The
CLEAN PAPER

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

Keluarga baharu sistem penyasaran DNA berpandukan RNA — berbeza daripada CRISPR, dan belum menjadi alat penyunting gen

Dengan melombong genom mikrob, penyelidik menemui TIGR-Tas, keluarga sistem berpandukan RNA yang sebelum ini tidak diketahui dan boleh memotong DNA — menggunakan panduan dua bahagian tanpa tapak pendaratan "PAM", tidak seperti CRISPR. Mereka menunjukkan satu versi boleh diprogram untuk menyunting sel manusia, tetapi hanya pada kecekapan rendah, dan menjejaki hubungan evolusi mendalam keluarga itu dengan mesin berpandukan RNA yang lain. Ia peluasan sebenar pengetahuan kita tentang biologi berpandukan RNA, dan mungkin titik mula baharu bagi alat masa depan — penemuan sains asas dan bukti konsep, bukan penyunting gen matang atau terapi.

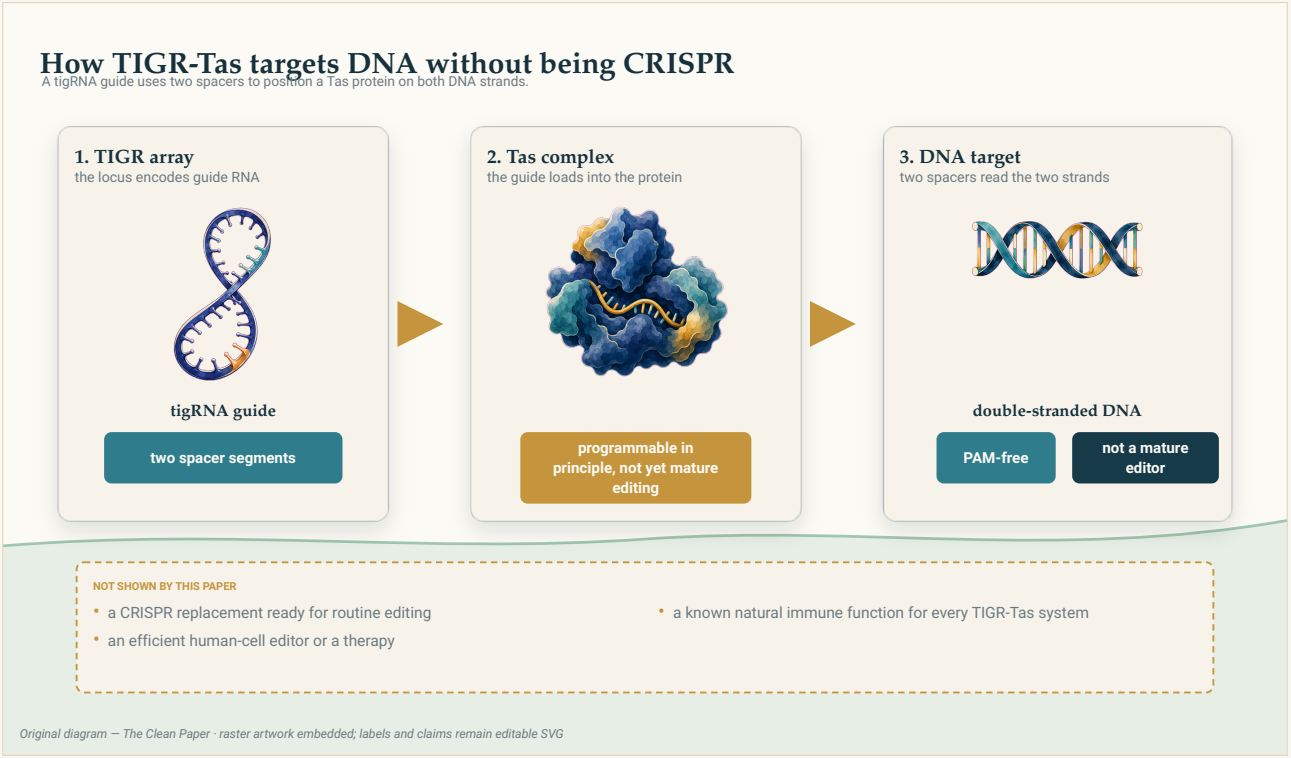
Written by Lucio Vaglio · Cross-checked by Laura Nesso · Edited by Michele Renda · Figures by Laura Nesso and Nova Vela · AI-assisted, human-reviewed

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 baharu pada pokok mesin berpandukan RNA

Sesekali muncul kertas biologi dengan tajuk berita yang tidak pernah dimintanya. Untuk yang ini, tajuknya ialah “CRISPR baharu.” Kerja di sebaliknya lebih menarik daripada itu — dan, seperti biasa, lebih sederhana.

Mulakan dengan perkara yang dipopularkan CRISPR: *sistem berpandukan RNA*. Helahnya ialah protein tidak perlu diprogram secara kekal untuk mengenali satu sasaran. Sebaliknya ia membawa secebis RNA pendek — panduan — dan pergi ke mana-mana urutan panduan itu sepadan. Tukar panduan, tukar sasaran. Kebolehprograman itulah sebab utama CRISPR menjadi alat. Tetapi CRISPR bukan satu-satunya sistem berpandukan RNA dalam alam semula jadi, dan soalan kertas ini ialah soalan yang sabar: berapa banyak *jenis lain* yang wujud, dan apa yang boleh kita pelajari daripadanya?



TIGR-Tas menggunakan panduan dua spacer untuk membaca helaian DNA yang bertentangan. Itu seni bina baharu, bukan penyunting gen siap guna.

Original diagram — The Clean Paper CC BY 4.0

Untuk mencarinya, para penulis tidak mencari urutan gen yang sepadan — urutan berubah terlalu banyak sepanjang masa evolusi untuk mendedahkan saudara jauh. Mereka mencari *bentuk*. Bermula daripada bahagian protein Cas9 CRISPR yang memegang RNA panduannya, mereka menyelidik pangkalan data struktur protein ramalan untuk apa-apa yang dibina dengan cara serupa. Jejak itu membawa — melalui “gen melompat” bakteria dan sebahagian mesin yang digunakan sel biasa untuk mengubah RNA sendiri secara kimia — kepada sesuatu yang benar-benar baharu.

Apa yang dilakukan oleh para penulis

Carian struktur menemui keluarga protein yang sebelum ini tidak dikenali, dikodkan terutamanya dalam bakteriofaj (virus yang menjangkiti bakteria), virus arkea dan bakteria parasit yang sangat kecil. Setiap satu terletak bersebelahan regangan DNA yang tersendiri: satu tatasusunan panjang dan berulang yang dinamakan para penulis sebagai **tatasusunan TIGR** (Tandem Interspaced Guide RNA). Mereka menamakan protein tersebut **Tas** (TIGR-associated). Sesetengah protein Tas hanyalah bahagian yang memegang RNA; yang lain mempunyai alat pemotong DNA — salah satu daripada dua jenis gunting molekul (dipanggil RuvC atau HNH) — dipasang padanya.

Selepas menemui keluarga itu dalam pangkalan data, mereka membawanya ke makmal: mereka mengekspresikan sistem dalam *E. coli* dan menjujuk RNA kecil yang dihasilkan, menentukan aturan bagaimana RNA itu mencari sasaran DNA, menguji sama ada versi pemotong benar-benar memotong, mencuba memprogram satu sistem untuk menyunting sel manusia, dan akhirnya membekukan kompleks yang sedang berfungsi serta mengimej strukturnya pada resolusi hampir atom.

Apa yang mereka temui

Panduan datang dalam dua bahagian. Tatasusunan TIGR diproses menjadi RNA pendek kira-kira 36 huruf, masing-masing membawa *dua* segmen penyasaran berasingan. Satu segmen membaca satu helaian DNA sasaran; satu lagi membaca helaian yang bertentangan. Kedua-duanya bekerja serentak untuk menetapkan tapak. Ini perbezaan mekanistik sebenar daripada CRISPR, yang panduannya sepadan dengan satu helaian dalam satu regangan berterusan.

Dan ia tidak memerlukan "landasan pendaratan." Banyak nuklease CRISPR hanya boleh memotong bersebelahan motif DNA pendek khusus ("PAM") di sebelah sasaran — kekangan yang mengehadkan tempat ia boleh diarahkan. Sistem TIGR tidak menunjukkan keperluan sedemikian: ia bergantung pada urutan sasaran sahaja. Sistem tanpa PAM, pada prinsipnya, boleh diarahkan ke lebih banyak tempat.

Versi pemotong memang memotong dengan tepat. Dipandu RNA kecil tersebut, protein Tas yang membawa RuvC atau HNH menghasilkan pemutusan DNA yang bersih dan khusus urutan — dan tidak melakukan apa-apa tanpa panduan.

Satu versi boleh diprogram untuk menyunting sel manusia — tetapi hampir tidak. Apabila dipindahkan ke dalam sel manusia dalam piring dan diarahkan kepada enam gen berbeza, satu protein Tas memang menghasilkan suntingan, mengesahkan bahawa sistem itu juga boleh diprogram dalam sel kita. Tetapi kecekapannya rendah: paling baik beberapa peratus sel. Sebagai perbandingan, alat CRISPR teroptimum hari ini secara rutin menyunting sebahagian besar sel yang dimasukkan kepadanya. Ini bukti bahawa ia *boleh* berfungsi, bukan alat yang berfungsi *dengan baik*.

Struktur menerangkan mekanisme — dan memberi petunjuk tentang asal-usulnya. Kompleks yang diimej ialah pasangan protein simetri cermin yang memegang RNA panduan berbentuk angka

lapan, dengan DNA sasaran dibengkokkan melalui selekoh tajam. Yang menarik, seni bina itu sangat menyerupai mesin yang terdapat dalam saudara sel kita sendiri — "snoRNP" box C/D, yang memandu pengubahsuaian kimia kepada RNA dan bukannya memotong DNA.

Tugas semula jadinya tidak jelas. Apabila para penulis mengekspresikan satu sistem dalam *E. coli*, ia *tidak* menangkis virus atau plasmid yang menyerang — tugas harian CRISPR. Sebaliknya, ia secara beransur-ansur menghapuskan plasmid sasaran sepanjang banyak generasi, memberi petunjuk bahawa peranan sebenar mungkin dalam persaingan perlahan antara unsur DNA bergerak dan bukannya pertahanan imun barisan hadapan. Tetapi ini persekitaran pinjaman yang buatan, dan jawapan jujur ialah tiada siapa tahu lagi apa yang dilakukan sistem ini di alam liar.

Apa yang mungkin dimaksudkannya

Dua perkara, pada tahap keyakinan berbeza.

Yang kukuh: dunia sistem berpandukan RNA yang diketahui lebih besar dan lebih pelbagai daripada CRISPR dan saudara yang baru ditemui. TIGR-Tas ialah cabang yang benar-benar berbeza, dengan cara pengecaman DNA dua bahagian dan bebas PAM tersendiri. Itu tambahan sebenar kepada peta.

Yang lebih dalam dan lebih spekulatif: kerana mesin TIGR dibina seperti snoRNP yang menyunting RNA dalam sel seperti kita, dan seperti satu "gen melompat" yang diketahui, ia mungkin menandakan hubungan evolusi antara sistem berpandukan RNA yang *mengubah RNA* dengan sistem berpandukan RNA yang *menyasarkan DNA* — mungkin satu kepingan yang hilang dalam cerita bagaimana panduan RNA boleh diprogram muncul merentasi kehidupan.

Apa yang *tidak* dibuktikan oleh kajian ini

- Ia **bukan alat penyunting gen yang siap digunakan**. Penyuntingan dalam sel manusia telah ditunjukkan tetapi lemah — beberapa peratus sahaja pada tahap terbaik. Itu bukti kebolehprograman, bukan penyunting matang, dan masih jauh daripada apa-apa penggunaan klinikal.
- Ia **bukan "CRISPR 2.0."** Diukur sebagai alat hari ini, CRISPR-Cas9 menyunting jauh lebih cekap. TIGR-Tas ialah *seni bina* baharu pada tahap bukti konsep, bukan versi lebih baik daripada produk sedia ada.
- **Peranan biologinya tidak diketahui.** Ia tidak bertindak sebagai sistem imun antivirus dalam satu ujian idea tersebut; "sistem imun bakteria baharu" belum ditetapkan.
- Banyak **mekanisme asas masih terbuka** — termasuk bagaimana RNA panduan dipotong kepada panjang akhir dan apa yang sebenarnya disasarkan sistem ini dalam alam semula jadi (kebanyakannya hidup dalam mikrob yang hampir tidak boleh kita kultur).
- **Tiada apa-apa terapeutik di sini.** Ini penemuan dan pencirian dalam mikrob dan kultur sel — tiada penyakit, tiada rawatan, tiada pesakit.

Sejauh mana kukuh buktinya?

Penemuan itu sendiri berada di atas asas kukuh, dan luar biasa lengkap: ia bersandar pada perlombongan struktur skala besar, diikuti pengesahan makmal tentang bagaimana RNA dibuat dan bagaimana ia mencari serta memotong DNA, kemudian struktur kompleks pada resolusi hampir atom ketika berfungsi, ditambah ujian sel manusia. Dakwaan "ini keluarga baharu yang berbeza bagi sistem penyasaran DNA berpandukan RNA" disokong dari beberapa arah serentak.

Yang *awal* ialah segala-galanya tentang kegunaan: penyuntingan berfungsi tetapi hampir tidak, dan semua pengoptimuman yang mengubah CRISPR daripada rasa ingin tahu menjadi alat masih belum bermula bagi TIGR. Yang *bersifat inferens* ialah bahagian selebihnya — peranan semula jadi ialah tekaan munasabah daripada eksperimen buatan, dan hubungan evolusi, walaupun elegan, ialah hujah daripada struktur yang dikongsi, bukan sejarah yang telah diputuskan. Kertas itu berhati-hati membezakan keduanya.

Mengapa ia penting

Beberapa peluasan katalog sistem berpandukan RNA terdahulu akhirnya membuahkan hasil. Sistem di sebalik alat hari ini — Cas9, Cas12, Cas13, dan lebih baru protein IscB/OMEGA yang lebih kecil serta Fanzor eukariotik — masing-masing pada awalnya hanyalah biologi baharu yang diterangkan. Tiada satu pun tiba sebagai alat siap. Sistem dengan panduan dua bahagian dan tanpa keperluan PAM ialah titik mula yang benar-benar berbeza, dan penyasaran bebas PAM tepat jenis fleksibiliti yang dihargai pembina alat.

Tetapi hasil yang lebih senyap mungkin lebih penting daripada prospek alat. Dengan menghubungkan sistem pemotong DNA kepada mesin snoRNP penyunting RNA dan kepada gen melompat, kerja ini melakarkan benang yang mungkin menyambungkan sistem berpandukan RNA yang sangat berbeza merentasi pokok kehidupan. Itu jenis penemuan yang menyusun semula cara sesuatu bidang memahami asal-usul alatnya — sesuatu yang dalam jangka panjang lebih bernilai daripada satu lagi tajuk tentang gunting.

Ringkasan utama

Dengan mencari *bentuk* protein dan bukannya urutan, penyelidik menemui TIGR-Tas: keluarga sistem penyasaran DNA berpandukan RNA yang sebelum ini tidak diketahui, ditemui terutamanya dalam virus bakteria dan bakteria parasit. RNA panduannya luar biasa — kira-kira 36 huruf dengan dua segmen penyasaran berasingan yang membaca helaian DNA bertentangan — dan, tidak seperti CRISPR, ia tidak memerlukan motif "PAM" bersebelahan. Anggota yang memotong DNA memotong dengan tepat, satu boleh diprogram untuk menyunting sel manusia (walaupun hanya pada kecekapan beberapa peratus), dan struktur hampir atom mendedahkan kompleks yang dibina seperti mesin snoRNP yang menyunting RNA dalam sel kita sendiri — mencadangkan hubungan

evolusi mendalam antara sistem berpandukan RNA yang mengubah RNA dan yang menyasarkan DNA. Ini peluasan sebenar biologi berpandukan RNA dan mungkin casis baharu untuk alat masa depan — penemuan sains asas dan bukti konsep, **bukan** penyunting gen matang, bukan "CRISPR 2.0," dan bukan terapi. Tugas semula jadinya di alam liar masih tidak diketahui.

Semakan tanpa gembar-gembur

Apa yang ditunjukkan oleh kertas ini: Keluarga baharu dan berbeza bagi sistem penyasaran DNA berpandukan RNA (TIGR-Tas) dalam prokariot dan virusnya, ditemui melalui perlombongan struktur; RNA panduan dua segmen tanpa PAM (~36 nt) yang menyasarkan kedua-dua helaian DNA secara serentak; pemotongan DNA tepat berpandukan RNA oleh anggota yang membawa nuklease; penyuntingan boleh diprogram dalam sel manusia pada kecekapan rendah (sehingga beberapa peratus); struktur cryo-EM hampir atom; serta kaitan struktur/evolusi dengan box C/D snoRNP dan transposon IS110.

Apa yang munasabah tetapi belum dibuktikan: Peranan biologi semula jadi sistem tersebut (peranan bukan pertahanan dalam persaingan unsur bergerak dicadangkan oleh satu eksperimen buatan); jambatan evolusi yang dicadangkan antara sistem berpandukan RNA yang mengubah RNA dan yang menyasarkan DNA (hujah struktur).

Apa yang tidak ditunjukkannya: Alat penyunting gen matang atau berkecekapan tinggi; kelebihan berbanding CRISPR sebagai alat; fungsi semula jadi yang disahkan; cara RNA panduan dimatangkan; sebarang aplikasi terapeutik.

Had utama: Kecekapan penyuntingan sel manusia rendah (bukti konsep sahaja); kebanyakan sistem hidup dalam metagenom yang sukar dikaji, jadi sasaran semula jadi sebahagian besarnya tidak diketahui; dakwaan peranan biologi dan asal evolusi bersifat inferens; pencirian dilakukan dalam mikrob dan kultur sel, bukan konteks penyakit.

Sejauh mana pembaca umum patut yakin? Tinggi bahawa ini keluarga baharu yang benar-benar berbeza bagi sistem penyasaran DNA berpandukan RNA dengan mekanisme dua bahagian tanpa PAM yang novel, dan bahawa pandangan struktur serta evolusi itu nyata. Tinggi juga bahawa ia **bukan** alat penyunting gen siap guna, bukan "CRISPR 2.0," dan bukan terapi. Rendah tentang peranan semula jadinya dan sejauh mana ia akan berkembang sebagai alat. Sikap yang sesuai: keterujaan sebenar terhadap biologi baharu dan kemungkinan pautan evolusi yang hilang — serta kesabaran tentang aplikasi, yang baru bermula.

Sumber

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

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