BIOTEKNOLOGI KEDOKTERAN

Oleh :

Titta Novianti

PENDAHULUAN

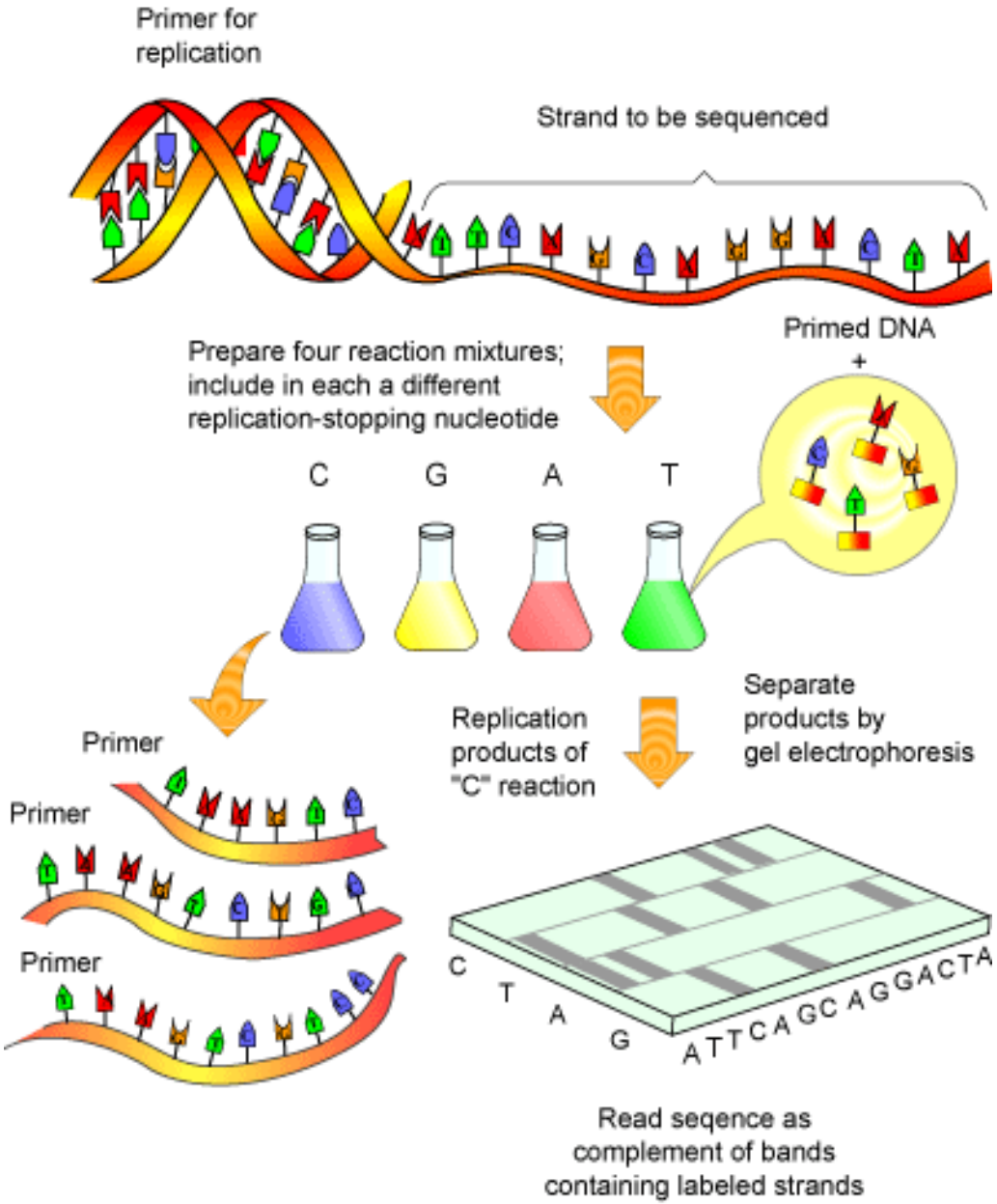
- Bioteknologi adalah penggunaan biokimia, mikrobiologi, dan rekayasa genetika secara terpadu, untuk menghasilkan barang atau lainnya bagi kepentingan manusia
- Rekayasa genetika merupakan aplikasi genetik dengan mentransplantasi gen dari satu organisme ke organisme lain.

- Bioteknologi sangat berkaitan dengan bidang ilmu :

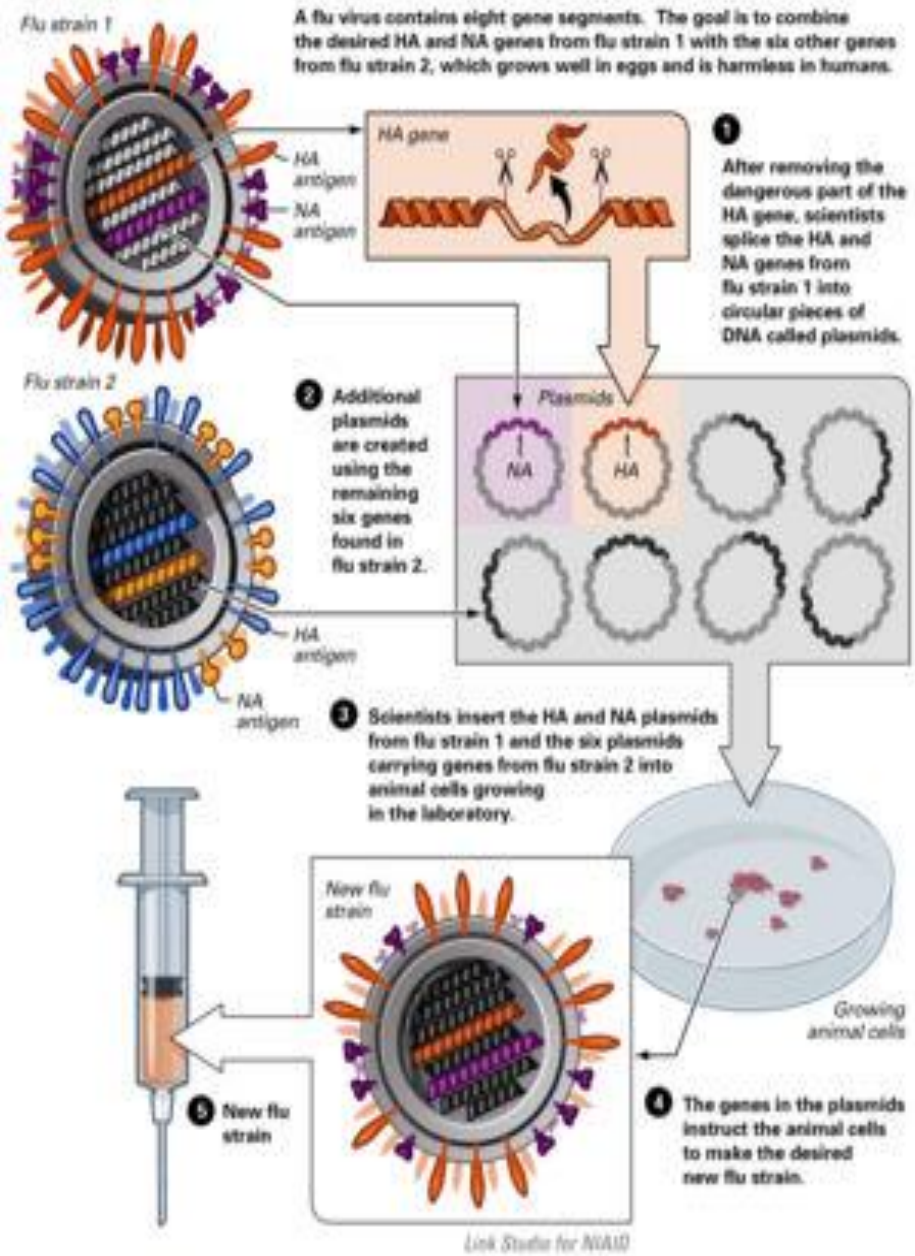
  biologi molekuler, mikrobiologi, biokimia, genetika kimia, rekayasa teknik, bioinformatika dan komputer.
- Bioteknologi memiliki ciri-ciri :
  - Teknologi hemat energi
  - Ramah lingkungan
  - Sumber senantiasa dapat diperbaharui
  - Produk yang beraneka ragam
  - Cakupan yang sangat luas

- Bioteknologi berkembang sangat pesat dan telah membawa suatu resolusi dalam dunia industri
- Melalui bioteknologi diharapkan dapat memecahkan berbagai masalah dalam bidang industri, kedokteran, kimia, farmasi, pangan, pertanian, peternakan dan lain-lain.
- Perkembangan bioteknologi telah mencapai biologi molekuler dengan ditemukannya *sequencing DNA* dan DNA *recombinan.*

Sequencing DNA



DNA rekombinan



ERA BIOTEKNOLOGI

- Era bioteknologi pertama : berupa bioteknologi sederhana
  - Penggunaan mikroba secara tradisional
  - Digunakan dalam produksi makanan dan tanaman serta pengawetan makanan
  - Contoh : pembuatan tempe, tape, cuka, dan lain-lain

- Era bioteknologi generasi kedua : Proses berlangsung dalam keadaan tidak steril
  - *Contoh :* produksi bahan kimia berupa aseton dan asam sitrat, pengolahan air limbah dan pembuatan kompos
- Era bioteknologi generasi ketiga memiliki proses dalam kondisi steril. *Contoh:* produksi antibiotik dan hormon.

APLIKASI BIOTEKNOLOGI KEDOKTERAN

I. DIAGNOSIS

Deteksi penyakit dapat dilakukan secara spesifik, akurat, cepat serta murah dengan penggunaan biosensor.

Contoh :

Tes kehamilan : dini, cepat, murah dan akurat

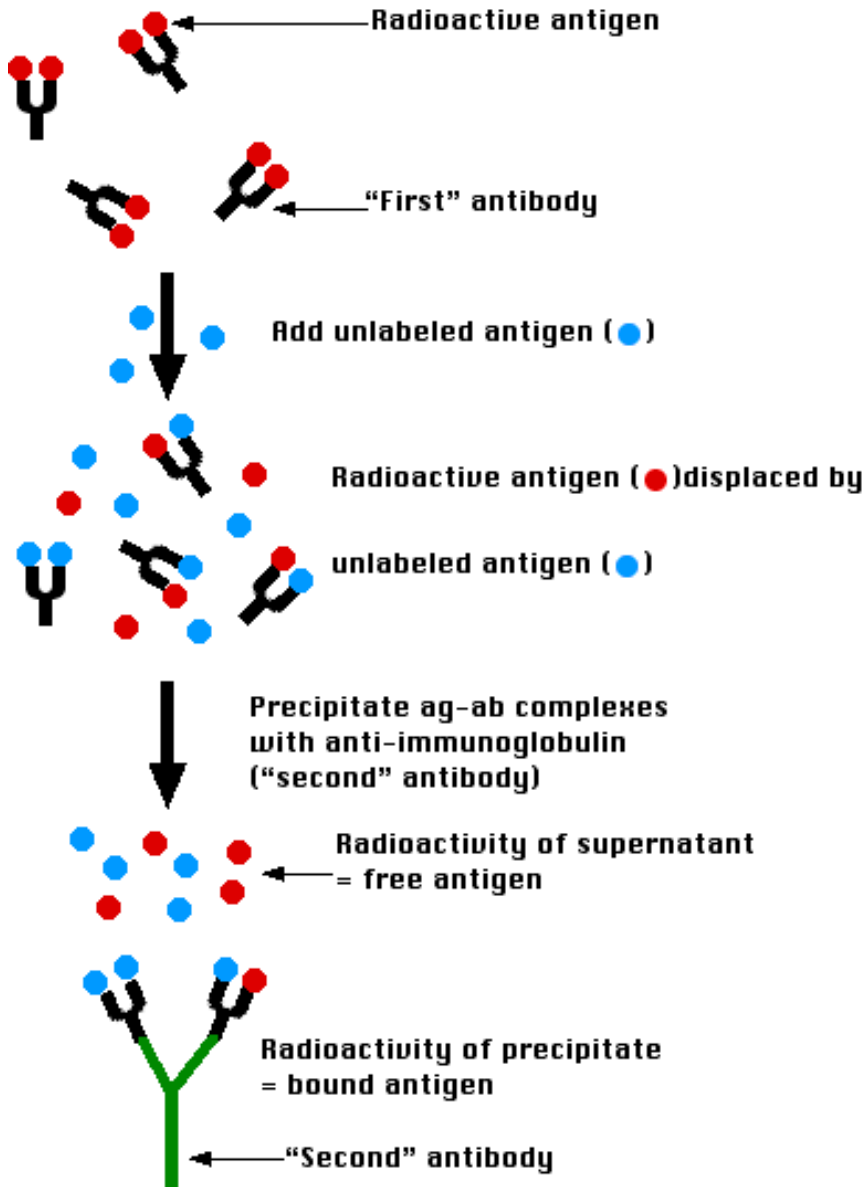
Tes LDL darah : akurat, sensitif, tanpa puasa, tanpa pemisahan dengan kolesterol total trigliserida dan HDL kolesterol

Tes usap tenggorokan (strep Throat- Test) : cepat, terapi dini

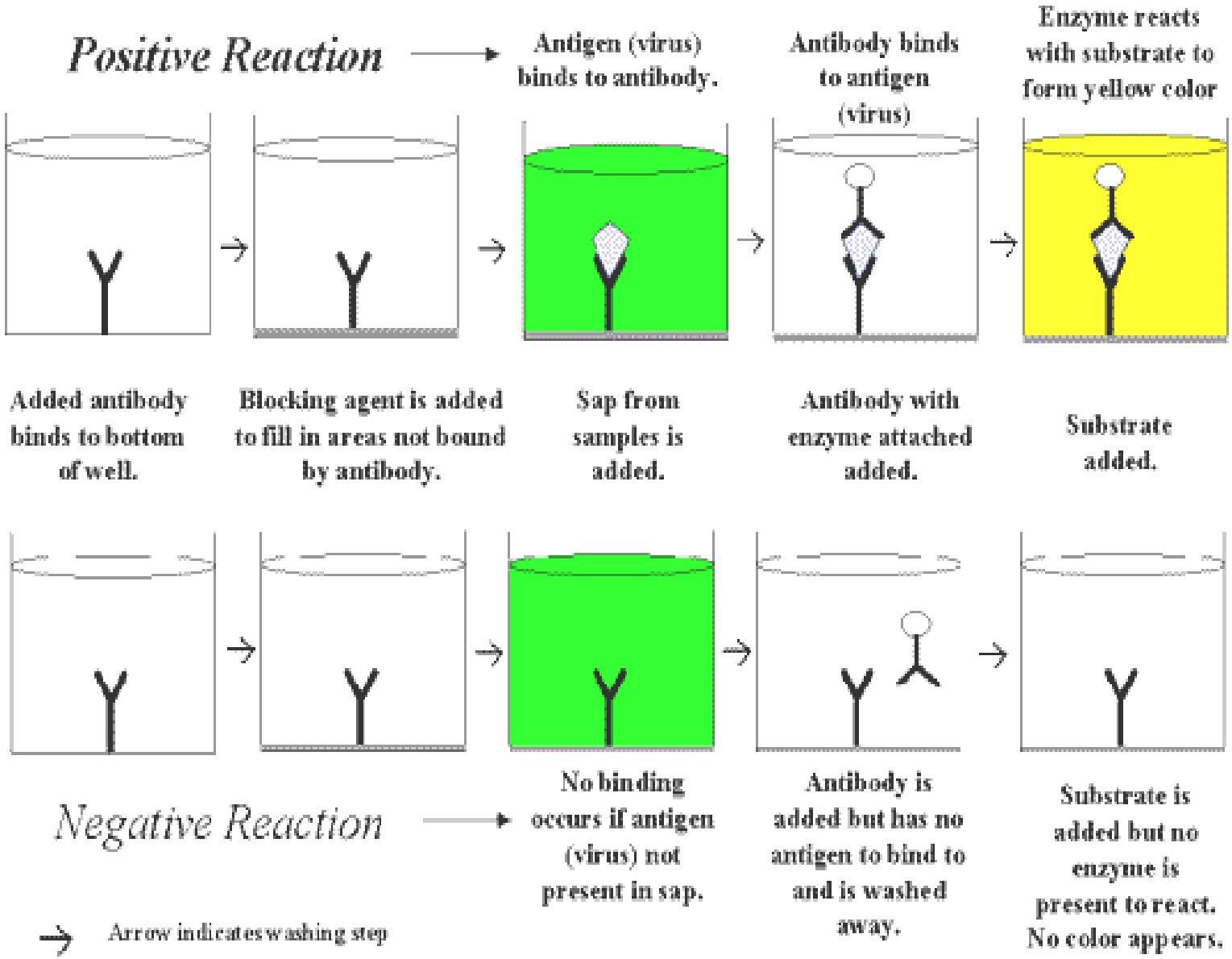
Tes skrining AIDS dan hepatitis untuk donor darah

- Tes tersebut menggunakan beberapa metode :
  - Antibodi monoklonal dan teknik amobilisasi-ligand (Teknik ELISA dan RIA)
  - Preteomik dengan molekular dan biomarker untuk deteksi kanker
  - Genomik dengan adanya HGP membantu diagnosa penyakit herediter

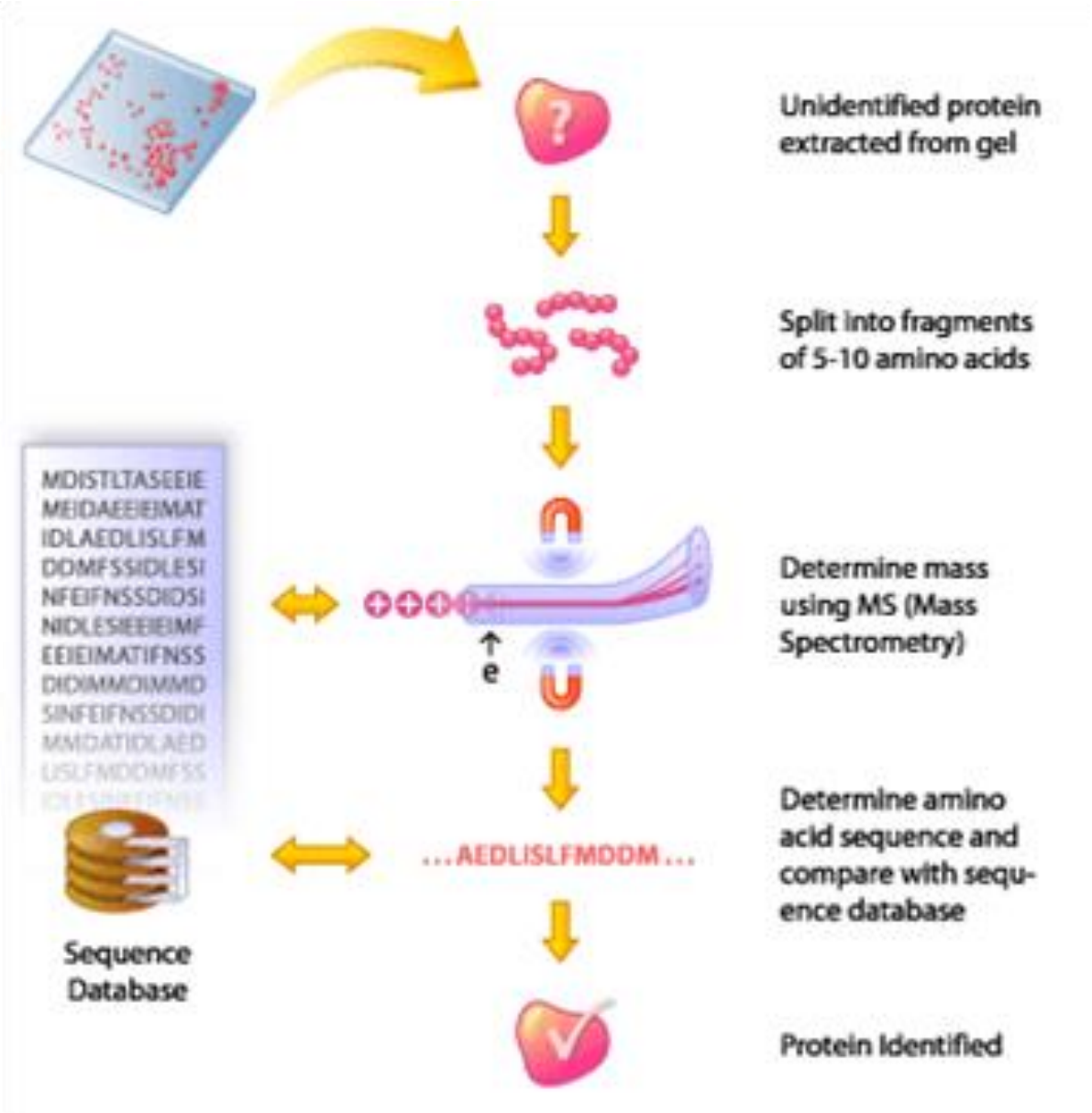
Teknik RIA


Radioactive antigen
"First" antibody
Add unlabeled antigen ( )
Radioactive antigen ( )displaced by
unlabeled antigen ( )
Precipitate ag-ab complexes
with anti-immunoglobulin
("second" antibody)
Radioactivity of supernatant
= free antigen
Radioactivity of precipitate
= bound antigen
"Second" antibody

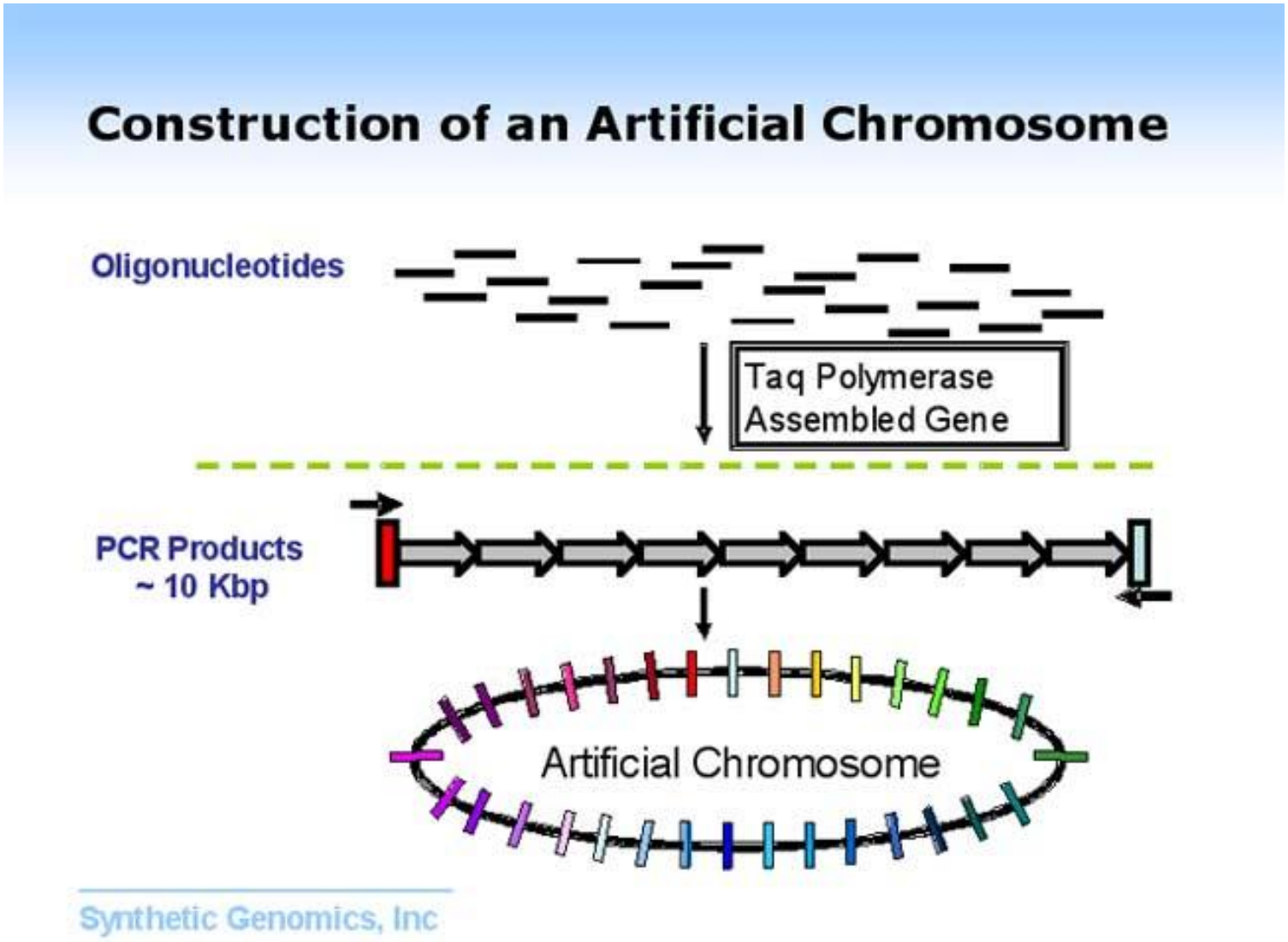
Teknik ELISA



Proteomik


Unidentified protein extracted from gel
Split into fragments of 5-10 amino acids
Determine mass using MS (Mass Spectrometry)
e
Determine amino acid sequence and compare with sequence database
...AEDLISLFMDDM...
Sequence Database
Protein Identified

Genomik


Construction of an Artificial Chromosome
Oligonucleotides
Taq Polymerase
Assembled Gene
PCR Products
~ 10 Kbp
Artificial Chromosome
Synthetic Genomics, Inc

II. TERAPI

- Penggunaan bahan alam
  - antibiotik → mikroba
  - berbagai obat → hewan dan tumbuhan
  - Antikoagulan → serangga atau parasit
  - Zat analgesik → kodok
  - Penyembuhan luka, penghancur tumor, pencegah radang, analgesik dan bakteriosida → dari berbagai organisma laut
  - Obat-obatan→ rekombinan DNA bakteri, kloning sel hewan dan hewan

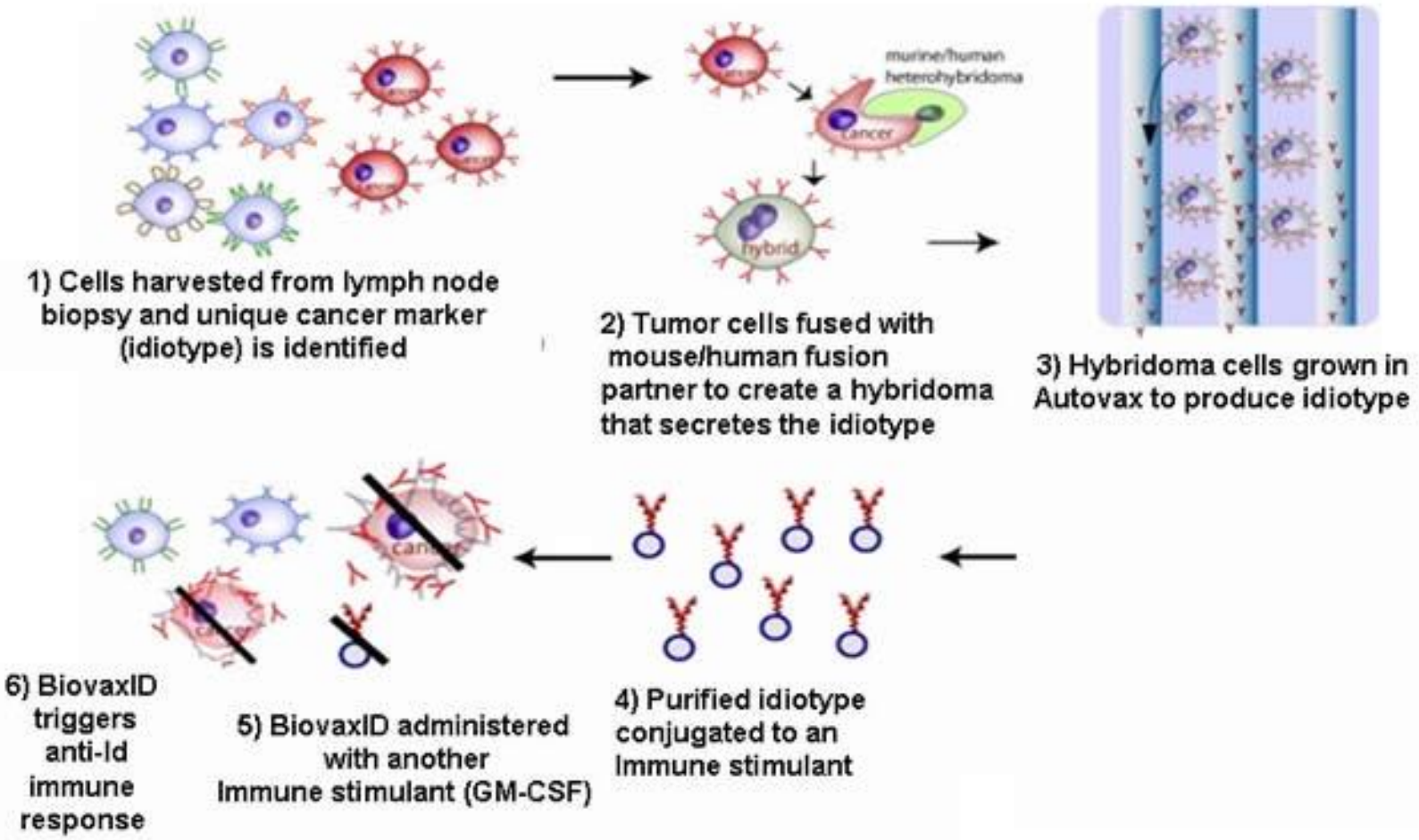
- Penggunaan bahan biopolimer

  penggunaan bahan tersebut cocok untuk jaringan tubuh manusia. Contoh :
  - Hialuronat → mikroba, bersifat elastis, larut dalam air, digunakan untuk jahitan operasi katarak atau pembawa obat
  - Protein adhesive → mikroba, digunakan untuk menjahit luka

- Mengganti protein yang hilang
  - Teknik rekombinan DNA : diproduksi Faktor VIII dan insulin untuk pengobatan hemofilia dan diabetes

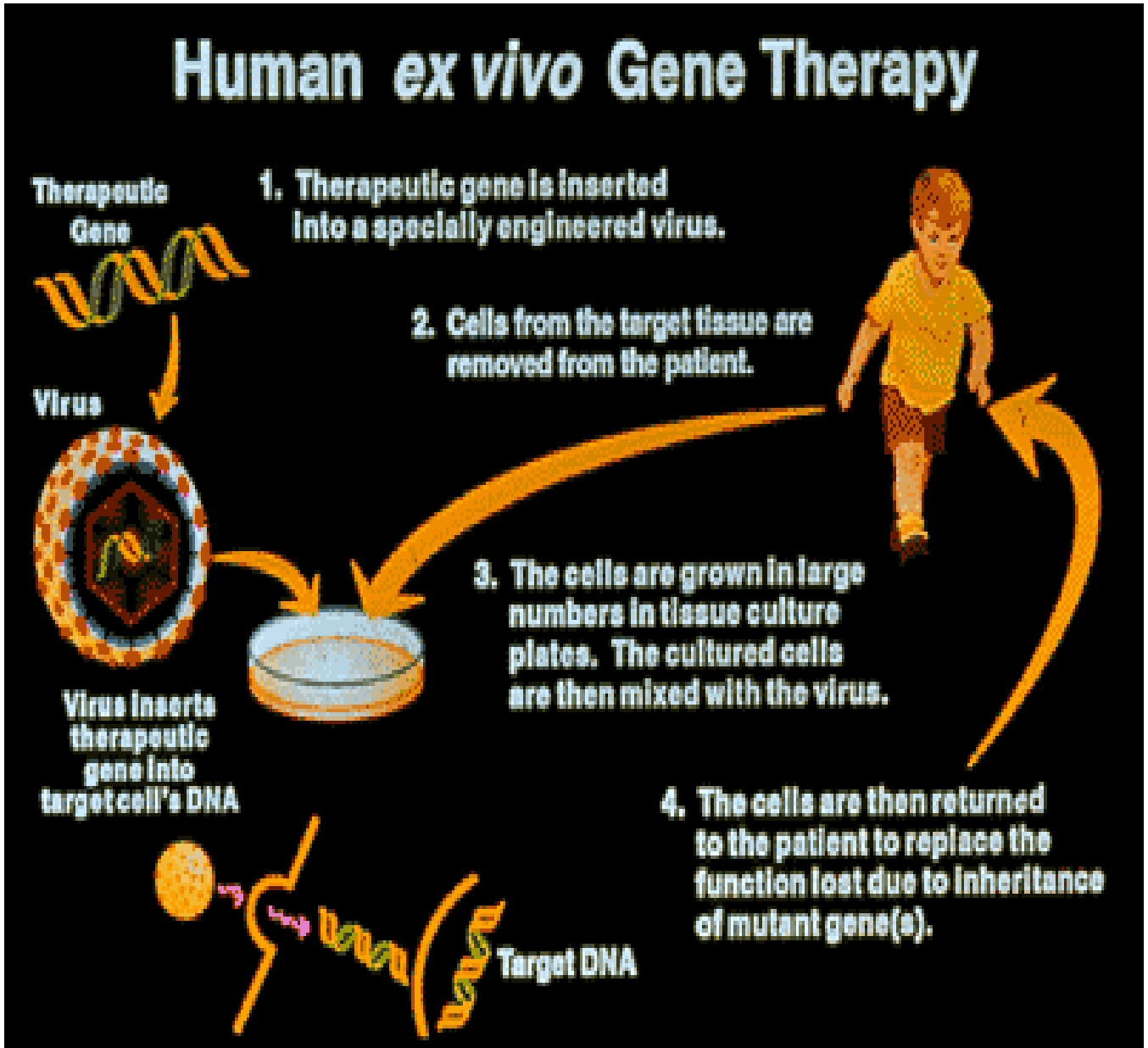
- Stimulasi Sistem Imun
  - Produksi protein-protein secara bioteknologi : interleukin, interferon, dan colony stimulating factors. (Interleukin 2 efektif untuk pengobatan kanker dan AIDS, Interleukin 12 untuk penyakit malaria dan TBC)
  - Vaksin kanker, berpotensi membantu sistem imun agar dapat merusak sel kanker
- Supresi Sistem Imun
  - Supresi sistem imun dilakukan pada penderita penyakit autoimun, dengan menggunakan antibodi monoklonal disupresi sel yang berperan melakukan reaksi penolakan

Individualized vaccine made from surface proteins of the cancer cells induces an immune response *against those cells*



- Terapi gen
  - Merupakan teknologi dengan cara memasukkan gen yang dapat menghasilkan protein yang diperlukan.
  - Teknologi ini diaplikasikan untuk terapi kanker, penyakit autoumin dan AIDS (masih penelitian)
- Transplantasi organ
  - Merupakan terapi dengan cara mentransplantasi organ yang rusak dari organ normal orang lain
  - Jika transplantasi organ berasal dari hewan disebut xenotransplantasi, namun sering terjadi reaksi penolakan maka gen yang menghasilkan enzim penolakan diganti oleh gen yang menghasilkan enzim yang menerima sel tersebut

Terapi gen pada kanker



- Terapi regeneratif

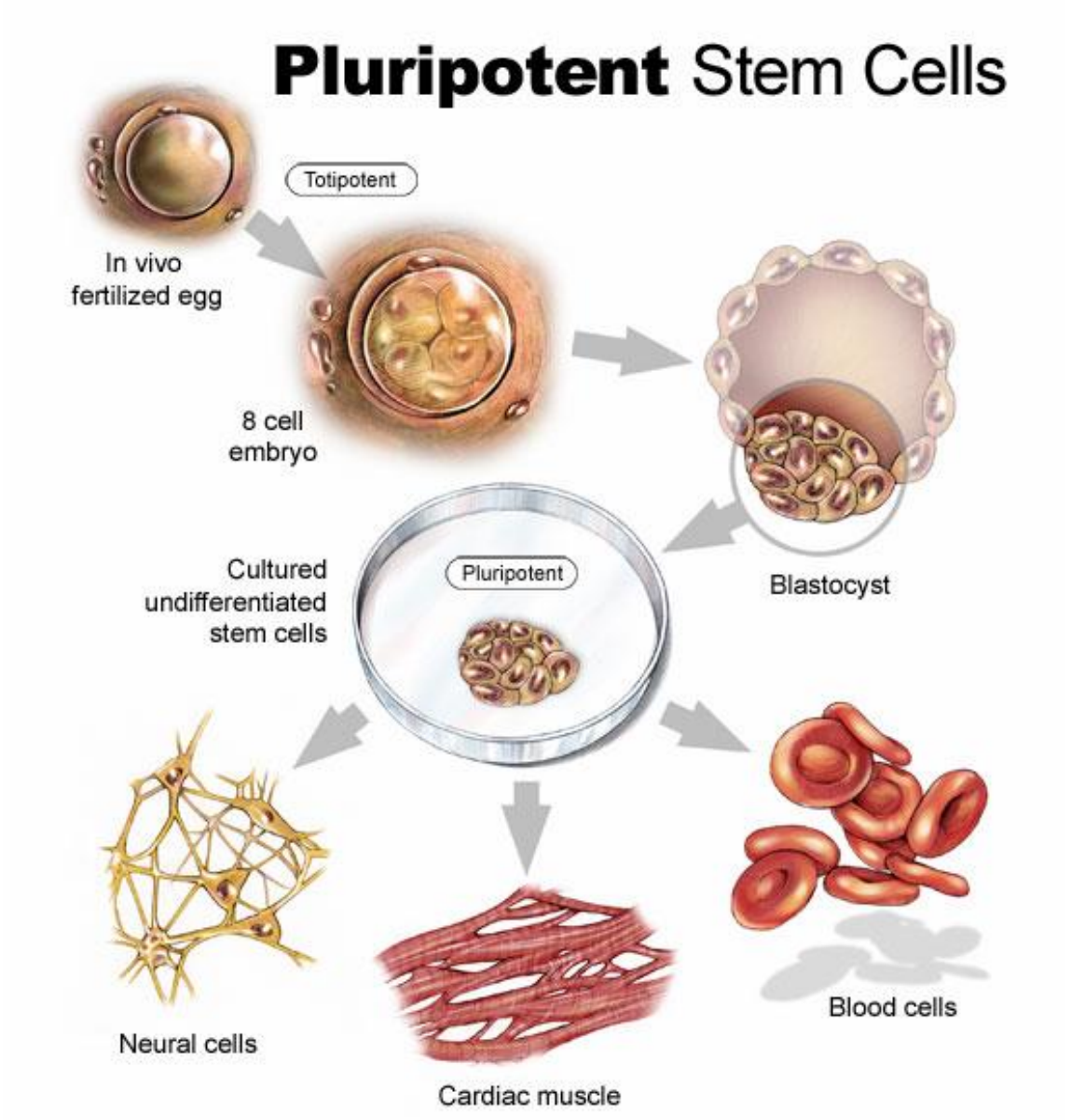
Menggunakan protein atau stem sel yang ☛ menghasilkan protein :

- Epidermal growth factor ☛ untuk menstimulasi pembelahan sel kulit pada kulit terluka
- Erythroprotein (EPO) ☛ menstimulasi pembelahan sel eritrosit
- Transforming growth factor beta ☛ membantu sel-sel fetus untuk berdiferensiasi
- Nerve growth factor ☛ mendorong sel-sel syaraf untuk tumbuh, reparasi kerusakan terapi pada pasien kerusakan otak, medula spinalis dan penyakit regeneratif Alzheimer

Stem sel

- Teknik yang menggunakan kultur sel untuk menumbuhkan dan mempertahankan stabilitas stem sel.
- Stem sel akan berdiferensiasi menjadi sel yang spesifik dengan bentuk, ukuran dan fungsi berbeda.
- Stem sel berasal dari :
  - sumsum tulang ☞ sel eritrosit, sel T, sel limfosit dan sel tulang
  - Sel hati ☞ sel sekresi
  - Human embryonik stem cell (sel blastosit) ☞ berbagai macam sel
  - Adult dan embryonik stem cell ☞ untuk terapi pasien diabetes, Parkinson, Alzheimer, stroke dan kerusakan medula spinalis

Stem cell


Pluripotent Stem Cells
Totipotent
In vivo
fertilized egg
8 cell
embryo
Blastocyst
Cultured
undifferentiated
stem cells
Pluripotent
Neural cells
Cardiac muscle
Blood cells

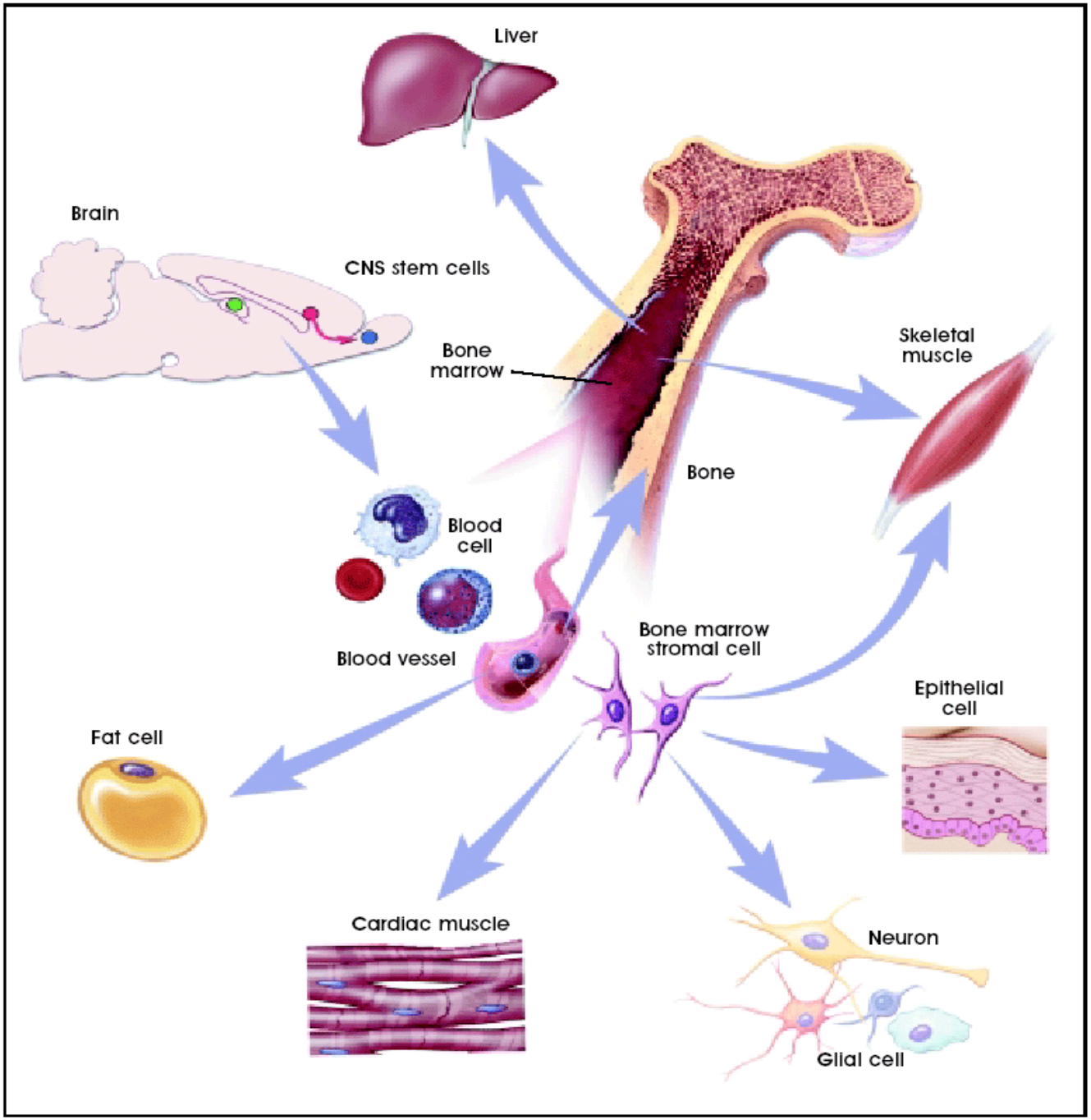
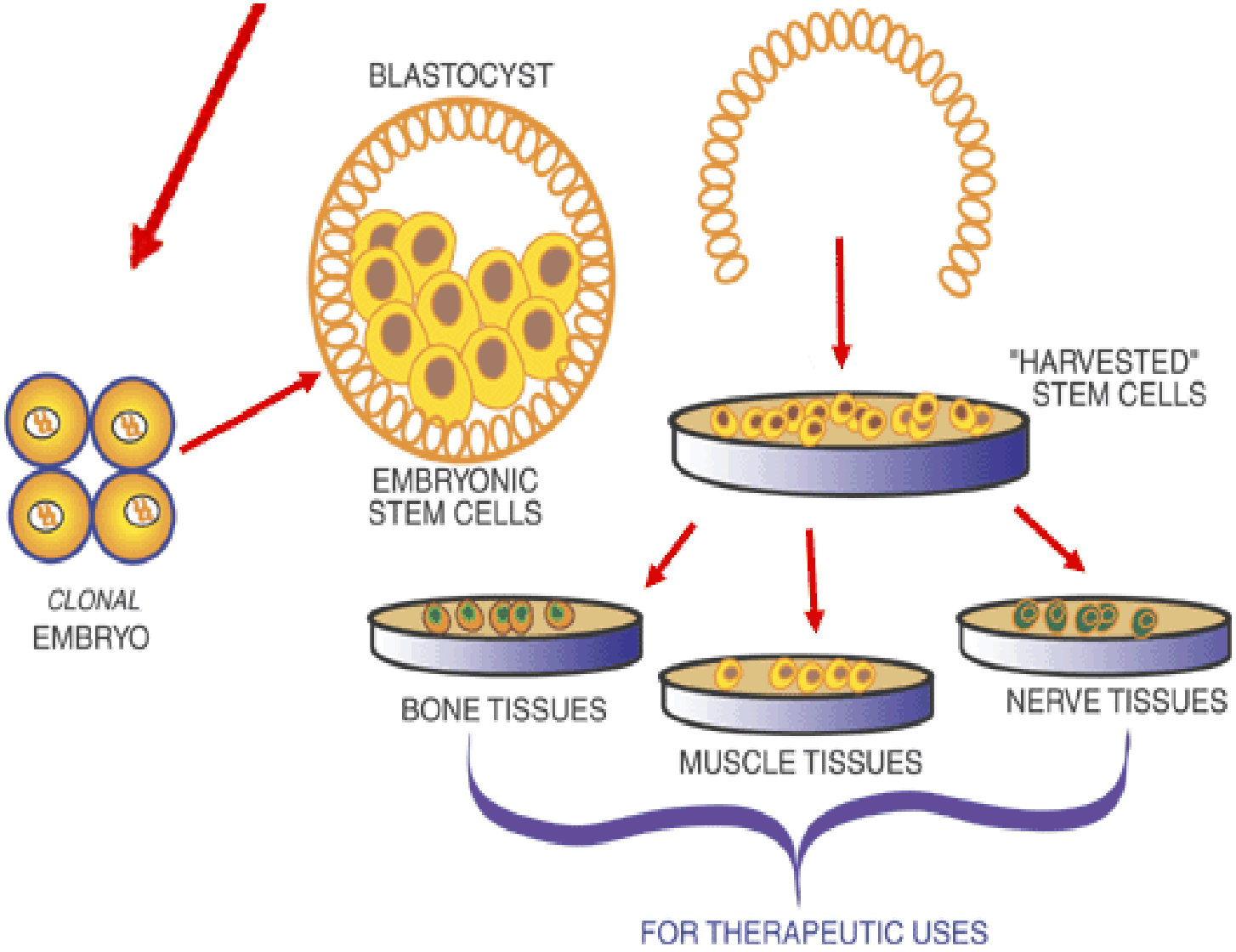


Figure 4.2. Preliminary Evidence of Plasticity Among Nonhuman Adult Stem Cells.

- Replacement inti sel
  - Potensi terapi stem sel dan tissue engineering dapat dipalikasikan jika stem sel dan jaringan secara genetika identik dengan pasien
  - Stem sel direkayasa terlebih dulu dengan mengganti materi genetik dengan materi genetik pasien disebut proses *genetic material replacement and reprogramming*

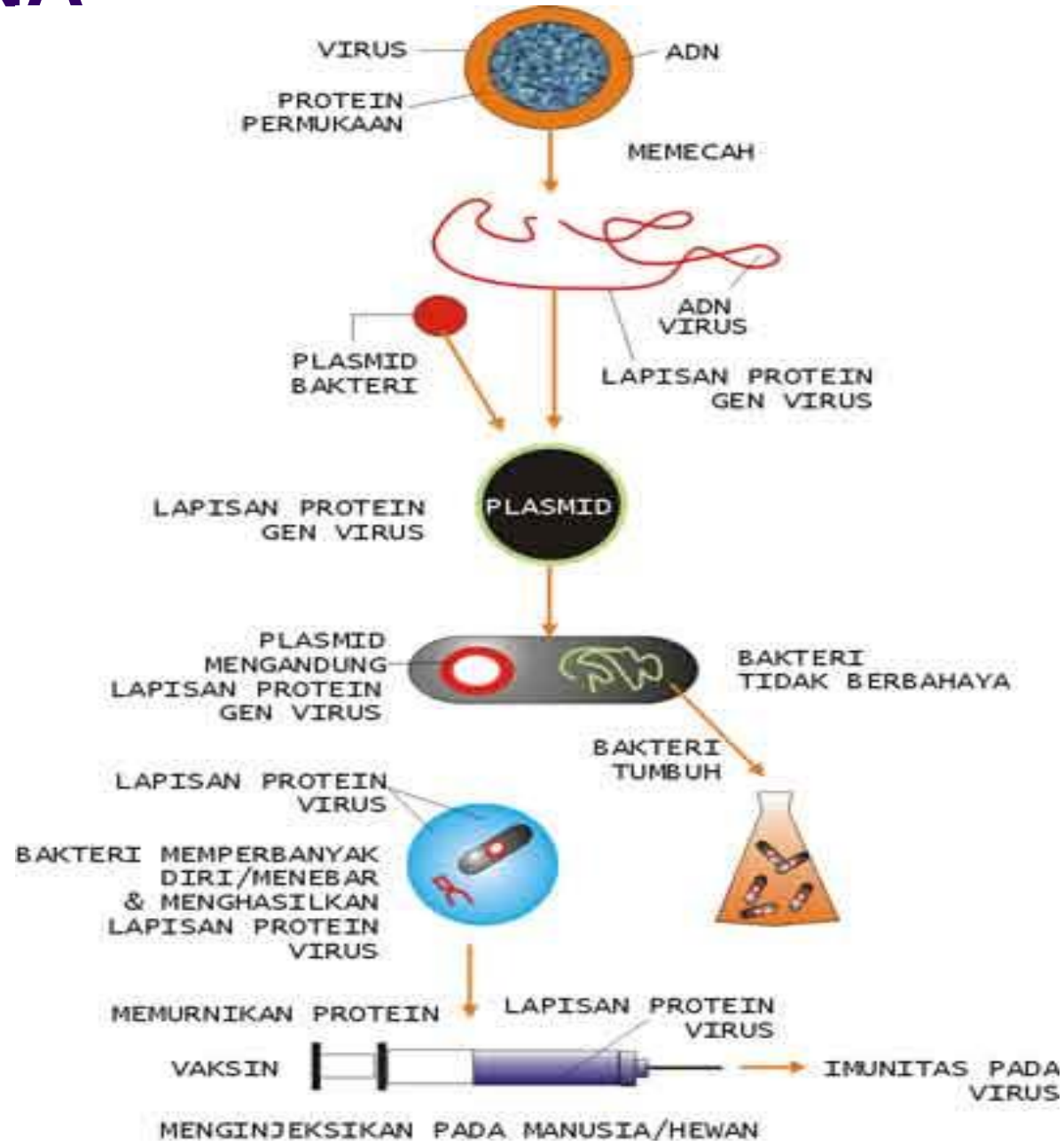
Replacement nuclear



Preventif

- Vaksin secara bioteknologi menggunakan antigen :
  - sel ragi penghasil antigen
  - Sel ragi distimulasi untuk membelah ☞ antigen yang dihasilkan diisolasi dan dipurifikasi sehingga dihasilkan sejumlah vaksin
  - Digunakan untuk imunisasi hepatitis B dan meningitis
- Vaksin DNA
  - Vaksin DNA disuntikkan untuk membentuk antibodi
  - Digunakan untuk imunisasi HIV, malaria, herpes, hepatitis B dan influenza

Vaksin DNA


VIRUS
ADN
PROTEIN PERMUKAAN
MEMECAH
ADN VIRUS
PLASMID BAKTERI
LAPISAN PROTEIN GEN VIRUS
LAPISAN PROTEIN GEN VIRUS
PLASMID
PLASMID MENGANDUNG LAPISAN PROTEIN GEN VIRUS
BAKTERI TIDAK BERBAHAYA
BAKTERI TUMBUH
LAPISAN PROTEIN VIRUS
BAKTERI MEMPERBANYAK DIRI/MENEBAR & MENGHASILKAN LAPISAN PROTEIN VIRUS
MEMURNIKAN PROTEIN
LAPISAN PROTEIN VIRUS
VAKSIN
IMUNITAS PADA VIRUS
MENGINJEKSIKAN PADA MANUSIA/HEWAN

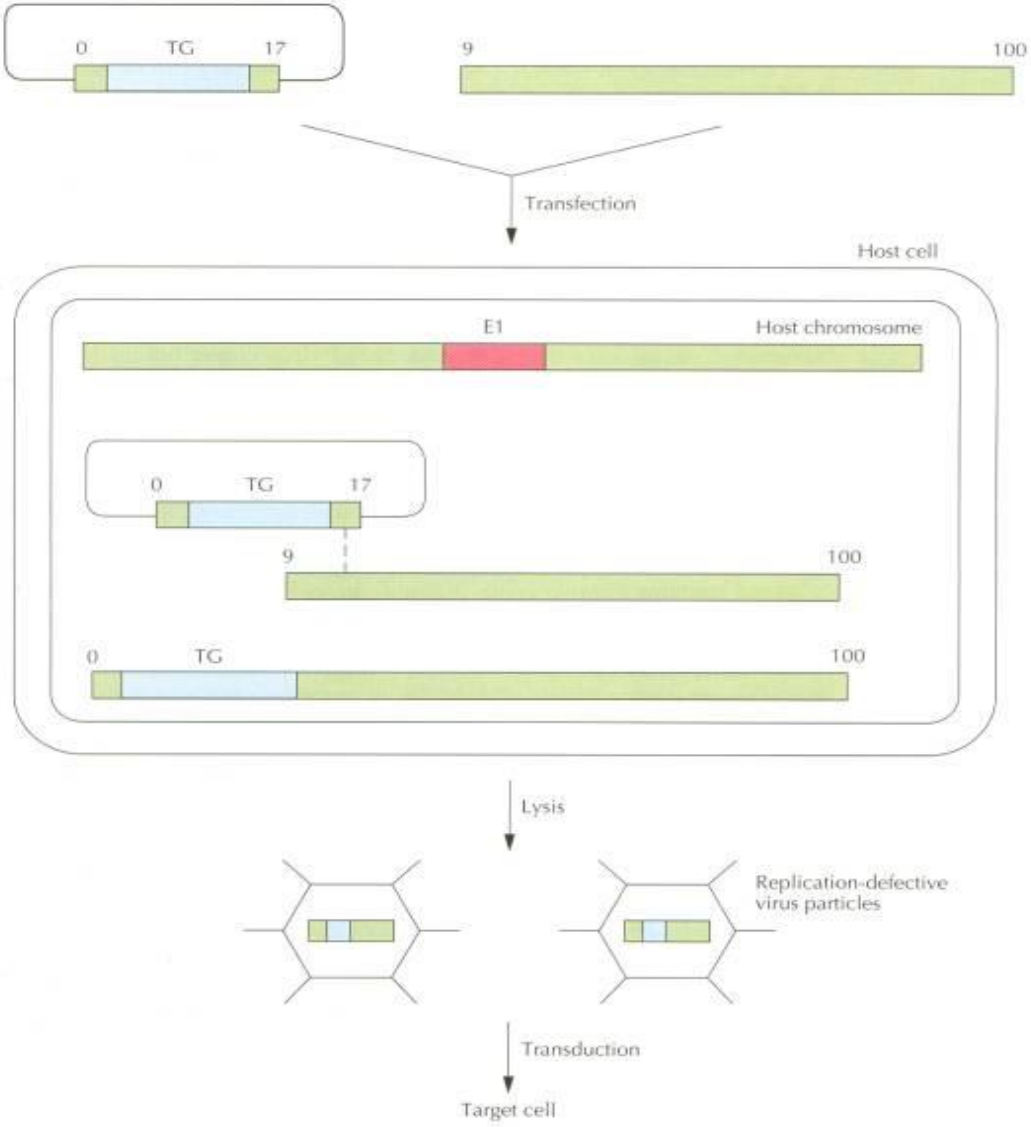
Jenis-jenis vaksin DNA

- *Naked DNA vaccines* : dibuat dari virus atau bakteri yang bersifat patogen, dengan cara memasukkan DNA yang sudah dimodifikasi ke dalam sel host melalui transfeksi
- *Edible vaccines :* dibuat dengan transfer gen dari mikroba ke tanaman melalui proses transgenesis.
- *Trojan horses* : organisme yang dirancang untuk membawa vaksin melalui replikasi organisme yang avirulen, dimasukkan ke dalam tubuh manusia sehingga dapat membentuk antibodi
- *Sugar glass vaccines* : menggunakan trehalosa yang bersifat awet dan dapat melindungi protein serta molekul lain dari organisme patogen, berupa kristal gula

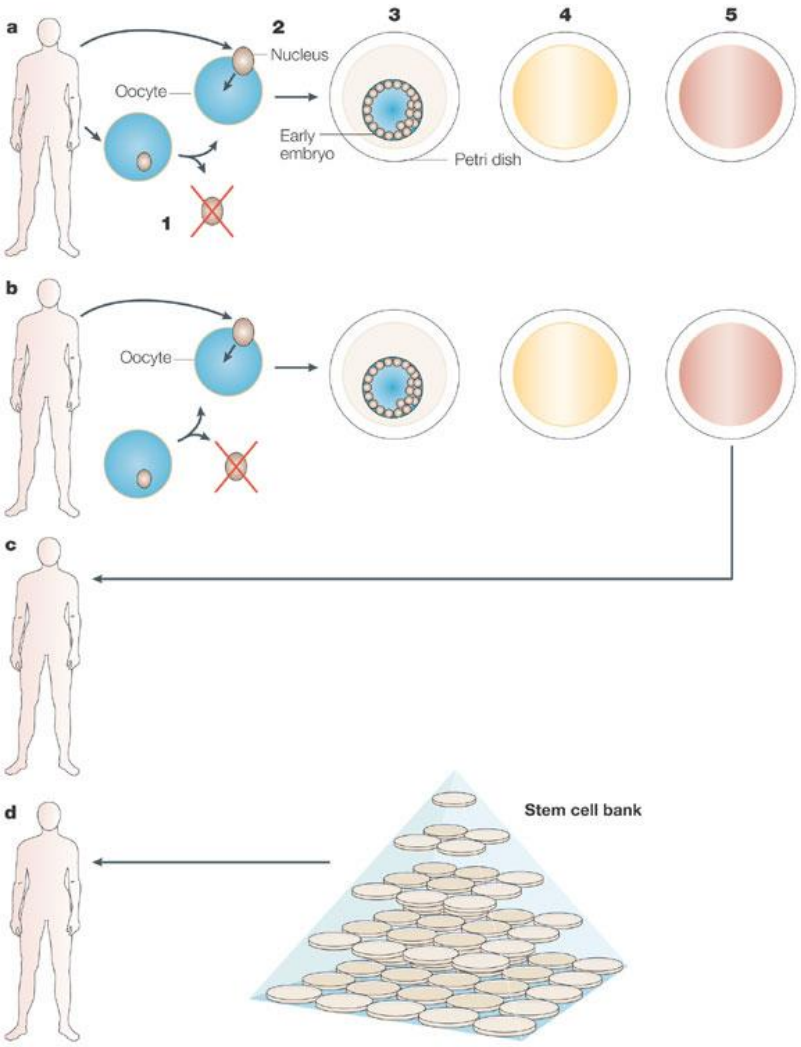
TERAPI GEN

- Beberapa cara memasukkan gen yang dibutuhkan ke dalam tubuh :
  - Menggunakan virus sebagai vektor dan mentransfernya ke dalam genom sasaran
  - Menyuntikkan gen atau DNA menggunakan jarum mikro ke dalam nukleus atau pronukleus sasaran sel
  - Mencampurkan gen atau DNA ke dalam kultur sel dan dibiarkan masuk ke dalam inti sel sehingga diperlukan gen dalam jumlah banyak dan dibantu oleh kejutan listrik (electrophoration)

Virus sebagai vektor



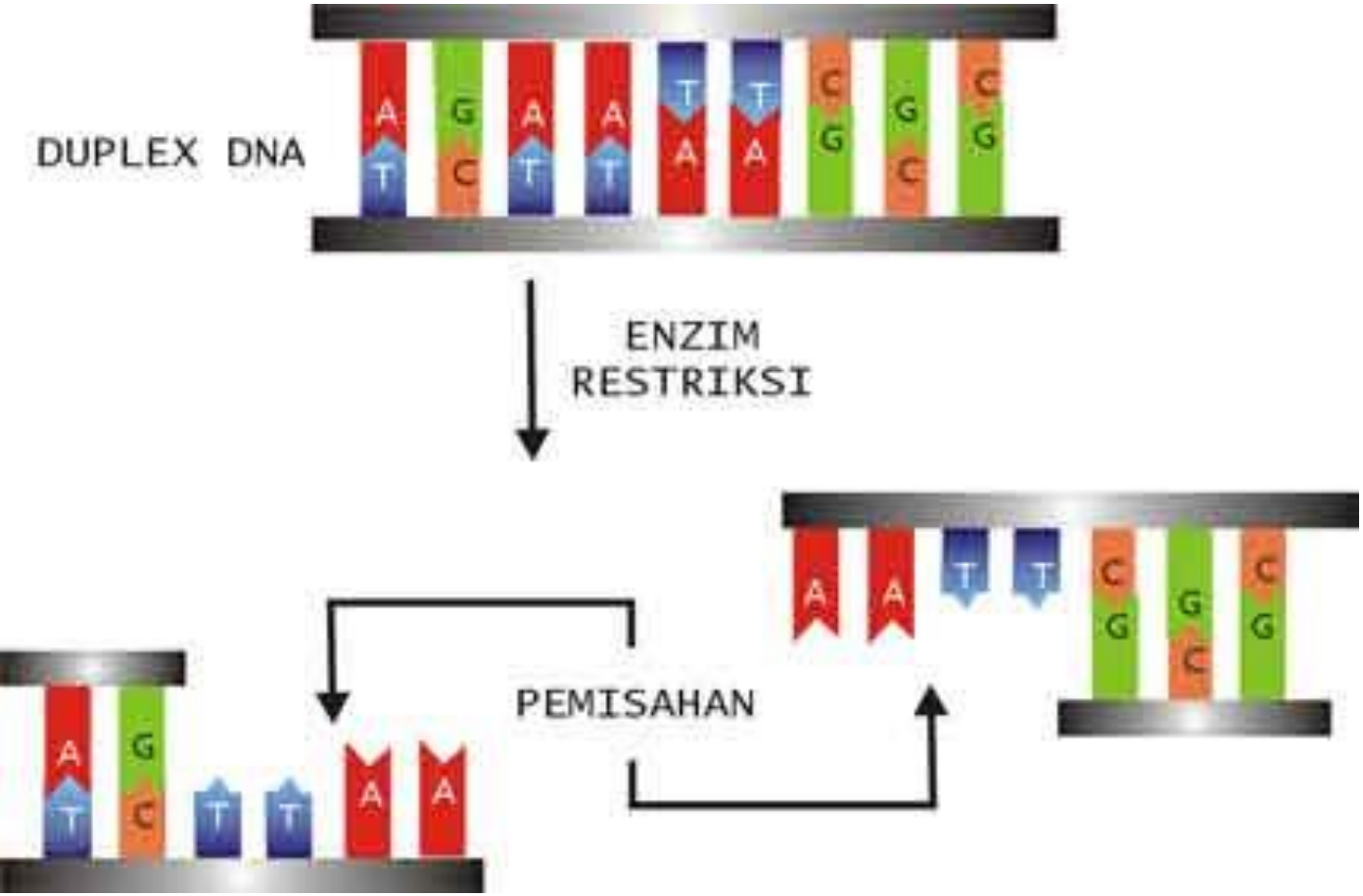
Nukleus dan pronukleus



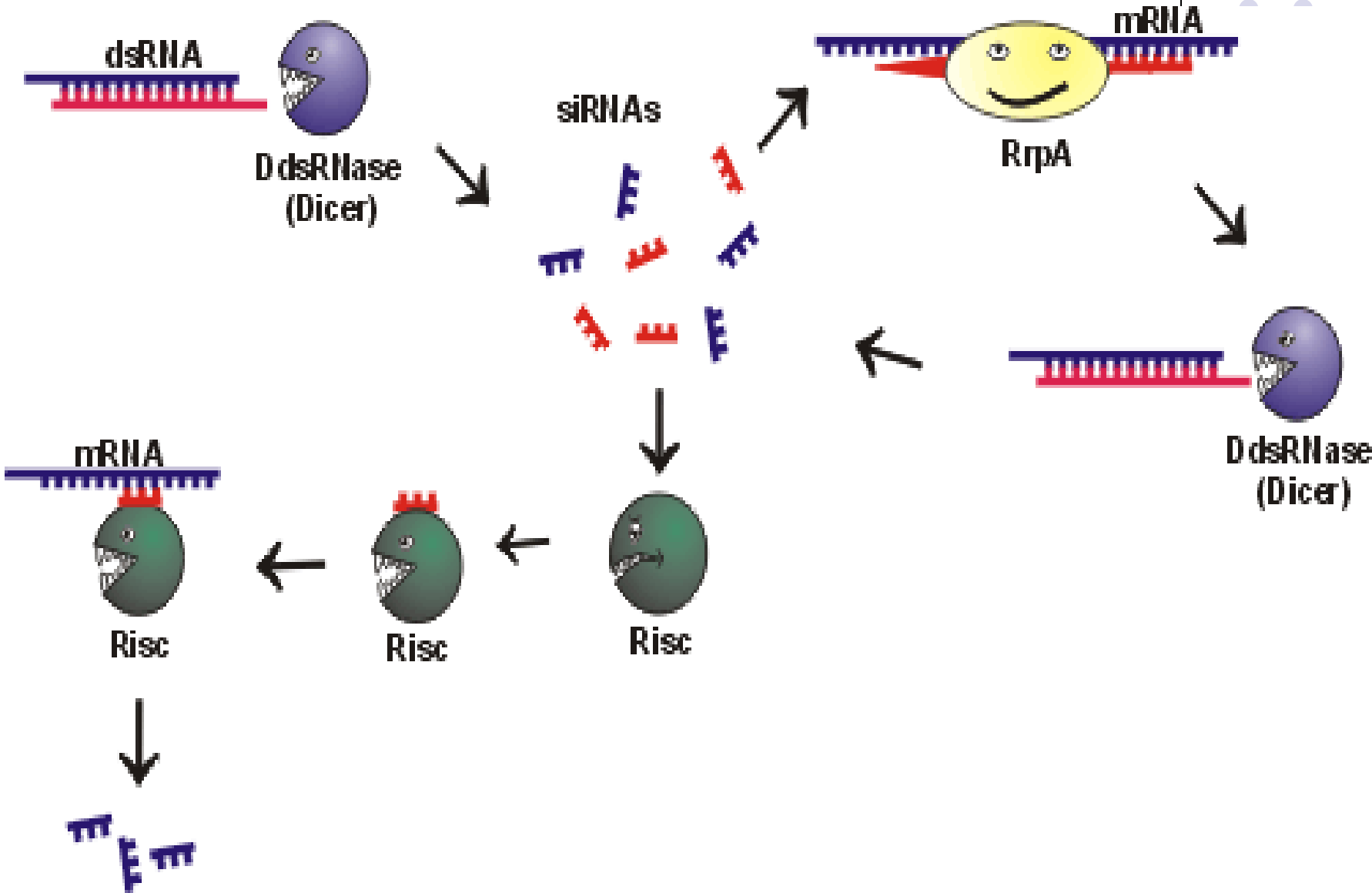
Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

- Transfer dengan menggunakan liposom polyethylene glicol (PEG) menguntungkan karena tidak ada reaksi penolakan dan dapat langsung ke sel sasaran untuk mengobati Parkinson

- Menggunakan teknik antisense (RNA) yang dimasukkan ke dalam sel sasaran yang akan berkomplemen dengan mRNA (penghasil protein penyebab penyakit) atau digunakan DNA yang menghasilkan RNA yang berkomplemen dengan mRNA penyebab penyakit. Digunakan untuk pengobatan Chronic myelogenus leukemia)


DUPLEX DNA
ENZIM
RESTRIKSI
PEMISAHAN

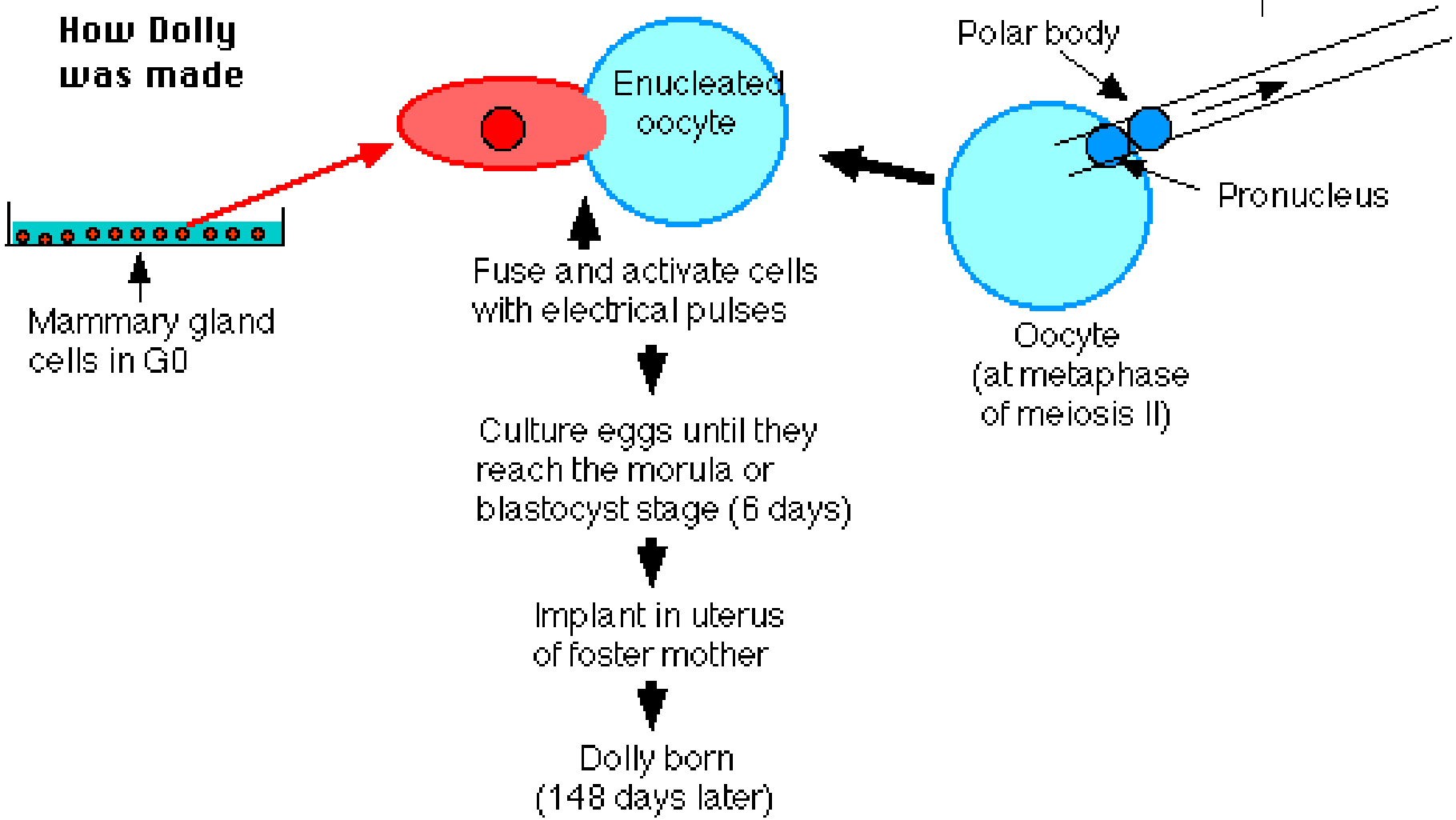
RNA antisense



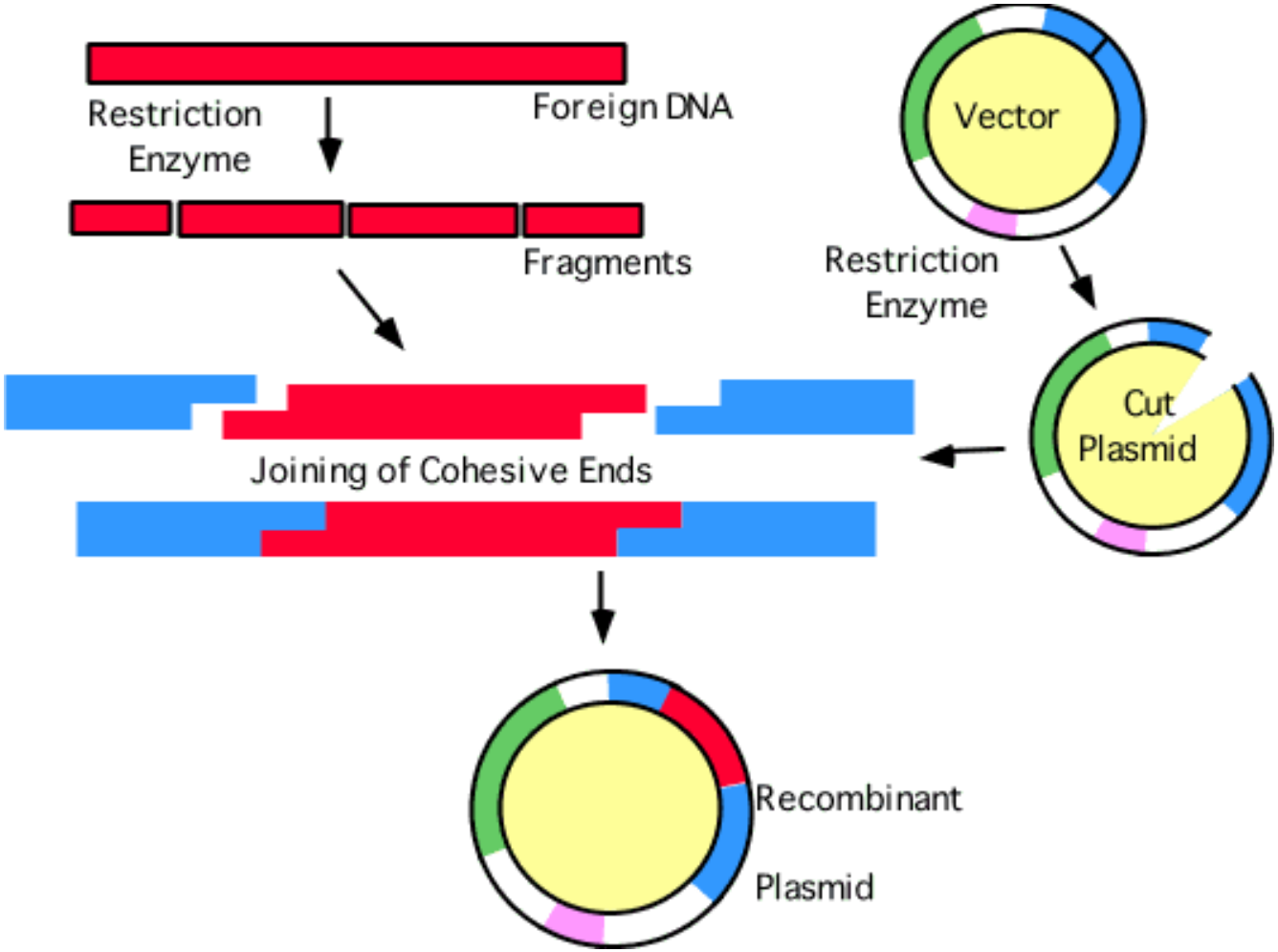
- Teknik kloning dengan membentuk stem sel dan dikombinasikan dengan teknik transgenik. Stem sel bersifat totipoten, plurripoten atau multipoten yaitu dapat berkembang menjadi berbagai jaringan atau organ.

- Penggunaan sel embrio sebagai stem sel banyak ditentang terutama jika untuk kloning reproduksi, tetapi jika digunakan untuk kloning terapi masih bisa diterima untuk menyembuhkan berbagai penyakit genetik.

Teknik kloning

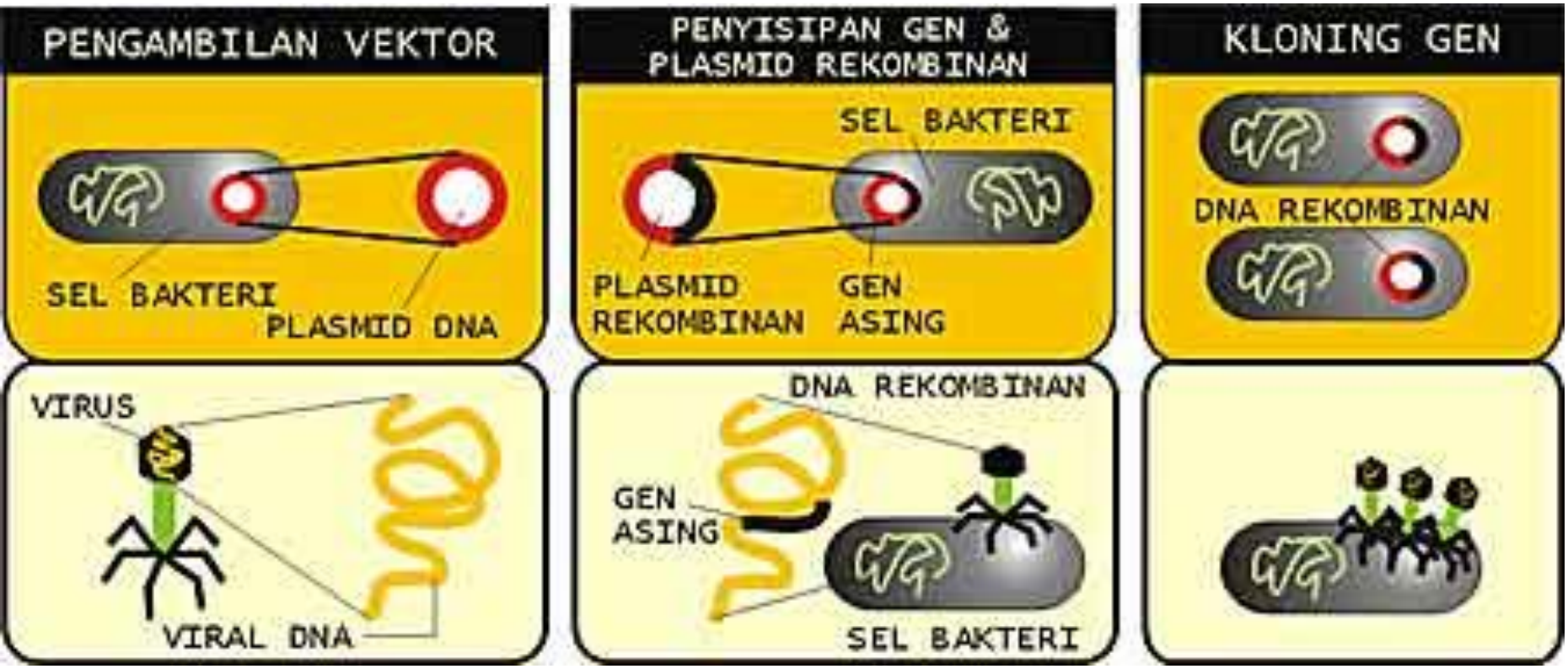


Rekayasa genetika



Virus sebagai vektor

- Prosesnya :
  - Sel somatik (sel sumsum tulang) ☞ dikultur secara *in vitro* di dalam virus ☞ isolasi gen virus ☞ ditransfer ke dalam genom pasien
- Virus yang digunakan
  - Retro virus : virus RNA yang mempunyai enzim riverstranscriptase dan dapat merubah RNA untai tunggal menjadi DNA
  - Virus adeno : virus DNA penyebab infeksi
  - Virus asosiasi adeno : virus DNA untai tunggal yang dapat mentransfer gen kepada kromosom 19
  - Virus herpes simplex : virus DNA untai ganda yang dapat menginfeksi sel saraf


PENGAMBILAN VEKTOR
SEL BAKTERI
PLASMID DNA
PENYISIPAN GEN & PLASMID REKOMBINAN
SEL BAKTERI
PLASMID REKOMBINAN
GEN ASING
KLONING GEN
DNA REKOMBINAN
VIRUS
VIRAL DNA
DNA REKOMBINAN
GEN ASING
SEL BAKTERI

- Penggunaan virus sebagai vektor, masih terdapat beberapa kendala :
  - Dapat menstimulasi adanya reaksi penolakan
  - Inflamasi
  - Toksisitas
  - Infeksius

Contoh kasus :

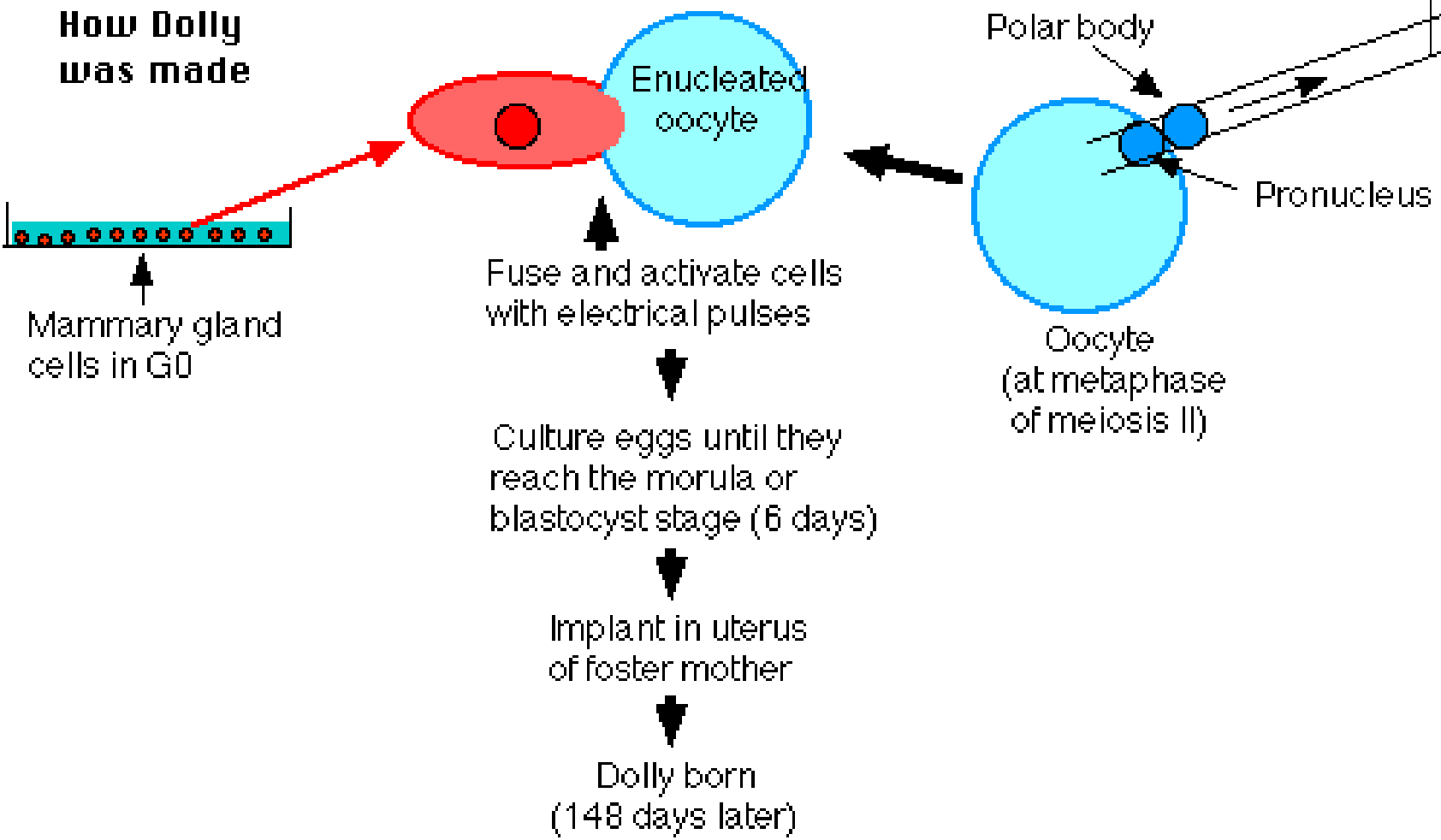
Kasus kematian pasien penderita ornithine transcarboxylse defisiensy (OTDC) dengan vektor virus adeno (th 1999)

Pasien bubble baby syndrome, walaupun sembuh tetapi menjadi menderita leukemia berat setelah terapi gen dengan vektor virus retro

Gen atau DNA disuntikkan langsung

- Dapat disuntikkan langsung dengan jarum suntik mikro ke dalam nukleus atau pronukleus sel sasaran. Teknik ini dikembangkan untuk menginjeksikan gen atau DNA telur atau sel germinal ke dalam pronukleus jantan.

- Namun masih banyak yang menentang


How Dolly was made
Mammary gland cells in G0
Enucleated oocyte
Polar body
Pronucleus
Oocyte (at metaphase of meiosis II)
Fuse and activate cells with electrical pulses
Culture eggs until they reach the morula or blastocyst stage (6 days)
Implant in uterus of foster mother
Dolly born (148 days later)

- Teknik kloning dengan membentuk stem sel dan dikombinasikan dengan teknik transgenik
- Stem sel bersifat totipoten, plurripoten atau multipoten yaitu dapat berkembang menjadi berbagai jaringan atau organ
- Penggunaan sel embrio sebagai stem sel banyak ditentang terutama jika untuk kloning reproduksi, tetapi jika digunakan untuk kloning terapi masih bisa diterima untuk menyembuhkan berbagai penyakit genetik.

MASA DEPAN TERAPI GEN

Dalam lima sampai enam tahun mendatang terapi gen bisa diterapkan di pelayanan kesehatan

- Selain kanker prostat dan hemofilia, saat ini terapi gen untuk kardiovaskular untuk membentuk pembuluh darah baru menggantikan pembuluh darah yang tersumbat di sekitar jantung sudah mencapai fase II
- Tak lama lagi penelitian memasuki fase III di mana terapi dapat dicobakan pada lebih banyak pasien.

- Jika berhasil, boleh dibilang tinggal selangkah untuk disetujui badan pengawasan obat dan makanan seperti *Food And Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat
- Setelah mendapat izin untuk diterapkan, tinggal dilakukan fase terakhir yaitu fase IV yang merupakan fase pengembangan untuk melihat aspek keamanan dan efek samping di masyarakat luas.

Terapi gen akan banyak meningkatkan kualitas hidup manusia namun tidak akan menyelesaikan semua masalah kesehatan

- mungkin ada masalah baru yang timbul
- Memberi harapan untuk penyembuhan penyakit-penyakit yang kini belum bisa diobati dengan baik.

terimakasih