

Aplikasi sistem asai transien untuk kajian kefungsiian gen dalam bidang agrobioteknologi (Application of transient assay system for gene functional research in agro-biotechnology)

Wee Chien Yeong dan Mohd Waznul Adly Mohd Zaidan

Pengenalan

Genomik berfungsi merupakan satu platform penyelidikan baharu yang menggunakan data berskala besar yang diperoleh daripada kajian genomik bagi menghurai fungsi sesuatu gen dan protein serta interaksi antaranya. Secara umumnya, genomik berfungsi fokus kepada aspek dinamik yang melibatkan traskripsi dan translasi gen serta interaksi antara protein, manakala bidang genomik hanya tertumpu kepada aspek statik dan informasi jujukan DNA serta strukturnya. Pendekatan yang komprehensif ini adalah untuk mengkaji fungsi sesuatu gen yang khusus dalam konteks keseluruhan gen yang terdapat dalam satu sel. Justeru, ciri utama dalam kajian genomik berfungsi adalah penggunaan teknik berskala besar yang membolehkan kajian dijalankan secara menyeluruh bagi menjelaskan fungsi dan interaksi gen.

Selepas berlakunya krisis makanan pada tahun 2008, bidang agrobioteknologi telah diberi keutamaan bagi mentransformasi sektor pertanian dengan penggunaan kaedah bioteknologi yang bertujuan untuk meningkatkan jumlah hasil pertanian terutama dalam situasi kawasan tanah pertanian semakin berkurangan. Penyelidikan kini fokus kepada penghasilan pertanian yang lebih bermutu tinggi demi meningkatkan daya saing dan memajukan sektor pertanian ke arah pengkomersialan. Oleh itu, genomik berfungsi merupakan salah satu bidang yang diaplikasi secara meluas dalam penyelidikan agrobioteknologi untuk meningkatkan kualiti tanaman.

Perkembangan teknik biologi molekul seperti EST, mikroatur dan teknologi penjujukan DNA generasi baharu yang lebih efektif telah membawa kepada peningkatan pesat pangkalan data jujukan gen. Sungguhpun begitu, pangkalan data jujukan gen yang dijana tidak dapat dieksploitasi secara efisien kerana tidak memberi maklumat sepenuhnya terutama tentang fungsi spesifik gen tertentu. Justeru, pengenalpastian fungsi gen dan pengesahan gen secara skala besar sangat penting dalam perkembangan bidang sains genomik berfungsi. Teknik asai transien merupakan pendekatan yang berguna dan mudah bagi membantu pencirian gen yang bersifat *novel* dan juga mengenal pasti fungsi spesifik sesuatu gen. Faedah utama teknik asai transien adalah kepantasannya yang sesuai untuk diaplikasi secara berskala besar bagi pencirian gen dan

pengesahan fungsi sesuatu gen dalam kuantiti yang besar secara berkesan dan pantas.

Aplikasi teknik asai transien dalam bidang genomik berfungsi

Teknik asai transien menggunakan vektor virus telah digunakan bagi mengekspreskan gen asing dalam sistem tumbuhan model seperti tembakau, *Arabidopsis thaliana* dan tomato menerusi kaedah agroinfiltrasi yang mudah dan dengan kos yang efektif. Vektor virus yang mempunyai kadar replikasi yang tinggi membolehkan gen diekspreskan dalam kadar yang tinggi.

Pengekspresan gen secara transien dalam sistem model tumbuhan membolehkan pemerhatian lebih mendalam dilakukan terhadap pelbagai fungsi protein seperti interaksi antara protein, kestabilan dan degradasi protein, aktiviti protein dan juga proses sel yang dirangsang oleh transkripsi pengekspresan gen. Pendekatan ini juga digunakan untuk menilai kemampuan sel tumbuhan untuk menghasilkan protein tertentu dan/atau menguji kefungsi susun atur kaset gen yang berbeza. Teknik ini adalah lebih ringkas dan efektif berbanding dengan pembentukan tanaman transgenik stabil yang memerlukan masa lama dan tenaga kerja yang intensif. Pengekspresan gen secara transien dalam sistem model tumbuhan bermula beberapa jam selepas agroinfiltrasi. Seterusnya, pengenalan protein boleh dilakukan dalam masa beberapa hari selepas agroinfiltrasi.

Kajian pengekspresan transien digunakan secara meluas untuk pengenalan dan pencirian gen. Penyenyapan gen secara aruhan virus (VIGS – *virus induced gene silencing*) merupakan kaedah pengekspresan transien yang lebih efektif untuk mengenal pasti fungsi gen secara menyenyapkan fungsi fenotip gen yang dikaji. Kaedah ini selalu digunakan untuk mengenal pasti peranan pelbagai gen berkaitan pertahanan, tekanan abiotik, isyarat selular dan biosintesis metabolit sekunder. Pada tahun 2006, VIGS telah digunakan untuk menganalisis gen-gen rintang penyakit yang terlibat dalam tapak jalan kerintangan penyakit berperantaraan *RPS2* dalam *Arabidopsis*.

Tapak jalan kerintangan penyakit berperantaraan *RPS2* ini melibatkan gen-gen *RPS2* yang rintang kepada bakteria *Pseudomonas syringae* dalam *Arabidopsis thaliana*. Oleh itu, penyenyapan gen *RPS2* dan juga gen-gen utama dalam tapak jalan kerintangan penyakit tersebut telah menyebabkan kehilangan keupayaan rintang penyakit terhadap *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 dalam *Arabidopsis*. Di samping itu, fungsi gen-gen berkaitan kemasakan buah seperti *LeCTR1*, *LeEILS*, *LeEIN2* dan *LeHB1* juga berjaya dikenal pasti melalui teknik VIGS. Kajian pengekspresan transien ini menunjukkan bahawa penyenyapan gen *LeCTR1* mempercepat kemasakan

buah tomato, sebaliknya proses kemasakan dilambatkan apabila gen *LeEILS*, *LeEIN2* dan *LeHB1* dinyenyapkan.

Transien RNAi juga digunakan bagi mengenal pasti fungsi gen yang berperanan sebagai langkah kadar terhad (*rate-limiting step*) dalam suatu tapak jalan kerana keupayaannya untuk menyaring fungsi gen secara berskala besar. Kajian pada tahun 2007 telah melaporkan bahawa transien RNAi telah digunakan untuk menyenyapkan gen-gen berkaitan pigmentasi bunga, *CHS* dan *Rosea1* dalam kelopak bunga *Antirrhinum*. Penindasan fungsi gen-gen ini telah menyebabkan pembentukan kawasan tidak berpigmen dan berwarna putih. Oleh itu, aplikasi teknik asai transien ini dapat membantu untuk mengenal pasti gen yang sesuai dan tepat fungsinya untuk membangunkan tumbuhan transgenik berciri baharu yang lebih berkualiti dan berdaya saing.

Pembentukan tumbuhan transgenik yang stabil melibatkan proses yang rumit, memerlukan masa yang lama dan tenaga kerja yang intensif. Sering kali transgen yang berintegrasi secara stabil tidak ekspres dan berfungsi ketika titisan transgenik dihasilkan. Justeru, pembangunan konstruk transformasi yang dapat berfungsi dengan baik dan berupaya untuk mengekspreskan gen sasaran yang diminati adalah penting dalam penghasilan tumbuhan transgenik. Bagi memastikan konstruk transformasi berfungsi di dalam tumbuhan transgenik yang dihasilkan, pengepresan transien juga digunakan untuk menguji keberkesanan konstruk transformasi sebelum kaedah transformasi secara stabil diaplikasikan bagi menghasilkan tumbuhan transgenik memiliki ciri-ciri yang diinginkan.

Satu kajian untuk mengkaji fungsi tiga kawasan pengawalatur gen iaitu *promoter CaMV35S*, gen *ribosomal protein L23A1* dan *temperature-inducible regulatory region HSP101B* yang mengawal pengepresan gen dalam sistem asai transien telah dilakukan pada tahun 2004. *CaMV35S* menunjukkan pengepresan gen pelapor, gen *β -glucuronidase (GUS)* sebanyak 10 – 35 kali ganda lebih tinggi berbanding dengan pengepresan gen *L23A1* dan gen *HSP101B*. Manakala, pengepresan gen *GUS* dengan gen *HSP101B* dapat ditingkatkan sebanyak 5 kali ganda apabila rawatan sejuk diberikan.

Selain itu, struktur *hairpin* dengan kehadiran *intron* dalam sistem asai transien membantu pembangunan konstruk RNAi. Dua konstruk *hairpin* yang mengandungi *intron* secara bersambung atau berorientasi terbalik digunakan untuk mengekspreskan gen *luciferase (LUC)* dalam di tembakau. Kajian mendapati konstruk *hairpin* dengan *intron* secara bersambung menunjukkan pengepresan gen *LUC* lebih rendah berbanding dengan konstruk yang mengandungi *intron* dengan orientasi terbalik. Ini menunjukkan konstruk *hairpin* yang mengandungi *intron* adalah lebih cekap untuk

menyenyapkan gen dan seterusnya dapat meningkatkan peratusan tumbuhan transgenik yang dijana.

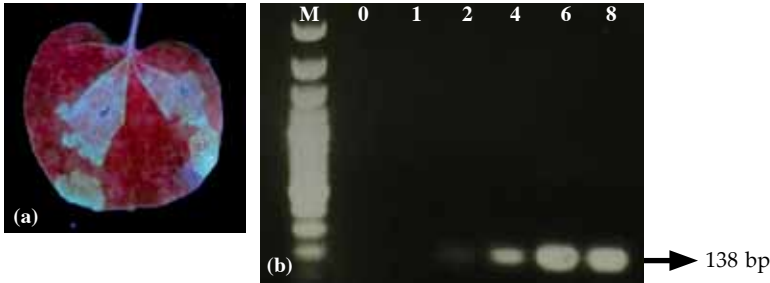
Pengekspresan transien juga digunakan untuk mengkaji siri konstruk yang dibina dalam proses pembangunan konstruk transformasi. Fungsi kawasan antara 5'UTR dengan 3'UTR dalam vektor CPMV melalui sistem pengekspresan transien telah berjaya ditentukan pada tahun 2008 manakala vektor pEAQ yang berupaya mengekspreskan beberapa protein dalam jangka masa yang sama menerusi pendekatan ini telah berjaya dikenal pasti pada tahun 2009.

Pembangunan sistem asai transien untuk pengenalpastian gen pertahanan tanaman

Penyelidikan yang berasaskan teknologi omik telah dimulakan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi sejak beberapa tahun kebelakangan ini. Beberapa kajian penemuan gen telah dijalankan untuk mengenal pasti gen berkaitan dengan kemasakan buah, pembungaan, kerintangan musim kemarau, pertahanan, penghasilan bahan bioaktif dan lain-lain. Pangkalan data gen juga telah dijana dengan penggunaan kaedah bioinformatik untuk kajian tersebut. Walau bagaimanapun, fungsi gen yang dikenal pasti ini perlu disahkan terlebih dahulu sebelum ia dapat diguna untuk membangunkan tanaman transgenik.

Sejak kebelakangan ini, Pusat Penyelidikan Bioteknologi, MARDI terlibat secara aktif dalam penyelidikan penyakit mati rosot betik dengan menggunakan pendekatan genetik berfungsi. Analisis dengan menggunakan kaedah *Serial Analysis of Gene Expression* (SAGE) telah dijalankan untuk menganalisis pengekspresan gen yang dikawal atur akibat kesan infeksi patogen terhadap pokok atau buah betik dan gen-gen berkaitan pertahanan betik telah berjaya diperoleh. Walaupun begitu, gen ini perlu disahkan fungsinya untuk mengenal pasti gen berpotensi yang terlibat dalam mekanisme pertahanan terhadap patogen secara spesifik. Justeru, sistem asai transien telah berjaya dibangunkan untuk mengesahkan fungsi gen dengan pengekspresan secara berlebihan gen yang diminati di dalam tumbuhan model iaitu pokok tembakau.

Langkah yang paling penting dalam pembangunan sistem asai transien ialah mengoptimumkan protokol kajian pengekspresan gen secara berlebihan dengan menggunakan vektor virus pEAQ yang mengandungi gen *gfp* yang diperoleh daripada John Innes Centre. Gen *gfp* telah digunakan untuk kajian pengoptimuman ini kerana protein *gfp* yang diekspreskan di dalam daun tembakau dapat dilihat di bawah cahaya ultra lembayung (UV). Dengan itu, kaedah dan masa pengekspresan protein untuk mencapai tahap maksimum dapat ditentukan. Kaedah agroinfiltrasi yang menggunakan picagari untuk memasukkan *Agrobacterium* yang mengandungi vektor virus ke dalam daun tembakau



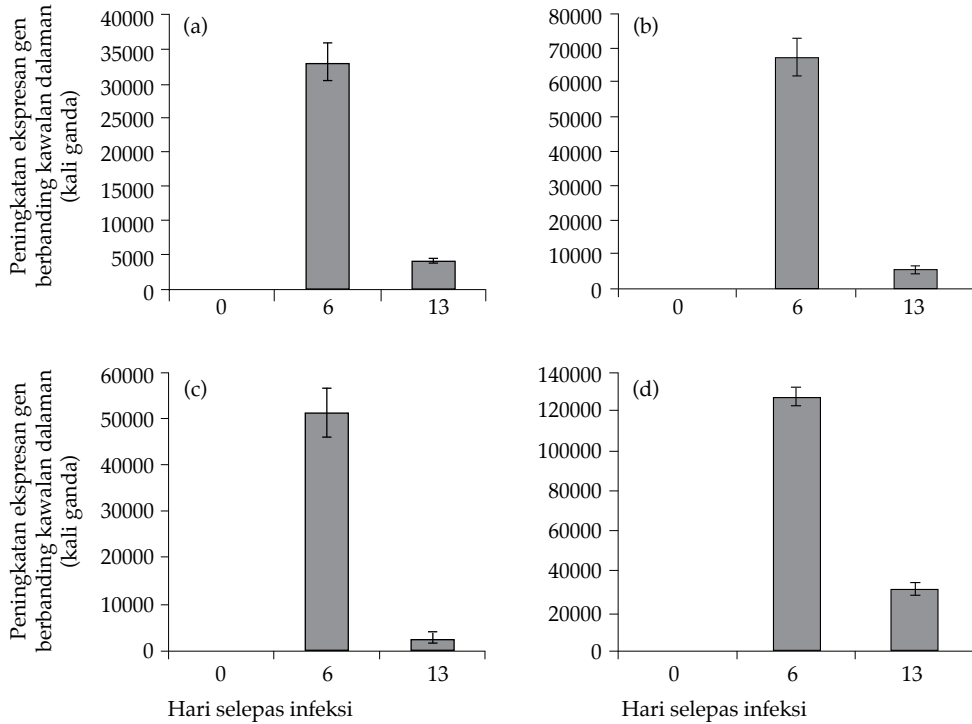
Gambar rajah 1. (a) Pengekspresan *gfp* di dalam daun tembakau yang diperhatikan di bawah cahaya UV dan (b) analisis PCR transkripsi berbalik pada hari ke-6 selepas infiltrasi

merupakan kaedah yang paling berkesan. Masa pengekspresan protein *gfp* yang mencapai tahap maksimum juga telah ditentukan pada hari ke-6 selepas infiltrasi dengan pemerhatian sampel daun tembakau di bawah cahaya UV. Selain itu, daun tersebut juga diambil untuk pemencilan RNA dan analisis PCR transkripsi berbalik turut dilakukan (Gambar rajah 1).

Seterusnya, jujukan penuh empat gen pertahanan (*peroxidase*, *aquaporin*, *leucine-rich protein* dan *zinc finger protein*) yang dikenal pasti daripada analisis SAGE turut dipencilkan. Gen-gen ini diklonkan ke dalam vektor virus, pEAQ dan ditransformasikan ke dalam bakteria *Agrobacterium*. Gen pertahanan ini juga telah diekspreskan di dalam daun tembakau menggunakan kaedah agroinfiltrasi. Sampel daun diambil pada masa 0, 6 dan 13 hari selepas agroinfiltrasi dilakukan. RNA keseluruhan bagi sampel tersebut diekstrak dan digunakan untuk sintesis cDNA. Tahap pengekspresan gen pertahanan di dalam daun tembakau dianalisis secara kuantitatif menggunakan kaedah kuantitatif *real-time* PCR (qPCR). Keputusan menunjukkan pengekspresan gen mencapai tahap maksimum pada hari ke-6 selepas infiltrasi, iaitu sebanyak beribu kali ganda lebih tinggi berbanding dengan gen kawalan dalaman, *house keeping gene* (Rajah 1). Ini menunjukkan gen pertahanan yang dikenal pasti telah berjaya diekspreskan di dalam tumbuhan model tembakau. Pembangunan sistem asai transien ini membolehkan gen-gen disahkan fungsinya secara mudah, cepat dan berskala tinggi.

Pendekatan baharu untuk penghasilan produk terapeutik

Vektor virus yang berupaya mengekspreskan protein berlebihan secara transien di dalam tumbuhan membolehkan tumbuhan tersebut digunakan sebagai bioreaktor semula jadi untuk penghasilan protein terapeutik seperti enzim, vaksin ataupun hormon. Penghasilan protein rekombinan di dalam tumbuhan merupakan pendekatan yang kos efektif, risiko kontaminasi yang rendah dan berupaya menjalankan modifikasi protein sendiri selepas protein ditranslasi.



Rajah 1. Tahap pengekspresan gen pertahanan, (a) aquaporin, (b) peroxidase, (c) zinc finger protein dan (d) leucine-rich protein dalam daun tembakau pada 0, 6 dan 13 hari selepas infeksi dianalisis secara kuantitatif dengan menggunakan real-time PCR (qPCR)

Pengekspresan transien gen HPV L1 di dalam tembakau menggunakan *tobacco mosaic virus* (TMV) telah berjaya menghasilkan vaksin manusia yang berupaya menentang kanser servik. Sistem pengekspresan virus tumbuhan juga digunakan untuk menghasilkan alergen rekombinan termasuk alergen *birch pollen* (Bet v1), alergen *Spina bifida associated latex* (Hev b1 dan Hev b3) dan *apple thaumatin like protein* (Mal d2) di dalam tembakau.

Perkembangan sains dan teknologi dalam bidang genomik berfungsi telah membuka peluang untuk saintis memahami fungsi gen secara menyeluruh. Maklumat dan pengetahuan yang dijana penting untuk digunakan dalam menangani cabaran dan masalah secara lebih cepat dan tepat dan seterusnya dapat memajukan sektor agrobioteknologi negara. Penyelidikan genomik berfungsi telah diberi penekanan untuk menguat dan mengukuhkan pemahaman dasar demi mencapai matlamat iaitu menghasilkan produk agrobioteknologi yang lebih berkualiti dan berdaya saing. Sistem asai transien yang dibangunkan boleh juga diaplikasi untuk menghasilkan produk terapeutik selain dapat digunakan untuk mengesahkan fungsi gen. Sebagai contoh, permintaan betalains semakin

meningkat untuk digunakan sebagai sumber alternatif bahan antioksidan dan pewarna makanan semula jadi.

Teknologi *in vitro* telah dieksploitasi untuk menghasilkan kompaun ini daripada *Beta vulgaris*. Manakala, buah pitaya merah dengan isinya yang berwarna merah ungu tua didapati kaya dengan betalains. Kajian metabolomik dan transkriptomik pitaya telah dijalankan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan hasil integrasi data daripada dua kajian tersebut digunakan untuk mengenal pasti tapak jalan gen-gen berkaitan dengan biosintesis betalains di dalam pitaya. Gen-gen berkaitan dengan biosintesis betalains boleh disahkan fungsinya dengan sistem asai transien dan seterusnya sistem ini juga boleh diaplikasi untuk menghasilkan kompaun yang penting dan berharga ini daripada pitaya.

Penghargaan

Penulis ingin berterima kasih kepada Dr. George Lomonosoff dari John Innes Centre dan Plant Bioscience Limited (PBL) kerana memberi pEAQ vektor.

Bibliografi

- Cai, X.Z., Xu, Q.F., Wang, C.C. dan Zheng, Z. (2006). Development of a virus-induced gene-silencing system for functional analysis of the RPS2-Dependent resistance signalling pathways in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology* 62(1 – 2): 223 – 232
- Fernie, A.R. dan Schauer, N. (2008). Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in Genetics* 25(1): 39 – 48
- Fernie, A.R., Tadmor, Y. dan Zamir, D. (2006). Natural genetic variation for improving crop quality. *Current Opinion in Plant Biology* 9: 196 – 202
- Frank, T., Scholz, B., Peter, S. dan Engel, K.H. (2011). Metabolite profiling of barley: influence of the malting process. *Food Chemistry* 124: 948 – 957
- Fraser, P.D., Erfissi, E.M.A., Goodfellow, M., Eguchi, T. dan Bramley, P.M. (2007). Metabolite profiling of plant carotenoids using the matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *The Plant Journal* 49: 552 – 564
- Godge, M.R., Purkayastha, A., Dasgupta, I. dan Kumar, P.P. (2008). Virus-induced gene silencing for functional analysis of selected genes. *Plant Cell Report* 27: 209 – 219
- International Rice Genome Sequencing Project (2005). The map-based sequence of the rice genome. *Nature* 436(11): 793 – 800
- Leathers, R.R., Davin, C. dan Zryd, J.P. (1992). Betalain producing cell cultures of *Beta vulgaris* L var Bikores Monogerm (Red Beet). *In Vitro Cell Dev Plant* 28: 39 – 45
- Li, S., Han, Q., Qiao, C., Song, J., Cheng, C.L. dan Xu, H. (2008). Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview. *Chinese Medicine* 3(7): 1 – 16
- Lin, Z., Hong, Y., Yin, M., Li, C., Zhang, K. dan Grierson, D. (2008). A tomato HD-Zip homeobox protein, LeHB-1, plays an important role in floral organogenesis and ripening. *The Plant Journal* 55: 301 – 310
- Lindbo, J.A. (2007). High efficiency protein expression in plants from agroinfection compatible *Tobacco mosaic virus* expression vectors. *BMC Biotechnology* 7(52): 1 – 11

- Narusaka, Y., Narusaka, M., Abe, H., Hosaka, N., Kobayashi, M., Shiraishi, T. dan Iwabuchi, M. (2009). High-throughput screening for plant defense activators using a β -glucuronidase-reporter gene assay in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biotechnology* 26: 345 – 349
- Nemchinov, L.G. dan Natilla, A. (2007). Transient expression of the ectodomain of matrix protein 2 (M2e) of avian influenza A virus in plants. *Protein Expression and Purification* 56: 153 – 159
- Oikawa, A., Matsuda, F., Kusano, M., Okazaki, Y. dan Saito, K. (2008). Rice metabolomics. *Rice* 1: 63 – 71
- Pavlov, A. dan Bley, T. (2006) Betalains biosynthesis by *Beta vulgaris* L. hairy root culture in a temporary immersion cultivation system. *Process Biochem.* 41: 848 – 852
- Purkayastha, A. dan Dasgupta, I. (2009). Virus-induced gene silencing: A versatile tool for discovery of gene functions in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 967 – 976
- Sainsbury, F. dan Lomonosoff, G.P. (2008). Extremely high level and rapid transient protein production in plants without the use of viral replication. *Plant Physiology* 148: 1212 – 1218
- Sainsbury, F., Thuenemann, E.C. dan Lomonosoff, G.P. (2009). pEAQ: versatile expression vectors for easy and quick transient expression of heterologous proteins in plants. *Plant Biotechnology Journal* 7: 682 – 693
- Shang, Y., Schwinn, K.E., Bennett, M.J., Hunter, D.A., Waugh, T.L., Pathirana, N.N., Brummell, D.A., Jameson, P.E. dan Davies, K.M. (2007). Methods for transient assay of gene function in floral tissues. *Plant Methods* 3(1): 1 – 12
- Tieman, D.M., Zeigler, M., Schmelz, E.A., Taylor, M.G., Bliss, P., Kirst, M. dan Klee, H.J. (2006). Identification of loci affecting flavour volatile emissions in tomato fruits. *Journal of Experimental Botany* 57(4): 887 – 896
- Tohge, T., Nishiyama, Y., Hirai, M.Y., Yano, M., Nakajima, J., Awazuhara, M., Inoue, E., Takahashi, H., Goodenowe, D.B., Kitayama, M., Noji, M., Yamazaki, M. dan Saito, K. (2007). Identification of genes involved in anthocyanin accumulation by integrated analysis of metabolome and transcriptome in PAP1-overexpressing *Arabidopsis* plants. *Concepts in Plant Metabolomics* m.s. 159 – 168
- Ueki, S., Lacroix, B., Krichevsky, A., Lazarowitz, S.G. dan Citovsky, V. (2009). Functional transient genetic transformation of *Arabidopsis* leaves by biolistic bombardment. *Nature Protocol* 4(1): 71 – 77
- Varsani, A., Williamson, A.L., Stewart, D. dan Rybicki, E.P. (2006). Transient expression of human papillomavirus type 16L1 protein in *Nicotiana benthamiana* using an infectious tobamovirus vector. *Virus Research* 120: 91 – 96

Ringkasan

Bidang agrobioteknologi telah diberi keutamaan untuk mentransformasi sektor pertanian dengan penggunaan kaedah bioteknologi. Fokus sektor pertanian kini tertumpu kepada peningkatan hasil dan mutu hasilan, peningkatan daya saing produk serta menuju ke arah pengkomersialan. Genomik berfungsi merupakan salah satu platform penyelidikan yang diaplikasi secara meluas untuk mencapai matlamat ini. Perkembangan pesat teknologi biologi molekul baharu membolehkan penjana pangkalan data gen atau protein secara mudah. Walau bagaimanapun, pengesahan fungsi spesifik gen atau protein tertentu diperlukan sebelum pangkalan data jujukan gen atau protein yang dijana dieksploitasi secara efisien. Sistem asai transien dibangunkan untuk mencirikan gen-gen yang bersifat *novel* dan juga mengenal pasti fungsi spesifik sesuatu gen. Ia merupakan satu pendekatan yang mudah dan pantas untuk pengesahan fungsi gen secara berskala besar. Selain itu, sistem ini juga digunakan untuk mengenal pasti gen yang berperanan sebagai langkah kadar terhad dalam satu tapak jalan, menguji keberkesanan konstruk transformasi yang dibangunkan dan lain-lain. Kini, sistem asai transien digunakan untuk pengesahan fungsi gen pertahanan betik dan pengenalanpastian gen berpotensi yang terlibat dalam mekanisme pertahanan terhadap penyakit mati rosot betik.

Summary

Agro-biotechnology has been given priority to transform the agricultural sector through biotechnology. This sector is focusing on increase products yield, quality, competitiveness and commercialization. Functional genomics research is one of the platform that has been widely applied to achieve these goals. The rapid development of molecular biology technologies enhanced the development of gene or protein database. However, confirmation of specific functions of a gene or protein is required before this database can efficiently be exploited. Transient assay system was developed to characterize the genes that are novel and to validate the specific function of a gene. This is a fast and simple approach to validate gene function in large scale. In addition, this system also enable to identify genes that serve as rate limiting step in certain pathway, test the effectiveness of the constructed transformation and others. Now, this transient assay system being used for validation of gene function and to identify the potential papaya defence gene that involves in defence mechanisms against papaya dieback disease.

Pengarang

Wee Chien Yeong

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

E-mel: cywee@mardi.gov.my

Mohd Waznul Adly Mohd Zaidan

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur