

Analisis In Silico Capsid Scaffold Protein Virus Herpes Simpleks-1 Untuk Pengembangan Vaksin Herpes

Opik Taupiqurrohman^{1*}, Anneke Noviyanti², Muhammad Yusuf^{2,3}, Toto Subroto^{2,3}

¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung, Jln. A.H. Nasution No.105 Bandung

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung-Sumedang Km. 21. Sumedang

³Pusat Riset Bioteknologi Molekular dan Bioinformatika, Universitas Padjadjaran, Jln. Singaperbangsa No. 2. Bandung

*Penulis korespondensi: taupiqurrohman@fst.uinsgd.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v5.n1.12817>

Abstrak: *Capsid scaffold protein* merupakan salah satu protein virus herpes simpleks 1 yang potensial sebagai sumber kandidat vaksin peptida untuk penyakit herpes. Hal ini dikarenakan *Capsid scaffold protein* bersifat lestari pada semua jenis virus herpes manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan urutan peptida kandidat vaksin herpes dari *Capsid scaffold protein*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis *in silico* melalui pendekatan vaksinologi terbalik menggunakan program Vaxign dan Autodock Vina. Hasil analisis menunjukkan bahwa urutan peptida GLSQHYPPHV dari *Capsid scaffold protein* merupakan kandidat yang terbaik sebagai vaksin herpes berbasis peptida.

Kata kunci: *Capsid Scaffold Protein*, vaksin peptida, Virus Herpes Simpleks-1

Abstract: *Capsid protein scaffold is one of the herpes simplex-1 virus proteins which potentially can be used as a source of peptide vaccine candidate for herpes disease. The capsid protein scaffold is conserved in all types of herpes virus in humans. This study aims to find a peptide sequence of a herpes capsid protein scaffold. The method used in this study was the in silico analysis on reverse vaccinology approach using Vaxign and Autodock Vina program. The result showed that the sequence GLSQHYPPHV of capsid scaffold protein is the most potential candidate for herpes peptide-based vaccine.*

Keywords: *Capsid Scaffold Protein, peptide vaccine, Herpes Simplex-1 Virus*

PENDAHULUAN

Herpes merupakan salah satu jenis penyakit kulit dan kelamin. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi virus herpes simpleks. Virus herpes simpleks terbagi pada dua jenis yaitu virus herpes simpleks 1 (*HSV-1*) dan virus herpes simpleks 2 (*HSV-2*). Kedua virus ini merupakan patogen pada manusia, penyebab beberapa penyakit immunopatologi seperti infeksi kulit ringan seperti herpes labialis dan herpes genital.

Jumlah pasien yang terinfeksi virus herpes simpleks mengalami peningkatan secara signifikan sejak pertengahan tahun 1960. Pada tahun 2009, penyebaran HSV pada orang dewasa di Amerika Serikat mencapai 68%. Sementara itu, di negara berkembang tingkat penyebaran HSV lebih tinggi, misalnya di Afrika, penyebaran HSV berkisar antara 30%-80% pada wanita dan 10%-50% pada laki-laki (Anzivino *et al.* 2009). Berdasarkan laporan WHO (*World Health Organization*) pada tahun 2012, diperkirakan 3,7 juta orang di dunia terinfeksi virus HSV-1. Prevalensi infeksi tertinggi berada di Afrika (87%) dan terendah di Amerika (40-50%) (WHO, 2017).

Upaya pencegahan infeksi virus yang efektif adalah vaksin. Perkembangan teknologi vaksin terbaru adalah vaksin berbasis peptida atau vaksin epitop. Teknologi ini berkembang sejalan dengan perkembangan era genomik. Diawali pada tahun 1995 dengan dipublikasikannya urutan genom utuh mikroba untuk pertama kali. Urutan genom yang mengandung informasi genetik telah dapat digunakan untuk pengembangan vaksin yang sebelumnya tidak dapat dilakukan melalui teknologi konvensional. Vaksin berbasis epitop menghindarkan penggunaan mikroba utuh sehingga hasilnya sangat aman digunakan (Moyle & Toth 2008). Vaksin epitop disintesis berdasarkan informasi dari serangkaian analisis *in silico* melalui pendekatan imunoinformatika. Dasar pendekatan imunoinformatika adalah identifikasi peptida patogen yang memiliki afinitas tinggi terhadap *Major Histocompatibility Complex* (MHC)/*Human Leukocyte Antigen* (HLA) dengan syarat peptida tersebut berasal dari sumber (gen/protein) yang lestari diantara varian patogen sejenis, dan tidak

homolog dengan genom/protein manusia (Khan *et al.* 2006).

Protein UL26.5 atau *capsid scaffold protein* berperan penting dalam proses pembentukan kapsid pada *HSV-1* dan merupakan vektor virulensi yang penting dalam patogenesis virus herpes, yaitu berhubungan dengan transfer materi genetik virus terhadap inangnya. Selain itu juga *capsid scaffold protein* lestari pada semua jenis virus herpes pada manusia (Xiang & He 2013). Sehingga, protein tersebut berpotensi dijadikan sebagai vaksin untuk semua virus herpes pada manusia. Berdasarkan hal tersebut, *capsid scaffold protein* sangat berpotensi untuk dianalisis lebih lanjut dalam pengembangan vaksin herpes berbasis peptida. Program *Vaxign* dapat digunakan untuk memprediksi peptida yang akan dijadikan sebagai kandidat vaksin (Xiang & He 2013). Selain itu, teknik penambatan molekul (*molecular docking*) dapat digunakan untuk memprediksi interaksi molekuler yang lebih jelas antara peptida dengan molekul MHC. Pada tahun 2016, Zahroh dkk juga telah mengaplikasikan metode imunoinformatika untuk merancang vaksin berbasis epitop untuk bakteri penyebab penyakit meningitis (Zahroh *et al.* 2016).

BAHAN DAN METODE

Analisis peptida self dan non-self

Urutan *protein capsid scaffold* dari virus HSV-I dianalisis menggunakan *server Protein Blast (BLASTp)* dari *server* NCBI untuk mendapatkan peptida *self* dan *non-self*. Urutan asam amino yang menunjukkan peptida *non-self* dipilih untuk analisis selanjutnya.

Prediksi epitop-binding MHC kelas I

Protein yang menunjukkan *non-self* dianalisis menggunakan program *Vaxitop* dengan nilai *P-value cutoff* sebesar 0,05 (nilai *default*) untuk memprediksi *epitope-binding MHC* kelas I. Kemudian hasil dari *Vaxitop* akan dibandingkan dengan hasil dari IEDB dengan $IC_{50} < 500$ yang berikatan pada alel MHC

kelas I. Dipilih epitop yang mempunyai nilai IC_{50} terkecil dengan nilai *P-value cutoff* $< 0,05$.

Prediksi epitop-binding MHC kelas II

Protein yang sama dengan prediksi *epitope-binding MHC I* dianalisis juga menggunakan program *Vaxitop* dengan *P-value cutoff* 0,05 untuk memprediksi *epitope-binding MHC* kelas II. Kemudian hasil dari *Vaxitop* akan dibandingkan dengan hasil dari IEDB dengan $IC_{50} < 500$ yang berikatan pada alel kelas II. Dipilih epitop yang mempunyai nilai IC_{50} terkecil dengan nilai *P-value cutoff* $< 0,05$.

Penambatan molekul

Untuk mengetahui interaksi molekuler antara peptida terpilih dan MHC dilakukan dengan teknik penambatan molekul (Zahroh *et al.* 2016). Sebelumnya dilakukan validasi metode penambatan molekul dengan cara *docking* ulang ligan (peptida) yang terkristal dalam struktur MHC I (kode PDB 10A7) terhadap reseptornya (MHC I) menggunakan program *AutoDock Vina* dengan parameter *default*, yaitu nilai *exhaustiveness* 8, dan rentang energi maksimal 3 kcal/mol. Nilai RMSD menjadi acuan validitas metode penambatan molekul. RMSD dibawah atau sama dengan 2,5 Å berkategori valid (Antunes *et al.* 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Peptida Self dan Non-self

Analisis *BLASTp* dilakukan untuk membedakan protein *self* dan *non-self* antara urutan asam amino protein manusia dengan urutan asam amino protein patogen sebagai sumber kandidat vaksin. Gambar 1 menunjukkan bahwa *protein capsid scaffold* dari virus *HSV-1* memiliki tingkat kesamaan yang rendah dengan urutan asam amino protein pada manusia (26%). Hal ini menunjukkan bahwa *protein capsid scaffold* dari virus *HSV-1* merupakan protein *non-self* dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat vaksin peptida.

RecName: Full=Zinc finger homeobox protein 4; AltName: Full=Zinc finger homeodomain protein 4; Short=ZFH4 [Homo sapiens]
 Sequence ID: sp|Q86UP3.1|ZFH4_HUMAN Length: 3567 Number of Matches: 1
 Range 1: 2290 to 2430

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
32.3 bits(72)	1.1()	Composition-based stats.	41/156(26%)	55/156(35%)	15/156(9%)	
Features:						
Query	441	CGRDEPDRDFPYPGEARPEPRFVDSRRAARQASGPHETITALVGAVTSLQQLAHMRAR				500
Sbjct	2290	CYKDEDD-----DAQDESQTEDSDMDATDQVVYKHCCTVSGQTDAAKNAAPAASSGSG				2341
Query	501	THAPYGPYPFVGPYHHPHADTETPAQPPRYPAKAVYLPPPHIAPPGLSGAVPPPSYPP				560
Sbjct	2342	TSTPLIP---SPKPEPEKTSPPKPEYPAEKPKQSDPSPPSQGTPKALPLAST---SSDPP				2394
Query	561	VAVTPGPAPPLHQPSPAHAHPPPPPPGTPPPAASL				596
Sbjct	2395	QASTAQPPQPPQPPKQPLIGRPPSASQTTPVPSPL				2430

Gambar 1. Hasil *BLASTp capsid scaffold protein HSV-1* dengan protein manusia

Prediksi epitope-binding MHC kelas I

Epitop sel T (peptida) yang berikatan dengan *MHC* kelas I adalah epitop nonamer atau peptida yang berjumlah sembilan atau sepuluh asam amino. Urutan asam amino *capsid scaffold protein* diprediksi dengan metode *Vaxitop* dalam server *Vaxign*. Nilai *P-value* < 0,05 yang ditampilkan pada *Vaxitop* menunjukkan afinitas yang tinggi. Selanjutnya hasil dari *Vaxitop* dibandingkan dengan hasil analisis dari *IEDB* (*Immune Epitope Data Base*). Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) dengan nilai $IC_{50} < 500$ nM, $500 < IC_{50} < 1500$, dan $1500 < IC_{50} < 5000$ termasuk dalam kategori afinitas tinggi, sedang, dan rendah secara berturut-turut. Sedangkan peptida dengan nilai $IC_{50} > 5000$ tidak memiliki afinitas terhadap *MHC* I alel manapun (*non-binder*). IC_{50} merupakan ukuran konsentrasi inhibitor yang diperlukan untuk menghambat 50% dari suatu aktivitas biologis, yang dalam hal ini adalah replikasi virus secara in vitro (Tong *et al.* 2007). Epitop dari *capsid scaffold protein HSV-I* hasil prediksi dari server *Vaxign-Vaxitop* yang berikatan dengan *HLA A*0201* dengan nilai *P-value* < 0,05 ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis epitop menggunakan *Vaxitop* dengan urutan *P-value* terendah untuk *capsid scaffold protein*

Urutan Asam Amino	<i>P-value</i>
ALMGAVTSL	0,0035
VLFSGPSPL	0,0047
GLSQHYPPHV	0,0212
HQYPGVLFSG	0,0267
DLFVSQMMGA	0,0495

Tabel 2. Hasil prediksi epitop *MHC* kelas I pada *HSV-I* yang diperoleh dari server *Vaxitop* dan *IEDB*

Urutan	<i>P-value</i>	IC_{50} IEDB (nM)
GLSQHYPPHV	0,0212	1,05
HQYPGVLFSG	0,0267	5,40
DLFVSQMMGA	0,0495	4,45

Epitop yang memiliki nilai *P-value* < 0,05 menunjukkan bahwa terdapat lima epitop yang diprediksi memiliki nilai afinitas ikatan yang tinggi terhadap *MHC I* (Tabel 1). Kemudian, kelima epitop tersebut dibandingkan dengan hasil analisis dari server *IEDB* yang diperoleh melalui beberapa saringan, yaitu pemotongan proteasom, transporter (TAP), dan pengikatan *MHC* dengan nilai $IC_{50} < 500$ nM. Epitop yang diambil berada pada daerah peptida *non-self*. Hasil kombinasi kedua analisis tersebut

menghasilkan tiga epitop *MHC* kelas I yang diprediksi memiliki afinitas yang tinggi (Tabel 2).

Prediksi epitope-binding MHC kelas II

Struktur molekul *MHC* kelas II lebih bersifat terbuka pada kedua ujungnya jika dibandingkan dengan *MHC* kelas I, sehingga memungkinkan untuk mengikat epitop yang lebih panjang yaitu 15 hingga 25 residu asam amino. Prediksi epitop *MHC* kelas II juga dilakukan menggunakan server *Vaxitop* dan *IEDB*. Hasil dari prediksi *Vaxign-Vaxitop* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil analisis epitop menggunakan *Vaxitop* dengan urutan *P-value* terendah untuk *capsid scaffold protein*

Urutan Asam Amino	<i>P-value</i>
GSYLWIPAS	0,0145
DLFVSQMMGA	0,0333

Tabel 4. Epitop sel T *MHC* kelas II untuk *capsid scaffold protein HSV-I* hasil seleksi dari metode *Vaxitop* yang dibandingkan dengan *IEDB*

Urutan Asam Amino	<i>P-value</i>	IC_{50} IEDB
GSYLWIPAS	0,0145	4,36

Epitop *MHC* kelas II dengan urutan asam amino GSYLWIPAS diprediksi berikatan dengan *HLA DRB1 0101* oleh kedua server. *Vaxitop* memilih epitop tersebut karena memiliki nilai *P-value* < 0,05, atau diprediksi mempunyai nilai afinitas ikatan yang tinggi. Analisis *IEDB* juga menghasilkan epitop yang sama dengan nilai prediksi IC_{50} yang baik, yaitu sebesar 4,36 nM. Dalam literatur, epitop yang terikat pada *MHC* kelas II umumnya berjumlah antara 15 sampai 25 asam amino. Namun, berdasarkan hasil prediksi server *Vaxitop* dan *IEDB* diperoleh epitop dengan jumlah hanya sembilan asam amino. Hal ini disebabkan epitop yang diprediksi oleh *Vaxign* maupun *IEDB* adalah epitop inti yang benar-benar terikat pada kantung ikatan inti (*binding groove*) dari *MHC* kelas II, yang berjumlah sembilan asam amino saja.

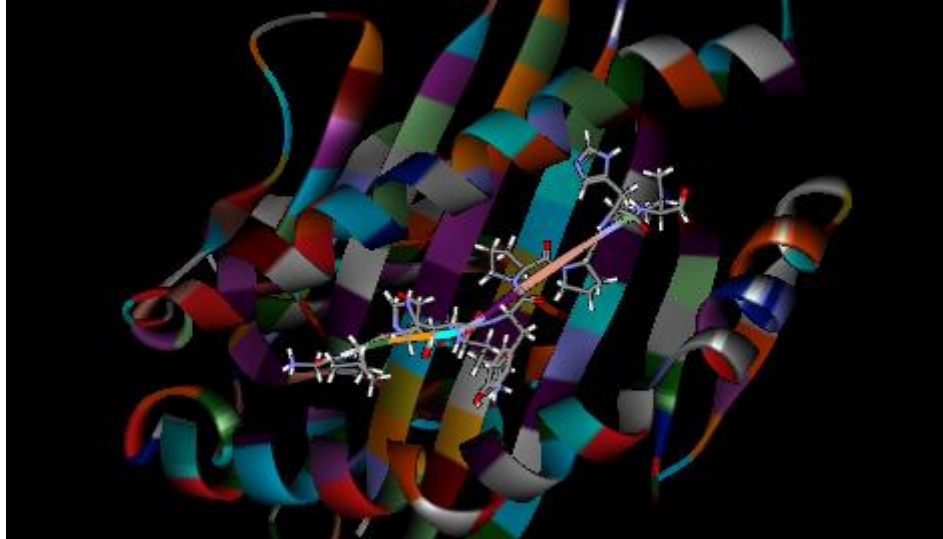
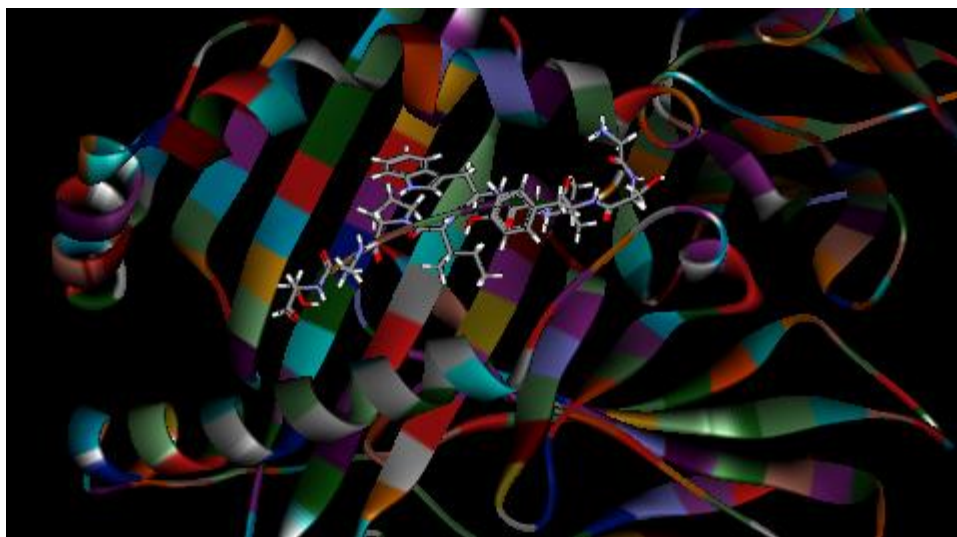
Penambatan molekul

Validasi penambatan molekul dilakukan sebanyak dua kali dan hasilnya menunjukkan nilai *RMSD* (*Root Mean Square Deviation*) rata-rata sebesar 1,516 Å (Tabel 5).

Berdasarkan nilai *RMSD* hasil penambatan molekul yang digunakan tervalidasi karena nilainya berada dibawah nilai *RMSD* yang baik untuk simulasi penambatan molekul peptida-*MHC* yaitu 2,5 Å (Antunes *et al.* 2010).

Tabel 5. Hasil validasi metode penambaran molekul

Ligan	Energi/ Kkal.mol		RMSD/Å			
			I	II	rata-rata	SD
1AO7	-10,8	-9,8	1,335	1,698	1,516	0,254

**Gambar 2.** Pose terbaik antara epitop GLSQHYPPHV untuk *HSV-I* dengan *HLA A*0201* hasil simulasi penambatan molekul.**Gambar 3.** Pose terbaik antara epitop GSYLWIPAS –*HLA DRB1*0101* hasil simulasi penambatan molekul.

Pada simulasi penambatan molekul antara epitop dengan *MHC* kelas I, dipilih epitop GLSQHYPPHV untuk *HSV-I* sebagai ligan dengan alel *HLA A*0201* sebagai reseptor. Pose terbaik dari simulasi penambatan molekul diambil berdasarkan nilai energi dan RMSD terbaik dari semua pose, yaitu masing-masing -9,50 kkal/mol dan 1,035 Å. Energi ikatan dan RMSD yang rendah menunjukkan ikatan yang kuat antara epitop dan *MHC*. Nilai RMSD < 2,5 Å menunjukkan bahwa jarak simpangan ikatan atom-atom ligan yang terikat pada *MHC* tidak terlalu jauh.

Pose terbaik antara epitop GLSQHYPPHV dengan *MHC* dapat dilihat pada Gambar 2.

Interaksi molekular antara epitop *MHC* kelas II dengan reseptor *HLA DRB1*0101* juga diprediksi dengan simulasi penambatan molekul, menggunakan metode yang sama dengan epitop *MHC* kelas I. Pose terbaik dari simulasi penambatan molekul diambil berdasarkan nilai energi dan RMSD terbaik dari semua pose, yaitu masing-masing -6,90 kkal/mol dan 1,962 Å. Hasil yang diperoleh dari simulasi penambatan molekul dapat dilihat pada Gambar 3.

Epitop GSYLWIPAS terikat pada *pocket* 1,4,6,7 dan 9 MHC kelas II.

Uji self-tolerance berfungsi untuk mengetahui kemampuan dari sistem imun tubuh agar tidak menyerang jaringan normal pada tubuh. Sistem imun harus mampu membedakan bagian yang harus dilindungi dan tidak dilindungi. Berdasarkan hasil analisis BLASTp, *capsid scaffold protein* dapat dijadikan sebagai sumber kandidat vaksin karena memiliki tingkat identity yang kecil dengan urutan asam amino pada manusia. Untuk menghindari adanya respon autoimun dalam tubuh, maka harus dibedakan antara antigen *self* dengan antigen *non-self*. Antigen *self* harus dihilangkan, sementara yang *non-self* dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut. Respon autoimun diaktivasi secara spesifik oleh antigen *self* (*autoantigen*), dan menimbulkan sel efektor autoreaktif dan pembentukan antibodi (dinamakan *autoantibody*). Respon imun yang abnormal ini dapat bermacam-macam sindrom kronis yang dinamakan kelainan autoimun (Moss *et al.* 2009).

Epitop yang terikat kuat pada MHC kelas I akan membentuk kompleks dengan TCR (*T Cell Receptor*) dengan ko-reseptor CD8+ pada molekul MHC. Urutan peptida GLSQHYPPHV terindikasi memiliki ikatan yang kuat terhadap MHC kelas I, sehingga diprediksi dapat mengaktivasi sel T sitotoksik untuk respon imun selanjutnya. Sementara GSYLWIPAS sebagai peptida yang diprediksi berikatan kuat dengan MHC kelas II dapat mengaktivasi sel T penolong. Selanjutnya akan mengaktivasi respon imun humoral berupa teraktivasinya sel B sebagai respon terhadap senyawa sitokin atau limfokin hasil aktivasi sel T penolong (Xiang & He 2013).

KESIMPULAN

Urutan peptida GLSQHYPPHV dan GSYLWIPAS dari *capsid scaffold protein* HSV-1 merupakan kandidat vaksin peptida yang potensial untuk dikembangkan sebagai vaksin herpes.

Disarankan melakukan simulasi dinamika molekular untuk mengamati kestabilan peptida GLSQHYPPHV dan GSYLWIPAS terpilih terhadap MHC I dan MHC II. Setelah itu, uji *in vitro* dan *in vivo* terhadap urutan peptida terpilih juga perlu dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Antunes, D.A., Vieira, G.F., Rigo, M.M., Cibulski, S.P., Sinigaglia, M. & Chies, J.A. (2010). Structural allele-specific patterns adopted by epitopes in the MHC-I cleft and reconstruction of MHC: peptide complexes to cross-reactivity assesment. *PLoS ONE*. 5: 4-13.
- Anzivino, E., Fioriti, D., Mischitelli, M., Bellizzi, A., Barucca, V., Chiarini, F. & Pietropaolo, V.. (2009). Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. *Virology Journal*. 6: 40.
- Khan, A.M., Miotto, O., Heiny, A.T., Salmon, J., Srinivasan, K.N., Nascimento, E.J., Marques, E.T., Brusic, V., Tan, T.W. and August, J.T. (2006). A systematic bioinformatics approach for selection of epitope-based vaccine targets. *Cellular Immunology*. 244(2): 141-147.
- Moyle, P.M. & Toth, I. (2008). Self-adjuvanting lipopeptide vaccines. *Current Medicinal Chemistry*. 15(5): 506-516.
- Moss, W.J., Scott, S., Ndhlovu, Z., Monze, M., Cutts, F.T., Quinn, T.C. & Griffin, D.E. (2009). Suppression of human immunodeficiency virus type 1 viral load during acute measles. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 28(1): 63-65.
- Tong, J.C., Zhang, Z.H., August, J.T., Brusic, V., Tan, T.W. & Ranganathan, S. (2007). In silico characterization of immunogenic epitopes presented by HLA-Cw* 0401. *Immunome Research*. 3(1): 7.
- WHO. (2017). Herpes simplex virus. Diakses melalui web <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs400/en/> Diakses pada bulan Mei 2017.
- Xiang, Z. & He, Y. (2013). Genome-wide prediction of vaccine targets for human herpes simplex viruses using Vaxign reverse vaccinology. *BMC Bioinformatics*. 14(4): S2.
- Zahroh, H., Ma'rup, A., Tambunan, U.S.F. & Parikesit, A.A. (2016). Immunoinformatics approach in designing epitope-based vaccine against meningitis-inducing bacteria (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, and *Haemophilus influenzae* type b). *Drug Target Insights*. 10: 19-29.