

KAJIAN PREDIKSI 3-DIMENSI BIOMARKER KANKER PAYUDARA DARI JALUR EKSPRESI LINC RNA-ROR/MIR-145/ARF6

[3D PREDICTION OF BREAST CANCER BIOMARKER FROM THE EXPRESSION PATHWAY OF LINC RNA-ROR/MIR-145/ARF6]

Arli Aditya Parikesit^{1*}, Dito Anurogo²,

¹Department of Bioinformatics, School of Life Sciences, Indonesia International Institute for Life Sciences, Jl. Pulomas Barat Kav 88 Jakarta 13210, Indonesia

² S-2 Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Korespondensi penulis : arli.parikesit@i3l.ac.id

ABSTRACT

According to WHO, breast cancer is one of the main causes of mortality in women. To overcome this malady, molecular biomedical research is carried out intensively. Anomalies in the lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 expression pathway were found to play a very important role in breast cancer, especially in the type of Triple-Negative Breast Cancer (TNBC), which is the most dangerous variant of the deadly disease. Bioinformatics research has found the existence of non-coding RNA (ncRNA) in these expression pathways, whose interactions are worth studying with 3-dimensional prediction methods. The 3-D prediction method for biomolecules has been widely developed and has been successfully applied to DNA and protein. However, for the structure of RNA, it has just been developed, due to its low stability and very high dynamics on the biomolecule. Our aim is to apply the latest computational method for predicting the 3-dimensional structure of ncRNA, which can be applied as key information in biomedical application research. Extrapolation of kinetics and thermodynamic indicators of ncRNA ultimately yields the siRNA Linc-ROR 3-Dimensional structure and siRNA mRNA-ARF6, each having 13 and 8 hydrogen bonds. The existence of these hydrogen bonds is very important in maintaining the stability of the compounds and shows its efficacy as drug candidates. It is expected that preliminary information from the predicted 3-dimensional structure of ncRNA is useful for optimization of laboratory experiments in the field of crystallographic biomolecules.

Keywords : *annotation, breast cancer, expression pathway of lincRNA-RoR/miR-145/ARF6, ncRNA, TNBC*

ABSTRAK

Menurut WHO, kanker payudara merupakan salah satu penyebab mortalitas utama pada perempuan. Untuk mengatasinya, penelitian biomedik molekuler dilakukan secara intensif. Anomali pada jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 ditemukan berperan sangat penting, terutama pada Kanker Payudara *Triple-negative* (TNBC) yang merupakan varian paling berbahaya penyakit mematikan tersebut. Penelitian bioinformatika telah menemukan keberadaan *non-coding* RNA (ncRNA) pada jalur ekspresi tersebut, yang interaksinya patut dipelajari dengan metode prediksi 3-Dimensi. Metode tersebut untuk biomolekul sudah banyak dikembangkan, dan sudah berhasil diterapkan pada DNA dan protein. Namun, untuk struktur RNA baru saja dikembangkan, dikarenakan stabilitas yang rendah dan dinamika yang sangat tinggi pada biomolekul tersebut. Tujuan penelitian kami adalah menerapkan metode komputasi terbaru untuk prediksi struktur 3-

dimensi ncRNA, yang dapat diaplikasikan sebagai informasi kunci dalam penelitian aplikasi biomedis. Ekstrapolasi indikator kinetika dan termodinamika ncRNA pada akhirnya menghasilkan struktur 3-Dimensi siRNA Linc-ROR dan siRNA mRNA-ARF6, dengan masing-masing memiliki 13 dan 8 ikatan hidrogen. Keberadaan ikatan hidrogen tersebut sangat penting dalam menjaga stabilitas senyawa-senyawa tersebut, dan menunjukkan efektivitas sebagai kandidat obat. Diharapkan informasi awal dari prediksi struktur 3-Dimensi ncRNA ini bermanfaat untuk optimasi eksperimen laboratorium di bidang kristalografi biomolekul.

Kata kunci : anotasi, jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6, kanker payudara, ncRNA, TNBC

PENDAHULUAN

Kanker payudara *Triple-negative* (*Triple Negative Breast Cancer/TNBC*) merupakan proliferasi tumor ganas yang paling berbahaya pada varian tersebut (WHO, 2016). Di Indonesia sendiri, kanker payudara termasuk salah satu kanker yang paling tinggi prevalensinya dan kementerian kesehatan sedang berfokus mengembangkan upaya deteksi dini yang efektif (Kemenkes-RI, 2013). Sejauh ini, terapi yang tersedia adalah radio- dan kemoterapi yang memiliki sejumlah kelemahan, diantaranya efek samping dan durasi pengobatan yang lama (Caley dan Jones, 2012). Oleh karena itu, diperlukan pendekatan yang berbeda dengan teknik biomedis konvensional untuk mengatasi kanker mematikan tersebut. Sehingga, pendekatan berbasis biologi molekuler diperlukan untuk memahami mekanisme penyakit TNBC (Sotiriou *et al.*, 2006).

Biologi molekuler merupakan ilmu yang pada awalnya dikembangkan dengan

paradigma berbasis protein/dogma sentral. Paradigma tersebut menyatakan bahwa setiap galur *Deoxy Nucleic Acid* (DNA) akan ditranskripsi menjadi *messenger Ribo Nucleic Acid* (mRNA), dan kemudian ditranslasi menjadi protein (Rinn dan Chang, 2012). Hanya saja, paradigma dogma sentral sama sekali tidak dapat menjelaskan apa peran dari lebih 90% urutan genom manusia yang tidak menyandikan protein. Mereka hanya dijelaskan sebagai *junk DNA* atau DNA sampah yang berperan tidak signifikan (Graur *et al.*, 2013). Hal ini menggugah peneliti untuk mencari apa tepatnya peran *junk DNA* tersebut pada genom manusia, dan meneliti struktur maupun fungsinya secara lebih detail untuk memahami hal tersebut lebih detail. Pada akhirnya, diketahui bahwa apa yang disebut *junk DNA* tersebut ternyata berperan aktif dalam mentranskripsikan *non coding* RNA (ncRNA) yang memiliki peran yang sangat divergen dalam organisme, seperti dalam sistem metabolisme dan imunitas (Mattick, 2005). ncRNA tersebut memang tidak

ditranslasikan menjadi protein, namun memiliki peran sebagai katalis maupun auto-katalis yang sangat penting dalam reaksi biokimiawi dalam sel (Mattick, 2013). Oleh karena itu, dikembangkanlah ilmu baru yang mempelajari ekspresi RNA, baik *non-coding* maupun *messenger*, yang dinamakan Transkriptomik. Transkriptomik atau kajian mengenai mekanisme penyandian RNA, ternyata berperan sangat penting dalam proliferasi TNBC (Dong dan Chen, 2013). Pemahaman mengenai peran ncRNA lebih mendalam akhirnya menemukan bahwa ternyata progresi kanker payudara TNBC memiliki jalur metabolik tersendiri yang sangat unik.

Jalur metabolik lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 ternyata berperan sangat penting dalam kanker payudara TNBC, terutama *non-coding* (nc)RNA yang terlibat di dalamnya (Eades *et al.*, 2015). Kemudian, ditemukannya *silencing* (si)RNA, yang merupakan ncRNA berukuran kecil, telah membuka potensi pengembangan obat secara signifikan karena siRNA dapat berfungsi untuk menghambat fungsi gen yang merugikan organisme tersebut. Bahkan siRNA dapat digunakan sebagai sistem penghantaran obat (Oh dan Park, 2009; Burnett dan Rossi, 2012).

Dalam rangka memahami mekanisme molekuler secara lebih detail, kajian

bioinformatika diperlukan untuk menganalisis fungsi dan struktur ncRNA. Sebagai ilmu berbasis komputasi, bioinformatika dapat memprediksi fungsi dan struktur biomolekul dengan resolusi sangat tinggi. Sehingga informasi prediksi tersebut dapat menjadi panduan untuk *wet laboratory* (Rastogi, 2008).

Prediksi struktur 2-Dimensi ncRNA sebagai biomarker kanker payudara TNBC sudah dilakukan pada lincRNA-ROR dan miR-145, yang merupakan biomarker kanker payudara TNBC, dan desain siRNA secara *in-silico* untuk memblokir progresi kanker melalui biomarker tersebut sudah dilakukan juga (Parikesit dan Anurogo, 2016). Namun, desain 2-Dimensi siRNA belum cukup untuk mengilustrasikan fungsi dan struktur biomolekul secara lengkap. Supaya interaksi dan ikatan kimia dapat diprediksi dengan lengkap, maka diperlukan prediksi struktur 3-Dimensi. Prediksi interaksi dan ikatan kimia hanya dapat dilakukan dengan baik jika struktur molekul dielusidasi dengan struktur 3-Dimensi, sehingga semua interaksi dan ikatan pada permukaan atau inti senyawa tersebut dapat divisualisasi dengan jelas (Sripakdeevong *et al.*, 2012).

Metode prediksi struktur 3-Dimensi telah berhasil dikembangkan untuk senyawa protein, terutama dengan metode *homology*

modeling dan *ab initio* (Hillisch *et al.*, 2004; Walsh *et al.*, 2009). Sebagai metode yang mengandalkan kelengkapan basis data biologis, metode *homology modeling* adalah yang paling ekonomis karena memerlukan waktu dan tenaga komputasi yang kecil. Hanya saja akurasi akan kurang baik jika struktur tersebut memiliki Domain fungsional yang benar-benar baru. Sementara itu, metode *ab initio* memiliki akurasi yang paling tinggi karena melakukan kalkulasi berdasarkan informasi termodinamis dan kinetis senyawa, namun memerlukan waktu dan daya komputasi sangat besar. Keberhasilan pengembangan metode prediksi struktur protein tersebut akhirnya juga diekstrapolasi untuk prediksi struktur RNA (Barreda *et al.*, 2004).

Beberapa software prediksi 3-Dimensi RNA adalah *simRNA* untuk prediksi *modeling* komparatif (*homology modeling*), dan *modeRNA* untuk prediksi *berbasis de novo/ab initio* (Rother *et al.*, 2011; Magnus *et al.*, 2016). Pengembangan kedua software tersebut pada awalnya adalah dari software prediksi struktur protein, yang akhirnya dimodifikasi secara signifikan karena RNA memiliki struktur 2-Dimensi (2D) dan 3-Dimensi (3D) yang unik dan sangat berbeda dari protein itu sendiri (Levitt, 2009).

Penelitian sebelumnya telah berhasil mendesain struktur 2D siRNA yang berpotensi untuk digunakan sebagai obat kanker payudara TNBC. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi perbandingan struktur 3-Dimensi siRNA tersebut sebagai kandidat obat Kanker payudara TNBC dengan metode *modeling* komparatif dan *de novo*. Diharapkan informasi struktur 3D siRNA tersebut akan bermanfaat bagi pengembangan obat kedepan, terutama untuk mempelajari interaksi dan reaktivitas siRNA dengan senyawa lain yang terlibat pada jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6*. Reaktivitas siRNA dengan biomarker *lincRNA-ROR* dan *miR-145* merupakan kunci pada pengembangan obat kanker payudara TNBC kedepannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Komputer laptop dengan spesifikasi standar (Intel processor i5, RAM 8 GB, Integrated VRAM, dan Windows 10) karena sebagian besar operasi pengolahan data dilakukan secara daring (online). Sebagian kecil operasi pengolahan data lebih banyak pada editing dan visualisasi yang tidak membutuhkan daya komputasi besar. Walaupun protokol penelitian ini dilakukan pada platform Windows, platform Linux dan

MacOSX juga dapat digunakan untuk pengolahan data struktur 3D siRNA.

Metode Penelitian

Menggunakan data sekuens DNA dari penelitian sebelumnya dari Parikesit dan kawan-kawan yang sudah dideposisi pada sistem awan Mendeley Data, semua dalam format FASTA (Parikesit and Anurogo, 2016). Data diunduh dan disimpan kedalam komputer dengan menggunakan editor teks *Notepad* untuk persiapan langkah pengolahan selanjutnya (Parikesit *et al.*, 2016).

Konversi sekuens DNA ke RNA dilakukan terhadap data yang ada. Konversi dapat dengan mudah dilakukan dengan mengganti basa T (Thymin) dengan U (Urasil). Luaran *default* Vienna RNA adalah sekuens RNA dengan anotasi struktur sekunder dalam format *dot-bracket notation* (Gruber *et al.*, 2015). Format *dot-bracket* tersebut dapat dikalkulasi oleh software Vienna RNA Package sebagai energi bebas pembentukan molekul RNA tersebut.

Tahapan pengolahan data yang paling krusial adalah prediksi struktur 3D RNA. *simRNA* versi 3.20 digunakan untuk prediksi struktur tersier secara *ab initio*, dan *modeRNA* versi 1.7.1 untuk prediksi pemodelan struktur tersier secara komparatif. Parameter yang digunakan adalah *default* dengan berbasis indicator termodinamika dan

kinetika kimia (Bronowska, 2011; Cao dan Chen, 2011; Zhao *et al.*, 2009).

Gunakan VAST server untuk membandingkan struktur 3D kedua hasil komputasi dengan basis data. Struktur yang paling tinggi homologinya dengan basis data, adalah yang paling valid (NCBI, 2013). Hasil prediksi dalam format PDB (Protein Data Bank) akan divisualisasikan dengan aplikasi Swiss Deep-View versi 4.1.0 (Guex and Peitsch, 1997; Team, 2001; Guex *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dari Parikesit dan kawan-kawan sudah memberikan gambaran yang komprehensif mengenai jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6 pada kanker payudara TNBC karena informasi struktur 2-D sudah memadai untuk hal itu (Parikesit and Anurogo, 2016). Akan tetapi, dalam konteks pengembangan obat, hal tersebut belum memadai karena tetap dibutuhkan informasi struktur 3-D dan ikatan kimia yang terlibat pada interaksi intra- maupun intermolekuler (Kapetanovic, 2008). Hanya melalui informasi struktur 3D pada RNA maka reaktivitas dan interaksi kimiawi pada tingkat molekul dapat diobservasi lebih jelas, sehingga memberi penguatan resolusi yang signifikan pada visualisasi molekuler.

Software *simRNA*, yang melakukan prediksi struktur 3D RNA secara *de novo*, memberikan informasi terhadap dua indikator paling penting dalam penentuan struktur. Mereka adalah informasi termokimia molekul RNA dan informasi struktur 3D molekul RNA. Informasi termokimia dihasilkan dengan melakukan komputasi terhadap parameter-parameter terkait, terutama untuk menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG). Parameter utama tersebut, yaitu energi bebas Gibbs, berfungsi untuk menentukan apakah struktur molekul tersebut stabil atau tidak. Energi bebas Gibbs dihitung berdasarkan akumulasi dari setiap ikatan kimia yang terjadi antar maupun intra molekul tersebut dan energi yang berasal dari luar sistem jika sistem tersebut terbuka. Rumusnya adalah sebagai berikut:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \dots\dots\dots (1)$$

Dimana ΔG adalah energi bebas Gibbs, ΔH adalah entalpi, T adalah temperatur sistem, dan ΔS adalah entropi (Bronowska, 2011; Cao and Chen, 2011). Energi bebas Gibbs harus bernilai negatif jika reaksi berlangsung spontan dan struktur senyawa menjadi stabil, dan bernilai positif jika tidak spontan dan struktur molekul tidak stabil. Penggunaan informasi termodinamika adalah instrumen yang paling ekonomis secara komputasi, sebab jika ingin lebih detail ke

tingkat kuantum memerlukan sumber daya komputasi yang sangat besar dan waktu yang jauh lebih lama (Senn and Thiel, 2009).

Dengan upaya komputasi yang ekonomis, akhirnya kedua indikator penting tersebut untuk penentuan struktur 3D siRNA mRNA-ARF6 dan siRNA linc-ROR dapat ditentukan dengan menggunakan software *simRNA* dan *modeRNA*.

Informasi Termokimia Molekul RNA

Berdasarkan simulasi termodinamis yang dilakukan pada molekul siRNA mRNA-ARF6 dengan aplikasi *simRNA*, ditemukan bahwa total energi ikatan adalah -69.979330, sementara total energi sistem adalah -70.91952. Sementara itu, berdasarkan simulasi termodinamis yang dilakukan pada molekul siRNA linc-ROR *simRNA* dengan aplikasi *simRNA* ditemukan bahwa total energi ikatan adalah -68.999033, sementara total energi sistem adalah -69.879571

Hasil luaran aplikasi *simRNA* dengan energi bebas negatif tersebut semuanya menunjukkan bahwa pembentukan spesi siRNA terjadi secara spontan, dan spesi tersebut sudah dapat dipastikan akan stabil didalam sistem tersebut.

Informasi Struktur 3D Molekul RNA

Hasil luaran aplikasi *simRNA* juga berupa file Protein Data Bank (PDB) yang dapat divisualisasi dengan software

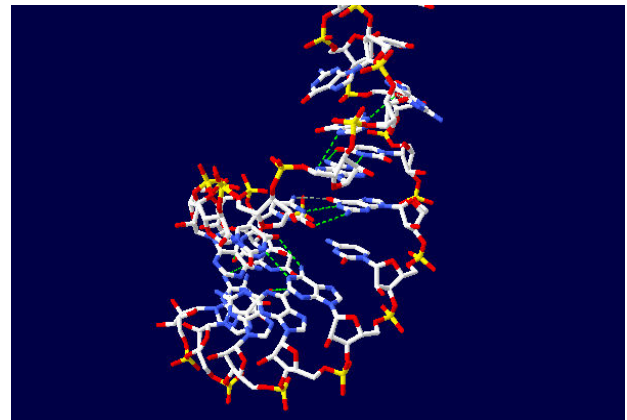
pendukung, dalam hal ini digunakan Swiss PDB-Viewer. Sebelumnya format file PDB hanya digunakan untuk repositori protein. Hanya saja, sesuai dengan perkembangan kajian transkriptomik, maka file PDB juga digunakan pada repositori RNA.

Visualisasi molekul siRNA dilakukan dengan aplikasi Swiss PDB-Viewer. Langkah pertama adalah aktivasi menu display untuk semua fitur. Sehingga struktur 3D RNA dapat divisualisasi dengan jelas. Aktivasi menu tools, dan opsi 'compute H-bond' untuk melihat ikatan hydrogen pada molekul. Visualisasi molekul siRNA dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

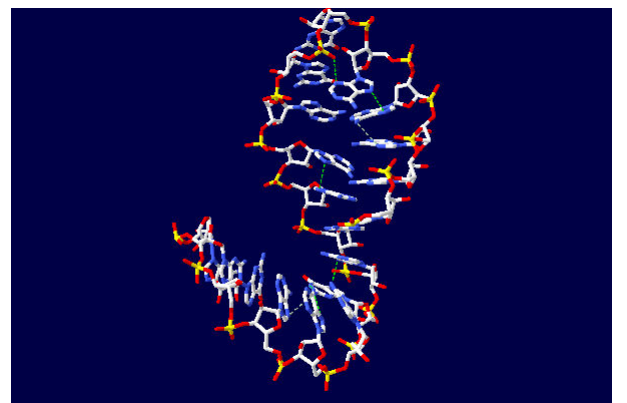
Pada siRNA linc-ROR terdapat 13 ikatan hidrogen, berarti molekul tersebut memiliki kohesi yang kuat karena ditopang oleh jumlah ikatan hidrogen yang signifikan (Gambar 1). Molekul siRNA linc-ROR cenderung memiliki efek sterik yang kuat, karena banyak tumpang tindih diantara berbagai gugus fungsi.

Pada siRNA mRNA-ARF6 terdapat 8 ikatan hidrogen, berarti sama seperti yang ditemukan pada Gambar 1, molekul tersebut memiliki kohesi yang kuat karena ditopang oleh jumlah ikatan hidrogen yang signifikan (Gambar 2). Molekul siRNA mRNA-ARF6 juga memiliki visualisasi yang menarik, karena berbentuk seperti jangkar. Hal ini

dapat dieksploitasi lebih lanjut dengan instrumen penambatan molekul untuk pengembangan obat lebih lanjut.



Gambar 1: Visualisasi Prediksi Struktur 3D siRNA linc-ROR. Garis hijau putus-putus menandakan ikatan hidrogen intramolekuler pada struktur siRNA. Warna atom secara default adalah putih untuk karbon, kuning untuk sulfur, merah untuk oksigen, oranye untuk fosfor, biru untuk nitrogen, sian untuk hidrogen, dan abu-abu untuk atom lainnya (Team, 2001).



Gambar 2: Visualisasi Prediksi Struktur 3D siRNA mRNA-ARF6. Garis hijau putus-putus menandakan ikatan hidrogen intramolekuler pada struktur siRNA. Warna atom secara default adalah putih untuk karbon, kuning untuk sulfur, merah untuk oksigen, oranye untuk fosfor, biru untuk nitrogen, sian untuk hidrogen, dan abu-abu untuk atom lainnya (Team, 2001).

Ikatan hidrogen adalah sejenis gaya tarik antarmolekul atau antar dipol-dipol yang terjadi antara dua muatan listrik parsial dengan polaritas yang berlawanan. Semakin

banyak ikatan hidrogen intramolekular, berarti kohesi molekul tersebut semakin kuat. Sehingga stabilitas molekul lebih terjamin. Pada molekul DNA, jika memiliki GC content yang lebih besar, maka kohesi molekul tersebut semakin kuat. Hal ini disebabkan karena ikatan antara Guanin (G) dengan Sitosin (C) memiliki tiga ikatan hidrogen, sementara antara Adenin (A) dengan Timin (T) hanya dua saja. Secara umum, sangat berbeda dengan DNA, RNA jauh lebih tidak stabil karena memiliki gugus hidroksi (-OH) bebas. Namun jika dibandingkan siRNA linc-ROR dan mRNA-ARF6, maka siRNA linc-ROR lebih stabil karena memiliki ikatan hidrogen yang lebih banyak. Di satu sisi, kajian mengenai stabilitas molekul RNA harus lebih diperhatikan dengan instrumen atau alat yang lebih teliti, karena waktu hidup molekul tersebut dalam sel sangatlah pendek (Hickerson *et al.*, 2008). Sehingga signifikansinya secara kinetika kimia harus dikaji dengan resolusi tinggi. Di sisi lain, keberadaan ikatan hidrogen ini dapat dieksploitasi untuk pengembangan *pro-drug* untuk sistem penghantaran obat yang lebih efisien untuk menutupi kelemahan siRNA yang tidak stabil di dalam sel (Li *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2014). Ikatan siRNA dengan molekul penghantar sangat penting untuk dipelajari untuk menghasilkan penghantaran

obat yang handal. Pada Gambar 1 dan 2 terlihat bahwa kedua molekul tersebut memiliki ruang (*crevice*) yang memungkinkan terjadinya penambatan molekul disana. Hal ini dapat dieksplorasi lebih lanjut untuk membuat model penghantaran obat secara nanomolekular maupun menjadikan ncRNA lain sebagai sasaran untuk ditambatkan ke ruang tersebut.

Sementara itu, pada luaran aplikasi Mode RNA, ditemukan bahwa tidak terdapat informasi struktural pada siRNA linc-ROR. Informasi struktural juga tidak ditemukan pada siRNA mRNA ARF6, namun informasi famili RFAM dapat ditemukan. Hanya saja, informasi dari basis data RFAM kurang signifikan untuk mengkonstruksi struktur 3D RNA secara utuh. Hasil luaran ModeRNA justru kurang berkontribusi dalam penelitian ini, kemungkinan karena basis data template mereka memang kurang lengkap dan kurang diperbaharui secara reguler. Perbandingan antara produk simRNA dan modeRNA dengan VAST juga tidak dapat dilakukan karena modeRNA tidak menghasilkan informasi yang signifikan untuk mengkonstruksi model.

KESIMPULAN

Kajian termodinamis dan struktural dengan software simRNA dan modeRNA terhadap siRNA lincROR dan mRNA ARF6

telah menghasilkan model 3D struktur RNA yang solid. Aplikasi modeRNA tidak memberikan informasi signifikan untuk pengembangan struktur 3D RNA karena basis data template yang kurang lengkap.

SARAN

Informasi ikatan hidrogen kedua molekul tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengembangan penghantaran obat dan identifikasi molekul sasaran. Kedepannya akan dilakukan kajian penambatan dan dinamika molekul dengan dukungan daya komputasi yang besar untuk pengembangan obat berbasis transkriptomik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada LPPM dan Bagian IT I3L atas dukungannya terhadap penelitian ini dengan Hibah Penguatan Prodi S1 Bioinformatika I3L. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Hibah Penelitian Berbasis Kompetensi (PBK) DIKTI 2018 No: 0045/E3/LL/2018 atas dukungan material dan peralatan. Autor juga berterima kasih kepada David Agustriawan., PhD dari Departemen Bioinformatika, Indonesia International Institute for Life Sciences, atas bantuan *proofread* terhadap manuskrip ini. Data penelitian dapat diberikan kepada pengguna jika diminta.

DAFTAR PUSTAKA

- Barreda, J.E., Shigenobu, Y., Ichiishi, E., and Del-Carpio, C.A. 2004. RNA 3D structure prediction: (1) assessing rna 3D structure similarity from 2D structure similarity. *Genome Informatics*, 15(2): 112–120.
- Bronowska, A.K. 2011. *Thermodynamics of Ligand-Protein Interactions: Implications for Molecular Design. Thermodynamics - Interaction Studies - Solids, Liquids and Gases*. Intech.
- Burnett, J.C. and Rossi, J.J. 2012. RNA-based therapeutics: current progress and future prospects. *Chemistry & Biology*, 19(1): 60–71
- Caley, A. and Jones, R. 2012. The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 30(4): 186-190
- Cao, S. and Chen, S.J. 2011. Physics-based de novo prediction of RNA 3D structures. *Journal of Physical Chemistry B*, 115(14): 4216–4226.
- Dong, Z. and Chen, Y. 2013. Transcriptomics: advances and approaches. *Science China Life Sciences*, 56(10): 960–967.
- Eades, G. Wolfson, B., Zhang, Y., Li, Q., Yao, Y., and Zhou, Q. 2015. lincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6. *Molecular Cancer Research*, 13(2): 330–338.
- Graur, D. Zheng, Y., Price, N., Azevedo, R.B.R., Zufall, R.A., and Elhaik, E. 2013. On the immortality of television sets: function in the human genome according to the evolution-free gospel of ENCODE. *Genome Biology and*

- Evolution, 5(3): 578-590.
- Gruber, A.R. Bernhart, S.H., and Lorenz, R. 2015. The viennaRNA web services. *RNA Bioinformatics*, 1269: 307–326
- Guex, N. and Peitsch, M.C. 1997. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling. *Electrophoresis*, 18(15): 2714–2723.
- Guex, N. Peitsch, M.C., and Schwede, T. 2009. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective. *Electrophoresis*, 30(S1).
- Hickerson, R.P., Vlassov, A. V., Wang, Q., Leake, D., Ilves, H., Gonzalez-Gonzalez, E., Contag, C.H., Johnston, B.H., and Kaspar, R.L. 2008. Stability study of unmodified siRNA and relevance to clinical use. *Oligonucleotides*, 18(4): 345–354.
- Hillisch, A. Pineda, L.F., and Hilgenfeld, R. 2004. Utility of homology models in the drug discovery process. *Drug Discovery Today*, 9(15): 659–669.
- Kapetanovic, I.M. 2008. Computer-aided drug discovery and development (CADD): in silico-chemico-biological approach. *Chemico-Biological Interactions*, 171(2): 165–176.
- Kemenkes-RI. 2013. Profil Kesehatan Indonesia, Jakarta, Downloaded from <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-indonesia-2013.pdf> on 1/12/2017
- Levitt, M. 2009. Nature of the protein universe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(27):11079–11084.
- Li, C. Penet, M.F., Wildes, F., Takagi, T., Chen, Z., Winnard, P.T., Artemov, D., and Bhujwala, Z.M. 2010. Nanoplex delivery of siRNA and prodrug enzyme for multimodality image-guided molecular pathway targeted cancer therapy. *ACS Nano*, 4(11): 6707–6716.
- Magnus, M. Boniecki, M.J., Dawson, W., and Bujnicki, J.M. 2016. SimRNAweb: a web server for RNA 3D structure modeling with optional restraints. *Nucleic Acids Research*, 44(W1): W315–W319.
- Mattick, J.S. 2005. The functional genomics of noncoding RNA. *Science*, 309(5740): 1527–1528.
- Mattick, J.S. 2013. Probing the phenomics of noncoding RNA *eLife* 2013(2). Downloaded from <https://doi.org/10.7554/eLife.01968> on 1/12/2017.
- NCBI. 2013. The NCBI Handbook. National Center for Biotechnology Information (US), Downloaded from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21101/> on 1/12/2017.
- Oh, Y.K. and Park, T.G. 2009. siRNA delivery systems for cancer treatment. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(10): 850–862.
- Parikesit, A.A. dan Anurogo, D. 2016. Prediksi struktur 2-dimensi non-coding RNA dari biomarker kanker payudara triple-negative dengan Vienna RNA package. *Chimica et Natura Acta*, 4(1): 27.
- Parikesit, A.A. Anurogo, D. and Parikesit, A.A. 2016. Bioinformatics approach towards transcriptomics of filaggrin.

- Journal of Agromedicine and Medical Sciences, 2(3) : 8–16.
- Chemical Communications, 50(11): 1323–1325.
- Rastogi, P. 2008. *Bioinformatics Methods And Applications: Genomics Proteomics And Drug Discovery 3Rd Ed.* Prentice-Hall Of India Pvt. Limited, Downloaded from <http://books.google.co.id/books?id=YP1rEFxFgDcC> on 1/12/2017
- Team, T.D. 2001. *DeepView – The Swiss-PdbViewer User Guide.* Zurich: World Trade.
- Rinn, J.L. and Chang, H.Y. 2012. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annual Review of Biochemistry*, 81:145–166.
- Walsh, I. Martin, A.J.M., Mooney, C., Rubagotti, E., Vullo, A., and Pollastri, G. 2009. Ab initio and homology based prediction of protein domains by recursive neural networks. *BMC Bioinformatics*, 10(1): 195.
- Rother, M. Milanowska, K., Puton, T., Jeleniewicz, J., Rother, K. and Bujnicki, J.M. 2011. ModeRNA server: an online tool for modeling RNA 3D structures. *Bioinformatics*, 27(17): 2441–2442.
- WHO. 2016. *WHO Breast Cancer Prevention and Control.* WHO Fact Sheet, Downloaded from <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/> on 1/12/2017
- Senn, H.M. and Thiel, W. 2009. QM/MM methods for biomolecular systems. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(7): 1198–1229.
- Zhao, L. Wang, J., Dou, X., and Cao, Z. 2009. Studying the unfolding process of protein G and protein L under physical property space. *BMC Bioinformatics*, 10(S1): S44.
- Sotiriou, C. Wirapati, P., Loi, S., Harris, A., Fox, S., Smeds, J., Nordgren, H., Farmer, P., Praz, V., Haibe-Kains, B., Desmedt, C., Larsimont, D., Cardoso, F., Peterse, H., Nuyten, D., Buyse, M., Van de Vijver, M.J., Bergh, J., Piccart, M., and Delorenzi, M. 2006. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *Journal of the National Cancer Institute*, 98(4):262–272.
- Sripakdeevong, P. Beauchamp, K., and Das, R. 2012. RNA 3D Structure analysis and prediction. *Nucleic Acids and Molecular Biology*, 27(27): 43–65.
- Tang, Q. Cao, B., and Cheng, G. 2014. Co-delivery of small interfering RNA using a camptothecin prodrug as the carrier.