

PREDIKSI STRUKTUR 2-DIMENSI NON-CODING RNA DARI BIOMARKER KANKER PAYUDARA TRIPLE-NEGATIVE DENGAN VIENNARNA PACKAGE

Arli Aditya Parikesit^{1,2*}, Dito Anurogo²

¹Faculty Member, Department of Bioinformatics, Indonesia International Institute for Life Science, Jakarta, Indonesia

²Adjunct Lecturer, STAI ALHIKMAH Jakarta, Jakarta, Indonesia

³S-2 Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

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

Abstrak: Berdasarkan data WHO, kanker adalah penyakit yang paling berbahaya. Dewasa ini para peneliti sedang berusaha memahami mekanisme molekular kanker. Berdasarkan dogma sentral, hanya *protein coding gene* yang diketahui fungsinya, sementara *non-coding gene* belum dapat dijelaskan. Kemudian, diketahui bahwa *non-coding RNA* (ncRNA) berperan dominan dalam regulasi molekular sel, sehingga berpengaruh secara langsung kepada proliferasi kanker. Dalam hal ini, instrumen RNA-seq maupun *Tiling Array* sudah mengumpulkan banyak data biologis dan mendeposisikannya kepada database genom. Diketahui bahwa, ncRNA tidak hanya dapat berperan sebagai biomarker untuk diagnostik kanker, namun juga akan dapat dikembangkan sebagai agen terapeutik. Kanker payudara memiliki empat sub tipe molekular, yaitu *luminal A*, *luminal B*, *Her-2* dan *triple negative/basal-like*. Kanker Payudara Triple-negative (TNBC) merupakan penyakit yang sangat berbahaya dan belum ditemukan pengobatan yang efektif. Memahami mekanisme dan struktur ncRNA pada Biomarker TNBC merupakan langkah awal untuk menentukan agen terapeutik dan profilaksis terbaik. Diketahui bahwa jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6* berperan dalam proliferasi TNBC. Berdasarkan pencarian di *GenBank*, ditemukan lema-lema ncRNA untuk jalur tersebut. Hasil pencarian diolah dengan *software ViennaRNA Package*, untuk ditentukan struktur 2 dimensi (2-D) yang solid. Kedepannya, diharapkan dengan mencegah terbentuknya struktur 2-D tersebut, maka semua gen tersebut akan menjadi tidak aktif dan menghentikan proliferasi kanker.

Kata kunci: *ViennaRNA Package*, *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC), ncRNA, Struktur 2-D, Biomarker

Abstract: Based on data from the World Health Organization, cancer is the most dangerous disease. Now, researchers are trying to understand the molecular mechanisms of cancer. Based on the central dogma, only *protein coding gene* of known function, while *non-coding gene* cannot be explained. Then, it is known that *non-coding RNA* (ncRNA) plays a dominant role in the molecular regulation of the cell, and therefore contributes directly to the proliferation of cancer. In this case, the instrument of RNA-seq and *Tiling Array* already garnered a lot of data. It is known that ncRNA not only can serve as biomarkers for cancer diagnostics but also will be developed as a therapeutic agent. Understanding the mechanisms and structures of ncRNAs on *Triple-Negative Breast Cancer* (TNBC) Biomarker is the first step to determine the therapeutic and prophylactic agents best. It is known that the *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6* pathway plays the role in the proliferation of TNBC. Based on the search in *GenBank*, the pathway has been found. The *ViennaRNA Package* software processed the search results to determine the two-dimensional (2-D) structure. In the future, preventing the formation of the 2-D structure will be expected to inactivate that pathway, and stop the proliferation of cancer.

Keywords: *ViennaRNA Package*, *Triple-Negative Breast Cancer* (TNBC), ncRNA, 2-D Structure, Biomarker

PENDAHULUAN

Menurut WHO, kanker payudara adalah kanker yang paling berbahaya bagi perempuan pada negara maju maupun berkembang (WHO, 2016). Tidak berbeda dengan WHO, data Kementerian Kesehatan juga menyatakan kanker payudara merupakan kanker yang paling berbahaya bagi perempuan Indonesia (Kemenkes-RI, 2013). Sejauh ini, Terapi yang tersedia untuk mengobati kanker payudara adalah radioterapi, kemoterapi, dan operasi (Ferlay *et al.*, 2010). Namun, efek samping solusi tersebut mengakibatkan perlunya solusi yang lebih baik. Memahami biologi molekular kanker payudara merupakan langkah untuk menemukan terapi yang

efektif. Sejauh ini, pendekatan molekular untuk mengkaji kanker payudara umumnya berbasis genomik dan proteomik, seperti riset terhadap mutasi gen *BRCA1* (James *et al.*, 2007). Hanya saja, pendekatan transkriptomik atau *RNA-based* sudah mulai dianggap penting. Transkriptomik adalah set lengkap transkrip RNA pada tipe sel spesifik atau jaringan, di tahap perkembangan tertentu, atau pada kondisi fisiologis tertentu yang melibatkan *messenger RNA*, *transfer RNA*, *ribosomal RNA*, dan *non coding RNA* (Dong & Chen, 2013). Berdasarkan temuan mutakhir, mayoritas genom mamalia dan organisme kompleks lainnya ditranskripsi menjadi non coding (nc)RNA, yang berperan penting dalam

progresi penyakit dan variasi genetik dari organisme (Mattick & Makunin, 2006).

Berdasarkan pendekatan molekular, tipe-tipe kanker payudara adalah *Luminal A*, *Luminal B*, *Her-2*, dan *Triple Negative/Basal-like*, yang semuanya ditemukan di Indonesia (Widodo *et al.*, 2014). *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC) adalah tipe kanker payudara yang paling berbahaya karena sejauh ini belum tersedia terapeutik berbasis molekular (Eades *et al.*, 2015). Mekanisme molekular TNBC akan menjadi dasar dari penelitian kami. Kemudian, diketahui bahwa jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6*, yang merupakan interaksi fungsional antar ncRNA dan protein, berperan dalam proliferasi TNBC (Eades *et al.*, 2015). Fungsi ncRNA *miR-145* untuk meregulasi pertumbuhan tumor dan apoptosis sel (Hu *et al.*, 2012). Fungsi ncRNA *lincRNA-ROR* diketahui berperan dalam menginduksi sel punca pluripoten dan mendukung invasi sel kanker (Hou *et al.*, 2014), dan fungsi mRNA/Protein *ARF6* adalah untuk meningkatkan aktivitas dari sel kanker (Sabe *et al.*, 2009). Interaksi antara *miR-145* dan *lincRNA-ROR* yang dibahas pada makalah ini.

Bioinformatika adalah ilmu gabungan antara biologi molekular dan teknik informatika (Parikesit 2009). Kajian bioinformatika sudah dilakukan untuk pengembangan obat dan diagnosis kanker payudara, namun pendekatannya umumnya berbasis protein atau *coding gene* (Yigitoglu *et al.*, 2015). Aplikasi standar yang digunakan untuk mempelajari struktur dan fungsi ncRNA adalah *ViennaRNA Package*, yang telah digunakan untuk arus utama riset biomedis (Gruber *et al.*, 2015). Selain *ViennaRNA Package*, *miRTARBase* juga jamak digunakan sebagai pendukung riset bioinformatika karena berbasis data eksperimen (Hsu *et al.*, 2011). Memahami mekanisme dan struktur ncRNA pada Biomarker TNBC merupakan langkah awal untuk menentukan agen terapeutik dan profilaksis terbaik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menyelidiki struktur 2-D dan fungsi ncRNA dari Biomarker TNBC dengan bantuan aplikasi *ViennaRNA Package* sebagai informasi awal untuk pengembangan agen terapeutik dan profilaksis.

BAHAN DAN METODE

Pencarian dan pengunduhan lema terkait jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6* berbasis protein dan ncRNA dilakukan pada situs *genbank/NCBI* pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Jika setiap ncRNA atau mRNA memiliki banyak lema, maka akan dilakukan *multiple sequence alignment* (MSA) untuk mencari daerah lestari. Jika hanya lema tunggal, maka MSA tidak dilakukan. Kemudian, data FASTA ncRNA atau mRNA dimasukkan kepada aplikasi *ViennaRNA Package* berbasis web di <http://rna.tbi.univie.ac.at>. Tools yang digunakan secara berurutan adalah *RNAfold* untuk prediksi struktur 2-D bagi *miR-145* dan *lincRNA-RoR*, *Barrier server* untuk memahami kinetika

pelipatan RNA pada *miR-145* dan *lincRNA-RoR*, *RNAup* untuk prediksi interaksi antara *miR-145* dan *lincRNA-ROR* dan *RNAxs* untuk desain siRNA ‘*silencing gene knock down*’ untuk merepresi *lincRNA-RoR* dan mRNA dari *ARF6*. Semua tools menggunakan parameter default (Gruber *et al.*, 2015; Heine *et al.*, 2006; Hofacker *et al.*, 2010; Lorenz *et al.*, 2011; Muckstein *et al.*, 2006; Tafer *et al.*, 2008). *Tools miRTARBase* digunakan sebagai pelengkap data yang ada, karena berbasis data eksperimen (Hsu *et al.*, 2011). Verifikasi desain sekuens siRNA dilakukan dengan BLAST, untuk menentukan fungsi gen. Langkah terakhir adalah analisis hasil pengolahan data secara termodinamika dan kinetika kimia, untuk menentukan struktur dan fungsi dari ncRNA atau mRNA. Jika data terlalu besar untuk diolah secara daring, maka kami akan menggunakan High Performance Cluster (HPC) milik LIPI pada <http://grid.lipi.go.id/>, dengan *ViennaRNA Package* versi 2.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pencarian di situs web Genbank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, ditemukan bahwa data sekuens yang diunduh untuk jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6* ditunjukkan pada Tabel 1.

Sekuens *lincRNA-ROR*, *miR-145*, dan *ARF6* yang ditemukan tidak memiliki lema lebih dari satu. Oleh karena itu, operasi MSA tidak diperlukan untuk mengambil sampel perwakilan. Sekuens diunduh dan disimpan pada aplikasi notepad dalam format FASTA. Kemudian, sekuens tersebut disalin temple kedalam input box yang ada di setiap aplikasi pendukung *ViennaRNA package*.

Berdasarkan luaran aplikasi *RNAfold* untuk prediksi struktur 2-D bagi *miR-145* dan *lincRNA-RoR*, diperoleh ilustrasi struktur seperti Gambar 1. Dapat dilihat pada Gambar 1A, dimana struktur hairpin *miR-145* diprediksi untuk terbentuk dengan probabilitas yang sangat tinggi, karena hampir seluruh sekuens pada struktur tersebut berwarna merah. Hal ini terjadi karena microRNA merupakan struktur yang sederhana dan terdiri atas sedikit sekuens, sehingga struktur dapat terbentuk dengan baik. Sementara itu, pada Gambar 1B, walaupun sudah diprediksi dengan energi minimal, struktur yang terbentuk terkesan secara stereokimia tidak stabil. Data ini didukung dengan banyaknya bagian struktur yang mendekati warna biru, dengan kata lain struktur ini memang tidak stabil. Hal ini karena *lincRNA-RoR* merupakan urutan yang sangat panjang, sehingga membutuhkan energi besar untuk membentuk struktur yang stabil. Kemudian, prediksi struktur 2-D kepada *ARF6* tidak dilakukan karena merupakan protein. Dengan demikian, struktur yang terbentuk pada Gambar 1 akan dijadikan sumber acuan untuk penggunaan aplikasi berikutnya, terutama pada desain siRNA.

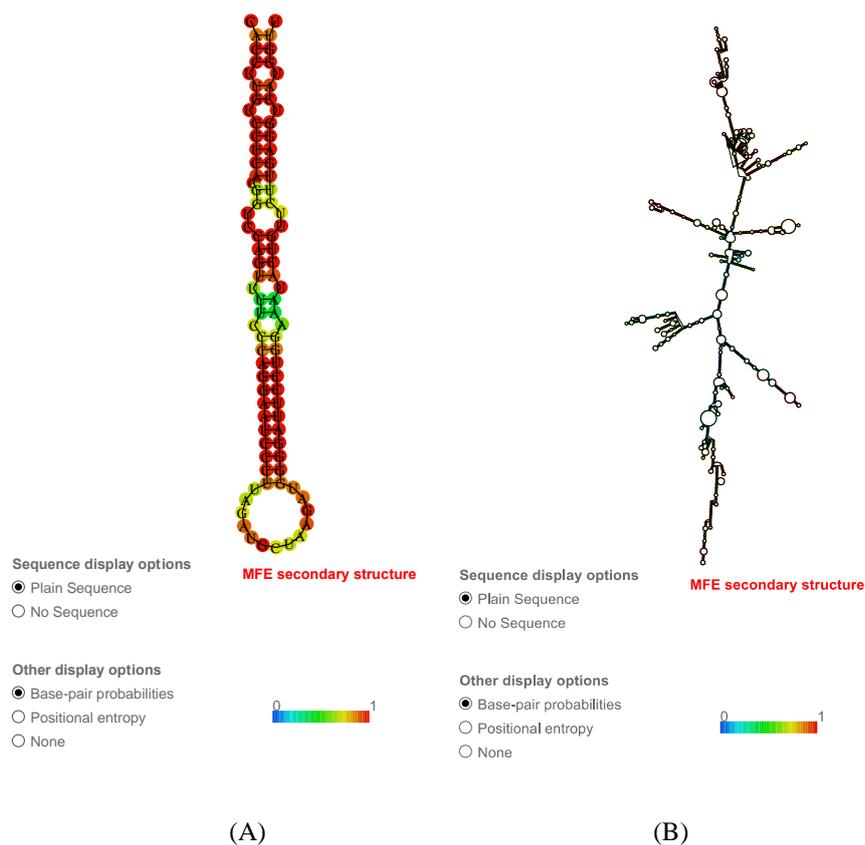
Sementara itu, berdasarkan teori termodinamika, struktur miRNA akan selalu berusaha mencari

konfigurasi yang paling optimal (Okamura *et al.*, 2008). Dengan menggunakan barrier server, kami berhasil memprediksi bahwa miR-145 dapat membentuk 10,004,544 struktur berbeda pada rentang 21.1 kcal/mol di atas energi bebas minimum (Parikesit, 2016). Salah satu transisi struktur luaran barrier server dapat dilihat pada Gambar 2, dimana kami mengambil salah satu contoh transisi. Jika animasi pada Gambar 2 diaktifkan, maka kita akan

dapat mempelajari energi aktivasi struktur miR-145 disaat keadaan transisi (transition state). Hal ini belum dapat terbayangkan jika kita melakukannya dengan *wet laboratory experiment*. Menjalankan animasi tersebut membutuhkan CPU yang handal, minimal berbasis Intel Pentium i3 dengan RAM 8 GB dan HDD 500 GB. Sementara itu, untuk menjalankan aplikasi barrier server, paling tidak diperlukan sebuah HPC seperti yang dimiliki LIPI.

Tabel 1. Nama gen yang terlibat dalam jalur jalur ekspresi lincRNA-RoR/miR-145/ARF6

No.	Nama Gen	NCBI Reference Sequence
1.	<i>Homo sapiens long intergenic non-protein coding RNA,</i>	NR_048536.1
2.	<i>Homo sapiens microRNA 145 (MIR145), microRNA</i>	NR_029686.1
3.	<i>Homo sapiens ADP ribosylation factor 6 (ARF6), mRNA</i>	NM_001663.3

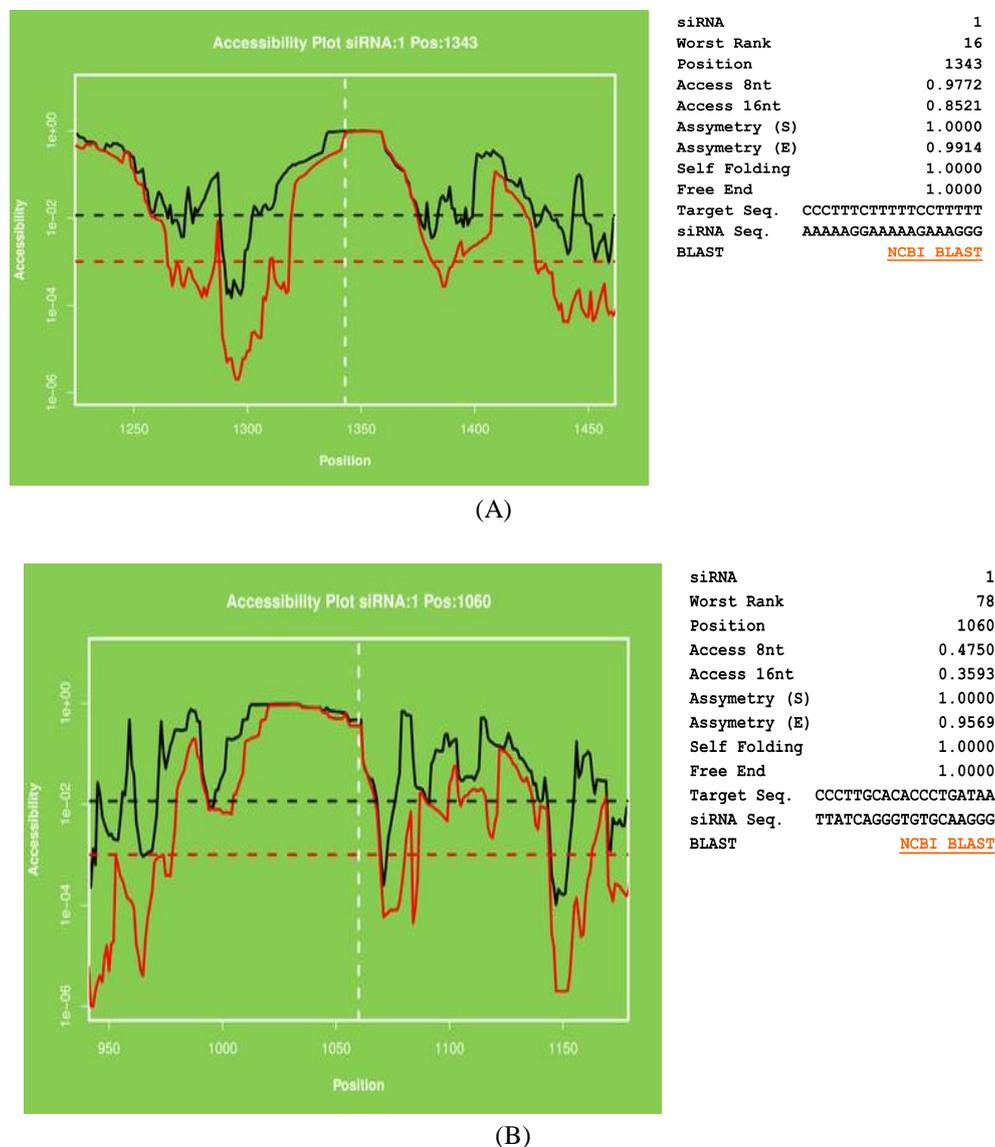


Gambar 1. Hasil komputasi aplikasi RNAfold terhadap sekuens (A) miR-145 (B) lincRNA-RoR. MFE secondary structure berarti struktur dengan energi paling minimal, yang paling disukai secara termodinamis. Gradien warna pada bagian bawah berarti probabilitas pembentukan struktur, jika condong ke biru berarti probabilitas mendekati 0, dan jika mendekati merah berarti mendekati 1.

RoR sebagai sekuens target, diperoleh pada Gambar 4. Pada Gambar 4A dan 4B, terlihat bahwa baik sekuens target dan siRNA memiliki aksesibilitas yang sangat baik, sehingga interaksi antar target dan siRNA dimungkinkan terjadi. Sekuens siRNA yang diambil pada Gambar 4 adalah yang memiliki peringkat aksesibilitas terbaik (1). Semua sekuens siRNA pada Gambar 4 memiliki kecenderungan membentuk struktur asimetrik 19+2 (Malefyt et al., 2014).

Berdasarkan hasil komputasi miRTARBase yang berbasis data eksperimental, ncRNA yang berperan dalam kanker payudara secara umum adalah *hsa-miR-10b-5p*, *hsa-miR-373-3p*, *hsa-miR-155-5p*, *hsa-miR-126-3p*, *hsa-miR-126-3p*, *hsa-miR-335-5p*, *hsa-miR-129-5p*, *hsa-miR-335-5p*, *hsa-miR-331-3p*, *hsa-miR-125b-5p*, *hsa-miR-125b-5p*, *hsa-miR-31-5p*, *hsa-*

miR-31-5p, dan *hsa-miR-126-3p* (Parikesit 2016). Sejumlah empat belas biomarker ini sudah mulai dikembangkan untuk diagnostik kanker, dan dapat berguna sebagai uji pendahuluan untuk menentukan keberadaan kanker payudara. Hanya saja, untuk uji lebih lanjut, jalur spesifik untuk kanker payudara adalah *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6*, sehingga keberadaan biomarker spesifik ini wajib keberadaannya untuk menentukan eksistensi kanker payudara. Interaksi antara *miR-145* dan mRNA *ARF6* juga dihitung dengan miRTARBase, dan tidak ditemukan perbedaan signifikan secara termodinamik (Parikesit 2016). Hal ini secara konsisten menunjukkan bahwa tools apapun yang digunakan, akan menunjukkan struktur dan interaksi yang diinginkan.



Gambar 4. Luaran aplikasi RNAs server web terhadap sekuens A) mRNA ARF6 b) LINC-ROR. Plot hitam adalah aksesibilitas sekuens target, dan plot merah adalah aksesibilitas sekuens siRNA. Jika mendekati nol atau menyentuh dasar sumbu X, maka probabilitas akan aksesibilitas sekuens adalah nol. Jika semakin menjauhi nol atau menjauhi dasar sumbu X, maka probabilitas akan aksesibilitas sekuens adalah satu.

Namun secara umum, informasi struktur dan fungsi yang diberikan oleh ViennaRNA Package sangat bermanfaat sebagai masukan untuk mengembangkan agen theragnostics. Informasi pada Gambar 1 menunjukkan bahwa pembentukan struktur RNA dari yang paling sederhana (1A), sampai yang paling rumit (1B) dapat dilakukan dengan baik. Kemudian, selanjutnya informasi dari Gambar 1 diolah lebih lanjut, sehingga menghasilkan transisi struktur pada Gambar 2. Informasi transisi merupakan hal yang sangat penting secara termodinamika karena menunjukkan bahwa ambang batas energi aktivasi memang benar-benar dapat dilewati oleh energi bebas minimum. Kemudian, informasi tersebut terakumulasi pada Gambar 3, dimana interaksi antara *miR-145* dan *LINC-ROR* dapat terdokumentasi dengan baik. Puncaknya, akumulasi informasi tersebut digunakan untuk mendesain siRNA pada Gambar 4, yang dapat digunakan sebagai agen terapeutik kanker payudara. Pipeline atau metode kerja yang didesain secara urut ini, dapat digunakan sebagai masukan untuk pekerjaan wet laboratory experiment (Parikesit 2010).

Secara kimia, RNA merupakan senyawa yang sangat tidak stabil dan reaktif karena kaya akan gugus hidroksi (Kellner *et al.*, 2010; Wilkinson *et al.*, 2009). Waktu hidup RNA di dalam sel sangatlah singkat, sehingga mempersulit proses isolasi maupun studi reaktivitas senyawa di laboratorium (Al-Hashimi & Walter, 2008). Oleh karena itu, keberadaan kajian bioinformatika merupakan terobosan signifikan untuk meneliti struktur dan reaktivitas RNA secara *in silico*.

KESIMPULAN

Kajian pada jalur ekspresi *lincRNA-RoR/miR-145/ARF6* telah menghasilkan prediksi struktur dan fungsi yang solid pada ncRNA dan mRNA tersebut. Sementara itu, desain urutan siRNA dapat digunakan sebagai desain agen terapeutik atau obat bagi kanker payudara TNBC. Metode kerja yang kami desain telah menghasilkan desain yang dapat diimplementasikan pada *wet laboratory experiment*. Ke depannya, kajian pembentukan struktur tiga dimensi (3D) maupun interaksi struktur secara 3D akan dilakukan beserta dengan *wet laboratory experiment*.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kami ucapkan kepada pemberi Hibah DIKTIS-POSFI/4/2016 Kemenag RI, Research and Innovation (RIN) Directorate of i3L, 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. Dalam penulisan

manuskrip, Arli Aditya Parikesit mempersiapkan metodologi dan melakukan pekerjaan teknis penelitian, sementara Dito Anurogo mempersiapkan materi onkologi termutakhir dan suplemen data. Kedua autor menulis manuskrip ini secara bersama-sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hashimi, H. M., & Walter, N. G. (2008). RNA dynamics: it is about time, *Current Opinion in Structural Biology*, 18(3): 321-9.
- Dong, Z., & Chen, Y. (2013). Transcriptomics: advances and approaches, *Science China. Life Sciences*, 56(10): 960-7.
- Eades, G., Wolfson, B., Zhang, Y., Li, Q., Yao, Y., & 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.
- Ferlay, J., Shin, H.-R. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C. & Parkin, D. M. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008, *International Journal of Cancer*, 127(12): 2893-2917.
- Gruber, A. R., Bernhart, S. H., & Lorenz, R. (2015). The viennaRNA web services, *RNA Bioinformatics*, 12(6): 307-326.
- Heine, C., Scheuermann, G., Flamm, C., Hofacker, I. L., & Stadler, P. F. (2006). Visualization of barrier tree sequences. In *IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics*, 12(5), 781-788.
- Hofacker, I. L., Flamm, C., Heine, C., Wolfinger, M. T., Scheuermann, G., & Stadler, P. F. (2010). BarMap: RNA folding on dynamic energy landscapes, *RNA*, 16(1): 1308-16.
- Hou, P., Zhao, Y., Li, Z., Yao, R., Ma, M., Gao, Y., Zhao, L., Zhang, Y., Huang, B. & Lu, J. (2014). *LincRNA-ROR* induces epithelial-to-mesenchymal transition and contributes to breast cancer tumorigenesis and metastasis, *Cell Death & Disease*, 5: e1287.
- Hsu, S.-D., Lin, F.-M., Wu, W.-Y., Liang, C., Huang, W.-C., Chan, W.-L., Tsai, W.T., Chen, G.Z., Lee, C.J., Chiu, C.M., Chien, C.H., Wu, M.C., Huang, C.Y., Tsou, A.P. & Huang, H.-D. (2011). miRTarBase: a database curates experimentally validated microRNA-target interactions, *Nucleic Acids Research*, 39(1): D163-D169.
- Hu, J., Guo, H., Li, H., Liu, Y., Liu, J., Chen, L., Zhang, J. & Zhang, N. (2012). MiR-145 Regulates Epithelial to Mesenchymal Transition of Breast Cancer Cells by Targeting Oct4, *PLoS ONE*, 7(9): e45965.
- James, C. R., Quinn, J. E., Mullan, P. B., Johnston, P. G., & Harkin, D. P. (2007). BRCA1, a potential predictive biomarker in the treatment of breast cancer, *The Oncologist*, 12(2): 142-150.

- Kellner, S., Burhenne, J., & Helm, M. (2010). Detection of RNA modifications, *RNA Biology*, 7(2): 237–247.
- Kemenkes-RI. (2013). Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta. Retrieved from <http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/profil-kesehatan-indonesia-2013.pdf>
- Lorenz, R., Bernhart, S. H., zu Siederdisen, C., Tafer, H., Flamm, C., Stadler, P. F., & Hofacker, I.L. (2011). ViennaRNA Package 2.0, *Algorithms for Molecular Biology*, 6(1): 26.
- Malefyt, A. P., Wu, M., Vocelle, D. B., Kappes, S. J., Lindeman, S. D., Chan, C., & Walton, S. P. (2014). Improved asymmetry prediction for short interfering RNAs, *FEBS Journal*, 281(1): 320–330.
- Mattick, J. S., & Makunin, I. V. (2006). Non-coding RNA, *Human Molecular Genetics*, 15(1): R17–R29.
- Muckstein, U., Tafer, H., Hackermuller, J., Bernhart, S. H., Stadler, P. F., & Hofacker, I. L. (2006). Thermodynamics of RNA-RNA binding, *Bioinformatics*, 22(10): 1177–1182.
- Okamura, K., Chung, W. J., Ruby, J. G., Guo, H., Bartel, D. P., & Lai, E. C. (2008). The Drosophila hairpin RNA pathway generates endogenous short interfering RNAs, *Nature*, 453(7196): 803–806.
- Parikesit, A. (2010). The Role of Bioinformatics in Protein-Protein Interaction Study, *Sigma Journal of Science and Technology*, 13(1): 1–7.
- Parikesit, A. A. (2009). The Role of Bioinformatics as Auxilliary Tools for Molecular Biology. In Proceeding of World-Wide Indonesian Student Association Scientific Writing Olympic. 23–9. Paris: Indonesian Student Association of France. Retrieved from <http://www.vixra.org/abs/1308.0115>
- Parikesit, A.A. (2016). “Research Data: The 2-Dimensional Structure Prediction of Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) Biomarker non-coding RNA with Vienna RNA Package”, Mendeley Data, v1. Mendeley Ltd..1
- Sabe, H., Hashimoto, S., Morishige, M., Ogawa, E., Hashimoto, A., Nam, J.M., Miura, K., Yano, H. & Onodera, Y. (2009). The EGFR-GEP100-Arf6-AMAP1 signaling pathway specific to breast cancer invasion and metastasis, *Traffic*, 10(8): 982-93.
- Tafer, H., Ameres, S. L., Obernosterer, G., Gebeshuber, C. A., Schroeder, R., Martinez, J., & Hofacker, I. L. (2008). The impact of target site accessibility on the design of effective siRNAs, *Nature Biotechnology*, 26(5): 578–83.
- WHO. (2016). WHO Breast Cancer Prevention and Control. Retrieved from <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/>
- Widodo, I., Dwianingsih, E. K., Triningsih, E., Utoro, T., & Soeripto. (2014). Clinicopathological features of indonesian breast cancers with different molecular subtypes, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(15): 6109–6113.
- Wilkinson, K. A., Vasa, S. M., Deigan, K. E., Mortimer, S. A., Giddings, M. C., & Weeks, K. M. (2009). Influence of nucleotide identity on ribose 2'-hydroxyl reactivity in RNA, *RNA*, 15(7): 1314–1321.
- Yigitoglu, B., Uctepe, E., Yigitoglu, R., Gunduz, E., & Gunduz, M. (2015). Bioinformatics in Breast Cancer Research. In A Concise Review of Molecular Pathology of Breast Cancer. InTech.