

Karakteristik Biomolekuler Mutasi Amyloid Precursor Protein Sebagai Penyebab Penyakit Alzheimer yang Dianalisis Melalui Media Bioinformatika

Irfannuddin^{1*}

¹Bagian Fisiologi dan Fisika Medik, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

*Email: irfan.md@unsri.ac.id

Abstrak

Metode analisis biomolekuler protein melalui media bioinformatika sudah berkembang dengan pesat. Laporan ini bertujuan untuk menggambarkan hasil analisis biomolekuler amyloid precursor protein (APP) dan perubahan karakteristik dari mutasi APP yang menimbulkan gangguan degenerasi kognitif melalui media bioinformatika melalui penelusuran situs-situs biomolekuler yang terpercaya.

APP adalah protein transmembran yang banyak terdapat di jaringan neuron. APP berperan penting untuk formasi sel-sel neuron. Gen APP terletak pada kromosom ke-21 yang memiliki panjang 290.586 base pairs (bp) terdiri dari 20 exon dan 19 intron. Dalam bentuk protein, APP terdiri dari 770 asam amino dengan ekspresi utama terletak di permukaan sel.

Mutasi dari gen APP diyakini berpengaruh terhadap penurunan kemampuan kognitif progresif yang berhubungan dengan neurodegeneratif yang disebut penyakit Alzheimer. Salah satu bentuk mutasi yang dikaji dalam tulisan ini adalah mutasi Alanin menjadi Glysin pada posisi asam amino ke-692 (APP mutan A692G). Mutasi ini berdampak pada gangguan cerebral amyloid angiopathy yang termasuk dalam kelompok Alzheimer Disease Familial-1.

Mutasi tidak menimbulkan perubahan prediksi struktur sekunder dan hanya menyebabkan sedikit perubahan pada berat molekul, komposisi asam amino, komposisi atom, indeks aliphatic, hydroplasticitas dan indeks stabilitas. Mutasi APP A692G juga tidak sampai mengubah topologi, hidrofobitas, prediksi pemotongan dan prediksi lokasi protein. Mutasi juga hanya menghilangkan rantai samping pada posisi asam amino termutasi.

Abstract

Methods of biomolecular analysis on protein through bioinformatics media has been growing rapidly. This report is intended to describe the results of biomolecular amyloid precursor protein (APP) analysis and the characteristic change of APP mutations causing cognitive degeneration disorder through bioinformatics media and search to reliable biomolecular sites. APP is a transmembrane protein that is widely present in neuronal tissue. APP plays an important role for the formation of neuronal cells. The APP gene is located on the 21st chromosome that has 290,586 base pairs (bp) of 20 exons and 19 introns. In the form of a protein, APP consists of 770 amino acids with major expressions located on the cell surface. Mutation of APP genes is believed to play a role in the incidence of Alzheimer's disease. One of the mutations studied in this paper is the mutation of Alanin to Glysin at the position of the 692 amino acid (APP mutant A692G). This mutation affects the impairment of cerebral amyloid angiopathy belonging to the Alzheimer Disease Familial-1 group. These mutations do not cause changes in predictions of secondary structures and only cause slight changes in molecular weight, amino acid composition, atomic composition, aliphatic index, hydroplasticity and stability index. APP A692G mutation does not alter topology, hydrophobicity, cutting prediction and protein location prediction. Mutation also removes only the side chains at the position of the mutated amino acids.

Keywords : *Bioinformatics, APP, mutations, biomolecular characters*

1. Pendahuluan

Amyloid precursor protein (APP) adalah protein yang banyak ditemukan di berbagai jaringan neuron terutama di otak dan medulla spinalis. Protein ini merupakan protein pengikat yang selalu menempel protein lain di permukaan sel sehingga sel tersebut akan saling berikatan dengan sel yang lain. Pada kondisi tertentu, APP akan terpotong oleh beberapa enzim sehingga pecah menjadi fragmen peptida yang lebih kecil yang disebut dengan *soluble amyloid precursor protein* (sAPP) dan *amyloid beta peptide*. sAPP memiliki kemampuan menstimulasi pertumbuhan (*growth promoting properties*) dan berperan penting untuk formasi sel-sel neuron di otak baik pada fase embrional ataupun setelah lahir.¹

Mutasi dari gen yang berhubungan dengan APP diyakini berpengaruh terhadap penurunan kemampuan kognitif progresif yang berhubungan dengan neurodegeneratif yang disebut penyakit Alzheimer. Mutasi gen tersebut diprediksi mempengaruhi sekitar 10-15% kejadian dini penyakit Alzheimer.²

Laporan penelusuran bioinformatika ini bertujuan untuk mengkaji karakteristik biomolekuler APP dan bagaimana perubahan karakteristik APP setelah mengalami mutasi.

2. Metode

Karakter genetik APP diperoleh dari situs www.ncbi.org dengan kode identitas DNA: NC_000021.8, kode identitas RNA: NM_000484, dan kode identitas protein: NP_000475. Untuk mencari bentuk mutasi dan perbandingan protein normal dan protein mutan, dikaji bentuk protein APP isoform-a dengan kode identitas NP_000475.1.

Untuk mengeksplorasi APP dan perubahan karakteristik molekul APP akibat mutasi, digunakan penelusuran melalui media bioinformatika pada situs sebagai berikut:

- Analisis struktur, fungsi, ekspresi gen APP dengan menelusuri data bioinformatika pada situs NCBI, uniprot, dan HPRD

- Analisis bentuk ortolog/sekuen homolog pada organisme lain dan paralog protein APP dengan menelusuri situs BLAST
- Analisis dan memilih salah satu bentuk mutasi APP dengan menelusuri situs OMIM, SNP, BLASTP
- Analisis komparatif karakteristik sekuen APP normal dengan sekuen APP mutan dengan menelusuri situs PSIPRED (struktur sekunder), PROTPARAM (fisiko-kimia), PROTSCALE (hidrofobisitas), TMHMM (topologi transmembran), TARGETP (target lokasi), PEPTIDECUTTER (cleavage protease), NETNGLYC (situs glikosilasi), PROSITE (motif domain protein), dan SIGNALP (pembawa kode lokasi)
- Analisis struktur 3 dimensi protein APP dan analisis komparatif dengan sekuen mutan dengan menelusuri situs Protein Data Bank, Swiss Model dan software PyMOL.

3. Hasil dan Pembahasan

STRUKTUR APP

Gen APP

Gen Amyloid precursor protein (APP) diperoleh dari situs NCBI dengan kode NC_000021.8 (27252861..27543446, *complement*). Nama resmi gen ini pada manusia adalah *amyloid beta* (A4) precursor protein dengan simbol "APP". Gen ini juga kadang kala ditulis dengan simbol berikut: AAA; AD1; PN2; ABPP; APPI; CVAP; ABETA; PN-II; CTFgamma.³

Lokasi dan Struktur Gen

Lokasi gen APP pada manusia terletak pada kromosom 21q21.2 dan 21q21.3. Hal ini berarti gen yang membawa informasi genetik APP berada pada kromosom no. 21, posisi lengan panjang (q), lengan ke-2, band 1 dan sub band 2-3. Gambar 1, menunjukkan lokasi nukleotida gen APP. Setelah dilakukan analisis sekuens dengan kode identitas NG_007376, gen APP memiliki panjang total 290.586 base pairs (bp), terdiri dari 20 exon

dan 19 intron. Referensi sekuens gen APP bisa dilihat pada gambar 2.⁴

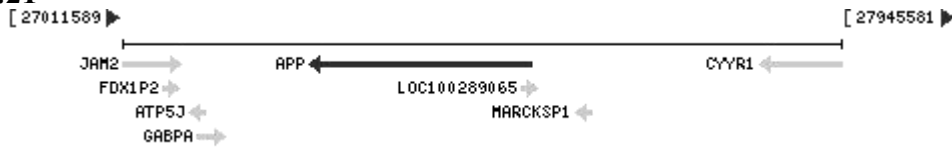
APP memiliki beberapa isoform yang muncul karena *splicing* alternatif pada ekson 1-13, 13a, dan 14-18. Transkrip dominan mereka adalah APP695 (exons 1-6, 9-18, not 13a) dan APP751 (exons 1-7, 9-18, not 13a), dan APP770 (exons 1-18, not 13a). Semua isoform disandi sebagai protein multidomain dengan regio *single membrane-spanning*.⁵ Posisi permulaan kodon terletak pada ekson ke-2 urutan basa ke-509.⁴

CDS

509..565,58984..59151,81059..81188,117783..117895,119938..120131,149089..149291,170950..171117,173716..173772,188657..188790,195106..195180,195906..196064,215378..215506,216444..216543,259173..259394,266058..266111,273462..273562, 279267..279413, 289365..289466

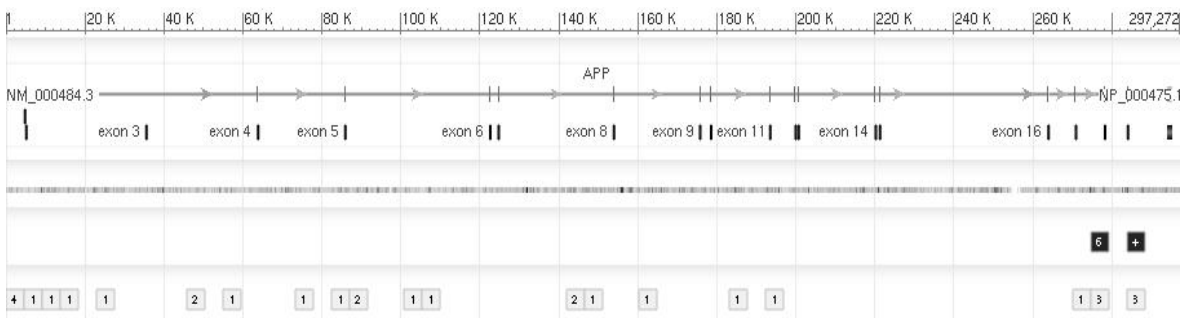
Gen APP memiliki 10 varian transkrip yang dilihat pada gambar 3.

Chromosome:21

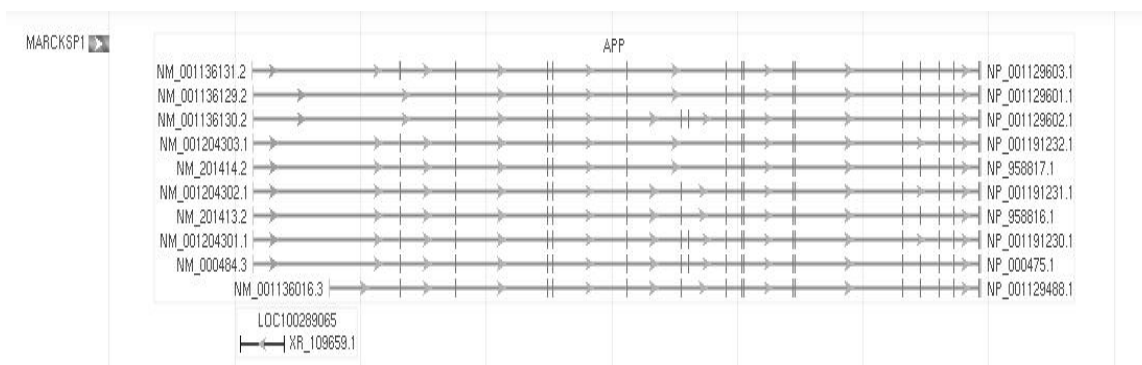


NC_000021.8

Gambar 1. Lokasi gen APP¹



Gambar 2. Ref Sekuen (NG_007376)102⁴



Gambar 3. Anotasi gen APP³

Eksresi Gen APP

Splicing gen menghasilkan mRNA APP dengan kode identitas NM_000484.3 di situs NCBI. *Messenger-RNA* ini disandi pada isoform dari residu asam amino ke 365 – 770. Sandi utama A β peptide adalah pada asam amino 695, 751 dan 770 (APP695, APP751 dan APP770). APP751 and APP770 mengandung domain homolog dengan Kunitz-type serine protease inhibitors (KPI) di sekuen ekstrasel.⁶

Gen APP disandi ke permukaan sel sebagai protein prekursor trans-membran. Pada proses sintesis, terjadi beberapa kali *cleavage* oleh enzim *secretase* menjadi beberapa peptida. Beberapa peptida akan terikat ke kompleks *acetyltransferase* APBB1/TIP60 untuk menstimulasi aktivasi transkripsional. Sedangkan peptida yang lain akan membentuk protein-protein dasar untuk menjadi plak amyloid yang ditemukan pada penderita Alzheimer.⁵

Selama maturasi, hasil transkripsi APP berupa mRNA APP bermigrasi ke sitosol, kemudian akan mengalami N-glikosilasi di retikulum endoplasma. Setelah itu ia ke kompleks golgi mengalami O-glikosilasi, fosforilasi dan tirosin sulfasi. Asam amino APP yang panjang di *cleavage* secara sekuensial beberapa kali oleh α -, β - and γ -secretase. APP terlarut, di lepas ke ekstrasel

dan C-terminal diinternalisasi ke dalam endosom dan lisosom. Beberapa APP di akumulasi di dalam vesikel kemudian menuju permukaan sel. Peptida Gamma-CTF59 yang terletak di sitoplasma dan nukleus neuron, dapat ditranlokasi ke dalam nukleus bersama-sama APBB1 (Fe65). Beta-APP42 bersama-sama FRPL1 terletak pada permukaan sel. APP tersusun di permukaan basolateral sel epitelial.⁷

Protein APP

Protein APP (NP_000475) memiliki panjang 770 asam amino. APP paling banyak ditemukan pada bagian sinaps neuron. Pada HPRD id:00100, APP memiliki berat 86943 Da, ekspresi protein terutama di permukaan sel, namun juga terdapat di nukleus, terintegrasi ke membran dan di dalam vesikel. Situs-situs penting asam amino: Reduksi Cu(2+) pada posisi asam amino 144. Phosphoserine pada posisi asam amino 198, 206. Interaksi trypsin pada posisi 299..303, 305. *Cleavage* (pecah) oleh Beta secretase pada posisi asam amino 668, 671..672. *Cleavage* oleh caspase-6 pada posisi 672, 674. *Cleavage* oleh Tetha secretase pada posisi asam amino 690..691. *Cleavage* oleh Gamma secretase pada posisi asam amino 713..714. Sekuen protein APP isoform-a: (NP_000475.1) bisa dilihat pada gambar 4.⁸

```

1  mlpglalllll  aawtaralev  ptdgnaglla  epqiamfcgr  lnmhmnvqng  kwdsdpsgtk
61  tcidtkegil  qycqevypel  qitnvveanq  pvtiqnwckr  grkqckthph  fvipyrclyg
121  efvsdallvp  dkckflhqer  mdvcethlhw  htvaketcse  kstnlhdygm  llpcgidkfr
181  gvfevccpla  eesdnvdsad  aeedsdvvw  ggadtdyadg  sedkvvevae  eeevaeveee
241  eadddeded  gdeveeeae  pyeeatertt  siatTTTTTT  esveevrev  cseqaetgpc
301  ramisrwyfd  vtegkcapff  yggcggnrnn  fdteeycmav  cgsamsqsl1  kttqeplard
361  pvklpttas  tpdavdkyle  tpgdenegah  fqkakerlea  khrermsqvm  reweeaerqa
421  knlpkadkka  viqhfqekve  sleqeaaner  qqlvethmar  veamlndrrr  lalenyital
481  qavpprprhv  fnmlkkyvra  eqkdrqhtlk  hfehvrmdvp  kkaaqirsqv  mthlrviyer
541  mnqslsllyn  vpavaeeiqd  evdellqkeq  nysddvlanm  iseprisyn  dalmpsltet
601  kttvellpvn  gefslddlqp  whsfgadsvp  antenevepv  darpaadrgl  ttrpgsgltn
661  ikteeisevk  mdaefrhdsq  yevvhqklvf  faedvgsnkg  aiiglmvggv  viatvivitl
721  vmlkkkqyts  ihhgvvevda  avtpeerhls  kmqqngyenp  tykffeqmgn

```

Gambar 4. Sekuen Protein APP isoform-a, NM 000475.1⁸

Ortholog dan Paralog Protein APP

Protein APP isoform-a (NP_000475.1) pada manusia homolog dengan protein amyloid beta A4 protein isoform 1 precursor mencit (*Mus musculus*) (NP_001185752.1). Tidak ada satupun sekuen protein homolog dengan protein APP (NP_000475.1) yang memiliki fungsi berbeda.^{8,9}

MUTASI GEN APP

Dalam situs *Genetics Home References*, sudah terdeteksi sekitar 51 bentuk mutasi gen APP yang akan menimbulkan kejadian dini Penyakit Alzheimer sebelum berusia 65 tahun. Bentuk mutasi gen APP yang paling sering terjadi adalah perubahan asam amino valine menjadi asam amino isoleucine pada posisi asam amino 717 (Val717Ile atau V717I). Mutasinya disebut *Alzheimer Disease Familial 1 App*, Val717Ile [dbSNP:rs63750264] (OMIM: *104760.0002).¹⁰

Namun setelah di BLASTP pada Protein APP isoform-a (NP_000475.1), belum disusun struktur 3D protein untuk gen posisi 717, sehingga diambil mutasi no. urut 5 pada OMIM mutasi APP *104760 yaitu Cerebral Amyloid Angiopathy, App-Related, Flemish Variant, APP, ALA692GLY [dbsnp:rs63750671] yang masih termasuk pada kelompok Alzheimer Disease-

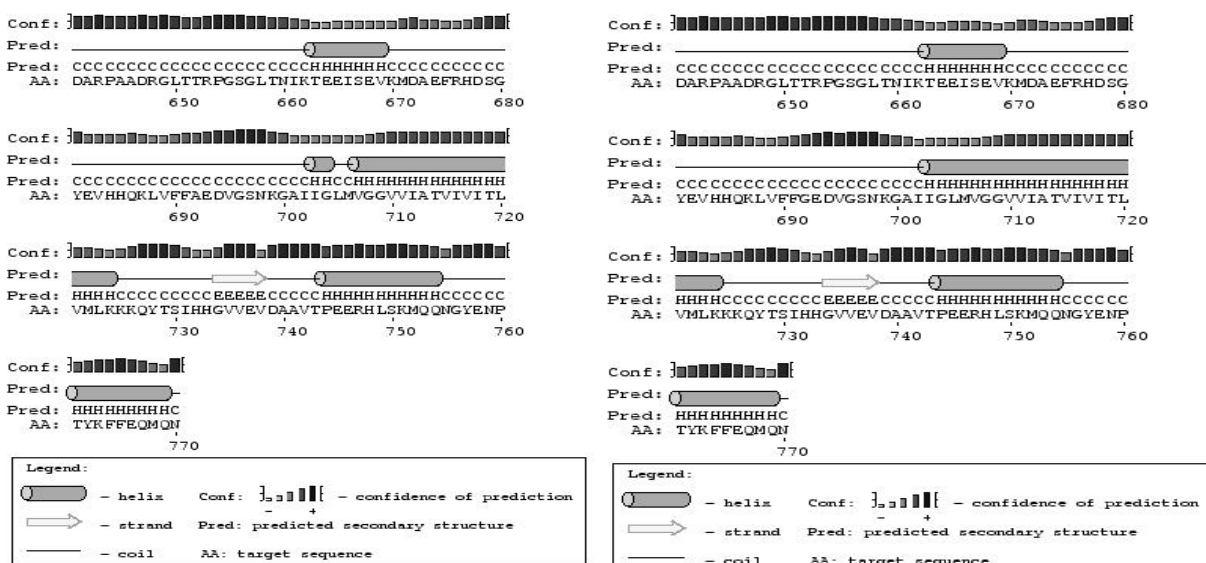
Familial-1 (104300). Mutasi ini terjadi pada famili di Belanda yang mengalami onset awal penyakit Alzheimer.¹¹

Substitusi A692G dihasilkan dari transversi C ke G pada gen APP. Pada penelusuran SNP rs63750264, diketahui posisi mutasi sebagai berikut: Posisi mutasi pada genom (NG_007376.1): basa ke 283963, Transver C-G. Posisi mutasi pada mRNA (NM_000484.2): basa ke 2269, GCA – GGA (2251 AAAATTGGT GTTCTTTGCAGAAGATCGTG). Posisi mutasi pada protein (NP_000475.1) asam amino ke 692, alanin – glycine (661 IKTEEISEVKMDAEFRHD SGYEVHHQKLVF FAEDVG SNKG).^{8,9}

KOMPARATIF PROTEIN APP ISOFORM-A DENGAN MUTAN

Prediksi Struktur Sekunder (PSIPRED)

Pada posisi asam amino 692, Protein APP isoform-a normal berupa alanin dengan struktur sekunder asam amino berbentuk coil. Sedangkan pada posisi yang sama, protein APP mutan berupa glycine dengan struktur sekunder yang tidak berbeda yaitu tetap berbentuk coil. Demikian pula untuk urutan asam amino yang lain. (Gambar 5).¹²



Gambar 5. Struktur sekunder protein APP normal (kiri) dan mutan (kanan) pada posisi asam amino 561-770.¹²

Karakteristik Fisika-Kimia (PROTPARAM)

Mutasi Gen APP A692G menimbulkan beberapa perbedaan pada karakteristik protein. Perbedaan karakter terjadi pada berat molekul, komposisi asam amino alanin dan

glysin, komposisi atom, indeks aliphatic dan hydroplastisitas. Perbedaan juga terjadi pada indeks instabilitas, namun tetap saja protein APP dan mutan termasuk dalam kelompok instabil. Lihat tabel 1.¹³

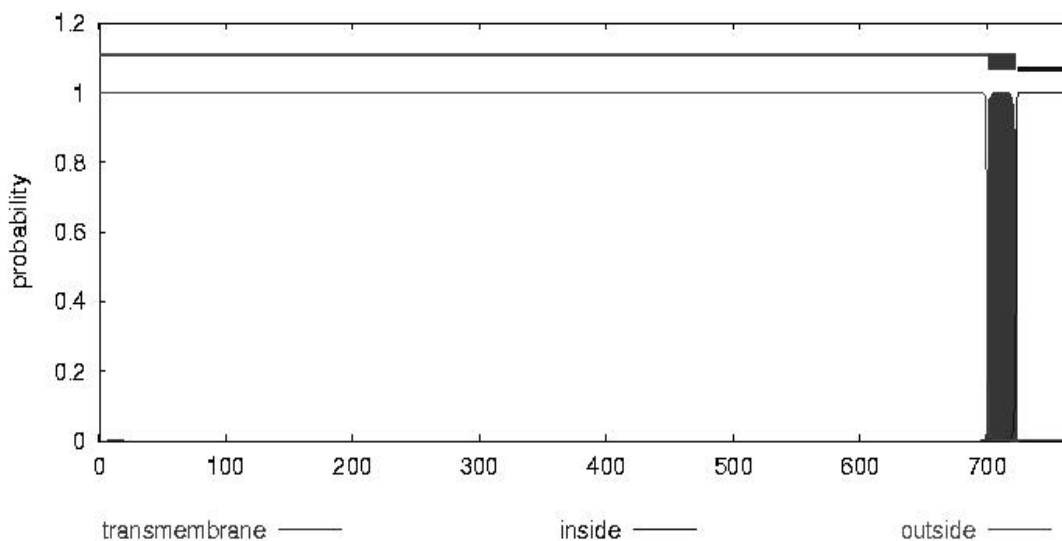
Tabel 1. Karakteristik Fisika-Kimia APP Normal dan APP Mutan¹³

Karakteristik	Protein APP isoform-a normal (NP 000475.1)			Protein APP Mutan (A692G)		
Berat Molekul	86943.2			86929.2		
Komposisi Asam Amino	Ala (A)	63	8.2%	Ala (A)	62	8.1%
	Gly (G)	38	4.9%	Gly (G)	39	5.1%
Komposisi Atom	Carbon	C	3774	Carbon	C	3773
	Hydrogen	H	5910	Hydrogen	H	5908
	Nitrogen	N	1048	Nitrogen	N	1048
	Oxygen	O	1227	Oxygen	O	1227
	Sulfur	S	42	Sulfur	S	42
	Formula: C ₃₇₇₄ H ₅₉₁₀ N ₁₀₄₈ O ₁₂₂₇ S ₄₂			Formula: C ₃₇₇₃ H ₅₉₀₈ N ₁₀₄₈ O ₁₂₂₇ S ₄₂		
	Jumlah total atom: 12001			Jumlah totalatom: 11998		
Indeks Instabilitas	40.69			40.59		
	Klasifikasi tidak stabil			Klasifikasi tidak stabil		
Indeks Aliphatic	73.18			73.05		
Grand average of hydroplathicity (GRAVY) :	(-) 0.584			(-) 0.587		

Topologi Protein Trans-membran (TMHMM)¹⁴

Sebagian besar protein APP isoform-a terletak di luar membran sel. Posisi transmembran berada pada asam amino posisi 701-723, sebagian kecil

protein yaitu pada posisi asam amino 724-770 berada di dalam sel. Mutasi A692G tidak menimbulkan perubahan posisi transmembran dari protein APP (Gambar 6).

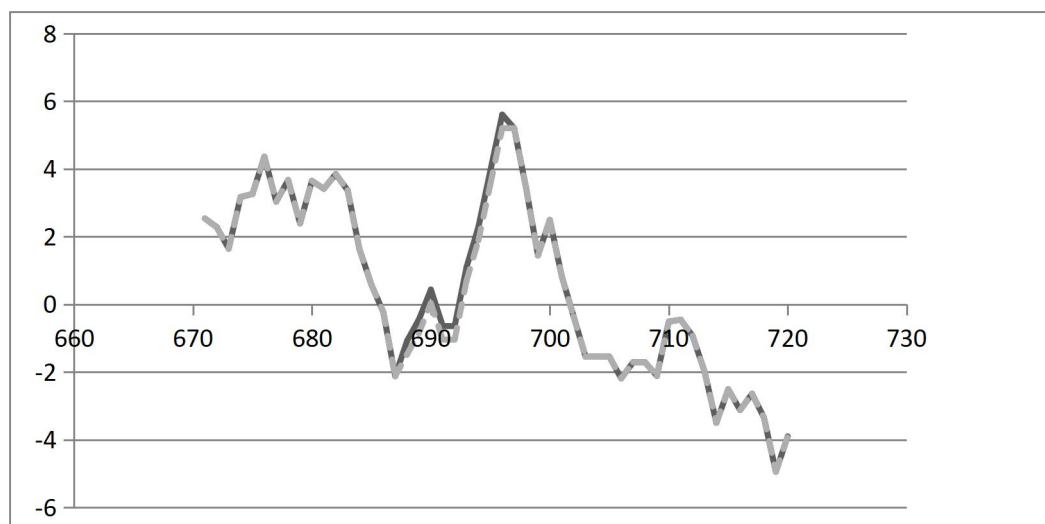


Gambar 6. TMHMM protein APP isoform-a dan mutan¹⁴

Hidrofobisitas APP (PROTSCALE)¹⁵

Analisis hidrofobisitas dengan metode Hphob.APP (PROTSCALE), dan dikonversi dalam bentuk scatter dengan bantuan Microsoft Excell menunjukkan bahwa mutasi

A692G telah meningkatkan tingkat hidropobisitas asam amino protein APP pada posisi 688-694, dengan skala rata-rata kenaikan sebesar 0,4. Pada skala Parker dkk, hidropobisitas alanin sebesar 2,1 sedangkan glysine sebesar 5,7 (Gambar 7).



Gambar 7. Protscale di-“scatter” dengan program Microsoft Excell pada AA ke 671-720¹⁵

Prediksi Pemotongan oleh Protease (PEPTIDECUTTER)¹⁶

Dari 37 enzim protease yang tersedia pada situs www.ezpsasy.org/tools/#proteome, hanya 23 enzim yang diprediksi dapat memotong protein APP isoform-a. Situs asam amino 692A dapat dipotong oleh enzim Asp-N-endopeptidase+N-terminal-glu dan proteinase-K. Enzim Asp-N-endopeptidase+N-terminal-glu dapat memotong 142 situs protein APP normal, dan enzim tersebut juga tetap memotong APP mutan pada situs 692G. Enzim proteinase-K dapat memotong 308 situs APP normal, sedangkan pada protein APP mutan, situs 692G tidak dapat dipotong oleh proteinase-K. Dengan kata lain, proteinase-K hanya dapat memotong 307 situs protein APP mutan. Enzim Thermolysin dapat memotong 197 situs protein APP normal, akan tetapi, pada protein APP mutan, thermolysin hanya mampu memotong 196 situs. Pada APP normal, enzim

thermolysin dapat memotong situs 691F, namun pada APP mutan, enzim tersebut tidak dapat memotong situs tersebut.

Untuk 20 enzim yang lain, tidak terdapat perbedaan jumlah situs pemotongan pada protein APP normal dan mutan. Ke-20 enzim tersebut adalah: Arg-C proteinase, Asp-N endopeptidase, BNPS-Skatole, CNBr, Caspase1, Chymotrypsin-high specificity, Chymotrypsin-low specificity, Clostripain, Formic acid, Glutamyl endopeptidase, Hydroxylamine, Iodosobenzoic acid, LysC, LysN, NTCB (2-nitro-5-thiocyanobenzoic acid), Pepsin (pH1,3), Pepsin (pH>2), Proline-endopeptidase, Staphylococcal peptidase-I, dan Trypsin.

Prediksi Potensi Situs Glikosilasi (NETNGLYC)¹¹⁷

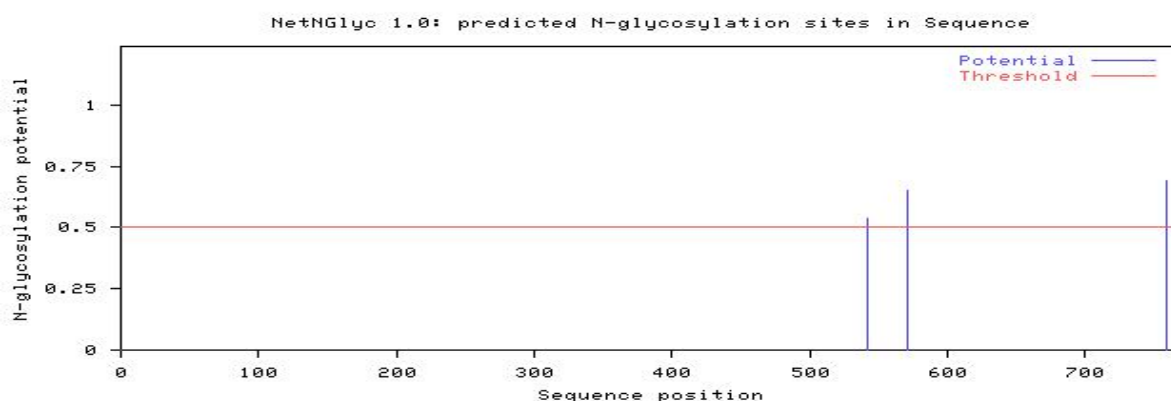
Protein APP normal dan mutan memiliki 3 situs glikosilasi yang sama yaitu pada posisi asam amino 542, 571, dan 759 (Gambar 8).

Motif Domain Protein (PROSITE)¹⁸

APP adalah protein transmembran sehingga memiliki 2 pola konsensus yaitu Amyloidogenic glycoprotein extracellular domain signature (PS00319) dengan motif **G-[VT]-[EK]-[FY]-V-C-C-P** dan Amyloidogenic glycoprotein intracellular

domain signature (PS00320) dengan motif **G-Y-E-N-P-T-Y**. Motif domain protein APP adalah:

CSEQAETGPCRAMISRWYFDVTEGKCAPFFYGGCGGNRNNFDTEEYCMAVC pada posisi 291 -341. Tidak ada perbedaan motif domain protein antara APP normal dengan APP MutanA692G.



Gambar 8. Posisi situs glikosilasi

C.8. PREDIKSI LOKASI PROTEIN PADA SEL (TARGETP)¹⁹

Prediksi target lokasi protein APP normal dan mutan pada sel tidak berbeda, yaitu sebagian

besar pada secretory pathway (0,937) dan sedikit di mitokondria (0,035) dan di tempat lain (0,084). Hal ini berkaitan dengan fungsi protein APP sebagai peptida signal yang harus berada di permukaan sel.

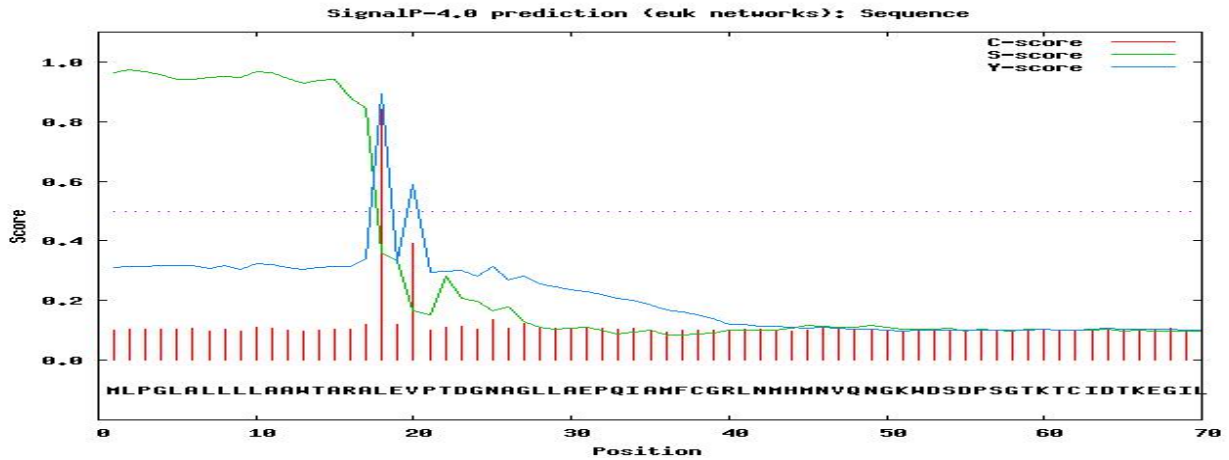
Tabel 2. Prediksi lokasi protein APP

Name	Len	mTP	SP	other	Loc	RC	TPlen
Sequence	770	0.035	0.937	0.084	S	1	17
cutoff		0.000	0.000	0.000			

C.9. PREDIKSI PEMBAWA KODE LOKASI (SIGNALP)²⁰

Mutasi terjadi pada posisi AA 692, sehingga tidak ada perbedaan daerah ujung protein (AA 1-70) antara APP normal dengan mutan dalam prediksi pembawa kode lokasi protein dan situs pemotongannya. Signal Peptida berada pada asam

amino 1-17 (mean S; 0,941), dengan puncak S pada posisi ke-2 (0,974). Prediksi situs *cleavage* berada pada posisi antara 18 dan 20, dengan *max cleavage score*: 0.841 (posisi 18). Dengan nilai *mean-S* dan *D-score* (0,919) yang tinggi, menandakan bahwa protein APP dan mutan termasuk pada kelompok “secretory protein”.



Measure	Position	Value	Cutoff	signal peptide?
max. C	18	0.841		
max. Y	18	0.892		
max. S	2	0.974		
mean S	1-17	0.941		
D	1-17	0.919	0.450	YES

Name=Sequence SP='YES' Cleavage site between pos. 17 and 18: ARA-LE D=0.919 D-cutoff=0.450 Networks=SignalP-noTM

Gambar 9. Prediksi Signal APP²⁰

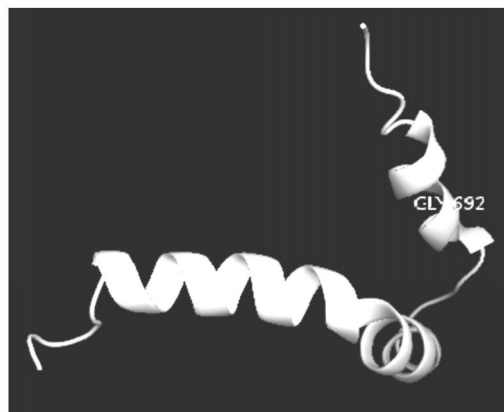
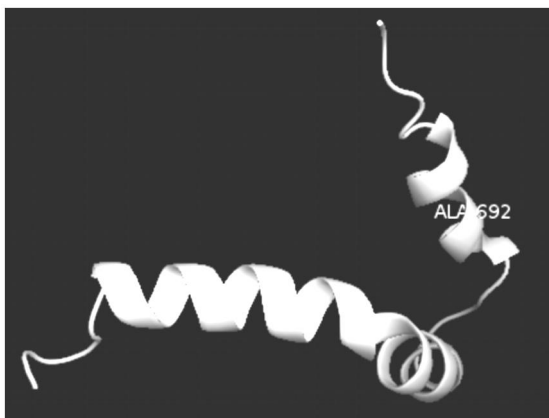
D. GAMBAR STRUKTUR PROTEIN

Bentuk 3 dimensi struktur protein APP dirujuk dari swiss model. Struktur protein merujuk pada template 2lp1A (99.9 A) dengan rentang residu 683-728.²¹



Gambar 10. Template 2lp1A²¹

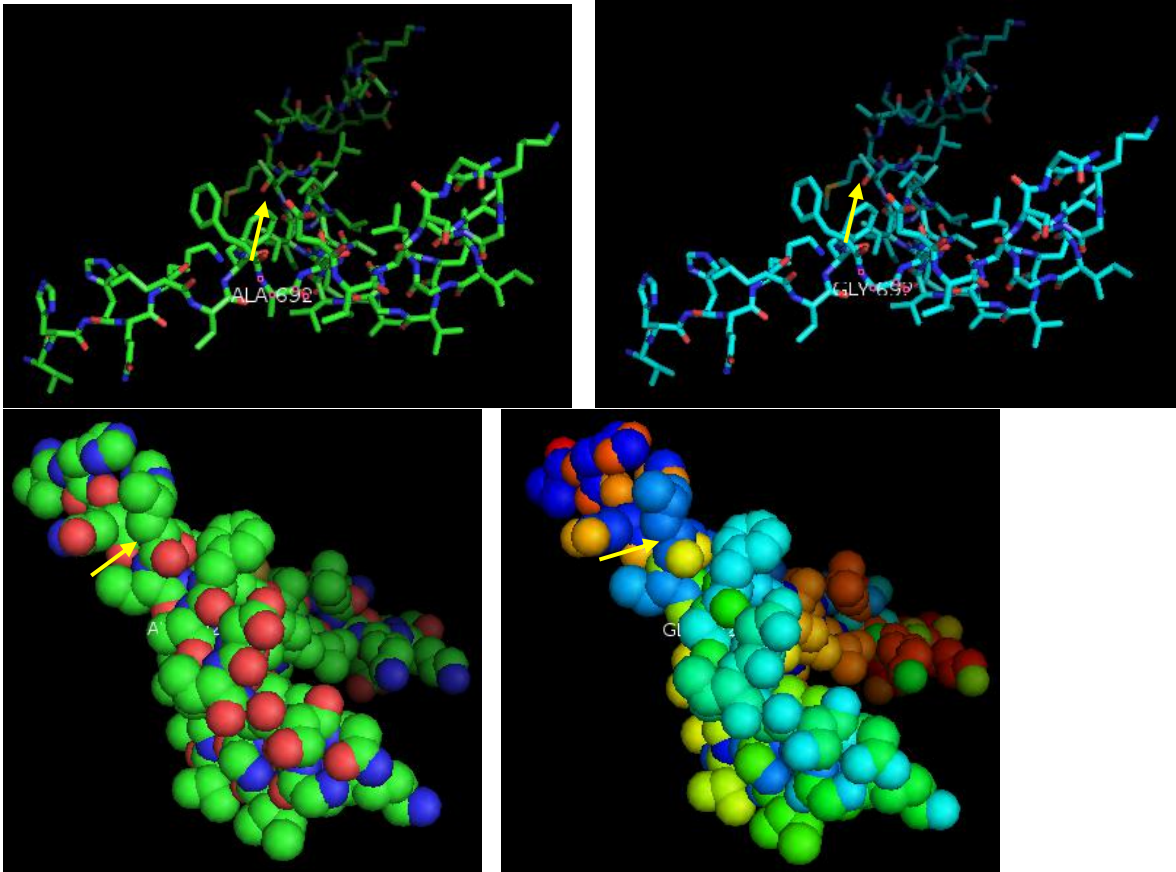
Setelah dianalisa dengan program Pymol, ternyata tidak ada perbedaan struktur protein antara protein APP normal dan APP mutan A692G.²²



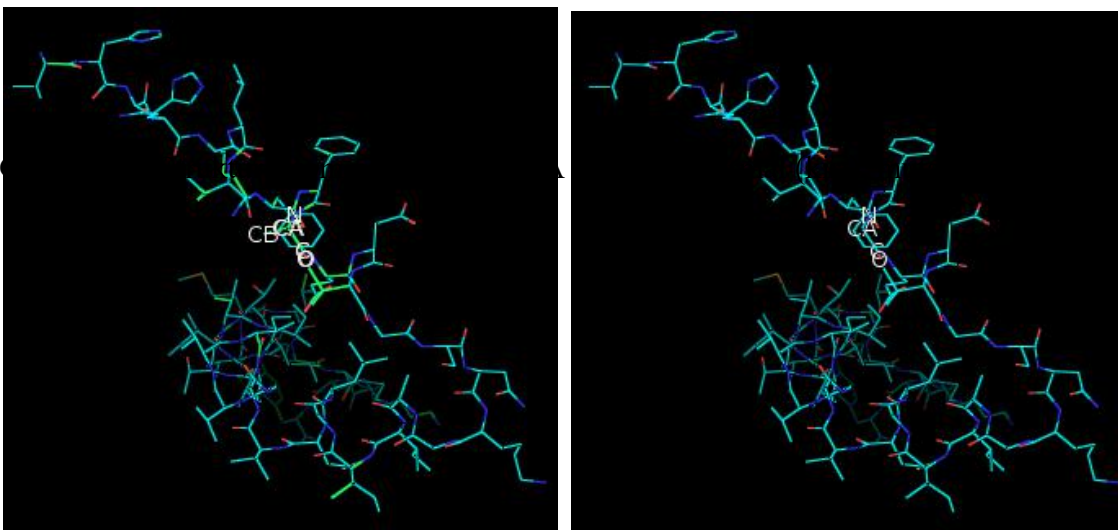
Gambar 11. Struktur APP normal (kiri) dan APP mutan A692G (kanan)²²

Pada struktur “stick”, terdapat perbedaan pada rantai samping asam amino. Protein APP normal urutan 692, rantai sampingnya berbentuk metil. APP mutan A692G mengubah

rantai samping metil menjadi hidrogen. Pada animasi spheres, kelihatan jelas, bahwa APP mutan A692G, menghilangkan struktur karbon. (Gambar 12).



APP Mutan A692G menghilangkan atom carbon dan boron pada rantai samping tersebut.



Gambar 12. Struktur APP Normal (kiri) dan APP Mutan A692G (kanan)²²

DISKUSI

Protein APP memiliki domain membran fleksibel dan berikatan dengan kolesterol. Pada posisi transmembran terminal karboksil C99 mengalami *cleavage* oleh gamma-secretase untuk melepaskan polipeptida amyloid-beta. Terminal amino C99, permukaannya menempel N-helix yang diikuti N-loop yang berhubungan dengan domain transmembran. Bagian transmembrannya berupa rantai alpha-helix berbentuk kurva sehingga lebih mudah di-*cleavage* oleh gamma-secretase.²³

Fungsi utama APP adalah untuk pembentukan dan perbaikan sinaps neuron. Ekspresi APP memacu diferensiasi dan rekoveri neuronal. APP juga berperan pada signalling sel, potensiasi jangka panjang dan adesi sel.²⁴ APP berperan pada aktivitas ferro-oxidase. APP memfasilitasi pengeluaran iron untuk berinteraksi dengan ferroportin.²⁵ APP juga berperan pada fungsi reproduksi dan endokrin. APP berperan memacu proliferasi *human embryonic stem cell* (hESC) dan memacu peningkatan produksi *human chorionic gonadotropin* (hCG).²⁶

Mutasi APP A692G adalah salah satu mutasi APP yang menimbulkan gangguan *Cerebral Amyloid Angiopathy, App-Related, Flemish Variant*, yang masih termasuk pada kelompok *Alzheimer Disease-Familial-1*. Mutasi ini terjadi pada famili di Belanda yang mengalami onset awal penyakit Alzheimer.¹¹

Mutasi tidak menimbulkan perubahan prediksi struktur sekunder dan hanya menyebabkan sedikit perubahan pada berat molekul, komposisi asam amino, komposisi atom, indeks aliphatic, hidroplastisitas dan indeks stabilitas, tanpa menyebabkan perubahan karakteristik protein yang berarti. Mutasi APP A692G juga tidak sampai mengubah topologi, hidrofobisitas, prediksi pemotongan dan prediksi lokasi protein. Mutasi juga hanya menghilangkan rantai samping pada posisi asam amino termutasi.

Substitusi A692G dihasilkan dari transversi C ke G pada gen APP. Substitusi A692G meningkatkan solubilitas peptida beta-

amyloid dan meningkatkan stabilitas oligomernya. Jumlah peptida amyloid β bertambah sehingga peptida menjadi lebih panjang dan lebih mudah lengket (*stickier*). Bila fragmen protein dilepas dari sel, maka akan terjadi akumulasi di dalam otak dan membentuk gumpalan yang disebut plak amyloid. Perubahan peptida juga memacu per lengketan peptida ke endotel vaskular, sehingga akan menimbulkan deposit amyloid. Gumpalan ini menjadi karakteristik khas dari penyakit Alzheimer. Plak dan peptida amyloid β bersifat toksik dan menimbulkan kematian sel neuron sehingga menimbulkan gangguan kognitif yang bersifat progresif.^{27,28}

Daftar Acuan

1. Genetic home reference (2012). Amyloid precursor protein. Diunduh di: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/APP>. Tanggal 12 April 2012
2. Raux, G., Guyant-Marechal, L., Martin, C., Bou, J., Penet, C., Brice, A., Hannequin, D., Frebourg, T., Campion, D (2005). Molecular diagnosis of autosomal dominant early onset Alzheimer's disease: an update. (Letter) *J. Med. Genet.* 42: 793-795. [PubMed: 16033913, related citations] [Full Text: HighWire Press, Pubget]
3. National Center for Biotechnology Information. Bethesda, Maryland. APP amyloid beta (A4) precursor protein [*Homo sapiens* (human)] diunduh pada: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/351>
4. National Center for Biotechnology Information. Bethesda, Maryland *Homo sapiens* amyloid beta (A4) precursor protein (APP), RefSeqGene on chromosome 21 diunduh pada: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NG_007376
5. Yoshikai, S., Sasaki, H., Doh-ura, K., Furuya, H., Sakaki, Y. Genomic organization of the human amyloid beta-protein precursor gene (1990). *Gene* 87: 257-263, Note: Erratum: *Gene* 102: 291

- only, 1991.[PubMed: 2110105, related citations] [Full Text: Pubget]
6. National Center for Biotechnology Information. Bethesda, Maryland APP amyloid beta (A4) precursor protein [*Homo sapiens* (human) diunduh di: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=NM_000484.3
 7. Zheng H, Koo EH (2006). The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Mol Neurodegener* 1 (1): 5. DOI:10.1186/1750-1326-1-5. PMC 1538601. PMID 16930452.(9)
 8. National Center for Biotechnology Information. Bethesda, Maryland. amyloid beta A4 protein isoform a precursor [Homo sapiens] diunduh di: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_000475.1
 9. National Center for Biotechnology Information. Bethesda, Maryland. amyloid beta A4 protein isoform 1 precursor [Mus musculus] diunduh di: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001185752.1
 10. Biochem Biophys Res Commun. 1991 Aug 15;178(3):1141-6. The 717Val----Ile substitution in amyloid precursor protein is associated with familial Alzheimer's disease regardless of ethnic groups. Yoshioka K¹, Miki T, Katsuya T, Oghihara T, Sakaki Y.
 11. (Hendriks dkk, 1992)
 12. Bloomburys Center for Bioinformatics. London. The PSIPRED Protein Sequence Analysis Workbench <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>
 13. Swiss Institute of Bioinformatics. Expasy Bioinformatics Resource Portal. <http://web.expasy.org/protparam/>
 14. Center for Biomedical Sequence analysis, Technical University of Denmark DTU.Lyngby Prediction of transmembrane helices in proteins. <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>
 15. Swiss Institute of Bioinformatics. Expasy Bioinformatics Resource Portal. <http://web.expasy.org/protscale/>
 16. Swiss Institute of Bioinformatics. Expasy Bioinformatics Resource Portal http://web.expasy.org/peptide_cutter/
 17. Center for Biomedical Sequence analysis, Technical University of Denmark DTU.Lyngby The NetNGlyc server predicts N-Glycosylation sites in human proteins <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>
 18. Expasy Database of protein domains, families and functional sites. Diunduh di <http://prosite.expasy.org/>
 19. Center for Biomedical Sequence analysis, Technical University of Denmark DTU.Lyngby TargetP 1.1 predicts the subcellular location of eukaryotic proteins. <http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>
 20. Center for Biomedical Sequence analysis, Technical University of Denmark DTU.Lyngby SignalP 4.1 server predicts the presence and location of signal peptide cleavage sites in amino acid sequences from different organisms <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>
 21. The solution nmr structure of the transmembrane c-terminal the amyloid precursor protein (c99) http://swissmodel.expasy.org/workspace/index.php?func=tools_smtl&method=results&pdbid=2lp1
 22. Scrodinger. The Pymol, A molecular visualization system <https://www.pymol.org/>
 23. Barrett, P. J., Song, Y., Van Horn, W. D., Hustedt, E. J., Schafer, J. M., Hadziselimovic, A., Beel, A. J., Sanders, C. R (2012).The amyloid precursor protein has a flexible transmembrane domain and binds cholesterol.Science 336: 1168-1171.[PubMed: 22654059, related citations] [Full Text: HighWire Press, Pubget]
 24. Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretschmar HA, Herms J (2006). Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor

- protein. *J. Neurosci.* **26** (27): 7212–21. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1450-06.2006. PMID 16822978. (3)
25. Duce JA et al (2010). Iron-Export Ferroxidase Activity of β - Amyloid Precursor Protein Is Inhibited by Zinc in Alzheimer's Disease". *Cell* **142** (6): 857–67. DOI:10.1016/j.cell.2010.08.014. PMC 2943017. PMID 20817278. (5)
26. Porayette P, Gallego MJ, Kaltcheva MM, Meethal SV, Atwood CS (2007). Amyloid-beta precursor protein expression and modulation in human embryonic stem cells: a novel role for human chorionic gonadotropin". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **364** (3): 522–7 (28)
27. Walsh, D. M., Hartley, D. M., Condron, M. M., Selkoe, D. J., Teplow, D. B (2001). In vitro studies of amyloid beta-protein fibril assembly and toxicity provide clues to the aetiology of Flemish variant (Ala692-to-Gly) Alzheimer's disease. *Biochem. J.* **355**: 869-877, 2001.[PubMed: 11311152, related citations] [Full Text: Portland Press, Pubget]
28. De Jonghe, C., Zehr, C., Yager, D., Prada, C.-M., Younkin, S., Hendriks, L., Van Broeckhoven, C., Eckman, C. B (1998). Flemish and Dutch mutations in amyloid beta precursor protein have different effects on amyloid beta secretion. *Neurobiol. Dis.* **5**: 281-286.[PubMed: 9848098, related citations] [Full Text: Elsevier Science, Pubget]