

Sistem CRISPR /Cas Teknologi Pengubahsuaian DNA

Dunia bioteknologi dikejutkan dengan penemuan teknologi baharu yang dinamakan CRISPR/Cas pada tahun 2012. Teknologi ini pada dasarnya membolehkan seseorang penyelidik mengubah suai asid deoksibonukleik (DNA) seseorang pesakit melalui penambahan atau penguguran jujukan DNA termutasi di dalam sel pesakit tersebut.

Teknologi ini merupakan adaptasi daripada sistem pertahanan semula jadi yang terdapat di dalam sel bakteria untuk

melawan jangkitan virus. Teknologi yang menggunakan sistem CRISPR/Cas ini diperkenalkan oleh sekumpulan saintis yang diketuai oleh Profesor Jennifer Doudna, ahli biokimia di Universiti California, Berkeley, Amerika Syarikat dan Profesor Emmanuelle Charpentier, Pengarah di Max Planck Unit for the Science of Pathogens, Berlin, Jerman.

"*Clustered regularly interspaced short palindromic repeats*" atau singkatannya CRISPR ialah sekumpulan jujukan DNA yang terdapat di dalam genom

organisma prokariot seperti bakteria dan *archaea*. Kumpulan jujukan DNA ini diperoleh daripada fragmen DNA virus yang pernah menjangkiti sesuatu sel prokariot dan jujukan ini digunakan untuk mengesan dan memusnahkan DNA virus lain yang seumpamanya sekiranya jangkitan virus berlaku lagi.

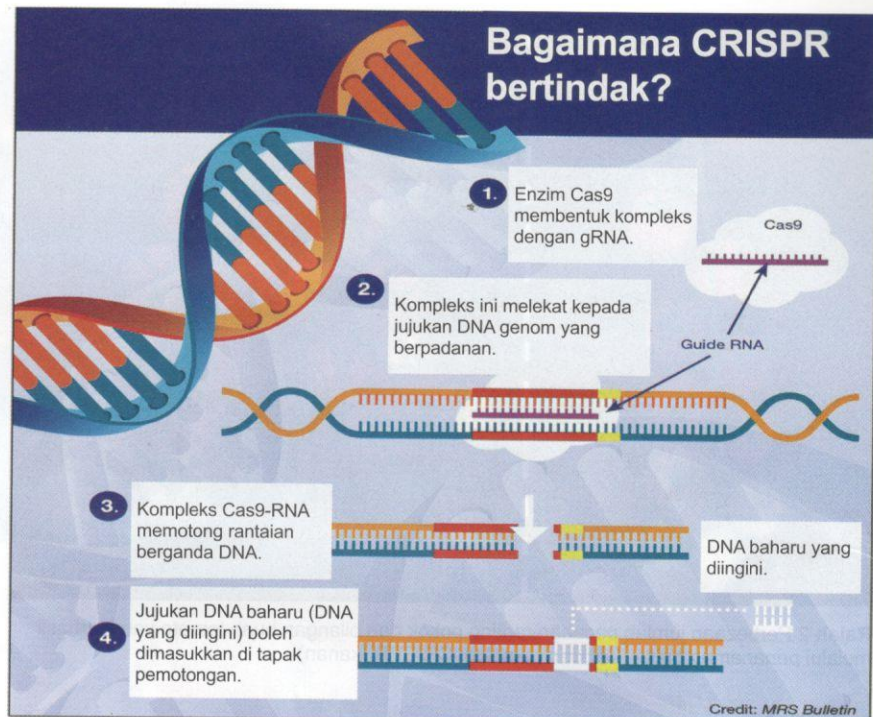
Oleh itu, jujukan DNA ini memainkan peranan penting dalam sistem pertahanan antivirus

di dalam sel prokariot. "CRISPR-associated protein 9" atau "Cas9" ialah sejenis enzim yang dihasilkan di dalam bakteria *Streptococcus pyogenes*. Enzim bertindak dengan menggunakan jujukan DNA CRISPR sebagai "panduan" untuk mengesan dan memusnahkan jujukan DNA lain yang spesifik dan berpadanan (*complement*) dengan jujukan DNA CRISPR.

Enzim Cas9 berserta jujukan DNA CRISPR digunakan sebagai asas dalam teknologi yang dinamakan "CRISPR-Cas9" yang boleh digunakan untuk mengubah suai gen di dalam sesuatu organisma.

Secara ringkasnya, dengan memasukkan kompleks gabungan Cas9 *nuclease* dan *guide RNA* (gRNA) sintetik ke dalam sesuatu sel, genom sel tersebut boleh dipotong pada mana-mana kedudukan/ lokasi yang diinginkan, seterusnya membolehkan jujukan DNA sedia ada dibuang daripada genom atau jujukan DNA baharu ditambah ke dalam genom (rujuk Rajah 1).

Teknologi pengubahsuaian DNA ini berpotensi untuk pelbagai kegunaan terutamanya bagi rawatan penyakit, kajian asas biologi, pembangunan produk berasaskan bioteknologi dan pertanian. Antara contoh kegunaan teknologi CRISPR ini termasuklah perakam DNA (*DNA tape recorders*); makanan bebas alergi; biji kopi ternyah kafein; tomato



Rajah 1 Ringkasan proses pengubahsuaian jujukan DNA menggunakan CRISPR-Cas9.

pedas; peningkatan hasil tanaman; penghasilan ikan yang lebih berkhasiat; pembasmian serangga atau makhluk perosak; pembiakbakaan haiwan peliharaan; melahirkan kuda lumba yang lebih tangkas berlari; bahan api hijau; dan nyah kepupusan (*de-extinction*).

Perakam DNA

Saintis di Universiti Harvard University sedang menjalankan kajian untuk menghasilkan kaedah molekular yang dinamakan CAMERA, iaitu singkatan kepada "CRISPR-mediated analogue multi-event recording apparatus". CAMERA akan bertindak sebagai perakam bagi semua aktiviti yang berlaku sepanjang hayat sesuatu sel, contohnya pendedahan kepada antibiotik, nutrien, virus dan cahaya.

Makanan Bebas Alergi

Sebahagian besar penduduk dunia mengalami masalah alahan terhadap makanan seperti susu, telur atau

kekacang. Dengan teknologi CRISPR, masalah ini dapat diatasi dengan mudah melalui penghasilan susu, telur, dan kekacang yang selamat untuk dimakan oleh semua orang.

Biji Kopi Ternyah Kafein

Sebuah syarikat di United Kingdom menghasilkan variasi biji kopi ternyah kafein secara semula jadi. Kaedah ini dihasilkan melalui pengubahsuaian DNA dengan menggunakan teknologi CRISPR, iaitu gen yang menghasilkan kafein telah dipadamkan. Kopi variasi baharu tanpa kafein ini dijangkakan mempunyai impak yang positif pada rasa kopi tersebut, kandungan nutrisi dan kos penghasilan kopi ternyah kafein.

Tomato Pedas

Sekumpulan saintis di Brazil dan Ireland menggunakan teknologi CRISPR untuk menghasilkan "tomato pedas" yang pertama seumpamanya. Kandungan DNA tomato ini telah diubah suai untuk



Rajah 2 Perbezaan jumlah pecahan ranting pokok dan bilangan buah tomato yang terhasil melalui penanaman biasa (kiri) dan teknologi CRISPR (kanan).

membawa gen yang menghasilkan *capsaicin*, yakni sejenis bahan yang menyebabkan lada berasa pedas. Penghasilan tomato pedas ini adalah untuk menangani kesukaran yang dihadapi dalam penanaman lada. Lada memerlukan persekitaran yang spesifik dan hasil tanaman lada lazimnya adalah lebih rendah daripada tomato.

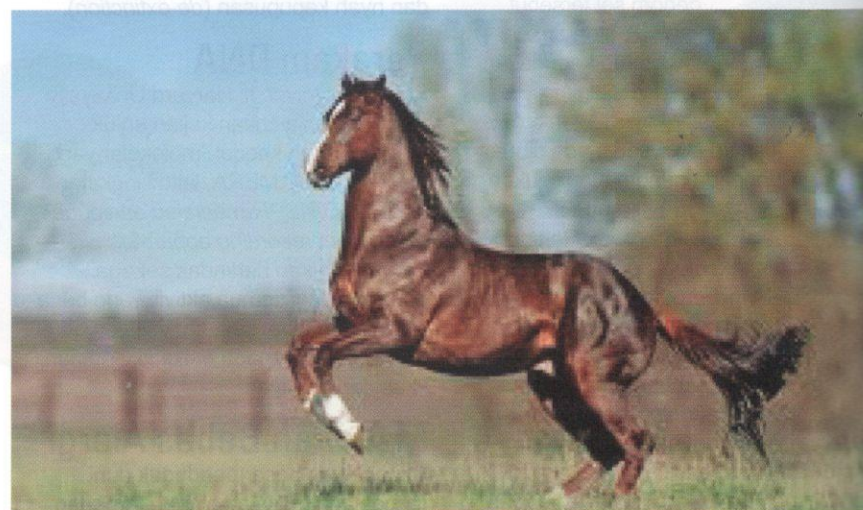
Peningkatan Hasil Tanaman

Sekumpulan saintis daripada Cold Spring Harbor Laboratory di New York menggunakan teknologi CRISPR untuk meningkatkan hasil penanaman tomato. Mereka membangunkan kaedah untuk mengubah suai DNA yang menentukan saiz buah tomato, jumlah pecahan ranting pokok (rujuk Rajah 2), dan bentuk sesuatu pokok yang mampu meningkatkan penghasilan buah tomato.

Penghasilan Ikan yang Lebih Berkhasiat

Sekumpulan penyelidik di Norway menggunakan teknologi CRISPR

untuk menghasilkan ikan salmon yang mempunyai tumbesaran yang lebih baik serta tidak mudah dijangkiti penyakit. Pada masa hadapan, CRISPR juga akan digunakan untuk meningkatkan kandungan omega-3 bagi menghasilkan ikan yang lebih sihat dan berkhasiat.



Teknologi CRISPR boleh menghasilkan baka kuda lumba yang tangkas.

Pembasmian Serangga atau Makhluk Perosak

CRISPR juga boleh digunakan dalam usaha untuk mengawal jumlah serangga atau makhluk perosak lain yang merupakan pembawa penyakit. Sebagai contoh, sekumpulan penyelidik di Imperial College London menjalankan kajian dan membuktikan bahawa CRISPR boleh digunakan untuk membasmi spesies nyamuk pembawa malaria. Mereka telah memasukkan satu gen, yakni sekiranya generasi sebelumnya (ibu dan bapa) ialah pembawa gen tersebut, maka generasi yang berikutnya (anak betina) akan hilang keupayaan untuk bertelur. Kumpulan penyelidik ini menjalankan percubaan dan melaporkan bahawa seluruh populasi nyamuk kajian itu telah lenyap seawal keturunan ketujuh selepas dimasukkan gen kajian tersebut.

Pembiakbakaan Haiwan Peliharaan

Teknologi ini boleh digunakan untuk menghentikan penyakit genetik yang sering dihadapi oleh haiwan peliharaan, misalnya penyakit batu karang yang



Haiwan terancam, *woolly mammoth*.

disebabkan oleh masalah genetik yang sering terjadi dalam kalangan baka anjing Dalmatian. Selain itu, CRISPR mungkin boleh digunakan untuk menghasilkan baka ikan koi mengikut saiz, warna, dan corak yang diingini.

Melahirkan Kuda Lumba yang Lebih Tangkas

Sebuah syarikat di Argentina menggunakan teknologi CRISPR untuk menghasilkan kuda lumba yang lebih laju dan tangkas berlari, lebih kuat dan boleh membuat lompatan yang lebih baik. Mereka kini dalam usaha untuk menghasilkan embrio kuda yang kandungan DNA telah diubah suai dan dapat membantu pertumbuhan otot anak kuda yang akan dilahirkan kelak.

Bahan Api Hijau

Pengubahsuaian DNA juga boleh dilakukan bagi meningkatkan penghasilan bahan api daripada alga. Hingga kini, alga dilaporkan tidak menghasilkan jumlah lemak yang mencukupi untuk penghasilan biodiesel. Dengan adanya teknologi CRISPR, sebuah syarikat bahan api telah menghasilkan sejenis alga yang mampu memperoleh dua kali ganda lemak dengan membuang gen semula jadi yang mengehadkan penghasilan lemak di dalam alga dan alga baharu ini akan digunakan untuk meningkatkan penghasilan bahan api biodiesel.

Nyah Kepupusan

Nyah kepupusan merujuk usaha mengembalikan semula spesies

haiwan yang telah pupus. Sebagai contoh, pada tahun 2017, sekumpulan penyelidik di Universiti Harvard telah menyatakan hasrat untuk menggunakan teknologi CRISPR bagi menggabungkan kandungan genetik daripada gajah Asia (satu daripada spesies terancam) dan *woolly mammoth*. Embrio yang terhasil daripada gabungan kedua-dua genom haiwan ini akan dimasukkan ke dalam gajah Asia sehingga haiwan kacukan tersebut lahir. Haiwan kacukan tersebut diramalkan mempunyai ciri-ciri yang sama dengan *mammoth*. Selain *mammoth*, saintis kini dalam usaha untuk mengembalikan burung merpati penumpang atau merpati liar (*passenger pigeon*) yang merupakan burung Amerika Utara yang sudah pupus. ^[2]