

## Potensi Penghantaran Vaksin DNA dengan *Gene Gun* untuk Meningkatkan Imunitas terhadap Infeksi Patogen

Danardono Sumarsono<sup>1,\*</sup>, Gema Puspa Sari<sup>2</sup>,  
Satria Putra Santoso<sup>1</sup>, Fera Ibrahim<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Kampus UI Depok 16424, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Riset Virologi dan Kanker Patobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (PRVKP FKUI-RSCM), Gedung IASTH Lt. 8. Jalan Salemba Raya No.4. Jakarta Pusat 10430, Indonesia.

\*dasumarsono@gmail.com

\*feraib@yahoo.fr

### Abstrak

Vaksin DNA merupakan suatu jenis vaksin yang memanfaatkan plasmid hasil purifikasi yang membawa transgen pengkode protein atau peptida antigenik untuk menginduksi respon imun pada organisme yang divaksin agar terlindungi dari penyakit. Vaksin DNA memiliki beberapa banyak keunggulan yaitu mudah dan cepat untuk diproduksi dalam skala besar, memiliki stabilitas yang tinggi, dan mampu menginduksi respon imun humoral dan selular. Penghantaran vaksin DNA secara mekanik dengan menggunakan *gene gun* merupakan salah satu strategi untuk mengoptimasikan kemampuan vaksin DNA meningkat respon imun. Dengan menggunakan *gene gun*, jumlah DNA yang dibutuhkan untuk menghasilkan respon imun yang tinggi jauh lebih sedikit dibandingkan penghantaran vaksin DNA dengan menggunakan suntikan secara intradermal atau intramuscular. Hal ini disebabkan *gene gun* mampu menghantarkan plasmid DNA yang sudah dilapisi peluru ke dalam sel.

**Kata kunci:** vaksin DNA, *gene gun*, respon imun, sistem penghantaran mekanik.

### Pendahuluan

Vaksinasi merupakan strategi pencegahan paling ekonomis untuk menghadapi berbagai patogen dan agen infeksi berbahaya di seluruh dunia. Vaksin akan meniru proses infeksi alami sehingga akan menginduksi respon imun yang menghasilkan kemampuan proteksi pada pasien tanpa menimbulkan potensi efek bahaya pada pasien.

Vaksin yang saat ini telah tersedia di klinis, pada umumnya memanfaatkan organisme patogen yang dibunuh (*whole-killed*), dilemahkan (*live-attenuated*), atau bagian dari mikroorganisme patogen misalnya toksin yang sudah diinaktivasi.[1] Walaupun bermanfaat dalam mengendalikan atau eradicasi suatu penyakit, namun vaksin tersebut memiliki resiko efek samping pada individu tertentu yang sensitif. Selain itu, terdapat beberapa kendala diantaranya membutuhkan dana yang tinggi dan waktu produksi yang lama, biaya distribusi yang tinggi karena membutuhkan sistem pendingin, membutuhkan jarum untuk penghantarnya, atau hanya menginduksi

respon imun secara lemah atau sebagian saja.[2]

Vaksin DNA telah dikembangkan untuk meningkatkan keamanan dan efikasi vaksin dengan memanfaatkan teknologi biologis. Dengan vaksin DNA, plasmid pembawa transgen pengkode protein atau peptida yang bersifat antigen dari patogen yang digunakan. Plasmid yang kemudian diekspresikan oleh sistem eukariot pada inang (organisme yang divaksin) akan menginduksi respon imun humoral berupa antibodi yang diinisiasi oleh sel T CD4+ maupun respon imun humoral berupa sel T CD8+. [3]

Vaksin DNA memiliki beberapa keunggulan yaitu mudah dan cepat diproduksi dalam skala besar, memiliki stabilitas yang tinggi, dan mampu menginduksi respon imun humoral dan seluler. [4]

Walau mampu menginduksi respon imun humoral dan seluler, tingkat respon imun yang dihasilkan oleh vaksin DNA relatif rendah. Untuk meningkatkan respon imun, dilakukan beberapa optimasi secara biologis seperti 1)

optimasi penggunaan kodon agar terjadi peningkatan ekspresi pada sel mamalia [5]-[9], 2) optimasi konstruksi sekuens antigen untuk peningkatan jumlah peptida yang dihasilkan [10], 3) penambahan motif CpG [11][12] dan adjuvan [13] untuk meningkatkan imunogenisitas vaksin DNA, 4) penambahan *untranslated regions* (UTRs) agar terjadi peningkatan efisiensi translasi [14], 5) penambahan *nuclear targeting sequences* (NCS) untuk meningkatkan penghantaran DNA ke inti sel dan ekspresi dari gen reporter yang dibawa plasmid [1].

Banyak penelitian menunjukkan bahwa penghantaran DNA secara fisik dengan menggunakan *gene gun* ke dalam sel akan meningkatkan respon imun yang dihasilkan. Artikel ini akan membahas komponen-komponen penting pada *gene gun* yang mampu membuatnya menghantarkan DNA ke sel untuk menginduksi respon imun.

### Penghantaran DNA secara Fisik dengan Menggunakan *Gene Gun*

*Gene gun* menggunakan teknologi penghantaran partikel dengan kecepatan tinggi untuk membawa DNA ke dalam sel atau dikenal sebagai *particle bombardment*. Teknik ini pertama kali diperkenalkan sebagai metode untuk menghantarkan gen ke dalam tanaman [15].

Keuntungan utama teknologi *gene gun* yaitu tidak bergantung kepada keberadaan ikatan ligan-reseptor yang spesifik, aspek biokimia, atau komponen struktural yang ada di permukaan sel target sehingga teknologi ini dapat diaplikasikan ke berbagai sistem biologis seperti bakteri [16], fungi [17], berbagai organel intraselular [18], [19], dan mamalia [20]-[22]. Beberapa keuntungan menggunakan *gene gun* ditampilkan di Tabel 1.[23]

Tabel 1. Keuntungan Penggunaan *Gene Gun* dalam Penghantaran Gen

### Beberapa keuntungan penggunaan *gene gun* secara *in vitro* dan *in vivo* untuk penghantaran gen

Relatif mudah dan cepat serta dapat digunakan di banyak sistem biologis  
Dapat digunakan pada banyak jenis sel

Hanya membutuhkan jumlah DNA yang sedikit

Tidak membutuhkan pembawa DNA (*DNA carrier*), misalnya virus

Hanya membutuhkan jumlah sel yang sedikit

Dapat menghantarkan fragmen DNA berukuran besar

Dapat menghantarkan kepada sel target secara langsung

Dapat diaplikasikan untuk transformasi gen secara *in vitro* maupun *in vivo*

### Komponen-komponen Penting pada *Gene Gun*

*Gene gun* terdiri dari beberapa komponen penting yang membuatnya mampu menghantarkan DNA hingga ke dalam sel dan mampu menginduksi terjadi respon imun. Komponen-komponen tersebut diantaranya:

**Nosel (Nozzle).** Merupakan pipa atau tabung yang berfungsi untuk memodifikasi aliran udara pada *gene gun* sehingga dapat mengatur laju dari arus, kecepatan, arah, massa, bentuk, atau tekanan yang diberikan. Dalam menentukan desain nosel yang sesuai untuk menghantarkan vaksin DNA, digunakan persamaan *De Laval Nozzle*, seperti yang dijabarkan pada persamaan (1), (2), (3), (4).

Simulasi numerik menggunakan perangkat lunak CFD Autodesk® menghasilkan kecepatan fluida yang diperkirakan dapat menghantarkan vaksin DNA. Gambar 1. Menunjukkan kecepatan aliran fluida udara tekanan 8 bar dalam suatu desain nosel sederhana.

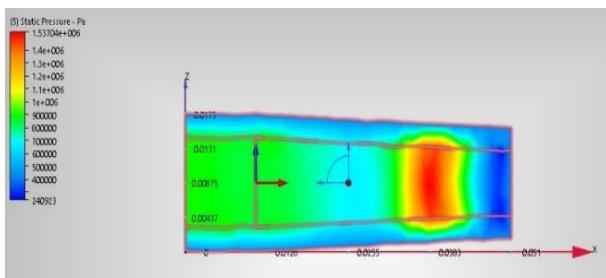
$$\dot{m} = \rho v A = \rho^* v^* A^* \rightarrow \frac{A}{A^*} = \frac{\rho^* v^*}{\rho v} \quad (1)$$

$$\frac{\rho^*}{\rho} = \frac{\rho^*}{\rho_0} \frac{\rho_0}{\rho} = \left( \frac{2}{\gamma+1} \right)^{\frac{1}{\gamma-1}} \left( 1 + \frac{\gamma-1}{2} M^2 \right)^{\frac{1}{\gamma-1}} \quad (2)$$

$$\frac{v^*}{v} = \frac{\sqrt{\gamma R T^*}}{v} = \frac{\sqrt{\gamma R T}}{v} \sqrt{\frac{T^*}{T}} = \frac{1}{M} \sqrt{\frac{T}{T_0}} \sqrt{\frac{T_0}{T}} = \frac{1}{M} \left( \frac{2}{\gamma+1} \right)^{\frac{1}{2}} \left( 1 + \frac{\gamma-1}{2} M^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

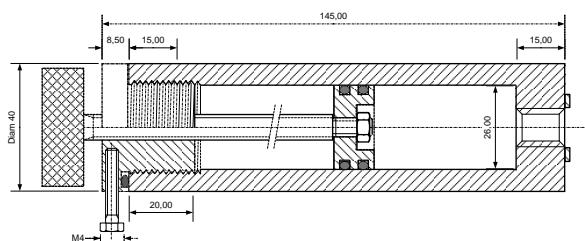
Substitusi persamaan (2) dan (3) ke persamaan (1)

$$\frac{A}{A^*} = \frac{1}{M} \left( \frac{2}{\gamma+1} \right)^{\frac{1}{2}} \left( \frac{\gamma+1}{\gamma-1} M^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$



Gambar 1. Kecepatan aliran dalam nosel pada tekanan fluida 8 bar.

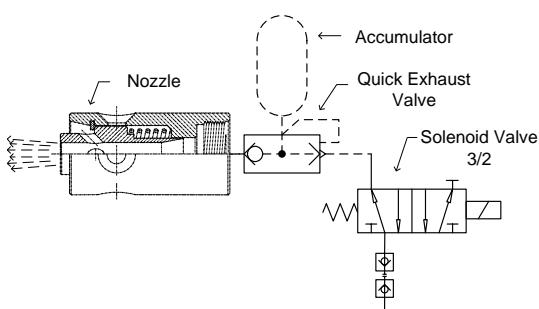
**Accumulator.** Salah satu bagian dari susunan sistem pada *gene gun* yang berfungsi untuk menyimpan tekanan tinggi yang dilengkapi dengan mekanisme pengaturan volume sesuai dengan kebutuhan pelepasan momentum udara (Gambar 2.).



Gambar 2. Desain Variabel Accumulator

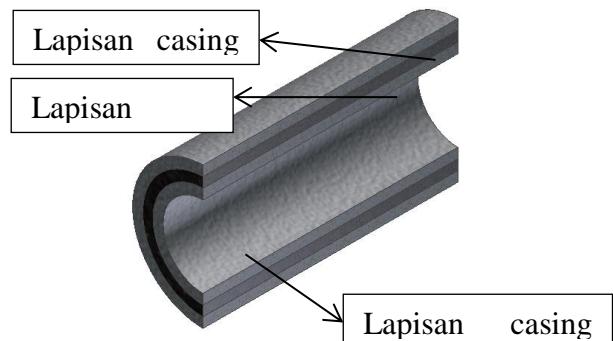
**Quick Exhaust Valve (QEV).** Katup berfungsi sebagai pengatur pelepasan udara sebelum dialirkan ke nosel.

**Solenoid Valve 3/2 Mechanical.** Merupakan katup perubah arah saluran dalam sistem fluida kompresibel yang memberi inisiasi QEV untuk melepaskan fluida sesegera mungkin (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram pengatur pelepasan aliran fluida kompresibel kedalam nosel

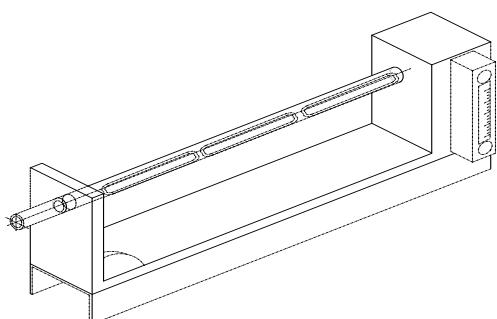
**Silencer.** Komponen pendukung dalam susunan sistem *gene gun*, berfungsi untuk meredam suara ketika udara dilepas secara bebas (Gambar 4).



Gambar 4. Konsep sistem redaman nosel

Fluida kompresibel yang dialirkan secara mendadak dari tekanan tinggi akan menghasilkan fenomena gelombang kejut karena efek kompresibilitas dari fluida itu sendiri. Keberadaan gelombang kejut memberikan getaran pada dinding saluran yang kemudian membuat dinding saluran mengeluarkan bunyi. Selain itu, interaksi antara fluida di dalam saluran itu sendiri juga dapat menimbulkan bunyi. Segmen peredam yang digunakan terdiri dari tiga bagian. Bagian dalam berupa silinder alumunium yang akan menyambungkan peredam dengan nosel. Dimensi dari diameter dalam silinder ini dirancang agar tidak mempengaruhi aliran fluida yang dihasilkan nosel. Kemudian bagian tengah dari segmen peredam akan diisi dengan lapisan peredam berupa lembaran *foam* atau busa hitam setebal 1 mm.

**Alat pemutar tabung/pipa plastik.** Alat ini bukan bagian dari perangkat *gene gun*, namun alat ini memiliki peranan sebagai persiapan untuk melekatkan partikel emas berlapis DNA pada dinding dalam pipa plastik. Setelah tubing dipotong lalu dimasukan sesuai ukuran panjang “magazine” *gene gun* untuk persiapan penghantaran



Gambar 5. Desain *Tubing Preparation Station* skala laboratorium

### Pemanfaatan *Gene Gun* untuk Meningkatkan Respon Imun

Penggunaan *gene gun* dalam penelitian vaksin dilaporkan pertama kali oleh Tang (1992). Tang memanfaatkan *gene gun* untuk menghantarkan gen pengkode hGH (*human growth hormone*) untuk menghasilkan antibodi spesifik terhadap hGH.[24] Lodmell (1997) menunjukkan bahwa penghantaran DNA dengan *gene gun* Accell™ mampu menginduksi dihasilkannya antibodi protektif terhadap virus rabies.[25]

Fynan (1993) melaporkan, dengan menggunakan *gene gun* untuk menghantarkan gen pengkode antigen influenza, berhasil terdeteksi keberadaan antibodi terhadap antigen influenza walau hanya digunakan gen dalam jumlah kecil. [26] Dengan menggunakan *gene gun*, hanya dibutuhkan jumlah plasmid DNA yang sedikit, yaitu skala nanogram untuk dapat menginduksi respon imun. Bahkan dengan 16 nm plasmid DNA dapat meningkatkan titer antibodi dari 5-10 kali lipat setelah imunisasi kedua sedangkan peninjeksian melalui otot (i.m./*intramuscular*) atau melalui kulit (i.d./ *intradermal*) membutuhkan konsentrasi DNA hingga >5000 kali lipat untuk titer antibodi yang sama. [27] Leitner (2016) melaporkan penghantaran vaksin DNA tumor dengan menggunakan *gene gun* mampu meningkatkan imunitas protektif sel T-dependen pada mencit C57BL/6. [28]

Penelitian Loehr (2000) menunjukkan bahwa dengan pemberian vaksin DNA yang penghantarnya dimediasi dengan *gene gun* berhasil melindungi sapi ternak dari infeksi bovine herpesvirus 1 (BHV-1). [29] Pemberian vaksin secara intradermal ataupun intravulvamukosal berhasil menginduksi

respon imun seluler dan humorai dengan nilai yang tinggi. Penelitian Loehr menunjukkan bahwa penghantaran vaksin DNA yang dimediasi dengan *gene gun* dan dihantarkan melalui membran mukosa dapat meningkatkan respon imun lebih tinggi dibandingkan penghantaran melalui intradermal. [29]

### Kesimpulan

*Gene gun* memiliki potensi untuk dijadikan sebagai sistem penghantar vaksin DNA yang dapat menginduksi respon imun secara efektif. Penghantaran gen (DNA) dengan teknologi *bombardment* akan menyebabkan terjadinya ekspresi antigen yang dikodekan oleh gen pada lapisan epidermal. Antigen yang dikodekan akan terdeteksi oleh sel dendritik nodus limfa sehingga antigen akan dipresentasikan ke sel T untuk menghasilkan respon imun.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Indonesia, Kementerian Kesehatan, dan Kementerian Riset dan Teknologi untuk pendanaan pengembangan sistem penghantar vaksin DNA.

### Referensi

- [1] Pereira, V.B., et al. DNA Vaccines Approach: From Concepts to Applications. *World Journal of Vaccines*, 4, (2014) 50-71.
- [2] Mielcarek, N., Alonso, S. and Locht, C. Nasal Vaccination Using Live Bacterial Vectors. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 51, (2001) 55-69.
- [3] Chadwick, S., Kriegel, C. and Amiji, M. Delivery Strategies to Enhance Mucosal Vaccination. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 9, (2009) 427-440.
- [4] Kutzler, M. and Weiner, D.B. DNA Vaccines: Ready for Prime Time? *Nature*, 9, (2008) 776-788.
- [5] Kim, M.S. and Sin, J.I. Both Antigen Optimization and Lysosomal Targeting Are Required for Enhanced Anti- Tumour Protective Immunity in a Human Papillomavirus E7-Expressing Animal Tumour Model. *Immunology*, 116, (2005) 255-266.
- [6] Li, K.B., Zhang, X.G., Ma, J., Jia, X.J., Wang, M., Dong, J., Zhang, X.M., Xu, H. and Shu, Y.L. Codon Optimization of the H5N1 Influenza Virus HA Gene Gets High

- Expression in Mammalian Cells. *Chinese Journal of Virology*, 24, (2008) 101-105.
- [7] Uchijima, M., Yoshida, A., Nagata, T. and Koide, Y. Class I-Restricted T Cell Responses against Vaccine Is Required for the Effective MHC Optimization of Codon Usage of Plasmid DNA an Intracellular Bacterium. *The Journal of Immunology*, 161, (1998) 5594-5599.
- [8] Pulsawat, P., Piboonpocanun, S., Sirivichayakul, S., Buranapraditkun, S., Jacquet, A., Shimada, M., Okuda, K. and Ruxrungtham, K.J. Production and Immunogenicity of Hypoallergenic Codon-Optimized DNA Vaccine encoding Mature Der p 1 Allergen. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 20, (2010) 582-590.
- [9] Besse, F. and Ephrussi, A. Translational Control of Localized mRNAs: Restricting Protein Synthesis in Space and Time. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, (2008) 971-980.
- [10] Becker, P.D., Noerder, M. and Guzmán, C. A Genetic Immunization: Bacteria as DNA Vaccine Delivery Vehicle. *Human Vaccines*, 4, (2008) 189-202.
- [11] Kumagai, Y., Takeuchi, O. and Akira, S. TLR9 as a Key Receptor for the Recognition of DNA. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, (2008) 795-804.
- [12] Angel, J.B., Cooper, C.L., Clinch, J., Young, C.D., Chenier, A., Parato, K.G., Lautru, M., Davis, H. and Cameron, D.W. CpG Increases Vaccine Antigen-Specific Cell-Mediated Immunity When Administered with Hepatitis B vaccine in HIV Infection. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines*, 6, (2008) 4.
- [13] Chong, S.Y., Egan, M.A., Kutzler, M.A., Megati, S., Masood, A., Roopchard, V., Garcia-Hand, D., Montefiori, D.C., Quiroz, J., Rosati, M., Schadeck, E.B., Boyer, J.D., Pavlakis, G.N., Weiner, D.B., Sidhu, M., Eldridge, J.H. and Israel, Z.R. Comparative Ability of Plasmid IL-12 and IL-15 to Enhance Cellular and Humoral Immune Responses Elicited by a SIVgag Plasmid DNA Vaccine and Alter Disease Progression Following SHIV(89.6P) Challenge in Rhesus Macaques. *Vaccine*, 25, (2007) 4967-4982.
- [14] Xu, Z.L., Mizuguchi, H., Ishii-Watabe, A., Uchida, E., Mayumi, T. and Hayakawa, T. Optimization of Transcriptional Regulatory Elements for Constructing Plasmid Vectors. *Gene*, 272, (2001) 149-156.
- [15] Klein, T.M., Wolf, E.D., Wu, R., Sanford, J.C. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature*. 327, (1987) 70-73.
- [16] Smith, F.D., Harpending, P.R., Sanford, J.C. Biolistic transformation of prokaryotes: factors that affect biolistic transformation of very small cells. *Journal of General Microbiology*. 138, (1992), 239-248.
- [17] Armaleo, D., Ye, G.N., Klein, T.M. et al. Biolistic nuclear transformation of *Saccharomyces cerevisiae* and other fungi. *Curr Genet*. 17, (1990), 97-103.
- [18] Johnston, S.A., Anziano, P.Q., Shark, K., Sanford, J.C., Butow, R.A. Mitochondrial transformation in yeast by bombardment with microprojectiles. *Science* 240, (1988), 1538–1541.
- [19] Boynton, J.E., Gillham, N.W., Harris, E.H., Hosler, J.P., Johnson, A.M., Jones, A.R., Randolph-Anderson, B.L., Robertson, D., Klein, T.M., Shark, K.B., Sanford, J.C. Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microprojectiles. *Science* 240, (1988), 1534–1538
- [20] Yang, N.S., Burkholder, J., Roberts, B , Martinell, B., McCabe, D. *In vivo* and *in vitro* gene transfer to mammalian somatic cells by particle bombardment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87 (1990) 9568-9572.
- [21] Zelenin, A.V., Titomirov, A.V., Kolesnikov, V.A. Transfer of foreign DNA into the cells of developing mouse embryos by microprojectile bombardment. *FEBS Lett.*, 244 (1989), 65-67.
- [22] Williams, R.S., Johnston, S.A., Riedy, M., DeVit, M.J., McElligott, S.G., Sanford, J.C.. Effect of Biolistic particle size on the efficiency of transfection of oocytes in *Xenopus* ovary tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, (1991), 2726-2730.
- [23] Bio-Rad. Helios Gene Gun System: Instruction Manual. Diakses dari [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com) pada 10 Maret 2016.

- [24] Tang, D.C., DeVit, M., Johnston, S.A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response", Nature, vol. 356,(1992) 152-154
- [25] Lodmell, D.L., Ray, N.B., Ewalt, L.C. Gene gun particle-mediated vaccination with plasmid DNA confers protective immunity against rabies virus infection. Vaccine 16 (1998), 115-118.
- [26] Fynan, E.F., Webster, R.G., Fuller, D.H., Haynes, J.R., Santoro, J.C., Robinson, H.L. DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993), 11478–11482.
- [27] Pertmer TM, Eisenbraun MD, McCabe D, Prayaga SK, Fuller DH, Haynes JR. Gene gun-based nucleic acid immunization: elicitation of humoral and cytotoxic T lymphocyte responses following epidermal delivery of nanogram quantities of DNA. Vaccine, 13 (1995), 1427-1430.
- [28] Leitner WW, Baker MC, Berenber TL, Lu MC, Yannie PJ, Udey MC. Enhancement of DNA tumor vaccine efficacy by gene gun-mediated codelivery of threshold amounts of plasmid-encoded helper antigen. Blood, 113 (2009), 37-45.
- [29] Loehr BI, Willson P, Babiuk LA, van Drunen Littel- van den Hurk S. Gene gun-mediated dna immunization primes development of mucosal immunity against bovine herpesvirus 1 in cattle. Journal of Virology (2000). 6077-6086.