

Penugasan Minggu Kedua BRSP OmicsLite
Differential Expression Analysis (GEO2R)

Analisis Ekspresi Diferensial lncRNA dan mRNA pada Pasien Anak dengan Lupus Nefritis Menggunakan Platform GEO2R

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

Altered Expressions of Long-noncoding RNAs involved in development and pathogenesis of Child-onset lupus nephritis

Oleh: Yang Jia, Mariame Mohamed Ahamada, Shiqiu Xiong, Haixia Chen, Donghai Liu, dan Xiaochuan Wu

I. Pendahuluan

Lupus Nefritis (LN) merupakan komplikasi klinis yang berat dan umum ditemukan pada pasien *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) yang ditandai dengan adanya peradangan pada ginjal. Pada populasi anak, LN cenderung memiliki riwayat penyakit yang lebih agresif dan risiko gagal ginjal yang lebih tinggi dibandingkan dewasa. Meskipun mekanisme patogenesisnya belum sepenuhnya dipahami, penelitian terbaru menunjukkan bahwa *long non-coding RNA* (lncRNA) memiliki peran krusial sebagai regulator epigenetik yang memodulasi ekspresi gen pasca-transkripsi dan terlibat dalam jalur inflamasi serta respon imun pada penyakit autoimun.

Analisis bioinformatika ini bertujuan untuk mengeksplorasi profil ekspresi diferensial gen (*Differentially Expressed Genes*) pada dataset GSE234249 guna mengidentifikasi kandidat lncRNA dan mRNA yang mengalami perubahan signifikan antara kondisi sehat dan terinfeksi lupus nefritis. Melalui platform GEO2R, studi ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai mekanisme molekuler dan biomarker potensial yang mendasari perkembangan serta patogenesis lupus nefritis pada anak.

II. Metode

Pada analisis ini digunakan dataset transkriptomik publik dengan nomor akses GSE234249 dari database NCBI *Gene Expression Omnibus* (GEO). Dataset ini menggunakan platform *High-throughput Sequencing* untuk memetakan profil ekspresi lncRNA dan mRNA pada pasien anak dengan lupus nefritis. Sampel dikelompokkan menjadi dua kategori utama untuk perbandingan kondisi, yaitu kontrol (*healthy*) dan grup kondisi (*infected/LN*). Grup kontrol terdiri dari 3 sampel individu sehat, sedangkan grup kondisi terdiri dari 3 sampel pasien yang terdiagnosis lupus nefritis.

Analisis dilakukan menggunakan alat berbasis web GEO2R dengan parameter berupa metode koreksi *multiple testing*, kriteria signifikansi, dan transformasi data. Metode koreksi *multiple testing* menggunakan *Benjamini &*

Hochberg (False Discovery Rate/FDR) untuk meminimalkan temuan positif palsu. Kriteria signifikansi berupa ambang batas nilai *adjusted p-value* < 0.05 dan nilai *Log Fold Change* (logFC) untuk menentukan arah ekspresi. Sementara itu, transformasi data menggunakan *Auto-detect log transformation*.

Skema replikasi dilakukan untuk memastikan reproduksibilitas melalui tiga kali pengulangan. Replikasi 1 berupa analisis standar menggunakan seluruh sampel dengan parameter FDR. Replikasi 2 berupa pengulangan langkah pemrosesan ulang (*reanalyze*) untuk memvalidasi stabilitas peringkat *top genes*. Replikasi 3 berupa verifikasi pola melalui visualisasi *Volcano Plot*, *Mean-Difference Plot*, dan *UMAP Plot* untuk memastikan konsistensi sebaran gen signifikan secara visual.

III. Hasil dan Interpretasi

Berdasarkan analisis, didapatkan daftar gen yang terekspresi secara diferensial dengan 10 gen yang memiliki tingkat signifikansi tertinggi ditunjukkan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Daftar 10 Gen dengan Ekspresi Diferensial Paling Signifikan dari Dataset GSE234249

ID	adj.P.Val	P.Value	t	B	logFC	ORF	GENE.DESRIPTION
ASHG19LNC1A10421...	0.0141	2.33e-07	-18.71	3.5512	-2.852	AL355922.1	novel transcript
ASHG19LNC1A10764...	0.0314	1.04e-06	-15.12	3.18214	-2.612	CATG00000020104.1	long non-coding RNA an...
ASHG19LNC1A10002...	0.2577	1.28e-05	-10.51	2.25347	-1.833	BC016361	Homo sapiens, clone IM...
ASHGV40006400V5	0.2767	1.63e-05	-9.97	2.08419	-1.554	G002089	
ASHG19LNC1A10009...	0.2882	3.06e-05	9.23	1.82461	2.243	LOC105373782	
ASHG19LNC1A10000...	0.2882	3.13e-05	9.2	1.8127	1.127	BIG-incRNA-425	
ASHG19LNC1A10008...	0.2882	4.13e-05	-8.83	1.6635	-1.727	AC084866.2	novel transcript
ASHG19AP1B132422...	0.2882	4.65e-05	-8.67	1.59906	-1.028	SOGA3	SOGA family member 3 ...
ASHG19LNC1A10009...	0.2882	5.87e-05	-8.37	1.46731	-1.389	AC017083.1	novel transcript
ASHG19AP1B100054...	0.2882	6.42e-05	8.26	1.41533	1.041	SH3RF3	SH3 domain containing ...

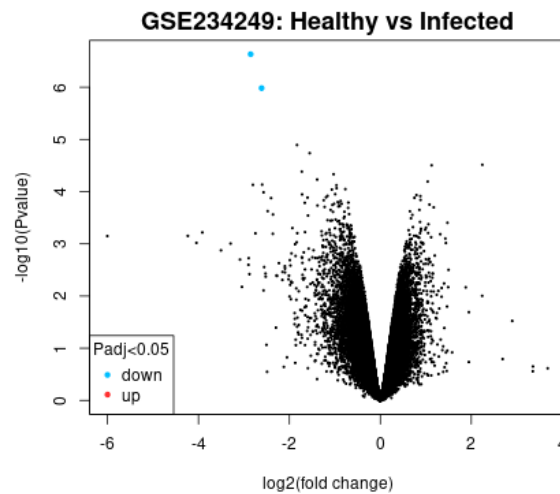
Berdasarkan tabel di atas, gen AL355922.1 dan CATG00000020104.1 memiliki nilai *adjusted p-value* < 0.05 sehingga keduanya signifikan sebagai pembeda antara individu sehat dan pasien lupus nefritis. Sementara itu, gen di urutan ketiga hingga kesepuluh memiliki nilai *adjusted p-value* > 0.05 (0.25 – 0.28) sehingga tingkat signifikansinya lebih rendah.

Menurut besarnya perubahan *Log Fold Change* (logFC), terdapat 7 gen (AL355922.1; CATG00000020104.1; BC016361; G002089; AC084866.2; SOGA3; dan AC017083.1) yang menunjukkan nilai logFC negatif dan 3 gen menunjukkan logFC positif. LogFC negatif menunjukkan bahwa gen-gen tersebut mengalami penurunan ekspresi (*down-regulated*) pada pasien LN dibanding individu sehat. Misalnya, pada gen AL355922.1 yang ekspresinya menurun sekitar 7,2 kali lipat ($2^{2.852}$). Sementara itu, logFC positif menandakan peningkatan ekspresi gen (*up-regulated*) atau aktivitas gen yang lebih tinggi (overekspresi) pada kondisi penyakit. Misalnya, pada gen LOC105373782 yang ekspresinya meningkat sekitar 4,7 kali lipat ($2^{2.243}$).

Secara keseluruhan, hasil analisis menunjukkan dominasi lncRNA yang mengonfirmasi peran krusial RNA non-coding sebagai regulator epigenetik dalam patogenesis lupus nefritis. Penurunan ekspresi pada gen menunjukkan adanya gangguan stabilitas transkripsi pada sel darah atau jaringan ginjal pasien. Meskipun beberapa transkrip memiliki signifikansi statistik lebih rendah, besarnya nilai logFC menunjukkan tren biologis yang kuat dalam memodulasi respon imun dan jalur inflamasi kronis. Disregulasi molekuler ini menjadi indikator penting dalam

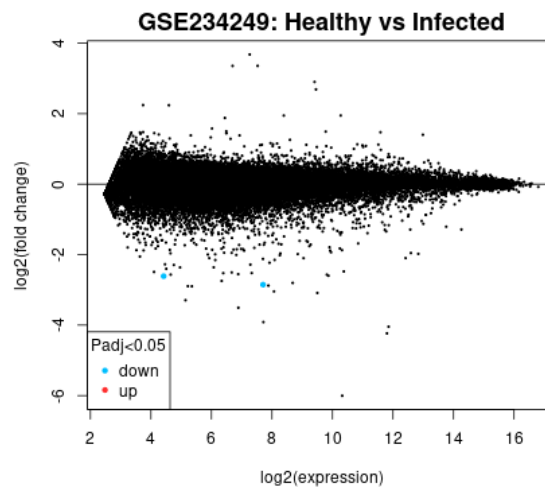
memahami mekanisme kerusakan jaringan dan potensi target terapeutik pada anak dengan lupus nefritis.

Selanjutnya, dilakukan visualisasi data menggunakan *Volcano Plot*, *Mean-Difference Plot*, dan *UMAP Plot* yang ditunjukkan oleh gambar-gambar berikut.



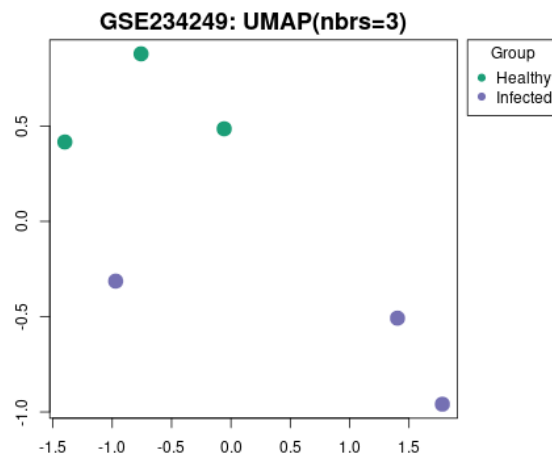
Gambar 1. *Volcano Plot* dari Analisis Ekspresi Diferensial Dataset GSE234249

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan distribusi dan perubahan ekspresi gen. Titik-titik di atas ambang signifikansi mewakili gen yang terekspresi signifikan. Warna merah mengindikasikan *up-regulation*, sedangkan biru mengindikasikan *down-regulation*.



Gambar 2. *Mean-Difference Plot* dari Analisis Ekspresi Diferensial Dataset GSE234249

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan hubungan antara rata-rata log-ekspresi dengan nilai logFC. Sebaran titik yang menjauh dari garis horizontal nol mengonfirmasi adanya perbedaan ekspresi antara grup kontrol dan pasien.



Gambar 3. *UMAP Plot* dari Analisis Ekspresi Diferensial Dataset GSE234249

Berdasarkan gambar di atas, ditunjukkan kemiripan antar sampel. Pemisahan yang kontras antara kelompok sehat dan *infected* menunjukkan bahwa kedua kondisi memiliki profil transkriptomik yang berbeda secara signifikan dan konsisten.

Secara keseluruhan, ketiga visualisasi memvalidasi bahwa mekanisme inflamasi kronis dan respon imun pada penderita lupus nefritis melibatkan pergeseran profil molekuler yang masif.

IV. Kesimpulan

Analisis ekspresi diferensial pada dataset GSE234249 berhasil mengidentifikasi profil transkriptomik yang kontras antara kondisi sehat dan Lupus Nefritis (LN) dengan temuan dominan pada kelompok lncRNA sebagai regulator. Identifikasi kandidat biomarker potensial tervalidasi melalui keberadaan gen dengan signifikansi statistik tinggi dan perubahan ekspresi yang masif. Oleh karena itu, hasil ini memberikan gambaran komprehensif mengenai disregulasi transkriptomik patogenesis LN pada populasi anak melalui platform GEO2R.

V. Daftar Pustaka

Jia, Y., Ahamada, M. M., Xiong, S., Chen, H., Liu, D. & Wu, X. (2023). Altered Expressions of Long-noncoding RNAs involved in development and pathogenesis of Child-onset lupus nephritis. *Research Square*, 1-14.