

**Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Programa de Pós-Graduação em Genética**

Maria da Conceição Viana Invenção

**CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENOS A PARTIR DE PREDIÇÃO DE EPÍTOPOS COMO
ESTRATÉGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINA DE DNA CONTRA O
SARS-CoV-2**

**Recife
2022**

Maria da Conceição Viana Invenção

**CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENOS A PARTIR DE PREDIÇÃO DE EPÍTOPOS COMO
ESTRATÉGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINA DE DNA CONTRA O
*SARS-CoV-2***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre em Genética. Área de concentração: Biologia molecular.

Orientador: Dr. Antonio Carlos de Freitas

Coorientador: Dr. Marcus Vinicius de Aragão Batista

Coorientadora: Dra. Anna Jéssica Duarte Silva

Recife

2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Invenção, Maria da Conceição Viana

Construção de antígenos a partir de predição de epítomos como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2 / Maria da Conceição Viana Invenção. – 2022.

172 f. : il.

Orientador: Dr. Antonio Carlos de Freitas.

Coorientador: Dr. Marcus Vinicius de Aragão Batista.

Coorientadora: Dra. Anna Jéssica Duarte Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, Recife, 2022.

Inclui referências e apêndices.

1. Vírus - Genética. 2. SARS-CoV-2. 3. Vacinas. I. Freitas, Antonio Carlos de (orientador). II. Batista, Marcus Vinicius de Aragão (coorientador) III. Silva, Anna Jéssica Duarte (coorientadora). IV. Título.

616.91

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-119

Maria da Conceição Viana Invenção

**CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENOS A PARTIR DE PREDIÇÃO DE EPÍTOPOS COMO
ESTRATÉGIA PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINA DE DNA CONTRA O
SARS-CoV-2**

Aprovado em 21/02/2022

Banca Examinadora:

**Dr. Antonio Carlos de Freitas
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dr. Tercílio Calsa Júnior
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dr. Valdir de Queiroz Balbino
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dra. Tatiana Rodrigues de Moura
Universidade Federal de Sergipe**

Recife

2022

Dedico esse trabalho à minha tia, conhecidos e todas as demais pessoas no mundo que perderam suas vidas para COVID-19 por não ter tido a oportunidade de tomar a vacina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ser Amor, paz e amparo nos melhores dias e nos dias mais difíceis que entrei em desespero e até pensei em desistir no início dessa caminhada. Aos meus pais, Antonio e Jocélia, por todo amor, carinho, cuidado, apoio, preocupação e por nunca medirem esforços para me ajudar nos meus sonhos. Ainda bem que existem videochamadas e ligações para matar a saudade mesmo distante! Aos meus familiares e amigos(as) que sempre me apoiaram nessa decisão de sair do meu estado e vir para Recife fazer Mestrado em Genética, vocês foram muito importantes no processo de “tranquilização dos meus pais” ao tomar essa decisão e continuam sendo importantes na minha vida trazendo leveza, muitas risadas, reflexões, me passando confiança e encorajando a seguir em frente.

Aos meus colegas de graduação que se tornaram meus amigos, em especial Joana, João Paulo e Rafael. Talvez se não fosse aquela frase dita em uma das nossas videochamadas de desabafos das nossas vidas de mestrandos(as) em meio à pandemia, “Conceição, e quem está como queria estar nessa pandemia?! Se você perguntar a qualquer pessoa todo mundo vai ter algo a reclamar e nem por isso a gente deve desistir”, talvez eu não teria levantado a cabeça para continuar e chegar até aqui. Obrigada por todos os “banhos de água fria” necessários! Amizade é isso!

Aos meus/minhas professores(as) por todos os ensinamentos, vocês são fundamentais por tudo que sei até hoje. Aprendi desde muito cedo, pois minha mãe também foi professora, que a profissão de vocês mesmo com tantas limitações é a mais importante de todas e por isso deve ser muito respeitada. Minha mãe sempre me fala “Conceição, você lembrou de agradecer ao seu/sua professor(a)?” e guardo isso como ensinamento para vida. Gratidão é fundamental!

Falando em docentes...agradeço em especial ao professor Dr. Marcus Vinicius, antigo orientador e atual coorientador (e se depender de mim não vou deixar de enojar o senhor tão cedo kkk) que foi peça-chave nesse processo de *networking* para conhecer o meu orientador e que muitas vezes acreditou mais no meu potencial do que eu mesma. Obrigada, professor, por tudo o que o senhor fez e faz por mim! Sou grata também pela sua paciência para responder as minhas inúmeras dúvidas. Agradeço também ao professor Dr. Antonio Carlos por ter

aceitado me orientar mesmo sem nunca ter me conhecido e por todo acolhimento, orientação, compreensão. Quero um dia ter 10% da sua calma em meio a vários compromissos kkk. Sou grata também à Dra. Anna Jéssica que com toda paciência do mundo e inteligência me orienta a buscar os melhores caminhos para resolver os desafios do meu projeto e me tranquiliza quando eu penso que não vou dar conta.

Agradeço também aos meus colegas do LEMTE (UFPE) e do GMBio (UFS). Não sei o que seria de mim nesse mestrado sem vocês me ajudando, me aperreando, levantando minha cabeça e acreditando mais em mim que eu mesma. Vocês são demais e eu tenho muito orgulho de ter encontrado nessa louca e dura vida acadêmica pessoas como vocês! Não posso deixar de fazer um agradecimento especial aos(a) colegas de lab que foram essenciais na construção e desenvolvimento desse projeto de mestrado junto comigo, Dr. Alexandre Matos, Msc. Lucas Alexandre e Ingrid Andrêssa que mesmo com suas rotinas corridas não mediram esforços para responder minhas inúmeras dúvidas sobre imunologia, IEDB, análises de epítomos, *docking* molecular e rodar as análises de *docking*, pois se eu tivesse feito tudo sozinha não teria conseguido finalizar tudo a tempo.

Sou grata também aos meus amigos(as) que fiz em Recife, as meninas do Ap 104, Rayssa, Daianne e Joyse, obrigada por compartilharem parte das suas vidas comigo e por me ensinarem tanto em tão pouco tempo de convivência! Vocês tornaram esse caminho mais leve e feliz. Agradeço também aos meus amigos/ex-vizinhos, Edu e Arthur por toda amizade que vem sendo construída, momentos vividos e por sempre me ajudarem desde emprestar panela de pressão a carregar mesa e fogão na mudança.

Por fim, mas não menos importante, agradeço à UFPE, PPGG, CNPq e UFS por fornecerem todo o suporte para o desenvolvimento e conclusão desse meu projeto, pela oportunidade de fazer um mestrado na área que eu amo, Genética, e pela bolsa que é tão importante para eu me manter aqui tão longe de casa e em um momento de crise econômica e sanitária.

A luta foi grande, aprendi muito, superei crises de ansiedade, me encontrei, me fortaleci, levantei a cabeça, segui em frente, tenho orgulho de quem estou me tornando e no final como sempre me diziam deu tudo certo! Terminar esse mestrado é uma mistura de alívio e felicidade.

“Você não sabe o quanto eu caminhei pra chegar até aqui”. (A Estrada - Cidade Negra, 2014)

RESUMO

O rápido agravamento da pandemia da COVID-19 impulsionou o desenvolvimento de plataformas vacinais de fácil edição, como as vacinas de DNA multiepítopo. Nesse cenário, é interessante investir em construções vacinais para comparar as estratégias vacinais com ampla conservação de epítomos e capacidade de cobertura populacional. O presente estudo objetivou construir antígenos multiepítopo do SARS-CoV-2, para produção de vacinas de DNA a partir de duas abordagens: epítomos descritos na literatura (I) e preditos a partir da sequência de referência (II). A abordagem I utilizou epítomos das proteínas S e N disponíveis na literatura que foram clonados *in silico* e verificados quanto aos seus valores de imunogenicidade, conservação, cobertura populacional e *docking* molecular. A construção vacinal com > 90% de cobertura incluiu 15 epítomos conservados com potencial imunogênico e que conseguiram se ancorar na fenda dos HLAs. Para a abordagem II foi feita a predição e análise de epítomos das proteínas estruturais, nsP1 e acessórias para identificar aqueles 100% conservados, com maiores valores de cobertura populacional e ancorados nos HLAs. Foram preditos entre 36 e 420 epítomos por proteína. Após as análises, 25 epítomos compuseram essa construção com 53,4% de cobertura. Portanto, este estudo gerou diferentes conjuntos de epítomos capazes de cobrir diferentes populações sendo destacada a segunda construção que conseguiu se manter totalmente conservada mesmo diante das variantes emergentes com potencial para validação futura em estudos *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: COVID-19; profilaxia; multiepítopo; variantes.

ABSTRACT

The rapid worsening of the COVID-19 pandemic has spurred the development of easy-to-edit vaccine platforms, such as multiepitope DNA vaccines. In this scenario, it is interesting to invest in vaccine constructs to compare vaccine constructs with broad epitope conservation and population coverage capacity. The present study aimed to construct SARS-CoV-2 multiepitope antigens for the production of DNA vaccines using two approaches: epitopes described in the literature (I) and predicted from the reference sequence (II). The approach I used epitopes of S and N proteins available in the literature that were cloned *in silico* and verified for their immunogenicity, conservation, population coverage, and molecular docking values. The vaccine construction with > 90% coverage included 15 conserved epitopes with immunogenic potential that were able to anchor in the HLA cleft. For approach II, prediction and analysis of epitopes of structural, nsP1 and accessory proteins was performed to identify those 100% conserved, with higher population coverage values and anchored in HLAs. Between 36 and 420 epitopes per protein were predicted. After analysis, 25 epitopes composed this construction with 53.4% coverage. Therefore, this study generated different sets of epitopes capable of covering different populations, highlighting the second construction that managed to remain fully conserved even in the face of emerging variants with potential for future validation in *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: COVID-19; prophylaxis; multiepitope; variants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema demonstrando proteínas do SARS-CoV-2 e localização dos genes codificadores das proteínas não-estruturais (nsPs), estruturais (S, M, E N) e acessórias (ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 e ORF10) no seu genoma	19
Figura 2 - Ciclo de reprodução do SARS-CoV-2.....	20
Figura 3 - Formas de evasão do sistema imune (SI) realizadas pela infecção do SARS-CoV-2	22
Figura 4 - Fluxograma delimitando as diferentes etapas contidas nas construções dos antígenos sintéticos a partir de epítomos descritos na literatura denominada de Abordagem I e a partir da sequência de referência do SARS-CoV-2 coletada em Wuhan – China denominada de Abordagem II.....	29
Figura 5 - Representação do antígeno construído a partir da Abordagem I contendo sequências <i>linkers</i> destacadas em laranja azul e vermelho, sequências adjuvantes destacadas em azul e sequências de epítomos de células T e B de SARS-CoV-2...	40
Figura 6 - Antígeno sintético construído a partir da Abordagem I com epítomos de células T CD8+ e CD4+ e B clonado in silico em vetor plasmidial para vacina de DNA denominado Pvox_MultiEpit-SARS-CoV-2.....	40
Figura 7 - Cobertura populacional do antígeno sintético elaborado a partir da Abordagem I com base nas frequências alélicas observadas no mundo, especificamente em diferentes continentes e nos países que foram encontradas as VOCs, EUA, Brasil, Peru, Reino Unido, Índia, Nigéria e África do Sul.	43
Figura 8 - Epítomos das proteínas S e N da primeira construção antigênica ancorados através de <i>docking</i> molecular com seus respectivos HLAs de classe I (cor rosa) e de classe II (cor verde) e seus valores de afinidade de ligação (do inglês “ <i>Binding Affinity</i> - BA”) que corresponde a energia de ligação entre o epítomo e HLA sendo que os menores valores possuem a uma energia de ligação mais forte	43
Figura 9 - Valor de IC50 (Afinidade de ligação) por epítomo de MHC-I e MHC-II das proteínas do SARS-CoV-2	45
Figura 10 - Valor de <i>Score</i> de imunogenicidade por epítomo de MHC-I das proteínas do SARS-CoV-2	46
Figura 11 - Variantes de preocupação (Alpha, Beta, Gamma e Delta), de interesse (Eta, Iota, Kappa e Lamda) e Zeta do SARS-CoV-2 e as proteínas que tiveram seu	

quantitativo de epítomos reduzido pela conservação menor que 100% em comparação com cada variante	48
Figura 12 - Cobertura populacional mundial por epítomo de MHC-I e MHC-II das proteínas do SARS-CoV-2	48
Figura 13 - Epítomos das proteínas estruturais, nsP1 e acessórias da segunda construção antigênica ancorados através de <i>docking</i> molecular com seus respectivos HLAs de classe I (cor rosa) e de classe II (cor verde) e seus valores de afinidade de ligação (do inglês “ <i>Binding Affinity</i> - BA”) que corresponde a energia de ligação entre o epítomo e HLA sendo que os menores valores possuem a uma energia de ligação mais forte	49
Figura 14 - Cobertura populacional do antígeno sintético elaborado a partir da Abordagem II com base nas frequências alélicas observadas no mundo, especificamente em diferentes continentes e nos países que foram encontradas as VOCs, EUA, Brasil, Peru, Reino Unido, Índia, Nigéria e África do Sul.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações dos HLAs utilizados no <i>docking</i> molecular dos epítomos das construções vacinais.	33
Tabela 2 - Sequências de epítomos selecionados para a construção do antígeno multiepítomo das proteínas <i>Spike</i> (S) e do Nucleocapsídeo (N) e os valores de IC50 e antigenicidade informados pelos trabalhos que fizeram suas predições.	38
Tabela 3 - Análises de imunogenicidade e conservação dos epítomos que formaram a construção multiepítomo da abordagem I.....	41
Tabela 4 - Quantidade de epítomos obtidos de cada proteína do SARS-CoV-2 após análises de predição de epítomos de células T e B, imunogenicidade de classe I, agrupamento e conservação em relação às variantes emergentes desse novo coronavírus.....	44
Tabela 5 - Epítomos contidos no antígeno sintético multiepítomo da abordagem II	51

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Item	Definição
SARS-CoV-2	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
WHO	Organização Mundial da Saúde (OMS) (em inglês: “ <i>World Health Organization</i> ”)
COVID-19	Doença causada pelo novo coronavírus descoberto em 2019
VOCs	Variantes de preocupação (em inglês: “ <i>Variants of Concern</i> ”)
VOIs	Variantes de interesse (em inglês: “ <i>Variants of Interest</i> ”)
GenBank®	Banco de dados internacional de sequências genéticas do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América
IEDB	Banco de dados internacional de epítomos imunes e recurso de análises (em inglês: “ <i>Immune Epitope Database and Analysis Resource</i> ”)
BLAST	Ferramenta de pesquisa de alinhamento básico local (em inglês: “ <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> ”)
MEGA	Software de análise molecular, evolutiva e genética (em inglês: “ <i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i> ”)
ORF	Quadro de leitura do gene (em inglês: “ <i>Open Reading Frame</i> ”)
HLA	Antígeno Leucocitário Humano (em inglês: “ <i>Human Leukocyte Antigen</i> ”)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVOS	19
1.1.1 Objetivo geral	19
1.1.2 Objetivos específicos.....	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1 SITUAÇÃO CRÍTICA DA COVID-19 NO MUNDO.....	21
2.2 SARS-CoV-2	21
2.3 SINTOMAS E RESPOSTA IMUNOLÓGICA À INFECÇÃO DO SARS-CoV-2	24
2.4 MEDIDAS PROFILÁTICAS E TERAPÊUTICAS PARA COMBATE À COVID-19	26
2.5 ENSAIOS <i>IN SILICO</i> PARA DESENVOLVIMENTO DE ANTÍGENO SINTÉTICO COMO ESTRATÉGIA VACINAL CONTRA COVID-19.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 DESENHO EXPERIMENTAL	32
3.2 ABORDAGEM I – CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO A PARTIR DE EPÍTOPOS DESCRITOS NA LITERATURA	33
3.2.1 Seleção de epítopos, linkers e adjuvantes.....	33
3.2.2 Análises do antígeno construído	34
3.2.2.1 Análise de imunogenicidade.....	34
3.2.2.2 Análise de conservação dos epítopos	34
3.2.2.3 Análise de cobertura populacional.....	35
3.2.2.4 Análise de <i>docking</i> molecular	35
3.3 ABORDAGEM II – CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO A PARTIR DA SEQUÊNCIA REFERÊNCIA DE WUHAN – CHINA.....	37
3.3.1 Criação de banco de dados.....	37
3.3.2 Predição de epítopos de células T.....	37
3.3.3 Predição de epítopos de células B	38
3.3.4 Análise de imunogenicidade	38
3.3.5 Agrupamento de sequências semelhantes	39
3.3.6 Análise de conservação dos epítopos	39
3.3.7 Análise de cobertura populacional	39
3.3.8 Análise de <i>docking</i> molecular.....	40

4 RESULTADOS.....	41
4.1 ABORDAGEM I.....	41
4.1.1 Seleção de epítomos, <i>linkers</i> e adjuvantes.....	41
4.1.2 Análises do antígeno construído.....	44
4.2 ABORDAGEM II.....	47
4.2.1 Predição de epítomos.....	47
4.2.2 Análise de imunogenicidade.....	48
4.2.3 Agrupamento de sequências semelhantes.....	50
4.2.4 Análises de conservação, <i>docking</i> molecular e cobertura populacional	50
5 DISCUSSÃO.....	56
5.1 ABORDAGEM I.....	56
5.2 ABORDAGEM II.....	58
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE AS ABORDAGENS I E II.....	61
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO DURANTE REALIZAÇÃO DO MESTRADO NA REVISTA <i>HUMAN VACCINES AND IMMUNOTHERAPEUTICS</i>	74
APÊNDICE B - ARTIGO PUBLICADO DURANTE REALIZAÇÃO DO MESTRADO NA REVISTA <i>JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY</i>	75
APÊNDICE C - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA <i>SPIKE</i> (S).....	76
APÊNDICE D - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO ENVELOPE (E).....	88
APÊNDICE E - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M).....	90
APÊNDICE F - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N).....	97
APÊNDICE G - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA NÃO ESTRUTURAL 1 (NSP1) DA ORF1AB.....	101
APÊNDICE H - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF3A.....	103
APÊNDICE I - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF6.....	109

APÊNDICE J - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF7AB	112
APÊNDICE K - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF8	115
APÊNDICE L - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF10	117
APÊNDICE M - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA <i>SPIKE</i> (S) MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	119
APÊNDICE N - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DO ENVELOPE (E) MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).	122
APÊNDICE O - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M) MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	123
APÊNDICE P - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N) MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	125
APÊNDICE Q - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA NSP1 CONTIDA NA ORF1AB MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	126
APÊNDICE R - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF3A MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	127
APÊNDICE S - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF6 MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0)	129
APÊNDICE T - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF7AB MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	130
APÊNDICE U - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF8 MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	131
APÊNDICE V - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF10 MAIS IMUNOGÊNICOS (<i>SCORE</i> > 0).....	132
APÊNDICE W - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA <i>SPIKE</i> (S).....	133
APÊNDICE X - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO ENVELOPE (E).....	137
APÊNDICE Y - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M).	138
APÊNDICE Z - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO	

(N).....	140
APÊNDICE AA - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA NSP1 CONTIDA NA ORF1AB	142
APÊNDICE BB - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF3A.....	143
APÊNDICE CC - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF6	145
APÊNDICE DD - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF7AB	146
APÊNDICE EE - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF8	147
APÊNDICE FF - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE <i>CLUSTERS</i> DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF10	148
APÊNDICE GG - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA <i>SPIKE</i> (S) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2	149
APÊNDICE HH - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.....	151
APÊNDICE II - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2	153
APÊNDICE JJ - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA NÃO-ESTRUTURAL 1 (NSP1) DA ORF1AB COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.....	154
APÊNDICE KK - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF3A COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.	155
APÊNDICE LL - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF6	

COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2	156
APÊNDICE MM - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF7AB COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.	157
APÊNDICE NN - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF8 COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.	158
CURRICULUM VITAE (LATTES)	159

1 INTRODUÇÃO

A partir do início de 2020, diversos países do mundo, entre eles o Brasil, notificaram um elevado número de casos de infecção e morte pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (*SARS-CoV-2*) promovendo a doença que foi denominada como COVID-19. Por se tratar de um vírus respiratório que se dissemina facilmente e nos casos mais graves leva até a morte, a produção de vacinas torna-se uma forma importante de auxiliar no controle da pandemia.

Já existem estratégias vacinais licenciadas e sendo desenvolvidas que utilizam vírus atenuado, vetor viral, subunidades, DNA, RNA entre outras. Apesar disso há uma limitação no que se refere ao desenvolvimento de vacina de fácil edição e baixo custo utilizando antígenos sintéticos multiepítipo que incluam simultaneamente proteínas estruturais, não-estruturais (nsPs) e acessórias capazes de se manter conservadas em relação às novas variantes que vem surgindo constantemente por se tratar de um vírus de RNA com alta transmissibilidade.

Nesse contexto, estudos relacionados à construção de antígeno sintético a partir da triagem de epítomos das proteínas do *SARS-CoV-2* detectados por predição computacional tornam-se importantes por utilizar dados já acurados. Dessa forma, é possível selecionar peptídeos que contribuam para o aumento da eficácia e da imunogenicidade em relação às vacinas que estão em desenvolvimento. O processo que envolve a predição desses peptídeos apresenta baixo custo pois as análises são realizadas a partir de softwares gratuitos. Assim, o presente trabalho buscou construir antígenos sintéticos multiepítipo para células T e B a partir de predições e análises computacionais que garantam epítomos conservados às novas variantes como estratégia vacinal contra COVID-19, tendo como plataforma-alvo as vacinas de DNA.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Construir antígenos sintéticos contendo epítomos de proteínas estruturais, não-estruturais e acessórias do *SARS-CoV-2*.

1.1.2 Objetivos específicos

- 1** Triar os epítomos das proteínas estruturais, não estruturais e acessórias;
- 2** Selecionar os epítomos para células T e B com maiores taxas de afinidade de ligação, antigenicidade, diversidade de HLAs e imunogenicidade;
- 3** Delimitar os epítomos que apresentam maior conservação dentro de um conjunto de peptídeos virais e os que tiveram maior cobertura populacional;
- 4** Selecionar *linkers* e adjuvantes para a construção do antígeno sintético;
- 5** Construir antígeno sintético multiepítomo baseado nos epítomos triados para células T e B;

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SITUAÇÃO CRÍTICA DA COVID-19 NO MUNDO

No final de dezembro de 2019 um surto de pneumonia surgiu na região de Wuhan, localizada na China (ZHU *et al.*, 2020). Um novo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave denominado de SARS-CoV-2 foi identificado como o agente causador destas infecções, sendo a doença denominada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como COVID-19 (WHO (1), 2020). Em pouco tempo essa infecção se expandiu por diversos países e atualmente se encontra em todo o mundo atingindo milhões de pessoas e já tendo causado milhares de mortes (JOHNS HOPKINS UNIVERSITY AND MEDICINE, 2022). No Brasil há cerca de 26 milhões de casos confirmados, desse total o nordeste está sendo caracterizado como a segunda região do país como maior parcela de casos de COVID-19 (BRASIL, 2022).

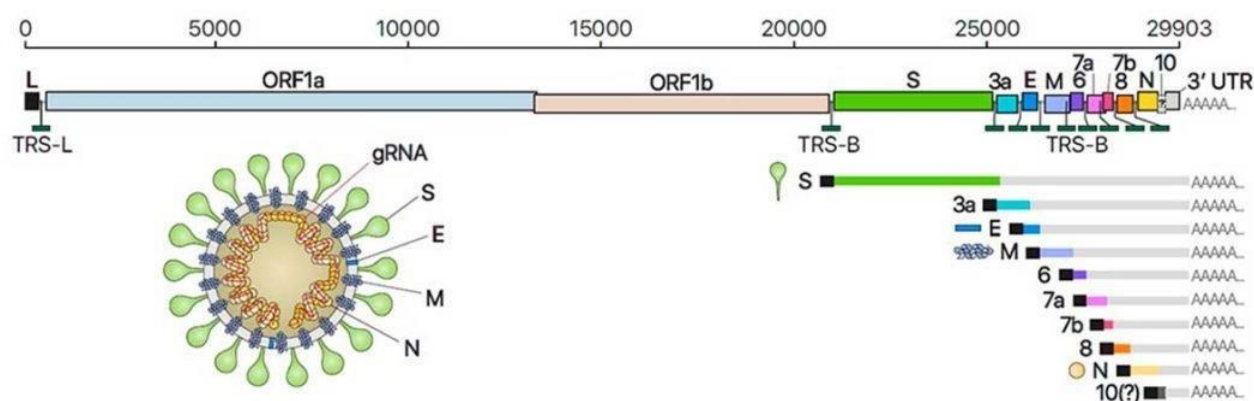
Diante da situação rapidamente agravada a nível mundial, a OMS declarou no mês de março de 2020 que a COVID-19 estava em situação de pandemia (WHO (3), 2020). A partir disso, diversas medidas preventivas foram adotadas pelas nações para conter o quadro da doença nos seus países, como uso de máscaras, redução de contato físico com a boca e nariz, distanciamento e isolamento social (WHO (2), 2020) e a vacinação. Esta última medida foi iniciada a partir de 2021 e até o momento já existem 33 vacinas aprovadas ao redor do mundo (COVID-19 VACCINE TRACKER, 2022). Sua eficácia pôde ser observada principalmente na redução dos números de mortes associados à COVID-19 coincidindo com o período após a liberação da vacinação, ainda que novas ondas epidêmicas tenham emergido (JOHNS HOPKINS UNIVERSITY AND MEDICINE, 2022).

2.2 SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 corresponde a um vírus da família *Coronaviridae*, gênero *Betacoronavirus*, tendo como características ser um vírus envelopado contendo RNA de fita simples no sentido positivo. O seu genoma é formado por genes reguladores de proteínas estruturais, não-estruturais (nsPs) e acessórias (Figura 1). As proteínas estruturais, S (Proteína *Spike*, “*Spike protein*”), M (Proteína da membrana,

“*Membrane protein*”), E (Proteína do envelope nuclear, “*Envelope protein*”) e N (Proteína do nucleocapsídeo, “*Nucleocapsideo protein*”) formam as proteínas do envoltório e material genético do vírus. As proteínas não-estruturais (nsPs 1 a 11) são responsáveis pelos processos de transcrição, tradução e replicação do RNA. As proteínas acessórias (ORF3a, ORF7a, ORF7b, ORF8 e ORF10) são associadas à montagem do vírus (GUO *et al.*, 2020; PHAN, 2020).

Figura 1 - Esquema demonstrando proteínas do SARS-CoV-2 e localização dos genes codificadores das proteínas não-estruturais (nsPs) nas ORF1a e ORF1b, estruturais (S, M, E N) e acessórias (ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 e ORF10). Fonte da imagem: Instituto de Ciências Básicas da Coreia do Sul.

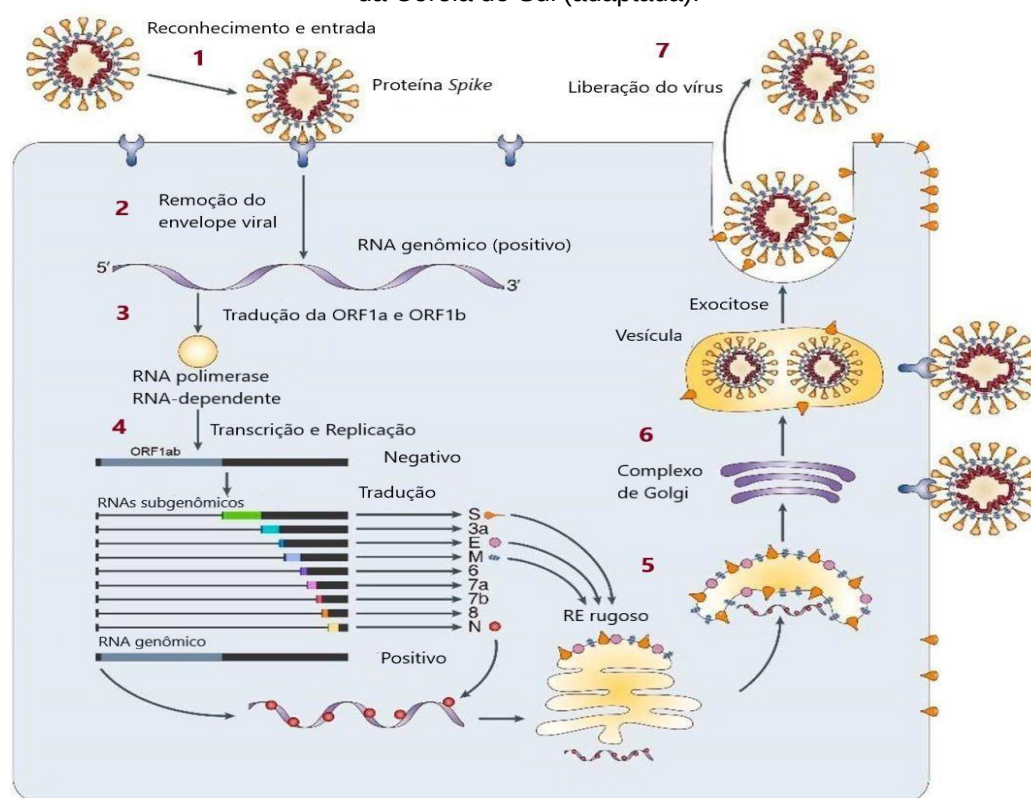


Fonte: Disponível em: <https://www.ibs.re.kr/eng.do> e <https://biotechmagazineandnews.com/nuevo-mapa-genetico-del-sars-cov-2/amp/>.

Uma das características do SARS-CoV-2 é a semelhança do seu genoma (79,5%) com outros vírus respiratórios do mesmo gênero que causou um surto epidêmico em 2002, o SARS-CoV (GUO *et al.*, 2020, YIN; WUNDERINK, 2018). Assim como outros coronavírus, o ciclo de reprodução (Figura 2) se inicia pelo reconhecimento da proteína *Spike* à Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2). Esta se liga à porção da *Spike* denominada de Domínio de ligação ao Receptor (RBD) e com o auxílio da Protease Serina Transmembrana 2 (TMPRSS2) e furina promovem a clivagem proteica e fusão do vírus na membrana celular (HOFFMAN *et al.*, 2020). Por conseguinte, ocorre a remoção do envelope viral e liberação do RNA genômico que por ser de sentido positivo diretamente é traduzido e replicado dando origem às proteínas e RNA genômico, respectivamente. Após a formação das proteínas e do material genético viral, o Retículo endoplasmático e Complexo de Golgi realizam o papel de montagem e liberação do vírus ao unir o genoma ao

envelope viral proteico e liberar o vírion recém-formado (FELSENSTEIN *et al.*, 2020, GUO *et al.*, 2020; TROUGAKOS *et al.*, 2021).

Figura 2 - Ciclo de reprodução do SARS-CoV-2. **1.** Inicialmente o vírus faz o reconhecimento celular por meio de um receptor de membrana denominado ACE2 que se funde com a proteína *Spike* e promove a entrada do vírus na célula após a clivagem proteica feita pelas TMPRSS2 e furina. **2.** Em seguida ocorre a remoção do envelope viral e liberação do RNA genômico de sentido positivo. **3.** De modo que diretamente a poliproteína ORF1ab é traduzida. **4.** A partir disso, a RNA polimerase RNA-dependente formada realiza a transcrição e replicação do material genético em RNA genômico e RNAs subgenômicos correspondentes às proteínas estruturais (S, M, E e N) e acessórias (ORFs 3, 6, 7a, 7b, 8 e 10). **5.** Estas proteínas são direcionadas ao Retículo Endoplasmático (RE) rugoso que realiza a construção do vírion unindo o RNA genômico às proteínas virais. **6.** A partir disso, esses vírions são encapsulados por vesículas do Complexo de Golgi e exocitados na superfície de membrana. **7.** Após isso ocorre a liberação do vírus. Fonte da imagem: Instituto de Ciências Básicas da Coreia do Sul (adaptada).



Fonte: Disponível em: <https://www.ibs.re.kr/eng.do> e <https://biotechmagazineandnews.com/nuevo-mapa-genetico-del-sars-cov-2/amp/>.

Diante da expansão do vírus para diferentes continentes e do surgimento de diversas variantes (PARK *et al.*, 2020) a Organização Mundial da Saúde (OMS) as categorizou em dois grupos, variantes de preocupação e de interesse. Variantes de Preocupação (VOCs, em inglês “*Variants of Concern*”) são as mutações que impactam a transmissibilidade viral e diminuição da eficácia de medidas profiláticas e sociais. Alguns exemplos de VOCs são Alpha (B.1.1.7) do Reino Unido, Beta (B.1.351) da África do Sul, Gamma (P.1) do Brasil, Delta (B.1.617.2) da Índia e

Ômicron (B.1.1.529). Já as Variantes de Interesse (VOIs, em inglês “*Variants of Interest*”) são as mutações que estão relacionadas com a transmissão viral em grupos, escape do sistema imune e impacto no nível de gravidade como, por exemplo, a variante Lamda (C.37) do Peru. Alguns exemplos de outras variantes que já estiveram sobre monitoramento da OMS são Eta (B.1.525) descoberta inicialmente na Nigéria, Iota (B.1.526) dos EUA, Kappa (B.1.617.1) da Índia e Zeta (P.2) do Brasil (EALES *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2021; GUPTA, 2021; HUTCHINSON; WILLIAMS; STONE, 2021; OZER *et al.*, 2021; TOOVEY *et al.*, 2021; WEBB *et al.*, 2021, WHO, 2022). O surgimento de novas variantes pode limitar a elevada eficácia de das vacinas que foram produzidas a partir das cepas iniciais do SARS-CoV-2. É possível também prejudicar o diagnóstico que era realizado a partir de sintomas característicos da COVID-19, comuns nas primeiras cepas, visto que podem surgir novos sintomas desconhecidos ou semelhantes a outras doenças conhecidas.

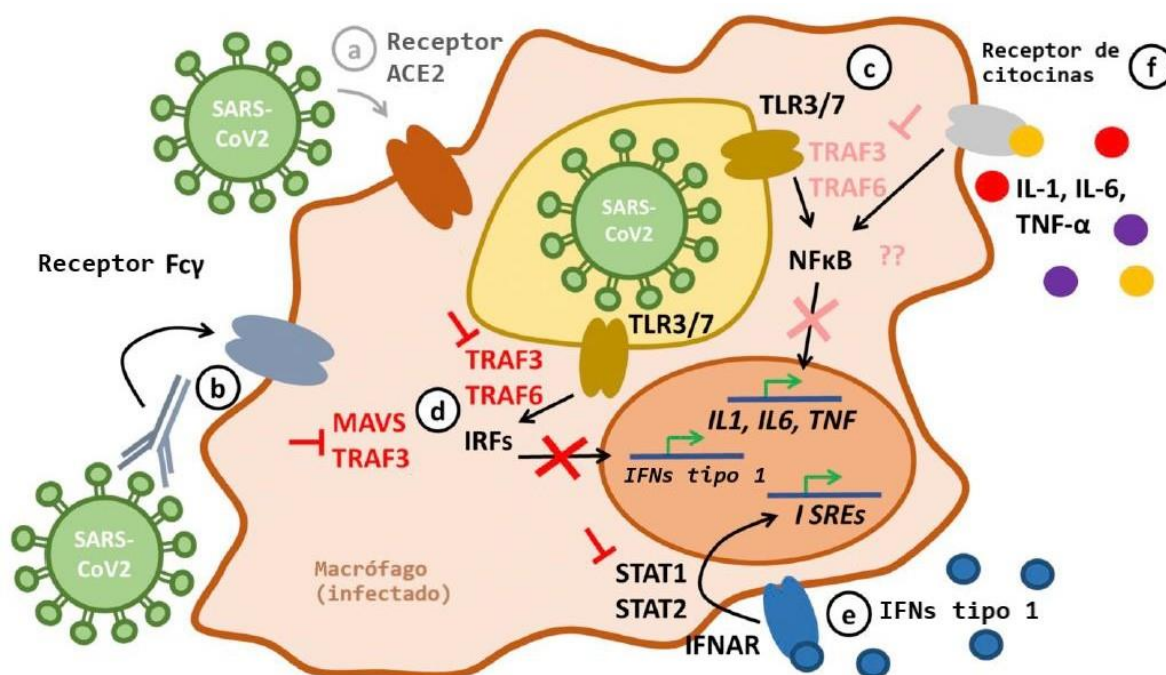
2.3 SINTOMAS E RESPOSTA IMUNOLÓGICA À INFECÇÃO DO SARS-CoV-2

A infecção do Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 pode causar febre alta, tosse e falta de ar (HUANG *et al.*, 2020) entre outros sintomas, o que pode levar a necessidade de internação nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) para o uso de ventiladores mecânicos (WU; MCGOOGAN, 2020) ou intubação, e nos casos mais graves pode causar morte (HUANG *et al.*, 2020).

Por se tratar de uma infecção viral, o percurso dos vírus diante da reação do sistema imunológico, em geral, ocorre por meio da fagocitose por macrófagos e células dendríticas. Estas carregam o vírus até os linfonodos para apresentação do patógeno e, conseqüentemente, ativação das células T (CT) e B (LOPES; AMARAL, 2011). Porém, esse novo coronavírus consegue manipular o sistema imune de diferentes formas (Figura 3). Nesse processo infeccioso, os macrófagos são capazes de atuar, mesmo expressando ACE2 em menor proporção, ao fagocitarem porções do vírus. Contudo, o antígeno viral consegue reverter a situação ao induzir a expressão elevada de interleucinas do tipo 1 β e 6 e TNF α e inibir IFNs do tipo 1, o que limita a atuação do STAT na resposta antiviral (FELSENSTEIN *et al.*, 2020). Esse fenômeno de superexpressão de citocinas é denominado de tempestade de

citocinas e traz consequências prejudiciais ao indivíduo infectado devido gerar uma cascata de reações pró-inflamatórias descontroladas.

Figura 3 - Formas de evasão do sistema imunológico realizadas pela infecção do SARS-CoV-2. **a)** A primeira forma de limitar a infecção desse coronavírus em macrófagos é pelo fato deles geralmente expressarem menos a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2). **b)** Contudo receptores Fc γ possuem a capacidade de permitir a infecção de partículas virais quando os anticorpos não forem capazes de neutralizar esse patógeno. **c)** e **d)** Após a formação dos vírions, estes também são capazes de inibir o IFN tipo I nessas células, de modo que também induzem a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF α e interleucinas do tipo 1 β e 6 desencadeando em uma tempestade de citocinas. **e)** Como IFN tipo I é inibido, STAT por conseguindo tem sua atuação limitada. **f)** A expressão das citocinas supracitadas tende a aumentar por meio de *feedback* positivo.



Fonte: FELSENSTEIN *et al.* (2020) (modificado).

Estudos mostram que as proteínas do coronavírus estão relacionadas com a resposta imunológica, como a proteína S que realiza o primeiro contato com a célula e pode ativar resposta celular e humoral ao se ligar aos anticorpos, o que pode justificar ser uma das proteínas mais utilizadas no desenvolvimento de vacinas contra COVID-19 (DAGOTTO; YU; BAROUCH, 2020; SONG *et al.*, 2019). As proteínas de membrana (M) e do nucleocapsídeo (N), por sua vez, possuem potencial para interação com as células hospedeiras visto que contém diversos sítios de fosforilação controlados por quinases que podem auxiliar na replicação viral (TIMMERS *et al.*, 2021; BOUHADDOU *et al.*, 2020). Enquanto a proteína do envelope (E) ao se fundir com a membrana libera o vírion da célula (KUO;

HURST; MASTERS, 2007; TIMMERS *et al.*, 2021) permitindo que o neo-antígeno seja exposto aos linfócitos.

Entre as proteínas não-estruturais a nsP1 foi identificada uma associação com a evasão do sistema imunológico (BOUHADDOU *et al.*, 2020; THOMS *et al.*, 2020). No que diz respeito às proteínas acessórias, a ORF3a, ORF6 e ORF8 possuem associação com o desencadeamento da tempestade de citocinas e inibição de interferon, respectivamente (ISSA *et al.*, 2020; JIN-YAN *et al.*, 2020; SIU *et al.*, 2019; TAN *et al.*, 2005; TIMMERS *et al.*, 2021). Já as proteínas ORF7a e ORF10 são capazes de afetar a resposta imune por meio de glicosilações e interferência na degradação viral, respectivamente (TAYLOR *et al.*, 2015; TIMMERS *et al.*, 2021; HASSAN *et al.*, 2020), enquanto os fragmentos intracelulares de origem viral possuem relação com a ORF7b (HASSAN *et al.*, 2020).

2.4 MEDIDAS PROFILÁTICAS E TERAPÊUTICAS PARA COMBATE À COVID-19

O desenvolvimento de vacinas é uma das medidas necessárias para evitar o agravamento da pandemia (CHEN *et al.*, 2020, REHMAN *et al.*, 2020). Tendo em vista que elas são capazes de fornecer uma proteção duradoura a partir ativação de células T efectoras para eliminar o patógeno antes que ele possa se disseminar e sofrer mutações e a partir da produção de memória imunológica para combater rapidamente o microrganismo invasor em caso de novos contatos com ele (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2011). Assim, estudos que tenham como finalidade o desenvolvimento de vacina contra COVID-19 capaz de cobrir diferentes variantes emergentes são relevantes no cenário atual.

Apesar de terem sido desenvolvidas vacinas contra o novo coronavírus, como a de vírus atenuado (patógeno modificado para ter baixa virulência), de vírus inativado (patógeno morto), de peptídeo, de subunidades (fragmentos virais) e de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) (LURIE *et al.*, 2020). A vacina de DNA da INOVIO (2020) é uma das poucas que já chegou ao estágio clínico I e a da Zydus Cadila (2021) foi autorizada para uso emergencial na Índia. Essa estratégia vacinal apresenta vantagens em relação aos demais como, produção rápida e de baixo custo e estabilidade (KIM; JACOB, 2009). Esses fatores são importantes na situação

de crise econômica e da saúde atual e por se tratar de uma molécula de dupla fita, que é termoestável. Esse aspecto facilita a locomoção da vacina para diversos lugares sem degradar o material facilmente. Além disso, o uso de mecanismos da própria célula para produção do complexo peptídeo-MHC, aspecto importante na ativação dos linfócitos T e B, é responsável por gerar a resposta imune celular e humoral, respectivamente (SAADE; PETROVSKY, 2012).

2.5 ENSAIOS *IN SILICO* PARA DESENVOLVIMENTO DE ANTÍGENO SINTÉTICO COMO ESTRATÉGIA VACINAL CONTRA COVID-19

Diante da situação de pandemia, além do sistema de saúde se encontrar sobrecarregado (POSTON; PATEL; DAVIS, 2020) a falta de recursos financeiros e a necessidade de produção de dados em pouco tempo que auxiliem a produção de estratégias vacinais, configuram um quadro importante para a produção de estudos *in silico*, por exigirem pouco custo e serem feitos em menor tempo (KHAN *et al.*, 2018). Dessa forma, trabalhos que envolvam, por exemplo, predições computacionais de epítomos, menor porção do agente infeccioso capaz de induzir resposta imune de células B e T (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2011), surgem como uma metodologia alternativa importante na minimização desses obstáculos ao fazer simulações *in silico* da capacidade de indução da resposta do sistema imunológico diante da infecção do SARS-CoV-2 (REHMAN *et al.*, 2020).

O uso de servidores computacionais gratuitos permite que sejam reduzidos tempo e dinheiro gastos com materiais de laboratório necessários para a realização dos sucessivos testes *in vitro* e *in vivo*, até atingir resultados precisos e efetivos na produção de vacinas. A partir desses dados *in silico* é possível direcionar os testes em laboratório para alvos que já têm o potencial imunogênico efetivo, desse modo, reduzindo o tempo que seria gasto em ensaios experimentais testando diversos componentes antigênicos que apresentam maiores potenciais de indução de resposta imune, como os epítomos. Nesse contexto as ferramentas de imunoinformática surgem como alternativas capazes de filtrar os epítomos com maiores taxas de imunogenicidade diante dos alelos encontrados nas populações mundiais, por exemplo (BUI *et al.*, 2006), para compor construções vacinais multiepítomo.

Estratégias vacinais baseadas em epítomos preditos *in silico* permitem a flexibilização no que concerne a escolha do que pode conter na sua construção, como quantidade múltipla de epítomos (QAMAR *et al.*, 2020); seleção da resposta imune a ser induzida, celular e/ou humoral (JAIN *et al.*, 2021; LIVINGSTON *et al.*, 2002); adição de sequências espaçadoras (*linkers*) e adjuvantes (LI; PETROVSKY, 2017; PANDEY *et al.*, 2018), triagem de epítomos com melhor desempenho filtrados por ferramentas computacionais (KHAN *et al.*, 2021); e seleção de plataformas de entrega, como moléculas de DNA ou subunidades (SAADE; PETROVSKY, 2012; SLATHIA *et al.*, 2013; KHAN *et al.*, 2018). Além disso, construções multiepítomos se destacam em relação às estratégias convencionais por se limitarem às porções imunogênicas do agente infeccioso gerando uma imunidade direcionada com redução de efeitos colaterais e sem risco de replicação viral para quem recebe a vacina (JAIN *et al.*, 2021). Contudo, os estudos com construções multiepítomo em sua maioria ainda se encontram em fase de elaboração *in silico* ou testes pré-clínicos *in vivo* e até o momento não é tido conhecimento da existência de vacinas multiepítomo em fases clínicas.

Estudos que envolvam a construção de antígenos sintéticos a partir de predição computacional de epítomos que incluam simultaneamente todos os grupos de proteínas do SARS-CoV-2, estrutural, não-estrutural (nsP) e acessória ainda são escassos, principalmente se incluir esta última categoria que está relacionada com a montagem do vírus (ENAYATKHANI *et al.*, 2021; KHAN *et al.*, 2021; JAIN *et al.*, 2021).

Tratando-se de utilizar DNA como plataforma de entrega de construções multiepítomo, existem trabalhos envolvendo outros agentes infecciosos, como *Brucella abortus* e HIV (ESCALONA; SÁEZ; OÑATE, 2017; YANG *et al.*, 2015). E em relação à COVID-19 foram encontrados estudos que incluíram as proteínas S, N e nsPs (RAJPUT *et al.*, 2021), estruturais, nsPs e acessórias (JAIN *et al.*, 2021), estruturais e ORF1a (ADAM, 2021), as nsPs e S (SAFAVI *et al.*, 2020) ou de forma isolada a proteína N (KUMAR *et al.*, 2021), RBD da proteína S (JYOTISHA; QURESHI, 2020) e proteína M (AYYAGARI *et al.*, 2020). Apesar da existência dos trabalhos supracitados nenhum analisou se os seus epítomos se mantiveram conservados em relação às novas variantes.

Assim, considerando a característica de fácil edição e construção de vacinas multiepitopo carregadas por DNA para verificar e incluir facilmente peptídeos conservados às novas variantes é possível aumentar a eficácia e imunogenicidade diante dos demais tipos de vacinas. Isto é passível de acontecer, pois existe a possibilidade de testar todos os componentes do vírus e a partir disso selecionar os que são capazes de induzir resposta imune mais completa ao conferir imunidade celular e humoral por meio de uma plataforma considerada estável e de fácil construção, como a molécula de DNA que forma o plasmídeo (LIU, 2011; SHANG *et al.*, 2020).

A seleção desses epítomos ocorre a partir das predições realizadas por meio de ferramentas computacionais baseadas, por exemplo, em aprendizagem de máquinas que conseguem identificar em sequências proteicas, peptídeos que possuam características de epítomos de resposta imune celular ou humoral. Além disso, é possível realizar análises de imunogenicidade, agrupamento, conservação em relação a diferentes sequências das novas variantes, por exemplo, cobertura populacional e simulações de *docking* e dinâmica molecular com seus complexos de imunohistocompatibilidade (MHCs).

A predição de epítomos de células T e B é feita para identificar epítomos ativadores de células T (CD8+ e CD4+) e B a partir de uma sequência de proteína de acordo com critérios de afinidade de ligação, comprimento, processamento e eluição de ligante. O *Immune Epitope Database and Analysis Resource* (IEDB) é um banco de dados e de ferramentas gratuito que faz predições de epítomos seguindo diferentes métodos que estão detalhados no artigo de revisão de autoria própria mencionado no Apêndice A.

Entre suas ferramentas de predição estão a *MHC-I Binding Predictions* (<http://tools.iedb.org/mhci/>) para predição de epítomos de células TCD8+ associadas aos alelos de HLAs oriundos de MHC de classe I e *MHC-II Binding Predictions* (<http://tools.iedb.org/mhcii/>) para predição de epítomos de células TCD4+ associadas aos HLAs de MHC de classe II que se baseiam nos valores de percentil rank e afinidade de ligação (IC50) do epítomo com o HLA.

Esses alelos de podem ser selecionados, por exemplo, pelo banco de dados do IEDB que coleta os alelos mais frequentes denotados pelo *Allele Frequency*

Database (GONZALEZ-GALARZA *et al.*, 2020). Este é um banco de dados que informa todas as frequências dos alelos de HLAs encontradas a nível mundial, continental e nacional podendo filtrar até a nível de grupos étnicos. Já a *Antibody Epitope Prediction* (<http://tools.iedb.org/bcell/>) é uma ferramenta para predição de epítomos de células B com base em seus valores de antigenicidade e a *MHC-I Processing Predictions* (<http://tools.iedb.org/processing/>) informa os epítomos com potencial de processamento via TAP.

Além das predições também é possível fazer análises sobre os epítomos triados, como análise de imunogenicidade, agrupamento de sequências semelhantes, conservação, cobertura populacional, *docking* e dinâmica molecular. Em relação à avaliação do potencial de indução de resposta imune de cada peptídeo ou complexo proteico pode ser que estipulada uma hierarquia de imunogenicidade definida por scores entre cada epítomo ou do seu conjunto. Essa análise pode ser realizada pelas ferramentas *Class I Immunogenicity* (<http://tools.iedb.org/immunogenicity/>) do IEDB e C-ImmSim (RAPIN *et al.*, 2010).

Para evitar a sobreposição de epítomos com sequências semelhantes é feita a etapa de agrupamento que reúne os epítomos de acordo com a porcentagem de semelhança entre suas sequências de aminoácidos. Esse procedimento pode ser feito pela ferramenta *Epitope Cluster Analysis* (<http://tools.iedb.org/cluster/>) disponível no IEDB. Já para verificar a conservação dos epítomos diante de diferentes sequências de proteínas de um mesmo microrganismo como, por exemplo, as sequências das variantes, pode ser utilizada a ferramenta do IEDB denominada *Epitope Conservancy Analysis* (<http://tools.iedb.org/conservancy/>).

Para mensurar os valores de cobertura populacional de cada epítomo e do conjunto de epítomos de acordo com os valores da frequência alélica de HLAs encontrados em cada população o IEDB disponibiliza uma ferramenta denominada *Population Coverage* (<http://tools.iedb.org/population/>). Essa cobertura do conjunto de epítomos é feita de acordo com uma análise combinatória realizada entre as frequências individuais dos epítomos e sua associação a cada HLA.

É possível também simular um *docking* (ancoragem) do complexo peptídeo-MHC em diferentes posições para verificar a afinidade (energia) de ligação do complexo. ClusPro (VAJDA *et al.*, 2017), PatchDock (SCHNEIDMAN-DUHOVNY *et*

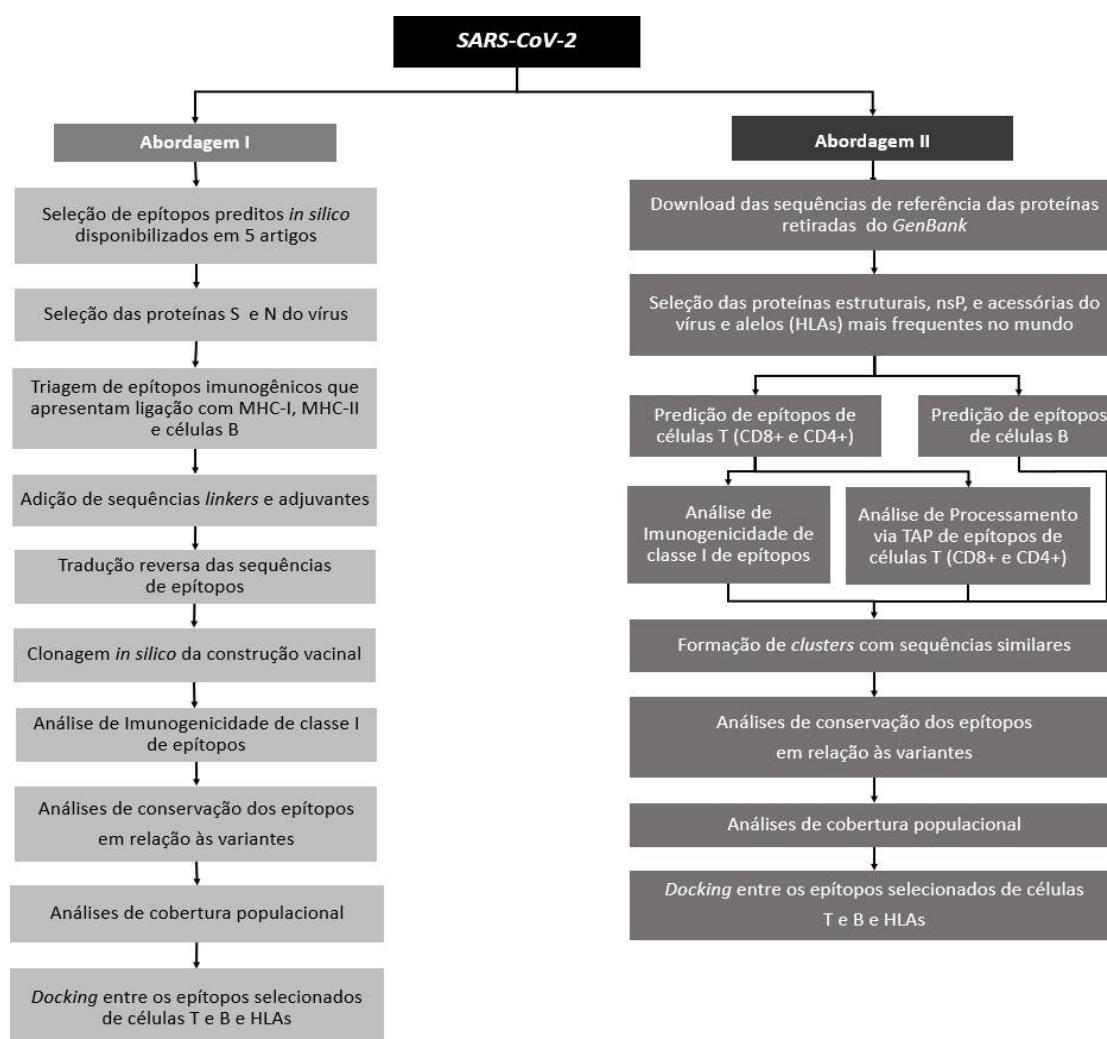
al., 2005), HADDOCK 2.4 (DE VRIES; VAN DIJK; BONVIN, 2010), AutoDock 4.0 (<http://autodock.scripps.edu/>), CABS-dock (KURCINSKI *et al.*, 2015), ZDOCK 3.0.2 (PIERCE *et al.*, 2014) e PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2015) são alguns dos servidores e softwares gratuitos os quais essa simulação pode ser realizada. Além disso, ao filtrar epítomos de interesse é possível uni-los e construir um gene sintético para que possa ser clonado *in silico* em um vetor de expressão através do SnapGene (<https://www.snapgene.com/>) constituindo uma vacina de DNA para testá-la *in vitro* e *in vivo*. Assim, é possível perceber que há uma diversidade de ferramentas e servidor para análises de imunoinformática que podem ser utilizadas no processo de construção *in silico* de estratégias vacinais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esse tópico foi separado em subtópicos descritos abaixo para as duas diferentes abordagens utilizadas na construção dos antígenos sintéticos, I e II, com o objetivo de facilitar a leitura e compreensão das etapas realizadas em cada construção (Figura 4).

3.1 DESENHO EXPERIMENTAL

Figura 4 - Fluxograma delimitando as diferentes etapas contidas nas construções dos antígenos sintéticos a partir de epítopos descritos na literatura denominada de Abordagem I e a partir da sequência de referência do SARS-CoV-2 coletada em Wuhan – China denominada de Abordagem II. Cada caixa representa uma etapa da construção.



Fonte: Autoria própria.

3.2 ABORDAGEM I – CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO A PARTIR DE EPÍTOPOS DESCRITOS NA LITERATURA

Tratou-se de um estudo *in silico* iniciado em meados de maio de 2020 feito a partir de informações presentes nos trabalhos de Qamar *et al.* (2020), Prachar *et al.* (2020), Rahman *et al.* (2020), Qiao *et al.* (2020) e Dong *et al.* (2020) que realizaram predição de epítomos de diversas proteínas do SARS-CoV-2. A partir deles foi elaborado um banco de dados contendo os peptídeos preditos.

3.2.1 Seleção de epítomos, *linkers* e adjuvantes

Foram selecionados epítomos presentes nas proteínas S e N que apresentam ligação com MHC-I, MHC-II e células B. Entre os critérios utilizados como prioridade para definir os epítomos para células T estão: I) capacidade de ligação a mais de 1 HLA, permitindo maior cobertura populacional; II) evitar sobreposição de sequências de aminoácidos para refinar epítomos que diferem um do outro; III) número de aminoácidos que cada peptídeo deve ter para conseguir se ligar ao MHC-I (8-11 aa) e MHC-II (>11 aa). Para células B foi definido como critério um comprimento de até 16 aa. Outros aspectos verificados foram os valores de IC₅₀ < 50, indicando forte ligação do complexo peptídeo-HLA (IEDB, 2020), além dos valores de antigenicidade e *score*.

Para facilitar o processamento e reconhecimento dos peptídeos foram adicionadas as seguintes sequências *linkers* entre os epítomos, Gly (8), EAAAK (CHEN; ZARO; SHEN, 2013), GP GPG (LIVINGSTON *et al.*, 2002; NEZAFAT *et al.*, 2014; DONG *et al.*, 2020; PANDEY *et al.*, 2018), KK (NEZAFAT *et al.*, 2017; PANDEY *et al.*, 2018) e AAY (PANDEY *et al.*, 2018); e para melhorar a resposta imunológica foram adicionados adjuvantes, como β -defensina (DONG *et al.* 2020; KIM *et al.* 2018, LEI *et al.* 2020), PAN-HLA DR (DONG *et al.*, 2020) e TAT (FRANKEL; PABO, 1988, YANG *et al.*, 2019). Em seguida foi feita a clonagem *in silico* com o antígeno construído inserido no vetor plasmidial e a sua síntese, através do SnapGene (<https://www.snapgene.com/>).

3.2.2 Análises do antígeno construído

3.2.2.1 Análise de imunogenicidade

Para conferir a imunogenicidade do epítomos compostos na construção foi utilizada a ferramenta *Class I Immunogenicity*, disponível no *Immune Epitope Database* (IEDB) (<http://tools.iedb.org/immunogenicity/>). Epítomos com valores positivos de imunogenicidade foram selecionados e submetidos à análise de conservação.

3.2.2.2 Análise de conservação dos epítomos

Os epítomos selecionados foram previstos a partir das primeiras sequências do SARS-CoV-2, quando as variantes de interesse e preocupação pela OMS ainda não haviam sido catalogadas. A partir disso, após o surgimento das variantes, foi realizada uma análise de conservação entre os epítomos da construção para verificar a proporção de peptídeos que permaneceram conservados contra cada variante. Sequências de variantes foram coletadas do estudo de PARK *et al.* (2020) e o GISAID (<https://www.gisaid.org/>). Eram sequências genômicas completas e de alta cobertura das variantes catalogadas pela OMS (2022), como Alpha - B.1.1.7 (ID: 3373203), Beta - B.1.351 (ID: 3369915), Gamma - P. 1 (ID: 3373439), Delta - B.1.617.2 (ID: 3372997), Eta - B. 1525 (ID: 3373127), Iota - B.1.526 (ID: 3372470), Kappa - B.1.617. 1 (ID: 3356538), Lamda - C.37 (ID: 3370455) e Zeta - P.2 (ID: 3373365).

Em seguida foi feito o tBLASTn no BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), ferramenta de alinhamento básico local utilizada também pelo artigo de coautoria disponível no Apêndice B. O alinhamento múltiplo das sequências foi feito a partir do MEGA X (KUMAR *et al.*, 2018) para selecionar e alinhar somente as regiões referentes às proteínas S e N. A partir do alinhamento do tipo MUSCLE formado e das sequências dos epítomos para avaliar sua conservação entre essas variantes, e assim identificar a presença de mutações, foi realizada uma análise de conservação dos epítomos utilizando a ferramenta *Epitope Conservancy Analysis*, disponível no IEDB (<http://tools.iedb.org/conservancy/>).

3.2.2.3 Análise de cobertura populacional

Com base nos epítomos conservados com seus respectivos alelos HLA, definidos na etapa de predição, foi realizada uma combinação entre cada epítopo e sua proporção populacional alélica para definir a fração de indivíduos que respondem ao determinado conjunto de epítomos. Essa análise foi realizada por meio da ferramenta *Population Coverage*, disponível no IEDB *Analysis Resource* (<http://tools.iedb.org/population/>).

3.2.2.4 Análise de *docking* molecular

Os HLAS que tinham as estruturas cristalografadas depositadas no *Protein Databank* (PDB) (BERMAN *et al.*, 2000) (Tabela 1) tiveram seus arquivos coletados. Enquanto as estruturas dos epítomos foram modeladas com 100 simulações por predição pelo PEP-FOLD 3.5 (LAMIABLE *et al.*, 2016) que é um servidor de predição de novo de sequências peptídicas de 5 a 50 aminoácidos baseado no modelo oculto de Markov que simula diversas conformações de cadeias polipeptídicas sobrepostas (ALLAND *et al.*, 2005).

Inicialmente, foi realizado o redocking para identificar a fenda e suas dimensões em que os ligantes estavam associados aos HLAs no PDB (Tabela 1). Posteriormente, as moléculas HLA foram tratadas removendo os ligantes e as moléculas de água associadas usando AutoDockTools (SCRIPPS RESEARCH, 2021), e os heteroátomos foram removidos manualmente. Os arquivos pdb foram convertidos em pdbqt no servidor Open Babel para poder acoplar molecularmente cada epítopo com seu(s) respectivo(s) HLA(s) pelo Autodock Vina, disponível no software PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2015).

Tabela 1 - Informações dos HLAs utilizados no *docking* molecular dos epítomos das construções vacinais.

HLA	Descrição	PDB ID	Estruturas removidas
Classe 1			
HLA-A*02:01	HLA-A*0201 humano – ALWGPDPA AAA.	3UTQ	cadeia C: Insulina
HLA-A*03:01	Peptídeo derivado do HIV RT em complexo com HLA-A*0301.	3RL1	cadeia C: peptídeo RT313
HLA-B*35:01	Percepções sobre a reatividade cruzada no alorreconhecimento humano: A estrutura do HLA-B35011 presente em um epítipo derivado do citocromo P450.	2CIK	cadeia C: peptídeo ligante: GOL (glicerol)
HLA-B*51:01	Ligação de peptídeos não padronizados de HLA-B*5101 complexado com o epítipo imunodominante do HIV KM1 (LPPVVAK EI).	1E27	cadeia C: peptídeo do HIV-1 (LPPVVAK EI)
HLA-B*53:01	Molécula de MHC classe I B*5301 complexada com o peptídeo LS6 (KPIVQYDNF) a partir do parasita da malária <i>P. falciparum</i> .	1A1O	cadeia C: peptídeo LS6 (KPIVQYDNF)
HLA-C*08:01	Estrutura cristal do HLA-C*0801	4NT6	cadeia C: proteína matriz 1
Classe II			
HLA-DRB1*01:01	Estrutura em cristal da Enterotoxina Estafilocócica I (SEI) em complexo com uma molécula humana de MHC de classe II.	2G9H	cadeia A: antígeno de histocompatibilidade HLA de classe II, cadeia alfa DR cadeia C: hemaglutinina cadeia D: enterotoxina tipo 1 extracelular Ligantes: EPE (4-(2-hidroxietil)-1-ácido piperazina etanosufônico), SO ₄ (íon sulfato), DIO (1,4-dióxido dietileno) e ZN (íon zinco).

Fonte: Autoria própria.

3.3 ABORDAGEM II – CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO A PARTIR DA SEQUÊNCIA REFERÊNCIA DE WUHAN – CHINA

3.3.1 Criação de banco de dados

Trata-se de um estudo *in silico* feito a partir de informações de sequências proteicas disponíveis em bancos de dados. As proteínas de interesse foram as proteínas estruturais (S, M, E e N), não-estrutural (nsP1) e acessórias (ORF3a, ORF6, ORF7ab, ORF8 e ORF10). Como as nsPs correspondem a 11 proteínas, então foi escolhida a que segundo a literatura está relacionada com a resposta imune no que confere a capacidade de evasão imunológica, nsP1 (TIMMERS *et al.*, 2021; THOMS *et al.*, 2020).

A sequência de referência do genoma completo (Nº de acesso: NC_045512.2) foi obtida a partir do banco de dados, *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1798174254>) e foi criado um banco de dados local com informações acerca das características físicas, químicas e funcionais das proteínas do SARS-CoV-2.

3.3.2 Predição de epítomos de células T

A predição de epítomos de células CD8⁺ e CD4⁺ foi feita utilizando os programas *MHC-I Binding Prediction* e *MHC-II Binding Prediction*, respectivamente, disponíveis no IEDB (<http://tools.iedb.org/mhci/>, <http://tools.iedb.org/mhcii/>), que se baseia nas etapas da via de processamento e apresentação dos antígenos. As predições foram feitas para os alelos do MHC de classes I e II que geralmente são encontrados na população mundial, como HLA-A*01:01, HLA-A*02:01, HLA-A*02:06, HLA-A*03:01, HLA-A*11:01, HLA-A*23:01, HLA-B*07:02, HLA-B*08:01, HLA-B*13:01, HLA-B*13:02, HLA-B*14:02, HLA-B*15:01, HLA-B*15:02, HLA-C*01:02, HLA-C*03:03, HLA-C*03:04, HLA-C*04:01, HLA-C*06:02, HLA-C*07:01, HLA-C*07:02, HLA-C*08:01 (GONZALEZ-GALARZA, 2020; MOURA *et al.*, 2021, BARQUERA *et al.*, 2020), HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*01:04, HLA-DRB1*10:01, HLA-DRB1*11:02, HLA-DRB1*13:01, HLA-DRB1*13:22 (BARQUERA *et al.*, 2020).

Após as predições, a ferramenta gera um valor de afinidade de ligação (IC50), onde valores de IC50 menores que 50 representam forte afinidade de ligação (IEDB, 2021).

As predições de epítomos de MHC-I e MHC-II foram feitas utilizando o método *netMHCpan* 4.1 e *netMHCIIpan* 4.1, respectivamente. Esse método utiliza o princípio de Redes Neurais Artificiais (em inglês, *Artificial Neural Network* (ANN)) que cria camadas correspondentes às características que um peptídeo deve ter para ser considerado imunogênico, ou seja, para que ele seja um epítopo que tenha, por exemplo, tamanho, afinidade de ligação e eluição de ligante adequados, entre outros aspectos (JURTZ *et al.*, 2017).

Assim, a partir da identificação da presença de uma característica, o *software* parte para o próximo nó da rede para verificar o status daquele peptídeo em relação a outra característica, e assim por diante formando algo semelhante a uma matriz de status de *n* características. Além disso, para identificar o potencial que cada epítopo de MHC-I para que possa ser processado de forma eficiente pelo proteossoma, foi feita a predição de processamento via TAP pela ferramenta *MHC-I Processing Predictions* disponível no IEDB (<http://tools.iedb.org/processing/>). Os maiores valores de *score* correspondem a uma maior eficiência. Os resultados dessas predições foram utilizados em etapas posteriores.

3.3.3 Predição de epítomos de células B

A predição de epítomos de células B foi realizada utilizando a ferramenta *Antibody Epitope Prediction*, disponível no IEDB (<http://tools.iedb.org/bcell/>). O método para essas predições calcula um valor para um determinado resíduo *i*, considerando-se os aminoácidos em um intervalo do comprimento escolhido, centralizado em torno do resíduo *i*. O tamanho de janela foi em torno dos valores de 9 a 15 aa para ser destacado como capaz de encontrar regiões com potencial antigênico (limiar acima 0,5). Os resultados dessa predição foram utilizados em etapas posteriores.

3.3.4 Análise de imunogenicidade

Para verificar os valores de imunogenicidade dos epítomos preditos foi feita a análise de imunogenicidade no IEDB, também utilizada na abordagem I. Os

peptídeos com valores positivos de imunogenicidade foram selecionados e submetidos à análise de agrupamento de sequências similares.

3.3.5 Agrupamento de sequências semelhantes

Com o objetivo de evitar que mais de um epítopo fosse predito na mesma região foi realizada uma análise de agrupamento de sequências semelhantes. Baseado na identidade de sequência, os epítopos preditos foram unidos como *clusters* através da ferramenta *Epitope Cluster Analysis*, disponível no IEDB (<http://tools.iedb.org/cluster/>), definindo-se um *cluster* como um grupo de sequências que possuem similaridade maior ou igual a 70%. Um epítopo representante de cada *cluster* foi selecionado para análises posteriores com base no maior valor de imunogenicidade (TCD8⁺) e no menor valor de IC50 (TCD4⁺) entre os epítopos de cada *cluster*.

3.3.6 Análise de conservação dos epítopos

Para avaliar se os epítopos preditos foram conservados entre as diferentes variantes do vírus, foi feita a análise de conservação também utilizada na Abordagem I diferindo nessa segunda abordagem por selecionar epítopos com grau de conservação de 100% para todas as proteínas utilizadas pela Abordagem II. Essa porcentagem elevada foi definida de modo a garantir que fossem utilizados nessa segunda abordagem epítopos que se mantiveram com o máximo de preservação mesmo diante das variantes já existentes e como uma tentativa de minimizar reduções nos graus de conservação devido às mutações que possam surgir futuramente diante das próximas variantes.

3.3.7 Análise de cobertura populacional

A fim de avaliar a cobertura populacional dos epítopos preditos foi feita a análise de cobertura populacional também realizada na abordagem I para cada uma das proteínas. Nessa segunda abordagem foram identificados os valores de cobertura populacional de forma individual e em seguida o epítopo de MHC-I, MHC-II e células B com maior porcentagem de cobertura (e menor IC50 em caso de empate) de cada proteína foram escolhidos para compor a construção multiepítopo. Após essa seleção foi verificada a porcentagem de cobertura da construção para o

mundo e para cada continente especificando os países que tiveram surgimento de variantes.

3.3.8 Análise de *docking* molecular

A segunda construção seguiu uma metodologia semelhante à abordada na primeira, de modo que inicialmente foi feito o *redocking*, o tratamento das moléculas de HLA no AutoDockTools (SCRIPPS RESEARCH, 2021) e a remoção manual dos heteroátomos. Em seguida foi realizado o *docking* molecular dos complexos epítipo-HLA(s) pelo software PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2015). Os epítopos selecionados para essa análise foram aqueles que tiveram a maior cobertura populacional para MHC-I e MHC-II de cada proteína, e nos casos que mais de um epítipo tiveram a mesma porcentagem de cobertura foi priorizado aquele que tinha o menor IC50. Os dados gerados também foram analisados com base nos valores de afinidade de ligação sendo selecionado o modelo de menor valor de afinidade de cada complexo epítipo-HLA e sua estrutura foi visualizada por meio do Discovery Studio (BIOVIA, 2021).

4 RESULTADOS

4.1 ABORDAGEM I

4.1.1 Seleção de epítomos, *linkers* e adjuvantes

479 epítomos foram preditos pelos trabalhos de Qamar *et al.* (2020), Prachar *et al.* (2020), Rahman *et al.* (2020), Qiao *et al.* (2020) e Dong *et al.* (2020). Destes 295 foram referentes para MHC-I, 49 para MHC-II e 135 para células B. Dentre eles, foram separados 15 epítomos para a construção do antígeno sintético (vide item 4.2 do Material e métodos). Os valores de IC50 e antigenicidade de cada epítomo descritos pelos estudos que foram base para a construção do antígeno podem ser observados na tabela 2.

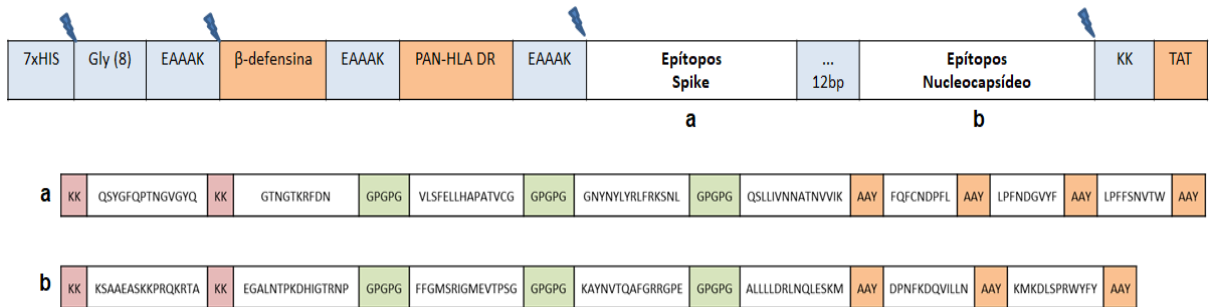
Tabela 2 - Sequências de epítomos selecionados para a construção do antígeno multiepítomo das proteínas *Spike* (S) e do Nucleocapsídeo (N) e os valores de IC50 e antigenicidade informados pelos trabalhos que fizeram suas predições.

Epítomo	Sequência	Alvo	HLA	IC50 (ANN)	Antigen.
S ₅₆₋₆₄	LPFFSNVTW	MHC-I	HLA-B*53:01 HLA-B*51:01	5,79	-
S ₈₄₋₉₂	LPFNDGVYF	MHC-I	HLA-B*35:01 HLA-B*15:02	9,15	-
S ₁₃₁₋₁₄₁	FQFCNDPFL	MHC-I	HLA-A*02:06 HLA-C*08:01 HLA-A*02:01	3,97	-
S ₁₁₅₋₁₂₉	QSLIVNNATNVVIK	MHC-II	HLA-DRB1*13:02	1,4	-
S ₄₄₇₋₄₆₁	GNYNLYRLFRKSNL	MHC-II	HLA-DRB1*11:01	5,2	-
S ₅₁₂₋₅₂₆	VLSFELLHAPATVCG	MHC-II	HLA-DRB1*01:01	2,7	-
S ₇₂₋₈₁	GTNGTKRFDN	Célula B	-	-	0,667
S ₄₉₃₋₅₀₆	QSYGFQPTNGVGYQ	Célula B	-	-	0,670
N ₁₀₀₋₁₁₁	KMKDLSPRWYFY	MHC-I	HLA-A*29:02 HLA-E*01:01 HLA-A*32:01 HLA-A*01:01 HLA-A*03:01 HLA-A*31:01	-	1,4

			HLA-B*15:01			
N ₃₄₃₋₃₅₄	DPNFKDQVILLN	MHC-I	HLA-B*35:03	-	1,3	
N ₂₂₀₋₂₃₄	ALLLLDRLNQLESKM	MHC-II	HLA-DRB1*11:04	-	0,5669	
			HLA-DRB1*11:06			
			HLA-DRB1*13:11			
			HLA-DRB1*13:21			
			HLA-DRB1*13:07			
			HLA-DRB1*11:02			
			HLA-DRB1*11:21			
			HLA-DRB1*13:22			
			HLA-DRB1*13:04			
			HLA-DRB1*08:17			
			HLA-DPA1*03:01			
			HLA-DPB1*04:02			
			HLA-DRB1*08:06			
			HLA-DRB1*11:28			
			HLA-DRB1*13:05			
			HLA-DRB1*08:04			
			HLA-DRB1*11:14			
			HLA-DRB1*13:23			
N ₂₆₆₋₂₈₀	KAYNVTQAFGRRGPE	MHC-II	HLA-DRB5*01:05	-	0,6104	
			HLA-DRB5*01:01			
N ₃₁₆₋₃₃₀	FFGMSRIGMEVTPSG	MHC-II	HLA-DRB1*11:28	-	0,9397	
			HLA-DRB1*13:05			
			HLA-DRB1*13:21			
N ₁₃₈₋₁₅₃	EGALNTPKDHIGTRNP	Célula B		-	-	
N ₂₅₁₋₂₆₆	KSAAEASKKPRQKRTA	Célula B		-	-	

Foram selecionadas 5 sequências *linkers* (Figura 5) para intercalar as sequências dos epítomos a fim de facilitar a clivagem proteica no comprimento de interesse para cada peptídeo de modo que cada um deles consiga se ligar às moléculas de HLAs durante as etapas de processamento e apresentação dos antígenos. Além disso, para complementar a construção foram escolhidos 3 adjuvantes (Figura 5) para aumentar a capacidade de direcionamento do antígeno sintético na inserção celular e para potencializar a ativação da resposta imune do multiepítomo.

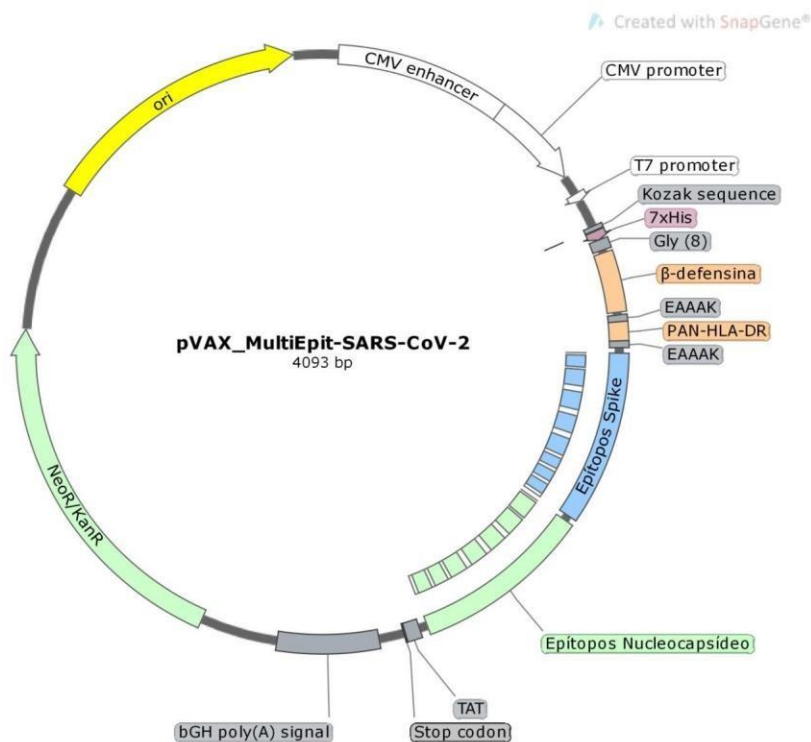
Figura 5 - Representação do antígeno construído a partir da Abordagem I contendo sequências *linkers* Gly(8), EAAAK, GP GPG, KK e AAY; sequências adjuvantes β -defensina, PAN-HLA DR e TAT; e as sequências de epítomos de células T e B de SARS-CoV-2. **a.** Sequência de epítomos da proteína *Spike* intercaladas por *linkers*, **b.** Sequência de epítomos da proteína do Nucleocapsídeo intercaladas por *linkers*. Cada  representa um sítio de restrição.



Fonte: Autoria própria.

A clonagem *in silico* feita com o antígeno construído inserido no vetor plasmidial para desenvolvimento de vacina de DNA pode ser observada na figura 6, o qual contém as sequências necessárias para viabilizar a replicação e transcrição desse gene sintético a partir das regiões de origem (*ori*) e promotora.

Figura 6 - Antígeno sintético construído a partir da Abordagem I com epítomos de células T CD8+ e CD4+ e B clonado *in silico* em vetor plasmidial para vacina de DNA denominado pVAX_MultiEpit-SARS-CoV-2.



Fonte: Snapgene (modificado).

4.1.2 Análises do antígeno construído

A análise de imunogenicidade de MHC-I demonstrou que 4 de 5 dos epítomos de MHC-I tiveram valores positivos de imunogenicidade o que contribui para o favorecimento da resposta imune em uma estratégia vacinal. Já em relação à conservação dos epítomos diante das variantes do SARS-CoV-2 que surgiram, 4 dos 8 epítomos da proteína S e 5 dos 7 epítomos da proteína N se mantiveram 100% conservados para todas as variantes (Tabela 3).

Tabela 3 - Análises de imunogenicidade e conservação dos epítomos que formaram a construção multiepítopo da abordagem I.

Análise de imunogenicidade e conservação					
Proteína	Epítomos	Valores de Imunogenicidade	Porcentagem de Conservação	Mutação	País(es) e variantes
<i>MHC-I</i>					
S56-64	LPFFSNVTW	0,04613	100% (26/26)		
S84-92	LPFNDGVYF	0,11767	100% (26/26)		
S131-141	FQFCNDPFL	0,05737	96% (25/26)	FQFCNYPFL	Brasil - P.1
<i>MHC-II</i>					
S115-129	QSLIVNNATNVVIK	-	100% (26/26)		
S447-461	GNYNLYRLFRKSNL	-	80% (21/26)	GNYNRYRLFRKSNL	EUA - B.1.427, B.1.429
				GNYNRYRLFRKSNL	Índia – B.1.617.1 e B.1.617.2
				GNYNRYRLFRKSNL	Peru – C.37
S512-526	VLSFELLHAPATVCG	-	100% (26/26)		
<i>Célula B</i>					
S72-81	GTNGTKRFDN	-	92% (24/26)	GTNGTKRFAN	África do Sul – B.1.351
				GTNVIKRFDN	Peru – C.37
S493-506	QSYGFQPTNGVGYQ	-	89% (23/26)	QSYGFQPTYGVGYQ	Reino Unido – B.1.1.7
				QSYGFQPTYGVGYQ	África do Sul – B.1.351
				QSYGFQPTYGVGYQ	Brasil - P.1
<i>MHC-I</i>					
N100-111	KMKDLSRWYFY	0,09381	100% (26/26)	-	-

N343-354	DPNFKDQVILLN	-0,03586	100% (26/26)	-	-
<i>MHC-II</i>					
N220-234	ALLLLDRLNQLESKM	-	92% (24/26)	ALLLLDRLNQLESK I	Brasil - P.2 EUA – B.1.526
N266-280	KAYNVTQAFGRRGPE	-	100% (26/26)	-	-
N316-330	FFGMSRIGMEVTPSG	-	100% (26/26)	-	-
<i>Célula B</i>					
N138-153	EGALNTPKDHIGTRNP	-	96% (25/26)	EGALNTPKDHIG I RNP	China-Shenzen
N251-266	KSAAEASKKPRQKRTA	-	100% (26/26)	-	-

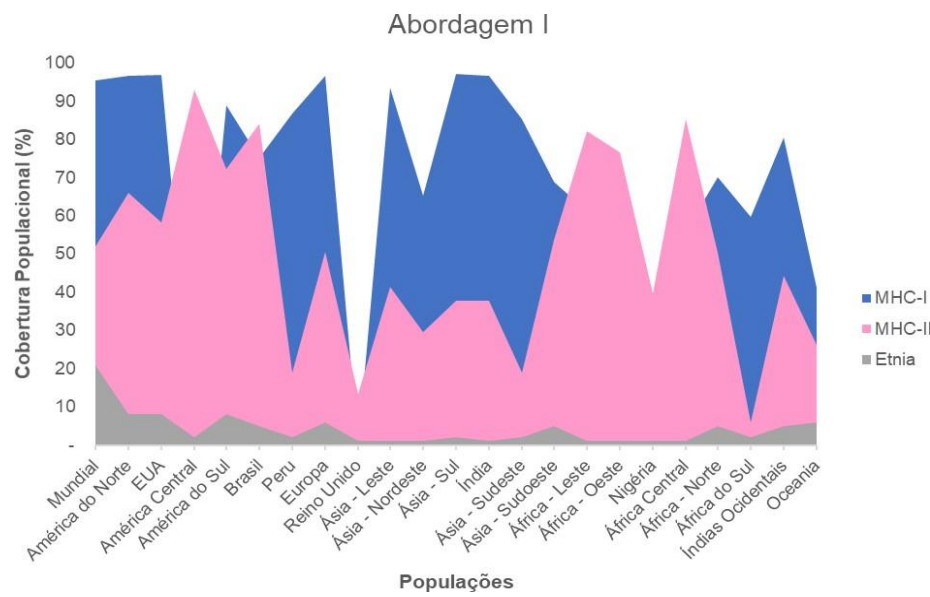
Fonte: Autoria própria.

Em relação à análise de conservação frente às principais variantes, o epítipo ligante a MHC-I, FQFCNDPFL, apresentou uma mutação (D>Y) na variante Gamma (GUPTA, 2021), e teve o seu valor de imunogenicidade aumentado para 0,3301 em comparação com o epítipo da construção que era de 0,05737. GNYNYLYRLFRKSNL, epítipo ligante a MHC-II, apresentou uma mutação (L>R) nas variantes dos EUA (B.1.427 e B.1.429), Kappa e Delta e a mutação L>Q na variante do Lambda. Quanto aos epítopos ativadores de células B, GTNGTKRFDN apresentou a mutação D>A na variante Beta e as mutações GT>VI na variante Lambda (GUPTA, 2021, WHO, 2022); e QSYGFQPTNGVGYQ apresentou uma mutação (N>Y) nas variantes Alpha, Beta e Gamma (GUPTA, 2021) (Tabela 3). Já em relação à proteína N, o epítipo ALLLLDRLNQLESKM associado ao MHC-II apresentou uma mutação (M>I) nas variantes Zeta e Iota. Enquanto o epítipo ativador de célula B, EGALNTPKDHIGTRNP, apresentou uma mutação T>I na variante observada em Shenzhen na China.

Quanto à cobertura populacional da construção estruturada pela Abordagem I, foi observado que ela apresentou mais de 90% de cobertura a nível mundial (Figura 7) para MHC-I, e porcentagem próxima a países da América do Sul, Europa e parte da Ásia. Enquanto a cobertura mundial referente aos alelos de MHC-II foi menor, com um pouco de mais de 50%, sendo maior em países da América, África e parte da Ásia.

A análise de *docking* molecular realizada detectou valores de afinidade de ligação que variaram entre -6,3 e -10,6 Kcal/mol sendo que todos os epítopos mantiveram-se dentro da fenda dos HLAs (Figura 8).

Figura 7 - Cobertura populacional do antígeno sintético elaborado a partir da Abordagem I com base nas frequências alélicas observadas no mundo, especificamente em diferentes continentes e nos países que foram encontradas as VOCs: EUA, Brasil, Peru, Reino Unido, Índia, Nigéria e África do Sul.

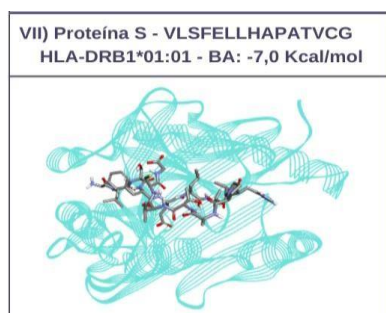


Fonte: Autoria própria.

Figura 8 - Epítopos das proteínas S e N da primeira construção antigênica ancorados através de *docking* molecular com seus respectivos HLAs de classe I (cor rosa) e de classe II (cor verde) e seus valores de afinidade de ligação (do inglês “*Binding Affinity* - BA”) que corresponde a energia de ligação entre o epítipo e HLA sendo que os menores valores possuem a uma energia de ligação mais forte.

I) Proteína S - LPFFSNVTW HLA-B*51:01 - BA: -9,4 Kcal/mol	II) Proteína S - LPFFSNVTW HLA-B*53:01 - BA: -10,6 Kcal/mol	III) Proteína S - LPFNDGVYF HLA-B*35:01 - BA: -9,9 Kcal/mol
IV) Proteína S - FQFCNDPFL HLA-A*02:01 - BA: -7,9 Kcal/mol	V) Proteína S - FQFCNDPFL HLA-C*08:01 - BA: -8,7 Kcal/mol	VI) Proteína N - KMKDLSRWYFY HLA-A*03:01 - BA: -6,3 Kcal/mol

A continuação dessa figura está na página seguinte.



Fonte: Autoria própria.

4.2 ABORDAGEM II

4.2.1 Predição de epítomos

A quantidade de epítomos preditos para células T e B de cada proteína pode ser observada na tabela 4. Entre todas as proteínas analisadas ORF7b e ORF10 não tiveram epítomos preditos para resposta humoral. Além disso, os valores de antigenicidade dos epítomos de células B variaram entre 0,5 e 0,75.

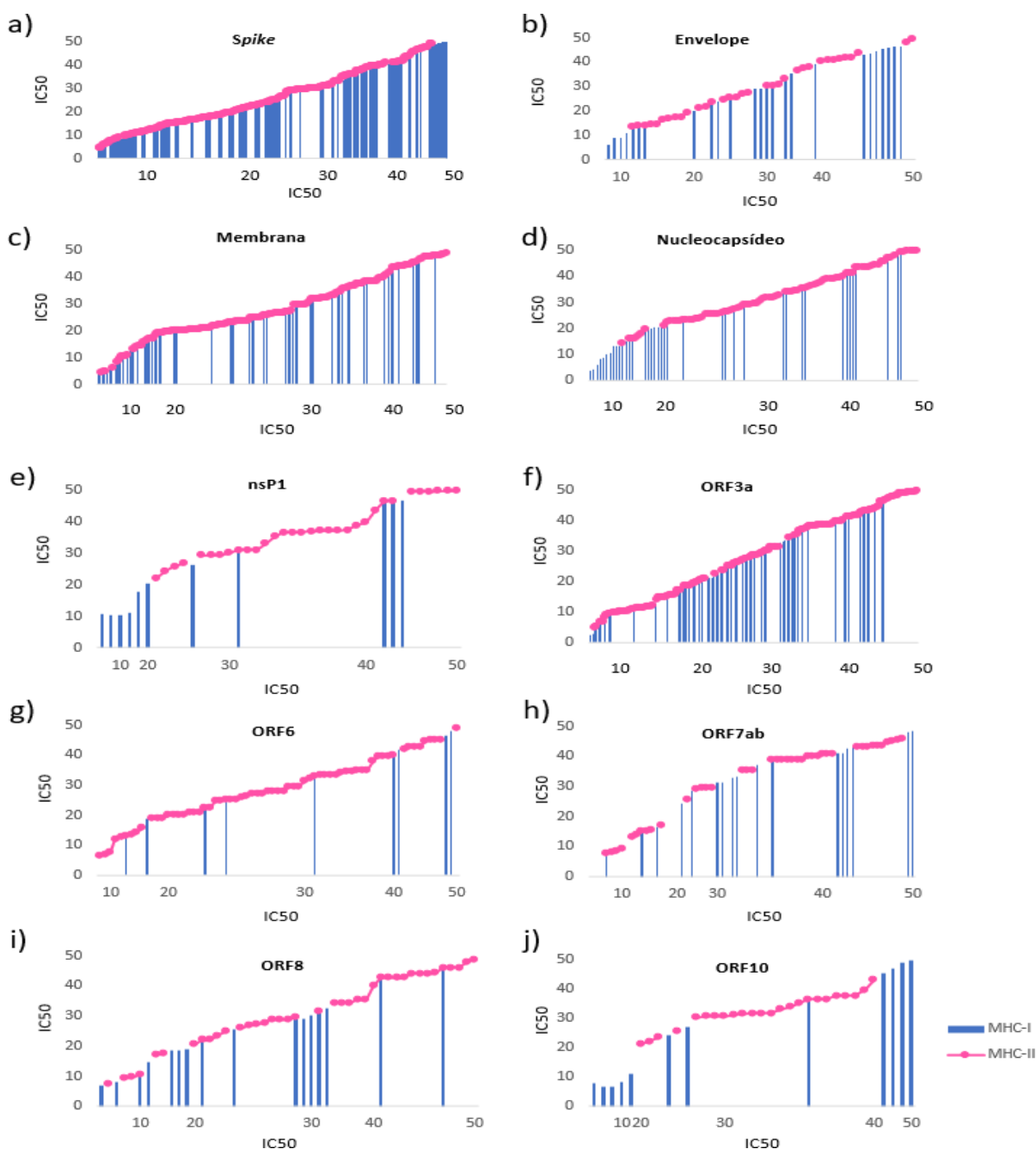
Tabela 4 - Quantidade de epítomos obtidos de cada proteína do SARS-CoV-2 após análises de predição de epítomos de células T e B, imunogenicidade de classe I, agrupamento e conservação em relação às variantes emergentes desse novo coronavírus.

Proteínas	S	E	M	N	nsp1	ORF3a	ORF6	ORF7ab	ORF8	ORF10
Etapas										
Predição células T	420	60	246	127	45	206	75	71	56	36
Predição células B	8	1	1	3	2	3	1	1	1	-
Imunogenicidade	88	16	53	18	9	35	8	20	10	11
Agrupamento	79	9	24	21	10	23	6	12	6	5
Conservação	44	-	22	13	8	14	4	10	1	-

Fonte: Autoria própria.

Assim como a predição de epítomos se baseou na afinidade de ligação do peptídeo com a molécula de MHC foram representados na figura 9 os valores de IC50 que correspondem a afinidade de ligação para cada epítopo de TCD8 + e TCD4 + de cada proteína do SARS-CoV-2. Os dados detalhados de cada epítopo individualmente, como sua posição localizada na proteína, seu comprimento, HLA's associados e valores de IC50 podem ser encontrados entre os Apêndices C e L.

Figura 9 - Valor de IC50 (Afinidade de ligação) por epítipo de MHC-I e MHC-II das proteínas do SARS-CoV-2. a) *Spike*, b) *Envelope*, c) *Membrana*, d) *Nucleocapsídeo*, e) *nsP1*, f) *ORF3a*, g) *ORF6*, h) *ORF7ab*, i) *ORF8* e j) *ORF10*. Cada barra azul nos gráficos representa um epítipo de MHC-I e cada ponto rosa representa um epítipo de MHC-II.



Fonte: Autoria própria.

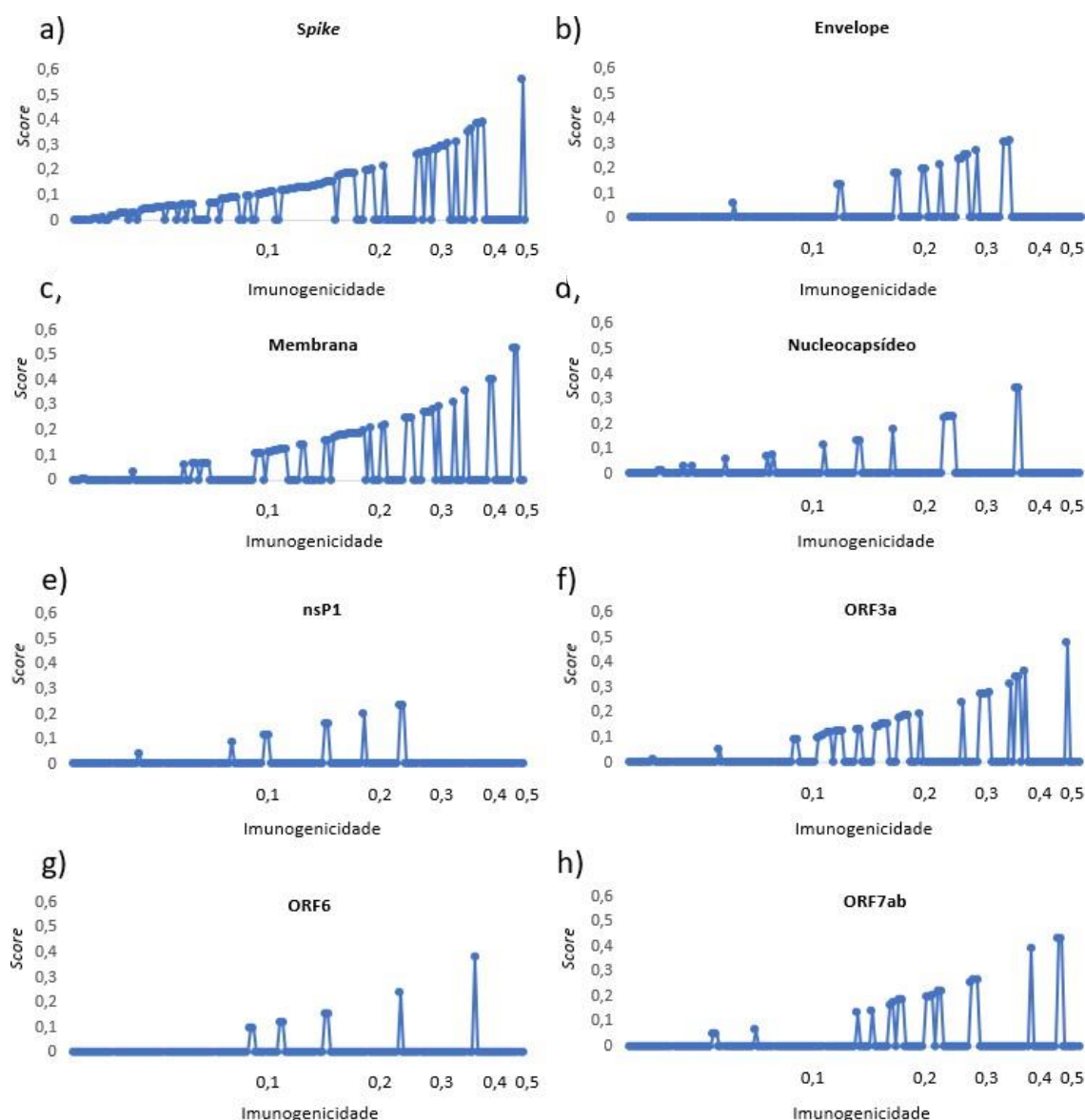
4.2.2 Análise de imunogenicidade

A quantidade de epítomos que foram considerados mais imunogênicos de cada proteína pode ser observada na tabela 4. A definição de um epítomo ser mais

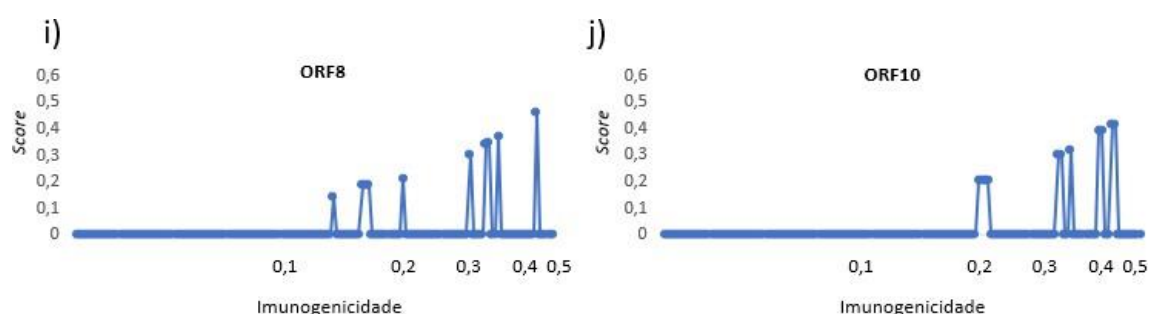
imunogênico que outro foi feita com base nos valores *score* obtidos para cada epítipo predito de modo que *scores* mais elevados correspondem a epítipos com potencial de induzir maior imunogenicidade. Eles foram representados na figura 10 para cada proteína. Os dados detalhados de cada epítipo individualmente com os seus valores de *score* de imunogenicidade podem ser encontrados entre os Apêndices M e V.

Figura 10 - Valor de *Score* de imunogenicidade por epítipo de MHC-I das proteínas do SARS-CoV-2.

a) *Spike*, b) *Envelope*, c) *Membrana*, d) *Nucleocapsídeo*, e) *nsP1*, f) *ORF3a*, g) *ORF6*, h) *ORF7ab*, i) *ORF8* e j) *ORF10*. Cada ponto nos gráficos representa um epítipo.



A continuação dessa figura está na página seguinte.



Fonte: Autoria própria.

4.2.3 Agrupamento de sequências semelhantes

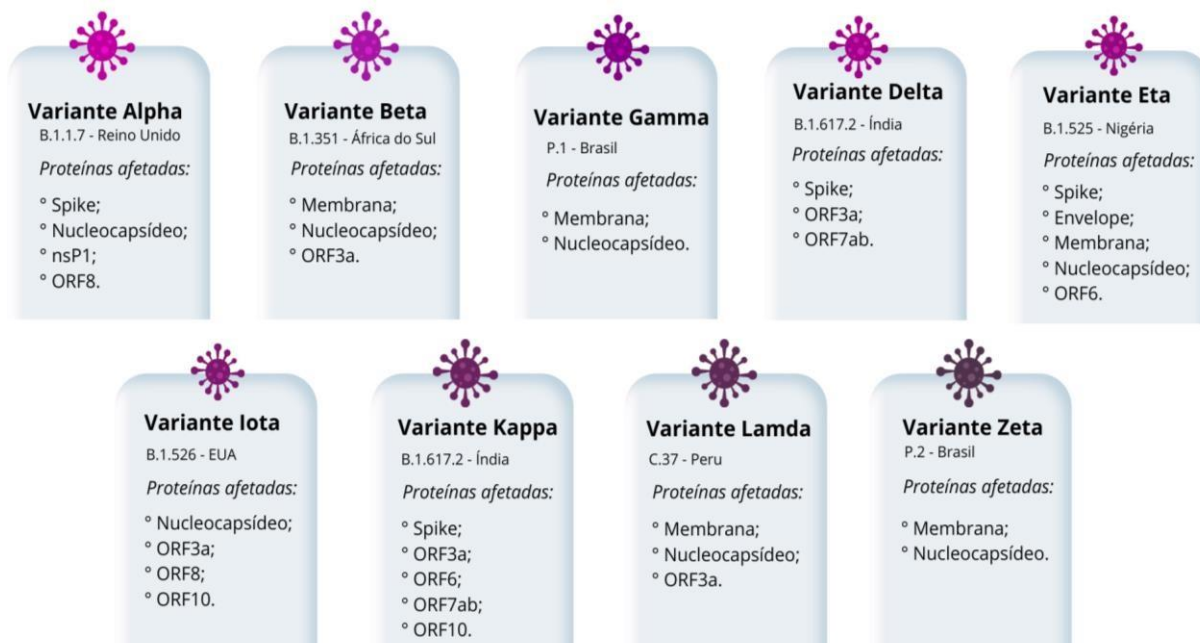
Entre os epítomos triados, a quantidade de peptídeos que foram considerados representantes de grupos (*clusters*) de sequências semelhantes pode ser observada na tabela 4. As tabelas contendo os epítomos representantes de cada *cluster* listados detalhadamente podem ser encontradas entre os Apêndices W e FF.

4.2.4 Análises de conservação, *docking* molecular e cobertura populacional

A quantidade de epítomos representantes de *clusters* que se mantiveram 100% conservados com valores de processamento via TAP e cobertura populacional identificados pode ser observada na tabela 4. A ORF10 assim como a proteína E não obteve nenhum epítopo que se manteve conservado, pois todos foram descartados por estarem em regiões com mutações. Todas as variantes analisadas (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Eta, Iota, Kappa, Lamda e Zeta) afetaram a conservação dos epítomos de pelo menos uma proteína (Figura 11).

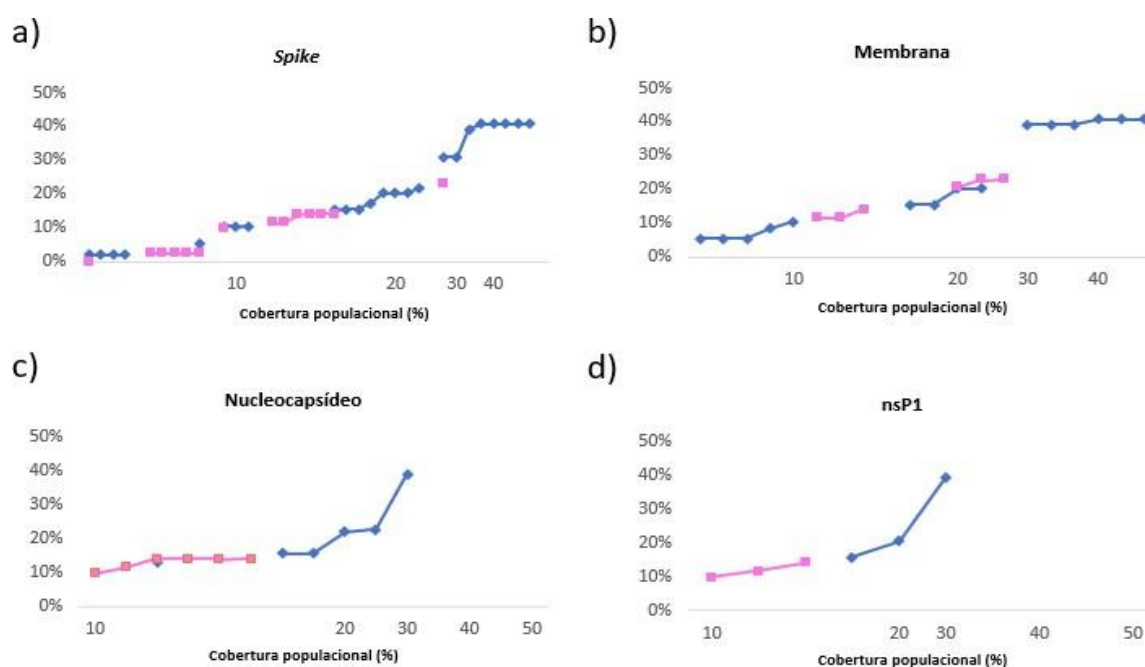
Quanto à cobertura populacional foram denotadas as porcentagens de cobertura a nível mundial de cada epítopo para MHC-I e MHC-II por proteína que estão representados na figura 12. Seus valores individuais variaram entre 1,95% e 40,60% tendo como base a frequência dos alelos que eles são capazes de se ligar. As tabelas contendo os epítomos conservados com seus respectivos valores de processamento via TAP e cobertura populacional listados detalhadamente podem ser encontradas entre os Apêndices GG e NN.

Figura 11 - Variantes Alpha, Beta, Gamma e Delta, Eta, Iota, Kappa, Lamda e Zeta do SARS-CoV-2 e as proteínas que tiveram seu quantitativo de epítomos reduzido pela conservação menor que 100% em comparação com cada variante.

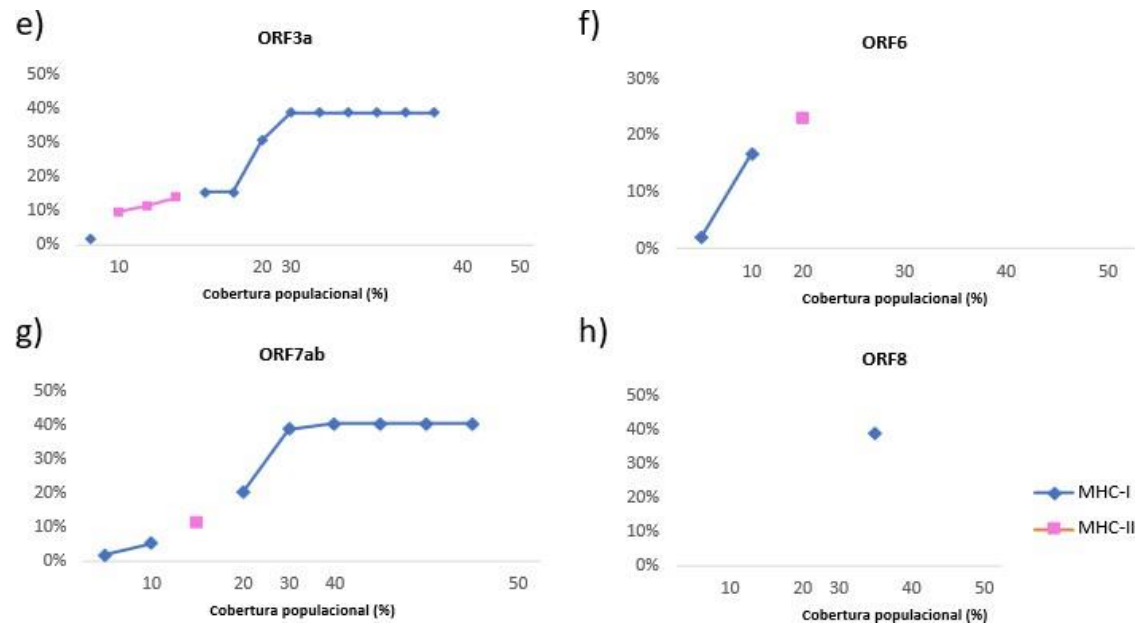


Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Cobertura populacional mundial por epítipo de MHC-I e MHC-II das proteínas do SARS-CoV-2. a) Spike, b) Membrana, c) Nucleocapsídeo, d) nsP1, e) ORF3a, f) ORF6, g) ORF7ab e h) ORF8. Cada ponto nos gráficos representa um epítipo sendo o ponto azul referente a MHC-I e o ponto rosa referente a MHC-II.



A continuação dessa figura está na página seguinte.

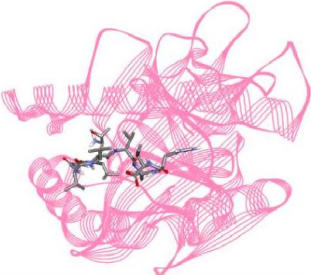
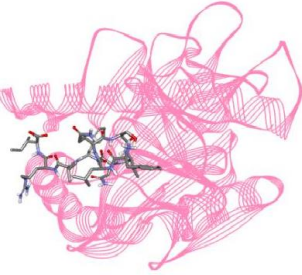
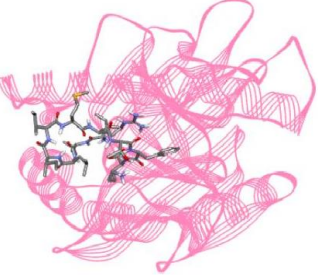
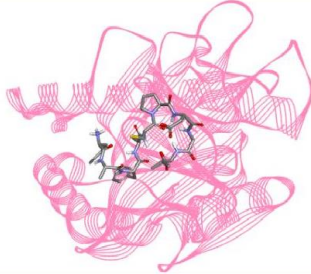
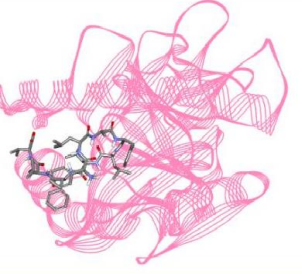
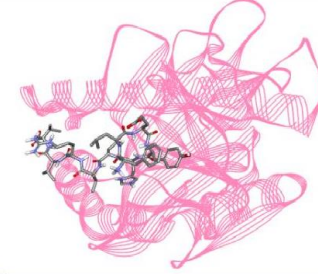
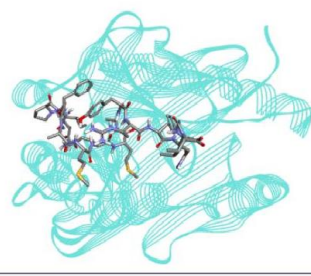
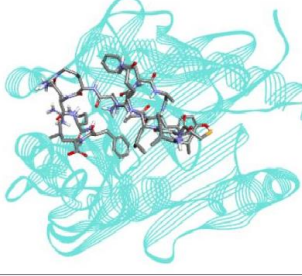
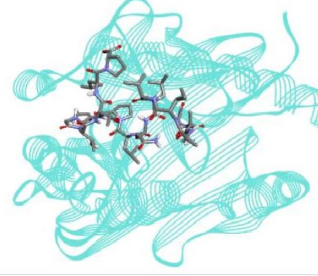
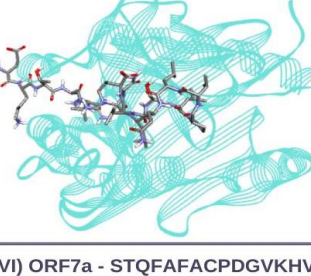
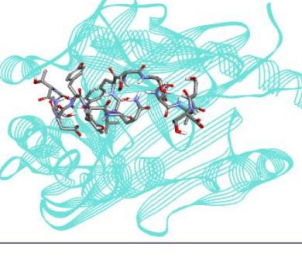
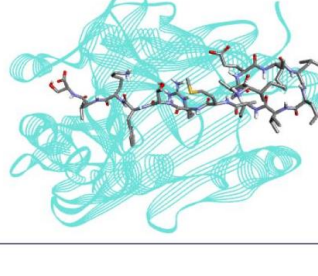
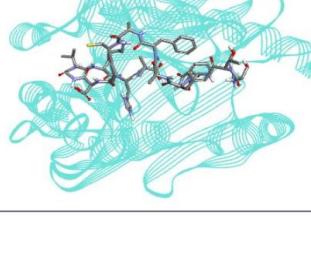


Com base nos maiores valores de cobertura populacional dos epítomos de cada proteína foram selecionados ao total 25 epítomos sendo 9 epítomos de classe I, 7 de classe II e 9 de células B. Essa análise de *docking* molecular detectou valores de afinidade de ligação que variaram entre -5,9 e -7,7 Kcal/mol sendo que todos os epítomos conseguiram se manter dentro da fenda dos HLAs (Figura 13).

Figura 13 - Epítomos das proteínas estruturais, nsP1 e acessórias da segunda construção antigênica ancorados através de *docking* molecular com seus respectivos HLAs de classe I (cor rosa) e de classe II (cor verde) e seus valores de afinidade de ligação (do inglês “*Binding Affinity* - BA”) que corresponde a energia de ligação entre o epítopo e HLA sendo que os menores valores possuem a uma energia de ligação mais forte.

I) Proteína S - FELLHAPATV HLA-A*02:01 - BA: -6,9 Kcal/mol	II) Proteína M - FVLAAYRI HLA-A*02:01 - BA: -7,7 Kcal/mol	III) Proteína N - GMSRIGMEV HLA-A*02:01 - BA: -5,9 Kcal/mol

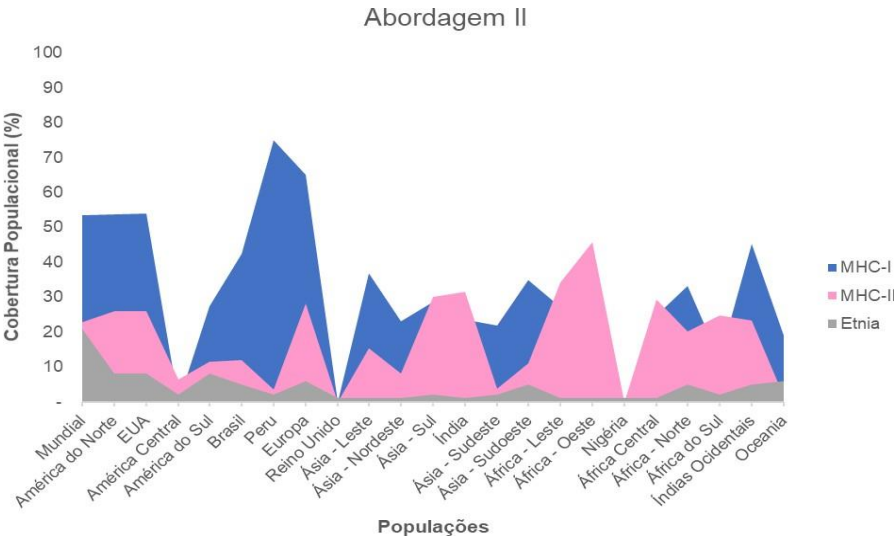
A continuação dessa figura se encontra na próxima página.

IV) nsp1 - TLGVLVPHV HLA-A*02:01 - BA: -7,2 Kcal/mol	V) Proteína ORF3a - FLQSINFEVRI HLA-A*02:01 - BA: -7,4 Kcal/mol	VI) Proteína ORF6 - ILLIIMRTFK HLA-A*03:01 - BA: -6,7 Kcal/mol
		
VII) Proteína ORF7a - FAFACPDGV HLA-A*02:01 - BA: -6,6 Kcal/mol	VIII) Proteína ORF7b - FLAFLFLV HLA-A*02:01 - BA: -6,3 Kcal/mol	IX) Proteína ORF8 - FLEYHDVRVV HLA-A*02:01 - BA: -6,7 Kcal/mol
		
X) Proteína S - QIPFAMQMAYRFNGI HLA-DRB1*01:01 - BA: -7,5 Kcal/mol	XI) Proteína M - ICLLQFAYANRRFL HLA-DRB1*01:01 - BA: -7,1 Kcal/mol	XII) Proteína N - NAAIVLQLPQGTTLP HLA-DRB1*01:01 - BA: -6,3 Kcal/mol
		
XIII) nsP1 - EKTHVQLSLPVLQVR HLA-DRB1*01:01 - BA: -6,8 Kcal/mol	XIV) ORF3a - FTSDYYQLYSTQLST HLA-DRB1*01:01 - BA: -7,7 Kcal/mol	XV) ORF6 - IAEILLIIMRTFKVS HLA-DRB1*01:01 - BA: -7,0 Kcal/mol
		
XVI) ORF7a - STQFAFACPDGVKHV HLA-DRB1*01:01 - BA: -7,5 Kcal/mol		
		

Fonte: Autoria própria.

A cobertura populacional da construção a nível mundial foi de aproximadamente 53,4% para MHC-I, porcentagem próxima a países da América do Norte e do Sul e Europa. Enquanto a cobertura mundial referente aos alelos de MHC-II foi menor, aproximadamente 23%, sendo compensada, de modo geral, em países que tiveram menor cobertura pelos HLAs de classe I, como países da Ásia e da África (Figura 14 e Tabela 5).

Figura 14 - Cobertura populacional do antígeno sintético elaborado a partir da Abordagem II com base nas frequências alélicas observadas no mundo, especificamente em diferentes continentes e nos países que foram encontradas as VOCs: EUA, Brasil, Peru, Reino Unido, Índia, Nigéria e África do Sul.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 - Epítomos contidos no antígeno sintético multiepítipo da abordagem II. Legenda: Comp.: Comprimento (aa), Imunogen.: valor de imunogenicidade, Process.: valor total de processamento via TAP, IC50 Process.: valor de afinidade de ligação associado ao valor de processamento via TAP, Cobertura Populacional: Porcentagem de cobertura populacional em relação ao mundo.

Composição do antígeno sintético da abordagem II					
MHC	Epítopo	Posição	Alelos	IC50	Cobertura Populacional
Classe I (n = 9)	FELLHAPATV	S ₅₁₅₋₅₂₄	HLA-A*02:01	8,28	40,60%
			HLA-A*02:06	28,1	
	FVLAAYRI	M ₆₅₋₇₃	HLA-A*02:06	4,5	40,60%
			HLA-A*02:01	9,17	
	GMSRIGMEV	N ₃₁₆₋₃₂₄	HLA-A*02:01	46,4	39,08%
	TLGVLVPHV	nsP ₁₁₀₃₋₁₁₁	HLA-A*02:01	31,99	39,08%
	FLQSINFVRI	ORF3a ₁₁₄₋₁₂₃	HLA-A*02:01	18,1	39,08%
	ILLIIMRTFK	ORF6 ₁₄₋₂₃	HLA-A*03:01	25,01	16,81%
	FAFACPDGV	ORF7a ₆₃₋₇₁	HLA-A*02:06	7,61	40,60%

				HLA-A*02:01	33,12	
	FLAFLFLV	ORF7b ₁₃₋₂₁		HLA-A*02:01	6,21	40,60%
				HLA-A*02:06	11,21	
	FLEYHDVRVV	ORF8 ₁₀₈₋₁₁₇		HLA-A*02:01	46,64	39,08%
					Conjunto	53,38%
Classe II (n = 7)	QIPFAMQMAYRFNGI	S ₈₉₅₋₉₀₉		HLA-DRB1*01:04	13,02	22,94%
				HLA-DRB1*01:01	5,95	
				HLA-DRB1*10:01	17,66	
				HLA-DRB1*11:02	30,45	
				HLA-DRB1*13:01	30,45	
	ICLLQFAYANRNRFL	M ₃₂₋₄₆		HLA-DRB1*13:22	30,45	
				HLA-DRB1*10:01	10,56	22,94%
				HLA-DRB1*01:01	14,41	
				HLA-DRB1*01:04	27,06	
				HLA-DRB1*11:02	31,72	
	NAAIVLQLPQGTTLP	N ₁₅₄₋₁₆₈		HLA-DRB1*13:01	31,72	
				HLA-DRB1*13:22	31,72	
				HLA-DRB1*01:01	23,39	13,99%
				HLA-DRB1*01:04	32,46	
				HLA-DRB1*10:01	47,94	
	EKTHVQLSLPVLQVR	nsP ₁₁₀₋₂₄		HLA-DRB1*01:01	22,20	
				HLA-DRB1*10:01	25,90	
				HLA-DRB1*01:04	39,80	
	FTSDYYQLYSTQLST	ORF3a ₂₀₇₋₂₂₁		HLA-DRB1*01:01	8,37	13,97%
				HLA-DRB1*10:01	23,90	
	IAEILLIMRTFKVS	ORF6 ₁₁₋₂₅		HLA-DRB1*01:01	6,56	22,94%
				HLA-DRB1*01:04	12,06	
				HLA-DRB1*10:01	20,04	
				HLA-DRB1*11:02	28,10	
				HLA-DRB1*13:01	28,10	
	STQFAFACPDGVKHV	ORF7a ₆₀₋₇₄		HLA-DRB1*13:22	28,10	
				HLA-DRB1*01:01	45,29	11,53%
					Conjunto	22,94%
Células B (n = 9)	KQIYKTPIKDFGGF	S ₇₈₆₋₈₀₀	-	-	-	
	LADAGFIKQYGDCLG	S ₈₂₈₋₈₄₂	-	-	-	
	KL GASQ RVAGDS	M ₁₈₀₋₁₉₁	-	-	-	
	SKQLQQSMSSADS	N ₄₀₄₋₄₁₆	-	-	-	
	VPGFNEKTH	nsP ₁₅₋₁₃	-	-	-	
	EGIQYGRSG	nsP ₁₉₃₋₁₀₁	-	-	-	
	STQLSTDTGV	ORF3a ₂₁₆₋₂₂₅	-	-	-	
	LTENKYSQLDEEQP	ORF6 ₄₄₋₅₇	-	-	-	
	LYHYQECVR	ORF7a ₁₇₋₂₅	-	-	-	

Fonte: Autoria própria.

5 DISCUSSÃO

5.1 ABORDAGEM I

A escolha dos epítomos foi baseada nos tipos de proteínas que foram definidas para o estudo, *Spike* (S) e Nucleocapsídeo (N). A proteína S está relacionada com a ligação do vírus ao receptor celular e a proteína N compõe o envoltório nuclear que é desfeito a partir do momento que o vírus se funde na membrana celular e libera o seu material genético para ser replicado e dar seguimento a expansão da infecção. Assim, são considerados os principais alvos da resposta imunológica por mediar a entrada e replicação do vírus dentro das células (LEI *et al.* 2020; RUMP *et al.*, 2020).

Os *linkers* Gly (8) e EAAAK que foram posicionados na extremidade da construção são capazes de aumentar a curvatura e estabilidade dos epítomos, assim como a acessibilidade a anticorpos. Enquanto os *linkers* AAY, GP GPG e KK selecionados para ficar entre os epítomos possuem características específicas de acordo com o ligante (MHC-I ou MHC-II) ou com a ativação de células B. Os *linkers* AAY posicionados entre os epítomos de MHC-I após sua clivagem formam sítios adequados para o transporte dos epítomos via TAP contribuindo para o aumento da apresentação antigênica para ativação de linfócitos TCD8⁺ (PANDEY *et al.*, 2018). Em contrapartida, os *linkers* GP GPG entre epítomos de MHC-II após a clivagem contribuem para o estímulo da resposta T *helper* (LIVINGSTON *et al.*, 2002; NEZAFAT *et al.*, 2014; DONG *et al.*, 2020). Já os *linkers* KK selecionados entre os epítomos ativadores de células B possuem em sua composição a proteína lisina e tem como principal alvo a enzima apresentadora de antígenos via MHC-II, Catepsina B (NEZAFAT *et al.*, 2017).

Tendo em vista que o antígeno sintetizado pode ser utilizado em vacinas de DNA que geralmente apresentam uma resposta imune menor (LI; PETROVSKY, 2017) o uso dos adjuvantes β -defensina, PAN-HLA DR e TAT buscou prevenir essa situação já conhecida com o objetivo de aumentar a resposta imunológica. Dong *et al.* (2020), Kim *et al.* (2018) e Lei *et al.* (2020) também utilizaram os mesmos adjuvantes nos seus trabalhos para construir vacinas multiepítomos. Essas

sequências adicionadas visam aumentar a imunogenicidade através do estímulo à imunidade inata, recrutar células T *naïve* e facilitar a ligação a diferentes moléculas MHC-II, o que contribui para a indução de respostas TCD4⁺. Além disso, melhoram a entrega do antígeno, proporcionando o aumento da resposta imune celular (DONG *et al.*, 2020 e KIM *et al.*, 2018, FRANKEL; PABO, 1988, YANG *et al.*, 2019).

A primeira análise realizada entre os peptídeos da construção antigênica foi verificar seu potencial de imunogenicidade. Dentre as variações nos valores de imunogenicidade apresentadas, como o construto é formado por múltiplos epítomos, a imunogenicidade reduzida de um dos peptídeos pode ter um efeito menos pronunciado no construto como um todo, uma vez que a maioria dos epítomos do MHC-I (4/ 5) obtiveram valores positivos.

A análise de conservação demonstrou a presença de mutações não sinônimas que promoveram substituições de aminoácidos pertencentes a diferentes grupos químicos, o que pode levar a alterações no peptídeo. A troca de aminoácidos com diferentes grupos químicos pode alterar a polaridade da molécula, a conformação ou a função da proteína a ser formada (NG; HENIKOFF, 2006). No epítopo FQFCNDPFL, por exemplo, na variante P.1, a mutação de ácido aspártico (D) para tirosina (Y) estava presente. Este peptídeo é encontrado na região 131-141 localizada na porção N-terminal do Spike (SMAOUI; YAHYAUI, 2021), e uma alteração localizada nesta posição pode interferir na conformação do domínio de ligação ao receptor (RBD), pois este a porção terminal é lateral ao RBD, que é a parte do pico de maior interação com o anticorpo. Uma alteração neste domínio pode dificultar a interação proteína-anticorpo, prejudicando a atividade neutralizante dos anticorpos produzidos pelas primeiras vacinas. Isso é possível porque foi fabricado com base no SARS-CoV-2 do início da pandemia quando as mutações ainda não haviam sido detectadas.

No entanto, embora houvesse epítomos da construção que não foram conservados para algumas sequências de variações do SARS-CoV-2, eles ainda foram conservados para a maioria das sequências testadas (17/27). Esse recurso potencializa a eficácia de uma futura vacina contendo esse multiepítopo sintetizado,

pois contém epítomos com potencial de induzir a resposta imune de células T e B entre uma variedade de mutações que ocorrem nesse novo coronavírus.

Embora tenham surgido novas variantes, as porcentagens de conservação foram elevadas sendo 80% o menor valor encontrado para essa construção. Já em relação à cobertura populacional mundial o conjunto de epítomos múltiplos atingiu 90% de cobertura. Essa porcentagem foi semelhante ao denotado no trabalho de Rahman *et al.* (2020) que teve como base a construção de vacina multiepítomo a partir das proteínas estruturais.

5.2 ABORDAGEM II

Foram identificados epítomos em todas as proteínas analisadas no presente estudo. As proteínas estruturais, por sua vez, foram as que apresentaram maior quantidade de epítomos preditos (63,6%) sendo cerca de metade destes (49,4%) equivalente a *Spike*, e essa proporção aproximada permaneceu após as análises. Além disso, em relação à predição de epítomos para células T para MHC-I, as proteínas estruturais tiveram em geral menores valores de IC50 que a nsP1 e acessórias indicando maior afinidade de ligação. Esse aspecto pode contribuir para proporcionar uma maior quantidade de epítomos preditos para essa categoria de proteínas, pois o método utilizado para predição leva em consideração na sua rede neural os dados de afinidade de ligação (JURTZ *et al.*, 2017).

Os epítomos de células B, por sua vez, também tiveram a maior quantidade de epítomos (13/21) para as proteínas estruturais, principalmente *Spike*. A variação dos seus valores de antigenicidade foi próximo ao encontrado por Can *et al.* (2020) que variou entre 0,45 e 0,59 para epítomos com o mesmo intervalo de comprimento utilizado como critério para o presente estudo.

A grande quantidade de epítomos para essa glicoproteína pode estar associada ao seu tamanho (~ 4 Kbp de um genoma de 29,9 Kbp = ~ 13,4% do genoma), pois é a maior proteína do vírus e à sua característica de exposição à superfície viral e conseqüentemente mais próxima ao contato celular e a anticorpos. Tais aspectos contribuem para uma maior disponibilidade de peptídeos capazes de

fornecer maior afinidade de ligação com as moléculas apresentadoras de antígeno e maior imunogenicidade. Esse aspecto pôde ser destacado por REY e LOK (2018) ao mencionarem o papel das glicoproteínas de superfície, como a *Spike*, em vírus envelopados associando-as com a indução de imunogenicidade por meio de eliciação de anticorpos neutralizantes.

Um diferencial explorado pelo presente trabalho foram os epítomos presentes nas proteínas acessórias, categoria de proteínas pouco mencionada na literatura no que concerne a construções vacinais contra COVID-19 (ENAYATKHANI *et al.*, 2021; KHAN *et al.*, 2021; JAIN *et al.*, 2021) e que está relacionada com a capacidade de promover alterações na resposta imune via citocinas inflamatórias e interferons, por exemplo (Hassan *et al.*, 2020). Embora tenham sido preditos epítomos para essa categoria em menor quantidade, é importante destacar que todas elas apresentaram peptídeos com potencial imunogênico. Desse modo, nota-se que essas proteínas assim como as proteínas estruturais e não-estruturais são capazes de contribuir com a promoção da resposta imune proposta pela estratégia vacinal que está sendo construída.

A etapa de agrupamento de sequências semelhantes conseguiu reduzir entre 8% e 19% as quantidades iniciais de epítomos preditos das proteínas. Assim, ela pôde ser considerada uma análise importante para restringir somente os epítomos não-redundantes dispostos a ser contidos nessa segunda construção. Esta etapa também foi utilizada no trabalho de Scholzen *et al.* (2019) para desenvolvimento de vacina multiepítomo contra febre Q.

Foi possível observar que todas as proteínas foram afetadas pelas variantes de preocupação ou de interesse. Estas têm potencial para alterações nas estruturas do vírus, transmissibilidade e diminuição da eficácia das vacinas (WHO, 2022). Esse aspecto implicou na redução da quantidade de epítomos a serem utilizados nas etapas seguintes de cobertura populacional e definição dos epítomos da construção da estratégia vacinal. Dessa forma, é possível demonstrar como o surgimento de novas variantes ao longo do tempo limita o desenvolvimento de vacinas que se mantenham funcionais diante das mutações. Sendo assim de suma importância que

ocorra a vacinação com o máximo de pessoas possíveis em um curto espaço de tempo antes que surjam novas variantes (CALDWELL *et al.*, 2021).

As proteínas E e ORF10 foram as mais impactadas pelas variantes, pois seu número total de epítomos foi zerado após verificar sua conservação menor que 100%. Em seguida a ORF8 foi a proteína que teve a segunda maior redução do total inicial de epítomos preditos após essa análise. As variações nos valores de conservação estão associadas às mutações que ocorreram nas sequências das proteínas, pois os epítomos foram preditos a partir da sequência de referência. Timmers *et al.* (2021) relataram em seu estudo mutações nas proteínas E e ORF8 identificadas no Brasil que coincidem com outros lugares do mundo. Já Hassan *et al.* (2020) detectaram em seu estudo com as proteínas acessórias, mutações nas ORF10 e ORF8 sendo esta a segunda proteína acessória com maior número de variações.

O intervalo de valores referentes à afinidade de ligação dos modelos elaborados pelo *docking* molecular foram semelhantes entre as duas construções, -6,3 a -10,6 Kcal/mol (Abordagem I) e -5,9 a -7,7 Kcal/mol (Abordagem II). Entre os 40 epítomos contidos ao total das duas construções, os epítomos LPFFSNVTW, LPFNDGVYF e FQFCNDPFL da primeira construção apresentaram afinidade de ligação próximo ao observado no estudo realizado por Rahman *et al.* (2020) que observaram valores $\leq -8,2$ Kcal/mol entre os epítomos contidos na construção vacinal quimérica contra as proteínas S, M e E do SARS-CoV-2.

A cobertura populacional dessa segunda construção mesmo variando entre os continentes conseguiu se manter elevada em um contexto mundial para MHC-I (53,38%). O fato dela ter tido uma porcentagem menor em comparação à primeira pode ter sido devido à variabilidade de HLAs utilizados e os epítomos de sua composição não serem iguais, pois a ferramenta se baseia na combinação das frequências alélicas do conjunto de epítomos para estipular a cobertura populacional (BUI *et al.*, 2006).

Enquanto a primeira cobriu 15 HLAs de classe I e 21 HLAs de classe II a segunda teve em comum dois MHC-I (HLA-A*02:01 e HLA-A*02:06) entre os seus 3 alelos de classe I e três MHC-II (HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*11:02 e HLA-

DRB1*13:22) entre os seus 6 alelos de classe II. Embora inicialmente, na etapa de predição em que a segunda abordagem identificou epítomos para 21 HLAs de classe I e 6 HLAs de classe II tendo em comum entre as duas abordagens HLA-A*01:01, HLA-A*02:01, HLA-A*02:06, HLA-A*03:01, HLA-B*15:01, HLA-B*15:02, HLA-C*08:01, HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*11:02 e HLA-DRB1*13:22, após as análises foi refinado o quantitativo de epítomos e consequentemente os seus alelos ligantes podendo assim ser explicado o uso distinto de HLAs entre as abordagens.

Rajput *et al.* (2021), Kumar *et al.* (2021), Jyotisha e Qureshi (2020) e Ayyagari *et al.* (2020) em seus estudos de construções multiepítomo contendo entre 6 e 22 epítomos tiveram coberturas populacionais elevadas (80,35% - 94,06%). Porém, diferentemente do presente estudo essas porcentagens corresponderam a coberturas combinadas entre epítomos que tinham a capacidade de se ligar a HLAs das duas classes. Além disso, embora alguns alelos em comum, nenhum deles utilizou o mesmo conjunto de MHCs e epítomos da segunda construção. Jain *et al.* (2021) e Safavi *et al.* (2020) fizeram em seus trabalhos análises de cobertura separadas para MHC-I e MHC-II, como foi feito no presente trabalho, e obtiveram valores variando entre 91,22% e 99,70%, mas também não utilizaram os mesmos epítomos e HLAs do segundo multiepítomo.

Em contrapartida, ADAM (2021) fez os dois tipos de análises, combinada e separadamente, e foi possível identificar que enquanto na primeira a cobertura foi de 99,26%, na segunda esse valor foi reduzido para 49,02% para cada classe de MHC-II se aproximando da média observada no presente estudo. Nesse mesmo trabalho foi possível denotar que entre os 7 HLAs da construção da Abordagem II, 5 coincidiram com os utilizados pelo trabalho de Adam (2021).

5.3 COMPARAÇÃO ENTRE AS ABORDAGENS I E II

Apesar das diferenças em relação à cobertura populacional entre a Abordagem I e II foi possível observar, de modo geral, que os valores de cobertura de MHC-I foram maiores que de MHC-II, padrão visualizado também no estudo de Rahman *et al.* (2020). Essa diferença pode ser explicada devido a algumas

características associadas ao MHC de classe I, como maior porcentagem de cobertura individual dos epítomos associados aos alelos de MHC-I e maior disponibilidade de ferramentas de predição *in silico* o que pode proporcionar epítomos com melhor desempenho.

Esse aspecto pode estar associado à característica da molécula de MHC-I de ter menos cadeias e padrões mais definidos de peptídeos ligantes a ela, o que pode facilitar o desenvolvimento de mais ferramentas computacionais que são pautadas em padrões observados. Além disso, o MHC-I é expresso por todas as células nucleadas, diferindo do MHC-II que tem um número restrito de células para expressá-lo (NEEFJES, *et al.*, 2011). Davila, McNamara e Yang (2012) em seu estudo de comparação de cobertura vacinal por abordagens *in silico* entre plataformas vacinais contra BCG mencionaram a variabilidade de padrões de reconhecimento que as moléculas de MHC possuem e por isso alguns HLAs são mais flexíveis do que outros em relação ao número de aminoácidos de cada peptídeo que ele consegue comportar e a quantidade de epítomos que ele consegue se ligar.

Os epítomos selecionados para compor a segunda construção tiveram os melhores desempenhos após as análises realizadas, pois conseguiram se manter totalmente conservados entre as variantes, em sua maioria são capazes de se ligar a mais de um HLA, obtiveram os maiores valores de cobertura populacional individual entre cada proteína, maior afinidade de ligação, antigenicidade e demonstraram capacidade de processamento via TAP. Entre os epítomos contidos nessa segunda construção, KLGASQRVAGDS, epítomo ativador de células B, foi utilizado por Ayyagari *et al.* (2020) na construção do multiepítomo da proteína M. Ratificando assim que a composição do multiepítomo pela Abordagem II contém epítomo com desempenho comprovado na literatura.

Apesar de ambas as construções terem sido feitas a partir de análises *in silico* destinadas à predição de epítomos do mesmo microrganismo é válido observar e comparar como elas fornecem resultados distintos. Dessa forma é possível perceber que a origem dos dados preditos (a partir de estudos publicados ou a partir da sequência de referência de Wuhan na China), o conjunto de proteínas virais, os

filtros utilizados para selecionar os epítomos, a quantidade e as diferentes combinações de HLAs utilizados podem resultar em construções multiepítomos distintas. Além disso, como forma de validar experimentalmente as informações preditas é importante que posteriormente sejam feitos ensaios *in vitro* e *in vivo* para verificar se há diferença nas respostas do sistema imune geradas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante de todos os aspectos mencionados foram desenvolvidas duas construções vacinais multiepítopo *in silico* a partir de diferentes abordagens de predição de epítomos que passaram pelas mesmas análises. Foram observadas entre elas diferenças na conservação dos epítomos diante das variantes emergentes e na cobertura populacional que pode estar relacionado ao conjunto de HLAs distintos utilizados por cada uma delas. Além de ser explorado as diferenças de cada classe de MHC que pode explicar as variações nos resultados de cobertura populacional.

Apesar dessas diferenças, as construções se mantiveram em grande parte conservadas mesmo com o surgimento contínuo de variantes ao longo do desenvolvimento do presente estudo e capazes de explorar o potencial imunogênico de diversas proteínas do vírus a partir da predição de seus epítomos. Esse aspecto mostra-se relevante no que concerne o desenvolvimento de estratégias vacinais principalmente em períodos que necessitam de forma rápida a contenção de uma doença, como a pandemia da COVID-19.

Dessa forma, estratégias vacinais de fácil edição, como vacinas de ácidos nucleicos associadas às plataformas de baixo custo e rápida verificação de conservação às novas variantes, como as construções multiepítopo tornam-se alternativas interessantes para o desenvolvimento das próximas vacinas contra COVID-19 e outras doenças que possam vir a surgir. Além disso, é válido ressaltar que construções multiepítopo como as desenvolvidas no presente trabalho necessitam de investimento para validação *in vitro* e posteriormente *in vivo* para verificar sua capacidade de imunização nas populações, como já está sendo feito no antígeno multiepítopo da Abordagem I que foi sintetizado e está sendo testado em ensaios pré-clínicos.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. (2011) **Cellular and molecular immunology**. 7. ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2011.

ADAM, K. M. Immunoinformatics approach for multi-epitope vaccine design against structural proteins and ORF1a polyprotein of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). **Trop Dis Travel Med Vaccines**, v.7, n. 22, p. 1-13, 2021.

ALLAND, C. *et al.* RPBS: a web resource for structural bioinformatics. **Nucleic Acids Res.**, v. 33, p. W44-9, 2005.

AYYAGARI, V. S. *et al.* Design of a multi-epitope-based vaccine targeting M-protein of SARS-CoV2: an immunoinformatics approach. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**. v. 40, n. 9, p. 1-15, 2020.

BARQUERA, R. *et al.* Binding affinities of 438 HLA proteins to complete proteomes of seven pandemic viruses and distributions of strongest and weakest HLA peptide binders in populations worldwide. **Hla**, v. 96, n. 3, p. 277-298, 2020.

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Disponível em: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Acesso em: 11 jun. 2021.

BERMAN, H. M. *et al.* The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 235-242, 2000.

BIOVIA - **BIOVIA DISCOVERY STUDIO 2021**. San Diego: Dassault Systèmes. Disponível em: <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>. Acesso em: 18 mai. 2022.

biotechmagazineandnews.com. Disponível em: <https://biotechmagazineandnews.com/nuevo-mapa-genetico-del-sars-cov-2/amp/>. Acesso em 14 set. 2021.

BOUHADDOU, M. *et al.* The global phosphorylation landscape of SARS-CoV-2. **Infection Cell**, v. 8674, n. 30811–14, 2020.

BUI, H-H. *et al.* Predicting population coverage of T-cell epitope-based diagnostics and vaccines. **BMC Bioinformatics**, v. 17, n. 153, p.1-5, 2006.

BRASIL. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 4 fev. 2022.

CALDWELL, J. M. *et al.* Vaccines and variants: modelling insights into emerging issues in COVID-19 epidemiology. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 39, p. 32-39, 2021.

CAN, H. *et al.* In silico discovery of antigenic proteins and epitopes of SARS-CoV-2 for the development of a vaccine or a diagnostic approach for COVID-19. **Sci Rep**, v.10, n. 22387, p. 1-16, 2020.

CHEN, X.; ZARO, J. L.; SHEN, W. C. Fusion protein linkers: Property, design and functionality. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 10, p. 1357–1369, 2013.

CHEN, W. H. *et al.* The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 7, n. 2, p. 61–64, 2020.

COVID-19 vaccine tracker. Disponível em:

<https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/>. Acesso em: 01 fev. 2022.

DAGOTTO, G.; YU, J.; BAROUCH, D. H. Approaches and challenges in SARS-CoV-2 vaccine development. **Cell Host Microbe**, v. 28, n. 3, p. 364–70, 2020.

DALLAKYAN, S.; OLSON, A. J. Small-molecule library screening by docking with PyRx. **Chemical Biology**, 1263. vol., New York, Humana Press, 2015, p. 243–250.

DAVILA, J.; MCNAMARA, L. A.; YANG, Z. Correction: Comparison of the Predicted Population Coverage of Tuberculosis Vaccine Candidates Ag85B-ESAT-6, Ag85B-TB10.4, and Mtb72f via a Bioinformatics Approach. **PLOS ONE**, v. 7, n. 10, p. e40882, 2012.

DE VRIES, S. J.; VAN DIJK, M.; BONVIN, A. M. J. J. The HADDOCK web server for data-driven biomolecular docking. **Nat Protoc.**, v. 5, p. 883–897, 2010.

DONG, R. *et al.* Contriving Multi-Epitope Subunit of Vaccine for COVID-19: Immunoinformatics Approaches. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. 1784, p. 1-18, 2020.

EALLES, O. *et al.* SARS-CoV-2 lineage dynamics in England from January to March 2021 inferred from representative community samples. **medRxiv**, p. 1-33, 2021.

ENAYATKHANI, M. *et al.* Reverse vaccinology approach to design a novel multi-epitope vaccine candidate against COVID-19: an in silico study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 8, p. 2857-2872, 2021.

ESCALONA, E.; SÁEZ, D.; OÑATE, A. Immunogenicity of a multi-epitope dna vaccine encoding epitopes from Cu–Zn superoxide dismutase and open reading Frames of *Brucella abortus* in mice. **Frontiers in immunology**, v. 8, n. 125, p. 1-10, 2017.

FELSENSTEIN, S. *et al.* COVID-19: Immunology and treatment options. **Clinical immunology**, v. 215, n. 108448, 2020.

FRANKEL, A. D.; PABO, C. O. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. **Cell**, v. 55, n. 6, p. 1189–1193, 1988.

GARCIA, V. *et al.* First description of two immune escape indian B. 1.1. 420 and B. 1.617. 1 SARS-CoV-2 variants in France. **bioRxiv**, p. 1-9, 2021.

GISAID. Disponível em: <https://www.gisaid.org/>. Acesso em: 11 jun. 2021.

GONZALEZ-GALARZA, F. F. *et al.* Allele frequency net database (AFND) 2020 update: gold-standard data classification, open access genotype data and new query tools. **Nucleic Acid Research**, v. 48, p.D783-8, 2020.

GUO, Y. R. *et al.* The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - An update on the status. **Military Medical Research**, v. 7, n. 11, p. 1-10, 2020.

GUPTA, R. K. W. SARS-CoV-2 variants of concern affect the promise of vaccines? **Nat Ver Immunol.**, v. 21, p. 340-341, 2021.

HASSAN, S. S. *et al.* Variability of Accessory Proteins Rules the SARS-CoV-2 Pathogenicity. **BioRxiv**, p. 1-25, 2020.

HOFFMAN, M. *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280.e8, 2020.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

HUTCHINSON, D.; WILLIAMS, H.; STONE, H. COVID-19 Variants of Concern in Australia, September 2020-April 2021. **Global Biosecurity**, v. 3, p. 1-22, 2021.

Immune Epitope Database (IEDB). Disponível em: <http://tools.iedb.org/mhci/>, <http://tools.iedb.org/mhcii/>, <http://tools.iedb.org/bcell/>, <http://tools.iedb.org/processing/>, <http://tools.iedb.org/immunogenicity/>, <http://tools.iedb.org/cluster/>, <http://tools.iedb.org/conservancy/>, <http://tools.iedb.org/population/>. Acesso em: 11 set. 2021.

Instituto de Ciências Básicas da Coreia do Sul. Disponível em: <https://www.ibs.re.kr/eng.do>. Acesso em 14 set. 2021.

INOVO. Disponível em: <http://ir.inovio.com/news-and-media/news/press-release-details/2020/INOVO-Initiates-Phase-1-Clinical-Trial-Of-Its-COVID-19-Vaccine-and-Plans-First-Dose-Today/default.aspx>. Acesso em 16 abr. 2020.

ISSA, E. *et al.* SARS-CoV-2 and ORF3a: nonsynonymous mutations, functional domains, and viral pathogenesis. **Msystems**, v. 5, n. 3, p. e00266–20, 2020.

JAIN, N. *et al.* Scrutinizing the SARS-CoV-2 protein information for designing an effective vaccine encompassing both the T-cell and B-cell epitopes. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 87, n. 104648, p. 1-13, 2021.

JIN-YAN, L. *et al.* The ORF6, ORF8 and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2 inhibit type I interferon signaling pathway. **Virus Res.**, v. 286, p. 1–11, 2020.

Johns Hopkins University and Medicine: Coronavirus Resource Center. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Acesso em 1 fev. 2022.

JURTZ, V. *et al.* NetMHCpan-4.0: Improved Peptide–MHC Class I Interaction Predictions Integrating Eluted Ligand and Peptide Binding Affinity Data. **The Journal of Immunology**, v. 199, n. 9, p. 3360–3368, 2017.

JYOTISHA, S. S.; QURESHI, I. A. Multi-epitope vaccine against SARS-CoV-2 applying immunoinformatics and molecular dynamics simulation approaches. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1–17, 2020.

KHAN, M. T. *et al.* Immunoinformatics and molecular modeling approach to design universal multi-epitope vaccine for SARS-CoV-2. **Informatics in medicine unlocked**, v. 24, n. 100578, p. 1–11, 2021.

KHAN, A. *et al.* Computational identification, characterization and validation of potential antigenic peptide vaccines from hrHPVs E6 proteins using immunoinformatics and computational systems biology approaches. **PloS one**, v. 13, n. 5, p. 1–25, 2018.

KIM, J. H.; JACOB, J. DNA Vaccines Against Influenza Viruses. In: Compans R., Orenstein W. (eds) Vaccines for Pandemic Influenza. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 333, 2009.

KIM, J. *et al.* Human β -defensin 2 plays a regulatory role in innate antiviral immunity and is capable of potentiating the induction of antigen-specific immunity. **Virology Journal**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 2018.

KUMAR, J. *et al.* Designing of Nucleocapsid Protein Based Novel Multi-epitope Vaccine Against SARS-COV-2 Using Immunoinformatics Approach. **Int J Pept Res Ther.**, v. 27, p. 941–956, 2021.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, p. 1547–1549, 2018

KUO, L.; HURST, K. R.; MASTERS, O. S. Exceptional flexibility in the sequence requirements for coronavirus small envelope protein function. **Journal of Virology**, v. 81, n. 5, p. 2249–2262, 2007.

KURCINSKI, M. *et al.* CABS-dock web server for the flexible docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site. **Nucleic Acids Res.**, v. 43, p. 419–424, 2015.

LAMIABLE, A. *et al.* PEP-FOLD3: faster de novo structure prediction for linear peptides in solution and in complex. **Nucleic Acids Res.**, v. 44, p. W449–54, 2016.

LEI, C. *et al.* Neutralization of SARS-CoV-2 Spike pseudotyped virus by recombinant ACE2-Ig. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1–5, 2020.

LI, L.; PETROVSKY, N. Molecular Adjuvants for DNA Vaccines. **Current issues in molecular biology**, v. 22, p. 17–40, 2017.

LIU, M. A. DNA vaccines: an historical perspective and view to the future. **Immunol. Rev.**, v. 239, n. 1, p. 62–84, 2011.

LIVINGSTON, B. *et al.* A Rational Strategy to Design Multiepitope Immunogens Based on Multiple Th Lymphocyte Epitopes. **The Journal of Immunology**, v. 168, n. 11, p. 5499–5506, 2002.

LOPES, C.; AMARAL, F. **Explorando o sistema imunológico**. PUC MINAS, 2011, p. 1–44.

LURIE, N. *et al.* Developing COVID-19 vaccines at pandemic speed. **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 1969–1973, 2020.

MOURA, R. R. *et al.* Immunoinformatic approach to assess SARS-CoV-2 protein S epitopes recognised by the most frequent MHC-I alleles in the Brazilian population. **Journal of clinical pathology**, v. 74, n. 8, p. 528–532, 2021.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1798174254>. Acesso em: 16 abr. 2020.

NEEFJES, J. *et al.* Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 11, p. 823–836, 2011.

NEZAFAT, N. *et al.* Designing an efficient multi-epitope oral vaccine against: *Helicobacter pylori* using immunoinformatics and structural vaccinology approaches. **Molecular BioSystems**, v. 13, n. 4, p. 699–713, 2017.

NEZAFAT, N. *et al.* A novel multi-epitope peptide vaccine against cancer: An in silico approach. **Journal of Theoretical Biology**, v. 349, p. 121–134, 2014.

NG, P. C.; HENIKOFF, S. Predicting the effects of amino acid substitutions on protein function. **Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.**, v. 7, p. 61–80, 2006.

OLIVEIRA, D. M. T. *et al.* pHLA3D: An online database of predicted three-dimensional structures of HLA molecules. **Human immunology**, v. 80, n. 10, p. 834–841, 2019.

OZER, E. A. *et al.* High prevalence of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 (UK variant) and the novel B. 1.5. 2.5 lineage in Oyo State, Nigeria. **medRxiv**, p. 1–22, 2021.

PANDEY, R. K. *et al.* Immunoinformatics approaches to design a novel multi-epitope subunit vaccine against HIV infection. **Vaccine**, v. 36, n. 17, p. 2262–2272, 2018.

PARK, T. *et al.* Spike protein binding prediction with neutralizing antibodies of SARS-CoV-2. **BioRxiv**, p. 1-22, 2020.

PHAN, T. Novel coronavirus: From discovery to clinical diagnostics. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 79, n. 104211, p. 1–2, 2020.

PIERCE, B. G. *et al.* ZDOCK server: interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers. **Bioinformatics**, v. 30, p. 1771–1773, 2014.

POSTON, J. T; PATEL, B. K.; DAVIS, A. M. Management of Critically Ill Adults With COVID-19. **JAMA**, v. 323, n. 18, p. 1839-1841, 2020.

PRACHAR, M. *et al.* Identification and validation of 174 COVID-19 vaccine candidate epitopes reveals low performance of common epitope Prediction tools. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

QAMAR, M. T. *et al.* Designing of a next generation multiepitope based vaccine (MEV) against SARS-CoV-2: Immunoinformatics and in silico approaches. **PloS one**, v. 15, p. 1-25, 2020.

QIAO, R. *et al.* Personalized workflow to identify optimal T-cell epitopes for peptide-based vaccines against COVID-19. **arXiv**, v. 2003.10650, p.1-11, 2020.

RAHMAN, M. S. *et al.* Epitope-based chimeric peptide vaccine design against S, M and E proteins of SARS-CoV-2 etiologic agent of global pandemic COVID-19: an in silico approach. **PeerJ**, v. 8, n. e9572, p. 1-30, 2020.

RAJPUT, V. S. *et al.* Engineering a multi epitope vaccine against SARS-CoV-2 by exploiting its non structural and structural proteins. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 1-18, 2021.

RAPIN, N. *et al.* Computational Immunology Meets Bioinformatics: The Use of Prediction Tools for Molecular Binding in the Simulation of the Immune System. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. 1-14, 2010.

REHMAN, H. M. *et al.* A Putative Prophylactic Solution for COVID-19: Development of Novel Multiepitope Vaccine Candidate against SARS-COV-2 by Comprehensive Immunoinformatic and Molecular Modelling Approach. **Biology**, v. 9, n. 296, p. 1-28, 2020.

REY, F. A.; LOK, S. M. Common features of enveloped viruses and implications for immunogen design for next-generation vaccines. **Cell**, v. 172, n. 6, p. 1319-1334, 2018.

RUMP, A. *et al.* Dual ELISA using SARS-CoV-2 nucleocapsid protein produced in E. coli and CHO cells reveals epitope masking by N-glycosylation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 543, p. 457-460, 2020.

SAADE, F.; PETROVSKY, N. Technologies for enhanced efficacy of DNA vaccines. **Expert Review of Vaccines**, v. 11, n. 2, p. 189-209, 2012.

SAFAVI, A. *et al.* Exploring the out of sight antigens of SARS-CoV-2 to design a candidate multi-epitope vaccine by utilizing immunoinformatics approaches. **Vaccine**, v. 38, n. 48, p. 7612-7628, 2020.

SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D. *et al.* PatchDock and SymmDock: servers for rigid and symmetric docking. **Nucleic Acids Res.**, v. 33, p. 363–367, 2005.

SCHOLZEN, A. *et al.* Promiscuous Coxiella burnetii CD4 epitope clusters associated with human recall responses are candidates for a novel T-Cell targeted multi-epitope Q fever vaccine. **Front. Immunol.**, v. 10, p. 1–22, 2019.

Scripps Research. Disponível em: <https://ccsb.scripps.edu/mgltools/>. Acesso em: 13 dez. 2021.

SHANG, W. *et al.* The outbreak of SARS-CoV-2 pneumonia calls for viral vaccines. **npj Vaccines**, v. 5, n. 18, p. 1-3, 2020.

SIU, K-L. *et al.* Severe acute respiratory syndrome Coronavirus ORF3a protein activates the NLRP3 inflammasome by promoting TRAF3-dependent ubiquitination of ASC. **FASEB J**, v. 33, n. 8, p. 8865–8877, 2019.

SLATHIA, P. S. DNA Vaccine Design for Chikungunya Virus Based On the Conserved Epitopes Derived from Structural Protein. In **Proceedings of the International Conference on Bioinformatics, Computational Biology and Biomedical Informatics**, p. 849-850, 2013.

SMAOUI, M. R.; YAHYAOU, H. Unraveling the stability landscape of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain. **Sci Rep**, v. 11, n. 9166, p. 1-13, 2021.

SnapGene software (from Insightful Science). Disponível em: <https://www.snapgene.com/>. Acesso em: 2 fev. 2022.

SONG, Z. *et al.* From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. **Viruses**, v. 11, n. 1, p. 1–28, 2019.

TAN, Y-J. *et al.* The severe acute respiratory syndrome coronavirus 3a protein up-regulates expression of fibrinogen in lung epithelial cells. **J Virol.**, v. 79, p. 10083–87, 2005.

TAYLOR, J. K. *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus ORF7a inhibits bone marrow stromal antigen 2 virion tethering through a novel mechanism of glycosylation interference. **Journal of Virology**, v. 89, n. 23, p. 467–478, 2015.

THOMS, M. *et al.* Structural basis for translational shutdown and immune evasion by the Nsp1 protein of SARS-CoV-2. **Science**, v. 369, n. 6508, p. 1249–1255, 2020.

TIMMERS, L. *et al.* SARS-CoV-2 mutations in Brazil: from genomics to clinical conditions. **Chemrxiv**, 1–32, 2021.

TOOVEY, O. *et al.* Introduction of Brazilian SARS-CoV-2 484K.V2 related variants into the UK. **The Journal of infection**, v. 82, p. e23–e24, 2021.

TROUGAKOS, I. P. *et al.* Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. **J. Biomed. Sci.**, v. 28, n. 9, p. 1-18, 2021.

VAJDA, S. *et al.* New additions to the ClusPro server motivated by CAPRI. **Proteins Struct Funct Bioinforma.**, v. 85, p. 435–444, 2017.

WEBB, L. M. *et al.* Identification of and Surveillance for the SARS-CoV-2 Variants B.1.427 and B.1.429 — Colorado, January–March 2021. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.**, v. 70, p. 717-718, 2021.

WHO – **World Health Organization** (1). Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---1-december-20>. Acesso em: 2 dez. 2020.

WHO – **World Health Organization** (2). Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>. Acesso em: 2 dez. 2020.

WHO – **World Health Organization** (3). Disponível em: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19--11-march-2020>. Acesso em: 16 abr. 2020.

WHO – **World Health Organization**. Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. Acesso em: 6 fev. 2022.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA**, v. 323, n. 13, p. 1239-1242, 2020.

YANG, J. *et al.* Cell-penetrating Peptides: Efficient Vectors for Vaccine Delivery. **Current Drug Delivery**, v. 16, n. 5, p. 430–443, 2019.

YANG, Y. *et al.* In silico design of a DNA-based HIV-1 multi-epitope vaccine for Chinese populations. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 11, n. 3, p. 795-805, 2015.

YIN, Y.; WUNDERINK, R. G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. **Respirology**, v. 23, p. 130–137, 2018.

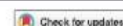
ZHU, N. *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 727-733, 2020.

Zydus Cadila. Disponível em: <https://www.zyduscadila.com/mediakit>. Acesso em: 16 dez. 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO DURANTE REALIZAÇÃO DO MESTRADO NA REVISTA *HUMAN VACCINES AND IMMUNOTHERAPEUTICS*(FI: 2.619) DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.1080/21645515.2021.1974288](https://doi.org/10.1080/21645515.2021.1974288).HUMAN VACCINES & IMMUNOTHERAPEUTICS
<https://doi.org/10.1080/21645515.2021.1974288>

REVIEW



Development of synthetic antigen vaccines for COVID-19

Maria da Conceição Viana Invenção^{a*}, Alanne Rayssa da Silva Melo^{a*}, Larissa Silva de Macêdo^a,
Thais Souto Paula da Costa Neves^a, Cristiane Moutinho Lagos de Melo^b, Marcelo Nazário Cordeiro^a,
Marcus Vinicius de Aragão Batista^c, and Antonio Carlos de Freitas^a^aLaboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy – LEMTE, Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Brazil; ^bLaboratory of Immunological and Antitumor Analysis, Department of Antibiotics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil; ^cLaboratory of Molecular Genetics and Biotechnology, Department of Biology, Federal University of Sergipe, Brazil

ABSTRACT

The current pandemic called COVID-19 caused by the SARS-CoV-2 virus brought the need for the search for fast alternatives to both control and fight the SARS-CoV-2 infection. Therefore, a race for a vaccine against COVID-19 took place, and some vaccines have been approved for emergency use in several countries in a record time. Ongoing prophylactic research has sought faster, safer, and precise alternatives by redirecting knowledge of other vaccines, and/or the development of new strategies using available tools, mainly in the areas of genomics and bioinformatics. The current review highlights the development of synthetic antigen vaccines, focusing on the usage of bioinformatics tools for the selection and construction of antigens on the different vaccine constructions under development, as well as strategies to optimize vaccines for COVID-19.

ARTICLE HISTORY

Received 15 April 2021
Revised 4 August 2021
Accepted 24 August 2021

KEYWORDS

SARS-CoV-2; nucleic acid
vaccines; *in silico*;
immunoinformatics;
adjuvants

The current pandemic called COVID-19 caused by the SARS-CoV-2 virus is responsible for over 200 million cases and 4 million deaths.¹ It has also brought the need for new political, economic, and social perspectives which maximize the search for fast alternatives to both control and fight the SARS-CoV-2 infection. Therefore, a race for a vaccine against COVID-19 took place, and in less than a year, some of the studies have reached phase 3 of vaccine trials as well as some others have been approved for emergency use in several countries.^{2,3} Ongoing prophylactic research has sought faster, safer, and precise alternatives that can be reached by redirecting knowledge of other vaccines that already exist for other diseases, and/or the development of new strategies using available tools, mainly in the areas of genomics and bioinformatics.⁴ The current review highlights the development of synthetic antigen vaccines, focusing on the usage of bioinformatics tools for the selection and construction of antigens on the different vaccine constructions under development, as well as strategies to optimize vaccines for COVID-19.

Vaccine development landscape in the context of COVID-19

Vaccines are excellent tools in controlling infectious diseases and preventing humanitarian epidemics crisis by inducing the establishment of an immune response capable of quickly controlling and eliminating pathogens. This long-term protection is usually characterized by antibody persistence and cell-mediated immune response.⁵ As a result, vaccines are the main prophylactic alternative to prevent the spread of

COVID-19.⁶ There are currently 185 candidates being evaluated during the pre-trial vaccine and 102 with eight different technology platforms under clinical evaluation⁷ (Table 1). So far, 17 vaccines have been approved for use in humans in several countries.

Many laboratories have invested in more modern vaccine strategies besides older vaccine platforms such as the attenuated or inactive virus, especially during the COVID 19 pandemic. A survey carried out *in silico* by Defrancesco² showed that several vaccine platforms are being tested, such as protein subunit vaccines, virus-like particle vaccines, DNA- and RNA-based vaccines, viral vector-based vaccines, among other strategies.

Nucleic acid vaccines are new and versatile strategies that use recombinant DNA technology for immunization or immunotherapy. They consist of viral vector-based vaccines, in which a virus unrelated to the pathology, live or inactive, carries the genetic material of the target antigen, along with DNA- and RNA-based vaccine platforms, in which the gene sequence (of one or more genes) encoding the protein of the pathogen of interest will be delivered as a vaccine. Another alternative used in these nucleic acid approaches is the use of epitope coding sequences whose immunogenicity is rigorously selected *in silico*, in the so-called synthetic antigen vaccine. In this review, we will focus on these synthetic antigen vaccines, which are an interesting strategy since they can combine one or more antigens from the same pathogen or even from different variants in the same vaccine.^{27,28} In this review, we will focus on DNA and mRNA vaccine platforms, especially multipitope ones that use synthetic antigens.

CONTACT Antonio Carlos de Freitas acf_ufpe@yahoo.com.br Laboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy – Lemte, Department of Genetics, Center for Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Av. Moraes Rego, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brazil

*These authors contributed equally to this work.

© 2021 Taylor & Francis Group, LLC

**APÊNDICE B - ARTIGO PUBLICADO DURANTE REALIZAÇÃO DO MESTRADO
NA REVISTA *JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY* (FI: 2.327) DISPONÍVEL EM
[HTTPS://ONLINELIBRARY.WILEY.COM/DOI/10.1002/JMV.27118](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.27118).**

Received: 24 May 2021 | Accepted: 29 May 2021

DOI: 10.1002/jmv.27118

RESEARCH ARTICLE

**JOURNAL OF
MEDICAL VIROLOGY** WILEY

Comparative analysis of different PCR-based strategies for HPV detection and genotyping from cervical samples

Fernanda L. S. G. Santos  | Maria C. V. Invenção  | Edilaine D. Araújo  |
Gerlane S. Barros  | Marcus V. A. Batista 

Laboratory of Molecular Genetics and Biotechnology (GMBio), Department of Biology, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Brazil

Correspondence

Marcus V. A. Batista, Laboratory of Molecular Genetics and Biotechnology (GMBio), Department of Biology, Center for Biological and Health Sciences, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon ave, São Cristóvão, Sergipe 49100-000, Brazil.
Email: mbatista@academico.ufs.br

Funding information

Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Abstract

Background: Human papillomavirus (HPV) is the main cause of cervical cancer. Polymerase chain reaction (PCR)-based techniques are associated with accurate results with respect to HPV detection and genotyping, being able to identify viral DNA at low levels. However, differences in primer design influence their sensibility and specificity, depending on the HPV type assessed.

Objective: The aim of the study was to comparatively evaluate the effectiveness of three different PCR-based strategies for HPV detection and genotyping from cervical samples.

Study Design: The procedures were based on different primer design strategies, using MY09/MY11, EntroA, and type specific multiplex PCR primers.

Results: Out of 411 samples of cervical scrapings, 45 (10.9%), 50 (12.2%), and 117 (28.5%) were positive for MY09/MY11, EntroA, and multiplex PCR, respectively. For MY09/MY11 positive samples, 36 were negative for EntroA and 23 for multiplex PCR. For EntroA positive samples, 40 were negative for MY09/MY11 and 26 for multiplex PCR. For multiplex PCR positive samples, 96 were negative for MY09/MY11 and 94 for EntroA. MY09/MY11 identified 12 different HPV types, EntroA detected eight types and multiplex PCR detected 11 HPV types. EntroA primers were able to detect HPV in more samples than MY09/MY11, while multiplex PCR, despite the limited targeted HPV types, presented higher sensibility than the other methods.

Conclusions: The three methods presented different advantages and disadvantages, and the present study reinforces the need to use more than one molecular strategy for HPV detection and genotyping, and the development of novel methods which could overcome the limitations of the existing tests.

KEYWORDS

DNA primers, HPV genotyping, human papillomavirus, molecular detection, polymerase chain reaction

**APÊNDICE C - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA SPIKE (S).**

Epítopos preditos da proteína spike (S)					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
HLA-A* (n = 100)					
FQFCNDPFL	133	141	9	HLA-A*02:06	4,26
YLQPRTFLL	269	277	9	HLA-A*02:01	4,3
QYIKWPWYI	1208	1216	9	HLA-A*23:01	4,47
FIAGLIAIV	1220	1228	9	HLA-A*02:06	4,53
LTDEMIAQY	865	873	9	HLA-A*01:01	4,55
RLFRKSNLK	454	462	9	HLA-A*03:01	4,82
FIAGLIAIV	1220	1228	9	HLA-A*02:01	6,61
KWPWYIWLGF	1211	1220	10	HLA-A*23:01	7,11
FQFCNDPFLGV	133	143	11	HLA-A*02:06	7,51
FTISVTTEI	718	726	9	HLA-A*02:06	7,51
LYNSASFSTF	368	377	10	HLA-A*23:01	7,95
FVSNGTHWV	1095	1104	10	HLA-A*02:06	8,21
FELLHAPATV	515	524	10	HLA-A*02:01	8,28
VVFLHVTYV	1060	1068	9	HLA-A*02:06	8,35
MQMAYRFNGI	900	909	10	HLA-A*02:06	8,64
YLQPRTFLL	269	277	9	HLA-A*02:06	8,68
QYIKWPWYIW	1208	1217	10	HLA-A*23:01	8,86
NSASFSTFK	370	378	9	HLA-A*11:01	9,13
GVYFASTEK	89	97	9	HLA-A*11:01	9,66
KLNDLCFTNV	386	395	10	HLA-A*02:01	9,66
CYFPLQSYGF	488	497	10	HLA-A*23:01	10,5
FQFCNDPFL	133	141	9	HLA-A*02:01	10,54
KQIYKTPPI	786	794	9	HLA-A*02:06	10,96
SIIAYTMSL	691	699	9	HLA-A*02:06	11,46
ASANLAATK	1020	1028	9	HLA-A*11:01	11,48
RLQSLQTYV	1000	1008	9	HLA-A*02:01	11,92
YNSASFSTFK	369	378	10	HLA-A*11:01	12,31
FVSNGTHWV	1095	1104	10	HLA-A*02:01	12,74
LLFNKVTLA	821	829	9	HLA-A*02:01	12,82
LLTDEMIAQY	864	873	10	HLA-A*01:01	13,6
TEILPVSMK	724	733	10	HLA-A*11:01	15,38
YRLFRKSNLK	453	462	10	HLA-A*03:01	15,5
CTLKSFTVEK	301	310	10	HLA-A*11:01	15,8

MTSCCCLK	1237	1245	9	HLA-A*11:01	16,25
VTYVPAQEK	1065	1073	9	HLA-A*11:01	16,46
VVFLHVTYV	1060	1068	9	HLA-A*02:01	17,07
YYVGYLQPRTF	265	275	11	HLA-A*23:01	17,41
YQDVNCTEV	612	620	9	HLA-A*02:06	17,65
YHLMSFPQSA	1047	1056	10	HLA-A*02:01	17,81
WTAGAAAYY	258	266	9	HLA-A*01:01	18,77
YLQPRTFLLK	269	278	10	HLA-A*03:01	18,87
GVYFASTEK	89	97	9	HLA-A*03:01	19,15
STECSNLLLQY	746	756	11	HLA-A*01:01	20,06
SIIAYTMSL	691	699	9	HLA-A*02:01	20,36
NYNYLYRLF	448	456	9	HLA-A*23:01	20,52
KIADYNYKL	417	425	9	HLA-A*02:06	20,86
TLKSFTVEK	302	310	9	HLA-A*11:01	21,6
SVTTEILPV	721	729	9	HLA-A*02:06	21,89
VLNDILSRL	976	984	9	HLA-A*02:01	22,77
KIADYNYKL	417	425	9	HLA-A*02:01	23,08
SSTASALGK	939	947	9	HLA-A*11:01	23,49
YIWLGFIAGL	1215	1224	10	HLA-A*02:01	23,59
VTLADAGFIK	826	835	10	HLA-A*11:01	23,98
TLKSFTVEK	302	310	9	HLA-A*03:01	24,13
RLFRKSNLK	454	462	9	HLA-A*11:01	24,46
KQIYKTPPIK	786	795	10	HLA-A*03:01	24,47
YIWLGFIAGL	1215	1224	10	HLA-A*02:06	24,96
FVFLVLLPLV	2	11	10	HLA-A*02:06	26,47
GVYYHKNNK	142	150	9	HLA-A*03:01	27,86
YEQYIKWPWYI	1206	1216	11	HLA-A*23:01	28,01
FELLHAPATV	515	524	10	HLA-A*02:06	28,1
ASVYAWNPK	348	356	9	HLA-A*11:01	29,08
KLNDLCFTNV	386	395	10	HLA-A*02:06	30,21
TTEILPVSMK	723	733	11	HLA-A*11:01	30,58
FIEDLLFNKV	817	826	10	HLA-A*02:06	31,55
RLFRKSNLKP	454	463	10	HLA-A*03:01	32,67
YTNSFTRGVY	28	37	10	HLA-A*01:01	33,67
RSFIEDLLFNK	815	825	11	HLA-A*11:01	34,01
FLHVTYVPA	1062	1070	9	HLA-A*02:01	34,61
GTHWFVTQR	1099	1107	9	HLA-A*11:01	34,63
LQIPFAMQM	894	902	9	HLA-A*02:06	35,67
KLPDDFTGCV	424	433	10	HLA-A*02:06	36,19

NQVAVLYQDV	606	615	10	HLA-A*02:06	36,21
YTNSFTRGV	28	36	9	HLA-A*02:06	36,31
PFAMQMAYRF	897	906	10	HLA-A*23:01	36,99
RLQSLQTYV	1000	1008	9	HLA-A*02:06	37,02
QIYKTPPIK	787	795	9	HLA-A*03:01	37,14
GSFCTQLNR	757	765	9	HLA-A*11:01	37,18
LLFNKVTLA	821	829	9	HLA-A*02:06	38,61
VTYVPAQEK	1065	1073	9	HLA-A*03:01	39,21
FQFCNDPFLGV	133	143	11	HLA-A*02:01	39,27
YQAGSTPCNGV	473	483	11	HLA-A*02:06	39,86
TLADAGFIK	827	835	9	HLA-A*11:01	40,02
VTWFHAIHV	62	70	9	HLA-A*02:06	40,28
RASANLAATK	1019	1028	10	HLA-A*11:01	40,61
NTQEVFAQV	777	785	9	HLA-A*02:06	41,58
HLMSFPQSA	1048	1056	9	HLA-A*02:01	41,79
VYSSANNCTF	159	168	10	HLA-A*23:01	42,42
KMSECVLGQSK	1028	1038	11	HLA-A*03:01	43,33
LYNSASFSTFK	368	378	11	HLA-A*11:01	43,71
YLQPRTFLK	269	278	10	HLA-A*11:01	45,19
RLDKVEAEV	983	991	9	HLA-A*02:01	46,73
MIAQYTSAL	869	877	9	HLA-A*02:06	47,66
KLPDDFTGCV	424	433	10	HLA-A*02:01	47,78
FLHVTYVPA	1062	1070	9	HLA-A*02:06	47,92
YTSALLAGTI	873	882	10	HLA-A*02:06	48,03
KCTLKSFTVEK	300	310	11	HLA-A*03:01	48,57
YFPLQSYGF	489	497	9	HLA-A*23:01	49,01
RQIAPGQTGK	408	417	10	HLA-A*03:01	49,65
LSSTASALGK	938	947	10	HLA-A*11:01	49,79

HLA-B* (n = 25)

SPRRARSVA	680	688	9	HLA-B*07:02	4,65
RVYSTGSNVF	634	643	10	HLA-B*15:01	9,05
IPFAMQMAY	896	904	9	HLA-B*15:02	18,22
YLQPRTFLL	269	277	9	HLA-B*08:01	19,89
LQIPFAMQMAY	894	904	11	HLA-B*15:01	19,97
SPRRARSV	680	687	8	HLA-B*07:02	24,4
WMESEFRVY	152	160	9	HLA-B*15:02	25,4
LLALHRSYL	241	249	9	HLA-B*08:01	30,5
LVKQLSSNF	962	970	9	HLA-B*15:01	31,15

LQIPFAMQM	894	902	9	HLA-B*15:01	33,31
YSVLYNSASF	365	374	10	HLA-B*15:01	35,27
YTNSFTRGVY	28	37	10	HLA-B*15:01	36,2
SPRRARSVAS	680	689	10	HLA-B*07:02	37,41
FNATRFASV	342	350	9	HLA-B*08:01	38,87
LQPRTFLLKY	270	279	10	HLA-B*15:01	40,73
AQKFNGLTVL	852	861	10	HLA-B*15:01	40,8
MIAQYTSAL	869	877	9	HLA-B*15:02	41,02
YPDKVFRSSV	38	47	10	HLA-B*07:02	41,65
TLLALHRSY	240	248	9	HLA-B*15:02	44,13
WTAGAAAYY	258	266	9	HLA-B*15:02	45,69
LPQGFSAL	216	223	8	HLA-B*07:02	47,56
SVLYNSASF	366	374	9	HLA-B*15:02	48,85
STQDLFLPF	50	58	9	HLA-B*15:01	48,97
SVASQSIIAY	686	695	10	HLA-B*15:01	49,12
LQYGSFCTQL	754	763	10	HLA-B*15:01	49,36

HLA-C* (n = 31)

WTFGAGAAL	886	894	9	HLA-C*03:04	6,1
WTFGAGAAL	886	894	9	HLA-C*03:03	6,1
MIAQYTSAL	869	877	9	HLA-C*03:04	8,43
MIAQYTSAL	869	877	9	HLA-C*03:03	8,43
FTISVTTEI	718	726	9	HLA-C*03:04	12,37
FTISVTTEI	718	726	9	HLA-C*03:03	12,37
IANQFNSAI	923	931	9	HLA-C*03:04	13,75
IANQFNSAI	923	931	9	HLA-C*03:03	13,75
IAQYTSALL	870	878	9	HLA-C*03:04	14,57
IAQYTSALL	870	878	9	HLA-C*03:03	14,57
IAIPTNFTI	712	720	9	HLA-C*03:04	14,99
IAIPTNFTI	712	720	9	HLA-C*03:03	14,99
SAPHGVVFL	1055	1063	9	HLA-C*01:02	18,97
YSSANNCTF	160	168	9	HLA-C*03:04	19,85
YSSANNCTF	160	168	9	HLA-C*03:03	19,85
VRFPNITNL	327	335	9	HLA-C*06:02	21,58
FAMQMAYRF	898	906	9	HLA-C*03:04	22,39
FAMQMAYRF	898	906	9	HLA-C*03:03	22,39
VVNQNAQAL	951	959	9	HLA-C*03:04	22,41
VVNQNAQAL	951	959	9	HLA-C*03:03	22,41
SIIAYTMSL	691	699	9	HLA-C*03:04	24,39

SIIAYTMSL	691	699	9	HLA-C*03:03	24,39
SALEPLVDL	221	229	9	HLA-C*03:04	37,72
SALEPLVDL	221	229	9	HLA-C*03:03	37,72
IAIVMVTIM	1225	1233	9	HLA-C*03:04	38,83
IAIVMVTIM	1225	1233	9	HLA-C*03:03	38,83
AALQIPFAM	892	900	9	HLA-C*03:04	40,36
AALQIPFAM	892	900	9	HLA-C*03:03	40,36
YQPYRVVVL	505	513	9	HLA-C*01:02	41,02
AAAYYVGYL	262	270	9	HLA-C*03:04	49,43
AAAYYVGYL	262	270	9	HLA-C*03:03	49,43

MHC-II (n = 256)

IIAYTMSLGAENSV	692	706	15	HLA-DRB1*10:01	7,80
SIIAYTMSLGAENSV	691	705	15	HLA-DRB1*10:01	8,83
VVLSFELLHAPATV	510	524	15	HLA-DRB1*01:01	4,65
VLSFELLHAPATVCG	512	526	15	HLA-DRB1*01:01	4,71
VVLSFELLHAPATVC	511	525	15	HLA-DRB1*01:01	4,80
SSNFGAISSVLNDIL	967	981	15	HLA-DRB1*10:01	9,56
AQKFNGLTVLPPLLT	852	866	15	HLA-DRB1*10:01	9,57
IAYTMSLGAENSVAY	693	707	15	HLA-DRB1*10:01	9,87
VVLSFELLHAPATV	510	524	15	HLA-DRB1*10:01	10,19
LSSNFGAISSVLNDI	966	980	15	HLA-DRB1*10:01	10,67
QKFNGLTVLPPLTLD	853	867	15	HLA-DRB1*10:01	10,73
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*01:04	13,02
LSFELLHAPATVCGP	513	527	15	HLA-DRB1*01:01	5,41
QSIIAYTMSLGAENS	690	704	15	HLA-DRB1*10:01	11,12
SNFGAISSVLNDILS	968	982	15	HLA-DRB1*10:01	11,14
VVLSFELLHAPATVC	511	525	15	HLA-DRB1*10:01	11,32
VLSFELLHAPATVCG	512	526	15	HLA-DRB1*10:01	11,76
CAQKFNGLTVLPPLL	851	865	15	HLA-DRB1*10:01	11,81
QSLIVNNATNVVIK	115	129	15	HLA-DRB1*11:02	16,75
QSLIVNNATNVVIK	115	129	15	HLA-DRB1*13:01	16,75
QSLIVNNATNVVIK	115	129	15	HLA-DRB1*13:22	16,75
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*01:04	15,46
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*01:01	5,95
SLLIVNNATNVVIKV	116	130	15	HLA-DRB1*11:02	17,41
SLLIVNNATNVVIKV	116	130	15	HLA-DRB1*13:01	17,41
SLLIVNNATNVVIKV	116	130	15	HLA-DRB1*13:22	17,41
NITRFQTLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*01:04	16,16

VNFNFNGLTGTGVL	539	553	15	HLA-DRB1*01:01	6,25
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*01:04	16,86
NFNFNGLTGTGVLTE	540	554	15	HLA-DRB1*01:01	6,48
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*01:04	16,97
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*01:04	17,52
RFQTLLALHRSYLTP	237	251	15	HLA-DRB1*11:02	19,47
RFQTLLALHRSYLTP	237	251	15	HLA-DRB1*13:01	19,47
RFQTLLALHRSYLTP	237	251	15	HLA-DRB1*13:22	19,47
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*01:01	6,73
QLSSNFGAIVSVLND	965	979	15	HLA-DRB1*10:01	13,00
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*01:04	17,95
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*01:04	18,34
SFELLHAPATVCGPK	514	528	15	HLA-DRB1*01:01	7,27
FQTLLALHRSYLTPG	238	252	15	HLA-DRB1*11:02	21,67
FQTLLALHRSYLTPG	238	252	15	HLA-DRB1*13:01	21,67
FQTLLALHRSYLTPG	238	252	15	HLA-DRB1*13:22	21,67
FNFNGLTGTGVLTES	541	555	15	HLA-DRB1*01:01	7,46
RFQTLLALHRSYLTP	237	251	15	HLA-DRB1*01:04	19,73
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*01:04	19,79
ICAQKFNGLTVLPPL	850	864	15	HLA-DRB1*10:01	14,46
TQSLIVNNAATNVVI	114	128	15	HLA-DRB1*11:02	22,62
TQSLIVNNAATNVVI	114	128	15	HLA-DRB1*13:01	22,62
TQSLIVNNAATNVVI	114	128	15	HLA-DRB1*13:22	22,62
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*11:02	22,82
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*13:01	22,82
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*13:22	22,82
LSFELLHAPATVCGP	513	527	15	HLA-DRB1*10:01	14,58
VADYSVLYNSASFST	362	376	15	HLA-DRB1*10:01	14,74
KFNGLTVLPPLLTDE	854	868	15	HLA-DRB1*10:01	14,82
AYRFNGIGVTQNVLY	903	917	15	HLA-DRB1*10:01	15,25
FNGLTVLPPLLTDEM	855	869	15	HLA-DRB1*01:04	21,23
CVNFNFNGLTGTGVL	538	552	15	HLA-DRB1*01:01	8,01
CVADYSVLYNSASF	361	375	15	HLA-DRB1*10:01	15,43
RVVLSFELLHAPAT	509	523	15	HLA-DRB1*10:01	15,53
LLIVNNAATNVVIVC	117	131	15	HLA-DRB1*11:02	24,15
LLIVNNAATNVVIVC	117	131	15	HLA-DRB1*13:01	24,15
LLIVNNAATNVVIVC	117	131	15	HLA-DRB1*13:22	24,15
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*01:01	8,35
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*01:01	8,43

RVVVLSFELLHAPAT	509	523	15	HLA-DRB1*01:01	8,45
ADYSVLYNSASFSTF	363	377	15	HLA-DRB1*10:01	16,98
AYTMSLGAENSVAYS	694	708	15	HLA-DRB1*10:01	17,08
KFNGLTVLPPLLTDE	854	868	15	HLA-DRB1*01:04	24,92
NITRFQTLLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*10:01	17,39
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*10:01	17,66
QKFNGLTVLPPLLTDE	853	867	15	HLA-DRB1*01:04	25,62
QGFSALEPLVDLPIG	218	232	15	HLA-DRB1*10:01	17,83
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*10:01	17,94
QTLLALHRSYLTPGD	239	253	15	HLA-DRB1*11:02	28,91
QTLLALHRSYLTPGD	239	253	15	HLA-DRB1*13:01	28,91
QTLLALHRSYLTPGD	239	253	15	HLA-DRB1*13:22	28,91
FNGLTVLPPLLTDEM	855	869	15	HLA-DRB1*10:01	18,11
NFGAISSVLNDILSR	969	983	15	HLA-DRB1*10:01	18,16
PQGFSALEPLVDLPI	217	231	15	HLA-DRB1*10:01	18,37
MAYRFNGIGVTQNVL	902	916	15	HLA-DRB1*10:01	18,57
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*10:01	18,59
NCVADYSVLYNSASF	360	374	15	HLA-DRB1*10:01	18,66
TRFASVYAWNRKRIS	345	359	15	HLA-DRB1*11:02	29,72
TRFASVYAWNRKRIS	345	359	15	HLA-DRB1*13:01	29,72
TRFASVYAWNRKRIS	345	359	15	HLA-DRB1*13:22	29,72
TSNFRVQPTESIVRF	315	329	15	HLA-DRB1*01:01	10,06
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*10:01	18,99
TSNFRVQPTESIVRF	315	329	15	HLA-DRB1*10:01	19,04
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*11:02	30,18
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*13:01	30,18
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*13:22	30,18
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*10:01	19,59
FQTLLALHRSYLTPG	238	252	15	HLA-DRB1*01:04	28,53
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*11:02	30,45
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*13:01	30,45
QIPFAMQMAYRFNGI	895	909	15	HLA-DRB1*13:22	30,45
RFASVYAWNRKRISN	346	360	15	HLA-DRB1*11:02	30,76
RFASVYAWNRKRISN	346	360	15	HLA-DRB1*13:01	30,76
RFASVYAWNRKRISN	346	360	15	HLA-DRB1*13:22	30,76
FNGLTVLPPLLTDEM	855	869	15	HLA-DRB1*01:01	10,49
QKFNGLTVLPPLLTDE	853	867	15	HLA-DRB1*01:01	10,75
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*10:01	19,70
PFAMQMAYRFNGIGV	897	911	15	HLA-DRB1*01:04	29,53

IIAYTMSLGAENSV	692	706	15	HLA-DRB1*01:01	10,93
KQLSSNFGAISSVLN	964	978	15	HLA-DRB1*10:01	20,25
SNVTWFHAIHVSGTN	60	74	15	HLA-DRB1*10:01	20,37
SQSIIAYTMSLGAEN	689	703	15	HLA-DRB1*10:01	20,56
VLSFELLHAPATVCG	512	526	15	HLA-DRB1*01:04	29,80
NITRFQTLLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*01:01	11,16
KFNGLTVLPPLLTDE	854	868	15	HLA-DRB1*01:01	11,30
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*10:01	20,69
NVTWFHAIHVSGTNG	61	75	15	HLA-DRB1*10:01	21,11
SFELLHAPATVCGPK	514	528	15	HLA-DRB1*10:01	21,15
KTQSLLIVNNATNVV	113	127	15	HLA-DRB1*11:02	32,93
KTQSLLIVNNATNVV	113	127	15	HLA-DRB1*13:01	32,93
KTQSLLIVNNATNVV	113	127	15	HLA-DRB1*13:22	32,93
ITRFQTLLALHRSYL	235	249	15	HLA-DRB1*01:01	11,48
VVLSFELLHAPATV	510	524	15	HLA-DRB1*01:04	31,36
SSNFGAISSVLNDIL	967	981	15	HLA-DRB1*01:01	11,70
YRFNGIGVTQNVLYE	904	918	15	HLA-DRB1*10:01	21,62
VTWFHAIHVSGTNGT	62	76	15	HLA-DRB1*10:01	21,78
DYSVLYNSASFSTFK	364	378	15	HLA-DRB1*10:01	21,94
TGRLQSLQTYVTQQL	998	1012	15	HLA-DRB1*01:01	12,03
AQKFNGLTVLPPLLT	852	866	15	HLA-DRB1*01:01	12,13
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*01:01	12,35
SNFRVQPTESIVRFP	316	330	15	HLA-DRB1*10:01	22,23
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*10:01	22,37
AALQIPFAMQMAYRF	892	906	15	HLA-DRB1*01:04	32,59
VVLSFELLHAPATVC	511	525	15	HLA-DRB1*01:04	32,87
TGRLQSLQTYVTQQL	998	1012	15	HLA-DRB1*01:04	33,10
NITRFQTLLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*11:02	34,93
NITRFQTLLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*13:01	34,93
NITRFQTLLALHRSY	234	248	15	HLA-DRB1*13:22	34,93
ATRFASVYAWNRKRI	344	358	15	HLA-DRB1*11:02	35,44
ATRFASVYAWNRKRI	344	358	15	HLA-DRB1*13:01	35,44
ATRFASVYAWNRKRI	344	358	15	HLA-DRB1*13:22	35,44
SNFRVQPTESIVRFP	316	330	15	HLA-DRB1*01:01	12,49
TGRLQSLQTYVTQQL	998	1012	15	HLA-DRB1*10:01	22,60
DLPQGFSALEPLVDL	215	229	15	HLA-DRB1*10:01	23,10
NGLTVLPPLLTDEMI	856	870	15	HLA-DRB1*01:04	33,82
NYLYRLFRKSNLKPF	450	464	15	HLA-DRB1*11:02	36,01
NYLYRLFRKSNLKPF	450	464	15	HLA-DRB1*13:01	36,01

NYLYRLFRKSNLKPF	450	464	15	HLA-DRB1*13:22	36,01
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*11:02	36,03
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*13:01	36,03
INITRFQTLLALHRS	233	247	15	HLA-DRB1*13:22	36,03
TRFQTLLALHRSYLT	236	250	15	HLA-DRB1*01:01	12,60
SIIAYTMSLGAENSV	691	705	15	HLA-DRB1*01:01	12,69
QTSNFRVQPTESIVR	314	328	15	HLA-DRB1*01:01	13,17
IAQYTSALLAGTITS	870	884	15	HLA-DRB1*10:01	23,65
YLYRLFRKSNLKPF	451	465	15	HLA-DRB1*11:02	37,54
YLYRLFRKSNLKPF	451	465	15	HLA-DRB1*13:01	37,54
YLYRLFRKSNLKPF	451	465	15	HLA-DRB1*13:22	37,54
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*11:02	37,92
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*13:01	37,92
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*13:22	37,92
VADYSVLNSASFST	362	376	15	HLA-DRB1*01:01	13,57
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*11:02	38,81
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*13:01	38,81
IPFAMQMAYRFNGIG	896	910	15	HLA-DRB1*13:22	38,81
PFAMQMAYRFNGIGV	897	911	15	HLA-DRB1*01:01	14,02
FGGFNFSQILPDPSK	797	811	15	HLA-DRB1*10:01	24,71
AAEIRASANLAATKM	1015	1029	15	HLA-DRB1*11:02	39,55
AAEIRASANLAATKM	1015	1029	15	HLA-DRB1*13:01	39,55
AAEIRASANLAATKM	1015	1029	15	HLA-DRB1*13:22	39,55
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*11:02	39,56
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*13:01	39,56
LQIPFAMQMAYRFNG	894	908	15	HLA-DRB1*13:22	39,56
FASVYAWNRKRISNC	347	361	15	HLA-DRB1*11:02	39,75
FASVYAWNRKRISNC	347	361	15	HLA-DRB1*13:01	39,75
FASVYAWNRKRISNC	347	361	15	HLA-DRB1*13:22	39,75
YYVGYLQPRTFLLKY	265	279	15	HLA-DRB1*01:01	14,11
LSSNFGAISSVLNDI	966	980	15	HLA-DRB1*01:01	14,18
QTSNFRVQPTESIVR	314	328	15	HLA-DRB1*10:01	24,73
RFQTLLALHRSYLT	237	251	15	HLA-DRB1*10:01	25,15
LQTYVTQQLIRAAEI	1004	1018	15	HLA-DRB1*10:01	25,17
LPQGFSALEPLVDLP	216	230	15	HLA-DRB1*10:01	25,39
QQLIRAAEIRASANL	1010	1024	15	HLA-DRB1*10:01	25,87
TLLALHRSYLT	240	254	15	HLA-DRB1*11:02	41,11
TLLALHRSYLT	240	254	15	HLA-DRB1*13:01	41,11
TLLALHRSYLT	240	254	15	HLA-DRB1*13:22	41,11

MIAQYTSALLAGTIT	869	883	15	HLA-DRB1*10:01	26,46
NGLTVLPPLLTDEMI	856	870	15	HLA-DRB1*10:01	26,52
QMAYRFNGIGVTQNV	901	915	15	HLA-DRB1*10:01	26,64
AYYVGYLQPRTFLLK	264	278	15	HLA-DRB1*01:04	37,51
LSFELLHAPATVCGP	513	527	15	HLA-DRB1*01:04	38,32
LYRLFRKSNLKPFER	452	466	15	HLA-DRB1*11:02	41,61
LYRLFRKSNLKPFER	452	466	15	HLA-DRB1*13:01	41,61
LYRLFRKSNLKPFER	452	466	15	HLA-DRB1*13:22	41,61
IAYTMSLGAENSVAY	693	707	15	HLA-DRB1*01:01	14,80
NYNYLYRLFRKSNLK	448	462	15	HLA-DRB1*11:02	43,20
NYNYLYRLFRKSNLK	448	462	15	HLA-DRB1*13:01	43,20
NYNYLYRLFRKSNLK	448	462	15	HLA-DRB1*13:22	43,20
YVGYLQPRTFLLKYN	266	280	15	HLA-DRB1*01:01	15,01
GINITRFQTLLALHR	232	246	15	HLA-DRB1*01:01	15,10
GRLQSLQTYVTQQLI	999	1013	15	HLA-DRB1*10:01	27,21
EVQIDRLITGRLQSL	990	1004	15	HLA-DRB1*01:04	39,42
CVADYSVLYNSASF	361	375	15	HLA-DRB1*01:01	15,23
RFQTLLALHRSYLTP	237	251	15	HLA-DRB1*01:01	15,26
AQKFNGLTVLPPLT	852	866	15	HLA-DRB1*01:04	39,85
AYYVGYLQPRTFLLK	264	278	15	HLA-DRB1*01:01	15,42
NGLTVLPPLLTDEMI	856	870	15	HLA-DRB1*01:01	15,48
QQLIRAAEIRASANL	1010	1024	15	HLA-DRB1*01:04	40,61
GRLQSLQTYVTQQLI	999	1013	15	HLA-DRB1*01:04	40,82
VTQQLIRAAEIRASA	1008	1022	15	HLA-DRB1*01:04	41,03
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*11:02	45,38
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*13:01	45,38
ALQIPFAMQMAYRFN	893	907	15	HLA-DRB1*13:22	45,38
SNFGAISSVLNDILS	968	982	15	HLA-DRB1*01:01	15,59
GRLQSLQTYVTQQLI	999	1013	15	HLA-DRB1*01:01	15,67
QTYVTQQLIRAAEIR	1005	1019	15	HLA-DRB1*10:01	28,13
TQQLIRAAEIRASAN	1009	1023	15	HLA-DRB1*01:04	41,11
TSNFRVQPTESIVRF	315	329	15	HLA-DRB1*01:04	41,35
PFAMQMAYRFNGIGV	897	911	15	HLA-DRB1*11:02	46,26
PFAMQMAYRFNGIGV	897	911	15	HLA-DRB1*13:01	46,26
PFAMQMAYRFNGIGV	897	911	15	HLA-DRB1*13:22	46,26
ITGRLQSLQTYVTQQ	997	1011	15	HLA-DRB1*10:01	28,64
SLQTYVTQQLIRAAE	1003	1017	15	HLA-DRB1*10:01	28,79
YYVGYLQPRTFLLKY	265	279	15	HLA-DRB1*01:04	42,05
ITGRLQSLQTYVTQQ	997	1011	15	HLA-DRB1*01:01	15,96

QSIIAYTMSLGAENS	690	704	15	HLA-DRB1*01:01	16,16
AALQIPFAMQMAYRF	892	906	15	HLA-DRB1*10:01	28,92
QDLFLPFFSNVTWFH	52	66	15	HLA-DRB1*10:01	29,16
GFNFSQILPDPSKPS	799	813	15	HLA-DRB1*10:01	29,31
QSLQTYVTQQLIRAA	1002	1016	15	HLA-DRB1*10:01	29,39
HGVVFLHVTYVPAQE	1058	1072	15	HLA-DRB1*10:01	29,60
AEIRASANLAATKMS	1016	1030	15	HLA-DRB1*11:02	47,49
AEIRASANLAATKMS	1016	1030	15	HLA-DRB1*13:01	47,49
AEIRASANLAATKMS	1016	1030	15	HLA-DRB1*13:22	47,49
GWTFGAGAALQIPFA	885	899	15	HLA-DRB1*01:01	16,39
NFNGLTGTGVLTESN	542	556	15	HLA-DRB1*01:01	16,47
FLPFFSNVTWFHAIH	55	69	15	HLA-DRB1*10:01	29,72
GGFNFSQILPDPSKP	798	812	15	HLA-DRB1*10:01	29,72
LFLPFFSNVTWFHAI	54	68	15	HLA-DRB1*10:01	29,77
DLFLPFFSNVTWFHA	53	67	15	HLA-DRB1*10:01	29,81
EMIAQYTSALLAGTI	868	882	15	HLA-DRB1*10:01	29,83
GVVFLHVTYVPAQEK	1059	1073	15	HLA-DRB1*10:01	29,83
PHGVVFLHVTYVPAQ	1057	1071	15	HLA-DRB1*10:01	29,87
QSLLVN NATNVVIK	115	129	15	HLA-DRB1*01:04	43,00
ITGRLQSLQTYVTQQ	997	1011	15	HLA-DRB1*01:04	43,81
YNYLYRLFRKSNLKP	449	463	15	HLA-DRB1*11:02	48,88
YNYLYRLFRKSNLKP	449	463	15	HLA-DRB1*13:01	48,88
YNYLYRLFRKSNLKP	449	463	15	HLA-DRB1*13:22	48,88
AALQIPFAMQMAYRF	892	906	15	HLA-DRB1*01:01	16,69
ADYSVLYNSASFSTF	363	377	15	HLA-DRB1*01:01	16,74
TQQLIRAAEIRASAN	1009	1023	15	HLA-DRB1*10:01	30,91
FSNVTWFHAIHVSGT	59	73	15	HLA-DRB1*10:01	31,08
VQIDRLITGRLQSLQ	991	1005	15	HLA-DRB1*01:04	44,97
GFSALEPLVDLPIGI	219	233	15	HLA-DRB1*10:01	31,27
LLQYGSFCTQLNRAL	753	767	15	HLA-DRB1*10:01	31,29
YVTQQLIRAAEIRAS	1007	1021	15	HLA-DRB1*01:04	46,00
GLTVLPPLLTDemia	857	871	15	HLA-DRB1*01:04	46,82
QTLLALHRSYLTPGD	239	253	15	HLA-DRB1*01:04	46,84
AAEIRASANLAATKM	1015	1029	15	HLA-DRB1*01:04	46,87

Célula B (n = 8)

GQSKRVDFC	1035	1043	9	-	-
TPGDSSSGWTA	250	260	11	-	-
RVYSTGSNVFQ	634	644	11	-	-

VNNSYECDIPI	656	666	11	-	-
RNFYEPQIITTD	1107	1118	12	-	-
MDLEGKQGKFNKL	177	189	13	-	-
KQIYKTPPIKDFGGF	786	800	15	-	-
LADAGFIKQYGDCLG	828	842	15	-	-

**APÊNDICE D - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO ENVELOPE (E).**

Epítomos preditos da proteína do envelope (E)					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 14)</i>					
FLAFVVFL	20	28	9	HLA-A*02:01	5,97
SLVKPSFYV	50	58	9	HLA-A*02:01	8,97
SVLLFLAFV	16	24	9	HLA-A*02:06	9,14
SLVKPSFYV	50	58	9	HLA-A*02:06	11,05
FLLVTLAIL	26	34	9	HLA-A*02:01	14,58
FLAFVVFL	20	28	9	HLA-A*02:06	20,26
SVLLFLAFV	16	24	9	HLA-A*02:01	25,28
VLLFLAFVV	17	25	9	HLA-A*02:01	30,41
FLAFVVFLV	20	29	10	HLA-A*02:01	33,3
VTLAILTAL	29	37	9	HLA-A*02:06	35,21
FLLVTLAIL	26	34	9	HLA-A*02:06	38,97
IVNSVLLFL	13	21	9	HLA-A*02:06	43,15
SVLLFLAFVV	16	25	10	HLA-A*02:06	43,61
SVLLFLAFVV	16	25	10	HLA-A*02:01	45,16
<i>HLA-B* (n = 5)</i>					
LVKPSFYVY	51	59	9	HLA-B*15:01	29,07
LIVNSVLLF	12	20	9	HLA-B*15:01	29,28
SLVKPSFYVY	50	59	10	HLA-B*15:01	30,14
LVKPSFYVY	51	59	9	HLA-B*15:02	44,57
ILTALRLCAY	33	42	10	HLA-B*15:01	45,61
<i>HLA-C* (n = 6)</i>					
FVSEETGTL	4	12	9	HLA-C*03:04	13,54
FVSEETGTL	4	12	9	HLA-C*03:03	13,54
LAILTALRL	31	39	9	HLA-C*03:04	23,97
LAILTALRL	31	39	9	HLA-C*03:03	23,97
YVYSRVKNL	57	65	9	HLA-C*03:04	46,42
YVYSRVKNL	57	65	9	HLA-C*03:03	46,42
MHC-II (n = 34)					
SFYVYSRVKNLNSSR	55	69	15	HLA-DRB1*01:01	13,54
YSRVKNLNSSRVPDL	59	73	15	HLA-DRB1*01:01	13,92

PSFYVYSRVKLNSS	54	68	15	HLA-DRB1*01:01	14,14
FYVYSRVKLNSSRV	56	70	15	HLA-DRB1*01:01	14,31
YVYSRVKLNSSRVP	57	71	15	HLA-DRB1*01:01	14,71
KPSFYVYSRVKLNNS	53	67	15	HLA-DRB1*01:01	16,58
FYVYSRVKLNSSRV	56	70	15	HLA-DRB1*10:01	17,12
SFYVYSRVKLNSSR	55	69	15	HLA-DRB1*10:01	17,37
VYSRVKLNSSRVPD	58	72	15	HLA-DRB1*01:01	17,41
PSFYVYSRVKLNSS	54	68	15	HLA-DRB1*10:01	19,49
VTLAILTALRLCAYC	29	43	15	HLA-DRB1*01:01	21,12
VKPSFYVYSRVKLN	52	66	15	HLA-DRB1*01:01	21,84
SRVKLNSSRVPDLL	60	74	15	HLA-DRB1*01:01	23,45
YVYSRVKLNSSRVP	57	71	15	HLA-DRB1*10:01	24,47
MYSFVSEETGTLIVN	1	15	15	HLA-DRB1*01:01	25,29
KPSFYVYSRVKLNNS	53	67	15	HLA-DRB1*10:01	25,42
LVTLAILTALRLCAY	28	42	15	HLA-DRB1*01:01	26,92
TLAILTALRLCAYCC	30	44	15	HLA-DRB1*01:01	27,43
VTLAILTALRLCAYC	29	43	15	HLA-DRB1*01:04	30,19
YSRVKLNSSRVPDL	59	73	15	HLA-DRB1*01:04	30,36
LLVTLAILTALRLCA	27	41	15	HLA-DRB1*01:01	30,89
LVTLAILTALRLCAY	28	42	15	HLA-DRB1*01:04	33,18
YSFVSEETGTLIVNS	2	16	15	HLA-DRB1*01:01	36,41
RVKLNSSRVPDLLV	61	75	15	HLA-DRB1*01:01	37,68
LVKPSFYVYSRVKLN	51	65	15	HLA-DRB1*01:01	37,74
TLAILTALRLCAYCC	30	44	15	HLA-DRB1*01:04	40,11
VKPSFYVYSRVKLN	52	66	15	HLA-DRB1*10:01	41,02
YVYSRVKLNSSRVP	57	71	15	HLA-DRB1*01:04	41,04
VYSRVKLNSSRVPD	58	72	15	HLA-DRB1*10:01	41,24
VYSRVKLNSSRVPD	58	72	15	HLA-DRB1*01:04	41,70
LLVTLAILTALRLCA	27	41	15	HLA-DRB1*01:04	41,93
VFLVTLAILTALRL	25	39	15	HLA-DRB1*01:01	43,63
FLLVTLAILTALRLC	26	40	15	HLA-DRB1*01:01	48,03
SRVKLNSSRVPDLL	60	74	15	HLA-DRB1*01:04	49,26

Células B (n = 1)

YVYSRVKLNSSRVP	57	71	15	-	-
----------------	----	----	----	---	---

**APÊNDICE E - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M).**

Epítopos preditos de proteína da membrana (M)					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 47)</i>					
SYFIASFRLF	94	103	10	HLA-A*23:01	3,59
GLMWLSYFI	89	97	9	HLA-A*02:01	3,98
FVLAADVRI	65	73	9	HLA-A*02:06	4,5
ATSRTLSYYK	171	180	10	HLA-A*11:01	4,73
YFIASFRLF	95	103	9	HLA-A*23:01	5,01
KLLEQWNLV	15	23	9	HLA-A*02:01	7,24
KLLEQWNLV	15	23	9	HLA-A*02:06	8,12
MWLSYFIASF	91	100	10	HLA-A*23:01	8,74
FVLAADVRI	65	73	9	HLA-A*02:01	9,17
GLMWLSYFI	89	97	9	HLA-A*02:06	10,87
TLACFVLAADV	61	70	10	HLA-A*02:01	11,53
FLWLLWPV	53	60	8	HLA-A*02:01	12,98
FLWLLWPVTL	53	62	10	HLA-A*02:01	13,19
SYFIASFRL	94	102	9	HLA-A*23:01	14,63
KLIFLWLLWPV	50	60	11	HLA-A*02:01	15,85
FLFTWICLL	26	35	10	HLA-A*02:01	16,42
TLACFVLAADV	61	70	10	HLA-A*02:06	16,63
QWNLVIGFLF	19	28	10	HLA-A*23:01	18,57
IAMACLVGL	82	90	9	HLA-A*02:06	18,69
ATSRTLSYYK	171	180	10	HLA-A*03:01	19,83
LSYFIASFR	93	101	9	HLA-A*11:01	19,87
LIFLWLLWPV	51	60	10	HLA-A*02:06	20,82
YSRYRIGNYK	196	205	10	HLA-A*11:01	23,14
KLLEQWNLVI	15	24	10	HLA-A*02:01	23,15
RFLYIIKLIF	44	53	10	HLA-A*23:01	23,98
KLIFLWLLWPV	50	60	11	HLA-A*02:06	24,93
TLACFVLAA	61	69	9	HLA-A*02:01	25,06
LIFLWLLWPV	51	60	10	HLA-A*02:01	25,96
TSRTLSYYK	172	180	9	HLA-A*11:01	26,99
LWLLWPVTL	54	62	9	HLA-A*23:01	27,55
LYIIKLIFLW	46	55	10	HLA-A*23:01	27,82
LLWPVTLACFV	56	66	11	HLA-A*02:01	28,67
FLWLLWPV	53	60	8	HLA-A*02:06	29,75

SMWSFNPET	108	116	9	HLA-A*02:01	29,89
GTITVEELK	6	14	9	HLA-A*11:01	31,09
LVIGFLFLT	22	30	9	HLA-A*02:06	31,66
FIASFRLFA	96	104	9	HLA-A*02:06	31,8
WLLWPVTLA	55	63	9	HLA-A*02:01	33,1
GLMWLSYFIA	89	98	10	HLA-A*02:01	34,03
VGLMWLSYFI	88	97	10	HLA-A*02:01	35,79
GTITVEELKK	6	15	10	HLA-A*11:01	36,88
LSYFIASFRLF	93	103	11	HLA-A*23:01	38,12
TLACFVLAA	61	69	9	HLA-A*02:06	40,83
ATSRTLSTYY	171	179	9	HLA-A*11:01	41,56
ATSRTLSTYY	171	179	9	HLA-A*01:01	42,76
SMWSFNPETNI	108	118	11	HLA-A*02:01	43,25
FIASFRLFA	96	104	9	HLA-A*02:01	48,46

HLA-B* (n = 8)

SQRVAGDSGF	184	193	10	HLA-B*15:01	12,61
RLFARTRSM	101	109	9	HLA-B*15:01	21,34
RLFARTRSM	101	109	9	HLA-B*08:01	26,42
MWLSYFIASF	91	100	10	HLA-B*15:01	27,29
FARTRSMWSF	103	112	10	HLA-B*08:01	34,93
WLSYFIASF	92	100	9	HLA-B*15:01	36,04
RVAGDSGFAAY	186	196	11	HLA-B*15:01	38,32
FRLFARTRSM	100	109	10	HLA-B*08:01	44,59

HLA-C* (n = 11)

FAYANRNRF	37	45	9	HLA-C*03:04	5,37
FAYANRNRF	37	45	9	HLA-C*03:03	5,37
ITVATSRTL	168	176	9	HLA-C*03:04	16,61
ITVATSRTL	168	176	9	HLA-C*03:03	16,61
FAYANRNRF	37	46	10	HLA-C*03:04	20,09
FAYANRNRF	37	46	10	HLA-C*03:03	20,09
FAAYSRYRI	193	201	9	HLA-C*03:04	45,44
FAAYSRYRI	193	201	9	HLA-C*03:03	45,44
IAMACLVGL	82	90	9	HLA-C*03:04	45,45
IAMACLVGL	82	90	9	HLA-C*03:03	45,45

MHC-II (n = 180)

TLSTYYKLGASQRVAG	175	189	15	HLA-DRB1*01:01	4,39
------------------	-----	-----	----	----------------	------

RTLSYYKLGASQRVA	174	188	15	HLA-DRB1*01:01	4,81
LSYYKLGASQRVAGD	176	190	15	HLA-DRB1*01:01	4,85
SYKLGASQRVAGDS	177	191	15	HLA-DRB1*01:01	6,11
YYKLGASQRVAGDSG	178	192	15	HLA-DRB1*01:01	8,37
PKEITVATSRTLSYY	165	179	15	HLA-DRB1*01:01	8,87
SRTLSYYKLGASQRV	173	187	15	HLA-DRB1*01:01	9,78
ICLLQFAYANRNRFL	32	46	15	HLA-DRB1*10:01	10,56
KEITVATSRTLSYYK	166	180	15	HLA-DRB1*01:01	10,58
LPKEITVATSRTLSY	164	178	15	HLA-DRB1*01:01	10,75
WICLLQFAYANRNR	31	45	15	HLA-DRB1*10:01	11,00
VYRINWITGGIAIAM	70	84	15	HLA-DRB1*01:01	13,00
TWICLLQFAYANRNR	30	44	15	HLA-DRB1*10:01	13,39
YRINWITGGIAIAMA	71	85	15	HLA-DRB1*01:01	14,26
CLLQFAYANRNRFLY	33	47	15	HLA-DRB1*10:01	14,31
ICLLQFAYANRNRFL	32	46	15	HLA-DRB1*01:01	14,41
AVYRINWITGGIAIA	69	83	15	HLA-DRB1*01:01	14,54
WICLLQFAYANRNR	31	45	15	HLA-DRB1*01:01	15,92
DLPKEITVATSRTLS	163	177	15	HLA-DRB1*01:01	16,02
LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*10:01	16,47
FRLFARTRSMWSFNP	100	114	15	HLA-DRB1*10:01	16,93
SFRLFARTRSMWSFN	99	113	15	HLA-DRB1*10:01	17,01
PKEITVATSRTLSYY	165	179	15	HLA-DRB1*01:04	18,01
TLSYYKLGASQRVAG	175	189	15	HLA-DRB1*10:01	18,71
RTLSYYKLGASQRVA	174	188	15	HLA-DRB1*10:01	19,21
TLSYYKLGASQRVAG	175	189	15	HLA-DRB1*01:04	19,24
CLLQFAYANRNRFLY	33	47	15	HLA-DRB1*01:01	19,36
ASFRLFARTRSMWSF	98	112	15	HLA-DRB1*10:01	19,48
AVILRGHLRIAGHHL	142	156	15	HLA-DRB1*11:02	19,86
AVILRGHLRIAGHHL	142	156	15	HLA-DRB1*13:01	19,86
AVILRGHLRIAGHHL	142	156	15	HLA-DRB1*13:22	19,86
TWICLLQFAYANRNR	30	44	15	HLA-DRB1*01:01	19,93
KEITVATSRTLSYYK	166	180	15	HLA-DRB1*01:04	20,05
FRLFARTRSMWSFNP	100	114	15	HLA-DRB1*01:01	20,08
GAVILRGHLRIAGHH	141	155	15	HLA-DRB1*11:02	20,22
GAVILRGHLRIAGHH	141	155	15	HLA-DRB1*13:01	20,22
GAVILRGHLRIAGHH	141	155	15	HLA-DRB1*13:22	20,22
IGAVILRGHLRIAGH	140	154	15	HLA-DRB1*11:02	20,34
IGAVILRGHLRIAGH	140	154	15	HLA-DRB1*13:01	20,34
IGAVILRGHLRIAGH	140	154	15	HLA-DRB1*13:22	20,34

LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*01:01	20,37
SYFIASFRLFARTRS	94	108	15	HLA-DRB1*11:02	20,60
SYFIASFRLFARTRS	94	108	15	HLA-DRB1*13:01	20,60
SYFIASFRLFARTRS	94	108	15	HLA-DRB1*13:22	20,60
YFIASFRLFARTRSM	95	109	15	HLA-DRB1*11:02	20,76
YFIASFRLFARTRSM	95	109	15	HLA-DRB1*13:01	20,76
YFIASFRLFARTRSM	95	109	15	HLA-DRB1*13:22	20,76
RTLSYYKLGASQRVA	174	188	15	HLA-DRB1*01:04	20,78
IASFRLFARTRSMWS	97	111	15	HLA-DRB1*11:02	20,90
IASFRLFARTRSMWS	97	111	15	HLA-DRB1*13:01	20,90
IASFRLFARTRSMWS	97	111	15	HLA-DRB1*13:22	20,90
SFRLFARTRSMWSFN	99	113	15	HLA-DRB1*01:01	20,91
LSYYKLGASQRVAGD	176	190	15	HLA-DRB1*10:01	20,94
MWSFNPETNILLNVP	109	123	15	HLA-DRB1*01:01	21,50
FIASFRLFARTRSMW	96	110	15	HLA-DRB1*11:02	21,79
FIASFRLFARTRSMW	96	110	15	HLA-DRB1*13:01	21,79
FIASFRLFARTRSMW	96	110	15	HLA-DRB1*13:22	21,79
AAVYRINWITGGIAI	68	82	15	HLA-DRB1*01:01	22,20
LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*11:02	22,46
LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*13:01	22,46
LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*13:22	22,46
SMWSFNPETNILLNV	108	122	15	HLA-DRB1*01:01	22,59
LSYYKLGASQRVAGD	176	190	15	HLA-DRB1*01:04	22,72
LPKEITVATSRTLSY	164	178	15	HLA-DRB1*01:04	23,04
ASFRLFARTRSMWSF	98	112	15	HLA-DRB1*11:02	23,39
ASFRLFARTRSMWSF	98	112	15	HLA-DRB1*13:01	23,39
ASFRLFARTRSMWSF	98	112	15	HLA-DRB1*13:22	23,39
RINWITGGIAIAMAC	72	86	15	HLA-DRB1*01:01	23,60
VIGAVILRGHLRIAG	139	153	15	HLA-DRB1*11:02	23,63
VIGAVILRGHLRIAG	139	153	15	HLA-DRB1*13:01	23,63
VIGAVILRGHLRIAG	139	153	15	HLA-DRB1*13:22	23,63
PKEITVATSRTLSYY	165	179	15	HLA-DRB1*11:02	23,84
PKEITVATSRTLSYY	165	179	15	HLA-DRB1*13:01	23,84
PKEITVATSRTLSYY	165	179	15	HLA-DRB1*13:22	23,84
EITVATSRTLSYYKL	167	181	15	HLA-DRB1*01:01	24,20
VILRGHLRIAGHHLG	143	157	15	HLA-DRB1*11:02	25,17
KEITVATSRTLSYYK	166	180	15	HLA-DRB1*11:02	25,17
VILRGHLRIAGHHLG	143	157	15	HLA-DRB1*13:01	25,17
KEITVATSRTLSYYK	166	180	15	HLA-DRB1*13:01	25,17

VILRGHLRIAGHHLG	143	157	15	HLA-DRB1*13:22	25,17
KEITVATSRTLSSYYK	166	180	15	HLA-DRB1*13:22	25,17
ASFRLFARTRSMWSF	98	112	15	HLA-DRB1*01:01	25,40
LQFAYANRNRFlyII	35	49	15	HLA-DRB1*11:02	26,02
LQFAYANRNRFlyII	35	49	15	HLA-DRB1*13:01	26,02
LQFAYANRNRFlyII	35	49	15	HLA-DRB1*13:22	26,02
LSYFIASFRLFARTR	93	107	15	HLA-DRB1*11:02	26,44
LSYFIASFRLFARTR	93	107	15	HLA-DRB1*13:01	26,44
LSYFIASFRLFARTR	93	107	15	HLA-DRB1*13:22	26,44
CLLQFAYANRNRFly	33	47	15	HLA-DRB1*11:02	26,56
CLLQFAYANRNRFly	33	47	15	HLA-DRB1*13:01	26,56
CLLQFAYANRNRFly	33	47	15	HLA-DRB1*13:22	26,56
SFRLFARTRSMWSFN	99	113	15	HLA-DRB1*11:02	26,62
SFRLFARTRSMWSFN	99	113	15	HLA-DRB1*13:01	26,62
SFRLFARTRSMWSFN	99	113	15	HLA-DRB1*13:22	26,62
ICLLQFAYANRNRF	32	46	15	HLA-DRB1*01:04	27,06
RLFARTRSMWSFNPE	101	115	15	HLA-DRB1*10:01	27,06
LTWICLLQFAYANRN	29	43	15	HLA-DRB1*10:01	27,35
IASFRLFARTRSMWS	97	111	15	HLA-DRB1*10:01	27,56
ILRGHLRIAGHHLGR	144	158	15	HLA-DRB1*11:02	29,55
ILRGHLRIAGHHLGR	144	158	15	HLA-DRB1*13:01	29,55
ILRGHLRIAGHHLGR	144	158	15	HLA-DRB1*13:22	29,55
LVIGAVILRGHLRIA	138	152	15	HLA-DRB1*11:02	29,65
LVIGAVILRGHLRIA	138	152	15	HLA-DRB1*13:01	29,65
LVIGAVILRGHLRIA	138	152	15	HLA-DRB1*13:22	29,65
WSFNPETNILLNVPL	110	124	15	HLA-DRB1*01:01	29,84
WICLLQFAYANRNRF	31	45	15	HLA-DRB1*01:04	30,28
NILLNVPLHGTILTR	117	131	15	HLA-DRB1*01:01	31,27
ICLLQFAYANRNRF	32	46	15	HLA-DRB1*11:02	31,72
ICLLQFAYANRNRF	32	46	15	HLA-DRB1*13:01	31,72
ICLLQFAYANRNRF	32	46	15	HLA-DRB1*13:22	31,72
QFAYANRNRFlyIIK	36	50	15	HLA-DRB1*11:02	31,79
QFAYANRNRFlyIIK	36	50	15	HLA-DRB1*13:01	31,79
QFAYANRNRFlyIIK	36	50	15	HLA-DRB1*13:22	31,79
LPKEITVATSRTLsy	164	178	15	HLA-DRB1*11:02	32,22
LPKEITVATSRTLsy	164	178	15	HLA-DRB1*13:01	32,22
LPKEITVATSRTLsy	164	178	15	HLA-DRB1*13:22	32,22
SYYKLGASQRVAGDS	177	191	15	HLA-DRB1*10:01	32,49
RLFARTRSMWSFNPE	101	115	15	HLA-DRB1*01:01	32,90

VYRINWITGGIAIAM	70	84	15	HLA-DRB1*01:04	33,21
ETNILLNVPLHGTIL	115	129	15	HLA-DRB1*01:01	33,42
SRTLSYYKLGASQRV	173	187	15	HLA-DRB1*10:01	33,44
TNILLNVPLHGTILT	116	130	15	HLA-DRB1*01:01	34,06
SYKLGASQRVAGDS	177	191	15	HLA-DRB1*01:04	34,60
DLPKEITVATSRTLS	163	177	15	HLA-DRB1*01:04	34,68
YRINWITGGIAIAMA	71	85	15	HLA-DRB1*01:04	35,47
IASFRLFARTRSMWS	97	111	15	HLA-DRB1*01:01	35,83
VTLACFVLAAYRIN	60	74	15	HLA-DRB1*01:01	35,97
CLLQFAYANRNRFLY	33	47	15	HLA-DRB1*01:04	36,30
ILRGHLRIAGHHLGR	144	158	15	HLA-DRB1*01:01	36,51
ILLNVPLHGTILTRP	118	132	15	HLA-DRB1*01:01	36,57
LTWICLLQFAYANRN	29	43	15	HLA-DRB1*01:01	36,58
RSMWSFNPETNILLN	107	121	15	HLA-DRB1*01:01	36,67
YRINWITGGIAIAMA	71	85	15	HLA-DRB1*10:01	37,60
EITVATSRTLSYYKL	167	181	15	HLA-DRB1*11:02	37,65
EITVATSRTLSYYKL	167	181	15	HLA-DRB1*13:01	37,65
EITVATSRTLSYYKL	167	181	15	HLA-DRB1*13:22	37,65
TLACFVLAAYRINW	61	75	15	HLA-DRB1*01:01	38,24
LLQFAYANRNRFLYI	34	48	15	HLA-DRB1*01:04	38,28
WLSYFIASFRLFART	92	106	15	HLA-DRB1*11:02	38,30
WLSYFIASFRLFART	92	106	15	HLA-DRB1*13:01	38,30
WLSYFIASFRLFART	92	106	15	HLA-DRB1*13:22	38,30
ELVIGAVILRGHLRI	137	151	15	HLA-DRB1*11:02	38,37
ELVIGAVILRGHLRI	137	151	15	HLA-DRB1*13:01	38,37
ELVIGAVILRGHLRI	137	151	15	HLA-DRB1*13:22	38,37
TWICLLQFAYANRNR	30	44	15	HLA-DRB1*01:04	39,30
AVYRINWITGGIAIA	69	83	15	HLA-DRB1*01:04	39,62
VYRINWITGGIAIAM	70	84	15	HLA-DRB1*10:01	39,77
FIASFRLFARTRSMW	96	110	15	HLA-DRB1*10:01	40,32
YFIASFRLFARTRSM	95	109	15	HLA-DRB1*10:01	40,84
LVIGAVILRGHLRIA	138	152	15	HLA-DRB1*01:04	41,01
EITVATSRTLSYYKL	167	181	15	HLA-DRB1*01:04	41,78
ELVIGAVILRGHLRI	137	151	15	HLA-DRB1*01:04	43,54
SRTLSYYKLGASQRV	173	187	15	HLA-DRB1*01:04	43,75
INWITGGIAIAMACL	73	87	15	HLA-DRB1*01:01	43,79
FRLFARTRSMWSFNP	100	114	15	HLA-DRB1*11:02	44,00
FRLFARTRSMWSFNP	100	114	15	HLA-DRB1*13:01	44,00
FRLFARTRSMWSFNP	100	114	15	HLA-DRB1*13:22	44,00

PETNILLNVPLHGTI	114	128	15	HLA-DRB1*01:01	44,09
LRGHLRIAGHHLGRC	145	159	15	HLA-DRB1*01:01	44,42
ACFVLAAYRINWIT	63	77	15	HLA-DRB1*01:01	44,63
SYFIASFRLFARTRS	94	108	15	HLA-DRB1*10:01	44,75
KDLPKEITVATSRTL	162	176	15	HLA-DRB1*01:01	44,91
YKLGASQRVAGDSGF	179	193	15	HLA-DRB1*01:01	45,25
VIGAVILRGHLRIAG	139	153	15	HLA-DRB1*01:04	45,31
LVIGAVILRGHLRIA	138	152	15	HLA-DRB1*01:01	45,97
AVYRINWITGGIAIA	69	83	15	HLA-DRB1*10:01	46,74
LQFAYANRNRFLYII	35	49	15	HLA-DRB1*01:01	46,79
SELVIGAVILRGHLR	136	150	15	HLA-DRB1*01:01	47,49
SELVIGAVILRGHLR	136	150	15	HLA-DRB1*01:04	47,67
LRGHLRIAGHHLGRC	145	159	15	HLA-DRB1*11:02	47,68
LRGHLRIAGHHLGRC	145	159	15	HLA-DRB1*13:01	47,68
LRGHLRIAGHHLGRC	145	159	15	HLA-DRB1*13:22	47,68
SFNPETNILLNVPLH	111	125	15	HLA-DRB1*01:01	47,89
LAAYRINWITGGIA	67	81	15	HLA-DRB1*01:01	48,11
FAYANRNRFLYIIKL	37	51	15	HLA-DRB1*11:02	48,22
FAYANRNRFLYIIKL	37	51	15	HLA-DRB1*13:01	48,22
FAYANRNRFLYIIKL	37	51	15	HLA-DRB1*13:22	48,22
VIGAVILRGHLRIAG	139	153	15	HLA-DRB1*01:01	48,39
SELVIGAVILRGHLR	136	150	15	HLA-DRB1*10:01	48,69
NWITGGIAIAMACLV	74	88	15	HLA-DRB1*01:01	48,94

Célula B (n = 1)

KLASQRVAGDS	180	191	12	-	-
-------------	-----	-----	----	---	---

**APÊNDICE F - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N).**

Epítomos preditos da proteína do nucleocapsídeo (N)					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 47)</i>					
KTFPPTEPK	361	369	9	HLA-A*11:01	8,51
LLLDRLNQL	222	230	9	HLA-A*02:01	10,55
ASAFFGMSR	311	319	9	HLA-A*11:01	14,81
LLLDRLNQL	222	230	9	HLA-A*02:06	15,07
KTFPPTEPKK	361	370	10	HLA-A*11:01	15,36
KTFPPTEPK	361	369	9	HLA-A*03:01	19,39
LLNKHIDAYK	352	361	10	HLA-A*03:01	19,82
KTFPPTEPKK	361	370	10	HLA-A*03:01	19,98
SSPDDQIGYY	78	87	10	HLA-A*01:01	21,74
YKTFPPTEPK	360	369	10	HLA-A*11:01	22,96
ATEGALNTPK	134	143	10	HLA-A*11:01	23,09
AYKTFPPTEPK	359	369	11	HLA-A*11:01	26,0
FGMSRIGMEV	315	324	10	HLA-A*02:01	27,81
SASAFFGMSR	310	319	10	HLA-A*11:01	33,43
NTASWFTAL	48	56	9	HLA-A*02:06	41,91
GMSRIGMEV	316	324	9	HLA-A*02:01	46,4
AQFAPSASA	305	313	9	HLA-A*02:06	48,45
<i>HLA-B* (n = 13)</i>					
AQFAPSASAF	305	314	10	HLA-B*15:01	3,64
FPRGQGVPI	66	74	9	HLA-B*07:02	4,21
KFPRGQGVPI	65	74	10	HLA-B*07:02	6,21
SPRWYFYLL	105	113	9	HLA-B*07:02	8,33
RQKRTATKAY	259	268	10	HLA-B*15:01	10,17
AQFAPSASAFF	305	315	11	HLA-B*15:01	13,01
KPRQKRTAT	257	265	9	HLA-B*07:02	14,7
KAYNVTQAF	266	274	9	HLA-B*15:01	20,33
LLNKHIDAY	352	360	9	HLA-B*15:01	26,62
LKFPRGQGVPI	64	74	11	HLA-B*07:02	34,93
SPRWYFYLL	105	113	9	HLA-B*08:01	40,72
LLNKHIDAY	352	360	9	HLA-B*15:02	43,72
IAQFAPSASAF	304	314	11	HLA-B*15:01	49,72

HLA-C* (n = 9)

KAYNVTQAF	266	274	9	HLA-C*03:04	13,35
KAYNVTQAF	266	274	9	HLA-C*03:03	13,35
FAPSASAFF	307	315	9	HLA-C*03:04	20,44
FAPSASAFF	307	315	9	HLA-C*03:03	20,44
FAPSASAFF	307	315	9	HLA-C*01:02	29,78
NTASWFTAL	48	56	9	HLA-C*03:04	35,67
NTASWFTAL	48	56	9	HLA-C*03:03	35,67
FSKQLQQSM	403	411	9	HLA-C*03:04	41,06
FSKQLQQSM	403	411	9	HLA-C*03:03	41,06

MHC-II (n = 85)

QQTVTLLPAADLDDF	389	403	15	HLA-DRB1*01:01	14,23
KKQQTVTLLPAADLD	387	401	15	HLA-DRB1*01:01	15,94
RWYFYLLGTGPEAGL	107	121	15	HLA-DRB1*01:01	15,99
QTVTLLPAADLDDFS	390	404	15	HLA-DRB1*01:01	16,25
RWYFYLLGTGPEAGL	107	121	15	HLA-DRB1*10:01	17,03
WYFYLLGTGPEAGLP	108	122	15	HLA-DRB1*01:01	17,75
KQQTVTLLPAADLDD	388	402	15	HLA-DRB1*01:01	19,58
WYFYLLGTGPEAGLP	108	122	15	HLA-DRB1*10:01	21,11
YFYLLGTGPEAGLPY	109	123	15	HLA-DRB1*01:01	22,48
DQIGYYRRATRRIRG	82	96	15	HLA-DRB1*11:02	22,83
DQIGYYRRATRRIRG	82	96	15	HLA-DRB1*13:01	22,83
DQIGYYRRATRRIRG	82	96	15	HLA-DRB1*13:22	22,83
PRWYFYLLGTGPEAG	106	120	15	HLA-DRB1*10:01	22,90
NAAIVLQLPQGTTLP	154	168	15	HLA-DRB1*01:01	23,39
QIGYYRRATRRIRGG	83	97	15	HLA-DRB1*11:02	23,49
QIGYYRRATRRIRGG	83	97	15	HLA-DRB1*13:01	23,49
QIGYYRRATRRIRGG	83	97	15	HLA-DRB1*13:22	23,49
PRWYFYLLGTGPEAG	106	120	15	HLA-DRB1*01:01	23,56
NNAAIVLQLPQGTTL	153	167	15	HLA-DRB1*01:01	23,71
GIIWVATEGALNTPK	129	143	15	HLA-DRB1*10:01	24,38
GTWLTYTGAIKLDDK	328	342	15	HLA-DRB1*01:01	25,38
DDQIGYYRRATRRIR	81	95	15	HLA-DRB1*11:02	25,77
DDQIGYYRRATRRIR	81	95	15	HLA-DRB1*13:01	25,77
DDQIGYYRRATRRIR	81	95	15	HLA-DRB1*13:22	25,77
AAIVLQLPQGTTLPK	155	169	15	HLA-DRB1*01:01	25,78
YFYLLGTGPEAGLPY	109	123	15	HLA-DRB1*10:01	26,01
QKKQQTVTLLPAADL	386	400	15	HLA-DRB1*01:01	26,34

TVTLLPAADLDDFSK	391	405	15	HLA-DRB1*01:01	26,44
IIWVATEGALNTPKD	130	144	15	HLA-DRB1*10:01	26,79
KDGIWVATEGALNT	127	141	15	HLA-DRB1*10:01	27,22
NTASWFTALTQHGKE	48	62	15	HLA-DRB1*10:01	27,77
SPRWYFYLLGTGPEA	105	119	15	HLA-DRB1*10:01	28,14
QVILLNKHIDAYKTF	349	363	15	HLA-DRB1*11:02	29,12
QVILLNKHIDAYKTF	349	363	15	HLA-DRB1*13:01	29,12
QVILLNKHIDAYKTF	349	363	15	HLA-DRB1*13:22	29,12
NNTASWFTALTQHGK	47	61	15	HLA-DRB1*10:01	29,59
TWLTYTGAIKLDDKD	329	343	15	HLA-DRB1*01:01	29,76
DGIWVATEGALNTP	128	142	15	HLA-DRB1*10:01	30,33
NNAAIVLQLPQGTTL	153	167	15	HLA-DRB1*01:04	31,52
DQVILLNKHIDAYKT	348	362	15	HLA-DRB1*11:02	31,78
DQVILLNKHIDAYKT	348	362	15	HLA-DRB1*13:01	31,78
DQVILLNKHIDAYKT	348	362	15	HLA-DRB1*13:22	31,78
NAAIVLQLPQGTTLP	154	168	15	HLA-DRB1*01:04	32,46
KDGIWVATEGALNT	127	141	15	HLA-DRB1*01:01	32,57
KDQVILLNKHIDAYK	347	361	15	HLA-DRB1*11:02	34,32
KDQVILLNKHIDAYK	347	361	15	HLA-DRB1*13:01	34,32
KDQVILLNKHIDAYK	347	361	15	HLA-DRB1*13:22	34,32
TASWFTALTQHGKED	49	63	15	HLA-DRB1*10:01	34,63
GIIWVATEGALNTPK	129	143	15	HLA-DRB1*01:01	34,67
QQTVTLLPAADLDDF	389	403	15	HLA-DRB1*01:04	35,46
PSGTWLTYTGAIKLD	326	340	15	HLA-DRB1*01:01	35,54
LLDRLNQLESKMSGK	223	237	15	HLA-DRB1*01:01	36,02
SGTWLTYTGAIKLDD	327	341	15	HLA-DRB1*01:01	36,16
AAIVLQLPQGTTLPK	155	169	15	HLA-DRB1*01:04	36,68
WPQIAQFAPSASAFF	301	315	15	HLA-DRB1*10:01	37,29
ANNAAIVLQLPQGTT	152	166	15	HLA-DRB1*01:01	37,52
ASWFTALTQHGKEDL	50	64	15	HLA-DRB1*10:01	38,58
DPNFKDQVILLNKHI	343	357	15	HLA-DRB1*10:01	39,10
LDRLNQLESKMSGKG	224	238	15	HLA-DRB1*01:01	39,17
PNFKDQVILLNKHID	344	358	15	HLA-DRB1*10:01	39,20
NTASWFTALTQHGKE	48	62	15	HLA-DRB1*01:01	39,63
AIVLQLPQGTTLPKG	156	170	15	HLA-DRB1*01:01	39,64
IIWVATEGALNTPKD	130	144	15	HLA-DRB1*01:01	40,09
IGYYRRATRIRGGD	84	98	15	HLA-DRB1*11:02	41,15
IGYYRRATRIRGGD	84	98	15	HLA-DRB1*13:01	41,15
IGYYRRATRIRGGD	84	98	15	HLA-DRB1*13:22	41,15

PQIAQFAPSASAFFG	302	316	15	HLA-DRB1*10:01	43,32
VILLNKHIDAYKTFP	350	364	15	HLA-DRB1*11:02	43,51
VILLNKHIDAYKTFP	350	364	15	HLA-DRB1*13:01	43,51
VILLNKHIDAYKTFP	350	364	15	HLA-DRB1*13:22	43,51
NNTASWFTALTQH GK	47	61	15	HLA-DRB1*01:01	43,54
NNAAIVLQLPQGTTL	153	167	15	HLA-DRB1*10:01	44,11
DGIWVATEGALNTP	128	142	15	HLA-DRB1*01:01	44,38
NKDGIIWVATEGALN	126	140	15	HLA-DRB1*10:01	44,59
KKQQTVTLLPAADLD	387	401	15	HLA-DRB1*01:04	45,82
SPRWYFYLLGTGPEA	105	119	15	HLA-DRB1*01:01	45,82
QTVTLLPAADLDDFS	390	404	15	HLA-DRB1*01:04	46,97
QIAQFAPSASAFFGM	303	317	15	HLA-DRB1*01:01	47,02
NAAIVLQLPQGTTLP	154	168	15	HLA-DRB1*10:01	47,94
WPQIAQFAPSASAFF	301	315	15	HLA-DRB1*01:01	49,32
PQIAQFAPSASAFFG	302	316	15	HLA-DRB1*01:01	49,47
HWPQIAQFAPSASAF	300	314	15	HLA-DRB1*10:01	49,76
FKDQVILLNKHIDAY	346	360	15	HLA-DRB1*11:02	49,91
FKDQVILLNKHIDAY	346	360	15	HLA-DRB1*13:01	49,91
FKDQVILLNKHIDAY	346	360	15	HLA-DRB1*13:22	49,91

Célula B (n = 3)

AGLPYGANK	119	127	9	-	-
NGPQNQRNAPRI	4	15	12	-	-
SKQLQQSMSSADS	404	416	13	-	-

**APÊNDICE G - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA NÃO ESTRUTURAL 1 (NSP1) DA ORF1AB.**

Epítomos preditos da nsP1 da ORF1ab					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 5)</i>					
VMVELVAEL	1	84	92	HLA-A*02:01	10,56
VMVELVAEL	1	84	92	HLA-A*02:06	20,53
SLVPGFNEK	1	3	11	HLA-A*11:01	26,15
TLGVLVPHV	1	103	111	HLA-A*02:01	31,99
VAYRKVLLRK	1	116	125	HLA-A*03:01	46,28
<i>HLA-B* (n = 2)</i>					
IPVAYRKVL	114	122	9	HLA-B*07:02	11,16
APHGHVMVEL	79	88	10	HLA-B*07:02	17,96
<i>HLA-C* (n = 4)</i>					
RTAPHGHVM	77	85	9	HLA-C*03:04	10,48
RTAPHGHVM	77	85	9	HLA-C*03:03	10,48
HSSGVTTREL	165	173	9	HLA-C*03:04	46,84
HSSGVTTREL	165	173	9	HLA-C*03:03	46,84
MHC-II (n = 32)					
EKTHVQLSLPVLQVR	10	24	15	HLA-DRB1*01:01	22,20
KTHVQLSLPVLQVRD	11	25	15	HLA-DRB1*01:01	24,29
EKTHVQLSLPVLQVR	10	24	15	HLA-DRB1*10:01	25,90
KTHVQLSLPVLQVRD	11	25	15	HLA-DRB1*10:01	26,77
VGEIPVAYRKVLLRK	111	125	15	HLA-DRB1*11:02	29,33
VGEIPVAYRKVLLRK	111	125	15	HLA-DRB1*13:01	29,33
VGEIPVAYRKVLLRK	111	125	15	HLA-DRB1*13:22	29,33
NEKTHVQLSLPVLQV	9	23	15	HLA-DRB1*01:01	30,13
GEIPVAYRKVLLRKN	112	126	15	HLA-DRB1*11:02	31,02
GEIPVAYRKVLLRKN	112	126	15	HLA-DRB1*13:01	31,02
GEIPVAYRKVLLRKN	112	126	15	HLA-DRB1*13:22	31,02
THVQLSLPVLQVRDV	12	26	15	HLA-DRB1*01:01	33,08
THVQLSLPVLQVRDV	12	26	15	HLA-DRB1*10:01	35,37
IPVAYRKVLLRKNGN	114	128	15	HLA-DRB1*11:02	36,64
IPVAYRKVLLRKNGN	114	128	15	HLA-DRB1*13:01	36,64
IPVAYRKVLLRKNGN	114	128	15	HLA-DRB1*13:22	36,64

PYVFIKRS DARTAPH	67	81	15	HLA-DRB1*01:01	37,05
EIPVAYRKVLLRKNG	113	127	15	HLA-DRB1*11:02	37,17
EIPVAYRKVLLRKNG	113	127	15	HLA-DRB1*13:01	37,17
EIPVAYRKVLLRKNG	113	127	15	HLA-DRB1*13:22	37,17
YVFIKRS DARTAPHG	68	82	15	HLA-DRB1*01:01	37,38
NEKTHVQLSLPVLQV	9	23	15	HLA-DRB1*10:01	38,87
EKTHVQLSLPVLQVR	10	24	15	HLA-DRB1*01:04	39,80
HVQLSLPVLQVRDVL	13	27	15	HLA-DRB1*01:01	43,53
KTHVQLSLPVLQVRD	11	25	15	HLA-DRB1*01:04	46,50
QPYVFIKRS DARTAP	66	80	15	HLA-DRB1*01:01	46,56
PVAYRKVLLRKNGNK	115	129	15	HLA-DRB1*11:02	49,69
PVAYRKVLLRKNGNK	115	129	15	HLA-DRB1*13:01	49,69
PVAYRKVLLRKNGNK	115	129	15	HLA-DRB1*13:22	49,69
SLPVLQVRDVLVRGF	17	31	15	HLA-DRB1*11:02	49,77
SLPVLQVRDVLVRGF	17	31	15	HLA-DRB1*13:01	49,77
SLPVLQVRDVLVRGF	17	31	15	HLA-DRB1*13:22	49,77

Célula B (n = 2)

VPGFNEKTH	5	13	9	-	-
EGIQYGRSG	93	101	9	-	-

**APÊNDICE H - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF3A.**

Epítomos preditos da ORF3a					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 53)</i>					
LLYDANYFL	139	147	9	HLA-A*02:01	2,39
YLYALVYFL	107	115	9	HLA-A*02:01	2,72
LLYDANYFL	139	147	9	HLA-A*02:06	4,13
YLYALVYFL	107	115	9	HLA-A*02:06	5,2
FTSDYYQLY	207	215	9	HLA-A*01:01	5,36
TVYSHLLLV	89	97	9	HLA-A*02:06	6,51
ALSKGVHFV	72	80	9	HLA-A*02:01	8,9
VYFLQSINF	112	120	9	HLA-A*23:01	9,38
HVTFFIYNK	227	235	9	HLA-A*11:01	9,47
SASKIITLK	58	66	9	HLA-A*11:01	12,9
TVYSHLLLV	89	97	9	HLA-A*02:01	15,05
LYLYALVYF	106	114	9	HLA-A*23:01	17,32
YFTSDYYQLY	206	215	10	HLA-A*01:01	17,36
RIFTIGTVTLK	6	16	11	HLA-A*03:01	18,01
FLQSINFVRI	114	123	10	HLA-A*02:01	18,1
PLLYDANYFL	138	147	10	HLA-A*02:01	18,25
LLYDANYFLC	139	148	10	HLA-A*02:01	19,51
ALSKGVHFV	72	80	9	HLA-A*02:06	19,86
ALVYFLQSI	110	118	9	HLA-A*02:01	20,25
ALVYFLQSI	110	118	9	HLA-A*02:06	20,69
LYLYALVYFL	106	115	10	HLA-A*02:01	21,5
FVTVYSHLL	87	95	9	HLA-A*02:06	22,59
WQLALSKGV	69	77	9	HLA-A*02:06	22,94
IIMRLWLCWK	123	132	10	HLA-A*03:01	23,96
YLYALVYFLQ	107	116	10	HLA-A*02:01	25,01
ALLAVFQSA	51	59	9	HLA-A*02:06	25,58
LIVGVALLAV	46	55	10	HLA-A*02:06	26,16
WLIVGVALL	45	53	9	HLA-A*02:01	26,18
LVYFLQSINF	111	120	10	HLA-A*23:01	27,3
LYDANYFLCW	140	149	10	HLA-A*23:01	27,31
FTIGTVTLK	8	16	9	HLA-A*11:01	28,45
SYFTSDYYQL	205	214	10	HLA-A*23:01	28,77
FVCNLLLLFV	79	88	10	HLA-A*02:06	29,27

RIFTIGTVTLK	6	16	11	HLA-A*11:01	29,81
QSASKIITLK	57	66	10	HLA-A*11:01	30,36
HTIDGSSGV	247	255	9	HLA-A*02:06	33,16
SASKIITLKK	58	67	10	HLA-A*11:01	33,38
NPLLYDANYFL	137	147	11	HLA-A*02:01	33,59
FVRATATIP	28	37	10	HLA-A*02:06	34,53
LYLYALVYFL	106	115	10	HLA-A*23:01	35,38
IFTIGTVTLK	7	16	10	HLA-A*11:01	35,87
FMRIFTIGTV	4	13	10	HLA-A*02:01	37,8
MDLFMRIFTI	1	10	10	HLA-A*02:01	38,51
YALVYFLQSI	109	118	10	HLA-A*02:01	39,2
IIMRLWLCWK	123	132	10	HLA-A*11:01	40,03
TSDDYYQLY	208	215	8	HLA-A*01:01	40,44
NLLLLFVTV	82	90	9	HLA-A*02:01	41,27
ALLAVFQSA	51	59	9	HLA-A*02:01	42,35
VTVYSHLLL	88	97	10	HLA-A*02:06	42,54
ASKIITLKK	59	67	9	HLA-A*11:01	43,13
FQSASKIITL	56	65	10	HLA-A*02:06	43,45
FVTVYSHLLL	87	97	11	HLA-A*02:06	43,56
ASLPFGWLI	39	47	9	HLA-A*02:06	44,86

HLA-B* (n = 7)

TLKKRWQLAL	64	73	10	HLA-B*08:01	11,65
TLKKRWQL	64	71	8	HLA-B*08:01	17,16
LVAAGLEAPF	96	105	10	HLA-B*15:01	21,11
IPIQASLPF	35	43	9	HLA-B*15:02	22,23
IPIQASLPF	35	43	9	HLA-B*07:02	24,72
VLHSYFTSDY	202	211	10	HLA-B*15:01	27,83
TIPIQASLPF	34	43	10	HLA-B*15:01	32,67

HLA-C* (n = 7)

FVTVYSHLL	87	95	9	HLA-C*03:04	21,2
FVTVYSHLL	87	95	9	HLA-C*03:03	21,2
YYQLYSTQL	211	219	9	HLA-C*07:02	28,73
VAAGLEAPF	97	105	9	HLA-C*03:04	34,83
VAAGLEAPF	97	105	9	HLA-C*03:03	34,83
FTIGTVTL	8	15	8	HLA-C*03:04	46,22
FTIGTVTL	8	15	8	HLA-C*03:03	46,22

MHC-II (n = 136)					
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*01:01	4,84
LKKRWQLALSKGVHVF	65	79	15	HLA-DRB1*01:01	5,37
KRWQLALSKGVHVC	67	81	15	HLA-DRB1*01:01	6,59
TLKKRWQLALSKGVH	64	78	15	HLA-DRB1*01:01	6,84
FTSDYYQLYSTQLST	207	221	15	HLA-DRB1*01:01	8,37
PSDFVRATATIPIQA	25	39	15	HLA-DRB1*01:01	8,90
IPYNSVTSSIVITSG	158	172	15	HLA-DRB1*01:01	9,64
ASKIITLKKRWQLAL	59	73	15	HLA-DRB1*11:02	10,01
ASKIITLKKRWQLAL	59	73	15	HLA-DRB1*13:01	10,01
ASKIITLKKRWQLAL	59	73	15	HLA-DRB1*13:22	10,01
SDFVRATATIPIQAS	26	40	15	HLA-DRB1*01:01	10,09
YFTSDYYQLYSTQLS	206	220	15	HLA-DRB1*01:01	10,15
SKIITLKKRWQLALS	60	74	15	HLA-DRB1*11:02	10,39
SKIITLKKRWQLALS	60	74	15	HLA-DRB1*13:01	10,39
SKIITLKKRWQLALS	60	74	15	HLA-DRB1*13:22	10,39
TSDYYQLYSTQLSTD	208	222	15	HLA-DRB1*01:01	10,52
CIPYNSVTSSIVITS	157	171	15	HLA-DRB1*01:01	10,88
SDYYQLYSTQLSTDT	209	223	15	HLA-DRB1*01:01	11,13
SASKIITLKKRWQLA	58	72	15	HLA-DRB1*11:02	11,32
SASKIITLKKRWQLA	58	72	15	HLA-DRB1*13:01	11,32
SASKIITLKKRWQLA	58	72	15	HLA-DRB1*13:22	11,32
TPSDFVRATATIPIQ	24	38	15	HLA-DRB1*01:01	11,50
RWQLALSKGVHVCN	68	82	15	HLA-DRB1*01:01	11,58
KIITLKKRWQLALSK	61	75	15	HLA-DRB1*11:02	11,70
KIITLKKRWQLALSK	61	75	15	HLA-DRB1*13:01	11,70
KIITLKKRWQLALSK	61	75	15	HLA-DRB1*13:22	11,70
ITLKKRWQLALSKGV	63	77	15	HLA-DRB1*01:01	11,99
YCIPYNSVTSSIVIT	156	170	15	HLA-DRB1*01:01	14,02
QSASKIITLKKRWQL	57	71	15	HLA-DRB1*11:02	14,75
QSASKIITLKKRWQL	57	71	15	HLA-DRB1*13:01	14,75
QSASKIITLKKRWQL	57	71	15	HLA-DRB1*13:22	14,75
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*01:04	14,83
DYYQLYSTQLSTDTG	210	224	15	HLA-DRB1*01:01	15,17
VYSHLLLVAAGLEAP	90	104	15	HLA-DRB1*01:01	15,51
YSHLLLVAAGLEAPF	91	105	15	HLA-DRB1*01:01	15,67
ATPSDFVRATATIPI	23	37	15	HLA-DRB1*01:01	15,81
PSDFVRATATIPIQA	25	39	15	HLA-DRB1*10:01	16,10
SDFVRATATIPIQAS	26	40	15	HLA-DRB1*10:01	17,23

DFVRATATIQASL	27	41	15	HLA-DRB1*01:01	17,30
IITLKKRWQLALSKG	62	76	15	HLA-DRB1*11:02	18,60
IITLKKRWQLALSKG	62	76	15	HLA-DRB1*13:01	18,60
IITLKKRWQLALSKG	62	76	15	HLA-DRB1*13:22	18,60
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*10:01	18,77
PYNSVTSSIVITSGD	159	173	15	HLA-DRB1*01:01	19,60
TPSDFVRATATIQ	24	38	15	HLA-DRB1*10:01	19,64
LKKRWQLALSKGVHVF	65	79	15	HLA-DRB1*01:04	19,78
DYCIPYNSVTSSIVI	155	169	15	HLA-DRB1*01:01	20,28
TVYSHLLLVAAGLEA	89	103	15	HLA-DRB1*01:01	20,57
KRWQLALSKGVHVFVC	67	81	15	HLA-DRB1*01:04	20,83
LKKRWQLALSKGVHVF	65	79	15	HLA-DRB1*10:01	20,96
SHLLLVAAGLEAPFL	92	106	15	HLA-DRB1*01:01	22,68
LLAVFQSASKIITLK	52	66	15	HLA-DRB1*01:01	23,60
FTSDYYQLYSTQLST	207	221	15	HLA-DRB1*10:01	23,90
SYFTSDYYQLYSTQL	205	219	15	HLA-DRB1*01:01	25,20
ALLAVFQSASKIITL	51	65	15	HLA-DRB1*01:01	25,36
ATPSDFVRATATIQ	23	37	15	HLA-DRB1*10:01	25,40
VTYSHLLLVAAGLE	88	102	15	HLA-DRB1*01:01	26,09
FMRIFTIGTVTLKQG	4	18	15	HLA-DRB1*01:01	26,22
LAVFQSASKIITLKK	53	67	15	HLA-DRB1*01:01	26,34
DFVRATATIQASL	27	41	15	HLA-DRB1*10:01	26,94
TLKKRWQLALSKGVH	64	78	15	HLA-DRB1*10:01	27,02
KRWQLALSKGVHVFVC	67	81	15	HLA-DRB1*10:01	27,47
TSDYYQLYSTQLSTD	208	222	15	HLA-DRB1*10:01	28,09
LFMRIFTIGTVTLKQ	3	17	15	HLA-DRB1*01:01	28,30
RWQLALSKGVHVFVCN	68	82	15	HLA-DRB1*01:04	28,64
VYSHLLLVAAGLEAP	90	104	15	HLA-DRB1*10:01	28,67
SDYYQLYSTQLSTDT	209	223	15	HLA-DRB1*10:01	28,83
TLKKRWQLALSKGVH	64	78	15	HLA-DRB1*01:04	28,94
YFTSDYYQLYSTQLS	206	220	15	HLA-DRB1*10:01	29,31
TVYSHLLLVAAGLEA	89	103	15	HLA-DRB1*10:01	29,97
MRIFTIGTVTLKQGE	5	19	15	HLA-DRB1*01:01	30,15
IPYNSVTSSIVITSG	158	172	15	HLA-DRB1*10:01	30,18
VALLAVFQSASKIIT	50	64	15	HLA-DRB1*01:01	31,43
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*11:02	31,45
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*13:01	31,45
KKRWQLALSKGVHVFV	66	80	15	HLA-DRB1*13:22	31,45
YSHLLLVAAGLEAPF	91	105	15	HLA-DRB1*10:01	31,55

YYQLYSTQLSTDTGV	211	225	15	HLA-DRB1*01:01	34,38
FVTVYSHLLLVAAGL	87	101	15	HLA-DRB1*01:01	35,12
CIPYNSVTSSIVITS	157	171	15	HLA-DRB1*10:01	35,52
VTVYSHLLLVAAGLE	88	102	15	HLA-DRB1*10:01	36,65
LFMRIFTIGTVTLKQ	3	17	15	HLA-DRB1*10:01	37,03
DYYQLYSTQLSTDTG	210	224	15	HLA-DRB1*10:01	37,12
WQLALSKGVHFVCNL	69	83	15	HLA-DRB1*01:01	37,74
DLFMRIFTIGTVTLK	2	16	15	HLA-DRB1*10:01	38,13
YFLQSINFVRIIMRL	113	127	15	HLA-DRB1*11:02	38,28
YFLQSINFVRIIMRL	113	127	15	HLA-DRB1*13:01	38,28
YFLQSINFVRIIMRL	113	127	15	HLA-DRB1*13:22	38,28
DLFMRIFTIGTVTLK	2	16	15	HLA-DRB1*01:01	38,34
VYFLQSINFVRIIMR	112	126	15	HLA-DRB1*11:02	38,55
VYFLQSINFVRIIMR	112	126	15	HLA-DRB1*13:01	38,55
VYFLQSINFVRIIMR	112	126	15	HLA-DRB1*13:22	38,55
ITLKKRWQLALSKGV	63	77	15	HLA-DRB1*11:02	38,66
ITLKKRWQLALSKGV	63	77	15	HLA-DRB1*13:01	38,66
ITLKKRWQLALSKGV	63	77	15	HLA-DRB1*13:22	38,66
FMRIFTIGTVTLKQG	4	18	15	HLA-DRB1*10:01	38,68
AVFQSASKIITLKKR	54	68	15	HLA-DRB1*01:01	38,96
LFVTVYSHLLLVAAG	86	100	15	HLA-DRB1*01:01	39,78
KRWQLALSKGVHFVC	67	81	15	HLA-DRB1*11:02	39,99
KRWQLALSKGVHFVC	67	81	15	HLA-DRB1*13:01	39,99
KRWQLALSKGVHFVC	67	81	15	HLA-DRB1*13:22	39,99
YSHLLLVAAGLEAPF	91	105	15	HLA-DRB1*01:04	40,07
RWQLALSKGVHFVCN	68	82	15	HLA-DRB1*11:02	41,23
RWQLALSKGVHFVCN	68	82	15	HLA-DRB1*13:01	41,23
RWQLALSKGVHFVCN	68	82	15	HLA-DRB1*13:22	41,23
GVALAVFQSASKII	49	63	15	HLA-DRB1*01:01	41,78
HLLLVAAGLEAPFLY	93	107	15	HLA-DRB1*01:01	41,82
VYFLQSINFVRIIMR	112	126	15	HLA-DRB1*01:01	41,84
VYSHLLLVAAGLEAP	90	104	15	HLA-DRB1*01:04	42,41
FVRATATIPIQASLP	28	42	15	HLA-DRB1*01:01	42,95
FLQSINFVRIIMRLW	114	128	15	HLA-DRB1*11:02	43,26
FLQSINFVRIIMRLW	114	128	15	HLA-DRB1*13:01	43,26
FLQSINFVRIIMRLW	114	128	15	HLA-DRB1*13:22	43,26
ITLKKRWQLALSKGV	63	77	15	HLA-DRB1*10:01	43,65
SHLLLVAAGLEAPFL	92	106	15	HLA-DRB1*10:01	43,84
LFVTVYSHLLLVAAG	86	100	15	HLA-DRB1*10:01	44,19

YCIPYNSVTSSIVIT	156	170	15	HLA-DRB1*10:01	44,52
LLFVTVYSHLLLVA	85	99	15	HLA-DRB1*01:01	44,69
RIFTIGTVTLKQGEI	6	20	15	HLA-DRB1*01:01	46,37
YALVYFLQSINFVRI	109	123	15	HLA-DRB1*01:01	46,56
LAVFQSASKIITLKK	53	67	15	HLA-DRB1*10:01	46,96
FVTVYSHLLLVAAGL	87	101	15	HLA-DRB1*10:01	47,01
LLAVFQSASKIITLK	52	66	15	HLA-DRB1*10:01	47,43
YYQLYSTQLSTDTGV	211	225	15	HLA-DRB1*10:01	47,98
MRIFTIGTVTLKQGE	5	19	15	HLA-DRB1*10:01	47,99
YDYCIPYNSVTSSIV	154	168	15	HLA-DRB1*01:01	48,19
ALVYFLQSINFVRII	110	124	15	HLA-DRB1*01:01	48,23
SLPFGWLIVGVALLA	40	54	15	HLA-DRB1*10:01	49,22
LKKRWQLALSKGVHF	65	79	15	HLA-DRB1*11:02	49,23
LKKRWQLALSKGVHF	65	79	15	HLA-DRB1*13:01	49,23
LKKRWQLALSKGVHF	65	79	15	HLA-DRB1*13:22	49,23
FQSASKIITLKKRWQ	56	70	15	HLA-DRB1*11:02	49,36
FQSASKIITLKKRWQ	56	70	15	HLA-DRB1*13:01	49,36
FQSASKIITLKKRWQ	56	70	15	HLA-DRB1*13:22	49,36
GVALLAVFQSASKII	49	63	15	HLA-DRB1*10:01	49,39
VGVALLAVFQSASKI	48	62	15	HLA-DRB1*10:01	49,75

Célula B (n = 3)

STQLSTDTGV	216	225	10	-	-
KIITLKKRWQL	61	71	11	-	-
QGEIKDATPSDF	17	28	12	-	-

**APÊNDICE I - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF6.**

Epítomos preditos da ORF6					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
HLA-A* (n = 9)					
FHLVDFQVTI	2	11	10	HLA-A*02:01	13,82
HLVDFQVTI	3	11	9	HLA-A*02:01	18,68
LLIIMRTFK	15	23	9	HLA-A*03:01	22,78
ILLIIMRTFK	14	23	10	HLA-A*03:01	25,01
LIIMRTFKV	16	24	9	HLA-A*02:06	33,6
FQVTIAEIL	7	15	9	HLA-A*02:06	40,25
HLVDFQVTI	3	11	9	HLA-A*02:06	41,91
FHLVDFQVTI	2	11	10	HLA-A*02:06	46,46
LLIIMRTFK	15	23	9	HLA-A*11:01	48,12
MHC-II (n = 65)					
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*01:01	6,56
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*01:01	7,02
EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*01:01	7,86
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*01:04	12,06
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*01:04	12,64
ILLIIMRTFKVSIWN	14	28	15	HLA-DRB1*01:01	13,35
EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*01:04	13,62
TIAEILLIIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*01:01	14,35
LLIIMRTFKVSIWNL	15	29	15	HLA-DRB1*01:01	15,82
IINLIKNLSKSLTE	32	46	15	HLA-DRB1*11:02	19,00
IINLIKNLSKSLTE	32	46	15	HLA-DRB1*13:01	19,00
IINLIKNLSKSLTE	32	46	15	HLA-DRB1*13:22	19,00
YIINLIKNLSKSLT	31	45	15	HLA-DRB1*11:02	20,02
YIINLIKNLSKSLT	31	45	15	HLA-DRB1*13:01	20,02
YIINLIKNLSKSLT	31	45	15	HLA-DRB1*13:22	20,02
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*10:01	20,04
INLIKNLSKSLTEN	33	47	15	HLA-DRB1*11:02	20,98
INLIKNLSKSLTEN	33	47	15	HLA-DRB1*13:01	20,98
INLIKNLSKSLTEN	33	47	15	HLA-DRB1*13:22	20,98
ILLIIMRTFKVSIWN	14	28	15	HLA-DRB1*01:04	22,36
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*10:01	22,48
NLDYIINLIKNLSK	28	42	15	HLA-DRB1*10:01	24,86

EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*10:01	24,88
NLIKNLSKSLTENK	34	48	15	HLA-DRB1*11:02	25,08
NLIKNLSKSLTENK	34	48	15	HLA-DRB1*13:01	25,08
NLIKNLSKSLTENK	34	48	15	HLA-DRB1*13:22	25,08
TIAEILLIIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*01:04	26,02
LLIIMRTFKVSIWNL	15	29	15	HLA-DRB1*01:04	26,45
DYIINLIKNLSKSL	30	44	15	HLA-DRB1*11:02	27,18
DYIINLIKNLSKSL	30	44	15	HLA-DRB1*13:01	27,18
DYIINLIKNLSKSL	30	44	15	HLA-DRB1*13:22	27,18
LDYIINLIKNLSKS	29	43	15	HLA-DRB1*10:01	28,09
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*11:02	28,10
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*13:01	28,10
IAEILLIIMRTFKVS	11	25	15	HLA-DRB1*13:22	28,10
LIKNLSKSLTENKY	35	49	15	HLA-DRB1*11:02	29,69
LIKNLSKSLTENKY	35	49	15	HLA-DRB1*13:01	29,69
LIKNLSKSLTENKY	35	49	15	HLA-DRB1*13:22	29,69
LIIMRTFKVSIWNLD	16	30	15	HLA-DRB1*01:01	31,33
NLDYIINLIKNLSK	28	42	15	HLA-DRB1*01:01	32,37
LDYIINLIKNLSKS	29	43	15	HLA-DRB1*01:01	33,15
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*11:02	33,49
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*13:01	33,49
AEILLIIMRTFKVSI	12	26	15	HLA-DRB1*13:22	33,49
TIAEILLIIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*10:01	33,56
WNLDYIINLIKNLS	27	41	15	HLA-DRB1*10:01	34,33
DYIINLIKNLSKSL	30	44	15	HLA-DRB1*10:01	34,50
DYIINLIKNLSKSL	30	44	15	HLA-DRB1*01:01	34,65
LDYIINLIKNLSKS	29	43	15	HLA-DRB1*11:02	35,05
LDYIINLIKNLSKS	29	43	15	HLA-DRB1*13:01	35,05
LDYIINLIKNLSKS	29	43	15	HLA-DRB1*13:22	35,05
ILLIIMRTFKVSIWN	14	28	15	HLA-DRB1*10:01	37,98
EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*11:02	39,45
EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*13:01	39,45
EILLIIMRTFKVSIW	13	27	15	HLA-DRB1*13:22	39,45
LLIIMRTFKVSIWNL	15	29	15	HLA-DRB1*10:01	40,20
YIINLIKNLSKSLT	31	45	15	HLA-DRB1*01:01	42,05
NLDYIINLIKNLSK	28	42	15	HLA-DRB1*11:02	42,92
NLDYIINLIKNLSK	28	42	15	HLA-DRB1*13:01	42,92
NLDYIINLIKNLSK	28	42	15	HLA-DRB1*13:22	42,92
IWNLDYIINLIKNL	26	40	15	HLA-DRB1*10:01	44,66

TIAEILLIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*11:02	45,25
TIAEILLIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*13:01	45,25
TIAEILLIMRTFKV	10	24	15	HLA-DRB1*13:22	45,25
YIINLIKNLSKSLT	31	45	15	HLA-DRB1*01:04	49,12

Célula B (n = 1)					
LTENKYSQLDEEQP	44	57	14	-	-

LTENKYSQLDEEQP	44	57	14	-	-
----------------	----	----	----	---	---

**APÊNDICE J - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF7AB.**

Epítomos preditos da ORF7a					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 11)</i>					
FAFACPDGV	63	71	9	HLA-A*02:06	7,61
ITLCFTLKRK	110	119	10	HLA-A*11:01	15,51
KLFIRQEEV	85	93	9	HLA-A*02:01	24,25
FLIVAAIVFI	101	110	10	HLA-A*02:01	28,7
ITLCFTLKR	110	118	9	HLA-A*11:01	33,04
FAFACPDGV	63	71	9	HLA-A*02:01	33,12
KIILFLALI	2	10	9	HLA-A*02:06	38,37
QLRARSVSPK	76	85	10	HLA-A*03:01	41,23
FHPLADNKFAL	46	56	11	HLA-A*02:01	42,64
VFITLCFTL	108	116	9	HLA-A*23:01	48,08
ITLCFTLKRK	110	119	10	HLA-A*03:01	48,53
<i>HLA-B* (n = 4)</i>					
GTYEGNSPF	38	46	9	HLA-B*15:01	16,74
SGTYEGNSPF	37	46	10	HLA-B*15:01	37,29
LLKEPCSSGTY	30	40	11	HLA-B*15:01	41,05
RARSVSPKL	78	86	9	HLA-B*07:02	42,97
<i>HLA-C* (n = 2)</i>					
VAAIVFITL	104	112	9	HLA-C*03:04	31,33
VAAIVFITL	104	112	9	HLA-C*03:03	31,33
MHC-II (n = 41)					
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*01:01	7,70
DGVKHHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*01:01	8,23
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*01:01	8,42
KHVYQLRARSVSPKL	72	86	15	HLA-DRB1*01:01	9,37
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*01:04	13,34
PDGVKHHVYQLRARSV	68	82	15	HLA-DRB1*01:01	14,10
HVYQLRARSVSPKLF	73	87	15	HLA-DRB1*01:01	15,06
DGVKHHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*01:04	15,36
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*01:04	15,59
KHVYQLRARSVSPKL	72	86	15	HLA-DRB1*01:04	17,26

PDGVKHVYQLRARSV	68	82	15	HLA-DRB1*01:04	25,57
HVYQLRARSVSPKLF	73	87	15	HLA-DRB1*01:04	29,04
IVFITLCFTLKRKTE	107	121	15	HLA-DRB1*11:02	29,67
IVFITLCFTLKRKTE	107	121	15	HLA-DRB1*13:01	29,67
IVFITLCFTLKRKTE	107	121	15	HLA-DRB1*13:22	29,67
AIVFITLCFTLKRKT	106	120	15	HLA-DRB1*11:02	35,41
AIVFITLCFTLKRKT	106	120	15	HLA-DRB1*13:01	35,41
AIVFITLCFTLKRKT	106	120	15	HLA-DRB1*13:22	35,41
VYQLRARSVSPKLFI	74	88	15	HLA-DRB1*11:02	38,87
VYQLRARSVSPKLFI	74	88	15	HLA-DRB1*13:01	38,87
VYQLRARSVSPKLFI	74	88	15	HLA-DRB1*13:22	38,87
VYQLRARSVSPKLFI	74	88	15	HLA-DRB1*01:01	38,95
DGVKHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*11:02	39,03
DGVKHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*13:01	39,03
DGVKHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*13:22	39,03
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*11:02	39,98
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*13:01	39,98
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*13:22	39,98
KHVYQLRARSVSPKL	72	86	15	HLA-DRB1*11:02	40,83
KHVYQLRARSVSPKL	72	86	15	HLA-DRB1*13:01	40,83
KHVYQLRARSVSPKL	72	86	15	HLA-DRB1*13:22	40,83
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*11:02	43,22
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*13:01	43,22
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*13:22	43,22
HVYQLRARSVSPKLF	73	87	15	HLA-DRB1*11:02	43,61
HVYQLRARSVSPKLF	73	87	15	HLA-DRB1*13:01	43,61
HVYQLRARSVSPKLF	73	87	15	HLA-DRB1*13:22	43,61
DGVKHVYQLRARSVS	69	83	15	HLA-DRB1*10:01	44,83
STQFAFACPDGVKHV	60	74	15	HLA-DRB1*01:01	45,29
GVKHVYQLRARSVSP	70	84	15	HLA-DRB1*10:01	45,52
VKHVYQLRARSVSPK	71	85	15	HLA-DRB1*10:01	46,05

Célula B (n = 1)

LYHYQECVR	17	25	9
-----------	----	----	---

ORF7b**MHC-I****HLA-A* (n = 12)**

SLIDFYLCFL	5	14	10	HLA-A*02:01	5,73
------------	---	----	----	-------------	------

FLAFLLFLV	13	21	9	HLA-A*02:01	6,21
YLCFLAFL	10	18	9	HLA-A*02:01	6,76
SLIDFYLCFL	5	14	10	HLA-A*02:06	8,41
FLAFLLFLV	13	21	9	HLA-A*02:06	11,21
IIFWFSLEL	26	34	9	HLA-A*02:01	18,42
IELSLIDFYL	2	11	10	HLA-A*02:01	19,86
YLCFLAFL	10	18	9	HLA-A*02:06	23,47
IIFWFSLEL	26	34	9	HLA-A*02:06	32,11
LIDFYLCFL	6	14	9	HLA-A*02:06	37,61
FYLCFLAFL	9	18	10	HLA-A*23:01	37,67
SLIDFYLCFLA	5	15	11	HLA-A*02:01	44,84

**APÊNDICE K - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF8.**

Epítomos preditos da ORF8					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 10)</i>					
YIDIGNYTV	73	81	9	HLA-A*02:06	6,79
YIDIGNYTV	73	81	9	HLA-A*02:01	8,07
YVDDPCPI	31	39	9	HLA-A*02:06	10,91
YTVSCLPFTI	79	88	10	HLA-A*02:06	18,81
FLEYHDVRV	108	116	9	HLA-A*02:01	22,17
FLVFLGIITTV	3	13	11	HLA-A*02:01	25,53
FTINCQEPK	86	94	9	HLA-A*11:01	30,15
LVFLGIITTV	4	13	10	HLA-A*02:06	31,0
FLGIITTV	6	13	8	HLA-A*02:01	42,5
FLEYHDVRVV	108	117	10	HLA-A*02:01	46,64
<i>HLA-B* (n = 4)</i>					
LQSCTQHQPYP	22	31	10	HLA-B*15:01	14,79
LGIITTVAAAF	7	16	10	HLA-B*15:01	18,64
GIITTVAAAF	8	16	9	HLA-B*15:01	18,78
IQYIDIGNY	71	79	9	HLA-B*15:01	32,72
<i>HLA-C* (n = 2)</i>					
YVDDPCPI	31	39	9	HLA-C*03:04	29,08
YVDDPCPI	31	39	9	HLA-C*03:03	29,08
MHC-II (n = 39)					
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*01:01	7,56
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*01:01	9,34
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*01:01	9,70
FYSKWYIRVGARKSA	41	55	15	HLA-DRB1*01:01	10,59
VFLGIITTVAAAFHQE	5	19	15	HLA-DRB1*10:01	17,10
LVFLGIITTVAAAFHQ	4	18	15	HLA-DRB1*10:01	17,72
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*10:01	20,71
WYIRVGARKSAPLIE	45	59	15	HLA-DRB1*01:01	22,24
FLVFLGIITTVAAAFH	3	17	15	HLA-DRB1*10:01	22,28
HFYSKWYIRVGARKS	40	54	15	HLA-DRB1*01:01	23,58
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*10:01	24,92

LVFLGIITTVAAFHQ	4	18	15	HLA-DRB1*01:01	26,09
VFLGIITTVAAFHQE	5	19	15	HLA-DRB1*01:01	26,96
FYSKWYIRVGARKSA	41	55	15	HLA-DRB1*10:01	27,34
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*10:01	27,79
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*11:02	28,81
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*13:01	28,81
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*13:22	28,81
MKFLVFLGIITTVA	1	15	15	HLA-DRB1*10:01	29,59
FLVFLGIITTVAAFH	3	17	15	HLA-DRB1*01:01	31,52
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*11:02	34,54
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*13:01	34,54
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*13:22	34,54
KFLVFLGIITTVA	2	16	15	HLA-DRB1*10:01	35,43
FLGIITTVAAFHQEC	6	20	15	HLA-DRB1*10:01	35,43
SKWYIRVGARKSAPL	43	57	15	HLA-DRB1*01:04	40,05
FYSKWYIRVGARKSA	41	55	15	HLA-DRB1*11:02	42,75
FYSKWYIRVGARKSA	41	55	15	HLA-DRB1*13:01	42,75
FYSKWYIRVGARKSA	41	55	15	HLA-DRB1*13:22	42,75
HFYSKWYIRVGARKS	40	54	15	HLA-DRB1*10:01	42,82
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*11:02	44,10
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*13:01	44,10
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*13:22	44,10
KWYIRVGARKSAPLI	44	58	15	HLA-DRB1*01:04	44,27
WYIRVGARKSAPLIE	45	59	15	HLA-DRB1*11:02	46,05
WYIRVGARKSAPLIE	45	59	15	HLA-DRB1*13:01	46,05
WYIRVGARKSAPLIE	45	59	15	HLA-DRB1*13:22	46,05
MKFLVFLGIITTVA	1	15	15	HLA-DRB1*01:01	47,95
YSKWYIRVGARKSAP	42	56	15	HLA-DRB1*01:04	48,82

Célula B (n = 1)					
RVGARKSAP	48	56	9	-	-

**APÊNDICE L - EPÍTOPOS PREDITOS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E
CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF10.**

Epítomos preditos da ORF10					
Peptídeo	Início	Fim	Comprimento	Alelo	IC50 (<50)
MHC-I					
<i>HLA-A* (n = 10)</i>					
GYINVFAFPF	2	11	10	HLA-A*23:01	7,98
NVFAFPFTI	5	13	9	HLA-A*02:06	8,07
NVFAFPFTI	5	13	9	HLA-A*02:01	11,0
FAFPFTIYSL	7	16	10	HLA-A*02:06	24,04
AQVDVVNFNL	28	37	10	HLA-A*02:06	26,83
YINVFAFPFTI	3	13	11	HLA-A*02:01	36,42
INVFAFPFTI	4	13	10	HLA-A*02:06	45,45
TIYSLLLCR	12	20	9	HLA-A*11:01	47,07
YINVFAFPFTI	3	13	11	HLA-A*02:06	49,0
INVFAFPFTI	4	13	10	HLA-A*02:01	49,71
<i>HLA-C* (n = 2)</i>					
FAFPFTIYSL	7	16	10	HLA-C*03:04	6,82
FAFPFTIYSL	7	16	10	HLA-C*03:03	6,82
MHC-II (n = 24)					
PFTIYSLLLCRMNSR	10	24	15	HLA-DRB1*10:01	21,18
FTIYSLLLCRMNSRN	11	25	15	HLA-DRB1*10:01	22,16
SRNYIAQVDVVNFNL	23	37	15	HLA-DRB1*10:01	23,41
RNYIAQVDVVNFNL	24	38	15	HLA-DRB1*10:01	25,72
NSRNYIAQVDVVNFN	22	36	15	HLA-DRB1*10:01	30,45
YSLLLCRMNSRNYIA	14	28	15	HLA-DRB1*11:02	30,68
YSLLLCRMNSRNYIA	14	28	15	HLA-DRB1*13:01	30,68
YSLLLCRMNSRNYIA	14	28	15	HLA-DRB1*13:22	30,68
TIYSLLLCRMNSRNY	12	26	15	HLA-DRB1*10:01	31,00
MNSRNYIAQVDVVNF	21	35	15	HLA-DRB1*10:01	31,59
SLLLCRMNSRNYIAQ	15	29	15	HLA-DRB1*11:02	31,77
SLLLCRMNSRNYIAQ	15	29	15	HLA-DRB1*13:01	31,77
SLLLCRMNSRNYIAQ	15	29	15	HLA-DRB1*13:22	31,77
FPFTIYSLLLCRMNS	9	23	15	HLA-DRB1*10:01	33,11
FTIYSLLLCRMNSRN	11	25	15	HLA-DRB1*01:01	33,95
PFTIYSLLLCRMNSR	10	24	15	HLA-DRB1*01:01	35,02
IYSLLLCRMNSRNYI	13	27	15	HLA-DRB1*11:02	36,44

IYSLLLCRMNSRNYI	13	27	15	HLA-DRB1*13:01	36,44
IYSLLLCRMNSRNYI	13	27	15	HLA-DRB1*13:22	36,44
LLLCRMNSRNYIAQV	16	30	15	HLA-DRB1*11:02	37,62
LLLCRMNSRNYIAQV	16	30	15	HLA-DRB1*13:01	37,62
LLLCRMNSRNYIAQV	16	30	15	HLA-DRB1*13:22	37,62
TIYSLLLCRMNSRNY	12	26	15	HLA-DRB1*01:01	39,71
MGYINVFAFPFTIYS	1	15	15	HLA-DRB1*01:01	43,06

**APÊNDICE M - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA SPIKE (S) MAIS
IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - Proteína spike (S)			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 59)	KWPWYIWLGF	10	0,56424
	VTWFHAIHV	9	0,38925
	YIWLGFIAGL	10	0,38584
	YIWLGFIAGL	10	0,38584
	RSFIEDLLFNK	11	0,3648
	GTHWFVTQR	9	0,35133
	QYIKWPWYIW	10	0,31425
	VTLADAGFIK	10	0,30393
	FVSNGTHWFV	10	0,29638
	FVSNGTHWFV	10	0,29638
	TLADAGFIK	9	0,28158
	ASVYAWNRRK	9	0,28107
	FIAGLIAIV	9	0,27206
	FIAGLIAIV	9	0,27206
	YEQYIKWPWYI	11	0,26832
	SVTTEILPV	9	0,2586
	QYIKWPWYI	9	0,21624
	KLPDDFTGCV	10	0,18796
	KLPDDFTGCV	10	0,18796
	NTQEVFAQV	9	0,17889
	MQMAYRFNGI	10	0,15371
	WTAGAAAYY	9	0,15259
	YLQPRTFLLK	10	0,1338
	YLQPRTFLLK	10	0,1338
	YLQPRTFLL	9	0,1305
	YLQPRTFLL	9	0,1305
	VVFLHVTYV	9	0,1278
	VVFLHVTYV	9	0,1278
	FLHVTYVPA	9	0,11472
	FLHVTYVPA	9	0,11472
	FQFCNDPFLGV	11	0,10889
	FQFCNDPFLGV	11	0,10889
	FELLHAPATV	10	0,1001
	FELLHAPATV	10	0,1001
	KLNDLCFTNV	10	0,0961

	KLNDLCFTNV	10	0,0961
	GVYFASTEK	9	0,09023
	GVYFASTEK	9	0,09023
	ASANLAATK	9	0,08792
	YTNSFTRGVY	10	0,08467
	YQDVNCTEV	9	0,08295
	RASANLAATK	10	0,0611
	FQFCNDPFL	9	0,05737
	FQFCNDPFL	9	0,05737
	YTSALLAGTI	10	0,05218
	LLTDEMIAQY	10	0,05204
	RQIAPGQTGK	10	0,04829
	YTNSFTRGV	9	0,04545
	FTISVTTEI	9	0,04473
	VLNDILSRL	9	0,03
	FVFLVLLPLV	10	0,02996
	LTDEMIAQY	9	0,02757
	VTYVPAQEK	9	0,02711
	VTYVPAQEK	9	0,02711
	NYNLYRLF	9	0,0171
	RLDKVEAEV	9	0,01617
	FIEDLLFNKV	10	0,01196
	TLKSFTVEK	9	0,00741
	TLKSFTVEK	9	0,00741
HLA-B* (n = 12)	WTAGAAAYY	9	0,15259
	FNATRFASV	9	0,14872
	WMESEFRVY	9	0,14153
	YLQPRTFLL	9	0,1305
	AQKFNGLTVL	10	0,12094
	YTNSFTRGVY	10	0,08467
	STQDLFLPF	9	0,06828
	SPRRARSVAS	10	0,05935
	LQPRTFLLKY	10	0,05448
	SPRRARSV	9	0,0402
	SPRRARSV	8	0,01608
	TLLALHRSY	9	0,00244
HLA-C* (n = 17)	SAPHGVVFL	9	0,20405

WTFGAGAAL	9	0,19798
WTFGAGAAL	9	0,19798
IAIPTNFTI	9	0,18523
IAIPTNFTI	9	0,18523
VRFPNITNL	9	0,1748
YQPYRVVVL	9	0,1409
SALEPLVDL	9	0,12371
SALEPLVDL	9	0,12371
AALQIPFAM	9	0,12066
AALQIPFAM	9	0,12066
AAAYYVGYL	9	0,07068
AAAYYVGYL	9	0,07068
IAIVMTIM	9	0,06312
IAIVMTIM	9	0,06312
FTISVTTEI	9	0,04473
FTISVTTEI	9	0,04473

**APÊNDICE N - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DO ENVELOPE
(E) MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - Proteína do envelope (E)			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 11)	FLAFVVFLLV	10	0,30526
	FLAFVVFLL	9	0,30188
	FLAFVVFLL	9	0,30188
	VLLFLAFVV	9	0,26315
	SVLLFLAFVV	10	0,24819
	SVLLFLAFVV	10	0,24819
	VTLAILTAL	9	0,21055
	SVLLFLAFV	9	0,19022
	SVLLFLAFV	9	0,19022
	FLLVTLAIL	9	0,17608
	FLLVTLAIL	9	0,17608
HLA-B* (n = 1)	ILTALRLCAY	10	0,05849
HLA-C* (n = 4)	FVSEETGTL	9	0,23237
	FVSEETGTL	9	0,23237
	LAILTALRL	9	0,12755
	LAILTALRL	9	0,12755

**APÊNDICE O - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DA MEMBRANA
(M) MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - Proteína da membrana (M)			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 40)	KLIFLWLLWPV	11	0,52512
	KLIFLWLLWPV	11	0,52512
	LIFLWLLWPV	10	0,40176
	LIFLWLLWPV	10	0,40176
	FLFLTWICLL	10	0,35364
	FLWLLWPVTL	10	0,31272
	GTITVEELK	9	0,29473
	QWNLVIGFLF	10	0,28076
	WLLWPVTLA	9	0,27363
	LVIGFLFLT	9	0,27318
	LSYFIASFRLF	11	0,2706
	FLWLLWPV	8	0,24909
	FLWLLWPV	8	0,24909
	LWLLWPVTL	9	0,24802
	YSRYRIGNYK	10	0,21736
	LSYFIASFR	9	0,21181
	KLLEQWNLVI	10	0,20872
	SYFIASFRLF	10	0,19632
	LLWPVTLACFV	11	0,18767
	SYFIASFRL	9	0,18333
	KLLEQWNLV	9	0,18092
	KLLEQWNLV	9	0,18092
	GTITVEELKK	10	0,17885
	LYIIKLIFLW	10	0,17392
	GLMWLSYFIA	10	0,16707
	TLACFVLAHV	10	0,15809
	TLACFVLAHV	10	0,15809
	FVLAHVYRI	9	0,13985
	FVLAHVYRI	9	0,13985
	SMWSFNPETNI	11	0,12556
	TLACFVLAA	9	0,12481
	TLACFVLAA	9	0,12481
	RFLYIIKLIF	10	0,11728
	YFIASFRLF	9	0,06887
	FIASFRLFA	9	0,06799

	FIASFRLFA	9	0,06799
	GLMWLSYFI	9	0,06464
	GLMWLSYFI	9	0,06464
	SMWSFNPET	9	0,06248
	MWLSYFIASF	10	0,00197
HLA-B* (n = 7)	FRLFARTRSM	10	0,18626
	WLSYFIASF	9	0,11822
	RLFARTRSM	9	0,11133
	RLFARTRSM	9	0,11133
	RVAGDSGFAAY	11	0,10638
	SQRVAGDSGF	10	0,0305
	MWLSYFIASF	10	0,00197
HLA-C* (n = 6)	FAYANRNRFL	10	0,18826
	FAYANRNRFL	10	0,18826
	FAYANRNRFL	9	0,10537
	FAYANRNRFL	9	0,10537
	ITVATSRTL	9	0,0012
	ITVATSRTL	9	0,0012

APÊNDICE P - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N) MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).

Imunogenicidade classe I - Proteína do nucleocapsídeo (N)			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 12)	NTASWFTAL	9	0,22775
	YKTFPPTEPK	10	0,22336
	AYKTFPPTEPK	11	0,17602
	KTFPPTEPK	9	0,1306
	KTFPPTEPK	9	0,1306
	ATEGALNTPK	10	0,11409
	SSPDDQIGYY	10	0,07924
	GMSRIGMEV	9	0,07018
	ASAFFGMSR	9	0,03154
	KTFPPTEPKK	10	0,01273
	KTFPPTEPKK	10	0,01273
	SASAFFGMSR	10	0,00071
HLA-B* (n = 4)	SPRWYFYLY	9	0,34101
	SPRWYFYLY	9	0,34101
	LKFPRGQGVPI	11	0,0577
	KFPRGQGVPI	10	0,02894
HLA-C* (n = 2)	NTASWFTAL	9	0,22775
	NTASWFTAL	9	0,22775

**APÊNDICE Q - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA NSP1 CONTIDA NA
ORF1AB MAIS IMUNOGÊNICOS (*SCORE* > 0).**

Imunogenicidade classe I - nsP1 da ORF1ab			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 4)	VMVELVAEL	9	0,23373
	VMVELVAEL	9	0,23373
	SLVPGFNEK	9	0,19848
	TLGVLVPHV	9	0,09014
HLA-B* (n = 1)	APHGHVMVEL	10	0,04434
HLA-C* (n = 4)	HSSGVTREL	9	0,15932
	HSSGVTREL	9	0,15932
	RTAPHGHVM	9	0,11636
	RTAPHGHVM	9	0,11636

**APÊNDICE R - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA
ORF3A MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - ORF3a			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 30)	FMRIFTIGTV	10	0,47908
	HVTFFIYNK	9	0,36278
	RIFTIGTVTLK	11	0,3426
	RIFTIGTVTLK	11	0,3426
	ASLPFGWLI	9	0,3116
	IFTIGTVTLK	10	0,28246
	FVRATATIP	10	0,27445
	IIMRLWLCWK	10	0,27346
	IIMRLWLCWK	10	0,27346
	MDLFMRIFTI	10	0,24036
	WLIVGVALL	9	0,18314
	FTIGTVTLK	9	0,18024
	YLYALVYFLQ	10	0,15641
	NLLLLFVTV	9	0,14216
	LLYDANYFLC	10	0,14176
	YLYALVYFL	9	0,13151
	YLYALVYFL	9	0,13151
	LIVGVALLAV	10	0,12886
	LYLYALVYFL	10	0,12412
	LYLYALVYFL	10	0,12412
	LLYDANYFL	9	0,11841
	LLYDANYFL	9	0,11841
	PLLYDANYFL	10	0,11157
	LYDANYFLCW	10	0,10601
	NPLLYDANYFL	11	0,10053
	ASKIITLKK	9	0,0947
	FLQSINFVRI	10	0,09451
	LYLYALVYF	9	0,05302
	SASKIITLK	9	0,01046
	FVCNLLLLFV	10	0,00299
HLA-B* (n = 1)	LVAAGLEAPF	10	0,19506
HLA-C* (n = 4)	FTIGTVTL	8	0,18672
	FTIGTVTL	8	0,18672

VAAGLEAPF	9	0,15679
VAAGLEAPF	9	0,15679

**APÊNDICE S - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA
ORF6 MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - ORF6			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 8)	FQVTIAEIL	9	0,38115
	ILLIIMRTFK	10	0,2388
	LLIIMRTFK	9	0,156
	LLIIMRTFK	9	0,156
	FHLVDFQVTI	10	0,12202
	FHLVDFQVTI	10	0,12202
	HLVDFQVTI	9	0,0982
	HLVDFQVTI	9	0,0982

**APÊNDICE T - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA
ORF7AB MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - ORF7a			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 6)	FLIVAAIVFI	10	0,38946
	KLFIRQEEV	9	0,25628
	KIILFLALI	9	0,16214
	VFITLCFTL	9	0,14219
	FAFACPDGV	9	0,05295
	FAFACPDGV	9	0,05295
HLA-C* (n = 2)	VAAIVFITL	9	0,43202
	VAAIVFITL	9	0,43202
ORF7b			
HLA-A* (n = 12)	IIFWFSLEL	9	0,2683
	IIFWFSLEL	9	0,2683
	YLCFLAFL	9	0,21865
	YLCFLAFL	9	0,21865
	SLIDFYLCFLA	11	0,20669
	FLAFLFLV	9	0,20158
	FLAFLFLV	9	0,20158
	SLIDFYLCFL	10	0,18838
	SLIDFYLCFL	10	0,18838
	FYLCFLAFL	10	0,1745
	LIDFYLCFL	9	0,13386
	IELSLIDFYL	10	0,06625

**APÊNDICE U - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA
ORF8 MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - ORF8			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 7)	FLVFLGIITTV	11	0,46372
	LVFLGIITTV	10	0,37016
	FLGIITTV	8	0,34382
	FLEYHDVRVV	10	0,18854
	YIDIGNYTV	9	0,18759
	YIDIGNYTV	9	0,18759
	FLEYHDVRV	9	0,14624
HLA-B* (n = 3)	LGIITTVAAF	10	0,34746
	IQYIDIGNY	9	0,30442
	GIITTVAAF	9	0,2148

**APÊNDICE V - EPÍTOPOS DE MHC-I PREDITOS DA PROTEÍNA ACESSÓRIA
ORF10 MAIS IMUNOGÊNICOS (SCORE > 0).**

Imunogenicidade classe I - ORF10			
Alelo	Peptídeo	Comprimento	Score
HLA-A* (n = 9)	YINVFAFPFTI	11	0,41658
	YINVFAFPFTI	11	0,41658
	INVFAFPFTI	10	0,39434
	INVFAFPFTI	10	0,39434
	GYINVFAFPF	10	0,32004
	NVFAFPFTI	9	0,30241
	NVFAFPFTI	9	0,30241
	AQVDVVNFNL	10	0,20505
	FAFPFTIYSL	10	0,20414
HLA-B* (n = 2)	FAFPFTIYSL	10	0,20414
	FAFPFTIYSL	10	0,20414

APÊNDICE W - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA *SPIKE* (S). DESCRIÇÃO:

***SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.**

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - Proteína <i>spike</i> (S)			
Alelos	<i>Clusters</i>	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 48)	KWPWYIWLGF	7,11	0,56424
	YLQPRTFLLK ⁺	18,87	0,1338
		45,19	
	SPRRARSVAS	37,41	0,05935
	RSFIEDLLFNK	34,01	0,3648
	VTADAGFIK	23,98	0,30393
	FQFCNDPFLGV ⁺	7,51	0,10889
		39,27	
	VVFLHVTYV ⁺	8,35	0,1278
		17,07	
	ASANLAATK	11,48	0,08792
	YTNSFTRGVY ⁺	33,67	0,08467
		36,2	
	LLTDEMIAQY	13,6	0,05204
	VTWFHAIHV	40,28	0,38925
	YIWLGFIAGL ⁺	23,59	0,38584
		24,96	
	VLNDILSRL	22,77	0,03
	GTHWFVTQR	34,63	0,35133
	FIAGLIAIV ⁺	4,53	0,27206
		6,61	
	KLPDDFTGCV ⁺	36,19	0,18796
		47,78	
	AQKFNGLTVL	40,8	0,12094
	FVSNGTHWV ⁺	8,21	0,29638
		12,74	
	ASVYAWNRRK	29,08	0,28107
	SVTTEILPV	21,89	0,2586
	KLNDLCFTNV ⁺	9,66	0,0961
		30,21	
	NTQEVFAQV	41,58	0,17889
	MQMAYRFNGI	8,64	0,15371

WTAGAAAYY ⁺	18,77	0,15259
	45,69	
FELLHAPATV ⁺	8,28	0,1001
	28,1	
SAPHGVVFL	18,97	0,20405
GVYFASTEK ⁺	9,66	0,09023
	19,15	
YQDVNCTEV	17,65	0,08295
YTSALLAGTI	48,03	0,05218
RQIAPGQTGK	49,65	0,04829
FTISVTTEI ⁺	7,51	0,04473
	12,37	
	12,37	
FVFLVLLPLV	26,47	0,02996
VTYVPAQEK ⁺	16,46	0,02711
	39,21	
NYNYLYRLF	20,52	0,0171
RLDKVEAEV	46,73	0,01617
TLKSFTVEK ⁺	21,6	0,00741
	24,13	
FNATRFASV	38,87	0,14872
WMESEFRVY	25,4	0,14153
STQDLFLPF	48,97	0,06828
TLLALHRSY	44,13	0,00244
WTFGAGAAL ⁺	6,1	0,19798
	6,1	
IAIPTNFTI ⁺	14,99	0,18523
	14,99	
VRFPNITNL	21,58	0,1748
YQPYRVVVL	41,02	0,1409
SALEPLVDL ⁺	37,72	0,12371
	37,72	
AALQIPFAM ⁺	40,36	0,12066
	40,36	
AAAYYVGYL ⁺	49,43	0,07068
	49,43	
IAIVMTIM ⁺	38,83	0,06312
	38,83	

MHC-II – HLA-DRB1* (n = 23)	TGRLQSLQTYVTQQL ⁺	12,03	-
		22,60	
		33,10	
	QIPFAMQMAYRFNGI ⁺	5,95	-
		13,02	
		17,66	
		30,45	
		30,45	
		30,45	
	AYRFNGIGVTQNVLY	15,25	-
	NITRFQTLLALHRSY ⁺	11,16	-
		16,16	
		17,39	
		34,93	
		34,93	
		34,93	
	AQKFNGLTVLPPLT ⁺	9,57	-
		12,13	
		39,85	
	SNVTWFHAIHVSGTN	20,37	-
	IIAYTMSLGAENSV ⁺	7,80	-
		10,93	
	VVLSFELLHAPATV ⁺	4,65	-
		10,19	
		31,36	
	SSNFGAISSVLNDIL ⁺	9,56	-
		11,70	
	QGFSALEPLVDLPIG	17,83	-
	QSLIVNNATNVVIK ⁺	16,75	-
		16,75	
		16,75	
		43,00	
	VNFNFNGLTGTGVLT	6,25	-
	VADYSVLYNSASFST ⁺	13,57	-
		14,74	
	NYLYRLFRKSNLKP ⁺	36,01	-
		36,01	
		36,01	
	TRFASVYAWNRRKRIS ⁺	29,72	-

		29,72	
		29,72	
	IAQYTSALLAGTITS	23,65	-
	HGVVFLHVTYVPAQE	29,60	-
	YYVGYLQPRTFLLKY ⁺	14,11	-
		42,05	
	TSNFRVQPTEIVRF ⁺	10,06	-
		19,04	
		41,35	
	FGGFNFSQILPDPSK	24,71	-
	EVQIDRLITGRLQSL	39,42	-
	LLQYGSFCTQLNRAL	31,29	-
	GWTFGAGAALQIPFA	16,39	-
Célula B (n = 8)	GQSKRVDFC	-	-
	TPGDSSSGWTA	-	-
	RVYSTGNSNVFQ	-	-
	VNNSYECDIPI	-	-
	RNFYEPQIITD	-	-
	MDLEGKQGNFKNL	-	-
	KQIYKTPPIKDFGGF	-	-
	LADAGFIKQYGDCLG	-	-

APÊNDICE X - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO ENVELOPE (E).

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - Proteína do envelope (E)			
Alelos	<i>Clusters</i>	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 5)	VLLFLAFVV	30,41	0,26315
	VTLAILTAL	35,21	0,21055
	FLAFVVFLLV	33,3	0,30526
	FLLVTLAIL ⁺	14,58	0,17608
		38,97	
	FVSEETGTL ⁺	13,54	0,23237
		13,54	
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 3)	SFYVYSRVKLNSSR ⁺	13,54	-
		17,37	
	VTLAILTALRLCAYC ⁺	21,12	-
		30,19	
	MYSFVSEETGTLIVN	25,29	-
Célula B (n = 1**)	YVYSRVKLNSSRVP	-	-

APÊNDICE Y - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE CLUSTERS DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DA MEMBRANA (M).

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - Proteína da membrana (M)			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 15)	LSYFIASFRLF	38,12	0,2706
	KLIFLWLLWPV ⁺	15,85	0,52512
		24,93	
	KLLEQWNLVI	23,15	0,20872
	LYIIKLIFLW	27,82	0,17392
	QWNLVIGFLF	18,57	0,28076
	GTITVEELK	31,09	0,29473
	TLACFVLAHV ⁺	11,53	0,15809
		16,63	
	SMWSFNPETNI	43,25	0,12556
	FRLFARTRSM	44,59	0,18626
	RVAGDSGFAAY	38,32	0,10638
	FAYANRNRFL ⁺	20,09	0,18826
		20,09	
	FLFTWICLL	16,42	0,35364
	YSRYRIGNYK	23,14	0,21736
	FVLAHVYRI ⁺	4,5	0,13985
		9,17	
	ITVATSRTL ⁺	16,61	0,0012
		16,61	
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 8)	VYRINWITGGIAIAM ⁺	13,00	-
		33,21	
		39,77	
	VTLACFVLAHVYRIN	35,97	-
	FRLFARTRSMWSFNP ⁺	16,93	-
		20,08	
		44,00	
		44,00	
		44,00	
	AVILRGHLRIAGHHL ⁺	19,86	-
		19,86	

		19,86	
	MWSFNPETNILLNVP	21,50	-
	ICLLQFAYANRNRFL ⁺	10:56	-
		14:41	
		27:06	
		31,72	
		31,72	
		31,72	
	TLSYYKLGASQRVAG ⁺	4,39	-
		18,71	
		19,24	
	PKEITVATSRTLSTYY ⁺	8,87	-
		18,01	
		23,84	
		23,84	
		23,84	
Célula B (n = 1**)	KLASQRVAGDS	-	-

**APÊNDICE Z - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO (N).
 DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.**

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - Proteína do nucleocapsídeo (N)			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 8)	YKTFPTEPK	22,96	0,22336
	ASAFFGMSR	14,81	0,03154
	LKFPRGQGVPI	34,93	0,0577
	NTASWFTAL ⁺	35,67	0,22775
		35,67	
		41,91	
	ATEGALNTPK	23,09	0,11409
	SSPDDQIGYY	21,74	0,07924
	GMSRIGMEV	46,4	0,07018
	SPRWYFYLL ⁺	8,33	0,34101
		40,72	
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 10)	QVILLNKHIDAYKTF ⁺	29,12	-
		29,12	
		29,12	
	QQTVTLLPAADLDDF ⁺	14:23	-
		35,46	
	NAAIVLQLPQGTTLP ⁺	23,39	-
		32,46	
		47,94	
	RWYFYLLGTGPEAGL ⁺	15,99	-
		17,03	
	KDGIIWVATEGALNT ⁺	27,22	-
		32,57	
	DQIGYYRRATRRIRG ⁺	22,83	-
		22,83	
		22,83	
	GTWLTYTGAIKLDDK	25,38	-
	NTASWFTALTQHGKE ⁺	27,77	-
		39,63	
	WPQIAQFAPSASAFF ⁺	37,29	-
		49,32	

	LLDRLNQLESKMSGK	36,02	-
Célula B (n = 3)	AGLPYGANK	-	-
	NGPQNQRNAPRI	-	-
	SKQLQQSMSSADS	-	-

APÊNDICE AA - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA NSP1 CONTIDA NA ORF1AB. DESCRIÇÃO:

***SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.**

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - nsP1 – ORF1ab			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 5)	RTAPHGHVM ⁺	10,48	0,11636
		10,48	
	VMVELVAEL ⁺	10,56	0,23373
		20,53	
	SLVPGFNEK	26,15	0,19848
	TLGVLVPHV	31,99	0,09014
	HSSGVIREL*	46,84	0,15932
		46,84	
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 3)	EKTHVQLSLPVLQVR ⁺	22,20	
		25,90	-
		39,80	
	VGEIPVAYRKVLLRK ⁺	29,33	-
		29,33	
		29,33	
	PYVFIKRS DARTAPH	37,05	-
Célula B (n = 2)	VPGFNEKTH	-	-
	EGIQYGRSG	-	-

APÊNDICE BB - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF3A.

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - ORF3a			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A*, B* e C* (n = 12)	FMRIFTIGTV	37,8	0,47908
	LLYDANYFLC	19,51	0,14176
	YLYALVYFLQ	25,01	0,15641
	WLIVGVALL	26,18	0,18314
	NLLLLFVTV	41,27	0,14216
	ASKIITLKK	43,13	0,0947
	LVAAGLEAPF	21,11	0,19506
	FVRATATIPi	34,53	0,27445
	HVTFFIYNK	9,47	0,36278
	ASLPFGWLI	44,86	0,3116
	IIMRLWLCWK ⁺	23,96	0,27346
		40,03	
	FLQSINFVRI	18,1	0,09451
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 8)	KKRWQLALSKGVHFV ⁺		4,84
			14,83
			18,77
			31,45
			31,45
			31,45
	VYSHLLLVAAGLEAP ⁺		15,51
			28,67
			42,41
	FTSDYYQLYSTQLST ⁺		8,37
			23,90
	PSDFVRATATIPiQA ⁺		8,90
			16,10
	IPYNSVTSSIVITSG ⁺		9,64
			30,18
	FMRIFTIGTVTLKQG ⁺		26,22
			38,68
	YFLQSINFVRIIMRL ⁺		38,28

			38,28
			38,28
	SLPFGWLIVGVALLA		49,22
Célula B (n = 3)	STQLSTDTGV	-	-
	KIITLKKRWQL	-	-
	QGEIKDATPSDF	-	-

APÊNDICE CC - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF6.

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares - ORF6			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLA-A* (n = 3)	ILLIIMRTFK	25,01	0,2388
	FHLVDFQVTI ⁺	13,82	0,12202
		46,46	
	FQVTIAEIL	40,25	0,38115
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 2)	IINLIKNLSKSLTE ⁺	19,00	-
		19,00	
		19,00	
	IAEILLIIMRTFKVS ⁺	6,56	-
		12,06	
		20,04	
		28,10	
		28,10	
		28,10	
Célula B (n = 1 ^{**})	LTENKYSQLDEEQP	-	-

APÊNDICE DD - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF7AB.

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares – ORF7ab			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
<i>ORF7a</i>	VAAIVFITL	31,33	0,43202
MHC-I – HLAs-A* e C* (n = 5)	KLFIRQEEV	24,25	0,25628
	KIILFLALI	38,37	0,16214
	VFITLCFTL	48,08	0,14219
	FAFACPDGV ⁺	7,61	0,05295
		33,12	
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 3)	VKHVVQLRARSVSPK ⁺	7,70	-
		13,34	
		39,98	
		39,98	
		39,98	
		46,05	
	IVFITLCFTLKRKTE ⁺	29,67	-
		29,67	
		29,67	
	STQFAFACPDGVKHV	45,29	-
Célula B (n = 1*)	LYHYQECVR	-	-
<i>ORF7b</i>	YLCFLAFLL ⁺	6,76	0,21865
MHC-I – HLAs-A* (n = 3)		23,47	
	IIFWFSLEL ⁺	18,42	0,2683
		32,11	
	FLAFLLFLV ⁺	6,21	0,20158
		11,21	

APÊNDICE EE - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF8.

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares – ORF8			
Alelos	Clusters	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A* e B* (n = 3)	FLVFLGIITTV	25,53	0,46372
	FLEYHDVRVV	46,64	0,18854
	IQYIDIGNY	32,72	0,30442
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 2)	SKWYIRVGARKSAPL ⁺	7,56	-
		20,71	
		34,54	
		34,54	
		34,54	
		40,05	
	VFLGIITTVAAFHQE ⁺	17,10	-
		26,96	
Célula B (n = 1*)	RVGARKSAP	-	-

APÊNDICE FF - EPÍTOPOS REPRESENTANTES DE *CLUSTERS* DE CÉLULAS T (MHC-I E MHC-II) E CÉLULAS B DA PROTEÍNA ACESSÓRIA ORF10.

DESCRIÇÃO: *SUBTIPO DE HLA; **NÃO PRECISOU AGRUPAR PORQUE SÓ TEM UM EPÍTOPO; +EPÍTOPO CAPAZ DE SE LIGAR A MAIS DE UM ALELO.

Grupos (<i>clusters</i>) de epítomos de sequências similares – ORF10			
Alelos	<i>Clusters</i>	IC50	Imunogenicidade score
MHC-I – HLAs-A* (n = 2)	YINVFAFPFTI ⁺	36,42	0,41658
		49,0	
	AQVDVVFNFNL	26,83	0,20505
MHC-II – HLA-DRB1* (n = 3)	PFTIYSLLLCRMNSR ⁺	21,18	
		35,02	-
	SRNYIAQVDVVFNFNL	23,41	-
	MGYINVFAFPFTIYS	43,06	-

**APÊNDICE GG - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA
SPIKE (S) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS
DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.**

Proteína spike (S) – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
Classe I (n = 23)	KWPWYIWLGF	10	HLA-A*23:01	7,11	1,47	11	5,43%
			HLA-A*03:01	18,87	-0,26	22,5	
	YLQPRTFLLK	10	HLA-A*11:01	45,19	-0,54	42,7	30,92%
	RSFIEDLLFNK	11	HLA-A*11:01	34,01	-0,41	73,7	15,53%
	VTLADAGFIK	10	HLA-A*11:01	23,98	-0,27	31,5	15,53%
			HLA-A*02:06	8,35	0,10	10,8	
	VVFLHVITYV	9	HLA-A*02:01	17,07	-0,16	20	40,60%
	LLTDEMIAQY	10	HLA-A*01:01	13,6	1,33	12,1	17,34%
			HLA-A*02:01	23,59	0,32	34	
	YIWLGFIAGL	10	HLA-A*02:06	24,96	0,33	32,7	40,60%
			HLA-A*02:06	36,19	-0,51	46	
	KLPDDFTGCV	10	HLA-A*02:01	47,78	-0,68	67,8	40,60%
	SVTTEILPV	9	HLA-A*02:06	21,89	-0,28	19,5	1,95%
			HLA-A*02:01	9,66	0,13	13,9	
	KLNDLCFTNV	10	HLA-A*02:06	30,21	-0,23	32	40,60%
	NTQEVFAQV	9	HLA-A*02:06	41,58	-0,75	78,4	1,95%
	MQMAYRFNGI	10	HLA-A*02:06	8,64	0,65	6,9	1,95%
			HLA-A*02:01	8,28	-0,14	21,1	
	FELLHAPATV	10	HLA-A*02:06	28,1	-0,51	49,6	40,60%
	SAPHGVVFL	9	HLA-C*01:02	18,97	-1,15	1685	10,51%
	YTSALLAGTI	10	HLA-A*02:06	48,03	-0,29	48,9	1,95%
	FTISVTTEI	9	HLA-A*02:06	7,51	0,36	7	21,89%
			HLA-C*03:04	12,37	0,19	10,2	
			HLA-C*03:03	12,37	0,19	10,2	
	RLDKVEAEV	9	HLA-A*02:01	46,73	-0,55	54,1	39,08%
	TLKSFTVEK	9	HLA-A*11:01	21,6	0,03	20,5	30,92%
			HLA-A*03:01	24,13	-0,22	36	
	VRFPNITNL	9	HLA-C*06:02	21,58	0,37	45,5	15,52%
	YQPYRVVVL	9	HLA-C*01:02	41,02	-1,02	1725,6	10,51%
	SALEPLVDL	9	HLA-C*03:04	37,72	0,08	56,6	20,33%
			HLA-C*03:03	37,72	0,08	56,6	
	AALQIPFAM	9	HLA-C*03:04	40,36	-0,35	29,1	20,33%
			HLA-C*03:03	40,36	-0,35	29,1	
	AAAYYVGYL	9	HLA-C*03:04	49,43	0,09	38,6	20,33%

			HLA-C*03:03	49,43	0,09	38,6	
			Conjunto				86,58%
Class II (n = 14)	TGRLQSLQTYVTQQL	15	HLA-DRB1*01:01	12,03	-	-	13,99%
			HLA-DRB1*01:04	33,10			
			HLA-DRB1*10:01	22,60			
	QIPFAMQMAYRFNGI	15	HLA-DRB1*01:04	13,02	-	-	22,94%
			HLA-DRB1*01:01	5,95			
			HLA-DRB1*10:01	17,66			
			HLA-DRB1*11:02	30,45			
			HLA-DRB1*13:01	30,45			
			HLA-DRB1*13:22	30,45			
	AYRFNGIGVTQNVLY	15	HLA-DRB1*10:01	15,25	-	-	2,59%
	VVLSFELLHAPATV	15	HLA-DRB1*01:01	4,65	-	-	13,99%
			HLA-DRB1*10:01	10,19			
			HLA-DRB1*01:04	31,36			
	SSNFGAISSVLNDIL	15	HLA-DRB1*10:01	9,56	-	-	13,97%
			HLA-DRB1*01:01	11,70			
	QGFSALEPLVDLPIG	15	HLA-DRB1*10:01	17,83	-	-	2,59%
	QSLIVNNATNVVIK	15	HLA-DRB1*11:02	16,75	-	-	9,69%
			HLA-DRB1*13:01	16,75			
			HLA-DRB1*13:22	16,75			
			HLA-DRB1*01:04	43,00			
	VNFNFNGLTGTGVL	15	HLA-DRB1*01:01	6,25	-	-	11,53%
	IAQYTSALLAGTITS	15	HLA-DRB1*10:01	23,65	-	-	2,59%
	YYVGYLQPRTFLLKY	15	HLA-DRB1*01:01	14,11	-	-	11,55%
			HLA-DRB1*01:04	42,05			
	TSNFRVQPTESIVRF	15	HLA-DRB1*01:01	10,06	-	-	13,99%
			HLA-DRB1*10:01	19,04			
			HLA-DRB1*01:04	41,35			
	FGGFNFSQILPDPSK	15	HLA-DRB1*10:01	24,71	-	-	2,59%
	EVQIDRLITGRLQSL	15	HLA-DRB1*01:04	39,42	-	-	0,02%
	LLQYGSFCTQLNRAL	15	HLA-DRB1*10:01	31,29	-	-	2,59%
			Conjunto				22,94%

**APÊNDICE HH - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA
DA MEMBRANA (M) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS
LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.**

Proteína de membrana (M) – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
Classe I (n = 15)	LSYFIASFRLF	11	HLA-A*23:01	38,12	1,07	23	5,43%
	KLIFLWLLWPV	11	HLA-A*02:01	15,85	-0,14	12,8	40,60%
			HLA-A*02:06	24,93	-0,34	20,5	
	KLLEQWNLVI	10	HLA-A*02:01	23,15	0,10	38,8	39,08%
	LYIIKLIFLW	10	HLA-A*23:01	27,82	0,28	21,8	5,43%
	QWNLVIGFLF	10	HLA-A*23:01	18,57	0,75	28,8	5,43%
	GTITVEELK	9	HLA-A*11:01	31,09	-0,39	35,5	15,53%
	TLACFVLAAY	10	HLA-A*02:01	11,53	-0,14	15,2	40,60%
			HLA-A*02:06	16,63	-0,30	22,2	
	SMWSFNPETNI	11	HLA-A*02:01	43,25	-0,50	108,3	39,08%
	FRLFARTRSM	10	HLA-B*08:01	44,59	-0,47	39,6	10,55%
	RVAGDSGFAAY	11	HLA-B*15:01	38,32	0,52	138,1	8,44%
	FAYANRNRFL	10	HLA-C*03:04	20,09	0,58	38,5	20,33%
			HLA-C*03:03	20,09	0,58	38,5	
	FLFTWICLL	10	HLA-A*02:01	16,42	0,62	17,5	39,08%
	YSRYRIGNYK	10	HLA-A*11:01	23,14	-0,35	21,4	15,53%
	FVLAAYRI	9	HLA-A*02:06	4,5	0,74	5,6	40,60%
			HLA-A*02:01	9,17	0,45	11	
	ITVATSRTL	9	HLA-C*03:04	16,61	0,56	30,1	20,33%
			HLA-C*03:03	16,61	0,56	30,1	
						Conjunto	71,53%
Classe II (n = 6)	VTLACFVLAAYRIN	15	HLA-DRB1*01:01	35,97	-	-	11,53%
	FRLFARTRSMWSFNP	15	HLA-DRB1*10:01	16,93	-	-	22,93%
			HLA-DRB1*01:01	20,08			
			HLA-DRB1*11:02	44,00			
			HLA-DRB1*13:01	44,00			
			HLA-DRB1*13:22	44,00			
	MWSFNPETNILLNVP	15	HLA-DRB1*01:01	21,50	-	-	11,53%
	ICLLQFAYANRNRFL	15	HLA-DRB1*10:01	10,56	-	-	22,94%
			HLA-DRB1*01:01	14,41			
			HLA-DRB1*01:04	27,06			
			HLA-DRB1*11:02	31,72			
			HLA-DRB1*13:01	31,72			
			HLA-DRB1*13:22	31,72			

TLSYYKLGASQRVAG	15	HLA-DRB1*01:01	4,39	-	-	13,99%
		HLA-DRB1*10:01	18,71			
		HLA-DRB1*01:04	19,24			
PKEITVATSRTLSTYY	15	HLA-DRB1*01:01	8,87	-	-	20,64%
		HLA-DRB1*01:04	18,01			
		HLA-DRB1*11:02	23,84			
		HLA-DRB1*13:01	23,84			
		HLA-DRB1*13:22	23,84			
Conjunto						22,94%

**APÊNDICE II - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA
DO NUCLEOCAPSÍDEO (N) COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS
LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.**

Proteína do nucleocapsídeo (N) – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
Classe I (n = 6)	ASAFFGMSR	9	HLA-A*11:01	14,81	0,45	13,7	15,53%
	LKFPRGQGVPI	11	HLA-B*07:02	34,93	-0,34	55,6	12,78%
	NTASWFTAL	9	HLA-A*02:06	41,91	0,05	73,2	21,89%
			HLA-C*03:04	35,67	0,13	60,5	
			HLA-C*03:03	35,67	0,13	60,5	
	ATEGALNTPK	10	HLA-A*11:01	23,09	-0,84	35,2	15,53%
	GMSRIGMEV	9	HLA-A*02:01	46,4	-0,74	52,6	39,08%
	SPRWYFYLL	9	HLA-B*07:02	8,33	0,76	15,7	22,61%
			HLA-B*08:01	40,72	0,55	25,5	
						Conjunto	70,66%
Classe II (n = 6)	NAAIVLQLPQGTTLP	15	HLA-DRB1*01:01	23,39	-	-	13,99%
			HLA-DRB1*01:04	32,46			
			HLA-DRB1*10:01	47,94			
	KDGIWVATEGALNT	15	HLA-DRB1*10:01	27,22	-	-	13,97%
			HLA-DRB1*01:01	32,57			
	DQIGYYRRATRRIRG	15	HLA-DRB1*11:02	22,83	-	-	9,68%
			HLA-DRB1*13:01	22,83			
			HLA-DRB1*13:22	22,83			
	GTWLTYTGAIKLDDK	15	HLA-DRB1*01:01	25,38	-	-	11,53%
	NTASWFTALTQHGKE	15	HLA-DRB1*10:01	27,77	-	-	13,97%
			HLA-DRB1*01:01	39,63			
	WPQIAQFAPSASAFF	15	HLA-DRB1*10:01	37,29	-	-	13,97%
HLA-DRB1*01:01			49,32				
						Conjunto	22,94%

**APÊNDICE JJ - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA PROTEÍNA
NÃO-ESTRUTURAL 1 (NSP1) DA ORF1AB COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM
RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS DO SARS-COV-2.**

ORF1ab - nsP1 – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
Classe I (n = 3)	SLVPGFNEK	9	HLA-A*11:01	26,15	-0,24	26,4	15,53%
	TLGVLVPHV	9	HLA-A*02:01	31,99	-0,41	30,8	39,08%
	HSSGVTREL	9	HLA-C*03:04	46,84	-0,23	139,3	20,33%
			HLA-C*03:03	46,84	-0,23	139,3	
						Conjunto	61,01%
Classe II (n = 3)	EKTHVQLSLPVLQVR	15	HLA-DRB1*01:01	22,20	-	-	13,99%
			HLA-DRB1*10:01	25,90			
			HLA-DRB1*01:04	39,80			
	VGEIPVAYRKVLLRK	15	HLA-DRB1*11:02	29,33	-	-	9,68%
			HLA-DRB1*13:01	29,33			
			HLA-DRB1*13:22	29,33			
	PYVFIKRSDARTAPH	15	HLA-DRB1*01:01	37,05	-	-	11,53%
						Conjunto	22,94%

**APÊNDICE KK - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF3A
COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS
DO SARS-COV-2.**

ORF3a – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
Classe I (n = 10)	FMRIFTIGTV	10	HLA-A*02:01	37,8	-0,56	56,3	39,08%
	LLYDANYFLC	10	HLA-A*02:01	19,51	-0,30	19,3	39,08%
	YLYALVYFLQ	10	HLA-A*02:01	25,01	-0,10	17,5	39,08%
	WLIVGVALL	9	HLA-A*02:01	26,18	0,37	31	39,08%
	NLLLLFVTV	9	HLA-A*02:01	41,27	-0,37	71,3	39,08%
	ASKIITLKK	9	HLA-A*11:01	43,13	-0,50	52,9	15,53%
	FVRATATIP	10	HLA-A*02:06	34,53	-0,55	37,3	1,95%
	HVTFFIYNK	9	HLA-A*11:01	9,47	-0,30	14,9	15,53%
	IIMRLWLCWK	10	HLA-A*03:01	23,96	-0,17	17,8	30,92%
			HLA-A*11:01	40,03	-0,26	21,8	
	FLQSINFVRI	10	HLA-A*02:01	18,1	-0,14	29,8	39,08%
						Conjunto	63,78%
Classe II (n = 3)	FTSDYYQLYSTQLST	15	HLA-DRB1*01:01	8,37	-	-	13,97%
			HLA-DRB1*10:01	23,90			
			HLA-DRB1*01:01	26,22			
	FMRIFTIGTVTLKQG	15	HLA-DRB1*10:01	38,68	-	-	13,97%
			HLA-DRB1*11:02	38,28			
			HLA-DRB1*13:01	38,28			
	YFLQSINFVRIIMRL	15	HLA-DRB1*13:22	38,28	-	-	9,68%
						Conjunto	22,93%

**APÊNDICE MM - COBERTURA POPULACIONAL DOS EPÍTOPOS DA ORF7AB
COM 100% DE CONSERVAÇÃO EM RELAÇÃO ÀS LINHAGENS DESCOBERTAS
DO SARS-COV-2.**

ORF7ab – Cobertura populacional							
Conservação (100%)							
MHC	Clusters	Comprimento	Alelos	IC50	Score total de processamento	IC50 de processamento	Cobertura populacional
ORF7a							
Classe I (n = 5)	VAAIVFITL	9	HLA-C*03:04	31,33	0,23	75	20,33%
			HLA-C*03:03	31,33	0,23	75	
	KLFIRQEEV	9	HLA-A*02:01	24,25	-0,35	36,5	39,08%
	KIILFLALI	9	HLA-A*02:06	38,37	-0,15	42,3	1,95%
	VFITLCFTL	9	HLA-A*23:01	48,08	0,36	43,6	5,43%
	FAFACPDGV	9	HLA-A*02:06	7,61	0,21	9,1	40,60%
			HLA-A*02:01	33,12	-0,54	51,4	
						Conjunto	56,00%
Classe II							
(n = 1)	STQFAFACPDGVKHV	15	HLA-DRB1*01:01	45,29	-	-	11,53%
						Conjunto	11,53%
ORF7b							
Classe I (n = 3)	YLCFLAFL	9	HLA-A*02:01	6,76	0,83	7,9	40,60%
			HLA-A*02:06	23,47	0,35	24	
	IIFWFSLEL	9	HLA-A*02:01	18,42	1,01	15,7	40,60%
			HLA-A*02:06	32,11	0,66	35,5	
	FLAFLFLV	9	HLA-A*02:01	6,21	0,16	6,1	40,60%
			HLA-A*02:06	11,21	-0,07	10,5	
						Conjunto	40,60%

CURRICULUM VITAE (LATTES)

Maria da Conceição Viana Invenção

Curriculum Vitae

Fevereiro/2022

Maria da Conceição Viana Invenção

Curriculum Vitae

Nome civil

Nome Maria da Conceição Viana Invenção

Dados pessoais

Nome em citações bibliográficas INVENÇÃO, M. C. V.; INVENÇÃO, MARIA DA CONCEIÇÃO VIANA

Sexo Feminino

Cor ou Raça Branca

Filiação Antonio Rodrigues da Invenção e Jocélia Ferreira Viana Invenção

Nascimento 27/11/1996 - Aracaju/SE - Brasil

Carteira de Identidade 33015058 SSP - SE - 15/01/2010

CPF 052.790.315-93

Endereço residencial RUA: MAJOR JOÃO RIBEIRO PINHEIRO, 245 - CONDOMÍNIO
CIDADES DO MUNDO III
VÁRZEA - Recife
50740170, PE - Brasil
Telefone: 79 9999644677
Celular 079 999644697

Endereço profissional Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas,
Departamento de Genética
Avenida Professor Moraes Rego - Laboratório Central da UFPE
(LABCEN - UFPE) - Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia
Experimental (LEMTE)
Cidade Universitária - Recife
50740465, PE - Brasil
Telefone: 81 21267825

Endereço eletrônico

E-mail para contato: mdconceicaovi@outlook.com

Formação acadêmica/titulação

- 2020** Mestrado em Programa de Pós-graduação em Genética.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Construções de antígenos a partir de predição computacional como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2.
Orientador: Antonio Carlos de Freitas
Co-orientador: Marcus Vinicius de Aragão Batista e Anna Jéssica D. Silva
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Palavras-chave: SARS-CoV-2 , Epítomos, Estratégia vacinal
Áreas do conhecimento: Genética, Imunoinformática, Vacinologia
- 2015 - 2019** Graduação em Ciências Biológicas.
Universidade Federal de Sergipe, UFS, Sao Cristovao, Brasil
Título: Avaliação da relação entre a aprendizagem de conhecimentos prévios e a compreensão dos conteúdos de genética
Orientador: Marcus Vinicius de Aragão Batista
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- 2012 - 2014** Ensino Médio (2o grau) .
Colégio José Augusto Vieira, CJAV, Brasil, Ano de obtenção: 2014

Formação complementar

- 2021 - 2021** Curso de curta duração em Introdução à Bioinformática com o Sars-Cov-2. (Carga horária: 4h).
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, Vitoria Da Conquista, Brasil
Palavras-chave: Bioinformática, COVID-19
- 2021 - 2021** Curso de curta duração em Análise de expressão gênica por PCR em tempo real. (Carga horária: 3h).
Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Palavras-chave: RT-PCR
- 2021 - 2021** Curso de curta duração em Biotecnologia de Vacinas. (Carga horária: 3h).

Universidade Federal do Vale do São Francisco, UNIVASF, Petrolina, Brasil
 Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Palavras-chave: Vacinas

- 2021 - 2021** Curso de curta duração em GENÉTICA - Análise de expressão gênica por PCR quantitativa em tempo real. (Carga horária: 3h).
 Sociedade Brasileira de Genética, SBG, Ribeirão Preto, Brasil
Palavras-chave: RT-PCR
- 2020 - 2020** Curso de curta duração em Soluções biotecnológicas aplicadas às ações de enfrentamento à COVID-19. (Carga horária: 45h).
 Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Palavras-chave: COVID-19 , Biotecnologia , Bioinformática

Atuação profissional

1. Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Vínculo institucional

- 2021 - 2021** Vínculo: Monitoria , Enquadramento funcional: Monitora do minicurso , Carga horária: 4, Regime: Parcial
 Outras informações:
 Atuou como monitora do minicurso "Introdução às técnicas de aprendizado de máquina para problemas de biologia molecular" durante a XI Jornada da Pós-graduação em Genética realizada durante o período de 29 de novembro e 03 de dezembro de 2021 na Universidade Federal de Pernambuco de modo remoto.
- 2020 - Atual** Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Mestranda no PPGG-UFPE, Regime: Parcial

Projetos

Projetos de pesquisa

- 2020 - Atual** Construções de antígenos a partir de predição computacional como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2.

Descrição: Atualmente diversos países do mundo, entre eles o Brasil, têm observado um crescimento constante do surgimento de casos de infecção do Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), cujo nome da doença é COVID-19, devido à rápida viremia do patógeno. Por se tratar de um vírus respiratório que se dissemina facilmente e nos casos mais graves leva até a morte, a produção de vacina torna-se uma forma importante de garantir o controle da pandemia. Apesar de existirem algumas estratégias vacinais já sendo desenvolvidas ainda nenhuma possui liberação para ser distribuída amplamente para população mundial. Entre elas é possível exemplificar algumas estratégias que utilizam peptídeos, subunidades, DNA entre outras. Embora existam trabalhos envolvendo este último tipo de vacina para o SARS-CoV-2, há uma limitação no que se refere ao desenvolvimento de vacina de DNA utilizando gene sintético a partir de predição de epítomos para genes estruturais e não estruturais. Assim, o desenvolvimento deste estudo torna-se importante, pois é capaz de construir gene sintético a partir de predição computacional de vários epítomos de cada proteína estrutural e não estrutural do SARS-CoV-2, o que pode aumentar a eficácia e imunogenicidade em relação as vacinas que estão em desenvolvimento, tendo baixo custo por ser feito a partir de simulações *in silico*, através de softwares gratuitos.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Maria da Conceição Viana Invenção (Responsável); ; Marcus Vinicius de Aragão Batista; Antônio Carlos de Freitas; Anna Jéssica Duarte Silva

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Áreas de atuação

1. Genética Molecular e de Microorganismos
2. Imunoinformática
3. Mutagênese
4. Ecologia de Ecossistemas
5. Biogeografia
6. Educação Ambiental

Idiomas

Inglês	Compreende Razoavelmente , Fala Razoavelmente , Escreve Razoavelmente , Lê Razoavelmente
Espanhol	Compreende Razoavelmente , Fala Pouco , Escreve Pouco , Lê Pouco
Português	Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Prêmios e títulos

2018	Menção Honrosa pelo desenvolvimento e apresentação de trabalho de Iniciação Científica classificado como 2º melhor trabalho na área de Ciências Biológicas na categoria Banner Digital, Universidade Federal de Sergipe
-------------	---

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. SANTOS, FERNANDA LAYS SOUZA GÓES; **INVENÇÃO, MARIA DA CONCEIÇÃO VIANA**; ARAÚJO, EDILAINE DÓRIA; BARROS, GERLANE DOS SANTOS; BATISTA, MARCUS VINICIUS DE ARAGÃO

Comparative analysis of different PCR based strategies for HPV detection and genotyping from cervical samples. Journal of Medical Virology. , v.-, p.1 - 8, 2021.

Palavras-chave: HPV, Molecular diagnostics, PCR Multiplex, Cervical lesions

Áreas do conhecimento: Genética Molecular e de Microorganismos

Referências adicionais: Português.

2. **INVENÇÃO, M. C. V.**; MELO, A. R. S.; MACÊDO, L. S.; NEVES, T. S. P. C.; MELO, C. M. L.; CORDEIRO, M. N.; BATISTA, M. V. A.; FREITAS, A. C.

DEVELOPMENT OF SYNTHETIC ANTIGEN VACCINES FOR COVID-19. Human Vaccines & Immunotherapeutics. , v.-, p.1 - 16, 2021.

Palavras-chave: SARS-CoV-2 , nucleic acid vaccines, in silico, immunoinformatics, adjuvants

Áreas do conhecimento: Imunoinformática, Virologia, Biologia Molecular

Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://https://www.tandfonline.com/eprint/ZF3CIRUVJUUY6NVBEVJ/full?target=10.1080/21645515.2021.1974288]

The current pandemic called COVID-19 caused by the SARS-CoV-2 virus brought the need for the search for fast alternatives to both control and fight the SARS-CoV-2 infection. Therefore, a race for a vaccine against COVID-19 took place, and some vaccines have been approved for emergency use in several countries in a record time. Ongoing prophylactic research has sought faster, safer, and precise alternatives by redirecting knowledge of other vaccines, and/or the development of new strategies using available tools, mainly in the areas of genomics and bioinformatics. The current review highlights the development of synthetic antigen vaccines, focusing on the usage of bioinformatics tools for the selection and construction of antigens on the different vaccine constructions under development, as well as strategies to optimize vaccines for COVID-19.

Capítulos de livros publicados

1. BATISTA, M. V. A.; BARROS, G. S.; INVENÇÃO, M. C. V.; SANTOS, L. A. B. O.; FERNANDES, A. O.; MOTA, E. S.; MOREIRA FILHO, C. R.; SOUZA, J. A.; NASCIMENTO, L. F. J.

Bioinformatics as an Auxiliary Tool for the Treatment and Prevention of Human Papillomavirus Infection In: Human Papillomaviruses (HPVs): Detection, Infection and Protection. 1 ed. Hauppauge, NY, 11788 USA: Nova Science Publishers, Inc., 2020, p. 1-.

Palavras-chave: HPV, Bioinformatics, Drugs, Vaccine

Áreas do conhecimento: Bioinformática, Genética Molecular e de Microorganismos

Referências adicionais: Brasil/Português. ISBN: 9781536173314, Home page: <https://novapublishers.com/shop/human-papillomaviruses-hpvs-detection-infection-and-protection/>

Bioinformatics tool are important in the analysis of molecular and biological data, which could provide novel insights on the development of treatment and prevention methods for disease control. Through bioinformatics, it is possible to analyze and simulate HPV molecular data through the use of universal databases and analysis tools, in order to better understand the virus genetics and infection cycle.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **INVENÇÃO, M. C. V.**; SILVA, A. J. D.; MATOS, A. S.; BATISTA, M. V. A.; FREITAS, A. C.

PREDICTION AND ANALYSIS OF T-cell and B-cell EPITOPES FOR CONSTRUCTION OF VACCINE STRATEGY AGAINST COVID-19 In: 66th Brazilian Congress of Genetics, 2021, Online.

GENÉTICA 2021 - 66 Brazilian Congress of Genetics. Ribeirão Preto - SP: Sociedade Brasileira de Genética, 2021. p.1 - 827

Palavras-chave: SARS-CoV-2, multiepitope, Vaccine

Áreas do conhecimento: Genética Molecular e de Microorganismos, Bioinformática

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: [http://https://www.sbg.org.br/anais]

Abstract The race to develop vaccine strategies to fight the COVID-19 pandemic has prioritized easy-to-edit platforms, including different proteins that meet the new variants. In this scenario, vaccines based on multi-epitope constructs emerge as an interesting alternative. The present work aimed to identify and analyze T and B cell epitopes of non-structural, structural, and accessory SARS-CoV-2 proteins, for the construction of a multi-epitope vaccine. Based on the reference sequence and the most frequent alleles in the world population, the prediction of the epitopes of MHC-I, MHC-II, and B cells

of proteins S, M, E, N, nsp1, ORF3a, ORF6, ORF7ab, ORF8, and ORF10, was performed *in silico*. Peptides were selected after undergoing immunogenicity analysis, clustering of similar sequences, conservation among different lineages, and population coverage. Initially, 423, 60, 246, 127, 45, 206, 75, 71, 56, and 36 epitopes ($IC_{50} < 50$) were identified for each of the aforementioned proteins, respectively. Then, 46, 5, 22, 14, 7, 17, 5, 10, 3, and 0 more immunogenic epitopes were identified (score > 0), respectively, and were cluster representative, 100% preserved to the new strains and identified as to their population coverage. Structural proteins had a greater amount of immunogenic epitopes, however due to their great similarity, the number was reduced to 10% of the initial amount. Despite few explored in the studies, an immunogenic potential was observed in the accessory proteins, and several potential epitopes to compose the vaccine construction were identified ($n = 408$). Therefore, this study analyzed and screened a range of SARS-CoV-2 epitopes, which will compose a vaccine antigen to be tested *in vivo* to assess the potential induction of protection against COVID-19.

Apresentação de trabalho e palestra

1. INVENÇÃO, M. C. V.; BATISTA, M. V. A.

Avaliação da interferência da aprendizagem de conhecimentos básicos sobre a compreensão dos conteúdos de Genética, 2021. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: Aprendizagem de Genética, Conhecimentos básicos, Educação básica

Áreas do conhecimento: Ensino-Aprendizagem, Genética

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: <http://engene-sbg.com.br/online/index.php?page=main>; Local: Formato online; Cidade: Formato online; Evento: XXIII ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Embrapa Semiárido, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade de Pernambuco (UFPE)

2. INVENÇÃO, M. C. V.; SANTOS, F. L. S. G.; BARROS, G. S.; ARAÚJO, E. D.; BATISTA, M. V. A.

Comparação de testes moleculares para detecção e genotipagem de HPV em mulheres do estado de Sergipe, 2021. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: HPV, Entro-A, MY09/11, PCR Multiplex

Áreas do conhecimento: Genética Molecular e de Microorganismos, Virologia, Bioinformática

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital. Home page: <http://engene-sbg.com.br/online/index.php?page=main>; Local: Formato online; Cidade: Formato online; Evento: XXIII ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Embrapa Semiárido, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade de Pernambuco (UFPE)

3. INVENÇÃO, M. C. V.; SILVA., A. J. D.; MATOS, A. S.; BATISTA, M. V. A.; FREITAS, A. C.

Construção de antígeno a partir de predição de epítomos como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2., 2021. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: COVID-19, Profilaxia, Multiepítipo

Referências adicionais: Brasil/Esperanto. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Formato online; Cidade: Recife-PE; Evento: XI JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA; Inst.promotora/financiadora: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

4. INVENÇÃO, M. C. V.; SILVA., A. J. D.; BATISTA, M. V. A.; FREITAS, A. C.

CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO MULTIEPÍTOPO PARA O DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA VACINAL CONTRA SARS-CoV-2, 2020. (Outra,Apresentação de Trabalho)

Palavras-chave: Antígeno sintético, Estratégia vacinal, COVID-19 , Predição

Áreas do conhecimento: Imunoinformática, Genética Molecular e de Microorganismos, Virologia

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Formato online; Cidade: Recife-PE;

Evento: X Jornada de Pós-Graduação em Genética; *Inst.promotora/financiadora:* Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

5. INVENÇÃO, M. C. V.

PALESTRA: BIOINFORMÁTICA APLICADA NA PRODUÇÃO DE VACINA, 2020. (Outra,Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital; Local: Online - Google Meet; Cidade:

Alagoinhas - BA; Evento: 2º Semana de Atualização em Saúde; *Inst.promotora/financiadora:* CETASS – Centro Tecnológico de Aprendizagem Senhora Santana

Produção técnica

Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia

1. SILVA., A. J. D.; INVENÇÃO, M. C. V.; LEAL, L. R. S.; FREITAS, A. C.

Desenvolvimento de estratégia vacinal contra a COVID-19 em Pernambuco: como as leveduras podem ajudar a combater a COVID-19?, 2020

Palavras-chave: SARS-CoV-2 , Estratégia vacinal, *Pichia pastoris*, Imunoinformática

Áreas do conhecimento: Genética, Imunologia, Bioinformática

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page: <https://youtu.be/9jFbgPIg-sc>

2. INVENÇÃO, M. C. V.; SANTOS, D. S.

Desenvolvimento de vacinas no combate ao coronavírus, 2020

Palavras-chave: COVID-19 , Estratégia vacinal

Áreas do conhecimento: Imunologia, Genética

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page: <https://www.instagram.com/tv/CFia-RGnkfu/?igshid=1ec6ifzskfqwi>

3. INVENÇÃO, M. C. V.; SILVA., A. J. D.; RAMOS, M. M.

Podcast Dinossauros de Plástico - #12 Vacina 2, 2020

Palavras-chave: Vacinas, SARS-CoV-2 , COVID-19 , Fake news

Áreas do conhecimento: Imunologia, Vacinas e Kits para Diagnósticos

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page:

<https://open.spotify.com/episode/3O153P8IWvzzuggnbGXdy9?si=fhDhXpGtGa3gB9wedkIGA>

Muita fake news surgiu a respeito das vacinas para a covid-19. Então, qual a real situação dessas vacinas? Convidamos Anna Duarte (@annaj.duarte) e Conceição Viana (@profaceicaoviana) para discutir algumas dessas questões e

Inovação

Projetos

Projetos de pesquisa

2020 - Atual Construções de antígenos a partir de predição computacional como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2.

Descrição: Atualmente diversos países do mundo, entre eles o Brasil, têm observado um crescimento constante do surgimento de casos de infecção do Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), cujo nome da doença é COVID-19, devido à rápida viremia do patógeno. Por se tratar de um vírus respiratório que se dissemina facilmente e nos casos mais graves leva até a morte, a produção de vacina torna-se uma forma importante de garantir o controle da pandemia. Apesar de existirem algumas estratégias vacinais já sendo desenvolvidas ainda nenhuma possui liberação para ser distribuída amplamente para população mundial. Entre elas é possível exemplificar algumas estratégias que utilizam peptídeos, subunidades, DNA entre outras. Embora existam trabalhos envolvendo este último tipo de vacina para o SARS-CoV-2, há uma limitação no que se refere ao desenvolvimento de vacina de DNA utilizando gene sintético a partir de predição de epítomos para genes estruturais e não estruturais. Assim, o desenvolvimento deste estudo torna-se importante, pois é capaz de construir gene sintético a partir de predição computacional de vários epítomos de cada proteína estrutural e não estrutural do SARS-CoV-2, o que pode aumentar a eficácia e imunogenicidade em relação as vacinas que estão em desenvolvimento, tendo baixo custo por ser feito a partir de simulações in silico, através de softwares gratuitos.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: Maria da Conceição Viana Invenção (Responsável); ; Marcus Vinicius de Aragão Batista; Antônio Carlos de Freitas; Anna Jéssica Duarte Silva

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

Educação e Popularização de C&T

Capítulos de livros publicados

1. BATISTA, M. V. A.; BARROS, G. S.; INVENÇÃO, M. C. V.; SANTOS, L. A. B. O.; FERNANDES, A. O.; MOTA, E. S.; MOREIRA FILHO, C. R.; SOUZA, J. A.; NASCIMENTO, L. F. J.

Bioinformatics as an Auxiliary Tool for the Treatment and Prevention of Human Papillomavirus Infection In: Human Papillomaviruses (HPVs): Detection, Infection and Protection.1 ed.Hauppauge, NY, 11788 USA: Nova Science Publishers, Inc., 2020, p. 1-.

Palavras-chave: HPV, Bioinformatics, Drugs, Vaccine

Áreas do conhecimento: Bioinformática, Genética Molecular e de Microorganismos

Referências adicionais: Brasil/Português. ISBN: 9781536173314, Home page: <https://novapublishers.com/shop/human-papillomaviruses-hpvs-detection-infection-and-protection/>

Bioinformatics tool are important in the analysis of molecular and biological data, which could provide novel insights on the development of treatment and prevention methods for disease control. Through bioinformatics, it is possible to analyze and simulate HPV molecular data through the use of universal databases and analysis tools, in order to better understand the virus genetics and infection cycle.

Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia

1. SILVA, A. J. D.; INVENÇÃO, M. C. V.; LEAL, L. R. S.; FREITAS, A. C.

Desenvolvimento de estratégia vacinal contra a COVID-19 em Pernambuco: como as leveduras podem ajudar a combater a COVID-19?, 2020. (Mesa redonda, Programa de Rádio ou TV)

Palavras-chave: SARS-CoV-2 , Estratégia vacinal, Pichia pastoris, Imunoinformática

Áreas do conhecimento: Genética, Imunologia, Bioinformática

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page: <https://youtu.be/9jFbgPIg-sc>

2. INVENÇÃO, M. C. V.; SANTOS, D. S.

Desenvolvimento de vacinas no combate ao coronavírus, 2020. (Entrevista, Programa de Rádio ou TV)

Palavras-chave: COVID-19 , Estratégia vacinal

Áreas do conhecimento: Imunologia, Genética

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page: <https://www.instagram.com/tv/CFia-RGnkfu/?igshid=1ec6ifzskfqwi>

3. INVENÇÃO, M. C. V.; SILVA, A. J. D.; RAMOS, M. M.

Podcast Dinossauros de Plástico - #12 Vacina 2, 2020. (Entrevista, Programa de Rádio ou TV)

Palavras-chave: Vacinas, SARS-CoV-2 , COVID-19 , Fake news

Áreas do conhecimento: Imunologia, Vacinas e Kits para Diagnósticos

Referências adicionais: Brasil/Português. . Home page: <https://open.spotify.com/episode/3O153P8lWvzzuggnbGXdY9?si=fhDhXpGtTGa3gB9wedkIGA>

Muita fake news surgiu a respeito das vacinas para a covid-19. Então, qual a real situação dessas vacinas? Convidamos Anna Duarte (@annaj.duarte) e Conceição Viana (@profaceicaoviana) para discutir algumas dessas questões e informações. Curtiu? Indique o Dinossauros de Plástico para um amigo!

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. Rosana Santos Silva. **ELABORAÇÃO DE GUIA DIDÁTICO COM A TEMÁTICA DE POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA DECORRENTE DAS CERÂMICAS LOCAIS DESTINADO AOS DOCENTES DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA DO MUNICÍPIO DE ITABAIANINHA-SERGIPE**. 2021.

Curso (Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Sergipe

Palavras-chave: Poluição atmosférica, Guia didático, Cerâmicas

Áreas do conhecimento: Ensino-Aprendizagem, Ciências Biológicas

Referências adicionais: Brasil/Português.

Orientação voluntária (não remunerada) à aluna do curso de Ciências Biológicas - Licenciatura plena - no CESAD-UFS.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Paineis no(a) **66th Brazilian Congress of Genetics**, 2021. (Congresso)

PREDICTION AND ANALYSIS OF T-cell and B-cell EPITOPES FOR CONSTRUCTION OF VACCINE STRATEGY AGAINST COVID-19.

2. **IEDB Virtual User Workshop**, 2021. (Outra)

.

3. **X Curso de Inverno em Genética e Biologia Molecular, II Edição online**, 2021. (Outra)

.

4. **XI JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**, 2021. (Outra)

Construção de antígeno a partir de predição de epítomos como estratégia para o desenvolvimento de vacina de DNA contra o SARS-CoV-2.

5. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXIII ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE**, 2021. (Encontro)

Comparação de testes moleculares para detecção e genotipagem de HPV em mulheres do estado de Sergipe (Trabalho 1) e Avaliação da interferência da aprendizagem de conhecimentos básicos sobre a compreensão dos conteúdos de Genética (Trabalho 2).

6. **BioIn4Girls - Ciclo de Palestras em Bioinformática**, 2020. (Outra)

.

7. **IV Webinar Ciência USP - Covid-19: Inteligência Artificial na Medicina**, 2020. (Outra)

.

8. Apresentação de Poster / Painel no(a) **X Jornada de Pós-Graduação em Genética**, 2020. (Outra)

CONSTRUÇÃO DE ANTÍGENO SINTÉTICO MULTIEPÍTOPO PARA O DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA VACINAL CONTRA SARS-CoV-2.

Organização de evento

1. **INVENÇÃO, M. C. V.**

XI JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA, 2021. (Outro, Organização de evento)

Palavras-chave: Genética, Pós-graduação

Referências adicionais: Brasil/Esperanto. Meio de divulgação: Meio digital

Bancas

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

1. **INVENÇÃO, M. C. V.; CAVALCANTE, R. C. M. ; SANTOS, S. S. C.**

Participação em banca de Rosana Santos Silva. **ELABORAÇÃO DE GUIA DIDÁTICO COM A TEMÁTICA DE POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA DECORRENTE DAS CERÂMICAS LOCAIS DESTINADO AOS DOCENTES DE CIÊNCIAS E BIOLOGIA DO MUNICÍPIO DE ITABAIANINHA-SERGIPE**, 2021

(Ciências Biológicas) Universidade Federal de Sergipe

Palavras-chave: Poluição atmosférica, Guia didático , Cerâmicas

Áreas do conhecimento: Ensino-Aprendizagem, Ciências Biológicas

Referências adicionais: Brasil/Português.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódico.....	3
Capítulos de livros publicados	1
Trabalhos publicados em anais de eventos.....	17
Apresentações de trabalhos (Conferência ou palestra).....	4
Apresentações de trabalhos (Congresso).....	7
Apresentações de trabalhos (Seminário).....	1
Apresentações de trabalhos (Outra)	12

Produção técnica

Curso de curta duração ministrado (extensão).....	1
Curso de curta duração ministrado (outro).....	1
Programa de Rádio ou TV (entrevista).....	2
Programa de Rádio ou TV (mesa redonda).....	1
Rede Social	1

Orientações

Orientação concluída (trabalho de conclusão de curso de graduação)	1
--	---

Eventos

Participações em eventos (congresso)	3
Participações em eventos (seminário)	3
Participações em eventos (simpósio)	4
Participações em eventos (encontro)	2
Participações em eventos (outra)	13
Organização de evento (outro)	3
Participação em banca de trabalhos de conclusão (graduação)	1