

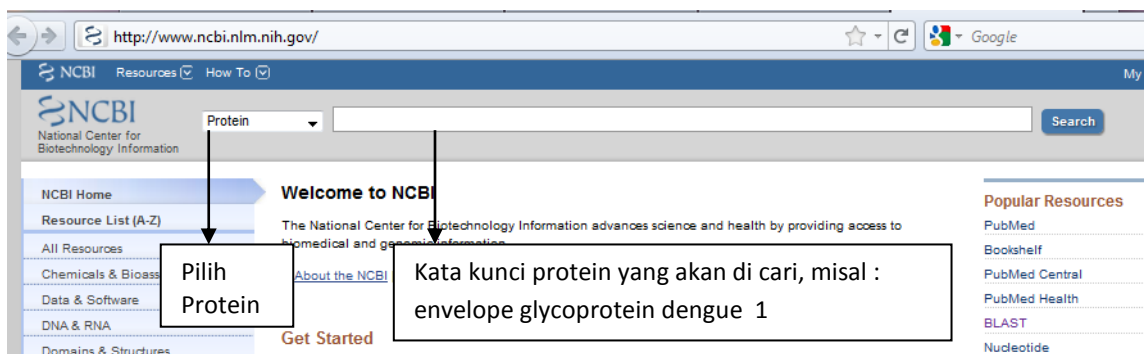
METODE DESAIN VAKSIN (PENDEKATAN BIOINFORMATIKA)

Bioinformatika merupakan suatu metode yang memadukan antara teknologi komputasi dengan biologi molekuler yang memungkinkan kita untuk melakukan sebuah simulasi molekuler dengan akurasi hasil yang cukup tinggi. Metode ini telah banyak dikembangkan untuk kepentingan berbagai bidang, salah satunya adalah untuk desain vaksin. Jika dibandingkan dengan penelitian di Laboratorium, desain vaksin dengan menggunakan pendekatan bioinformatika ini memiliki beberapa keunggulan diantaranya : lebih cepat, hasilnya memiliki akurasi yang tinggi, biaya dapat ditekan dan simulasi molekuler dapat dilihat lebih jelas.

Desain vaksin dengan pendekatan Bioinformatika dapat dilakukan dengan beberapa metode sebagai berikut :

1. Pencarian Data Protein

Data yang akan digunakan dalam analisis dicari melalui National Centre of Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan kata kunci sesuai dengan data protein yang akan digunakan dalam penelitian seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Tampilan NCBI

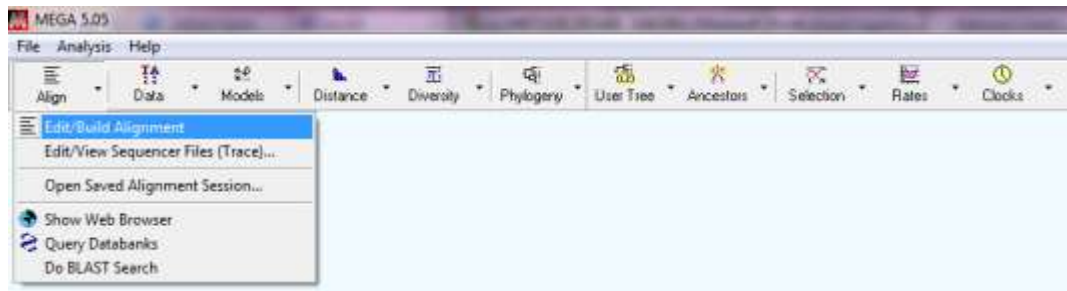
Data yang diperoleh kemudian disimpan dalam bentuk FASTA pada Notepad untuk kemudian digunakan pada seleksi data.

Apabila vaksin yang akan di desain spesifik terhadap reseptor-reseptor tertentu, maka perlu dicari kristal struktur 3 dimensi dari reseptor tersebut melalui Protein Data Bank (PDB) (<http://www.pdb.org/>).

2. Seleksi Data dengan Alignment (Pensejajaran)

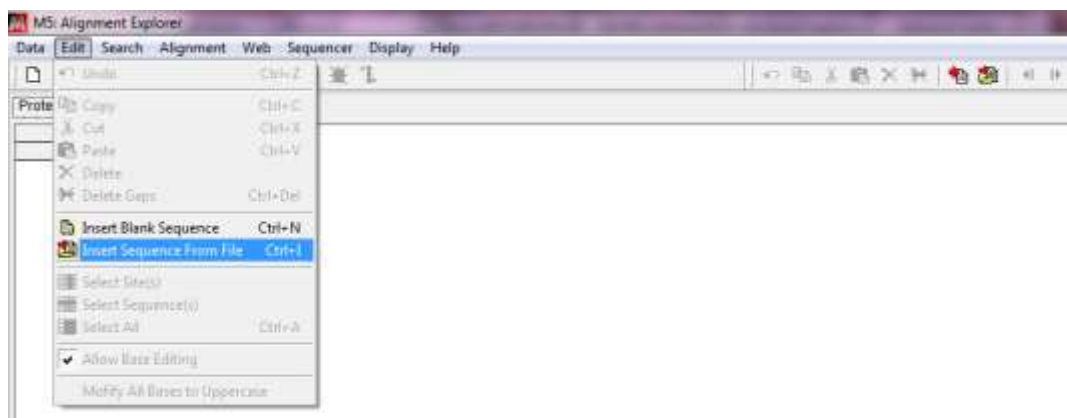
Alignment dilakukan untuk pensejajaran sekuen-sekuen protein sampel. Alignment protein dapat dilakukan dengan menggunakan software MEGA 5.05 (metode Clustal W)

seperti pada gambar 2. Alignment pada clustal W ini dilakukan dengan metode pairwise dan multiple alignment.



Gambar 2. Tampilan software MEGA 5.05

Alignment dilakukan dengan langkah sebagai berikut : Align → Edit /Build Alignment → Create a new alignment (pada menu Alignment editor) → Ok → Protein (pada menu data type for alignment) hingga muncul tampilan Alignment Explorer seperti pada gambar 3.



Gambar 3. Tampilan Alignment Explorer MEGA 5.05

Langkah berikutnya adalah sebagai berikut : Edit → insert sequence from file → memilih data FASTA yang telah disimpan sebelumnya → block data → Alignment → Align by Clustal W → OK (pada Clustal W parameter). Hasil alignment kemudian digunakan untuk seleksi varian sample (dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan analisis filogenetik dengan metode Maximum Likelihood Tree).

Untuk meminimalkan jumlah sampel, hasil seleksi sekuen dapat diseleksi kembali berdasarkan struktur 2 dan 3 dimensinya. Seleksi berdasarkan struktur 2 dimensi dapat dilakukan dengan menggunakan server alignment 2 dimensi DIALIGN (<http://dialign-sec.gobics.de/submission>). Sedangkan untuk alignment 3 dimensi dapat dilakukan dengan menggunakan software Pymol.

3. Modeling Protein

Modeling protein dilakukan untuk memodelkan struktur 3 dimensi dari data sekuen yang akan digunakan dalam penelitian. Secara umum modeling protein ini dilakukan berdasarkan metode homology modeling. Metode ini dapat dilakukan baik dengan menggunakan template atau tanpa menggunakan template. Template yang digunakan dalam homology modeling merupakan sekuen dari protein yang akan diteliti yang sebelumnya struktur telah dikristalkan dalam Protein Data Bank (PDB). Homology modeling dapat dilakukan melalui beberapa server, diantara adalah Swissmodel (<http://swissmodel.expasy.org>) dan PS2 (Protein Prediction Structure Server) (<http://ps2.life.nctu.edu.tw>). Kedua server ini didasarkan pada metode MODELER. Hasil homology modeling dapat divisualisasikan pada Pymol atau Chimera.

4. Analisis Docking

Analisis docking merupakan suatu analisis yang dilakukan untuk mengetahui bagian dari protein ligan dan protein reseptor yang berinteraksi. Analisis docking memungkinkan beberapa alternatif interaksi dari kedua protein tersebut yang didasarkan pada energi pengikatan. Interaksi dengan energi pengikatan terkecil adalah interaksi yang dapat direkomendasikan untuk dijadikan model interaksi untuk analisis lebih lanjut. Analisis docking dapat dilakukan dengan beberapa software diantaranya : Hex, Autodock, Cluspro 2.0 dan lain sebagainya.

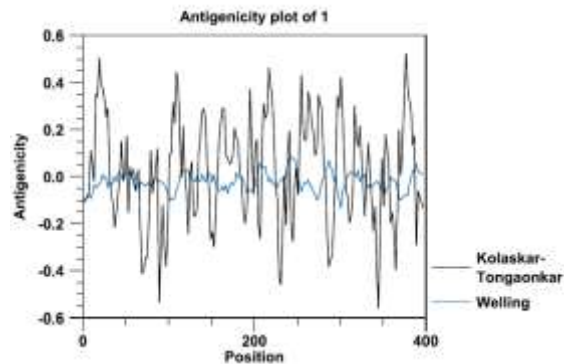
5. Analisis Interaksi Protein

Hasil yang diperoleh dari analisis docking merupakan hasil yang hanya menggambarkan posisi interaksi antara ligan dengan reseptor. Oleh karena itu dibutuhkan suatu upaya visualisasi untuk mengetahui residu-residu protein yang berinteraksi melalui analisis interaksi protein. Analisis ini dapat dilakukan dengan menggunakan server Knowledge-based FADE and Contacts (KFC 2 Server) (<http://kfc.mitchell-lab.org>).

6. Analisis Antigenisitas

Protein-protein yang akan direkomendasikan sebagai kandidat vaksin harus mempunyai antigenisitas tinggi. Oleh karena itu setiap sampel sekuen protein harus diuji antigenisitasnya untuk mengetahui secara jelas bagian-bagian dari sekuen protein yang memiliki kemampuan tinggi untuk menginduksi respon imun. Analisis antigenisitas dapat dilakukan dengan beberapa metode analisis, salah satunya adalah dengan menggunakan software CLC Main Workbench 5. Hasil analisis akan disajikan dalam bentuk grafik yang

disusun berdasarkan metode Kolaskar-Tongaonkar dan metode Welling seperti pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik hasil analisis antigenisitas untuk envelope glycoprotein virus dengue

7. Prediksi Epitope

Selain harus mempunyai antigenisitas tinggi, protein yang direkomendasikan sebagai kandidat vaksin juga harus memiliki potensi sebagai epitope. Untuk dapat menentukan metode yang digunakan dalam prediksi epitope, maka terlebih dahulu harus ditentukan sistem pathogenesis dari penyakit yang akan di desain vaksinnya. Sistem pathogenesis inilah yang nantinya akan menentukan epitop akan diprediksi berdasarkan epitope sel B atukah epitope sel T. Prediksi kedua epitope tersebut dapat dianalisis dengan beberapa software Epitope Prediction, salah satunya adalah melalui software pada web server online Immune Epitope Database (IEDB) (<http://tools.immuneepitope.org/main/index.html>).

Prediksi epitope sel B adalah suatu metode yang dimaksudkan untuk memprediksi daerah protein yang dapat dikenali sebagai epitope sehubungan dengan respon terhadap sel B. Prediksi epitope sel B dapat dilakukan dengan dua metode yaitu : metode linier dan metode konformasional (discotope). Pada hasil prediksi dengan metode linier akan ditunjukkan beberapa desain epitope pada jumlah asam amino yang berbeda. Sedangkan pada metode konformasional, hasil prediksi akan ditunjukkan oleh masing-masing asam amino yang diprediksikan berpotensi sebagai epitope.

Berbeda halnya dengan prediksi epitope sel B, prediksi epitope sel T didasarkan pada prediksi pengikatan terhadap MHC I dan MHC II. Oleh karena itu dalam pathogenesis harus diketahui terlebih dahulu MHC spesifik yang akan ditampilkan pada patogenesisnya. Sehingga harus diketahui secara pasti tipe dan kelompok alel MHC yang ditampilkan. Hasil prediksi berdasarkan MHC I dan MHC II memiliki perbedaan dalam hal penentuan skor. Untuk analisis berdasarkan MHC I, semakin rendah skor maka semakin baik pengikatannya (diperhatikan pada skor di bawah 20%), sedangkan pada analisis

berdasarkan MHC II, semakin tinggi skor maka semakin baik pengikatannya (diperhatikan pada skor diatas 80%).

Hasil prediksi epitope kemudian dikonfirmasi kembali dengan hasil analisis antigenisitas dan analisis hasil interaksi. Jika hasil ketiganya sinkron, maka dapat diuji lebih lanjut dengan analisis BLAST.

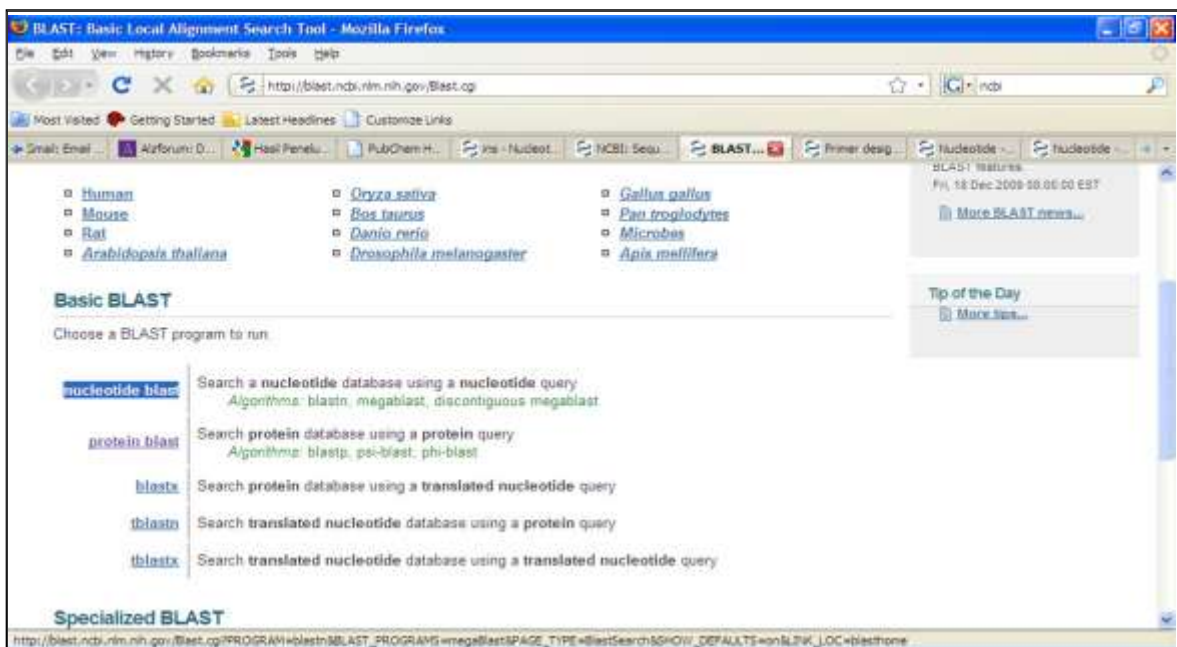
8. Analisis BLAST

Hasil prediksi epitope yang direkomendasikan kemudian dianalisis lebih lanjut dengan analisis BLAST menggunakan perbandingan data protein manusia. Hasil analisis yang direkomendasikan adalah hasil analisis dengan nilai kesamaan yang rendah terhadap protein manusia. Hal ini dilakukan untuk menghindari adanya respon autoimun dari tubuh pasien yang akan menerima vaksin. Pada pembacaan hasil BLAST perlu diperhatikan untuk skor hasil diatas 70% apakah terdapat sekuen yang memiliki kesamaan terhadap reseptor-reseptor tertentu manusia khususnya yang berada pada permukaan sel. Analisis ini dapat dilakukan melalui program BLAST pada NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/v/Blast.cgi>).

Aplikasi BLAST

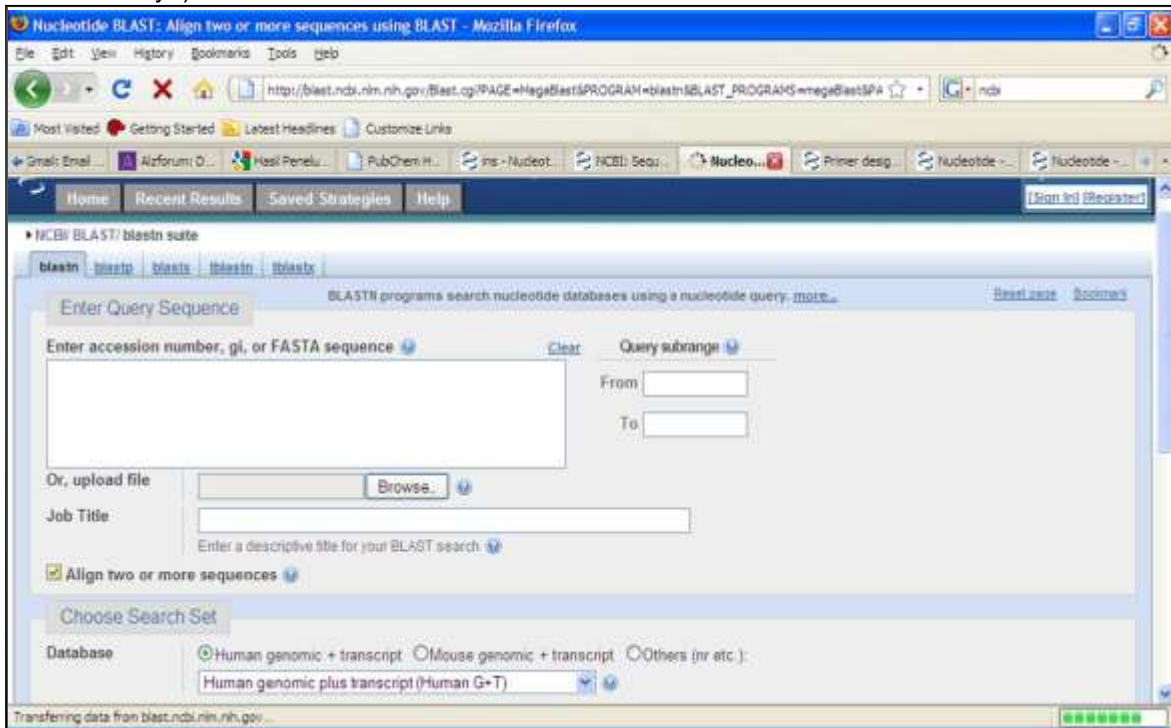
Langkah-langkah menggunakan BLAST ditunjukkan pada alur metode berikut, pada contoh kali ini digunakan molekul INS dari *Homo sapiens* dan *Mus musculus*:

- Buka halaman awal NCBI dan pilih BLAST seperti pada tampilan berikut.

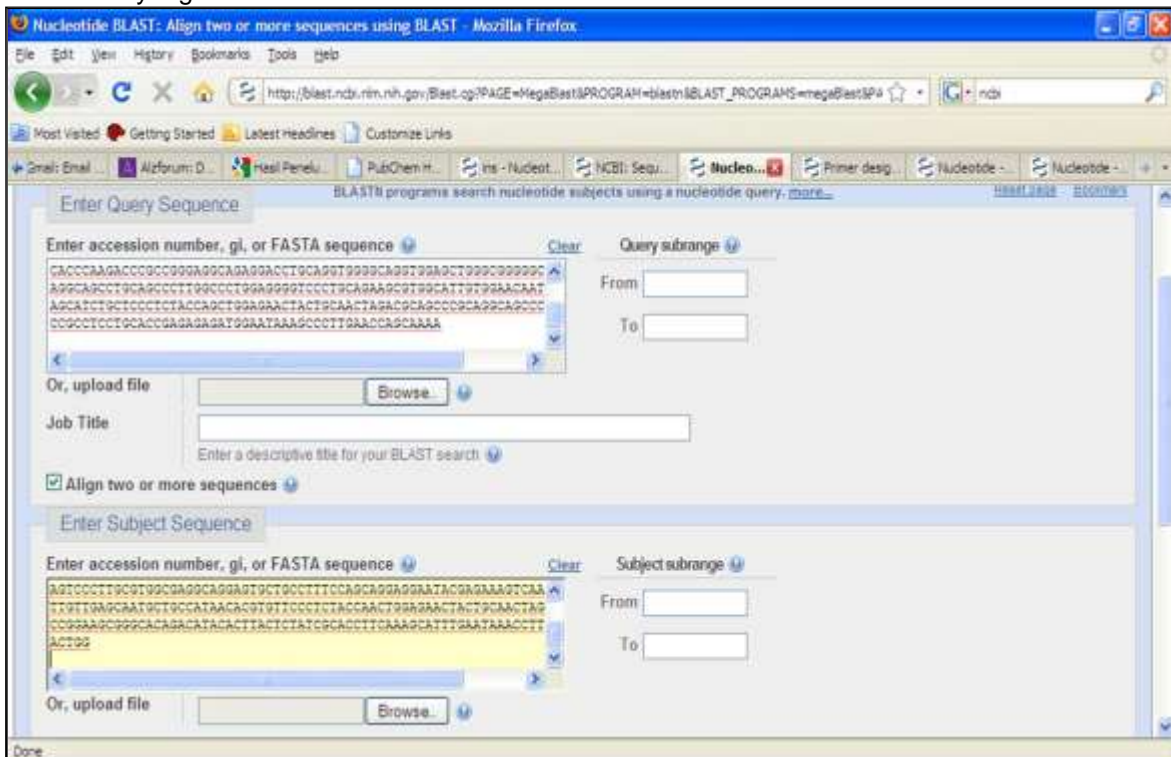


- Pada tampilan tersebut, terdapat beberapa pilihan penyejajaran, antara lain program BLAST untuk nukleotida dan untuk protein. Pada modul ini diberikan contoh BLAST untuk nukleotida

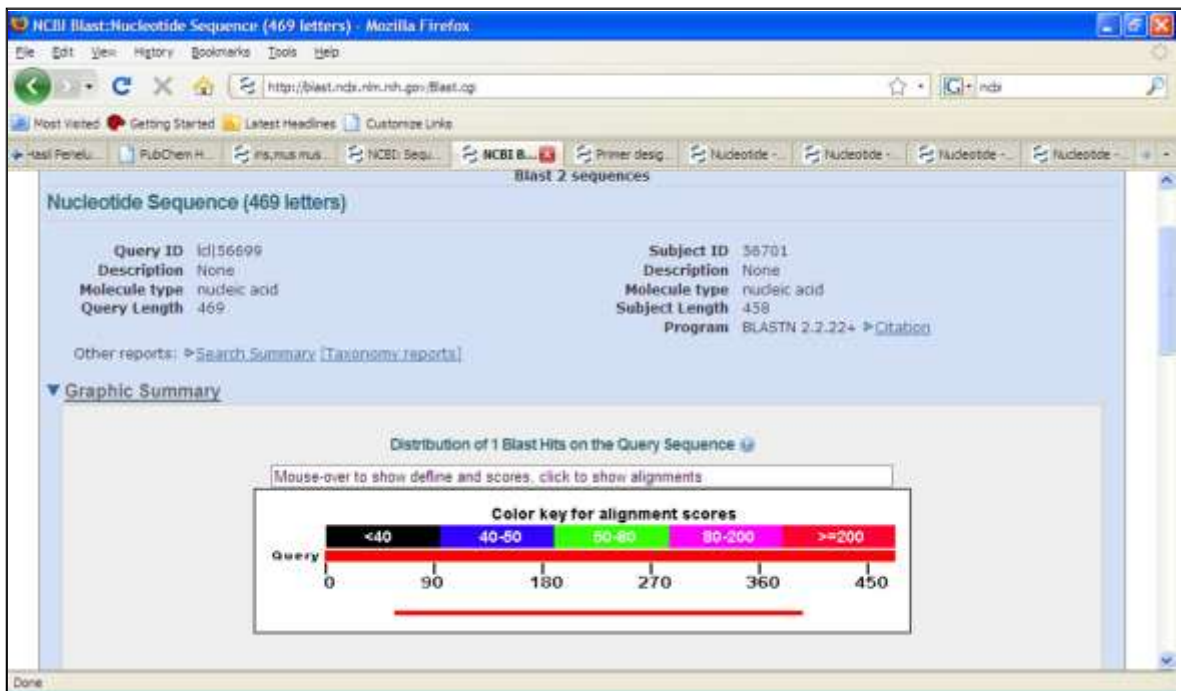
dari INS *Homo sapiens* dan *Mus musculus*. (Pencarian sekuen mengikuti langkah-langkah sebelumnya)



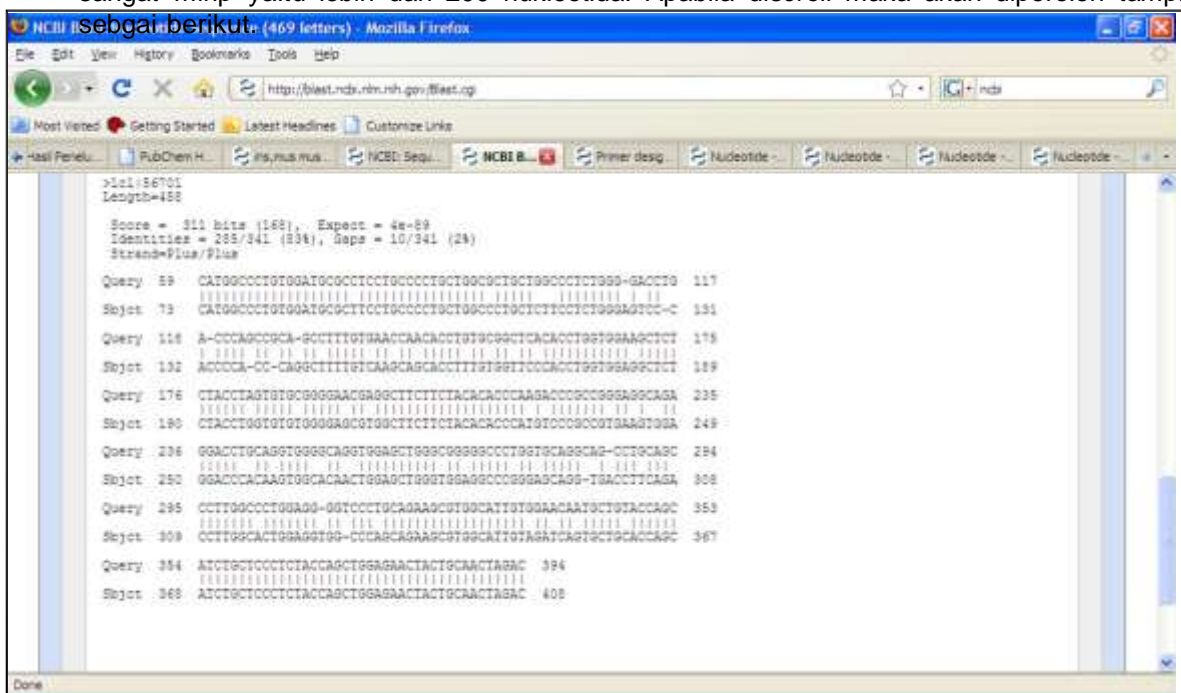
- c. Klik kolom **Align two or more sequences** untuk membandingkan 2 sekuen nukleotida. Kemudian dimasukkan sekuen yang ingin dibandingkan pada kolom yang telah tersedia. Sekuen yang dimasukkan harus dalam format FASTA.



- d. Setelah sekuen dimasukkan diklik tanda **BLAST** pada bagian bawah, maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut.



- e. Pada tampilan tersebut terdapat suatu skala yang menunjukkan tingkat kesamaan sekuen yang dibandingkan. Berdasarkan hasil tampilan tersebut terdapat suatu garis berwarna merah, hal ini menunjukkan bahwa kedua sekuen tersebut memiliki urutan yang sangat mirip yaitu lebih dari 200 nukleotida. Apabila discroll maka akan diperoleh tampilan sebagai berikut.



- Pada tampilan tersebut dapat diartikan sebagai berikut:
- Kedua sekuen tersebut memiliki kesamaan lebih dari 83%
 - Bagian-bagian dari kedua sekuen yang tidak dihubungkan suatu garis vertical, menunjukkan letak perbedaan dari kedua sekuen tersebut.