

Pendekatan Bioinformatika terhadap Transkriptomik Filaggrin

Bioinformatics Approach towards Transcriptomics of Filaggrin

Dito Anurogo¹, Arli Aditya Parikesit²

¹S2 Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

²Tim Informatika, STAI ALHIKMAH Jakarta, Cilandak Timur, Pasar Minggu, Jakarta Selatan, Indonesia

e-mail korespondensi: dito.anurogo@mail.ugm.ac.id

Abstrak

Filaggrin, atau filamen yang menggabungkan protein, adalah salah satu protein struktural penting yang berfungsi untuk pengembangan, pemeliharaan, dan pembentukan kulit sebagai penghalang utuh. Produk *breakdown* filaggrin mengatur hidrasi kulit; berkontribusi pada pH asam dari kulit, yang pada gilirannya sangat penting untuk aktivitas berbagai protease stratum korneum dalam deskuamasi dan sintesis lipid. Filaggrin diproduksi oleh keratinosit granular sebagai prekursor besar yang disebut profilaggrin, yang disandikan oleh gen FLG, terletak di kompleks diferensiasi epidermal pada kromosom 1 (lokus 1q21). Locus tersebut berisi sekelompok gen yang terlibat dalam diferensiasi epidermal. Kekurangan filaggrin memiliki beberapa konsekuensi pada organisasi dan fungsi epidermal dengan implikasi penting seperti risiko yang lebih tinggi untuk penyakit atopik atau infeksi mikroba. Mutasi FLG, gen yang mengkodekan filaggrin, telah terbukti menyebabkan *ichthyosis vulgaris*, meningkatkan risiko dermatitis atopik dan penyakit atopik lain. Kajian ini meneliti gen FLG berdasarkan pendekatan bioinformatika untuk mencari *conserved region* dari perwakilan mamalia yang menyandikan *coding* (m) dan *non coding* (nc) RNA. Diharapkan ekspresi mRNA dapat digunakan sebagai agen diagnostik dan terapeutik terhadap defisiensi dan mutasi filaggrin.

Kata kunci: filaggrin, FLG, profilaggrin, defisiensi filaggrin, bioinformatika.

Abstract

Filaggrin, or filaments which combines protein, is one of the important structural protein that works for the development, maintenance, and the formation of the skin as an intact barrier. Filaggrin breakdown products regulate the hydration of the skin; contribute to the acidic pH of the skin, which in turn is essential for the activity of various proteases in the stratum corneum desquamation and lipid synthesis. Filaggrin produced by keratinocytes granular as a major precursor called profilaggrin, encoded by the FLG gene, located in the epidermal differentiation complex on chromosome 1 (1q21 locus). The locus contains a group of genes involved in epidermal differentiation. Filaggrin deficiency has some consequences on the organization and function of epidermal with important implications such as increased risk for atopic disease or a microbial infection. FLG mutation, a gene that encodes filaggrin, has been shown to cause *ichthyosis vulgaris*, increasing the risk of atopic dermatitis and other atopic diseases. This research examined the FLG gene based bioinformatics approach to search for conserved region of representative mammals that encode coding (m) and non-coding (nc) RNAs. Expected mRNA expression can be used as a diagnostic and therapeutic agent against deficiencies and filaggrin mutations.

Key words: filaggrin, FLG, profilaggrin, filaggrin deficiency, bioinformatics.

Pendahuluan

Protein Filaggrin diproduksi oleh keratinosit granular sebagai prekursor besar yang dinamakan profilaggrin, yang terdiri dari 10–12 filaggrin berulang, diapit domain terminal tunggal N- dan C-. Profilaggrin adalah komponen utama granul *keratohyalin* (McAleer & Irvine 2013). Filaggrin berproses bersama berbagai protease. Proteolisis memicu pembebasan asam amino higroskopis dan turunan mereka, yang membentuk *natural moisturizing factor* (NMF), yang bertanggung-jawab untuk retensi air di lapisan stratum korneum. Pemecahan beberapa asam-asam amino ini memunculkan dua asam-asam organik, yakni: *trans-urocanic acid* (UCA), suatu turunan histidin; dan *pyrrolidone-5-carboxylic acid* (PCA), suatu turunan glutamin. Asam-asam ini adalah dua dari faktor-faktor utama yang bertanggung jawab untuk memelihara derajat pH keasaman stratum korneum, yang berperan penting pada metabolisme dan organisasi lipid di matriks ekstraseluler. Fungsi lain sebagai aksi antimikroba dan untuk peran regulator pada aktivitas enzim dan deskuamasi fisiologis (McAleer dan Irvine 2013; Angelova-Fischer *et al.*, 2014; Cole *et al.*, 2014).

FLG, sebagai gen penyandi FLG, berlokasi di *epidermal-differentiation complex* (EDC) pada kromosom 1q21. EDC mengandung gen-gen yang mengkode *S100-fused type proteins* (SFTP), misalnya profilaggrin, hornerin, filaggrin-2, repetin, *cornulin*, *trichohyalin*, dan *trichohyalin-like 1* (Thyssen dan Kezic 2014). Keluarga gen "*fused-type*" S100 ini berbagi suatu struktur terkonservasi, terdiri dari tiga ekson dan dua intron. Kodon inisiasi berlokasi di ekson 2, sedangkan bagian terbesar poliprotein profilaggrin dikode oleh ekson 3. Terdapat kesulitan saat melakukan *sequencing* ekson 3, bukan hanya karena ukurannya (>12 kb) melainkan juga karena terdiri dari 10-12 unit filaggrin yang tersusun berulang dan tandem. Meskipun ekson 3 secara keseluruhan dapat diamplifikasi menggunakan suatu *long-range* PCR, tidak mungkin untuk mensekuens fragmen besar ini karena secara alami repetitif. Setiap unit pengulangan filaggrin berukuran serupa (~1 kb). Karena hanya sejumlah kecil basa-basa yang ada di setiap pengulangan yang unik, pilihan daerah primer yang tepat untuk amplifikasi dan *sequencing* amat terbatas (Sandilands *et al.*, 2007).

Banyak manifestasi klinis kulit atopik terkait mutasi FLG, antara lain penurunan kadar asam amino bebas di stratum korneum, peningkatan kehilangan air transepidermal dan pH stratum korneum, kekeringan,

kolonisasi bakteri abnormal (Thyssen dan Kezic 2014). Untuk memahami efek defisiensi filaggrin dengan lebih baik pada keratinosit di *fibroblast- and immunological cell-free context*, para peneliti melakukan *knocked down* ekspresinya dengan teknologi *small-hairpin* RNA (shRNA) di *reconstructed human epidermis* (HE) pada filter polikarbonat (Gutowska-Owsiak *et al.*, 2012; Pendaries *et al.*, 2014).

Secara biomedis, defisiensi filaggrin merupakan konsekuensi dari mutasi gen FLG. Defisiensi filaggrin memiliki multikonsekuensi pada organofungsional epidermal dengan multiimplikasi, seperti risiko menderita penyakit atopik atau infeksi mikrobial. Hal ini terkait erat dengan perubahan morfologi permukaan korneosit, defek paraseluler atau respons stres yang dimediasi oleh interferon tipe 1, yang merepresentasikan mekanisme fungsional yang bertanggung jawab untuk infeksi virus pada pasien defisiensi filaggrin (Sandilands *et al.*, 2007). Defisiensi filaggrin berperan penting pada patogenesis dermatitis atopik. Ekspresi filaggrin dapat didownregulasi oleh sitokin Th₂ dan inflamasi atopik, sedangkan FLG *intra-genic copy number variation* memengaruhi risiko dermatitis atopik, bahkan pada ketiadaan mutasi *null* FLG (Brown *et al.*, 2012; Eichenfield *et al.*, 2014; Thyssen dan Kezic 2014). Filaggrin diekspresikan mula-mula sebagai *long insoluble polyprotein*, profilaggrin, yang dipotong untuk menghasilkan monomer fungsional yang mengagregasi dan meluruskan filamen-filamen keratin. Setelah itu, filaggrin didegradasi pada multistep *proteolysis* untuk membebaskan asam amino-asam amino higroskopis, berkontribusi terhadap "*natural moisturizing factor*" kulit. Mekanisme dimana protein-protein profilaggrin/filaggrin multifungsional memicu terjadinya dermatitis atopik, asma atopik, rinitis alergi, sensitisasi terhadap makanan, alergi kacang, telah menjadi fokus riset selama beberapa tahun terakhir ini (Eichenfield *et al.*, 2014). Berdasarkan survey dari *World Allergy Organization* (WAO), atopik dermatitis merupakan penyakit alergi yang mempengaruhi 2-5% anak-anak, dan sekitar 10% remaja di dunia (Darsof *et al.*, 2014). Sementara itu, menurut IDAI, dermatitis atopik bisa dicegah dengan menghindari makanan dan agen alergi tertentu (Munzir dan Komala 2015).

Mempelajari gen FLG *Homo sapiens* akan menjadi lebih jelas jika dibandingkan dengan spesies primata lain dalam pohon filogenetik, yang masih berkerabat dekat (Mooers dan Heard 1997; Rogers dan Gibbs 2014). Hal ini karena primata yang bukan manusia

merupakan organisme model yang paling relevan untuk memahami biologi manusia (Boffelli *et al.*, 2003).

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari fenomena spesiasi pada gen penyandi filaggrin FLG, menentukan struktur 2D dari mRNA filaggrin, dan mendalami fungsi maupun fitur dari struktur 3D filaggrin yang terpelihara pada semua spesies mamalia.

Metode Penelitian

Sekuens gen FLG pada 16 model species primata diunduh dari situs NCBI di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>, dan disimpan dengan aplikasi editor *text notepad* dalam format FASTA (Speir *et al.*, 2015). Kemudian, file berbasis FASTA di-*running multiple sequence alignment* (MSA) dengan CLUSTALX versi 2 pada semua sekuens gen FLG. Selanjutnya, luaran data MSA digunakan sebagai input untuk membangun pohon filogenetik pada aplikasi MEGA versi 7 (Hall 2013). Kemudian, data MSA juga digunakan untuk input aplikasi *Vienna RNA package* versi 2 dalam menentukan struktur 2D (Gruber *et al.*, 2015). Dalam rangka mendalami fungsi protein filaggrin, struktur 3D diunduh dari situs web RCSB di <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> dan dilakukan pengkajian modifikasi pos translasi dengan SCANPROSITE di <http://prosite.expasy.org> (Rose *et al.*, 2013; Sigrist *et al.*, 2010). Prediksi terhadap sistem *host* yang terbaik untuk ekspresi protein filaggrin dilakukan dengan *tools suggestES* pada tautan <http://expsys.weizmann.ac.il/expsysb/suggestES> (Prilusky, 2004-2012.; Gräslund *et al.*, 2008). Analisis visual secara mendalam terhadap data MSA dan pohon filogenetik dilakukan untuk mengkaji adanya potensi mutasi. Semua operasi komputasi dilakukan dengan parameter *default*.

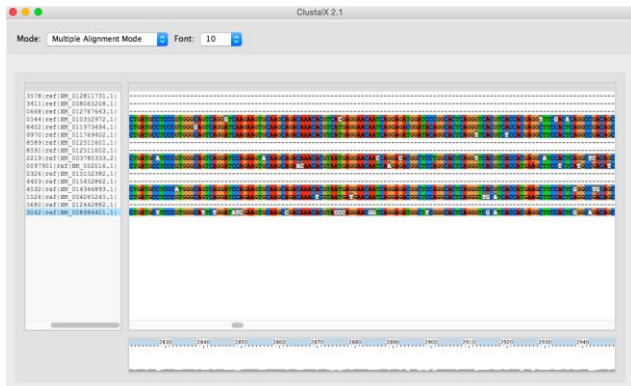
Hasil Penelitian

Pencarian gen FLG pada 16 spesies primata dilakukan pada tautan <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. Sekuens/ urutan basa yang diunduh dapat dilihat pada Tabel 1.

Nama Gen	NCBI Reference Sequence
Homo sapiens filaggrin, mRNA	NM_002016.1
PREDICTED: Macaca mulatta filaggrin, mRNA	XM_015152382.1
PREDICTED: Microcebus murinus filaggrin, mRNA	XM_012767643.1
PREDICTED: Nomascus leucogenys filaggrin, transcript variant X1, mRNA	XM_012511601.1
PREDICTED: Nomascus leucogenys filaggrin, transcript variant X2, mRNA	XM_012511602.1
PREDICTED: Aotus nancymae filaggrin, partial mRNA	XM_012442882.1
PREDICTED: Mandrillus leucophaeus filaggrin , mRNA	XM_011973494.1
PREDICTED: Macaca nemestrina filaggrin , mRNA	XM_011769402.1
PREDICTED: Rhinopithecus roxellana filaggrin , mRNA	XM_010352972.1
PREDICTED: Callithrix jacchus filaggrin , mRNA	XM_008984401.1
PREDICTED: Macaca fascicularis filaggrin , partial mRNA	XM_015452862.1
PREDICTED: Gorilla gorilla gorilla filaggrin , mRNA	XM_004065245.1
PREDICTED: Pan paniscus filaggrin , mRNA	XM_014346893.1
PREDICTED: Pongo abelii filaggrin , mRNA	XM_003780333.2
PREDICTED: Tarsius syrichta filaggrin , mRNA	XM_008065208.1
PREDICTED: Ootolemur garnettii filaggrin , mRNA	XM_012811731.1
LOC100962525, mRNA	

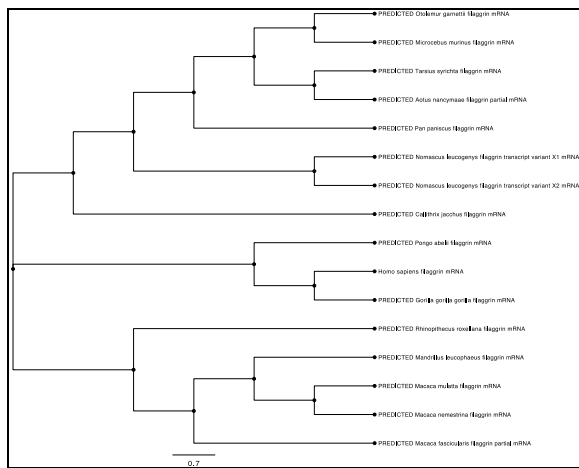
Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa umumnya urutan basa gen FLG pada primata memiliki status 'PREDICTED' atau hasil prediksi komputasi. Semua gen FLG pada primata, terkecuali pada manusia, diprediksi dengan menggunakan pipeline *Gnomon* berbasis aplikasi *GENSCAN* (Burge dan Karlin 1997; Souvorov *et al.*, 2010). Pipeline berbasis *GENSCAN* pernah kami ujicoba sebelumnya untuk anotasi domain protein, sehingga prediksi gen tetap valid digunakan dalam penelitian ini (Parikesit *et al.*, 2014). Namun, untuk mengkaji apakah prediksi gen sudah *representative*, maka langkah selanjutnya adalah melakukan *Multiple Sequence Alignment* (MSA) dengan aplikas Clustal Omega di http://www.ebi.ac.uk/Tools/services/web_clustalo. Luaran aplikasi Clustal Omega adalah pensejajaran urutan berbasis ClustalW dan dokumen pohon filogenetik yang dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Tabel 1. Urutan basa gen Filaggrin 16 spesies primata



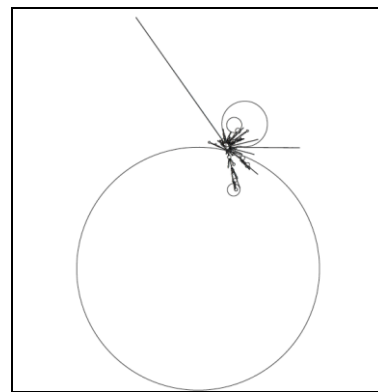
Gambar 1. *Multiple Sequence Alignment (MSA)* gen FLG pada 16 spesies primata. Kotak paling kiri: nama gen, kotak kanan: urutan basa yang di *align*, kotak bagian bawah: tingkat konservasi urutan basa.

Luaran Clustal Omega menunjukkan bahwa tidak ada sekuens yang terkonservasi, karena tidak ditemukan sinyal bintang pada semua urutan nukleotida (Gambar 1). Seharusnya gen tersebut sangat *conserved* karena berasal dari famili animal yang sama. Hal ini dapat terjadi karena pembacaan dan *assembly* gen FLG yang memang belum lengkap. Hal ini akan mempersulit kajian pengembangan obat dan diagnostik kulit atopik yang diakibatkan oleh defisiensi filaggrin pada model primata, sebab urutan gen filaggrin pada manusia dan ke-15 primata lainnya sangatlah berbeda. Dengan demikian, jalur metabolisme obat kemungkinan akan tidak sepenuhnya identik, karena metabolisme selalu dipengaruhi oleh ekspresi gen (Kanehisa dan Goto 2000).



Gambar 2. Pohon Filogenetik Gen FLG pada 16 spesies Primata. Ditayangkan dengan *software* FigTree versi 1.4.2.

Pohon filogenetik gen FLG primata pada Gambar 2 menunjukkan bahwa secara kekerabatan gen tersebut dekat, memiliki fungsi sama. Walaupun pada luaran MSA di gambar 1 menunjukkan bahwa gen FLG pada manusia dan gorila tidak terkonservasi, namun pada gambar 2 dimungkinkan keduanya adalah gen ortolog, yang memiliki fungsi sama berasal dari fenomena spesiasi. Fenomena gen ortolog juga dapat dilihat pada *Orolemur garnetti* dan *Microcebus murinus*, *Tarsius syrichta* dan *Aotus nancymae*, *Macaca mulatta* dan *Macaca nemestrina*. Namun, pada *Nomascus leucogenys* tidak dapat dikatakan fenomena gen ortolog, karena merupakan isoform dari transkrip yang sama.



Gambar 3. Prediksi Struktur 2D *conserved* pensejajaran dari mRNA gen FLG pada 16 spesies primata.

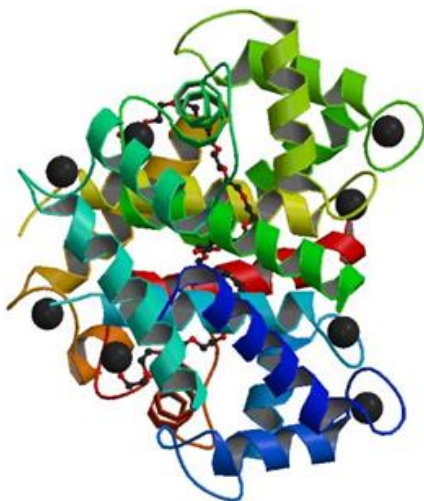
Software RNAfold yang merupakan bagian dari Vienna RNA package untuk mencari struktur sekunder (2D) yang terpelihara dari mRNA gen FLG 16 spesies primate (Gambar 3). Prediksi struktur terpelihara pada Gambar 3 menunjukkan anomali, karena membentuk *hairpin-loop* dengan lingkaran yang terlalu lebar. Secara termodinamika, hal ini tidak terlalu disukai karena senyawa akan cenderung sangat tidak stabil. Anomali pada Gambar 3 dapat terjadi karena tidak terpeliharanya urutan basa pada gen FLG 16 spesies primata. Hal ini hanya dapat diperbaiki jika kualitas anotasi gen FLG 16 spesies tersebut memang sudah lebih baik. Namun sebelum perbaikan itu dilakukan, kita hanya bisa menerima anotasi versi Refseq/Genbank secara apa adanya.



Gambar 4. Prediksi struktur 2D mRNA gen FLG pada manusia.

Hanya struktur 2D mRNA gen FLG manusia yang kami prediksi secara individual, karena gen primata lain hanya berbasis metode prediksi gen (Gambar 4). Struktur 2D gen FLG manusia tersebut sangatlah rumit, karena terdiri atas banyak cabang dan sejumlah *hairpin-loop*. Walaupun kami yakin bahwa struktur ini eksis, karena berasal dari urutan basa *wet experiment*, namun eksistensinya di sel sangat dimungkinkan waktu hidupnya pendek, dalam skala nano detik (Zhang *et al.*, 2006; And dan Pettitt, 1996). Hal ini akan mempersulit studi aktivitas secara *wet*, karena akan tidak mungkin untuk diisolasi.

Struktur 3D protein filaggrin ditemukan pada basis data RSCB dengan kode 4PCW bertajuk 'Crystal Structure of the N-terminal Domain of Human Profilaggrin at 2.2 Å Resolution' (Gambar 5).



Gambar 5: Struktur 3D Protein Fillagrin, dengan ID RCSB: 4PCW

Struktur 3D yang diunduh adalah struktur asli hasil eksperimen *wet* kristalografi protein, bukan merupakan hasil prediksi. Dengan ditemukannya struktur asli, maka prediksi *homology modeling* tidak diperlukan. Selanjutnya, keberadaan struktur 3D mempermudah penentuan fungsi katalitik dan domain dari protein filaggrin itu sendiri. Setelah dilakukan pencaharian pada basis data PROSITE, maka fungsi domain filaggrin dapat dikaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Pola (pattern) yang ditemukan PROSITE pada protein Filaggrin

Nama Rantai (Chain)	Posisi Urutan (Sekuens)	Kode ID PROSITE	Fungsi Domain
4PCW-A	56-77	PS00303	<i>S-100/CaBP type calcium binding protein signature</i>
	61-73	PS00018	<i>EF-hand calcium-binding domain</i>
4PCW-B	56-77	PS00303	<i>S-100/CaBP type calcium binding protein signature</i>
	61-73	PS00018	<i>EF-hand calcium-binding domain</i>
4PCW-C	56-77	PS00303	<i>S-100/CaBP type calcium binding protein signature</i>
	61-73	PS00018	<i>EF-hand calcium-binding domain</i>
4PCW-D	56-77	PS00303	<i>S-100/CaBP type calcium binding protein signature</i>
	61-73	PS00018	<i>EF-hand calcium-binding domain</i>

Dapat kita lihat pada Tabel 2, ternyata protein filaggrin terdiri atas 4 rantai (chain), yaitu rantai A, B, C, dan D. Keempat rantai tersebut diketahui memiliki fungsi yang sama, karena jika kita kaji pada tabel, ternyata kesemua rantai tersebut memiliki dua fungsi yang sama, pada urutan asam amino yang sama, yaitu domain pengikat kalsium tipe S-100 dan *EF-hand*. Menurut informasi basis data PROSITE, S-100 adalah dimerik kalsium asam dan sisi aktif protein pengikat seng (*zinc*) yang banyak terdapat di otak. Sementara itu, *EF-hand* adalah sisi aktif yang memastikan bahwa S-100 tetap memiliki fitur pengikat kalsium (*error detecting*), dan menjaga integritas fitur tersebut. Berdasarkan informasi ini, kita dapat memastikan bahwa pengikatan dengan kofaktor/ ligan kalsium memastikan bahwa protein filaggrin tetap memiliki struktur dan fungsi yang normal. Gagalnya pengikatan dengan kalsium akan

mengganggu fungsi/kerja filaggrin (Markova *et al.*, 1993).

Salah satu solusi mengatasi defisiensi filaggrin adalah memberikan asupan filaggrin kepada pasien. Hanya saja, untuk memproduksi filaggrin dibutuhkan teknologi rekayasa genetika, yang mensyaratkan *host* ekspresi yang cocok untuk produksi protein tersebut. Berdasarkan komputasi *tool* suggestES, ditemukan bahwa berdasarkan hasil eksperimen *wet*, *E. coli* dengan Taxo ID 562 adalah yang paling cocok. Sementara, berdasarkan hasil kesamaan komposisi asam amino, ditemukan bahwa *Toxoplasma gondii* ME49 dengan Taxo ID 508771 adalah yang paling cocok. Dengan demikian, peneliti *wet* sudah mendapatkan informasi untuk melakukan percobaan rekayasa genetika untuk produksi filaggrin.

Pembahasan

Protein penting epidermal adalah filaggrin, yang penting untuk pembentukan *corneocyte*, membangkitkan metabolit intraseluler, yang berkontribusi untuk hidrasi stratum korneum dan pH, sementara juga menghalangi foton dari *irradiation* UV-B (Thyssen & Maibach 2014). Ekspresi filaggrin epidermal *downregulated* oleh sitokin Th₂ pada pasien dermatitis atopik, proteolisis filaggrin diakselerasi setelah terpapar baik pada kelembaban *ambient* (lingkungan) rendah atau pengiritasi kulit. Sehingga kadar filaggrin dan produk-produk degradasinya dipengaruhi bukan hanya oleh genotip filaggrin melainkan juga oleh inflamasi dan stresor eksogen (Thyssen dan Kezic 2014). Observasi ini mendukung baik hipotesis patogenetik dermatitis atopik "*outside-to-inside*", yang mempostulasikan bahwa dermatitis atopik berkembang karena abnormalitas sawar kulit primer dengan perubahan imunologis, mewakili fenomena *downstream*, dan patogenesis dermatitis atopik "*outside-to-inside* dan *back-to-outside*" dimana aktivasi imunologis sekunder akan menghasilkan stres lanjutan pada sawar (*barrier*) (Elias *et al.*, 2008; Thyssen dan Kezic 2014).

Hasil komputasi penelitian disimpan pada data suplemen, yang dapat digunakan pada penelitian berikutnya (Parikesit, 2016). Walaupun gen FLG pada 15 primata yang diujicoba adalah hasil prediksi, bukan berarti tidak valid untuk digunakan karena prediksi gen sudah sangat umum digunakan pada metode kerja anotasi genom (Curwen *et al.*, 2004).

Namun, kita harus waspada jika membandingkan

primata dengan mamalia yang lain, seperti dengan lumba-lumba atau *alpaca*. Penggunaan transkrip Genbank terbukti dapat memberikan resolusi yang kurang baik dalam membangun pohon filogenetik, karena tidak konsistennya jumlah transkrip gen pada mamalia (Parikesit *et al.*, 2010; Parikesit *et al.*, 2010). Oleh karena itu, solusi jangka panjang adalah membangun *pipeline* atau metode kerja yang lebih baik untuk memprediksi protein *coding genes* (Indrischek *et al.* 2016). Metode kerja prediksi struktur yang lebih optimal akan membangun struktur 2D mRNA yang lebih solid. Sebelum metode kerja tersebut ditemukan, ada baiknya berhati-hati dengan model primata dalam pengembangan obat, karena jalur metabolisme dimungkinkan tidak identik.

Tidak terkonservasinya urutan basa gen FLG primate menunjukkan bahwa proyek anotasi genom primata memang belum dilakukan secara ekstensif diluar genom manusia, seperti yang pernah dibuktikan sebelumnya pada mamalia (Parikesit *et al.*, 2014). Perbandingan genomik (*comparative genomics*) yang lebih ekstensif harus dilakukan antara genom manusia dan primate non-manusia supaya mendapatkan informasi lebih valid untuk mengurangi *noise* latar belakang genetik (Haus *et al.*, 2014). Pada akhirnya, penggunaan metode prediksi gen yang lebih akurat dan efisien dibanding yang disediakan oleh Refseq/ GenBank memang harus diutamakan untuk anotasi gen yang lebih baik (Hoff dan Stanke 2013; Souvorov *et al.*, 2010)

Keimpulan

Penelitian ini berhasil menemukan urutan basa yang terpelihara, pohon filogenetik, dan prediksi struktur 2D mRNA dari gen FLG 16 spesies primata. Berdasarkan informasi dari urutan basa yang terpelihara, kehati-hatian harus dijaga jika melakukan uji klinis obat maupun diagnostik dengan model primata. Pembangunan pohon filogenetik harus diproses dengan hati-hati jika memasukkan famili mamalia yang lain. Prediksi struktur 2D mRNA gen FLG dapat dilakukan dengan baik, namun akan sangat sulit memvalidasi hasilnya pada *wet experiment* karena waktu hidup senyawa tersebut. Kemudian, berdasarkan kajian terhadap struktur 3D filaggrin, ditemukan bahwa fungsi pengikatan terhadap kalsium merupakan hal kunci yang memastikan protein filaggrin berfungsi dengan baik. Kemudian, berdasarkan kajian prediksi *host*, mikroorganisme *E. coli* dan *T. gondii* merupakan sistem ekspresi yang paling cocok untuk protein

filaggrin. Pertimbangan ini dapat menjadi dasar untuk desain obat kedepannya.

Kedepannya akan dilakukan prediksi gen FLG terhadap genom primate yang diuji pada penelitian ini dengan menggunakan metode *comparative genomics* dan prediksi gen. Kajian penambatan dan dinamika molekul terhadap kandidat obat yang melibatkan protein filaggrin juga akan kami pertimbangkan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami ucapkan kepada Hibah DIKTIS-POSFI/4/2016 Kemenag RI, dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) STAI ALHIKMAH Jakarta atas bantuan dan dukungannya. Kami mengucapkan terima kasih atas kontribusi fasilitas *High Performance Computing* (HPC) LIPI untuk hasil riset ini, URL <http://grid.lipi.go.id>. Terima kasih kepada I Wayan Aditya Swardiana dari HPC LIPI yang memberikan asistensi teknis pemakaian *Cluster*. Terima kasih kami ucapkan kepada Prof. Jamie Prilusky dari Bioinformatics Unit, Weizmann Institute of Science, Israel, atas informasinya terkait suggestES. Dalam penulisan manuskrip, Dito Anurogo mengusulkan tema, mempersiapkan materi onkologi termutakhir dan suplemen data. Sementara Arli Aditya Parikesit mempersiapkan metodologi dan melakukan pekerjaan teknis penelitian. Kedua autor menulis manuskrip ini secara bersama-sama.

Daftar Pustaka

And, L.Y. dan Pettitt, B.M., 1996. B to A Transition of DNA on the Nanosecond Time Scale.

Angelova-Fischer, I. *et al.*, 2014. Skin barrier integrity and natural moisturising factor levels after cumulative dermal exposure to alkaline agents in atopic dermatitis. *Acta Dermatovenereologica*, 94(6), pp.640–644.

Boffelli, D. *et al.*, 2003. Phylogenetic shadowing of primate sequences to find functional regions of the human genome. *Science*, 299(5611), pp.1391–1394. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12610304>.

Brown, S.J. *et al.*, 2012. Intragenic copy number variation within filaggrin contributes to the risk of atopic dermatitis with a dose-dependent effect. *The Journal of investigative*

dermatology, 132(1), pp.98–104. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3236450&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- Burge, C. dan Karlin, S., 1997. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. *Journal of molecular biology*, 268(1), pp.78–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9149143> [Accessed October 26, 2012].
- Cole, C. *et al.*, 2014. Filaggrin-stratified transcriptomic analysis of pediatric skin identifies mechanistic pathways in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(1), pp.82–91.
- Curwen, V. *et al.*, 2004. The Ensembl automatic gene annotation system. *Genome Research*, 14(5), pp.942–950. Available at: <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.1858004> [Accessed July 10, 2016].
- Darsof, U., Eyerich, K. dan Ring, J., 2014. Eczema (E), Atopic Eczema (AE) and Atopic Dermatitis (AD). *World Allergy Organization*, p.0. Available at: http://www.worldallergy.org/professional/allergic_diseases_center/atopiceczema/.
- Eichenfield, L.F. *et al.*, 2014. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(2), pp.338–51. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4410183&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Elias, P.M., Hatano, Y. dan Williams, M.L., 2008. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: Outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121(6), pp.1337–1343.
- Gräslund, S. *et al.*, 2008. Protein production and purification. *Nature methods*, 5(2), pp.135–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18235434> [Accessed July 27, 2016].
- Gruber, A.R., Bernhart, S.H. dan Lorenz, R., 2015. The viennaRNA web services. In *RNA Bioinformatics*. pp. 307–326.
- Gutowska-Owsiak, D. *et al.*, 2012. IL-17 downregulates filaggrin and affects

- keratinocyte expression of genes associated with cellular adhesion. *Experimental Dermatology*, 21(2), pp.104–110.
- Hall, B.G., 2013. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. *Molecular Biology and Evolution*, 30(5), pp.1229–1235. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23486614> [Accessed July 3, 2016].
- Haus, T. *et al.*, 2014. Genome typing of nonhuman primate models: implications for biomedical research. *Trends in genetics: TIG*, 30(11), pp.482–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24954183>.
- Hoff, K.J. dan Stanke, M., 2013. WebAUGUSTUS—a web service for training AUGUSTUS and predicting genes in eukaryotes. *Nucleic acids research*, 41(Web Server issue), pp.W123–8. Available at: <http://nar.oxfordjournals.org/content/early/2013/05/21/nar.gkt418.short> [Accessed August 30, 2013].
- Indrischek, H. *et al.*, 2016. The paralog-to-contig assignment problem: high quality gene models from fragmented assemblies. *Algorithms for molecular biology: AMB*, 11(1), p.1. Available at: <http://www.almob.org/content/11/1/1> [Accessed July 10, 2016].
- Kanehisa, M. dan Goto, S., 2000. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28, pp.27–30. Available at: <http://www.genome.jp/kegg/>.
- Markova, N.G. *et al.*, 1993. Profilaggrin is a major epidermal calcium-binding protein. *Molecular and cellular biology*, 13(1), pp.613–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8417356> [Accessed July 27, 2016].
- McAleer, M.A. dan Irvine, A.D., 2013. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(2), pp.280–291.
- Mooers, A.O. dan Heard, S.B., 1997. Inferring Evolutionary Process from Phylogenetic Tree Shape. *The Quarterly Review of Biology*, 72(1), p.31.
- Munasir, Z. dan omala, K., 2015. Pentingnya Perawatan Kulit pada Anak dengan Dermatitis Atopik. *Ikatan Dokter Anak Indonesia*, p.0. Available at: <http://www.idai.or.id/artikel/seputar-kesehatan-anak/pentingnya-perawatan-kulit-pada-anak-dengan-dermatitis-atopik>.
- Parikesit, A.A. *et al.*, 2014. Pitfalls of Ascertainment Biases in Genome Annotations—Computing Comparable Protein Domain Distributions in Eukarya. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(2), pp.65–75. Available at: <http://www.mjfas.utm.my/index.php/mjfas/article/view/57249>.
- Parikesit, A.A., 2016. “Research Data: Bioinformatics Approach towards Transcriptomics of Filaggrin” Mendeley Data, v1. Available at: <http://dx.doi.org/10.17632/t5x4dnz44v.1>.
- Parikesit, A.A., Stadler, P.F. dan Prohaska, S.J., 2010. Detection of Protein Domains in Eukaryotic Genome Sequences. In C. E. Ferreira, S. Miyano, & P. F. Stadler, eds. *Advances in Bioinformatics and Computational Biology Lecture Notes in Computer Science*. Springer, p. pp 71–74. Available at: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-15060-9_9.
- Parikesit, A.A., Stadler, P.F. dan Prohaska, S.J., 2010. Quantitative comparison of genomic-wide protein domain distributions. In *Ger. Conf. Bioinform., P-173*. Bonn: Gesellschaft für Informatik, pp. 93–102. Available at: <http://www.bioinf.uni-leipzig.de/Publications/PUBLISHED/Parikesit:10a.pdf>.
- Pendaries, V. *et al.*, 2014. Knockdown of Filaggrin in a Three-Dimensional Reconstructed Human Epidermis Impairs Keratinocyte Differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 134(10), pp.2938–2946.
- Prilusky, J., SuggestES: Suggest an Expression System. (2004-2012). Available at: <http://expsys.weizmann.ac.il>.
- Rogers, J. dan Gibbs, R. a, 2014. Comparative primate genomics: emerging patterns of genome content and dynamics. *Nature reviews. Genetics*, 15(5), pp.347–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24709753>.

- Rose, P.W. *et al.*, 2013. The RCSB Protein Data Bank: New resources for research and education. *Nucleic Acids Research*, 41. <http://nar.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/nar/gkv1275> [Accessed July 10, 2016].
- Sandilands, A. *et al.*, 2007. Filaggrin's fuller figure: a glimpse into the genetic architecture of atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology*, 127(6), pp.1282–1284.
- Sigrist, C.J.A. *et al.*, 2010. PROSITE, a protein domain database for functional characterization and annotation. *Nucleic acids research*, 38(Database issue), pp.D161-6. Available at: http://nar.oxfordjournals.org/content/38/suppl_1/D161.short [Accessed February 3, 2016].
- Souvorov, A. *et al.*, 2010. Gnomon–NCBI eukaryotic gene prediction tool. *National Center for Biotechnology Information*, pp.1–24.
- Speir, M.L. *et al.*, 2015. The UCSC Genome Browser database: 2016 update. *Nucleic acids research*, 44(D1), pp.D717–D725. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16456078> [Accessed July 10, 2016].
- Thyssen, J.P. dan Kezic, S., 2014. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(4), pp.792–799.
- Thyssen, J.P. dan Maibach, H.I. eds., 2014. *Filaggrin: Basic Science, Epidemiology, Clinical Aspects and Management*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-54379-1> [Accessed July 3, 2016].
- Zhang, Q. *et al.*, 2006. Resolving the motional modes that code for RNA adaptation. *Science*, 311(5761), pp.653–656. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16456078> [Accessed July 10, 2016].