

# Teknologi pengembangan vaksin berbasis vektor adenovirus

## *Vaccine development based on adenoviral vector*

Yenni Yusuf<sup>1)</sup>, Hartono<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

<sup>2)</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Makassar, Makassar

Email korespondensi: yennyusuf@med.unhas.ac.id

### ABSTRAK

*Teknologi pembuatan vaksin telah berkembang pesat terutama dalam hal metode penghantaran antigen ke dalam tubuh manusia atau pun hewan yang divaksinasi. Salah satunya adalah penggunaan vektor virus. Keunggulan vaksin yang menggunakan teknologi ini adalah tidak memerlukan tambahan adjuvant dalam administrasinya seperti halnya vaksin sub-unit protein. Selain itu juga memiliki kemampuan menginduksi respon imun seluler di samping respon imun humoral. Salah satu vektor virus yang telah banyak digunakan adalah adenovirus. Dalam sebuah studi kami menggunakan vektor human adenovirus serotipe 5 (Ad5) untuk membawa materi genetik parasit malaria yang berasal dari protein yang terletak di permukaan stadium sporozoite (sirkumsporozoit). Antigen yang dimasukkan ke dalam vektor virus adalah chimera dari dua strain Plasmodium vivax, yaitu VK210 dan VK247. Hasil pemeriksaan immunostaining menunjukkan bahwa adenovirus yang membawa antigen chimera tersebut dapat menginduksi ekspresi kedua protein pada kultur sel HEK 293A. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa vaksin malaria vivax berbasis vektor Ad5 dalam studi tersebut memiliki kemampuan dalam transduksi sel mamalia, yang merupakan syarat penting untuk uji coba lanjutan pada hewan coba. Adenovirus telah digunakan dalam uji coba vaksin malaria falciparum pada manusia dan juga dalam beberapa kandidat vaksin untuk COVID-19 yang dikembangkan di China dan Inggris.*

Kata kunci: vektor virus, adenovirus, vaksin berbasis vektor, sirkumsporozoit

### ABSTRACT

*Vaccine manufacturing technology has developed rapidly, especially in terms of the method of delivery of antigens to the human body or vaccinated animals. One of them is the use of virus vectors. The advantage of vaccines using this technology is that they do not require additional adjuvants in administration as well as the protein sub-unit vaccine. It also has the ability to induce cellular immune responses in addition to humoral immune responses. One of the virus vectors that has been widely used is adenovirus. In one study we used the human adenovirus serotype 5 (Ad5) vector to carry the genetic material of the malaria parasite derived from a protein located on the surface of the sporozoite stage (circumsporozoite). The antigen inserted into the viral vector was the chimera of two Plasmodium vivax strains, namely VK210 and VK247. The results of immunostaining showed that the adenovirus carrying the chimera antigen can induce the expression of both proteins in HEK 293A cell culture. Thus, it can be concluded that the Ad5 vector-based vivax malaria vaccine in this study has the ability to transduce mammalian cells, which is an important requirement for further trials in experimental animals. Adenovirus has been used in human trials of the falciparum malaria vaccine as well as in several vaccine candidates for COVID-19 being developed in China and the UK.*

keywords: viral vector, adenovirus, viral vectored vaccine, circumsporozoite

## PENDAHULUAN

Vektor virus adalah virus yang telah dimodifikasi sehingga tidak mampu bereplikasi namun dapat membawa materi genetik ke dalam sel. Untuk dapat menjadi vektor, virus harus memiliki kemampuan insersi sekuens DNA ke dalam genom sel secara stabil, dapat menginduksi respon imun yang bersifat protektif, memiliki fitur keamanan yang telah teruji, dan potensi untuk produksi dalam skala besar (Lauer, Borrow, & Blanchard, 2017). Contoh vektor virus adalah adenovirus, adeno-associated virus, atau pox virus. Salah satu keuntungan penggunaan vektor virus adalah kemampuan menginduksi respon imun non-spesifik (*innate immunity*) sehingga memiliki efek adjuvant dan menginduksi respon imun seluler seperti limfosit T sitotoksik yang penting untuk mengontrol patogen intra sel, seperti virus atau parasit malaria (Rollier, Reyes-Sandoval, Cottingham, Ewer, & Hill, 2011). Adenovirus serotipe 5 (Ad5) merupakan vektor yang paling banyak dievaluasi sekarang ini (Hartman, Appledorn, & Amalfitano, 2008; Rollier et al., 2011).

*Plasmodium vivax* merupakan salah satu penyebab malaria pada manusia yang paling luas distribusinya di seluruh dunia (Howes et al., 2016). Di Indonesia, prevalensi malaria akibat *P. vivax* hampir sama dengan *Plasmodium falciparum* (Surjadjaja, Surya, & Baird, 2016). Strain resisten klorokuin juga telah muncul sehingga diperlukan adanya alternative pemberantasan penyakit ini termasuk vaksin malaria. Dalam kajian ini kami melakukan investigasi kemungkinan penggunaan vektor adenovirus serotipe 5 (Ad5) untuk membawa antigen malaria *vivax* sebagai kandidat vaksin berbasis vektor virus.

## METODE

Antigen dari *P. vivax* dikonstruksi dengan menggabungkan kode genetik dari dua genotipe berdasarkan protein sirkumsporozoit, yaitu VK210 dan VK247 (Kaur et al., 2019). Penggabungan beberapa sekuens dari repeat region dari kedua genotipe tersebut di antara N terminal dan C terminal dari VK210 yang relatif sama dengan VK247 menghasilkan sebuah chimera PvCSP (gambar 1) yang kemudian diinsersikan ke dalam vektor Ad5 dengan modifikasi dari ViraPower™ Adenoviral Expression System, menghasilkan Ad5PvCSP.

Eksresi gen PvCSP diinvestigasi dengan melakukan immunostaining menggunakan antibodi anti-VK210 yang terkonjugasi dengan Alexa-fluor-594 dan anti-VK247 yang terkonjugasi dengan Alexa-fluor-488 pada sel HEK293A yang telah ditransduksi dengan Ad5PvCS. Sebelum pewarnaan, sel yang ditransduksi ditumbuhkan selama 48 jam lalu difiksasi dengan formalin 4%. Inti sel diwarnai dengan DAPI.

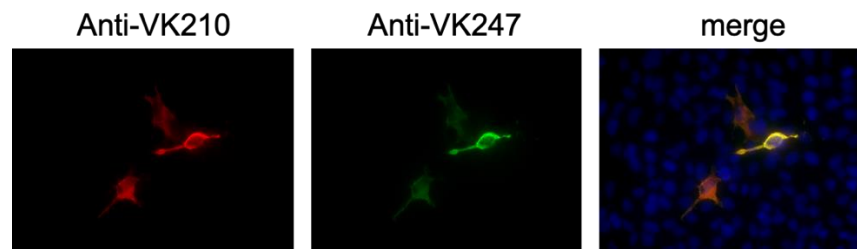


**Gambar 1. Konstruksi dari antigen sirkumsporozoit yang diinsersikan ke dalam vektor adenovirus.** (Keterangan : RR1 : sekuens dari repeat region genotipe VK210; RR2 : sekuens dari repeat region genotipe VK247; N term : N terminal; C term: C terminal).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Chimera dari VK210 dan VK247 berhasil diinsersikan ke dalam vektor adenovirus dan dipurifikasi. Kemampuan dari vektor virus yang membawa antigen untuk mengekspresikan antigen tersebut pada sel mamalia harus dievaluasi terlebih dahulu sebelum evaluasi vaksin pada hewan coba. Karena itu kami lakukan transduksi pada kultur sel HEK293A dengan

Ad5PvCSP kemudian memfiksasi sel dan melakukan immunostaining dengan antibodi terhadap kedua genotipe tersebut. Antibodi dikonjugasikan dengan alexa-fluor yang menghasilkan warna berbeda pada mikroskop fluoresens. Tampak hasil dari assay tersebut kedua genotipe dapat diekspresikan di permukaan sel dari HEK293A pada lokasi yang identik antara keduanya (gambar 2). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa Ad5 yang kami produksi memiliki kemampuan untuk memicu ekspresi antigen pada sel mamalia sehingga kemungkinan dapat memicu pembentukan antibodi terhadap sirkumsporozoit *P vivax* bila diinjeksikan ke dalam tubuh.



**Gambar 2. Ekspresi kedua protein sirkumsporozoite pada permukaan sel HEK293A.** (Keterangan : sel ditransduksi dengan Ad5PvCSP selama 48 jam lalu dilakukan pewarnaan dengan anti-VK247 yang terkonjugasi dengan alexa-fluor-488 (hijau) dan anti-VK210 yang terkonjugasi dengan alexa-fluor-594 (merah). Biru: DAPI )

Penggunaan adenovirus sendiri untuk vaksin malaria telah diproduksi menggunakan serotipe 35 (Ad35) dengan menginsersikan gen *Plasmodium falciparum* dan diujicobakan pada manusia sebagai injeksi primer pada booster RTS,S/AS01 yang merupakan kandidat vaksin utama untuk malaria falciparum (Ockenhouse et al., 2015). Hasil uji coba menunjukkan bahwa imunisasi dengan platform tersebut (ARR) memberikan hasil efikasi yang sama dengan tiga kali injeksi menggunakan RTS,S/AS01 (RRR).

Selain untuk malaria, vektor adenovirus juga telah digunakan dalam teknologi pengembangan vaksin untuk novel coronavirus disease (COVID-19). Pada vaksin yang telah melewati uji coba tahap kedua tersebut, digunakan vektor adenovirus manusia serotipe 5 (hAd5) dan adenovirus simpanse (ChAd) (Folegatti et al., 2020; Zhu et al., 2020). Hasil dari uji coba tahap kedua telah menunjukkan bahwa kedua vaksin tersebut selain memiliki efek samping minimal juga memiliki efikasi yang tinggi dalam menginduksi respon imun terhadap virus SARS-CoV 2 penyebab COVID-19.

## KESIMPULAN

Vektor adenovirus serotipe 5 dapat digunakan untuk mentransfer antigen dalam teknologi pengembangan vaksin terhadap penyakit-penyakit infeksi. Vaksin berbasis adenovirus memiliki efikasi dalam menginduksi respon imun spesifik terhadap antigen yang dibawa dan memiliki efek samping minimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Folegatti, P. M., Ewer, K. J., Aley, P. K., Angus, B., Becker, S., Belij-Rammerstorfer, S., . . . Yau, Y. (2020). Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *The Lancet*. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31604-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31604-4)

- Hartman, Z. C., Appledorn, D. M., & Amalfitano, A. (2008). Adenovirus vector induced innate immune responses: Impact upon efficacy and toxicity in gene therapy and vaccine applications. *Virus Research*, 132(1), 1-14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.10.005>
- Howes, R. E., Battle, K. E., Mendis, K. N., Smith, D. L., Cibulskis, R. E., Baird, J. K., & Hay, S. I. (2016). Global Epidemiology of Plasmodium vivax. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(6 Suppl), 15-34. doi:10.4269/ajtmh.16-0141
- Kaur, H., Sehgal, R., Kumar, A., Sehgal, A., Bharti, P. K., Bansal, D., . . . Sultan, A. A. (2019). Exploration of genetic diversity of Plasmodium vivax circumsporozoite protein (Pvcsp) and Plasmodium vivax sexual stage antigen (Pvs25) among North Indian isolates. *Malaria Journal*, 18(1), 308. doi:10.1186/s12936-019-2939-z
- Lauer, K. B., Borrow, R., & Blanchard, T. J. (2017). Multivalent and Multipathogen Viral Vector Vaccines. *Clinical and Vaccine Immunology*, 24(1), e00298-00216. doi:10.1128/CVI.00298-16
- Ockenhouse, C. F., Regules, J., Tosh, D., Cowden, J., Kathcart, A., Cummings, J., . . . Vekemans, J. (2015). Ad35.CS.01 - RTS,S/AS01 Heterologous Prime Boost Vaccine Efficacy against Sporozoite Challenge in Healthy Malaria-Naïve Adults. *PLOS ONE*, 10(7), e0131571. doi:10.1371/journal.pone.0131571
- Rollier, C. S., Reyes-Sandoval, A., Cottingham, M. G., Ewer, K., & Hill, A. V. S. (2011). Viral vectors as vaccine platforms: deployment in sight. *Current Opinion in Immunology*, 23(3), 377-382. doi:<https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.03.006>
- Surjadjaja, C., Surya, A., & Baird, J. K. (2016). Epidemiology of Plasmodium vivax in Indonesia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 95(6 Suppl), 121-132. doi:10.4269/ajtmh.16-0093
- Zhu, F.-C., Li, Y.-H., Guan, X.-H., Hou, L.-H., Wang, W.-J., Li, J.-X., . . . Chen, W. (2020). Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *The Lancet*, 395(10240), 1845-1854. doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)