

STUDI *IN SILICO* MODIFIKASI POS TRANSLASI DISAIN VAKSIN CHIMERIC BERBASIS *VIRUS LIKE PARTICLES HUMAN* *PAPILLOMAVIRUS* DENGAN *KAPSID VIRION L1*

Usman Sumo Friend Tambunan, Arli Aditya Parikesit, Theo A. Tochary, dan Dedy Sugiono

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

E-mail: usman@ui.edu

Abstrak

Infeksi Human Papillomavirus (HPV) memiliki korelasi yang erat dengan insidensi kanker serviks. Pada penelitian ini dikembangkan *chimeric virus like particles* (cVLP) sebagai kandidat vaksin untuk mencegah kanker serviks. cVLP dikembangkan dengan mensubstitusi epitop dari protein HPV-18 L1 dan HPV-52 L1 dengan protein HPV-16 L1. Pada penelitian ini ditemukan empat desain vaksin kimerik, yaitu ANN1, ANN2, HMM1, dan HMM2. Kajian ini akan menentukan efek dari modifikasi pos translasi. Berdasarkan kajian *in silico*, modifikasi pos translasi yang dominan adalah glikosilasi.

Abstract

Computational Study of Post Translation Modification in Chimeric Virus Like Particles Vaccine of Human Papilloma Virus with Virion Capsid L1. The Human Papillomavirus (HPV) infection has a tight correlation with the incidence of cervical cancer. Chimeric virus like particles (cVLP) has been developed as vaccine candidate for preventing cervical cancer. cVLPs are improvement of Virus Like Particles (VLP) by substituting the epitope of L1 HPV -18 and -52 protein to L1 HPV -16 protein. They are ANN1, ANN2, HMM1, and HMM2. The impact of post translation modification will be determined. Based on *In Silico* study, the dominant post translation modification is glycosylation.

Keywords: cVLP, HPV, Cervical Cancer, Vaccine, Post Translation Modification, host

1. Pendahuluan

Kanker serviks uterus (mulut rahim) merupakan salah satu tipe kanker yang berada di urutan ketiga terbesar kanker pada wanita. Menurut catatan, kanker serviks uterus berjumlah sekitar 9,8 % dari semua tipe kasus kanker invasif di dunia (Kanker payudara 21%, kanker kolon/rektum 10,1%). Ditinjau dari segi korelasi, hubungan antara HPV (*Human papillomavirus*) dan kanker serviks ternyata lebih dekat dibandingkan hubungan antara merokok dan kanker paru-paru, walaupun dalam hal ini hubungan antara karier kronis infeksi hepatitis B dan kanker hati korelasinya masih lebih kuat [1]. Kajian di berbagai negara mengenai data HPV dan kanker serviks invasif telah dilakukan agensi internasional riset kanker (*International Agency for Research on Cancer/IARC*). Data yang dikumpulkan menunjukkan bahwa HPV tipe 16, 18, 31, dan 45 terdapat pada 80% kasus kanker serviks [1].

Beberapa tipe HPV resiko tinggi secara signifikan ditemukan di daerah tertentu. Contohnya, kelompok HPV-39 dan HPV-59 ditemukan di Amerika tengah dan Selatan. Di Indonesia, penyakit kanker mulut rahim berada di urutan pertama diantara berbagai jenis kanker. Dari data yang ada, sekitar 17% kasus kanker yang terjadi setiap tahun adalah kanker mulut rahim. Diperkirakan terdapat 100 kasus baru penderita kanker per 100.000 penduduk Indonesia setiap tahun. Diantara 70% pasien kanker mulut rahim diketahui telah memasuki stadium lanjut [2].

Pada dekade terakhir, teknologi DNA rekombinan telah menyediakan metoda untuk menciptakan generasi baru vaksin yang mengatasi keterbatasan dari vaksin tradisional. Ketersediaan dari *gene cloning* telah membantu peneliti untuk mengembangkan strategi baru dalam pengembangan vaksin. Salah satu strateginya adalah menghilangkan gen virulensi dari agen infeksi yang tetap memiliki kemampuan untuk menstimulasi respon imunologis [3]. Untuk mencegah terjadinya infeksi HPV, diperlukan vaksin. Namun, untuk efektifitas, vaksin baru diperoleh dengan memperkuat respon imunitas tubuh terhadap infeksi HPV di permukaan mukosal genital, suatu respon yang tidak diketahui dibanding aspek imunitas lain. Riset medis saat ini umumnya diarahkan untuk menyelidiki vaksin terapeutik untuk membantu terapi standar [4].

Terobosan besar dalam riset vaksin HPV muncul setelah ditemukannya protein kapsid L1 dan L2 (atau L1 saja) dapat merakit diri menjadi *Virus Like Particles* (VLP) ketika diekspresikan dalam sel. VLP sangat mirip dengan partikel HPV asli dan termasuk *epitope* konformasi yang menginduksi antibodi netralisasi virus, sehingga sistem imun menerima VLP sebagai infeksi virus dan menanggapi. Karena VLP berinti kosong dan tidak mengandung DNA virus, maka tidak bisa menimbulkan infeksi. VLP yang telah diproduksi sejauh ini adalah 10 tipe (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, dan 58) [4].

Dalam satu model, telah diciptakan VLP kimerik (cVLP) yang dapat menginduksi sel sitotoksik T pada tikus, sebaik pada antibodi netralisasi dengan menggabungkan E6 dan E7 pada protein kapsid di VLP. Beberapa ilmuwan percaya bahwa VLP kimerik memiliki potensi besar yang dapat digunakan untuk pencegahan infeksi dan pengobatannya [4].

Protein harus melipat (*folding*) seperti konformasi aslinya (*native*), agar menjadi protein yang matang. Dalam kasus protein multisubunit, subunit tersebut harus terbentuk dengan baik. Modifikasi protein menjadi konformasi aslinya disebut sebagai modifikasi pos translasi [5]. Rantai polipeptida yang terdiri dari lebih 200 residu biasanya melipat menjadi dua atau lebih kelompok globular yang disebut sebagai domain. Sebagian besar domain terdiri dari 100 sampai 200 residu asam amino dan memiliki diameter rata-rata $\sim 25 \text{ \AA}$ [5].

Penelitian ini bertujuan untuk mendesain vaksin cVLP HPV dan mengkaji dampak modifikasi pos translasi protein cVLP HPV L1 secara *in silico* dari sekuens vaksin tersebut.

2. Metode Penelitian

Bahan dan Peralatan. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan menggunakan peralatan komputer dengan Windows XP SVR2 dan *browser* Mozilla Firefox 1.5.0.6. Pada beberapa tahapan pengerjaan komputer yang digunakan harus terhubung secara *on line* ke jaringan internet untuk mengakses data sekuens protein yang diinginkan, melakukan desain vaksin, analisis pos translasi dan pencarian domain. Di samping itu, beberapa pengerjaan juga dilakukan secara *off line*.

Cara Kerja. Pencarian Sekuens Protein L1 HPV. Data sekuens L1 HPV 16, 18, dan 52 dicari di situs <http://www.rcsb.org/pdb/>, jika ada yang tidak tersedia, sekuens dicari di situs http://hpv-eb.lanl.gov/stdgen/virus/cgi-bin/hpv_organisms.cgi.

Prediksi *epitope T-cell* Protein L1 HPV. Prediksi *epitope* L1 HPV diakses di server MULTIPRED pada <http://research.i2r.a-star.edu.sg/multipred>. Metode matematika yang digunakan adalah HMM (*Hidden Markov Model*) dan ANN (*Artificial Neural Network*).

Prediksi *epitope B-cell* Protein L1 HPV. Prediksi *epitope* L1 HPV diakses di server CEP pada <http://202.41.70.74:8080/cgi-bin/cep.pl>.

Penentuan Sekuens *Chimeric Virus Like Particle* (cVLP). Substitusi *epitope* dilakukan dengan editor teks *notepad*. *Epitope T-cell* L1 HPV 16 *low binder* disubstitusi dengan *epitope T-cell* L1 HPV 18 dan 52 *high binder*. Substitusi *epitope T-cell* L1 HPV 16 *low binder* tidak boleh tumpang tindih dengan *epitope B-cell* L1 HPV 16.

Perbandingan Sekuens cVLP dengan Data Protein L1 HPV pada Database GenBank. Perbandingan sekuens cVLP dengan data protein L1 HPV dilakukan dengan metode BLAST pada situs NCBI di http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST_

Homology Modelling. Prediksi struktur cVLP dilakukan dengan metode *Homology Modelling*. Metode prediksi dilakukan dengan program *Deep View* dan server *Swiss-model* pada <http://www.expasy.org/swissmod/SWISS-MODEL.html>.

Visualisasi Struktur Tersier cVLP hasil *Homology Modelling*. Struktur cVLP hasil prediksi metode *Homology Modelling* divisualisasikan dengan program *Deep View*.

Evaluasi Stabilitas Struktur Tersier cVLP. Evaluasi stabilitas struktur dilakukan dengan analisis plot Ramachandran pada program *Deep View*.

Perbandingan Struktur Tersier cVLP dengan Database VAST. Perbandingan struktur tersier cVLP dengan database VAST dilakukan di situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/VAST/vastsearch.html>.

Input data sekuens cVLP ke dalam *notepad*. Data sekuens vaksin cVLP *dicopy* dan *paste* ke dalam program *notepad*.

Prediksi Modifikasi Pos translasi cVLP. Sekuens cVLP dianalisis untuk memprediksi situs modifikasi pos translasi. Sekuens cVLP dalam format FASTA diolah di <http://www.expasy.ch/tools/scanprosite/>.

Analisis hasil ScanProsite. Analisis terhadap dokumentasi pola untuk setiap pola pos translasi PDOC (*Prosite Documentation*) dilakukan dengan mengakses *hiperlink* pada *output*. Porsi dari *hiperlink* ini melaporkan nomor PDOC, nama pola, keterangan pola, struktur pola, dan daftar referensi.

3. Hasil dan Pembahasan

Pencarian Sekuens Protein L1 HPV. Sekuens protein L1 HPV yang dicari adalah sekuens protein L1 tipe 16, 18, dan 52. Pencarian sekuens dilakukan melalui data Protein Data Bank melalui situs <http://www.rcsb.org/pdb/> yang dapat diakses bebas melalui koneksi internet. Dari pencarian, ternyata hanya protein L1 HPV-16 yang sudah mempunyai file PDB. Oleh karena itu, pada penelitian ini, protein L1 HPV-16 yang dijadikan *backbone* dari rancangan vaksin cVLP. Alasan lain dijadikannya protein L1 HPV-16 sebagai *backbone* cVLP adalah fakta bahwa HPV-16 merupakan tipe *high risk* urutan pertama di Indonesia, sehingga kemungkinan besar protein L1 HPV-16 mempunyai sifat imunogenitas yang lebih besar. Pencarian sekuens L1 HPV tipe 18 dan 52 dilakukan melalui *GenBank Los Alamos National Laboratory* (LANL) dengan alamat situs http://hvp-web.lanl.gov/stdgen/virus/cgi-bin/hpv_organisms.cgi?dbname=hpv. *GenBank* LANL menyediakan genom lengkap berbagai tipe HPV

Prediksi Epitope sel T Protein L1 HPV. Hasil prediksi epitop sel T protein L1 HPV tipe 16, 18, dan 52 ditampilkan berupa sekuens-sekuens peptida. Dari Protein L1 HPV tipe 18 dan 52 hasil prediksi dipilih peptida-peptida yang akan digunakan sebagai epitop substitusi pada cVLP. Substitusi didasarkan atas skor *binding* terbesar. Hasil pemilihan epitop menghasilkan empat peptida, yaitu untuk HPV-18: LFLRNVNVF untuk metode ANN dan ILHYHLLPL untuk metode HMM; dan untuk HPV-52: FYILVIFY untuk metode ANN dan WQFGLTPPP untuk metode HMM. Dari protein L1 HPV-16 hasil prediksi epitop sel T, dipilih peptida yang akan disubstitusi dalam penentuan sekuens cVLP, yaitu peptida yang bersifat *non binding* atau memiliki skor *binding* terkecil namun tidak tumpang tindih terhadap epitop sel B. Penentuan peptida *non binding* dapat dilakukan setelah tahapan prediksi epitop sel B pada HPV-16.

Prediksi epitop sel T protein L1 HPV tipe 16, 18, dan 52 dilakukan melalui server MULTIPRED dengan alamat situs <http://research.i2r.a-star.edu.sg/multipred/>. MULTIPRED memprediksi epitop sel T dengan data *input* sekuens asam amino protein L1 HPV dalam format FASTA tanpa *header* baris identitas. Pada prediksi dengan MULTIPRED perlu diperhatikan tipe algoritma dan kelas molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang akan digunakan dalam prediksi epitop. Terdapat dua tipe algoritma yang dapat digunakan, yaitu ANN dan HMM. Terdapat dua tipe kelas MHC yang dapat digunakan, yaitu kelas I dan II.

Prediksi Epitop sel B Protein L1 HPV. Prediksi epitop sel B protein L1 HPV dilakukan melalui server CEP (*Conformational Epitope Prediction*) melalui situs <http://202.41.70.74:8080/cgi-bin/cep.pl>. Prediksi epitop sel B dilakukan hanya pada protein L1 HPV-16. Hal ini karena input data yang dibutuhkan server CEP untuk memprediksi epitop sel B adalah data dalam bentuk PDB dan hanya protein L1 HPV-16 yang mempunyai data dalam bentuk PDB. Pada hasil prediksi ditampilkan posisi dari epitop-epitop tersebut. Prediksi ini tidak disertai dengan skor yang menggambarkan tingkat pengenalan epitop oleh sel B atau pengikatan dengan antibodi. Pemilihan peptida pada protein L1 HPV-16 yang disubstitusi tidak hanya didasarkan atas peptida yang mempunyai skor *binding* rendah, namun juga

peptida tersebut harus tidak tumpang tindih dengan epitop sel B. Dari hasil prediksi epitop sel T dan sel B, ternyata dihasilkan dua peptida sama dengan metode ANN dan HMM pada server MULTIPRED, yaitu SEVPLDICT dan HGEEYDLQF [6].

Penentuan Sekuens Chimeric Virus Like Particles (cVLP). Tahap ini dilakukan untuk mendesain vaksin cVLP yang bersifat *polyvalent* terhadap HPV tipe 16, 18, dan 52. Sekuens vaksin cVLP yang ditentukan harus mempunyai epitop binding dari ketiga tipe HPV tersebut. Penentuan sekuens cVLP dilakukan melalui substitusi *backbone* protein L1 HPV-16 atas dasar hasil prediksi epitop sel B dan sel T yang telah dilakukan. Substitusi yang dilakukan adalah substitusi dua epitop. Terdapat dua epitop protein L1 HPV-16 yang akan disubstitusi, yaitu dua epitop sel T protein L1 HPV-16 yang mempunyai skor paling rendah (*low binder*). Asam amino penyusun epitop sel T bukan termasuk asam amino penyusun epitop sel B. Epitop yang digunakan untuk mensubstitusi adalah epitop sel T HPV tipe 18 dan 52 yang mempunyai skor paling tinggi (*high binder*).

Metode prediksi epitop sel T yang digunakan adalah *Artificial Neural Network* (ANN) dan *Hidden Markov Model* (HMM). Hasil yang didapatkan dari kedua metode berbeda, sehingga ada empat sekuens vaksin yang dapat untuk dirancang.

```

> S e k u e n s A N N 1 :
KVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKF G F P D T S F Y N P
DTQRLVWACVGVVEVGRGQPLGVGISGHPLLKLD D T E N A S A Y A A N A G V D N R E C I S M D Y K Q T Q L C L I G C K P P I
GEHWGK G S P C T Q V A V Q P G D C P P L E L I N T V I Q D G M V D T G F G A M D F T T L Q A N K L F L R N V N V F S I C K Y P D Y I K M
VSEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFN R A G T V G E N V P D D L Y I K G S G S T A N L A S S N Y F P T P S G S M V T S D A Q I F N K P
YWLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVD T T R S T N M S L C A A I S T S E T T Y K N T N F K E Y L R F Y I L V I F Y Y I F Q L C K I T L T
ADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGTLD TY R F V T S Q A I A C Q K H T P P A P K E D P L K K Y T F W E V N L K E K F S A D
LDQFPLGRKFLQLGL

> Sekuens ANN2
KVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKF G F P D T S F Y N P
DTQRLVWACVGVVEVGRGQPLGVGISGHPLLKLD D T E N A S A Y A A N A G V D N R E C I S M D Y K Q T Q L C L I G C K P P I
GEHWGK G S P C T Q V A V Q P G D C P P L E L I N T V I Q D G M V D T G F G A M D F T T L Q A N K F Y I L V I F Y Y S I C K Y P D Y I K M V
SEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFN R A G T V G E N V P D D L Y I K G S G S T A N L A S S N Y F P T P S G S M V T S D A Q I F N K P Y
WLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVD T T R S T N M S L C A A I S T S E T T Y K N T N F K E Y L R L F L R N V N V F I F Q L C K I T L T
ADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGTLE D T Y R F V T S Q A I A C Q K H T P P A P K E D P L K K Y T F W E V N L K E K F S A
DL D Q F P L G R K F L L Q L G L

> Sekuens HMM1
KVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKF G F P D T S F Y N P
DTQRLVWACVGVVEVGRGQPLGVGISGHPLLKLD D T E N A S A Y A A N A G V D N R E C I S M D Y K Q T Q L C L I G C K P P I
GEHWGK G S P C T Q V A V Q P G D C P P L E L I N T V I Q D G M V D T G F G A M D F T T L Q A N K I L H Y H L L P L S I C K Y P D Y I K M
VSEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFN R A G T V G E N V P D D L Y I K G S G S T A N L A S S N Y F P T P S G S M V T S D A Q I F N K P
YWLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVD T T R S T N M S L C A A I S T S E T T Y K N T N F K E Y L R W G F G L T P P P I F Q L C K I T L T
ADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGTLE D T Y R F V T S Q A I A C Q K H T P P A P K E D P L K K Y T F W E V N L K E K F S
ADLDQFPLGRKFLQLGL

> Sekuens HMM2
KVVSTDEYVARTNIYYHAGTSRLLAVGHPYFPIKPNNNKILVPKVSGLQYRVFRIHLPDPNKF G F P D T S F Y N P
DTQRLVWACVGVVEVGRGQPLGVGISGHPLLKLD D T E N A S A Y A A N A G V D N R E C I S M D Y K Q T Q L C L I G C K P P I
GEHWGK G S P C T Q V A V Q P G D C P P L E L I N T V I Q D G M V D T G F G A M D F T T L Q A N K W G F G L T P P S I C K Y P D Y I K M
VSEPYGDSLFFYLRRQMFVRHLFN R A G T V G E N V P D D L Y I K G S G S T A N L A S S N Y F P T P S G S M V T S D A Q I F N K P
YWLQRAQGHNNGICWGNQLFVTVD T T R S T N M S L C A A I S T S E T T Y K N T N F K E Y L R I L H Y H L L P L I F Q L C K I T L T
ADVMTYIHSMNSTILEDWNFGLQPPPGTLE D T Y R F V T S Q A I A C Q K H T P P A P K E D P L K K Y T F W E V N L K E K F S A
DL D Q F P L G R K F L L Q L G L

```

Gambar 1. Sekuens vaksin cVLP ANN1, ANN2, HMM1, dan HMM2 dari penelitian grup kami

Gambar 2. Contoh Visualisasi Vaksin cVLP HMM1. Warna hijau merupakan bagian yang berasal dari sekuens protein L1 HPV-16 native

Evaluasi Struktur Tersier cVLP. Evaluasi struktur tersier cVLP dilakukan dengan melihat jumlah residu yang saling tumpang tindih dan juga dengan melihat *Ramachandran Plot* struktur cVLP. Visualisasi struktur tersier vaksin cVLP hasil *homology modeling* pada Deep View menunjukkan bahwa sudah tidak ada lagi residu yang saling tumpang tindih pada keempat struktur vaksin.

Perbandingan Struktur Tersier cVLP dengan Database. Perbandingan struktur tersier cVLP dengan database dilakukan dengan VAST yang terintegrasi dalam situs NCBI dengan alamat <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/VAST/vastsearch.html>. Dari hasil yang ada ternyata hanya data 1DZL.pdb, yaitu data PDB dari protein L1 HPV-16 native, yang mempunyai kesamaan struktur tersier dengan vaksin cVLP. VAST dapat membandingkan struktur vaksin cVLP dengan protein L1 HPV-16 native dengan cara melakukan *superimpose* diantara kedua struktur. Hasil pada VAST menunjukkan keempat vaksin cVLP memiliki nilai yang sama pada *score*, *p-value*, dan RMSD, yaitu berturut-turut: 52,4; $10e^{-63,1}$; dan 0,1 Å. Untuk persen identitas, keempat vaksin mempunyai nilai yang agak berbeda, yaitu 96% untuk vaksin ANN1; 96,3% untuk vaksin ANN2 dan HMM1; dan 96,5% untuk vaksin HMM2.

Nilai skor yang sama menunjukkan bahwa similaritas struktur keempat vaksin dengan protein L1 HPV-16 native sama dan nilai 52,4 menunjukkan bahwa keempat vaksin mempunyai similaritas struktur yang besar. Nilai *p-value* yang sama menunjukkan bahwa signifikansi dari perbandingan struktur keempat vaksin sama. Nilai RMSD yang didapat untuk keempat vaksin sama, yaitu sebesar 0,1 Å. Nilai RMSD di bawah 0,4 Å berarti menunjukkan adanya hubungan antar struktur yang secara esensial tidak dapat dibedakan lagi. Hal ini berarti dengan nilai RMSD 0,1 Å; keempat vaksin cVLP dapat dikatakan memiliki tingkat kesamaan struktur yang tinggi dengan protein L1 HPV-16 native. Hasil persen identitas pada VAST sedikit berbeda dengan hasil pada BLAST. Pada *toolbox* BLAST, persen identitas yang ditampilkan merupakan pembulatan. Sedangkan pada VAST, persen identitas ditampilkan sampai satu angka di belakang koma. Hasil VAST menunjukkan bahwa keempat vaksin memiliki struktur tersier yang sangat mirip dengan protein L1 HPV-16 native, yang berarti kemungkinan besar keempat vaksin ini memiliki fungsi dan imunogenitas yang sama seperti pada protein L1 HPV-16 native.

Modifikasi Pos Translasi cVLP. Sampai dengan tahun 2003, belum diketahui adanya modifikasi pos translasi pada virus HPV. Kapsid virion virus HPV diketahui hanya terdiri protein, yaitu protein L1 dan L2 (Carter *et al*, [9]). Dalam hal ini, dilakukan juga studi literatur terhadap virus lain yang masih serumpun secara molekular, yaitu sesama virus *double strand* (ds) DNA. Virus dsDNA yang disajikan adalah virus hepatitis B (HBV) dan virus polioma, serta virus pox. HBV adalah virus DNA *enveloped* yang merupakan anggota famili *Hepadnaviridae*. Virion HBV terdiri dari nukleokapsid ikosahedral yang menyelubungi genom DNA galur ganda yang terbuka, dengan DNA polimerase virus. Lapisan inti HBV dibentuk oleh protein inti (HBc) dan dikelilingi oleh lipid lapisan ganda (*lipid bilayer*) sebagai *envelope*. Virus Polioma adalah virus DNA *double strand* sirkuler, dan non *envelope*. Virus Polioma memiliki tiga protein struktural (VP1, VP2, dan VP3), yang membentuk kapsid virus ikosahedral. Pada kapsid virus Polioma tidak ditemukan adanya biomolekul lain, kecuali protein. Pada virus Pox (virus cacar), virionnya memiliki 30 tipe protein. Namun hanya dua protein struktur membran internal, yang mengalami glikosilasi dengan karbohidrat glukosamin [10, 11].

Pada virus HPV diperkirakan akan mengalami modifikasi pos translasi yang serupa dengan HBV, virus polioma, dan virus pox, karena kekerabatan molekular dari ketiga virus tersebut. Kajian *in silico* dilakukan untuk memastikan prediksi keberadaan modifikasi pos translasi pada cVLP.

Setelah dilakukan pengolahan dengan *toolbox* SCANPROSITE, maka ditemukan modifikasi pos translasi pada semua sekuens cVLP, dengan motif yang serupa, beserta urutan prioritas frekuensi situsny. Motif yang serupa pada keempat sekuens dikarenakan oleh homologi dari keempat sekuens tersebut yang sangat tinggi (di atas 90%) dengan HPV -16 L1.

Situs N-Glikosilasi. Situs potensial N-Glikosilasi adalah spesifik untuk sekuens konsensus Asn-Xaa-Ser/Thr. Harus dicatat bahwa kehadiran dari tripeptida konsensus tidaklah cukup untuk menyimpulkan bahwa residu asparagin terglykosilasi, karena fakta bahwa pelipatan protein memainkan peranan penting pada regulasi dari N-glikosilasi. Juga telah ditunjukkan bahwa kehadiran dari proline antara Asn dan Ser/Thr akan menginhibisi N-glikosilasi; ini telah

dikonfirmasi dengan suatu analisis statistik dari situs glikosilasi, yang telah menunjukkan bahwa sekitar 50% dari situs yang memiliki prolin terminal C pada Ser/Thr tidak terglykosilasi [12].

Virus Vesikular-stomatitis (VSV), yang menginfeksi sapi, memproduksi gejala mirip influenza, menyajikan sistem model yang bagus untuk mengkaji modifikasi N-Glikosilasi pada protein. Selubung VSV terdiri dari membran sel *host* dimana glikoprotein viral tunggal, Protein G VSV, berada disana. Protein G mengalami N-Glikosilasi oleh enzim transferase oligosakarida, yang mengenali sekuens asam amino Asn-X-Ser/Thr. Berdasarkan prediksi algoritma terhadap *protein modelling*, diketahui bahwa situs Asn-X-Ser/Thr terjadi pada *folding β turn*, dimana terjadi ikatan hidrogen antara gugus N-H dari Asn dengan atom O dari gugus hidroksil pada Ser/Thr. Keberadaan Prolin pada posisi X akan mencegah terjadinya ikatan hidrogen yang diperlukan untuk *protein folding* [5].

Sekuens-sekuens yang mengalami modifikasi adalah sekuens nomor: 112-115, 322-325, dan 376-379. Prediksi pos translasi yang paling mungkin terjadi adalah N-glikosilasi, karena sekuens-sekuens yang ditemukan memenuhi syarat motif N-Xaa-S/T. Walaupun modifikasi glikosilasi memiliki kemungkinan untuk terjadi, motif yang terkena modifikasi diperkirakan bukan epitop dari vaksin. Dengan demikian modifikasi yang terjadi tidak mengganggu stabilitas dari protein kimerik.

4. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan. Ditemukannya disain vaksin cVLP HPV-16 ANN1, ANN2, HMM1, dan HMM2 secara *in silico*. Uji BLAST keempat disain vaksin cVLP mendapatkan 96% indentitas dengan protein L1 HPV-16 native, sehingga diharapkan vaksin cVLP bisa menimbulkan imunogenitas yang sama dengan protein *native*. Ramachandran Plot dari keempat vaksin menunjukkan *disallowed region* plot residu non glisin berjumlah kurang dari 15%, sehingga dapat dikatakan kualitas vaksin baik. Uji VAST keempat disain vaksin menunjukkan RMSD sebesar 0,1Å, yang menunjukkan keempat vaksin memiliki tingkat kesamaan struktur yang tinggi.

Berdasarkan prediksi secara *in silico*, ditemukan kemungkinan besar terjadinya modifikasi pos translasi pada cVLP. Pada proses pembentukan cVLP, modifikasi pos translasi yang paling besar kemungkinan terjadi adalah N-Glikosilasi, karena modifikasi ini yang memenuhi syarat motif N-Xaa-S/T yang ditemukan dalam kajian *in silico*. Walaupun modifikasi pos translasi diperkirakan terjadi, namun diperkirakan tidak akan mempengaruhi stabilitas dari protein kimerik, karena epitop tidak mengalami modifikasi biokimiawi.

Saran. Perlu dilakukan penelitian *in silico* lanjutan untuk mengetahui vektor plasmid apa yang paling cocok untuk mengekspresikan cVLP pada *host* sel eukariot. Perlu dilakukan penelitian *in vitro* untuk mengkonstruksi cVLP HPV L1 yang diekspresikan pada suatu *host* eukariot yang sesuai. Setelah cVLP berhasil diproduksi, dapat dilakukan penelitian *in vivo* untuk menguji imunogenitas cVLP pada hewan percobaan, misalnya pada kelinci atau mencit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur Direktorat Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Ditjen Dikti-Depdiknas, atas bantuan keuangan pada penelitian ini berdasarkan surat Nomor: 011/SP3/PP/DP2M/II/2006 (Hibah Pasca). Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Dr. Jarnuzi Gunlazuardi, atas dukungannya terhadap riset ini.

Daftar Acuan

- [1] A. Beskow, Genetic Risk Factor for Cervical Carcinoma in situ, Acta Universalis Upsaliensis, Upsala, 2003.
- [2] <http://www.depkes.go.id>, 27 Mei 2006.
- [3] B.R. Glick, J.J. Pasternak, Molecular Biotechnology; Principles and Applications of Recombinant DNA, ASM Press Washington D.C, Washington D.C, 1990.
- [4] A. Kolls, J. Sherris, HPV Vaccines: promises and challenges, PATH, Seattle, 2000.
- [5] D. Voet, J.G. Voet, Biochemistry, John Wiley & Sons Inc, New York, 1995.
- [6] U. Kulkarni-Kale, S. Bhosie, A.S. Kolaskar, Nucleic Acid Research, vol. 33, No. 3 (2005) 4322-4330.
- [7] N. Guex, M.C. Peitsch, Electrophoresis 18 (1997) 2714-2723.
- [8] T. Schwede, J. Kopp, N. Guex, M.C. Nucleic Acids Research 31 (2003) 3381-3385.
- [9] J.J. Carter, G.C. Wipf, S.F. Benki, N.D Christensen, D.A. Galloway, Journal of Virology (2003) 11625-11632.

- [10] A. Zajakina, T. Kozlovska, R. Bruvere, J. Aleksejeva, P.Pumpens, H. Garoff. *Journal of General Virology* (2004) 3343-3351.
- [11] M. Perez-Losada, R.G. Christensen, D.A. McCellan, B.J. Adams, R.P. Viscidi, J.C. Demma, K.A. Crandall, J. *Virology* (2006) 5663-5669.
- [12] R.D. Marshall, *Annu. Rev. Biochem* 41 (1972) 673-702.

