

Penugasan Minggu Ketiga BRSP OmicsLite ***Case Analysis***

Analisis Ekspresi Diferensial Sel Darah Tepi Sebelum dan Sesudah Vaksinasi Influenza (Dataset GSE48018)

Kontributor: Franco LM, Shaw CA, Belmont JW, Couch RB

Nama : Karina Raihana Salsabila
Instansi : Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

I. Pendahuluan

Vaksinasi influenza merupakan strategi utama dalam memitigasi penyebaran virus influenza. Respon imun terhadap vaksin influenza melibatkan perubahan transkriptomik yang kompleks pada sel-sel darah tepi. Akibatnya, respons imun yang ditunjukkan tiap individu terhadap vaksinasi bervariasi. Mekanisme molekuler yang mendasari pembentukan kekebalan tubuh setelah vaksinasi melibatkan perubahan pada profil transkriptomik sel darah tepi. Dataset GSE48018 menyediakan data ekspresi gen dari 116 sukarelawan laki-laki sehat yang menerima vaksin *influenza trivalent* (TIV). Pada studi ini, dilakukan penilaian perubahan ekspresi gen pada berbagai titik waktu, yaitu day 0 (sebelum) serta day 1, 3, dan 14 (sesudah vaksinasi) untuk mengidentifikasi waktu kritis respons imun bawaan hingga adaptif.

Analisis bioinformatika ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen yang terekspresi secara diferensial (*Differentially Expressed Genes/DEGs*) pada fase awal pasca-vaksinasi, menentukan jalur biologi dan fungsi molekuler yang teraktivasi signifikan sebagai respons terhadap komponen antigenik vaksin, dan memvisualisasikan hubungan antara signifikansi statistik dan besaran perubahan ekspresi. Melalui hasil analisis, dapat dipetakan kandidat biomarker sebagai respons vaksinasi yang sesuai.

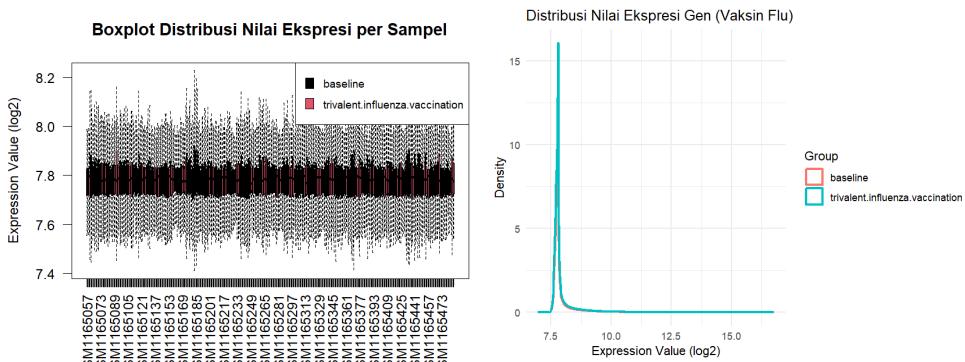
II. Metode

Pada analisis ini digunakan dataset transkriptomik publik dengan nomor akses GSE48018 dari database NCBI *Gene Expression Omnibus* (GEO), berbasis bahasa pemrograman R dan repositori *Bioconductor*. Analisis dimulai dengan akuisisi data sekunder paket *GEOquery* untuk mengunduh dataset GSE48018 dalam format *ExpressionSet*. Data tersebut diproses melalui tahap ekstraksi matriks ekspresi menggunakan fungsi *exprs()* dan ekstraksi metadata sampel melalui fungsi *pData()* untuk mengidentifikasi klasifikasi kelompok berdasarkan titik waktu vaksinasi (*day 0* sebagai kontrol baseline dan *day 1* sebagai kelompok perlakuan awal). Tahap analisis statistik menggunakan metode *linear modeling* dengan paket *limma* (*Linear Models for Microarray Data*), desain matriks, dan estimasi koefisien model menggunakan fungsi *lmFit()*. Perhitungan statistik berbasis *Empirical Bayes* melalui fungsi *eBayes()*. Gen-gen yang terekspresi diferensial diidentifikasi berdasarkan kriteria signifikansi statistik berupa *Adjusted P-value < 0.05* (koreksi *False Discovery Rate/FDR*) dan besaran perubahan ekspresi berupa nilai $|\log_2 \text{Fold}$

Change| > 1. Setelah didapatkan daftar DEGs, dilakukan visualisasi data dalam bentuk *Boxplot*, *Density Plot*, *UMAP Plot*, *Volcano Plot*, dan *Heatmap*. Gen-gen yang signifikan dipetakan melalui analisis *Gene Ontology* (GO), sedangkan identifikasi jalur metabolisme atau sinyal spesifik dipetakan ke database *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG).

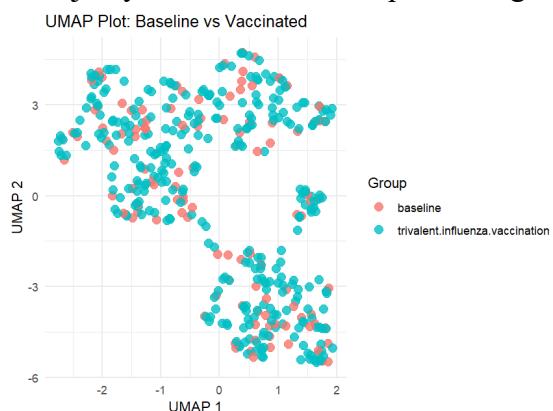
III. Hasil dan Interpretasi

Berdasarkan analisis, didapatkan daftar gen yang terekspresi secara diferensial dan visualisasi hasil yang ditunjukkan oleh gambar-gambar berikut.



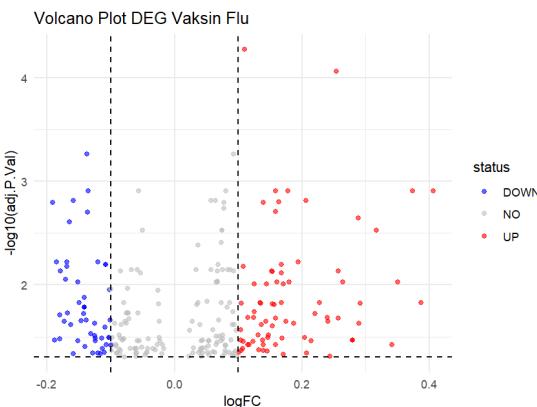
Gambar 1. *Boxplot* dan *Density Plot* dari Dataset GSE48018

Berdasarkan gambar di atas, *Boxplot* menunjukkan distribusi nilai intensitas log-ekspresi antar sampel yang berada pada garis median yang sejajar, sedangkan *Density Plot* menunjukkan kurva distribusi frekuensi intensitas yang saling berhimpit secara konsisten. Kemiripan distribusi pada kedua plot mengonfirmasi bahwa variasi teknis antar array telah diminimalisasi sehingga perbedaan ekspresi gen yang terdeteksi selanjutnya merefleksikan respon biologis terhadap vaksin.



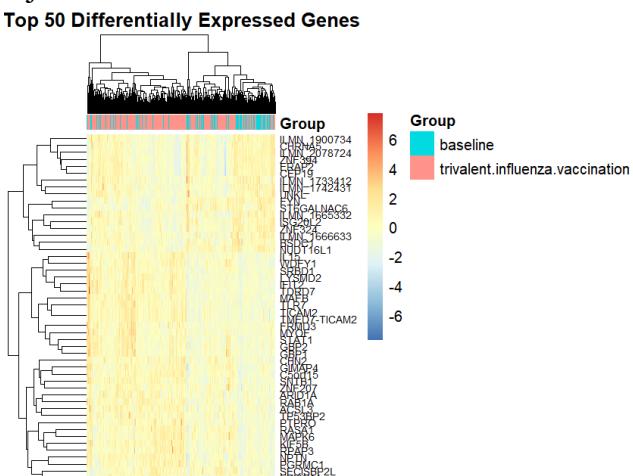
Gambar 2. *UMAP Plot* dari Database GSE48018

Berdasarkan gambar di atas, UMAP Plot menunjukkan adanya pemisahan klaster antara titik *day 0 (baseline)* dan *day 1 (post-vaccination)*. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin influenza memicu perubahan transkriptomik yang cukup signifikan dan sistemik pada sel darah tepi dalam waktu 24 jam. Kedekatan antar sampel dalam satu grup menunjukkan konsistensi respons imun antar individu pria dalam kohort.



Gambar 3. *Volcano Plot* dari Database GSE48018

Berdasarkan gambar di atas, *Volcano Plot* menunjukkan gen di sisi kanan atas (merah) yang mengalami *upregulation* (ekspresi meningkat), sedangkan gen di sisi kiri atas (biru) mengalami *downregulation* (ekspresi menurun) pasca-vaksinasi. Pada kondisi *day 1*, dominasi gen di sisi *upregulation* menandakan adanya aktivasi seluler untuk merespons antigen. Gen yang meningkat secara signifikan biasanya berkaitan dengan jalur interferon dan aktivasi sel imun bawaan.



Gambar 4. *Heatmap* dari Database GSE48018

Berdasarkan gambar di atas, *Heatmap* menunjukkan profil ekspresi 50 gen dengan nilai *p-value* paling signifikan. Gradiasi warna menunjukkan intensitas ekspresi dengan blok warna yang kontras ditunjukkan antara kolom sampel *day 0* dan *day 1*. Sejumlah 50 gen yang terekspresi merupakan kandidat biomarker utama karena paling reaktif terhadap stimulasi vaksin influenza.

Sementara itu, analisis menggunakan *Gene Ontology* (GO) dan *KEGG Pathway* menunjukkan bahwa gen-gen yang terekspresi diferensial pasca-vaksinasi secara signifikan terakumulasi pada mekanisme pertahanan antivirus dan respon imun bawaan.

IV. Kesimpulan

Analisis transkriptomik pada dataset GSE48018 berhasil mengidentifikasi perubahan ekspresi gen yang masif dan konsisten pada hari pertama setelah vaksinasi influenza. Keberadaan DEGs dengan signifikansi statistik yang tinggi dan pemisahan klaster yang kontras memvalidasi adanya respons molekuler yang kuat.

Di samping itu, didapatkan gen-gen kandidat biomarker potensial untuk memantau aktivitas imunologis awal pasca-vaksinasi.

V. **Daftar Pustaka**

NCBI Gene Expression Omnibus (GEO). Dataset GSE48018.

Tautan Repositori GitHub: <https://github.com/karinaraihanaa/Bioinformatics>