

Perancangan Vaksin Virus Papilloma Manusia Tipe-16 Berbasis Epitop dengan Berbantuan Imunoinformatika

Opik Taupiqurrohman¹; Muhammad Yusuf²; Sukma Nuswantara^{1,3}
dan Toto Subroto^{1,2,*}

¹Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung

²Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Padjadjaran, Sumedang

³Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong Bogor

*Korespondensi: t.subroto@unpad.ac.id

Abstrak. Sampai saat ini vaksinasi dianggap sebagai cara yang efektif dalam mencegah penyakit menular. Semua proses vaksinasi bekerja dengan menampilkan antigen asing terhadap sistem imun agar respon sistem imun bangkit. Bahan aktif vaksin dapat berbentuk patogen utuh (bakteri atau virus) yang dilemahkan, atau komponen patogen yang imunogenik dan telah dimurnikan. Pendekatan konvensional dalam pengembangan vaksin membutuhkan biakan mikroorganisme patogen dan diseksi dengan menggunakan teknik biokimia, imunologi, dan metode mikrobiologi dalam mengidentifikasi komponen penting terhadap sistem kekebalan. Metode ini telah berhasil dalam berbagai kasus, namun gagal memberikan solusi bagi banyak patogen yang belum dapat dibuatkan vaksennya. Dewasa ini, dimungkinkan menggunakan informasi genomik untuk mempelajari perancangan vaksin secara *in silico*, tanpa perlu membiakan mikroorganisme patogen. Pendekatan yang telah diberi nama 'vaksinologi terbalik' ini dapat mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk identifikasi kandidat vaksin dan memberikan solusi baru bagi vaksin-vaksin yang selama ini sulit dikembangkan. Meningkatnya pemahaman mengenai pengenalan antigen pada tingkat molekul, telah berdampak pada pengembangan desain rasional vaksin berbasis peptida atau epitop. Konsep vaksin peptida didasarkan pada identifikasi dan sintesis kimia epitop sel-B dan sel-T yang imunodominan, yang dapat menginduksi respon imun spesifik. Perkembangan yang cepat dari teknik bioinformatika dan aplikasinya dengan sejumlah besar data eksperimen telah melahirkan bidang baru, disebut imunoinformatika. Imunoinformatika adalah cabang dari bioinformatika yang berkaitan dengan analisis *in silico* serta pemodelan data imunologi dan masalahnya. Kajian ini bertujuan untuk merancang vaksin virus papilloma manusia berbasis epitop berbantuan imunoinformatika.

Kata Kunci: vaksin, virus papilloma manusia, bioinformatika, imunoinformatika, epitope

PENDAHULUAN

Kanker serviks memiliki tingkat prevalensi tertinggi di dunia (Bruni *et al.*, 2015), termasuk Indonesia (Andrijono, 2008). Jumlah penderita dan jumlah kematian akibat kanker serviks di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahun (Kementrian Kesehatan, 2015). Kanker serviks juga memiliki tingkat mortalitas yang tinggi (Mzibri, *et al.*, 2012) dan cenderung menyerang wanita dengan usia produktif (Hidayati dkk, 2009). Vaksin merupakan sarana penanggulangan dan pencegahan kanker serviks yang paling efektif (Andrijono, 2008; Rappouli, 2000).

Kanker serviks disebabkan oleh infeksi Human papillomavirus (HPV) (Hidayati dkk, 2009). Di antara semua tipe, HPV tipe 16 merupakan penyebab utama kanker serviks di Indonesia (60%) dan di dunia (45,5%) (Bruni *et al.*, 2015). Oleh karena itu, HPV tipe 16 merupakan target utama dalam pengembangan vaksin kanker serviks. Kondisi

saat ini, vaksin kanker masih belum bisa terjangkau oleh kebanyakan masyarakat Indonesia. Pemerintah Indonesia belum mampu memberikan subsidi untuk penggunaan vaksin kanker serviks (Adhi, 2016). Salah satu sebab tingginya harga vaksin adalah lamanya proses pengembangan vaksin yang bisa mencapai 5-15 tahun (Vita *et al.*, 2014). Oleh karena itu, efisiensi dalam proses pengembangan vaksin perlu dilakukan. Saat ini, telah berkembang penemuan kandidat vaksin menggunakan pendekatan imunoinformatika, yang dapat mengefisiensikan tahapan analisis genomik sampai penemuan kandidat vaksin menjadi 1-2 tahun saja (Rappouli, 2000). Telah dilaporkan beberapa keberhasilan imunoinformatika dalam menemukan peptida sebagai kandidat vaksin secara *in vitro* dan *in vivo* (Rappouli, 2000; Fatima and Desu, 2014; Li, *et al.*, 2015).

Imunoinformatika merupakan kajian multidisiplin yang melibatkan beberapa aspek keilmuan, diantaranya bioinformatika dan

imunologi. Imunoinformatika berkembang dengan pesat seiring dengan melimpahnya keterbukaan akses terhadap data genom, diantaranya IEDB (*immunoepitope database*) (Vita *et al.*, 2014) dan Vaxign (Xiang and He, 2009). Metode ini dapat membantu penemuan vaksin peptida, yaitu vaksin yang terdiri dari bagian minimal antigen (8-15 asam amino) yang dapat menginduksi sistem imun (Toth *et al.*, 2008). Vaksin peptida memiliki keunggulan dibandingkan vaksin konvensional dari segi spesifisitas penyakit, kemurnian, kapasitas produksi, dan efisiensi biaya produksi (Toth *et al.*, 2008). Saat ini hampir seluruh genom HPV sudah dapat diakses di IEDB. Genom HPV terbagi dalam tiga kategori, yaitu regulator (10%), *early* (50%) dan *late* (40%) (Morshed *et al.*, 2014). Gen onkoprotein E6 dan E7 merupakan target yang menarik dalam pengembangan vaksin HPV karena perannya yang penting dalam inisiasi dan proliferasi sel kanker serviks. Mekanisme vaksin peptida dalam menginduksi respon imun adalah melalui interaksi dengan suatu protein transport yang bertugas membawa antigen spesifik internal atau eksternal menuju sel T, yang disebut *Major Histocompatibility Complex* (MHC) (Sompayrac, 2008).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan kandidat vaksin HPV tipe 16 berbasis peptida/epitop menggunakan pendekatan imunoinformatika dengan fokus utama potensi afinitas peptida terhadap MHC I yang diprediksi menggunakan IEDB-AR (*Immune Epitope Database Analysis Resource*). Kemudian, interaksi molekular antara peptida kandidat vaksin dan MHC I diprediksi dengan metode doking molekular. Penelitian ini diharapkan dapat membantu proses penemuan kandidat vaksin kanker serviks yang lebih efektif dan efisien.

METODE

Analisis homologi gen HPV tipe 16 terhadap genom manusia

Urutan gen HPV tipe 16, yang telah ditranslasikan menjadi urutan asam aminonya, diperoleh dari Uniprot (<http://www.uniprot.org/>). Kemudian analisis homologi urutan asam aminonya terhadap genom manusia dilakukan dengan menggunakan program TFASTY (Wang *et al.*, 2010).

Prediksi afinitas peptida terhadap *Major Histocompatibility Complex* (MHC)

Urutan asam amino yang tidak homolog dengan genom manusia, diprediksi afinitasnya terhadap MHC menggunakan program IEDB-AR (Vita *et al.*, 2014). Varian MHC yang digunakan untuk prediksi afinitas peptida terhadap MHC I adalah alel HLA-A*02:01.

Prediksi interaksi molekular antara peptida kandidat vaksin dan MHC

Doking molekular dilakukan dengan menggunakan program Cabsdock (Kurcinski *et al.*, 2015). Validasi metode dan parameter Cabsdock dilakukan dengan doking ulang enam struktur kristal kompleks MHC-peptida yang diperoleh dari PDB (*Protein Data Bank*). Pada tahapan penyiapan struktur MHC, asam amino selain sisi aktif protein tidak dimasukkan dalam perhitungan doking molekular.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis homologi gen HPV tipe 16 terhadap genom manusia

Analisis homologi menunjukkan bahwa E1, E6, dan L2 memiliki persentase keidentikan sebesar 28,57%, 28,91%, dan 25,71% dengan genom manusia. Sehingga, gen E1, E6, dan L2 diprediksi dapat menimbulkan respon autoimun apabila digunakan sebagai komponen vaksin peptida (epitop). Autoimun adalah sebuah kelainan respon imun spesifik yang menyerang sel diri sendiri, sehingga apabila vaksin epitop yang bersumber dari protein yang mirip dengan manusia diduga akan menimbulkan respon tersebut. Respon autoimun biasanya diinduksi oleh sel T dan sel B masing-masing, atau bisa juga oleh keduanya. Pada beberapa kasus autoimun dapat mengakibatkan hilangnya fungsi jaringan tubuh (Bellone, 2005). Diantara gen-gen HPV tipe 16 yang tidak homolog dengan genom manusia, E7 dipilih untuk dikaji lebih lanjut sebagai komponen vaksin peptida. E7 diketahui sebagai salah satu onkoprotein yang penting dalam pertumbuhan sel kanker melalui interaksinya dengan pRb (Yim and Park, 2005).

Prediksi peptida yang dapat mengikat *Major Histocompatibility Complex* (MHC) I

Prediksi peptida (epitop) dari gen E7 yang dapat mengikat MHC I pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan program IEDB-AR (Vita *et al.*, 2014). Dalam hasil analisis, peptida dengan peringkat persentil (*percentile rank*) yang kecil diprediksi memiliki afinitas yang baik dengan MHC I.

Peringkat persentil mengacu pada persentase skor yang sama atau kurang dari nilai IC₅₀ peptida yang terprediksi. IC₅₀ adalah konsentrasi peptida yang menyebabkan 50% MHC terinhibisi. Pengklasifikasian afinitas hasil prediksi ikatan peptida-MHC pada program IEDB-AR adalah sebagai berikut:

tinggi (IC₅₀ <50 nM), menengah (<500 nM) dan rendah (<5000 nM) (Vita *et al.*, 2014). Analisis epitop MHC I dengan IEDB-AR menghasilkan lima peptida dengan nilai peringkat persentil terbaik, yang ditunjukkan pada Tabel 1.

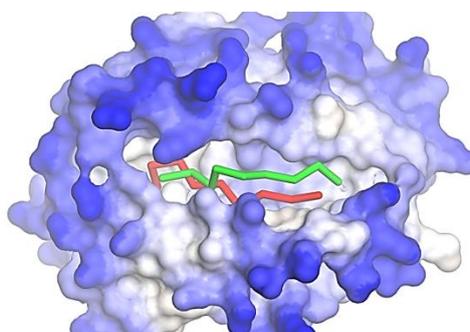
Tabel 1. Hasil prediksi afinitas peptida terhadap MHC I

Gen HPV	Alel	Posisi Residu		Panjang	Peptida	Peringkat Persentil	Nilai IC ₅₀ (nM)*
		Awal	Akhir				
E7	HLA-A*02:01	11	19	9	YMLDLQPET	0,4	5
E7	HLA-A*02:01	82	90	9	LLMGTLGIV	0,8	19
E7	HLA-A*02:01	7	15	9	TLHEYMLDL	2,1	48
E7	HLA-A*02:01	85	93	9	GTLGIVCPI	4,4	155
E7	HLA-A*02:01	66	74	9	RLCVQSTHV	4,7	781

Prediksi interaksi molekular peptida kandidat vaksin dengan MHC I

Prediksi epitop MHC I berbasis sekuen asam amino telah dilakukan menggunakan program IEDB-AR, menghasilkan urutan peptida YMLDLQPET. Interaksi molekular antara peptida ini dengan MHC dianalisis lebih lanjut menggunakan metode doking molekular. Kemampuan program doking dalam menentukan konformasi peptida pada MHC dievaluasi dengan melakukan doking ulang struktur peptida yang telah ditentukan melalui eksperimen kristalografi. Suatu program doking dikatakan baik apabila mampu menghasilkan konformasi peptida

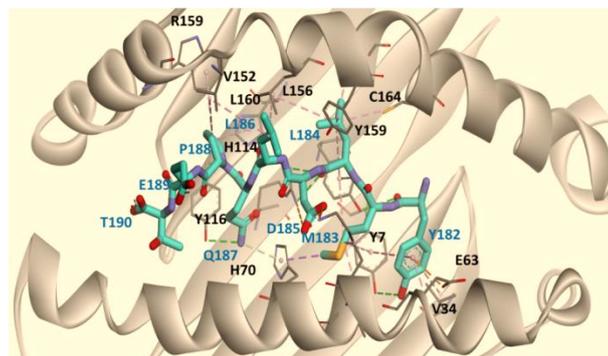
dengan nilai simpangan (*root mean square deviation*, RMSD) kurang dari 3 Å terhadap struktur referensinya (struktur kristal peptida) (Kurcinski *et al.*, 2015). Hasil doking ulang struktur kristal menunjukkan bahwa nilai RMSD program Cabsdock untuk enam struktur kristal peptida-MHC berada pada rentang antara 0,85 sampai 2,61 Å. Gambar 1 menunjukkan bahwa konformasi peptida hasil doking berada di *binding groove* yang sama dengan peptida hasil eksperimen sinar-X, dengan nilai simpangan struktur (RMSD) sebesar 0,85 Å. Hal ini menunjukkan bahwa parameter dan metode Cabsdock yang dilakukan memiliki kualitas yang baik.



Gambar 1. Hasil doking ulang peptida-MHC (warna merah) dibandingkan dengan struktur kristal difraksi sinar-X (warna hijau) menggunakan Cabsdock.

Setelah metode dan parameter Cabsdock terevaluasi baik, selanjutnya dilakukan doking peptida kandidat vaksin terhadap struktur

MHC I (kode PDB 1I4F). Interaksi molekular antara peptida kandidat vaksin dengan MHC I hasil doking pada Gambar 2 dan Tabel 2.



Gambar 2. Interaksi molekular antara peptida YMLDLQPET dan MHC I (kode PDB 1I4F).

Tabel 2. Interaksi non-kovalen antara asam amino peptida YMLDLQPET dan MHC I

No	Asam Amino		Jenis Interaksi	No	Asam Amino		Jenis Interaksi
	Peptida	MHC I			Peptida	MHC I	
1.	D185	K66	Elektrostatik	15.	L186	V152	Hidrofobik
2.	D185	R97	Elektrostatik	16.	P188	V152	Hidrofobik
3.	Y182	D63	Elektrostatik	17.	L184	L156	Hidrofobik
4.	Y182	Y7	Ikatan Hidrogen	18.	L186	L156	Hidrofobik
5.	L184	R97	Ikatan Hidrogen	19.	L184	L160	Hidrofobik
6.	L184	R97	Ikatan Hidrogen	20.	L184	C164	Hidrofobik
7.	Y182	Y99	Ikatan Hidrogen	21.	M183	Y7	Hidrofobik
8.	Q187	Y116	Ikatan Hidrogen	22.	M183	Y99	Hidrofobik
9.	L184	Y99	Ikatan Hidrogen	23.	L184	Y99	Hidrofobik
10.	Q187	H70	Ikatan Hidrogen	24.	P188	H114	Hidrofobik
11.	M183	H70	Hidrofobik	25.	P188	W147	Hidrofobik
12.	Y182	Y7	Hidrofobik	26.	L184	Y159	Hidrofobik
13.	M183	K66	Hidrofobik	27.	Y182	V34	Hidrofobik
14.	M183	V67	Hidrofobik	28.	Y182	M45	Hidrofobik

Gambar 2 menunjukkan interaksi molekular peptida kandidat vaksin terhadap MHC I dalam rentang jarak 5 Å. Diprediksi terdapat tujuh ikatan hidrogen dan delapan belas interaksi hidrofobik (Tabel 2). Ikatan hidrogen konvensional terbentuk antara Y7-Y182, R97-L184, Y99-Y182 dan Q187-Y116. Sementara ikatan hidrogen yang melibatkan donor elektron Pi terbentuk antara residu L184-Y99 dan Q187-H70. Interaksi hidrofobik yang melibatkan gugus alkil terbentuk di antara residu K66-M183, V67-M183, V152-L186, V152-P188, L156-L184, L156-L186, L160-L184, dan C164-L184. Interaksi lainnya yang melibatkan orbital sigma-Pi maupun Pi-Pi dibentuk oleh residu H70-M183, Y7-Y182, Y7-M183, Y99-M183, Y99-L184, H114-P188, W147-P188, Y159-L184, Y182-V34, dan Y182-M45. Energi ikatan antara peptida YMLDLQPET dengan MHC I hasil doking diprediksi sebesar -165,80. Nilai ini lebih

rendah dari energi ikatan antara peptida kristal dan MHC I (kode PDB 1I4F), yaitu -112,00. Sehingga, diprediksi bahwa peptida YMLDLQPET memiliki afinitas yang baik dengan MHC I.

Imunoinformatika sangat berpotensi untuk dimanfaatkan dalam pengembangan vaksin baru, karena saat ini data genom patogen sudah tersedia secara meluas dan terbuka. Selain itu, kebanyakan program imunoinformatika juga dapat diakses secara gratis. Bagaimanapun, imunoinformatika hanyalah alat atau instrumen. Pemahaman yang baik dan mendalam terhadap karakter patogen sangatlah diperlukan untuk melakukan prediksi gen melalui imunoinformatika. Pengetahuan lain mengenai ilmu biokimia, struktur kimia, sifat fisikokimia, dan energetika juga diperlukan dalam menganalisis hasil prediksi imunoinformatika.

KESIMPULAN

Protein E7 dipilih untuk dikaji lebih lanjut karena merupakan salah satu onkoprotein yang penting dalam pertumbuhan sel kanker. Berdasarkan prediksi afinitas peptida terhadap MHC I, urutan epitop yang dapat dijadikan kandidat vaksin berbasis protein E7 adalah YMLDLQPET. Kajian interaksi epitop E7 dan MHC melalui doking molekular menunjukkan bahwa YMLDLQPET diprediksi memiliki afinitas baik terhadap MHC I dan berpotensi untuk digunakan sebagai kandidat vaksin HPV tipe 16.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada IEDB (www.iedb.org) yang telah menyediakan akses terbuka untuk database genom HPV tipe 16 dan program analisis imunoinformatika yang digunakan dalam penelitian ini, serta kepada Dr. Tri Cahyanto, M.Si. dan Dr. Opik Taufikurrahman selaku Ketua Jurusan Biologi dan Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung yang telah memberikan izin kepada Opik Taupiqurrohman untuk melakukan studi lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhi, 2016. Perawat pun antusias vaksinasi. [diunduh Maret 2016]. Tersedia dari <http://health.kompas.com/read/2011/08/26/13281899/Perawat.Pun.Antusias.Vaksinasi>
- Andrijono, 2008. Vaksinasi HPV merupakan pencegahan primer kanker serviks. *Maj Kedokt Indon*, **57**:153-158.
- Bellone, M. 2005. Autoimmune Disease: Pathogenesis. *John Wiley & Sons*, Italy.
- Bruni, L., Barrionuevo, R.L., Albero, G., Aldea, M., Serrano, B., Valencia S, et al. 2015. Human Papillomavirus and Related Diseases in Indonesia. ICO HPV Information Center. [diperbaharui 20 Maret 2015; disitasi 27 Desember 2015]. Tersedia dari <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/IDN.pdf>.
- Fatima, S.S., & Desu, J. 2014. Proteome analysis and antigenic peptide prediction of beta corona cirus, A cause of MERS. *Helix*, **5**:590-583.
- Hidayati, A.N., Evy, E., & Hans, L. 2009. Human Papillomavirus (HPV) Tipe 16 pada lesi genital wanita penderita kondilomata akuminata. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, **21**:25-30.
- Kementrian Kesehatan. 2015. Jakarta: Kementrian Kesehatan. [diunduh Oktober 2015].
- Kurcinski, M., Michal, J., Maciej, B., Andrzej, K., & Sebastian, K. 2015. CABS-dock web server for the flexible docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site. *Nucleic Acids Research*, **43**: W419-W424.
- Li, B., Xianfang, Z., Chuancui, H., & Yunxia, C. 2015. Human Papillomavirus genome-wide identification of T-Cell epitopes for peptide vaccine development against cervical cancer: An integration of computational analysis and experimental assay. *Journal of Computation Biology*, **22**:962-974.
- Morshed, K., Dorota, P., Marcin, S., & Malgorzata, P. 2014. Human Papillomavirus (HPV)– Structure, epidemiology and patogenesis. *Otolaryngologi apolska. Elsevier*, 213-219.
- Mzibri, M.E.M., Attaleb, R., Ameziane, E.L., Hassani, M., Khyatti, L., Benbacer, M., Ennaji, et al. 2012. Evaluation of p53, p16INK4a and E-Cadherin status as biomarkers for cervical cancer diagnosis. *Intechopen publisher*, 195-214.
- Rappuoli, R. 2000. Reverse vaccinology. *Current Opinion in Microbiology*, **3**:445-450.
- Sompayrac, L. 2008. How the Immune System Works. 3^{ed} Edition. *Well Publishing*, Massachussetts.
- Toth, I., Simerska, P., & Fujita, Y. 2008. Recent advances in design and synthesis of self-adjuvanting lipopeptide vaccines. *Int. J. Pept. Res. Ther*, **14**:333-340.
- Vita, R., Overton, J.A., Greenbaum, J.A., Ponomarenko, J., Clark, J.D., Cantrell, J.R., et al. 2014. The immune epitope database (IEDB) 3.0. *Nucleic Acids Res*, **43**:D405-D412.
- Wang, P., Sidney, J., Kim, Y., Sette, A., Lund, O., Nielsen, M., et al. 2010. Peptide binding predictions for HLA DR, DP and DQ molecules. *BMC Bioinformatics*, **11**:1-12.
- Xiang, Z., & He, Y. 2009. Vaxign: a web-based vaccine target design program for reverse Vaccinology. *Elsevier*. **1**: 23-29.
- Yim, Eun-Kyoung, & Park, J.S. 2005. The Role of Hpv E6 and E7 Oncoproteins in Hpv-Associated Cervical Carcinogenesis. *Cancer Res Treat*, **37**:319-324.