc-1* hanya menyebabkan pembalikan sebagian nasib seksual. Gen *sdc* mengontrol XX perkembangan hewan menjadi hermafrodit dengan mengatur ekspresi gen hilir penentu jenis kelamin (*her-1*), gen yang dibutuhkan untuk perkembangan jantan.

*SDC-2* dan *SDC-3* mungkin bertindak secara kompleks untuk secara langsung menekan transkripsi *her-1*. Model ini didukung dengan temuan bahwa *SDC-2*, protein baru yang sangat tinggi bermuatan dan mengandung motif gulungan-

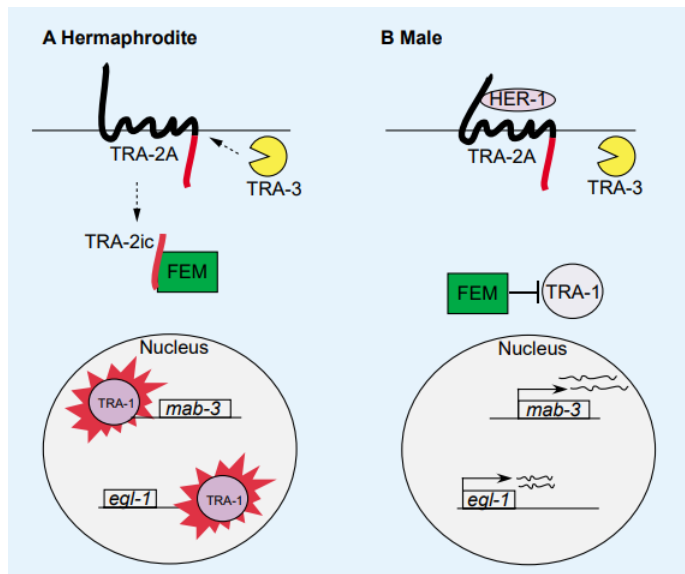
gulungan, adalah yang didapat dari salinan transgenik dari promotor *her-1*. Selain itu, lokalisasi ini diblokir oleh mutasi *sdc-3* spesifik, yang disebut alel *sdc-3(Tra)*. *SDC-3* adalah protein baru yang mengandung dua domain fungsional. Peran *SDC-1* dalam mengatur perkembangan seksual adalah kurang jelas. *SDC-1* memiliki tujuh jari seng dan menyerupai TFIIIA. Meskipun fenotipe *sdc-1* mutan lemah dan dapat diselamatkan secara maternal, *SDC-1* mungkin merupakan kofaktor penting dari *SDC-2*, seperti fenotipe mutan ganda jauh lebih kuat daripada yang diamati untuk salah satu mutasi saja.

## **B. Penentuan Jenis Kelamin Somatik**

### **1. Pengaturan TRA-2A oleh HER-1 (Goodwin and Ellis, 2002)**

Seperti disebutkan di atas, *her-1* diperlukan untuk perkembangan jantan, karena mutasi pada *her-1* menyebabkan hewan XO berkembang sebagai hermafrodit tetapi tidak mempengaruhi dosis kompensasi. Gen *her-1* diprediksi menyandikan protein baru dengan sinyal amino-terminal urutan dan potensi pembelahan dan situs *glikosilasi*, menunjukkan bahwa *HER-1* adalah protein yang disekresikan. Kesimpulan ini sejalan dengan pengamatan bahwa *her-1*, sel tidak bertindak secara otonom. *HER-1* mempromosikan perkembangan jantan dengan menekan aktivitas *tra-2*. Sebagai hasil utama transkrip gen ini (*tra-2A*), mengkode protein *transmembran*, mudah untuk membayangkan interaksi langsung antara *HER-1* dan *TRA-2A* yang disekresikan. Model ini didukung oleh kelas mutasi khusus di *tra-2*, yang disebut alel *tra-2(eg)*, yang mengubah asam amino

tunggal dalam domain ekstraseluler. Perubahan ini membuat *TRA-2A* berperilaku seolah-olah tidak peka terhadap *HER-1*, sehingga XO hewan berkembang sebagai hermafrodit. Jadi, yang paling sederhana modelnya adalah mutasi *tra-2(eg)* mengganggu situs pengikatan *HER-1* dan kemampuan *HER-1* untuk menghambat *TRA-2A* (Gambar 5.2).



**Gambar 5.2.** Model Molekuler Penentuan Jenis Kelamin. (A) Pada hewan XX tidak ada *HER-1*. *TRA-2A* atau *TRA-2ic* dihasilkan oleh pembelahan *TRA-2A* oleh *TRA-3*-menghambat *FEM* protein dan meningkatkan aktivitas transkripsi *TRA-1A*. (B) Pada jantan, *HER-1* mengikat domain ekstraseluler *TRA-2A* menghambat aktivitasnya. Ini mungkin terjadi dengan mencegah *TRA-3* dari membelah *TRA-2A*, atau dengan menghambat kemampuan *TRA-2A* untuk mengikat protein *FEM*. Akibatnya protein *FEM* menghambat *TRA-1A* (Goodwin and Ellis, 2002).

**Regulasi Peta Nasib Jenis Kelamin oleh *tra-2*** (de Bono and Hodgkin, 1996).

Bagaimana *tra-2* mengontrol nasib seksual ? Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *TRA-2A* mungkin diproses untuk melepaskan domain intraselulernya, *TRA-2ic*. Selanjutnya, *TRA-2ic* adalah mendorong perkembangan betina pada hewan

transgenik. Produksi TRA-2ic mungkin terjadi oleh aksi TRA-3, anggota keluarga *calpain protease* (Gambar 5.2). Gen *tra-3* diperlukan untuk perkembangan menjadi hermafrodit, dan berperilaku secara genetik seolah-olah bertindak hulu *tra-2*. Selain itu, TRA-3 secara proteolitik dapat memecah TRA-2A sehingga melepaskan TRA-2ic dalam sel. Bagaimana HER-1 menghambat aktivitas TRA-2A tidak jelas. Satu kemungkinan adalah bahwa HER-1 menghambat produksi TRA-2ic oleh TRA-3 (Gambar 2). Atau, itu mungkin mencegah interaksi TRA-2A atau TRA-2ic dengan mitra hilirnya, protein FEM. Salah satu fitur menarik dari TRA-3 adalah bahwa ia tidak memiliki regulasi kalsium yang penting domain khas dari *protease calpain* lainnya. Jadi, TRA 3 mungkin aktif secara *konstitutif* atau mungkin membutuhkan faktor yang tidak diketahui untuk mengontrol aktivitasnya.

Aktivitas *tra-2* dikendalikan tidak hanya pada level pemrosesan protein atau interaksi protein, tetapi juga pada tingkat translasi oleh dua elemen yang disebut *tra Gli* elemen (TGEs) yang terletak di wilayah 3' yang tidak diterjemahkan (3'UTR) dari pesan *tra-2*. Gangguan hasil TGEs dalam peningkatan terjemahan *tra-2* dan perkembangan betina yang tidak sempurna. Meskipun mekanisme pengaturan ini sangat penting dalam *germ-line*, mutasi pada gen *laf-1* mungkin mempengaruhi aktivitas mRNA *tra-2* di soma. Uji *epistasis* menunjukkan bahwa *tra-2* mendorong perkembangan *rodit hermaph* dengan menghambat aktivitas tiga gen yaitu *fem-1*, *fem-2* dan *fem-3*. Gen *fem-1* mengkode protein baru yang

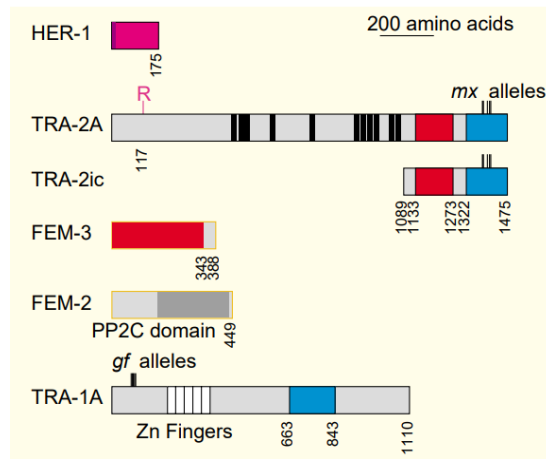
mengandung *ankyrin-like repeats*. *Fem-2* mengkodekan tipe *serine/threonine 2C* fosfatase, dan *fem-3* menghasilkan sebuah protein baru tanpa motif yang jelas. *TRA-2A* tidak mengatur transkripsi gen ini, karena mereka semua diekspresikan pada tingkat tinggi pada kedua jenis kelamin. Sebaliknya tampaknya *TRA-2A* atau *TRA-2ic* menghambat aktivitas *FEM* melalui interaksi protein-protein. Eksperimen molekuler menunjukkan bahwa *FEM-2* dapat mengikat *FEM-3*, sehingga mereka dapat berinteraksi untuk mempromosikan perkembangan betina. Selain itu, *TRA-2A* dan *TRA-2ic* dapat mengikat *FEM 3*, yang mungkin dinonaktifkan untuk memungkinkan perkembangan hermafrodit (Gambar 5.2).

## 2. Regulasi Aktivitas *TRA-1A* oleh Protein *FEM*

Gen terakhir dalam jalur penentuan jenis kelamin adalah *tra 1*, yang bertindak sebagai sel secara otonom untuk mendorong perkembangan hermafrodit. Gen ini mengkodekan dua protein: faktor transkripsi yang disebut *TRA-1A*, yang mengandung lima cabang Zink (Zn), dan protein yang lebih kecil, *TRA 1B*, yang kolinear dengan ujung amino *TRA 1A* dan hanya mengandung dua cabang.

Aktivitas *TRA-1A*, bagaimana mereka melakukannya masih menjadi misteri. Mereka tidak mungkin bertindak secara transkripsi, karena level mRNA *tra-1* tidak berbeda antara jantan dan hermafrodit. Aktivitas fosfatase *FEM-2* diperlukan untuk aktivitas itu. Jadi, ada kemungkinan bahwa *FEM-2* mengontrol aktivitas *TRA-1A* dengan mengubah fosforilasinya. Alternatifnya, protein *FEM* mungkin mengontrol perkembangan

seksual dengan mengatur tingkat TRA-1A inti (Gambar 5.3). Analisis terbaru dari *germ-line* dan usus telah mengungkapkan jaringan hermafrodit itu memiliki tingkat TRA-1A inti lebih tinggi daripada jaringan jantan. Dengan demikian pengaturan aktivitas *transkripsional* TRA-1A mungkin ditentukan oleh distribusi inti versus protein sitoplasma. Selanjutnya, Protein FEM mungkin mengatur impor atau ekspor TRA-1A inti, karena *TRA-1A* hampir sepenuhnya kehilangan fungsi *fem-1* pada inti hewan. Aktivitas TRA-1A dihambat pasca-translasi oleh mekanisme yang melibatkan wilayah kecil, yang disebut GF domain, terletak di terminal amino TRA-1A. Mutasi *gain-of-function* penyebab domain ini meningkatkan aktivitas *TRA-1A*, sehingga hewan berkembang menjadi XX dan XO sebagai betina.



**Gambar 5.3.** Interaksi antar Protein dalam Jalur Penentuan Jenis Kelamin. Domain cenderung memediasi interaksi HER-1–TRA-2A (merah muda), interaksi TRA-2–FEM-3 (merah) dan TRA-2–TRA-1A (biru). Protein FEM-2 dan FEM-3 diuraikan dalam warna oranye seperti urutan yang diperlukan untuk interaksi mereka belum ditentukan. Urutan sinyal HER-1 (ungu kotak); domain transmembran (kotak hitam); protein domain fosfatase 2C (kotak abu-abu gelap); Zn finger (kotak putih). Untuk semua protein, ujung amino ada di sebelah kiri (Jiang et al., 2001).

### 3. Kontrol Nasib Sel Somatik oleh TRA-1A (Conradt, and Horvitz, 1999).

*TRA-1A* cenderung mengendalikan nasib seksual dengan mengatur transkripsi gen hilir. Sampai saat ini, hanya dua target somatik *TRA-1A* telah diidentifikasi. Target pertama yang diketahui dari *TRA-1A* adalah gen *egl-1*. *EGL-1* berisi domain BH3-sebuah motif yang terlibat dalam *apoptosis* dan diperlukan untuk mengaktifkan kematian sel terprogram pada *C. elegans*. Pada hewan hermafrodit dan dua neuron spesifik hermafrodit (HSN) mempromosikan bertelur dan pada jantan neuron ini tidak ada, karena *egl-1* menginduksi kematian mereka. Keuntungan fungsi mutasi pada *egl-1*, yang memetakan ke pengikatan situs *TRA-1A*, mengakibatkan kematian yang tidak pantas dari HSN neuron dalam hermafrodit. Oleh karena itu, peletakan telur normal mengharuskan *TRA-1A* menekan ekspresi *egl-1* dalam neuron hermafrodit ini. Sasaran somatik lain dari *TRA-1A* adalah gen *mab-3*, yang diperlukan untuk pengembangan yang tepat dari ekor dan usus pada hewan jantan.

Regulasi *mab-3* dan *egl-1* oleh *TRA-1A* terjadi hanya di beberapa sel. Bagaimana *TRA-1A*, diperlukan untuk perkembangan seksual di semua jaringan somatik, mengontrol transkripsi gen dalam jumlah sel yang terbatas ?. Beberapa model tampaknya mungkin. *Pertama*, *TRA-1A* mungkin tidak diekspresikan secara seragam di seluruh hewan selama perkembangan. Sebaliknya, ekspresi *TRA-1A* mungkin mendahului diferensiasi seksual sel-sel tertentu. Model ini didukung oleh pengamatan bahwa *TRA-1A* adalah diekspresikan

dalam *primordium* gonad hermafrodit tetapi tidak di jaringan lain, pada saat gonad mulai membedakan secara seksual. *Kedua*, ada kemungkinan *TRA-IA* hanya aktif pada waktu dan tempat tertentu, meskipun demikian dinyatakan secara *konstitutif*. Model ini bisa melibatkan regulasi pasca-transkripsi *TRA-IA*, atau regulasi distribusi sub-selulernya. *Ketiga*, *TRA-IA* mungkin bertindak dengan regulator transkripsi lainnya, dengan mengikat *enhancer* jarak pendek yang terletak di dekat gen target. Untuk misalnya, di usus, pengikatan *TRA-IA* mungkin menghambat penambahan khusus usus yang sebaliknya aktifkan transkripsi *mab-3*. Model ini didukung oleh fakta bahwa promotor *mab-3* berisi terpisah elemen pengatur yang diperlukan untuk ekspresi dalam usus jantan dan untuk regulasi oleh *TRA-IA*. Sepertinya *TRA-IA* juga mengontrol transkripsi gen lain. Namun, jumlah keseluruhannya tidak jelas. Analisis gen yang luas ekspresi genomnya berbeda antara hermafrodit dan jantan menunjukkan bahwa banyak gen relatif diperkaya dalam satu jenis kelamin terhadap yang lain.

#### **4. Penentuan Jenis Kelamin *germ line***

Meskipun gen terlibat dalam penentuan jenis kelamin *somatic* juga bertindak dalam *germ-line*, penentuan jenis kelamin *germline* memiliki beberapa gen unik juga. Perbedaan-perbedaan ini mungkin mencerminkan fakta bahwa spesifikasi nasib seksual harus dimodulasi dalam garis kuman hermafrodit sehingga menghasilkan sperma selama tahap larva keempat dan oosit saat dewasa.

Untuk mengidentifikasi gen yang mengatur nasib seksual *germline*, mutasi diidentifikasi menyebabkan hermafrodit hanya menghasilkan oosit, mengubah mereka menjadi betina sejati, atau hanya sperma, membuat mereka steril. Mutasi resesif yang mendorong oogenesis mempengaruhi gen *fem-1*, *fem-2* dan *fem-3*, yang juga penting dalam soma, dan tiga gen tambahan, *fog-1*, *fog-2* dan *fox-3*. Selain itu mutasi dominan pada *tra-1*, *tra-2* dan *laf-1* mempromosikan oogenesis. Sebaliknya, mutasi resesif pada gen *mog-1* melalui *mog-6* mempromosikan spermatogenesis, seperti halnya mutasi dominan pada *fem-3*. Analisis genetik mutan ini mengungkapkan bahwa *fog-1*, *fog-3* dan tiga gen *fem* sangat penting untuk keduanya jantan dan hermafrodit untuk membuat sperma. Sebaliknya, *fox-2* dan gen *mog* tampaknya tidak berperan peran apa pun pada jantan, menunjukkan peran khusus untuk menentukan perkembangan hermafrodit.

#### **Spesifikasi Sel Germinal menjadi Sperma atau Oosit (Chen et al., 1999)**

Produksi sperma baik pada hermafrodit maupun jantan membutuhkan *fog-3* dan tiga gen *fem*. Dua fakta menyiratkan bahwa *fox-1* dan *fox-3* memainkan peran kunci dalam *germline* penentuan jenis kelamin dan mungkin bertindak pada akhir jalur. *Pertama*, tidak ada mutasi pada *fog-1* atau *fog-3* mempengaruhi perkembangan bagian tubuh lainnya. *Kedua*, analisis genetik menunjukkan bahwa mutasi pada *fog-1* atau *fog-3* bertindak dari semua gen hilir penentu jenis kelamin lainnya dalam hierarki

genetik. Jadi, ini dua gen mungkin secara langsung bertanggung jawab untuk menyebabkan spermatogenesis.

Gen *fog-1* menghasilkan dua transkrip yaitu transkrip besar yang diperlukan untuk fungsi *fog-1* dan menyelamatkan mutan *fog-1(lf)* sedangkan transkrip kecil tidak memiliki aktivitas yang dapat dideteksi. Transkrip besar mengkodekan *FOG-1*, pengikat elemen protein poliadenilasi sitoplasma (CPEB). Biasanya, protein CPEB mengandung dua RNA motif pengakuan (RRMs) dan domain C-H itu mengikat seng (Zn). Protein CPEB dianggap mengendalikan aktivitas mRNA dengan mengatur translasinya. Dengan analogi, *FOG-1* mungkin mengatur terjemahan mRNA spesifik yang terlibat dalam pengembangan *germline*. Menariknya, *FOG-1* dapat mengikat pesan *fog-1* itu sendiri, jadi mungkin *autoregulator*. Meskipun tidak ada yang lain target *FOG-1* telah diidentifikasi, penemuan mereka di masa depan pada akhirnya mungkin memberikan kunci untuk memahami bagaimana nasib sel germinal dikendalikan. *C. elegans* menghasilkan tiga protein CPEB lainnya, yang juga dinyatakan dalam garis kuman, namun hanya *FOG-1* diperlukan untuk perkembangan seksual. Bagaimana kekhususan ini tercapai ?. Salah satu modelnya hanya *FOG-1* yang bisa mengenali elemen dalam mRNA yang mengatur takdir seksual. Atau, *FOG-1* mungkin berinteraksi dengan faktor yang lain yang membantu dalam memilih mRNA target.

*FOG-3* adalah anggota baru dari keluarga protein *Tob*. Protein ini ditemukan di semua hewan, dan berbagi domain amino-terminal umum dari 115 amino asam. Keluarga *Tob* telah

terlibat dalam kontrol pembelahan sel dan diferensiasi, dan beberapa data menunjukkan bahwa mereka mungkin bertindak dengan mekanisme transkripsi atau pasca-transkripsi.

*TRA-1A* dapat mengatur nasib sel germinal dengan mengatur transkripsi *kabut-1* dan *kabut-3*. Setiap gen memiliki tiga hingga enam situs pengikatan *TRA-1A* potensial di promotornya, lebih banyak lagi daripada yang ditemukan pada gen lain pada hewan. Selain itu, promotor *fog-3* mengikat *TRA-1A* dalam tes gel pergeseran dan pengikatan ini membutuhkan situs ini. Anehnya, analisis mutasi titik di promotor *fox-3* menunjukkan bahwa beberapa *TRA-1A* mengikat situs memediasi aktivasi *fox-3*, sedangkan studi tentang ekspresi *fog-3* menunjukkan bahwa setidaknya satu situs mungkin menengahi represi. Kompleksitas ini dapat menjelaskan alasannya analisis genetik menunjukkan bahwa *tra-1* diperlukan untuk promosi baik oogenesis dan spermatogenesis. Regulasi *fox-3* oleh *TRA-1A* tampaknya dilestarikan di spesies nematoda lainnya.

Gen *fem* juga diperlukan untuk *spermatogenesis*; Namun, analisis genetik dan molekuler menyarankan bahwa mereka memiliki peran ganda dalam menentukan seksual perkembangan. Seperti pada soma, ketiga gen *fem* bekerja dengan mengatur aktivitas *tra-1*. Analisis *RT-PCR* menunjukkan bahwa *FEM* bertindak hulu *TRA-1A* mengontrol kemampuannya untuk mengatur transkripsi *fog-3*. Namun, analisis genetik menunjukkan bahwa *FEM* juga bertindak hilir *TRA-1A* untuk mengontrol nasib sel germinal, menunjukkan adanya cabang di jalur tersebut. Mungkin protein *FEM* tidak

hanya menghambat *TRA-1A*, tapi juga bertindak langsung di *FOG-1* atau *FOG-3* untuk mempromosikan aktivitas kegiatan mereka, atau mengatur target hilir yang tidak diketahui dari *TRA-1A* (Chen et al., 1999).

### **Apa yang Mengontrol Pergantian Sperma/Oosit Selama Perkembangan hermafrodit?**

Jenis kelamin hermafrodit mensyaratkan sperma terlebih dahulu diproduksi, dan selanjutnya ada saklar sehingga oosit dibuat. Hal ini menimbulkan dua pertanyaan yang menggelitik. Bagaimana tubuh wanita pada dasarnya menghasilkan sperma ?. Dan bagaimana pergantian sperma/oosit terjadi? Bukti genetik menunjukkan bahwa rasio aktivitas *TRA-2A* ke *FEM-3* penting untuk memungkinkan *hemaproditnya* membuat sperma dan kemudian beralih ke oogenesis. Spermatogenesis terjadi ketika aktivitas *TRA-2A* rendah dan oogenesis terjadi ketika aktivitas *FEM-3* berkurang. Analisis mutan dan molekuler telah mengidentifikasi berbagai peraturan yang berbeda sistem yang penting bagi hewan XX untuk berkembang sebagai hermafrodit. Spermatogenesis hermafrodit membutuhkan kedua interaksi fragmen *TRA-2A* dengan *TRA-1A*, dan represi translasi mRNA *tra-2*, sedangkan oogenesis hermafrodit membutuhkan represi *translasi* mRNA *fem-3*.

### **5. Interaksi Langsung Antara TRA-2 dan TRA-1A Mempromosikan Spermatogenesis** (Goodwin and Ellis, 2002)

Pada hermafrodit, wilayah kecil dalam domain intraseluler *TRA-2A* diperlukan untuk spermatogenesis. Domain ini diidentifikasi melalui mutasi dominan, yang disebut *alel mixomorphic* (mx)

(Gambar 3), yang memfemininkan hewan XX, sehingga mereka memproduksi oosit saja. Anehnya, bagian intraseluler dari TRA-2A mengikat TRA-1A, dan alel mx mengganggu interaksi. Interaksi ini mungkin secara tidak langsung mencegah TRA-2 dari menghambat FEM-3, atau mungkin langsung mencegah TRA-1A dari mempromosikan oogenesis. Pada saat ini belum jelas apakah peraturan ini melibatkan TRA 2A atau TRA-2ic. Meskipun sel germinal menghasilkan transkrip, *tra-2B*, yang dapat mengkodekan protein TRA-2ic, transkrip ini dikaitkan dengan oosit daripada dengan sperma, dan tidak mungkin memberikan kontribusi untuk interaksi ini.

### C. Spermatogenesis Hermafrodit (Goodwin and Ellis, 2002).

#### 1. Represi translasi mRNA *tra-2*

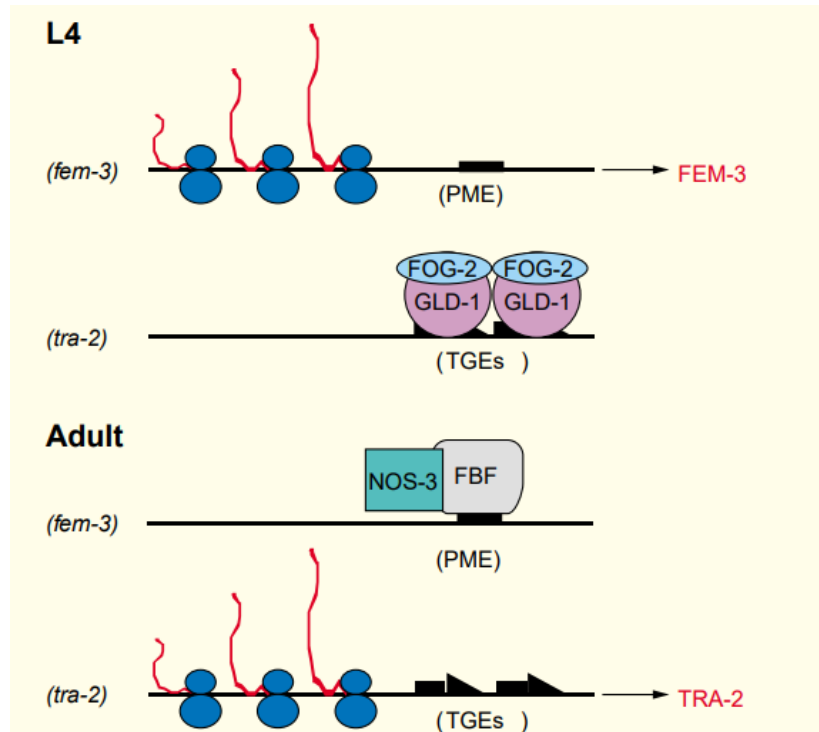
Mutasi dominan yang mengganggu urutan TGE dalam *tra-2* 3' UTR menghasilkan peningkatan aktivitas *tra-2* dan feminisasi XX *germlines* (Gambar 5.4). TGE mengikat kompleks protein yang ada pada ekstrak cacing, dan salah satu komponen kompleks ini adalah *GLD-1*. Beberapa baris bukti menunjukkan hal itu.

GLD-1 adalah penekan translasi *tra-2*. TRA-2A kadar protein lebih tinggi pada hewan *gld-1*(null), dan GLD-1 dapat menekan terjemahan yang mengandung TGE RNA baik *in vitro* dan *in vivo*. Akhirnya, *GLD-1* untuk spermatogenesis diperlukan pada hermafrodit, tetapi tidak pada jantan. GLD-1 adalah anggota protein famili STAR, yang biasanya mengandung satu KH. Domain pengikat RNA dan dua domain lainnya yaitu

QUA1 dan QUA2 dipertahankan. GLD-1 juga bermain peran tambahan dalam pengembangan *germ line*. Dia penting untuk oogenesis dan menghambat proliferasi pra-meiosis. Fakta bahwa GLD-1 bersifat *pleiotropik* menunjukkan bahwa GLD-1 memiliki peran lain dalam perkembangan *germ line* di luar kontrol translasi *tra-2*. Untuk mendukung model ini, GLD-1 telah terbukti mengikat sejumlah mRNA *germ line*, beberapa di antaranya terlibat dalam regulasi proliferasi *germ line*.

Gen lain yang diperlukan untuk spermatogenesis hermafrodit adalah *fog-2*, yang mungkin juga bekerja melalui *tra2* 3'UTR untuk mengontrol produksi sperma. Protein FOG-2 mengikat *GLD-1* dalam pengujian dua-hibrida ragi secara *in vitro*, yang menyiratkan bahwa protein ini bekerja sama untuk mengatur *tra-2*. Data genetik konsisten dengan gagasan bahwa *FOG-2* mengatur aktivitas *TRA-2*, karena analisis epistasis menempatkan *fog-2* di hulu *tra-2*, dan kerugian aktivitas *fog-2* menyebabkan hewan XX hanya memproduksi fenotipe-oosit yang sama dengan mutan *tra-2(gf)*. Meskipun *FOG-2* berisi domain *F-box*, yang mana kemungkinan untuk memediasi interaksi protein-protein atau mungkin *ubiquitination*, domain ini tidak diperlukan untuk interaksi dengan *GLD-1*. Mungkin domain ini merekrut protein lain ke *tra-2* 3'UTR untuk membantu memediasi represi. *FOG-2* tidak seperti *pleiotropik*. Dia tampaknya hanya mempengaruhi produksi sperma hermafrodit, menunjukkan bahwa peran utamanya adalah untuk mengontrol aktivitas mRNA *tra-2*. Fakta bahwa *GLD-1* dapat diasosiasikan dengan beberapa mRNA *germ line*, sedangkan

peran *FOG-2* muncul khusus untuk sinyal *tra-2*, mungkin menunjukkan bahwa *GLD-1* dapat membentuk kompleks mRNA-protein spesifik, yang komponennya bergantung pada sifat masing-masing target. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa spermatogenesis *hermafroditnya* bergantung pada *GLD-1* mengikat TGE untuk menekan terjemahan *tra-2*. *GLD-1* bertindak sangat kompleks, dan *FOG-2* mungkin memainkan peran penting dalam kemampuan kompleksitas ini dalam memblokir terjemahan.



**Gambar 5.4.** Regulasi Translasi pada *Germline* Hermafrodit. Dalam diagram ini, garis lurus menggambarkan *messenger RNA*, dengan 5' berakhir di kiri; lingkaran biru tua melambangkan ribosom; garis merah mewakili rantai polipeptida yang baru lahir; dan terjemahan protein pengatur diberi label. PME, elemen mutasi titik; TGE, *tra-2* dan elemen GLI (Goodwin and Ellis, 2002).

## 2. Oogenesis Hermafrodit Memerlukan Kontrol Pascatranskripsi *fem-3*

Oogenesis hermafrodit mensyaratkan aktivitas dari mRNA *fem-3* ditekan oleh Mutasi Titik Elemen (PME) dalam 3'UTR.. Adanya mutasi PME meningkatkan aktivitas *fem-3*, menyebabkan hewan XX hanya membuat sperma. Karena mutasi ini tidak mengubah level *fem-3* transkrip, tetapi menambah panjang ujung poli (A), sebuah fenomena yang berkorelasi dengan peningkatan terjemahan. Mutasi ini dapat mengubah pengikatan situs untuk protein yang mengatur terjemahan atau aspek metabolisme RNA lainnya. Dua protein ditemukan melalui uji tiga-hibrida ragi, *FBF-1* dan *FBF-2*, yang sangat mirip satu sama lain dan itu mengikat *fem-3* PME. Interaksi ini diblokir oleh mutasi pada PME, dan inaktivasi gen *fbf* oleh interferensi yang dimediasi RNA mereplikasi fenotipe mutan *fem-3(gf)*: hewan XX menghasilkan sperma bukan oosit. Karena protein FBF adalah homolog dari pengatur translasi *Drosophila Pumilio*, yang menghambat translasi bungkus pada embrio lalat, sirkuit kontrol ini tampak kuno. Bagian tambahan dari sirkuit juga dipertahankan, karena protein FBF mengikat NOS-3 dalam sistem dua-hibrid ragi secara in vitro.

## 3. Aktivitas mRNA *fem-3*

Aktivitas mRNA *fem-3* juga dikendalikan oleh kelompok gen kedua. Mutasi resesif pada salah satu gen *mog-1* hingga *mog-6* menyebabkan hermafrodit menghasilkan sperma, bukan oosit. Dengan menggunakan tes reporter, Gallegos et al. menunjukkan bahwa gen *mog* aktif di soma serta *germ line*, dan bahwa mereka

bertindak melalui fem-3'UTR untuk menekan aktivitas gen. Gen *mog* diperlukan untuk membuat embrio yang layak tetapi inaktivasi lengkap *mog-1* tampaknya tidak memiliki efek luas pada penyambungan mRNA.

#### **D. Persinyalan Sel-sel dan Penentuan Jenis Kelamin**

Persinyalan sel-sel memainkan peran penting dalam penentuan jenis kelamin somatik. Analisis dari kedua hewan mosaik genetik *sdc-1* dan *interseks triploid* menunjukkan bahwa sel individu tidak mengadopsi nasib mereka secara mandiri. Meskipun analisis mosaik menunjukkan bahwa *her-1* adalah salah satu penyebab perilaku non-otonom sel dari perkembangan seksual, analisis molekuler dari *sex-1* menunjukkan bahwa ia mungkin juga terlibat dalam persinyalan sel-sel. Apa peran interaksi sel-sel ini dalam perkembangan seksual? Interaksi ini mungkin mengoordinasikan perkembangan seksual di seluruh hewan. Selain itu, jika sel mengambil nasib yang salah dengan salah membaca rasio X:A, ada kemungkinan bahwa *sex-1* tidak hanya memperbaiki identitas seksual tetapi juga kompensasi dosis, memastikan perkembangan normal sel yang terpengaruh (Goodwin and Ellis, 2002).

##### **1. Putaran dan Cabang Regulasi di Jalur yang Mengontrol Perkembangan Seksual**

Meskipun jalur penentuan jenis kelamin secara tradisional digambarkan secara linier, ada beberapa cabang dan mekanisme umpan balik yang memiliki efek mendalam pada perkembangan seksual. Satu cabang diungkapkan oleh pengamatan bahwa mutasi nol pada *tra-1* mengubah hewan XX menjadi jantan



Jalur pengaturan kedua tampaknya menghambat perkembangan betina yang menyimpang pada jantan dan hermafrodit, dengan mengatur lokalisasi *subselular TRA-1A*. Perbedaan tingkat nuklir *TRA-1A* bergantung, setidaknya sebagian, pada ekspor nuklir protein.

Dalam nukleus *TRA-1A* berikatan dengan 3' UTR dari mRNA *tra-2*, yang menghasilkan ekspor kompleks mRNA *TRA-1A-tra-2* ke sitoplasma. Gangguan proses ini oleh mutasi pada *tra-2* 3'UTR yang menghapuskan hasil pengikatan *TRA-1A* dalam peningkatan *TRA-1A* nuklir dan perkembangan betina yang menyimpang di kedua XX dan XO. Begitu berada di sitoplasma, *TRA-1A* mungkin menekan terjemahan *tra-2*, karena situs pengikatannya diperlukan untuk penghambatan translasi oleh *tra-2* 3'UTR (komunikasi pribadi Segal S.). Jalur menunjukkan kompleksitas tambahan di *germline*; lingkaran pengaturan ketiga yang melibatkan interaksi *TRA-2* dan *TRA-1A* bekerja di jaringan ini untuk mengatur perkembangan seksual (Gambar 5.5).

Apa peran putaran dan cabang tambahan ini dalam perkembangan seksual? Menariknya, ketiganya menetralkan efek utama dari gen masing-masing. Peran utama *XOL-1* adalah untuk mempromosikan perkembangan jantan, namun juga memiliki peran feminin yang kecil. Demikian pula, mRNA *TRA-1A* dan *tra-2* terutama mempromosikan perkembangan betina, tetapi mereka memiliki peran yang lebih kecil dalam mempromosikan nasib sel pria. Akhirnya, *TRA-2A* biasanya mendorong oogenesis dan takdir betina, tetapi interaksi *TRA-*

*2ic-TRA-1* tampaknya menyebabkan spermatogenesis. Kami menduga bahwa interaksi pengaturan seperti itu membantu menstabilkan jalur utama. Proses penentuan jenis kelamin memerlukan penguatan perbedaan kecil dalam masukan, seperti satu lawan dua kromosom X, menjadi keluaran yang jelas dan dapat direproduksi. Ketika identitas seksual pertama kali ditetapkan, loop umpan balik dan interaksi modulasi ini dapat mencegah fluktuasi acak dalam aktivitas gen dari diperkuat dengan cepat menjadi keputusan nasib sel yang tidak tepat (Goodwin and Ellis, 2002).

# Daftar Pustaka

- Ahringer, J., T. A. Rosenquist, D. N. Lawson, and J. Kimble. (1992). The *Caenorhabditis elegans* Sex Determining Gene Fem-3 Is Regulated Post-Transcriptionally. *EMBO Journal* 11(6):2303–10. doi: 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05289.x.
- Allemand E, Batsche E, Muchardt C. (2008). *Splicing*, transcription and chromatin: a menage a trois. *Curr Opin Genet Dev*; 18:145-51
- Amrein, Hubert, Monica Gorman, and Rolf Nöthiger. (1988). The Sex-Determining Gene Tra-2 of *Drosophila* Encodes a Putative RNA Binding Protein. *Cell* 55(6):1025–35. doi: 10.1016/0092-8674(88)90247-4.
- Avila FW, Erickson JW. (2007). *Drosophila* JAK/STAT pathway reveals distinct initiation and reinforcement steps in early transcription of Sxl. *Curr Biol.* 17:643-8
- Baker, B. S., Ridge, K. A. (1980). Sex and the single cell: On the action of major loci affecting sex determination in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 94:383- 423
- Baker, B. S., and J. M. Belote. (1983). Sex Determination and Dosage Compensation in *Drosophila Melanogaster*. *Annual Review of Genetics* 17:345–93. doi: 10.1146/annurev.ge.17.120183.002021.
- Baker, B. S., and M. F. Wolfner. (1988). A Molecular Analysis of Transformer, a Gene in *Drosophila melanogaster* That Controls Female Sexual Differentiation. *Genes & Development* 2(4):477–89. doi: 10.1101/gad.2.4.477.

- Barbash DA, Cline TW. Genetic and molecular analysis of the autosomal component of the primary sex determination signal of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 1995; 141:1451-71.
- Breyer, Matthew D., A. Thomas Look, and Alessandra Cifra. (2015). From Bench to Patient: Model Systems in Drug Discovery. *DMM Disease Models and Mechanisms*. 8(10):1171–74. doi: 10.1242/dmm.023036.
- Bailie, D. L., Chovnick, A. (1971). Studies on the genetic control of tryptophan pyrrolase in *Drosophila melanogaster*. *Mol Gen. Genet.* 1 12:341-53
- Chien, Samson, Lawrence T. Reiter, Ethan Bier, and Michael Gribskov. (2002). “Homophila: Human Disease Gene Cognates in *Drosophila*.” *Nucleic Acids Research* 30(1):149–51. doi: 10.1093/nar/30.1.149.
- Chen, C.H., von Kessler, D.P., Park, W., Wang, B., Ma, Y., and Beachy, P.A. (1999). Nuclear trafficking of *Cubitus interruptus* in the transcriptional regulation of Hedgehog target gene expression. *Cell* 98, 305–316.
- Clery A, Blatter M, Allain FH. (2008). RNA recognition motifs: boring? Not quite. *Curr Opin Struct Biol.* 18:290-8.
- Cline TW. (1984). Autoregulatory functioning of a *Drosophila* gene product that establishes and maintains the sexually determined state. *Genetics*; 107:231-77.
- Cline, T.W., Rudner, D.Z., Barbash, D.A., Bell, M. And Vutien, R. (1999). Functioning of the *Drosophila* integral U1/U2 protein Snf independent of U1 and U2 small nuclear ribonucleoprotein particles is revealed by snf gene dose effects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 14451–14458.

- Conradt, B., and Horvitz, H.R. (1999). The TRA-1A sex determination protein of *C. elegans* regulates sexually dimorphic cell deaths by repressing the *egl-1* cell death activator gene. *Cell* 98, 317–327.
- Corsi, Ann K., Bruce Wightman, and Martin Chalfie. (2015). *A Transparent Window into Biology: A Primer on Caenorhabditis Elegans*.
- de Bono, M., and Hodgkin, J. (1996). Evolution of sex determination in *Caenorhabditis*: unusually high divergence of *tra-1* and its functional consequences. *Genetics* 144, 587–595
- DeLong, L., Plenefisch, J.D., Klein, R.D., and Meyer, B.J. (1993). Feedback control of sex determination by dosage compensation revealed through *Caenorhabditis elegans* *sdc-3* mutations. *Genetics* 133, 875–896.
- Desai, C., and Horvitz, H. R. (1989). *Cuenorhubditis elegans* mutants defective in the functioning of the motor neurons responsible for egg laying. *Genetics* 121,703-721
- Epper, F., Niithiger, R. (1982). Genetic and developmental evidence for a repressed genital primordium in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Bioi.* 94: 163-75
- Elrod-Erickson, Monica, Smita Mishra, and David Schneider. (2000). Interactions between the Cellular and Humoral Immune Responses in *Drosophila*. *Current Biology* 10(13):781–84. doi: 10.1016/S0960-9822(00)00569-8.
- Erickson JW, Cline TW. A bZIP protein, *sisterless-a*, collaborates with bHLH transcription factors early in *Drosophila* development to determine sex. *Genes Dev* 1993; 7:1688-702.

- Erickson JW, Quintero JJ. (2007). Indirect effects of ploidy suggest X chromosome dose, not the X:A ratio, signals sex in *Drosophila*. *PLoS Biol*; 5:332
- Goodwin, Elizabeth B., and Ronald E. Ellis. (2002). Turning Clustering Loops: Sex Determination in *Caenorhabditis elegans*. *Current Biology*, 12(3): R111–20. doi: 10.1016/S0960-9822(02)00675-9.
- Gonzalez AN, Lu H, Erickson JW. (2008). A shared enhancer controls a temporal switch between promoters during *Drosophila* primary sex determination. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:18436-41.
- Hager JH, Cline TW. (1997); Induction of female Sexlethal RNA *splicing* in male germ cells: implications for *Drosophila germline* sex determination. *Development* 124:5033-48.
- Herold N, Will CL, Wolf E, Kastner B, Urlaub H, Luhrmann R. (2009). Conservation of the protein composition and electron microscopy structure of *Drosophila melanogaster* and human spliceosomal complexes. *Mol Cell Biol*; 29:281-301
- Horabin JJ, Bopp D, Waterbury J, Schedl P. (1995). Selection and maintenance of sexual identity in the *Drosophila germline*. *Genetics*; 141:1521-35.
- Horabin JJ, Walthall S, Vied C, Moses M. (2003). A positive role for Patched in Hedgehog signaling revealed by the intracellular trafficking of Sex-lethal, the *Drosophila* sex determination master switch. *Development*. 130:6101-9
- Hubbard, E. J. A. and D. Greenstein, (2005). Introduction to the *germline* (September 1, 2005), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.18.1, <http://www.wormbook.org>. Abstract Article

- Jennings, Barbara H. (2011). *Drosophila*-a Versatile Model in Biology & Medicine. *Materials Today* 14(5):190–95. doi: 10.1016/S1369-7021(11)70113-4.
- Jiang, M., Ryu, J., Kiraly, M., Duke, K., Reinke, V., and Kim, S.K. (2001). Genome-wide analysis of developmental and sex-regulated gene expression profiles in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 218–223.
- Kelley RL, Solovyeva I, Lyman LM, Richman R, Solovyev V, Kuroda MI. (1995). Expression of *msl-2* causes assembly of dosage compensation regulators on the X chromosomes and female lethality in *Drosophila*. *Cell*; 81:867-77
- Keyes LN, Cline TW, Schedl P. (1992). The primary sex- determination signal of *Drosophila* acts at the level of transcription. *Cell*. 68:933-43.
- Kimble, J., L. Edgar, and D. Hirsh. (1984). Specification of Male Development in *Caenorhabditis Elegans*: The Fem Genes. *Developmental Biology* 105(1):234–39. doi: 10.1016/0012-1606(84)90279-3.
- Lauge, G. I. (1969). Recherches experimentales sur la determination et la differenciation des caracteres morphologiques et histologiques des iniersexues *triploides* de *Drosophila melanogaster* Meig. II Mise en evidences de phases de determination au cours du developpement. *Ann. Embryol. Morphogenese* 2:273-99
- Louis M, Holm L, Sanchez L, Kaufman M (2003). A theoretical model for the regulation of Sex-lethal, a gene that controls sex determination and dosage compensation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*; 165:1355-84.
- Lu H, Kozhina E, Mahadevaraju S, Yang D, Avila FW, Erickson JW. (2008). Maternal Groucho and bHLH repressors amplify the dose-

sensitive X chromosome signal in *Drosophila* sex determination. *Dev Biol* 323:248-60.

Linford, Nancy J., Ceyda Bilgir, Jennifer Ro, and Scott D. Pletcher. (2013). "Measurement of Lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments* (71):1–9. doi: 10.3791/50068.

Madl, J. E., and Herman, R. K. (1979). Polyploids and sex determination in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 93, 393–402.

Merendino L, Guth S, Bilbao D, Martinez C, Valcarcel J. (1999). Inhibition of *msl-2* *splicing* by Sex-lethal reveals interction between U2AF35 and the 3' splice site AG. *Nature*. 402:838-41

Meyer, B. J. X-Chromosome dosage compensation (2005), WormBook, ed. The C. elegans Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.8.1, <http://www.wormbook.org>.

Miller, L.M., Plenefisch, J.D., Casson, L.P., and Meyer, B.J. (1988). *xol-1*: a gene that controls the male modes of both sex determination and X chromosome dosage compensation in *C. elegans*. *Cell*. 55, 167–183.

Nagengast AA, Stitzinger SM, Tseng C-H, Mount SM, Salz HK. Sex-lethal *splicing* autoregulation in vivo: interactions between SEX-LETHAL, the U1 snRNP and U2AF underlie male *exon* skipping. *Development* 2003; 130:463-71.

Nagoshi, R. N., and B. S. Baker. (1990). Regulation of Sex-Specific RNA *Splicing* at the *Drosophila Doublesex* Gene: Cis-Acting Mutations in *Exon* Sequences Alter Sex-Specific RNA *Splicing* Patterns. *Genes and Development*. 4(1):89–97. doi: 10.1101/gad.4.1.89.

Nonaka, Saori, Yuki Ando, Takuto Kanetani, Chiharu Hoshi, Yuji

- Nakai, Firzan Nainu, Kaz Nagaosa, Akiko Shiratsuchi, and Yoshinobu Nakanishi. (2017). Signaling Pathway for Phagocyte Priming upon Encounter with Apoptotic Cells. *Journal of Biological Chemistry*. 292(19): 8059–72. doi: 10.1074/jbc.M116.769745.
- Ota, T., Fukunaga, A., Kawabe, M., Oishi, K. (1981). Interactions between sex transformation mutants of *Drosophila melanogaster*. I. Hemolymph vitellogenins and gonad morphology. *Genetics* . 99:429-41
- Perveen, Farzana Khan. (2018). Introduction to *Drosophila*.” Pp. 3–14 in *Drosophila melanogaster - Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*.
- Penn JK, Schedl P. (2007). The master switch gene *sexlethal* promotes female development by negatively regulating the N-signaling pathway. *Dev Cell*; 12:275-86.
- Powell, J. R., Jow, M. M., and Meyer, B. J. (2005). The T-box transcription factor SEA-1 is an autosomal element of the X:A signal that determines *C. elegans* sex. *Dev. Cell*. 9, 339–349.
- Raizen, D. M., J. E. Zimmerman, M. H. Maycock, U. D. Ta, Y. J. You et al., (2008) Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state. *Nature*. 451: 569-572.
- Robida MD, Rahn A, Singh R. (2007). Genome-wide identification of alternatively spliced mRNA targets of specific RNA-binding proteins. *PLoS ONE*. 2:520.
- Roehrdanz, R. L., Kitchens, J. M., Lucchesi, J. C. (1977). Lack of dosage compensation for an autosomal gene relocated to the X chromosome in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 85:489- 96

- Salz, Helen K., and James W. Erickson. (2010). Sex Determination in *Drosophila*: The View from the Top. *Fly*. 4(1):60–70. doi: 10.4161/fly.4.1.11277.
- Sánchez, Lucas. (2008). Sex-Determining Mechanisms in Insects. *International Journal of Developmental Biology* 52(7):837–56. doi: 10.1387/ijdb.072396ls.
- Saunders, P.A., S. Neuenschwander, and N. Perrin. (2018). Sex Chromosome Turnovers and Genetic Drift: A Simulation Study. *Journal of Evolutionary Biology*. 31 (9): 1413–19
- Samuels ME, Schedl P, Cline TW. (1991).The complex set of late transcripts from the *Drosophila* sex determination gene Sex-lethal encodes multiple related polypeptides. *Mol Cell Biol*. 11:3584-602
- Schedl, T., Graham, P., Barton, M. K., and Kimble, J. (1989). Analysis of the role of tra-1 in *germ line* sex determination in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 23,755-769.
- Seong, Ki Hyeon, and Siu Kang. (2022). Noncanonical Function of the Sex Lethal Gene Controls the Protogyny Phenotype in *Drosophila Melanogaster*. *Scientific Reports*. 12(1):1–9. doi: 10.1038/s41598-022-05147-5.
- Shen, Jie, Daniel Ford, Gary N. Landis, and John Tower. (2009). Identifying Sexual Differentiation Genes That Affect *Drosophila* Life Span. *BMC Geriatrics* 9(1):1–13. doi: 10.1186/1471-2318-9-56.
- Sefton L, Timmer JR, Zhang Y, Beranger F, Cline TW. (2000). An extracellular activator of the *Drosophila* JAK/STAT pathway is a sex-determination signal element. *Nature*. 405:970-3

- Singh R, Valcarcel J, Green MR. (1995). Distinct binding specificities and functions of higher eukaryotic polypyrimidine tract-binding proteins. *Science*. 268:1173-6.
- Skipper, M., Milne, C. A., and Hodgkin, J. (1999). Genetic and molecular analysis of fox-1, a numerator element involved in *Caenorhabditis elegans* primary sex determination. *Genetics*. 151, 617–631.
- Sulston, J. E., and Horvitz, H. R. (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.* 56, 110–156
- Trent, Carol, Beverly Purnell, Sheri Gavinski, Judy Hageman, Caroline Chamblin, and William B. Wood. (1991). Sex-Specific Transcriptional Regulation of the *C. Elegans* Sex-Determining Gene Her-1. *Mechanisms of Development* 34(1):43–55. doi: 10.1016/0925-4773(91)90090-S.
- Villeneuve, Anne M., and Barbara J. Meyer. (1990). The Regulatory Hierarchy Controlling Sex Determination and Dosage Compensation in: *Caenorhabditis elegans*. *Advances in Genetics*. 27(C):117–88. doi: 10.1016/S0065-2660(08)60025-5.
- Wahl MC, Will CL, Luhrmann R. (2009). The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell*; 136:701-18.
- Wang Z, Lin H. (2007). Sex-lethal is a target of Bruno-mediated translational repression in promoting the differentiation of stem cell progeny during *Drosophila* oogenesis. *Dev Biol*. 302:160-8.
- Wrischnik LA, Timmer JR, Megna LA, Cline TW. (2003). Recruitment of the proneural gene scute to the *Drosophila* sex-determination pathway. *Genetics*. 165:2007-27

- Wilkins, A.S. (1995). Moving up the Hierarchy: A Hypothesis on the Evolution of a Genetic Sex Determination Pathway. *Bioessays*.17 (1): 71–77.
- Wolff, Jennifer Ross, and David Zarkower. (2008). *Chapter 1 Somatic Sexual Differentiation in Caenorhabditis elegans*. Vol. 83. USA. Elsevier Inc.
- Younger-Shepherd S, Vaessin H, Bier E, Jan LY, Jan YN. (1992). deadpan, an essential pan-neural gene encoding an HLH protein, acts as a denominator in *Drosophila* sex determination. *Cell*. 70:1-20
- Zarkower, D., (2006). Somatic sex determination, WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi/10.1895/wormbook.1.84.1, <http://www.wormbook.org>.
- Zhu C, Urano J, Bell LR. (1997). The Sex-lethal early *splicing* pattern uses a default mechanism dependent on the alternative 5' splice sites. *Mol Cell Biol*. 17:1674-81.

# Tentang Penulis

## **Dr. Dwi Rini Kurnia Fitri, M.Si**

Penulis lahir di Padang, 21 April 1982, putri dari pasangan Amrin (Alm) dan Syarfini Aslim, A.Ma.Pd. Menyelesaikan pendidikan di SDN 20 Piai tahun 1994, SMPN 24 Padang tahun 1997 dan SMAN 4 Padang tahun 2000. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan pada Jurusan Biologi, Universitas Andalas, Padang dan memperoleh gelar Sarjana Sains pada tahun 2005, Magister Sains pada tahun 2007 dan Doktor pada tahun 2021, dengan bidang kajian entomologi. Penulis juga merupakan pengurus pada Perhimpunan Entomologi Indonesia (PEI) Cabang Sumatera Barat, sebagai Komisariat pada UIN Mahmud Yunus Batusangkar.

Penulis adalah dosen tetap di Jurusan Tadris Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan, UIN Mahmud Yunus Batusangkar sejak tahun 2008. Tulisan penulis diantaranya Oviposition and pupation site preference of *Hypolimnas bolina* L. (Nymphalidae) on *Laportea interrupta* (L.) Chew (Urticaceae) host plant (International Journal of Entomology Research, Volume 5; Issue 6; 2020; Page No. 128-133) dan Effect of Artificial Diet on Immature Stage of the Great Eggfly, *Hypolimnas bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae) (Pakistan Journal of Biological Sciences, Volume 24; Issue 11; 2021; Page 1110-1118).

## **Dr. Rina Delfita, M.Si**

Penulis lahir di Sigiran, Agam tanggal 15 Agustus 1979, dari ayah Naziri dan Ibu Gustinar. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Inpres Malalak (1986-1992). Melanjutkan pendidikan menengah pertama ke MTsN Balingka (1992-1995), dan pendidikan menengah atas ke MAN 2 Bukittinggi (1995-1998). Penulis menyelesaikan

Sarjana Sains (S.Si) di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas pada tahun 2004. Kemudian menyelesaikan Magister Sains tahun 2008 dan Program Doktor (S3) di Program Studi Ilmu Biologi Universitas Andalas. Pada tahun 2009 menikah dengan Andrizal, MA dan dikaruniai tiga orang putra, M. Ghani al-Baroq, Adzka Adzkiya dan Gina Raudhatul Jannah.

Penulis sejak tahun 2009 sampai sekarang adalah dosen tetap di Program studi Tadris/Pendidikan Biologi Jurusan Tarbiyah dan Ilmu Keguruan IAIN Batusangkar. Penulis juga pernah menjadi staf pengajar di beberapa perguruan tinggi swasta di Sumatera Barat. Penulis juga pernah menjadi staf pengajar di beberapa bimbingan belajar di Sumatera Barat.

Sebagai seorang dosen, penulis cukup banyak mempublikasikan tulisan baik dalam buku ataupun jurnal terakreditasi ataupun non terakreditasi. Buku yang pernah diterbitkan adalah Fisiologi Hewan Jilid 1 (Stain Press, 2014), Fisiologi Hewan dalam Al quran: Mengerti Mukjizat Ilmiah Al Quran (Stain Press, 2015), Metabolisme Primer Tumbuhan: Proses Tumbuhan menghasilkan karbohidrat, Protein dan Lipid (Prenada Media, 2018) dan Fisiologi Hewan Komparatif (Prenada Media, 2019).