

PROTEOMIK: DATABASE DAN TEKNOLOGI

Proteomics: Database and Technology

Azmi Azhari^{1,2*}, Deden Jalaludin¹, Ari Irawan¹

¹Tadris IPA Biologi, IAIN Syekh Nurjati,
Jl. Perjuangan Bypass Sunyaragi, Cirebon

²Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor,
Jl. Agatis 16680 Sukadamai Tanah Sereal, Bogor

*email: azmi.azhari12p@apps.ipb.ac.id

Abstrak. Dewasa ini bidang proteomik menjadi salah satu disiplin keilmuan yang menjadi sorotan. Integrasi kajian proteomik dan bioinformatika menghubungkan antara database dan teknologi. Database sangat membantu dalam penelitian bidang proteomik. Database terintegrasi dalam eksperimen proteomik, yang bertujuan penentuan identitas, karakteristik dan interaksi protein. Sebuah aplikasi berupa The GDPE adalah aplikasi berbasis web dengan database relasional berdasarkan format PRIDE XML. Urutan protein database menyediakan urutan peptida yang akan dicocokkan dengan spektrum massa tandem oleh mesin pencari. Mempelajari proteomik menggunakan alat canggih yang disebut MALDI singkatan dari *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*, dengan alat ini akan diketahui struktur dan fungsi suatu protein. Teknik yang digunakan dalam mempelajari proteomik diantaranya ialah analisis 2D berupa gel elektroforesis sehingga dapat memisahkan, mengidentifikasi dan mengukur berat molekulnya. Teknologi lain ialah spektrometri massa yang sangat sensitif, dan kromatografi cair berpeforma tinggi: *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Kata kunci: proteomik, database, teknologi proteomik

Abstract. Today the field of proteomics become one of the scientific disciplines that the spotlight of science. The integration of proteomics and bioinformatics studies linking between the database and technology. Databases are very helpful in the field of proteomics research. Database integrated into the proteomics experiment, aimed at determining the identity, characteristics, and interactions of proteins. An application form The GDPE is a web-based application with a relational database based PRIDE XML format. Protein sequence database provides peptide sequences that will be matched with tandem mass spectrum by search engines. Proteomic study the use of advanced tools called MALDI stands for *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*, with this tool will be known about the structure and function of a protein. The technique used in the study of proteomics analysis of which is in the form of 2D electrophoresis gel so as to separate, identify and measure the molecular weight. Another technology is highly sensitive mass spectrometry, and *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Keywords: proteomics, database, proteomics technology

PENDAHULUAN

Proteomik memegang peranan besar dalam memahami sistem dan proses biologi (Kenyon *et al.*, 2002). Proteomik pertama kali dikenalkan istilahnya pada tahun 1995 menjadi disiplin ilmu baru (Wasinger *et al.*, 1995). Proteomik mempelajari tentang stuktur, sifat dan fungsi protein. Sifat protein yang meliputi

ekspresi, pasca translasi, interaksi dan sebagainya. Secara umum, proteomik dapat mengkaji proses pembentukan penyakit secara integratif, proses seluler, dan hubungan berbagai macam protein di dalam sel (Blackstock & Weir, 1999).

Dalam sepuluh tahun terakhir, bidang proteomik telah berkembang pesat. Berbagai teknologi baru yang menarik telah dikembangkan untuk menjawab berbagai variasi pertanyaan biologi. Bidang bioinformatik dalam proteomik diterapkan untuk menjawab berbagai pertanyaan biologi yang signifikan, dan hasilnya telah menjadi bagian dari literatur ilmiah dan database.

Bidang proteomik telah menjadi salah satu bidang penelitian yang terus menerus diminati ilmuwan. Perkembangan proteomik semakin pesat disebabkan oleh jumlah gen dan urutan protein pada "e-lab" semakin banyak yang diunggah dari berbagai ilmuwan. Dengan data dan teknik baru yang semakin meningkat, indentifikasi protein dan karakterisasinya dapat terus dinamis. Sejalan dengan itu, publikasi data indentifikasi protein telah terus meningkat selama beberapa tahun terakhir. Jumlah publikasi pada PubMed dari Tahun 2000-2005 meningkat pesat sebesar 1100 % (Martens *et al.*, 2005).

Data proteomik sangat banyak dan luas, sehingga kemungkinan besar data tidak lengkap. Hal ini disebabkan karena data pelengkap banyak yang terpisah, tidak mudah diakses, berbagai macam format, dan tidak terjangkau oleh internet. Namun hal ini kemudian distandarkan oleh HUPO Proteomiks Standards Initiative (PSI), dengan menggunakan format XML (*Extensible Markup Language*) (Hermjakob, 2006). Petunjuk pengumpulan data proteomik oleh The HUPO PSI telah dibuat pedomannya. Data yang harus ada adalah data "mass spectra". MzData ini dilengkapi dengan analisis XML untuk masuk ke dalam mesin pencari. Di dalam MzData terdapat nama instrumen, dan penyedia mesin dan database yang terdapat pada PRIDE (*the European Bioinformatics Institute's Proteomiks Identifications Database*) (Taylor *et al.*, 2003; Pedrioli *et al.*, 2004; Orchard *et al.*, 2005)

PRIDE (*The Proteomiks Identification Database Engine*) dapat diakses pada <http://www.ebi.ac.uk/pride>. Peluncuran repositori publik seperti PRIDE adalah cara utama untuk menyajikan secara menyeluruh protein yang telah diidentifikasi. Pada PRIDE, format yang digunakan adalah XML untuk bahasa mesin. Pada XML urutan yang disajikan berurutan dari atas adalah *Experiment Accession, Tittle, Contact, Reference, Short Label, Description, Location, Sample, Protocol, Mass Spectrometry, Identification, Gel Free Identification, Two Dimensional Identification*, dan *Attribute List* (Martens, 2005; Hermjakob & Apweiler, 2006).

PRIDE XML memungkinkan peneliti untuk dengan mudah mengkaji secara menyeluruh protein tertentu dalam format yang dapat dibaca komputer. Identifikasi dalam PRIDE XML ini disajikan terbuka untuk peneliti (Jones *et al.*, 2006). Dengan demikian, meta-analisis yang sebelumnya tidak bisa, kini dapat dilakukan. Database PRIDE pada awal mula dipublikasikan lebih dari 9000 eksperimen protein dengan lebih dari 2 juta protein diidentifikasi. Pada tahun 2008 sebuah antarmuka BioMart ditambahkan ke PRIDE memungkinkan menjawab pertanyaan lebih kompleks (Jones *et al.*, 2006). Kekuatan besar PRIDE bersama-sama dengan alat baru ini masih dilengkapi dengan antarmuka pengguna yang masih baru. Seorang peneliti dengan baik latar belakang bioinformatika maupun bukan bioinformatika mungkin dapat merasa sulit untuk menggunakannya. Namun, layanan antarmuka terus diperbaharui sehingga lebih mudah diakses.

Kajian proteomik dapat dimanfaatkan untuk mempelajari berbagai disiplin keilmuan biologi. Beberapa yang telah diteliti adalah produk pangan seperti susu (Nardiello *et al.*, 2017; Arena *et al.*, 2011; Arena *et al.*, 2017), sitologi (Tsimokha *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2017; Stone *et al.*, 2017), histologi (Mente *et al.*, 2017),

deteksi penyakit/patologi (Tsai & Hsiao, 2017; Dreyfus, 2017), pertanian (Ogata *et al.*, 2017; Dhawi *et al.*, 2017; Heringer *et al.*, 2017) dan lainnya.

Oleh sebab itu, kajian proteomik, sangat penting untuk dibahas sebagai referensi keilmuan disiplin baru, untuk menjawab berbagai macam fenomena biologi yang berkorelasi dengan penelitian *in silico* yaitu bioinformatika.

DATABASE PROTEOMIK

Integrasi Database untuk Eksperimen Proteomik

Eksperimen proteomik, bertujuan untuk menentukan identitas, karakteristik dan interaksi protein yang ditemukan dalam sistem seluler individu. Hal ini dapat memberikan informasi tentang protein yang nyata dalam jumlah yang jauh lebih besar dari pendekatan laboratorium yang masih tradisional. Percobaan biasanya melibatkan penggunaan spektrometri massa untuk identifikasi peptida, setelah algoritma identifikasi protein digunakan untuk mencocokkan peptida untuk urutan protein yang dikenal (Kersey *et al.*, 2004).

Dengan demikian, keberhasilan percobaan proteomik dilakukan pada bahan dari spesies tertentu sangat tergantung pada penentuan sebelum dan interpretasi dari urutan genom. Namun, untuk genom baik dipelajari seperti manusia dan tikus, tidak ada konsensus pada jumlah gen, masih kurang identitas dan struktur dari setiap gen. Selain itu, hasil dari algoritma prediksi gen yang berbeda, dan eksperimen ditentukan urutan (mRNA dan protein) kini disimpan dalam database yang berbeda (Kersey *et al.*, 2004).

Data dari beberapa sumber daya ini digunakan untuk membuat versi pertama dari Protein International Index (IPI), set-proteoma nonredundan digunakan dalam analisis utama dari urutan genom manusia. Sejak September 2001, versi revisi signifikan dari IPI telah diproduksi setiap bulan. IPI memberikan referensi silang antara sumber data primer dan memelihara pengenalan stabil (dengan versi tambahan) untuk memungkinkan pelacakan urutan rilis (Kersey *et al.*, 2004).

Setiap database hanya mengenal sumber yang muncul sekali dalam set IPI. Protein dengan urutan identik tetapi modifikasi pasca translasi diferensial belum secara individu diwakili dalam IPI, karena ini belum umumnya baik diidentifikasi dalam database sumber. IPI menyediakan spesies-spesifik, lengkap dan non-redundan dataset sangat cocok untuk mendukung identifikasi protein dalam percobaan proteomik. Pembangunannya berbasis urutan identifier dan menghilangkan kebutuhan untuk menyaring manual hasil yang berlebihan dalam identifikasi protein (Orchard *et al.*, 2003).

Kelompok kerja dari Organisasi Proteome Manusia (Hupo) yang didirikan pada bulan April 2002 melakukan Proteomika Standar Initiative (PSI) bertujuan untuk menentukan komunitas standar. Hal ini untuk representasi data proteomik dalam mengatasi fragmentasi dan untuk fasilitas data perbandingan, pertukaran dan verifikasi. Kebutuhan ini memungkinkan adanya pertukaran data. Kedua sistem database publik dan komersial telah diakui, seperti kebutuhan yang berkembang untuk membangun repositori dari data publik. Dimana pernah mengangkat jumlah data yang diterbitkan dapat disimpan dan diambil oleh para ilmuwan yang bekerja di lapangan serta untuk menganalisa informasi lebih lanjut (Orchard *et al.*, 2003).

Database dari GDPE

GDPE adalah aplikasi berbasis web dengan database relasional berdasarkan format PRIDE XML. Aplikasi ini mengatur data proteomik di sekitar “jenis sel” A sebagaimana didefinisikan dalam GPDE memiliki empat sifat: spesies, jaringan,

jenis sel dan "negara cell". "Negara cell" mendefinisikan apakah atau tidak program fungsional karakteristik sel diaktifkan (Griss & Garner, 2009).

Dalam database sifat ini disimpan sebagai kosa kata terkontrol akses (Gambar 1). Ketika file PRIDE XML diimpor ke database GPDE empat tepat ikatan ini harus ditetapkan secara manual. Format data PRIDE XML memiliki fungsi untuk memasukkan informasi ini dengan data setiap sampel tapi karena informasi ini opsional itu sengaja tidak dievaluasi oleh GPDE. Selanjutnya, cara perangkat tertentu yang mungkin timbul ketika mendefinisikan sampel di PRIDE format XML dapat dihindari. Misalnya, ketika mendefinisikan jenis sel menggunakan ontologi BRENDA daripada ontologi CL jenis sel mungkin bisa diartikan sebagai jenis jaringan (Griss & Garner, 2009).

Pengguna tidak harus menyadari fitur struktural yang melekat. Data berharga mungkin tidak ditemukan oleh permintaan dan dengan demikian akan hilang untuk pengguna ini. Selain jenis sel database GPDE dibangun sekitar protein diidentifikasi. Protein ditentukan oleh akses. Saat ini GPDE hanya mendukung SwissProt akses (Griss & Garner, 2009).

Pengguna memiliki dua pilihan utama untuk melihat data database: baik dari 'titik pandang' atau dari "sel protein". Protein dapat dilihat oleh akses dan nama. Saat ini, tingkat permintaan hanya akses SwissProt yang didukung. Sel dapat dilihat oleh spesies, jaringan, jenis sel atau negara sel seperti dijelaskan di atas. Setelah permintaan seperti daftar protein atau sel dikembalikan, Hasil set merupakan pintu gerbang ke sebenarnya dua "pandangan" dari database: Entri protein menampilkan semua informasi yang tersedia tentang protein serta daftar lengkap identifikasi peptida protein ini (Gambar 2). Selain itu, daftar semua jenis sel di mana protein ini telah diidentifikasi ditampilkan dengan pilihan untuk memilih salah satu jenis sel.

Protein Details

Accession: P15311
 Name: Ezrin (p81) (Cytovillin) (VilIN-2)
 Molecular weight: 69267.89
 Isoelectric point: 5.94

Identification Details

This protein was identified in 15 cells.

View cell: Homo sapiens (human) > blood > dendritic cell > mature

Protein score	Threshold	Coverage
135.35	90	18.26

Sequence

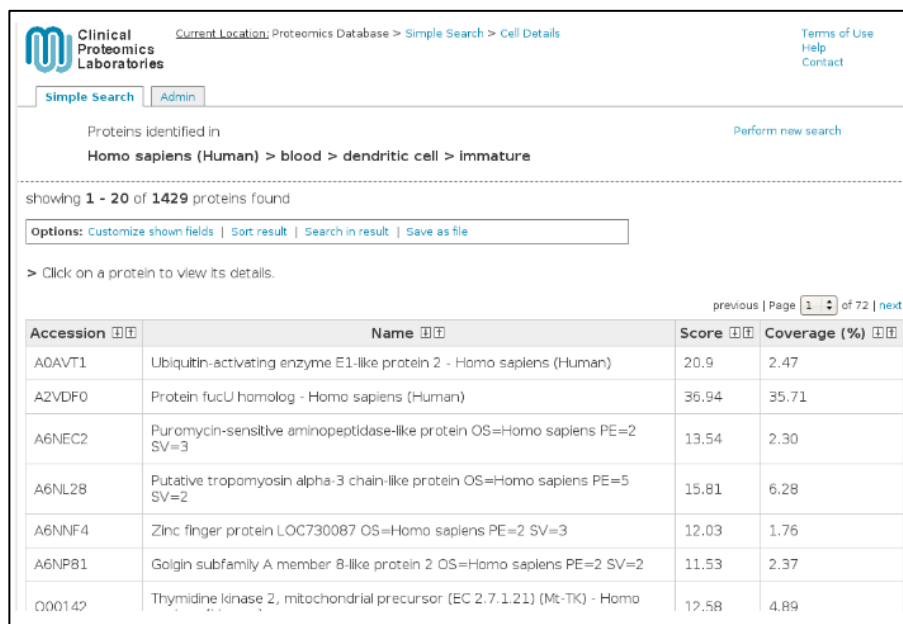
MPNPINWRTTHDALEFAIQNTTQKLFQVYKTIQLRQWYEGSLHVDKNGFPTKLLKDKYSAGEVKNPLQKFP
 PAKYPSYDAEELTQITDLPFLQWEGSLSDIYCPPTAVLLGSYAVGAKFGDYKNEVAKSGLSSERLFPQVNDQ
 HILTRQNEORIQWNAHFGKLDNMLEYLYKTAQDLRMNGENVFETKNNKGTDLGLVDALGLATYKDDKLTPTKGE
 DNGEIGENISFNKKGVYKSTDKKAPSEYAPSLRINKRTILOQNDHLYHFRKSTGTEVQDQKASAREKHQKLER
 QQLTETKXRPETVPEKEMPRKDELMLRLQYEDKTXKAPRELSECCORALQLEEDKRAQGLAELFADQMAALRAK
 EELERQAVQCKSQGLAELAKYAKTALLKAPRKDEVEDQWAKAQQDLVTKHEELHLVMTAPPPPPPPVYEP
 VSYHVESLQDEGAFTQYSALSSGIDRDRNEEKRTTEAKNRPVQRLTLSSLSQADENKRTNDIDHNENRQ
 GPKYKTLNGRQNTKQRCDEEAL

Gambar 1. Entri sel di GPDE

Entri sel menunjukkan daftar semua protein yang diidentifikasi dalam sel ini (Gambar 2). Ketika mengklik protein, jendela akan terbuka dan menampilkan informasi tambahan serta peptida dari protein ini, semua berhubungan tipe sel ini saja. Selanjutnya, pengguna memiliki pilihan untuk menyaring hasil berdasarkan

salah satu bidang yang tersedia dan untuk mengeksport daftar identifikasi protein sebagai file teks. Bila menggunakan web berbasis antarmuka percobaan yang berbeda menjadi tidak bisa dibedakan dengan pengguna dan kesan hasil satu set lebih besar diberikan.

Dengan perkembangan PRIDE skema XML sebagai bentuk baru dari agregasi data proteomik. GPDE menggunakan kemungkinan ini untuk menggabungkan proteomik percobaan yang berbeda berdasarkan jenis sel saja dan bergabung dalam satu set hasil yang besar. Dengan demikian, meta-analisis dapat dengan mudah dihasilkan tidak hanya di "perbatasan" percobaan yang berbeda tetapi juga di seluruh temuan tim peneliti berbeda (Griss & Garner, 2009).



Current Location: Proteomics Database > Simple Search > Cell Details

Terms of Use
Help
Contact

Simple Search Admin

Proteins identified in
Homo sapiens (Human) > blood > dendritic cell > immature

Perform new search

showing 1 - 20 of 1429 proteins found

Options: Customize shown fields | Sort result | Search in result | Save as file

> Click on a protein to view its details.

previous | Page 1 of 72 | next

Accession	Name	Score	Coverage (%)
A0AVT1	Ubiquitin-activating enzyme E1-like protein 2 - Homo sapiens (Human)	20.9	2.47
A2VDF0	Protein fucU homolog - Homo sapiens (Human)	36.94	35.71
A6NEC2	Puromycin-sensitive aminopeptidase-like protein OS=Homo sapiens PE=2 SV=3	13.54	2.30
A6NL28	Putative tropomyosin alpha-3 chain-like protein OS=Homo sapiens PE=5 SV=2	15.81	6.28
A6NNF4	Zinc finger protein LOC730087 OS=Homo sapiens PE=2 SV=3	12.03	1.76
A6NP81	Golgin subfamily A member 8-like protein 2 OS=Homo sapiens PE=2 SV=2	11.53	2.37
Q00142	Thymidine kinase 2, mitochondrial precursor (EC 2.7.1.21) (Mt-TK) - Homo	12.58	4.89

Gambar 2. Data entri sel di GPDE

Proses ini menyediakan administrator instalasi GPDE dengan selektif memasukkan kualitas eksperimen yang sebanding saja. Selain itu, GPDE menyediakan pengguna dengan skor protein memberikan indikasi tentang keamanan identifikasi. Dengan demikian GPDE menangani masalah yang ada dari hasil meta-analisis yang sulit diberikan untuk kembali karena menyediakan pengguna dengan akses cepat ke lengkap mendasari rincian identifikasi peptida.

Fitur ini dilengkapi dengan pembatasan bahwa hanya percobaan menggunakan jenis yang sama dari skor identifikasi peptida dapat dimasukkan ke dalam GPDE. Tanpa fitur ini pengguna bisa lagi menilai validitas identifikasi tunggal dan akibatnya seluruh hasil set akan dipertanyakan (Griss & Garner, 2009).

Database Urutan Protein

Selain itu, urutan protein database menyediakan urutan peptida yang akan dicocokkan dengan spektrum massa tandem oleh mesin pencari. Dengan demikian, protein urutan database yang dipilih akan memiliki dampak yang signifikan pada sensitivitas, spesifisitas, dan kecepatan pencarian. Sejak urutan peptida yang hilang dari database urutan protein tidak akan dicocokkan dengan spektrum, urutan buruk

yang dipilih database akan menghasilkan spektrum yang teridentifikasi dan peptida menjadi tidak teramati.

Namun, yang lebih besar, inklusif urutan protein database memakan waktu lebih lama untuk mencari, dan dapat mengakibatkan identifikasi positif lebih palsu dan mengurangi signifikansi statistik. Mesin pencari lokal yang diinstal umumnya mengharapkan FASTA urutan Format protein database, yang dapat dengan mudah didownload dari situs web yang sesuai. Instalasi urutan protein database untuk mesin pencari diinstal secara lokal mungkin memerlukan konfigurasi khusus dan sebelum pengolahan dari file database urutan protein, tetapi fleksibilitas analisis diperoleh adalah signifikan. Instalasi lokal database sekuens protein spesifik adalah salah satu alasan utama untuk menginstal dan menjalankan mesin pencari, sebagai urutan database yang disediakan oleh bebas mesin pencari berbasis web seringkali cukup terbatas (Edwards, 2007).

Bila tersedia, organisme tertentu database urutan menghilangkan kesalahan dari spesies yang terkait, namun dapat meninggalkan peptida dari kontaminan yang tak dikenal. Untuk alasan ini, keratin, tripsin, dan urutan protein artifisial lainnya kadang-kadang ditambahkan ke organisme database urutan tertentu, meskipun tidak menginformasikan sampel biologi. Di mana sumber protein adalah satu, baik ditandai model organisme, International Index Protein (IPI) untuk protein database adalah pilihan yang baik. Jika asal sampel adalah dikenal sebagai campuran organisme, maka bagian SwissProt of UniProtKB adalah pilihan yang baik.

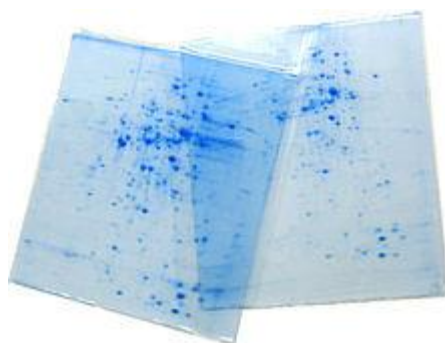
UniProt juga menyediakan proteoma set lengkap untuk organisme diurutkan dan alat untuk memilih dan mendownload subproteomes dibatasi oleh fitur protein atau penjelasan. RefSeq NCBI 's adalah sumber yang baik dari urutan protein, dan tersedia dalam berbagai divisi taksonomi. Organisme urutan RefSeq tertentu dapat ditemukan di bagian genom dari situs NCBI FTP.

Penggunaan komputasi dan setara NCBI menggabungkan urutan protein database, atau urutan protein dari genom buruk yang dijelaskan tidak dianjurkan sebagai urutan peptida berlebihan. Protein miskin penamaan secara signifikan dapat mempersulit interpretasi hasil. Dalam beberapa kasus, mencari EST dan urutan genom mungkin sesuai, tetapi analisis pasca-pencarian yang cukup harus dilakukan untuk menebus kurangnya baik meta-data dan kontrol kualitas yang terkait dengan setiap entri (Edwards, 2007).

TEKNOLOGI PROTEOMIK

Two-Dimensional Gel Electrophoresis

Ide dari analisis keseluruhan bagian protein telah dihasilkan oleh sebuah sel yang muncul 20 tahun lalu dengan perkembangan *two-dimensional* (2D) *gel electrophoresis*. Kenrick & Margolis (1970) menyatukan *isoelectric* alami memusatkan dalam gradient celah *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) untuk memperoleh pemisahan dari serum protein. Teknik 2D yang sering digunakan saat ini murni hasil kerja dari Patrick O'Farrell (1975) dan Joachim Klose (1975). Kesuksesan pemecahan kekuatan dan sensitifitas dari teknik dan kemampuan untuk menyatukannya dengan metode lain oleh *electroblotting* untuk memasukan dukungan untuk pengujian dengan antibody atau untuk *Edman sequencing* untuk mengidentifikasi protein, memungkinkan bangunan dari peta protein (*cell maps*) (James, 1997).



Gambar 3. Coomassie 2D Gels

Two-dimensional gel electrophoresis (2DE) merupakan metode yang luar biasa untuk pemisahan dan isolasi protein. Berdasarkan pemisahan *orthogonal* protein oleh titik *isoelectric* dan berat molekuler, itu dapat sering dinyatakan serupa tetapi modifikasi secara diferensial bentuk protein. Banyak 2DE berdasarkan metode untuk pembelajaran *post-translationally modified protein* mengandalkan pada selektif dan penyelidikan spesifik untuk mendeteksi modifikasi utuh protein dalam gel atau setelah *blotting* ke dalam membrane. Dengan demikian, beberapa pendekatan untuk memperkaya modifikasi protein sebelum *electrophoresis* dan analisis MS telah muncul (Jensen, 2004).

Ada suatu hal yang sering dikatakan, dari dalam atau pun luar kalangan proteomik, bahwa 2D *gel* adalah variable yang tak terpisahkan dan hingga, mendapatkan data kuantitatif dari penggunaan mereka yang diragukan. Ini bukanlah masalah dalam 2D DIGE data. 2D DIGE atau *two-dimensional differential gel electrophoresis* yang merupakan perkembangan baru dari deteksi protein untuk *two-dimensional gels*. Ketika hal itu datang untuk meletakkan perubahan dari metode 2-D DIGE kedalam konteks, hal itu sangat penting untuk penemuan yang membandingkan pada sampel, yang identic dan demikian merupaka indicator yang baik dari perubahan metodologi (Tonge, 2001).

Separating Protein

Tak serupa dengan genomik, proteomik tidak equivalen dengan PCR. Dengan demikian penanganan sampel dan sensitifitas merupakan masalah yang kritis yang tidak benar-benar mengatasi masalah. Sampel berupa sejumlah atau bagian besar protein dalam suatu sel dan sensitifitas dalam upaya pemisahan sejumlah protein tersebut. 2D PAGE berarti yang lebih efektif dalam memisahkan protein dan memberi label dengan pewarnaan *fluorescent*, beberapa permasalahan dari keterbatasan jangkauan secara dinamis dari metode terdahulu terpecahkan. Bagaimanapun juga, permasalahan visualisasi pada protein disajikan pada level yang rendah (sejumlah penggandaan yang rendah, 10-1000 penggandaan per-sel) berarti penyajian protein acapkali kurang jelas. Beberapa pengukuran dari pra-fraksinasi, seperti *centrifugation* atau *free-flow electrophoresis* sering diperlukan, penyatuan seperti pendekatan dalam merubah pemuatan gel menjajikan untuk memberikan saat rendah-kelimpahan protein agar terlihat. *Gels* dapat juga menjadi selektif dan menjadi prosedur yang special yang menjadi alat untuk setiap dasar protein, membran protein dan kelarutan protein yang rendah lainnya (Blackstock, 1999).

Comigration and HPLC Mapping

Salah satu dari metode awal dalam mengidentifikasi protein pada 2D *gels* ialah *comigration* dengan pemurnian protein; sebagai contoh, Schubart & Danoff (1987) mengidentifikasi 19 kDa protein otak tikus yang *comigrates* pada 2D *electrophoresis* dengan sequen protein p19 sebelumnya. Metode lainnya dari pengidentifikasian protein adalah oleh *comigration* dari *tryptic peptides* pada HPLC dalam hal itu dari protein standar. Bagian terdekat yang menghubungkan titik dari P19 tersebut di atas menunjukkan menjadi variasi *isoelectric* (kemungkinan bentuk fosforilasi) sejak mereka banyak menghasilkan jejak HPLC identic setelah pencernaan *trypsin*. Pemetaan peptide oleh HPLC telah sering sekali digunakan untuk mengidentifikasi protein, biasanya oleh perbandingan dengan menjalankan protein standar pada waktu yang sama. Bagaimanapun juga, campuran yang lebih kompleks telah dianalisis dan metode *chromatographic* telah dikembangkan untuk mengidentifikasi spesies protein melalui susunan peptide mereka (James, 1997).



Gambar 4. Instrumen HPLC

Mass Spectrometry

Perkembangan saat ini di bidang spektrometri massa biologi adalah penggunaan secara molecular yang mengkhususkan model luaran untuk secara selektif mengambil keinginan analisis dari solusi utama untuk *matrix-assisted laser desorption/ionization* (MALDI) masa ketika naiknya spektrometri massa. Hutchens dan Yip ialah yang pertama menunjukkan kemanjuran seperti afinitas teknik pengambilan dalam mengisolasi dan pemurnian sampel peptide dan protein untuk spektrometri massa dan disebut teknik luaran yang meningkatkan pengambilan afinitas spektrometri massa. Matrix MALDI telah diaplikasikan dalam media afinitas untuk elemen penyelidikan spektrometri massa, membiarkan untuk udara kering, dan analisis oleh protocol MALDI normal (Nelson, 1995).



Gambar 5. Instrumen MALDI

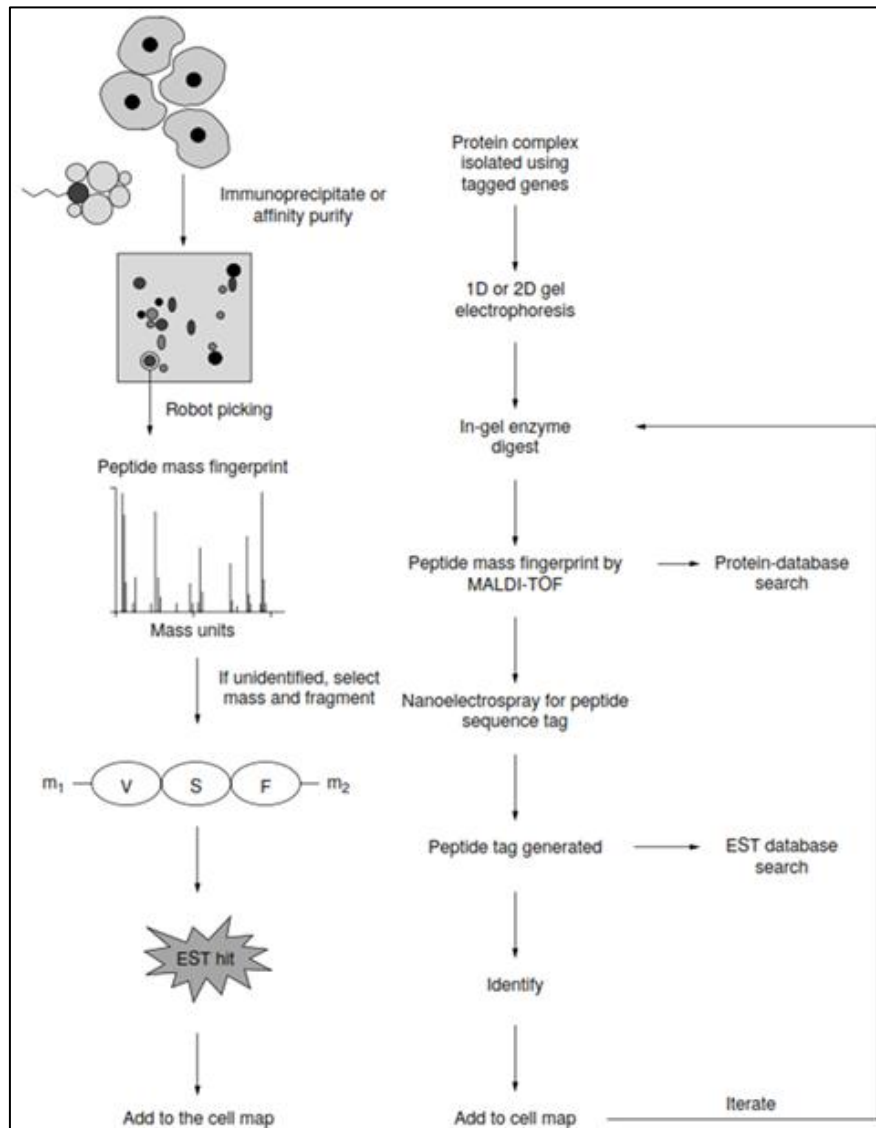
Perkembangan proteomik sebagai disiplin keilmuan yang terbilang baru cukup pesat, melahirkan berbagai teknologi yang luar biasa. Elektroforesis gel 2 dimensi ialah salah satu pendahulu teknologi sederhana di bidang ini yang mampu membedah kajian protein. Ia telah digunakan sebelum berkembangnya berbagai teknologi khususnya dalam kajian DNA seperti sekuensing, PCR, kloning, dan sebagainya (Anderson, 1998).

Elektroforesis gel 2 dimensi perlu dikombinasikan dengan teknik lain guna meningkatkan efektifitas penggunaannya. MALDI, spektrometri massa, pewarnaan dengan flouresensi, dan lainnya penting dalam mempertajam hasil kajian protein sebuah genom. Secara berurutan, teknik-teknik tersebut memiliki kelebihan masing-masing dan saling melengkapi dalam kinerjanya mengkaji protein dalam genom (Blackstock, 1999).

Perubahan yang terjadi dalam pembentukan protein saat setelah translasi menjadi sorot dalam kajian proteomika. Banyak dari penyakit yang timbul karena proses biologis terutama di tingkat molekuler penyebabnya pada proses tersebut. Perlu adanya penyelidikan khususnya di bidang proteomik ini pada tahap setelah translasi tersebut. Protein dikaji pada tahap itu menggunakan spektrometri massa. Penggunaan pewarnaan flouresensi meningkatkan ketajaman analisis dalam mengidentifikasi protein bersamaan dengan penerapan teknik spektrometri massa. Analisis perlu lebih ditingkatkan guna manambah efektifitas dan efesiesi hasil dengan penerapan MALDI TOF (Jensen, 2004).

Hirarki bertingkat dari struktur seluler yang rumit dan kompleks menjadi tantangan tersendiri bagi saintis. Bagian dalam sel terjadi berbagai proses biologis diantaranya menyangkut unit molecular di dalamnya. Protein, lipid dan sebagainya merupakan unit molecular dalam sel dan menjadi focus utama dalam proses biologis. Spektrometri massa mampu mengidentifikasi dan mengkategorikan beberapa unit tersebut guna kajian secara mandalam mengenai aplikasi baik di bidang kesehatan, farmasi, dan sebagainya. Teknologi tersebut mampu mengkaji lebih jauh proses biologis di tingkat sel sehingga membuka peluang besar dalam mendalami kajian unit molekuler dalam sel (Chait, 2011).

Dua teknik yang digunakan dalam metode spektrometri massa yakni teknik *bottom-up* dan *top-up*. Teknik pertama perlu enzim untuk menjadikan suatu protein menjadi fragmen sedangkan teknik *top-up* secara langsung menganalisis target. Teknik *bottom-up* lebih sering digunakan karena keunggulannya yakni lebih sepsifik dan secara menyeluruh dapat menganalisis target karena telah menjadi fragmen-fragmen (Chait, 2011). Diagram berikut merupakan aplikasi yang mungkin memperjelas bagaimana kajian protein menggunakan teknologi yang disebutkan di atas, lihat Gambar 6 (Blackstock, 1999).



Gambar 6. Skema spektrometri massa protein

Gambar 6 identifikasi protein dengan spektrometri massa. Gen target dimasukkan ke dalam sel dan protein yang berasosiasi dengan protein yang telah dimurnikan dengan metode afinitas. Salinan protein kompleks dibawa dengan Elektroforesis gel 1 dimensi atau 2 dimensi. Pendekatan spektrometri massa secara hirarki menggunakan metode *low-cost* dan *high-throughput* (yakni *matrix-assisted-laser-desorption-ionization time-of-flight/MALDI TOF* yang digunakan sebagai *fingerprinting* massa peptide awal; untuk melengkapi men-sekuensi genom, sampai langkah ini mungkin sudah cukup untuk bisa mengidentifikasi protein kompleks. Namun perlu juga, metode electrospray untuk memperbanyak tanda sekuens peptide dalam pencarian protein dan database EST.

SIMPULAN

Proteomik menjadi kajian yang sangat penting untuk membahas protein secara terintegrasi, dan menyeluruh. Dengan adanya teknologi informasi, kajian proteomik dapat berhubung antara berbagai peneliti, terbaharukan dan menyatu dalam sistem. Selain itu, akses yang mudah, dapat dijangkau oleh berbagai peneliti di seluruh dunia, sehingga pengetahuan proteomik semakin terus dinamis.

DAFTAR RUJUKAN

- Arena, S. *et al.* (2017). Dairy products and the Maillard reaction: A promising future for extensive food characterization by integrated proteomics studies. *Food Chemistry*, 219, 477–489.
- Arena, S. *et al.* (2011). Redox proteomics of fat globules unveils broad protein lactosylation and compositional changes in milk samples subjected to various technological procedures. *Journal of Proteomics*, 74(11), 2453–2475.
- Anderson NL, Anderson NG, Anderson. (1998). Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis*, 19(11), 1853–1861.
- Blackstock, W.P. & Weir, M.P. (1999). Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends in Biotechnology*, 17(3), 121–127.
- Dhawi, F., Datta, R. & Ramakrishna, W. (2017). Proteomics provides insights into biological pathways altered by plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhiza in sorghum grown in marginal soil. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1865(2), 1–9.
- Dreyfus, D.H. (2017). differential diagnosis of chronic urticaria and angioedema based on molecular biology, pharmacology, and proteomics. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 37(1), 201–215.
- Griss, Johannes & Christopher Gerner. 2009. GPDE: A Biological View on PRIDE. *Proteomics Bioinform*, 2, 167–174.
- Heringer, A.S. *et al.* (2017). Comparative proteomics analysis of the effect of combined red and blue lights on sugarcane somatic embryogenesis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(2).
- Hermjakob, H. (2006). Database (PRIDE) and the ProteomExchange Consortium: making proteomics data accessible. 10–12.
- Hermjakob, H. & Apweiler, R. (2006). The proteomics identifications database (PRIDE) and the proteomExchange consortium: Making proteomics data accessible. *Expert Review of Proteomics*, 3(1), 1–3.
- James, P. (1997). Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 30(4), 279–331.
- Jensen, O. N. (2004). Modification-specific proteomics: Characterization of post-translational modifications by mass spectrometry. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(1), 33–41.
- Jones, P. *et al.* (2006). PRIDE: a public repository of protein and peptide identifications for the proteomics community. *Nucleic acids research*, 34, 659–663.
- Kersey, Paul J., Jorge Duarte, Allyson Williams *et al.* (2004). The International Protein Index: An integrated database for proteomics experiments. *Proteomics*, 4, 1985–1988.
- Kenyon, G.L. *et al.* (2002). Defining the mandate of proteomics in the post-genomics era: workshop report. *Molecular & cellular proteomics: MCP*, 1(10), 763–780.

- Martens, L. (2005). Erratum: PRIDE: The proteomics identification database. *Proteomics*, 5(15), 4046.
- Martens, L. *et al.* (2005). PRIDE: The proteomics identifications database. *Proteomics*, 5(13), 3537–3545.
- Mente, E. *et al.* (2017). Postprandial hepatic protein expression in trout *Oncorhynchus mykiss* a proteomiks examination. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 9, 79–85.
- Nardiello, D. *et al.* (2017). Combined use of peptide ion and normalized delta scores to evaluate milk authenticity by ion-trap based proteomiks coupled with error tolerant searching. *Talanta*, 164, 684–692.
- Nelson, Randall W., Krone, Jennifer R., Bieber, Allan L., Williams, Peter. (1995). Mass spectrometric immunoassay. *Analytical Chemistry*. 67(7): 1153–1158.
- Norregaard Jensen. (2004). Modification-specific proteomiks: characterization of post-translational by mass spectrometry. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(1), 33–41.
- Ogada, P.A. *et al.* (2017). Differential proteomics analysis of *Frankliniella occidentalis* immune response after infection with Tomato spotted wilt virus (Tospovirus). *Developmental and Comparative Immunology*, 67, 1–7.
- Orchard, S. *et al.* (2005). Second proteomiks standards initiative spring workshop. *Expert Review of Proteomiks*, 2(3), 287–289.
- P. James .(1997). Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics. *Quarterly Reviews of Iophysics*. 30(4): 279–331.
- Pedrioli, P.G.A. *et al.* (2004). A common open representation of mass spectrometry data and its application to proteomics research. *Nature Biotechnology*, 22(11), 1459–1466.
- Stone, S.E. *et al.* (2017). Cell-selective proteomiks for biological discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 36, 50–57.
- Taylor, C.F. *et al.* (2003). A systematic approach to modeling, capturing, and disseminating proteomiks experimental data. *Nature Biotechnology*, 21(3), 247–254.
- Tonge R, Shaw J, Middleton B, *et al.* (2001). Validation and development of fluorescence two-dimensional differential gel electrophoresis proteomics technology. *Proteomics*, 1(3), 377–96.
- Tsai, H. F. & Hsiao, H. H. (2017). Synthesis of stable isotopically labeled peptides with filter-assisted enzymatic labeling for the diagnosis of hepatitis B virus infection utilizing mass spectrometry-based proteomiks strategy. *Analytica Chimica Acta*, 956, 32–39.
- Tsimokha, A.S. *et al.* (2017). Extracellular proteasomes are deficient in 19s subunits as revealed by itraq quantitative proteomics. *Journal of Cellular Physiology*, 232(4), 842–851.
- Wasinger, V. C. *et al.* (1995). Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *ELECTROPHORESIS*, 16(1), 1090–1094.
- Zhou, Y. *et al.* (2017). Chromatographic efficiency and selectivity in top-down proteomiks of histones. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1044–1045, 47–53.