The
CLEAN PAPER

WHAT THE PAPER SAYS · WHAT IT DOESN'T · WHY IT MATTERS

Keluarga baru sistem berpanduan RNA yang menarget DNA — berbeda dari CRISPR, dan belum menjadi alat penyunting gen

Dengan menambang genom mikroba, peneliti menemukan TIGR-Tas, keluarga sistem berpanduan RNA yang sebelumnya tidak diketahui dan dapat memotong DNA — memakai panduan dua bagian tanpa lokasi pendaratan 'PAM', berbeda dari CRISPR. Mereka menunjukkan satu versi dapat diprogram untuk menyunting sel manusia, tetapi hanya dengan efisiensi rendah, dan menelusuri hubungan evolusioner mendalam keluarga ini dengan mesin berpanduan RNA lain. Ini benar-benar memperluas apa yang kita ketahui tentang biologi berpanduan RNA dan mungkin menjadi titik awal baru bagi alat masa depan — penemuan sains dasar dan bukti konsep, bukan penyunting gen matang atau terapi.

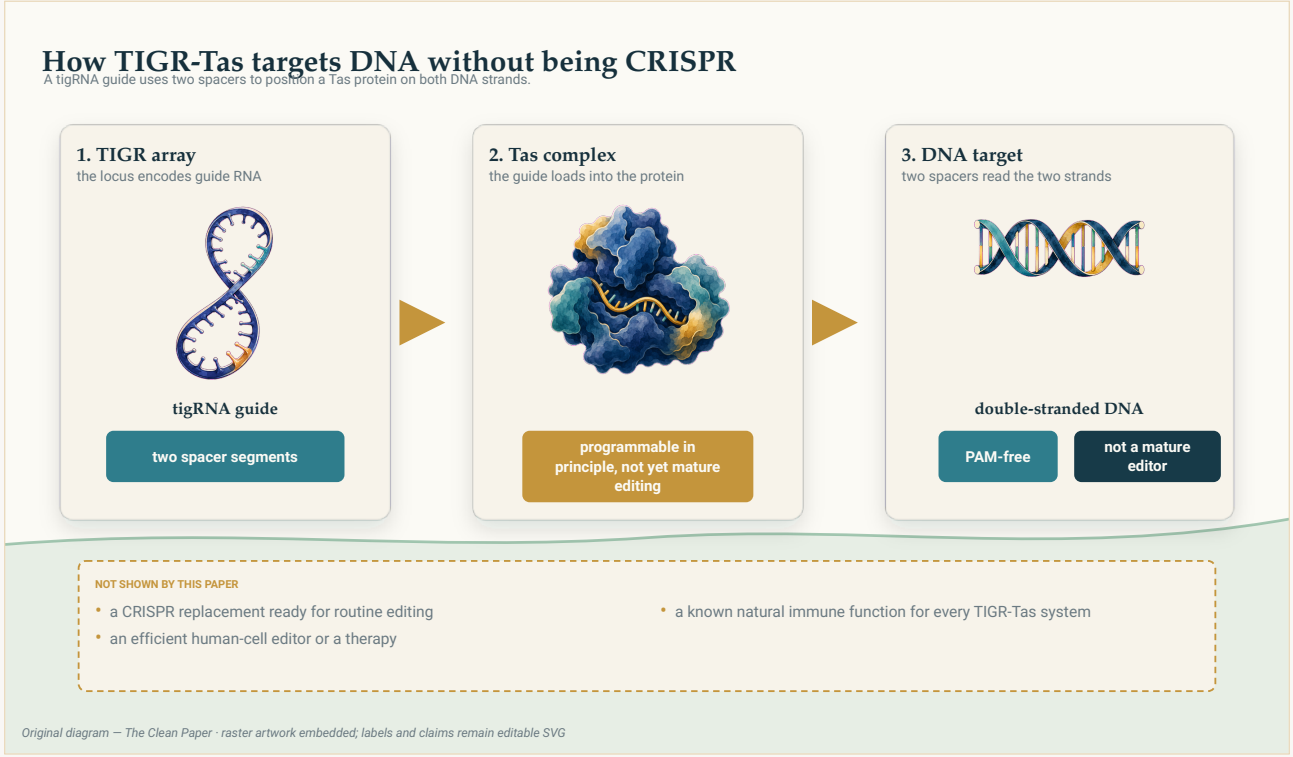
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

Paper: *TIGR-Tas: A Family of Modular RNA-Guided DNA-Targeting Systems in Prokaryotes and Their Viruses*, Guilhem Faure, Makoto Saito, Max E. Wilkinson et al.; Feng Zhang (corresponding author), Science 388, 6746, eadv9789 (2025) · DOI: 10.1126/science.adv9789

Cabang baru pada pohon mesin yang dipandu RNA

Sesekali sebuah makalah biologi datang dengan judul berita yang tidak pernah dimintanya. Untuk yang satu ini, judul itu adalah “CRISPR baru”. Pekerjaan sebenarnya lebih menarik daripada itu — dan, seperti biasa, lebih sederhana.

Mulailah dengan hal yang membuat CRISPR terkenal: sebuah *sistem yang dipandu RNA*. Triknya adalah protein tidak perlu sejak awal “dikabelkan” untuk mengenali satu target tertentu. Sebaliknya, protein membawa sepotong RNA pendek — panduan — lalu menuju tempat urutan panduan tersebut cocok. Ganti panduannya, ganti targetnya. Kemampuan diprogram inilah alasan CRISPR menjadi alat. Namun CRISPR bukan satu-satunya sistem berpanduan RNA di alam, dan pertanyaan sabar yang diajukan makalah ini adalah: ada berapa banyak *jenis lain*, dan apa yang dapat mereka ajarkan kepada kita?



TIGR-Tas memakai panduan dengan dua spacer untuk membaca dua untai DNA yang berlawanan. Itu adalah arsitektur baru, bukan penyunting gen siap pakai.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

Untuk mencarinya, para penulis tidak berburu urutan gen yang mirip — urutan terlalu banyak berubah sepanjang evolusi sehingga kerabat jauh sulit dikenali. Mereka mencari *bentuk*. Berangkat dari bagian protein Cas9 milik CRISPR yang mencengkeram RNA panduannya, mereka menelusuri basis data struktur protein yang diprediksi untuk mencari apa pun yang dibangun dengan pola serupa. Jejak itu membawa — melalui sebuah “gen pelompat” bakteri dan bagian mesin yang dipakai sel biasa untuk memodifikasi RNA mereka sendiri secara kimia — ke sesuatu yang benar-benar baru.

Apa yang dilakukan para penulis

Pencarian struktur menemukan keluarga protein yang sebelumnya tidak dikenali, terutama dikodekan oleh bakteriofag (virus yang menginfeksi bakteri), virus archaea, dan bakteri parasit berukuran sangat kecil. Setiap protein berada di sebelah bentangan DNA khas: susunan berulang panjang yang dinamai penulis **TIGR array** (Tandem Interspaced Guide RNA). Proteinnya mereka sebut **Tas** (TIGR-associated). Sebagian protein Tas hanya terdiri atas bagian yang mencengkeram RNA; yang lain memiliki alat pemotong DNA — salah satu dari dua jenis gunting molekuler (RuvC atau HNH) — yang dipasang pada protein tersebut.

Setelah menemukan keluarga itu di basis data, mereka membawanya ke laboratorium: mengekspresikan sistem pada *E. coli* dan melakukan sequencing RNA kecil yang dihasilkan, menentukan aturan bagaimana RNA tersebut menemukan target DNA, menguji apakah versi yang memiliki pemotong benar-benar memotong, mencoba memprogram salah satunya untuk menyunting sel manusia, lalu akhirnya membekukan kompleks yang sedang bekerja dan mencitrakan strukturnya pada resolusi mendekati atom.

Apa yang mereka temukan

Panduan terdiri atas dua bagian. TIGR array diproses menjadi RNA pendek sekitar 36 nukleotida, masing-masing membawa *dua* segmen penargetan terpisah. Satu segmen membaca satu untai DNA target; segmen lain membaca untai berlawanan. Keduanya bekerja bersama untuk mengunci satu lokasi. Ini benar-benar berbeda secara mekanistik dari CRISPR, yang panduannya cocok dengan satu untai dalam satu bentangan kontinu.

Dan ia tidak memerlukan "landasan pendaratan". Banyak nuklease CRISPR hanya dapat memotong di sebelah motif DNA pendek tertentu (sebuah "PAM") yang berada di samping target — batasan yang menentukan ke mana alat itu bisa diarahkan. Sistem TIGR tidak menunjukkan kebutuhan seperti itu: mereka mengandalkan urutan target itu sendiri. Secara prinsip, sistem tanpa PAM dapat diarahkan ke lebih banyak lokasi.

Versi pemotong benar-benar memotong, dengan presisi. Dipandu RNA kecil tersebut, protein Tas yang membawa RuvC atau HNH membuat patahan DNA yang bersih dan spesifik terhadap urutan — dan tidak melakukan apa pun tanpa panduan.

Satu versi dapat diprogram untuk menyunting sel manusia — tetapi nyaris saja. Ketika dipindahkan ke sel manusia dalam kultur dan diarahkan ke enam gen berbeda, salah satu protein Tas benar-benar menghasilkan penyuntingan, membuktikan bahwa sistem juga dapat diprogram dalam sel kita. Namun efisiensinya rendah: paling baik hanya beberapa persen sel. Sebagai perbandingan, alat CRISPR modern yang telah dioptimalkan rutin menyunting sebagian besar sel tempat alat itu dimasukkan. Ini bukti bahwa sistem *bisa* bekerja, bukan alat yang *sudah bekerja dengan baik*.

Strukturnya menjelaskan mekanisme — dan memberi petunjuk tentang asal-usulnya. Kompleks yang dicitrakan terdiri atas sepasang protein simetris seperti cermin yang menjepit RNA panduan

berbentuk angka delapan, sementara DNA target dibengkokkan melalui tikungan tajam. Menariknya, arsitektur ini sangat mirip dengan mesin yang ditemukan pada kerabat sel kita sendiri — box C/D "snoRNP", yang memandu modifikasi kimia pada RNA alih-alih memotong DNA.

Pekerjaan alaminya belum jelas. Ketika para penulis mengekspresikan satu sistem dalam *E. coli*, sistem itu *tidak* menangkis virus atau plasmid yang masuk — pekerjaan utama CRISPR. Sebaliknya, sistem secara bertahap menghilangkan plasmid yang ditargetkan selama banyak generasi, memberi petunjuk bahwa fungsi aslinya mungkin berada pada kompetisi lambat antara elemen DNA bergerak, bukan pertahanan imun garis depan. Namun ini dilakukan di lingkungan pinjaman dan buatan, dan jawaban jujurnya adalah belum ada yang tahu apa sebenarnya fungsi sistem ini di alam.

Apa arti yang paling mungkin

Ada dua hal, dengan tingkat keyakinan berbeda.

Yang solid: dunia sistem berpanduan RNA yang diketahui ternyata lebih besar dan lebih beragam daripada CRISPR dan kerabat yang baru ditemukan. TIGR-Tas adalah cabang yang benar-benar berbeda, dengan cara dua bagian tanpa PAM untuk mengenali DNA. Itu penambahan nyata pada peta biologi.

Yang lebih dalam dan lebih spekulatif: karena mesin TIGR dibangun mirip snoRNP yang memodifikasi RNA dalam sel seperti kita, dan mirip sebuah "gen pelompat" yang sudah dikenal, sistem ini mungkin menandai hubungan evolusioner antara sistem berpanduan RNA yang *memodifikasi RNA* dan sistem berpanduan RNA yang *menargetkan DNA* — mungkin satu potongan yang hilang dari cerita bagaimana panduan RNA yang dapat diprogram muncul di berbagai cabang kehidupan.

Apa yang *tidak* dibuktikan

- Ini **bukan alat penyunting gen yang siap digunakan**. Penyuntingan pada sel manusia memang ditunjukkan tetapi lemah — paling baik beberapa persen. Itu bukti kemampuan diprogram, bukan editor matang, dan masih sangat jauh dari sesuatu yang bersifat klinis.
- Ini **bukan "CRISPR 2.0."** Jika diukur sebagai alat hari ini, CRISPR-Cas9 jauh lebih efisien. TIGR-Tas adalah *arsitektur* baru pada tahap bukti konsep, bukan versi lebih baik dari produk yang sudah ada.
- **Peran biologis alaminya belum diketahui.** Sistem tidak bertindak sebagai sistem imun antivirus pada satu tes terhadap gagasan tersebut; "sistem imun bakteri baru" belum terbukti.
- Banyak bagian **mekanisme dasar masih terbuka** — termasuk bagaimana RNA panduan dipotong ke panjang akhirnya, dan apa target sistem ini di alam (sebagian besar hidup pada mikroba yang nyaris tidak dapat kita kultur).
- **Tidak ada terapi di sini.** Ini adalah penemuan dan karakterisasi pada mikroba dan kultur sel — tidak ada penyakit, pengobatan, atau pasien.

Seberapa kuat buktinya?

Penemuannya sendiri berdiri di atas dasar kuat dan tidak biasa karena didukung dari banyak arah: penambangan struktur skala besar, lalu konfirmasi laboratorium tentang bagaimana RNA dibuat dan bagaimana ia menemukan serta memotong DNA, kemudian struktur kompleks yang sedang bekerja pada resolusi mendekati atom, ditambah uji pada sel manusia. Klaim "ini adalah keluarga baru dan berbeda dari sistem berpanduan RNA yang menargetkan DNA" didukung baik oleh beberapa jalur bukti sekaligus.

Yang masih *sangat dini* adalah segala sesuatu tentang kegunaannya: penyuntingan berhasil tetapi nyaris saja, dan seluruh proses optimasi yang mengubah CRISPR dari rasa ingin tahu biologis menjadi alat masih berada di depan TIGR. Yang bersifat *inferensial* adalah sisa ceritanya — peran alami merupakan dugaan masuk akal dari eksperimen buatan, dan hubungan evolusioner, meskipun elegan, adalah argumen dari kesamaan struktur, bukan sejarah yang telah dipastikan. Makalah cukup hati-hati membedakan keduanya.

Mengapa ini penting

Beberapa perluasan katalog sistem berpanduan RNA sebelumnya akhirnya membuahkan hasil besar. Sistem di balik alat hari ini — Cas9, Cas12, Cas13, lalu protein IscB/OMEGA yang lebih kecil dan Fanzor eukariotik — pada awalnya masing-masing hanyalah biologi yang baru dideskripsikan. Tidak satu pun datang sebagai alat jadi. Sistem dengan panduan dua bagian dan tanpa kebutuhan PAM merupakan titik awal yang benar-benar berbeda, dan penargetan tanpa PAM adalah jenis fleksibilitas yang sangat dihargai pembuat alat.

Namun hasil yang lebih tenang mungkin justru lebih penting daripada prospek alatnya. Dengan menghubungkan sistem pemotong DNA ke mesin snoRNP pengedit RNA dan ke gen pelompat, pekerjaan ini menggambar kemungkinan benang yang menghubungkan sistem berpanduan RNA yang sangat berbeda di seluruh pohon kehidupan. Temuan semacam itu dapat mengatur ulang cara sebuah bidang memahami dari mana alat-alatnya berasal — yang dalam jangka panjang lebih bernilai daripada satu lagi judul tentang gunting molekuler.

Singkatnya

Dengan mencari *bentuk* protein alih-alih urutannya, para peneliti menemukan TIGR-Tas: keluarga sistem berpanduan RNA penarget DNA yang sebelumnya tidak diketahui, terutama terdapat pada virus bakteri dan bakteri parasit. RNA panduannya tidak biasa — sekitar 36 nukleotida dengan dua segmen penargetan terpisah yang membaca dua untai DNA berlawanan — dan, berbeda dari CRISPR, tidak memerlukan motif "PAM" di sebelah target. Anggota yang memiliki nuklease memotong DNA secara presisi, salah satunya dapat diprogram untuk menyunting sel manusia (meski hanya dengan efisiensi beberapa persen), dan struktur mendekati atom memperlihatkan kompleks yang dibangun

mirip mesin snoRNP yang memodifikasi RNA dalam sel kita — mengisyaratkan hubungan evolusioner mendalam antara sistem berpanduan RNA pemodifikasi RNA dan penarget DNA. Ini perluasan nyata biologi berpanduan RNA dan mungkin kerangka awal bagi alat masa depan — penemuan sains dasar dan bukti konsep, **bukan** penyunting gen matang, bukan "CRISPR 2.0", dan bukan terapi. Pekerjaan alaminya di alam masih belum diketahui.

Penilaian tanpa berlebihan

Apa yang ditunjukkan makalah: Keluarga baru dan berbeda dari sistem berpanduan RNA penarget DNA (TIGR-Tas) pada prokariota dan virusnya, ditemukan melalui penambangan struktur; RNA panduan dua segmen tanpa PAM (~36 nt) yang menarget kedua untai DNA secara tandem; pemotongan DNA presisi berpanduan RNA oleh anggota yang memiliki nuklease; penyuntingan yang dapat diprogram pada sel manusia dengan efisiensi rendah (hingga beberapa persen); struktur cryo-EM mendekati atom; serta hubungan struktural/evolusioner dengan box C/D snoRNP dan transposon IS110.

Apa yang masuk akal tetapi belum terbukti: Peran biologis alami sistem (peran non-pertahanan dalam kompetisi elemen bergerak diusulkan dari satu eksperimen buatan); jembatan evolusioner antara sistem berpanduan RNA pemodifikasi RNA dan penarget DNA (argumen struktural).

Apa yang tidak ditunjukkan: Penyunting gen matang atau ber-efisiensi tinggi; keunggulan dibanding CRISPR sebagai alat; fungsi alami yang telah dikonfirmasi; bagaimana RNA panduan dimatangkan; aplikasi terapeutik apa pun.

Keterbatasan utama: Efisiensi penyuntingan sel manusia rendah (hanya bukti konsep); sebagian besar sistem hidup di metagenom yang sulit dipelajari sehingga target alami umumnya tidak diketahui; klaim peran biologis dan asal evolusioner bersifat inferensial; karakterisasi dilakukan pada mikroba dan kultur sel, bukan dalam konteks penyakit.

Seberapa besar keyakinan yang layak dimiliki pembaca umum? Keyakinan tinggi bahwa ini adalah keluarga baru dan benar-benar berbeda dari sistem berpanduan RNA penarget DNA, dengan mekanisme dua bagian tanpa PAM yang baru, dan bahwa wawasan struktural serta evolusionernya nyata. Keyakinan tinggi bahwa ini **bukan** alat penyunting gen siap pakai, bukan "CRISPR 2.0", dan bukan terapi. Keyakinan rendah pada fungsi alaminya dan seberapa jauh sistem akan berkembang sebagai alat. Sikap yang tepat: antusiasme nyata terhadap biologi baru dan kemungkinan mata rantai evolusioner yang hilang — serta kesabaran terhadap aplikasi, yang baru berada di awal sekali.

Sumber

Science 388, eadv9789 (2025)
https://doi.org/10.1126/science.adv9789

PubMed Central (PMC12045711)
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12045711/