



Pengelompokan Genotip, Serologi dan Supertipe Gene HLA Kelas I pada Suku Jawa, Indonesia

Genotype, Serology and Supertype Classification of HLA Class I in the Javanese, Indonesia

Rika Yuliwulandari¹, Jekti Teguh Rochani², Isna Indrawati³

¹Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

²Department of Microbiology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

³Department of Parasitology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

KATA KUNCI *Genotip; serologi; supertipe; HLA*
KEYWORDS *Genotype; serology; supertype; HLA*

ABSTRAK *Gen Human Leukocyte Antigen (HLA) berperan penting dalam sistim pertahanan tubuh manusia. Gen ini juga terkenal sebagai gen yang paling polimorfik dalam struktur genom manusia. Oleh karena itu identifikasi gen HLA sangat penting dilakukan pada tiap populasi termasuk populasi suku Jawa. Pada penelitian ini, telah dilakukan identifikasi genotipe HLA pada 237 subyek. Namun demikian, selain genotip, perlu juga dilakukan pengelompokan berdasarkan jenis serologi dan supertipe HLA. Makalah ini menyajikan pengelompokan gen HLA kelas I berdasarkan database yang umum dirujuk oleh peneliti-peneliti lainnya.*

ABSTRACT *Human Leukocyte Antigen (HLA) gene has an important role in the immunology system of human. This gene is well known as the most polymorphic genetic system in human genome. Therefore, it is important to identify the HLA gene polymorphism in every population, including the Javanese. A study using 237 subjects of Javanese has reported the genotypes of HLA. However, beside the genotype classification, it is also important to classify the HLA gene based on the serology and supertype. This paper describes the classification of genotype, serology and supertype of HLA gene class I based on the data that already commonly referred by other researchers.*

Gen Human Leukocyte Antigen (HLA) menyandi glikoprotein yang berperan pada pembentukan sistem imun manusia. Gen ini terletak pada kromosom 6p21. Secara garis besar, gen HLA dikelompokkan ke dalam HLA kelas I dan HLA kelas II. HLA kelas I terdiri dari locus HLA-A, -B dan -C, sedangkan HLA kelas II terdiri dari HLA-DR, -DQ dan -DP (Meyer et al., 2007).

Fungsi utama molekul HLA adalah mengenali protein asing dari kuman patogen

(disebut dengan *peptide*) yang masuk ke dalam tubuh. Reaksi imunitas timbul apabila terjadi reaksi diantara kedua molekul tersebut. Ketika interaksi tersebut terjadi, kompleks protein akan dibawa ke permukaan

Correspondence:

Dr. Hj. Rika Yuliwulandari, MSc, PhD, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta, Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta Pusat 10510, Tel. 021-4206674-76, Facksimile: 021-4244574

sel untuk dapat dikenali oleh sel T sehingga mengakibatkan timbulnya respon imun. Oleh karena itu, memprediksi kesesuaian antara protein HLA dan peptida sehingga dapat membentuk ikatan dan timbul suatu respon imun yang diharapkan menjadi sangat penting. Hal ini banyak dimanfaatkan pada proses pembuatan vaksin yang didasarkan pada spesifisitas HLA *peptide*. Vaksin jenis ini akan menghasilkan respon imun yang jauh lebih kuat dan lebih aman serta lebih mudah untuk diproduksi (Sette and Sidney, 1999; Lund *et al.*, 2004). Ada minimal dua tantangan dalam mewujudkan vaksin jenis tersebut yaitu (1) karena molekul HLA sangat selektif dan hanya berikatan dengan *peptide* yang spesifik (Yewdell dan Bennink, 1999) dan (2) molekul HLA sangat polimorfik dan poligenik. Berdasarkan *database the international ImMunoGeneTics/ Human Leukocyte Antigen (IMGT/HLA)* per 14 Juli 2011, terdapat 6.810 alel HLA yang terdiri dari 5.301 alel HLA kelas I dan 1.509 alel HLA kelas II (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>). Oleh karena itu perlu diketahui dan dikelompokkan alel HLA yang mana yang dapat berikatan dengan peptida patogen yang spesifik. Pengelompokan ini disebut dengan supertipe yang artinya sekelompok alel HLA yang berikatan dengan peptida yang sama.

Pengelompokan supertipe HLA dapat dilakukan berdasarkan hasil eksperimen ataupun berdasarkan metode komputasi. Pengelompokan berdasarkan hasil eksperimen akan memakan biaya yang sangat besar dan mahal serta waktu yang lama, mengingat jumlah alel HLA yang mencapai hampir 7000 macam. Namun metode ini memiliki tingkat kebenaran dan ketepatan yang lebih tinggi. Berdasarkan metode komputasi, berbagai metode telah dipublikasikan (Reche and Reinherz, 2004; Lund *et al.*, 2004; Doytchinoya *et al.*, 2004; Hertz and Yanover, 2006, Joris *et al.*, 2012). Metode-metode tersebut pada umumnya dilakukan dengan cara meng-

identifikasi kesamaan ukuran atau struktur protein. Walaupun demikian, hingga saat ini masih belum ada sistem klasifikasi supertipe HLA berdasarkan metode komputasi yang mengklaim kebenaran dan ketepatannya 100%, tanpa adanya pembuktian melalui metode eksperimental. Berbagai studi yang telah melaporkan pengelompokan supertipe HLA berdasarkan eksperimen telah didaftarkan pada suatu *database* HLA yang banyak dipakai sebagai rujukan oleh para peneliti.

Pada makalah ini, kami akan mengklasifikasikan serotipe dan supertipe HLA kelas I pada populasi Indonesia berdasarkan hasil penetapan genotip pada penelitian kami dan berdasarkan *database* yang ada saat ini, sebagai masukan untuk penelitian berikutnya serta bermanfaat dalam pembuatan vaksin yang spesifik untuk populasi di Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Biomedis dan Ilmu Sosial Universitas YARSI Jakarta, Indonesia dan Program Pasca Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Tokyo, Jepang. Sebanyak 237 individu dengan latar belakang suku Jawa dan Sunda hingga 3 (tiga) generasi ke atas serta nampak sehat berpartisipasi dalam penelitian ini.

Sebanyak 5 ml darah vena dikumpulkan dalam tabung EDTA untuk diekstraksi DNA nya dengan menggunakan QIAamp™ DNA Blood Mini Kit (Qiagen Sciences, Maryland, USA) sesuai dengan prosedur yang tertera di dalam panduan penggunaan kit.

Penetapan genotip alel HLA dilakukan dengan menggunakan Luminex Multi-Analyte Profiling system (xMAP) dengan WAKFLOW HLA typing kit (Wakunaga, Hiroshima, Jepang). Detil pelaksanaan penetapan genotip dijelaskan pada laporan penelitian lainnya (Yuliwulandari *et al.*, 2008). Secara ringkas, ekson 2 dan 3 dari gen HLA-

A dan -B diamplifikasi dengan menggunakan kit yang mengandung primer yang spesifik untuk daerah tersebut. Bagian 5' dari primer dilabel dengan biotin. Tiap produk PCR dihibridisasi dengan 72 *probe* untuk HLA-A dan 92 *probe* untuk HLA-B. Kemudian ampikon yang sudah terhibridisasi dilabel dengan streptavidin-R-picoeritrin dan di-kuantifikasi dengan Luminex 100 (Luminex, Austin, TX).

Frekuensi alel HLA dihitung dengan menggunakan program *Microsoft excel*. Frekuensi *haplotype* dihitung berdasarkan metode *maximum likelihood* dengan berlandaskan pada algorism *expectation maximization* dengan menggunakan *software* ARLEQUIN v.3.0 (Excoffier *et al.*, 2007). Serologi dan supertipe HLA ditentukan berdasarkan *database* HLA yang ada saat ini (<http://www.immuneepitope.org/>, <http://www.imgt.org>).

HASIL

Berdasarkan kelompok genotip, serologi dan supertipe, frekuensi poli-morfisme gen HLA-A dan -B dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Jumlah genotip HLA-A sebanyak 18 macam, sedangkan HLA-B sebanyak 39 macam. Pada HLA-A, genotip yang paling sering ditemukan adalah A*24:07 (21.52%), A*33:03 (15,61%) dan A*24:02 (14.35%). Pada HLA-B, genotip yang paling sering muncul adalah B*15:13 (11,18%) dan B*15:02 (11,6%). Beberapa genotip dapat diklasifikasikan menjadi kelompok serologi yang sama.

Berdasarkan serologinya, mayoritas sampel mempunyai tipe serologi A24 untuk HLA-A (Gambar 1). Untuk HLA-B, mayoritas tipe serologinya adalah B75 dan B77 (Gambar 2). B75 dan B77 ini adalah serologi split dari B22.

Berdasarkan supertipe nya, tidak semua alel yang ditemukan di Indonesia telah diteliti atau dilaporkan kelompok supertipe nya.

Tabel 1. *Human Leukocyte Antigen* (HLA) genotip, serologi dan supertipe kelas I, locus A

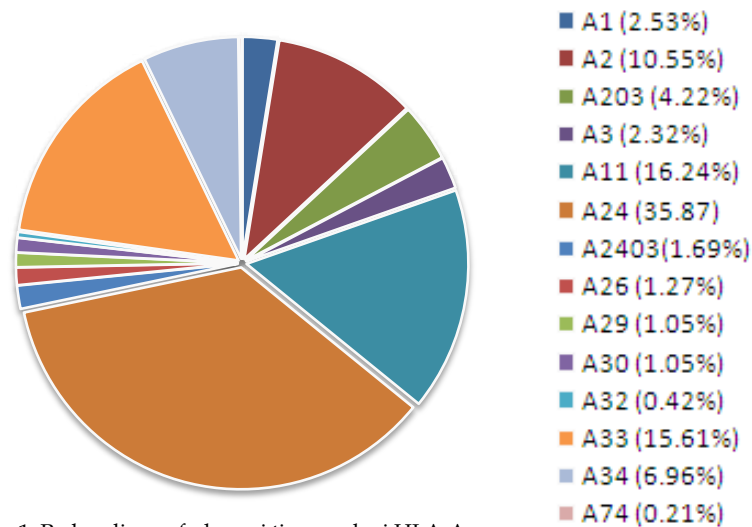
No	Genotip	2n*	Frekuensi		Serologi	Supertipe
				(%)		
1	A*01:01	12		2.53	A1	A1
2	A*02:01	33		6.96	A2	A2
3	A*02:03	20		4.22	A203	A2
4	A*02:06	16		3.38	A2	A2
5	A*02:11	1		0.21	A2	
6	A*03:01	11		2.32	A3	A3
7	A*11:01	76		16.03	A11	A3
8	A*11:04	1		0.21	A11	
9	A*24:02	68		14.35	A24(9)	A24
10	A*24:07	102		21.52	A24(9)	
11	A*24:10	8		1.69	A2403(4)	
12	A*26:01	6		1.27	A26(10)	A1
13	A*29:01	5		1.05	A29(19)	
14	A*30:01	5		1.05	A30(19)	A24
15	A*32:01	2		0.42	A32(19)	A1
16	A*33:03	74		15.61	A33(19)	
17	A*34:01	33		6.96	A34(10)	
18	A*74:01	1		0.21	A74(19)	
Total	72	100				

2n* adalah jumlah alel yang ditemukan pada penelitian ini

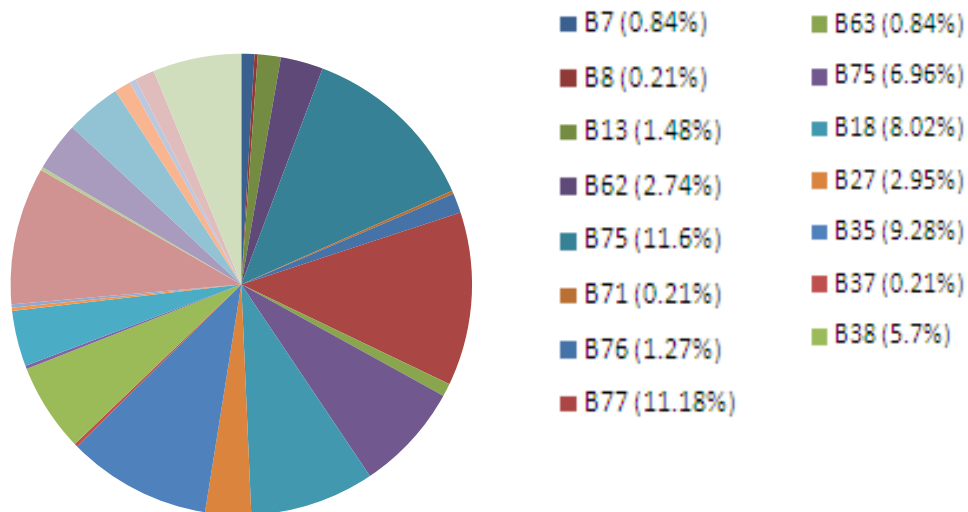
Tabel 2. *Human Leukocyte Antigen (HLA) genotip, serologi dan supertipe kelas I, locus B*

No	Genotip	2n*	Frekuensi (%)	Serologi	Supertipe
1	B*07:02	4	0.84	B7	B7
2	B*07:05	12	2.53	B7	B7
3	B*08:01	1	0.21	B8	
4	B*13:01	7	1.48	B13	B62
5	B*13:02	5	1.05	B13	B62
6	B*15:01	1	0.21	B62(15)	B62
7	B*15:02	55	11.6	B75(15)	B62
8	B*15:10	1	0.21	B71(70)	B27
9	B*15:12	6	1.27	B76(15)	B62
10	B*15:13	53	11.18	B77(15)	B62
11	B*15:17	4	0.84	B63(15)	B58
12	B*15:21	33	6.96	B75(15)	B62
13	B*15:25	8	1.69	B62(15)	
14	B*15:32	4	0.84	B62(15)	
15	B*18:01	30	6.33	B18	
16	B*18:02	8	1.69	B18	
17	B*27:06	14	2.95	B27	B27
18	B*35:01	2	0.42	B35	B7
19	B*35:02	1	0.21	B35	B7
21	B*35:05	40	8.44	B35	
22	B*35:30	1	0.21	B35	
23	B*37:01	1	0.21	B37	B44
24	B*38:02	27	5.7	B38(16)	B27
25	B*39:15	1	0.21	B39	
26	B*40:01	17	3.59	B60(40)	B44
27	B*40:02	1	0.21	B61(40)	
28	B*40:06	4	0.84	B61(40)	B44
29	B*41:01	1	0.21	B41	B44
30	B*44:03	42	8.86	B44(12)	B44
31	B*48:01	1	0.21	B48	B27
32	B*51:01	15	3.16	B51(5)	
33	B*51:02	17	3.59	B5102	
34	B*52:01	5	1.05	B52(5)	
35	B*56:01	2	0.42	B56(22)	B7
36	B*56:02	4	0.84	B56(22)	B7
37	B*56:07	1	0.21	B56	
38	B*57:01	6	1.27	B57(17)	B58
39	B*58:01	27	5.7	B58(17)	
		72	100		

2n* adalah jumlah alel yang ditemukan pada penelitian ini



Gambar 1. Perbandingan frekuensi tipe serologi HLA-A
Keterangan: Mayoritas tipe serologi dari HLA-A adalah A24



Gambar 2. Perbandingan frekuensi tipe serologi HLA-B
Keterangan: Mayoritas tipe serologi dari HLA-B adalah B75 dan B77

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, kami melakukan pengelompokan polimorfisme gen HLA kelas I (HLA-A dan HLA-B) berdasarkan jenis genotip, serologi dan supertipe nya. Pada

HLA kelas 1 *locus* A (Tabel 1), dari 18 genotip yang ditemukan yang paling sering ditemukan secara berurutan adalah A*24:07 (21.52%), A*11:01 (16.03%), A*33:03 (15.61%) dan A*24:02 (14.35%). HLA-A*24:07 ini baru dilaporkan oleh Yuliwulandari, *et al.* (2008)

dan belum pernah dilaporkan sebelumnya. Hal ini kemungkinan terjadi karena metode penetapan genotip yang dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya hanya dapat mendeteksi pada level serologi saja, sehingga tidak mampu membedakan HLA-A*24:07 dan HLA-A*24:02. Secara keseluruhan, HLA-A24 ini merupakan tipe HLA-A yang paling umum dijumpai pada suku Jawa, mencapai 37.6% dari keseluruhan alel HLA-A. HLA-A24 ini telah dilaporkan terkait erat dengan kerusakan pada sel beta pankreas pada 94.6% penderita *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) pada populasi Jepang (Nakanishi *et al.*, 1993). Oleh karena itu dengan adanya penelitian ini, maka populasi Indonesia khususnya suku Jawa perlu berhati-hati adanya kemungkinan kejadian yang sama pada penderita IDDM, mengingat tipe serologi tersebut adalah tipe yang dominan pada suku tersebut.

Yang menarik dari hasil penelitian ini, A*24:07 merupakan genotip spesifik dengan frekuensi paling besar ditemukan pada populasi ini, namun tidak umum dijumpai pada populasi Asia lainnya. HLA jenis ini spesifik dijumpai pada populasi Jawa dan Melayu (Malaysia) (Yuliwulandari *et al.*, 2008; Dhaliwal *et al.*, 2007). Pada populasi Asia lainnya, HLA-A*24:02 lebih banyak dijumpai (Yuliwulandari *et al.*, 2008). Bila dilihat dari kelompok supertipe nya, ternyata belum ada penelitian yang melaporkan jenis supertipe dari HLA-A*24:07. Hal ini memberikan petunjuk yang penting untuk penelitian lebih lanjut, mengingat pengelompokan supertipe sangat diperlukan, salah satunya untuk pembuatan vaksin spesifik terhadap penyakit yang banyak dijumpai pada populasi Indonesia, terutama Jawa sebagai populasi mayoritas di negara ini.

Pada *locus* B, alel yang paling sering ditemukan adalah HLA-B*15:02 dan HLA-B*15:13. Kedua alel tersebut sama-sama merupakan anggota dari kelompok serologi

HLA-B15. Jenis serologi ini juga umum dijumpai pada populasi Asia timur lainnya (Trachtenberg *et al.*, 2007; Meyer *et al.*, 2007; Itoh *et al.*, 2005; Ogata *et al.*, 2007; Wen *et al.*, 2008 dan Hoa *et al.*, 2008). Namun demikian, ada perbedaan yang cukup nyata pada pola distribusi alel HLA-B15. Pada populasi Asia bagian utara (Jepang, Korea), HLA-B*15:01 lebih dominan dibandingkan HLA-B*15:02, sedangkan pada populasi Asia bagian selatan (Indonesia, Malaysia, Thailand, Taiwan, Filipina), kondisi sebaliknya yang banyak ditemukan. Yang menarik, HLA-B*15:02 telah dilaporkan terkait erat dengan timbulnya efek samping berupa sindroma Stevens Johnson. Oleh karena itu, populasi Indonesia, khususnya suku Jawa juga perlu berhati-hati akan kemungkinan terjadinya hal yang sama. Hal ini mengingat sindroma Stevens Johnson dapat terjadi pada penderita yang mengkonsumsi obat-obatan yang juga banyak dikonsumsi oleh masyarakat pada umumnya seperti parasetamol dan amoksisilin, disamping obat-obat lainnya yang sering menimbulkan efek samping tersebut di atas. Berdasarkan supertipe nya, tidak semua alel pada *locus* HLA-B juga sudah dilaporkan jenis *peptide* nya. Namun demikian pada makalah ini, hal tersebut tidak menjadi perhatian kami karena alel yang ditemukan pada penelitian ini juga umum ditemukan pada populasi-populasi lainnya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Identifikasi polimorfisme gen HLA sangat penting dilakukan pada semua populasi termasuk populasi Indonesia karena gen ini sangat berperan dalam mekanisme imunitas manusia. Klasifikasi gen HLA dapat dilakukan berdasarkan genotipe, serotipe dan supertipe. Pengelompokan ini perlu dilakukan untuk keperluan penelitian-penelitian genetika yang akan datang, khususnya untuk

penelitian-penelitian yang bertujuan membuat vaksin yang spesifik untuk populasi Indonesia dengan suku mayoritas suku Jawa.

Saran

Untuk mendapatkan klasifikasi supertipe HLA yang lebih akurat, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis *peptide* yang spesifik terhadap alel HLA tertentu.

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran, Universitas YARSI dan Yayasan YARSI atas semua dukungan dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan makalah ini. Tidak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih kepada Prof. Katsushi Tokunaga yang telah membimbing penulis selama studi pasca sarjana dan yang telah memfasilitasi penulis dalam penelitian dan perolehan beasiswa.

KEPUSTAKAAN

- Dhaliwal JS, Shahnaz M, Too CL et al 2007. HLA-A, -B and -DR allele and haplotype frequencies in Malays. *Asian Pac J Allergy Immunol* 25: 47-51.
- Doytchinova I, Hemsley S, Flower DR 2004. Transporter associated with antigen processing preselection of peptides binding to the MHC: a bioinformatic evaluation. *J Immunol.* 1;173(11):6813-9.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S 2007. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online.* 23;1:47-50.
- Hertz T, Yanover C 2007. Identifying HLA supertypes by learning distance functions. *Bioinformatics.* 15;23(2):e148-55.
- Hoa BK, Hang NT, Kashiwase K et al 2008. HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes in the Kinh population in Vietnam. *Tissue Antigens* 71: 127-34.
- Itoh Y, Mizuki N, Shimada T et al 2005. High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* 57: 717-29.
- Jöris MM, van Rood JJ, oelen DL, Oudshoorn M, Claas FH 2012. A proposed algorithm predictive for cytotoxic T cell alloreactivity. *J Immunol.* 15;188(4):1868-73. Epub 2012 Jan 18.
- Lund O, Nielsen M, Kesmir C, Petersen AG, Lundegaard C, Worning P, Sylvester-Hvid C, Lamberth K, Røder G, Justesen S, Buus S, Brunak S 2004. Definition of supertypes for HLA molecules using clustering of specificity matrices. *Immunogenetics.* 55(12):797-810. Epub 2004 Feb 13.
- Meyer D, SingeRM, Mack SJ et al 2007. Single locus polymorphism of classical HLA genes. In: Hansen JA, ed. *Immunobiology of the Human MHC: Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference.* Seattle: IHWG Press, 653-704.
- Ogata S, Shi L, Matsushita M et al 2007. Polymorphisms of human leucocyte antigen genes in Maonan people in China. *Tissue Antigens* 69: 154-60.
- Reche PA, Reinherz EL 2007. Definition of MHC supertypes through clustering of MHC peptide-binding repertoires. *Methods Mol Biol.* 409:163-73.
- Sette A, Sidney J 1999. Nine major HLA class I supertypes account for the vast preponderance of HLA-A and -B polymorphism. *Immunogenetics.* 50(3-4):201-12.
- Trachtenberg E, Vinson M, Hayes E et al 2007. HLA class I (A, B,C) and class II (DRB1, DQA1, DQB1, DPB1) alleles and haplotypes in the Han from southern China. *Tissue Antigens* 70: 455-63.
- Wen SH, Lai MJ, Yang KL 2008. Human leukocyte antigen-A, -B, and -DRB1 haplotypes of cord blood units in the Tzu Chi Taiwan Cord Blood Bank. *Hum Immunol* 69:430-6.
- Yewdell JW, Bennink JR 1999. Mechanisms of viral interference with MHC class I antigen processing and presentation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 15:579-606. Review
- Yuliwulandari R, Kashiwase K, Nakajima H, Uddin J, Susmiarsih TP, Sofro AS, Tokunaga K 2009. Polymorphisms of HLA genes in Western Javanese (Indonesia): Close affinities to southeast Asian populations. *Tissue Antigens* 73:46-53.