

## Desenho vacinal por imunoinformática contra HCV: Caracterização química e predição de epítomos de células T

Vaccine design by immunoinformatics against HCV: Chemical characterization and prediction of T-cell epitopes

Diseño de vacuna por inmunoinformática contra el HCV: Caracterización química y predicción de epítomos de células T

Recebido: 08/11/2021 | Revisado: 18/11/2021 | Aceito: 25/11/2021 | Publicado: 06/12/2021

**Fabiano Ricardo Fontes Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1651-4386>

Universidade Tiradentes, Brasil

E-mail: [fabiano.ricardoo@hotmail.com](mailto:fabiano.ricardoo@hotmail.com)

**Esther Santos Santana**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7302-6103>

Universidade Tiradentes, Brasil

E-mail: [esthher15.cn@gmail.com](mailto:esthher15.cn@gmail.com)

**Daniela Droppa-Almeida**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8154-1030>

Universidade Tiradentes, Brasil

E-mail: [danieladroppa@gmail.com](mailto:danieladroppa@gmail.com)

### Resumo

A hepatite C é uma enfermidade que atinge o fígado causando sua inflamação, alcançando milhares de pessoas todos os anos, contudo atualmente ainda não existem vacinas para o vírus responsável pela doença, o HCV, embora estudos já sejam realizados sobre a viabilidade. Assim sendo, a vacinologia reversa pode ser de grande auxílio para detecção de alvos promissores para utilização como antígeno vacinal e concomitantemente formulação de uma vacina eficaz. O respectivo trabalho tem como objetivo obter dados relevantes para o desenho de vacinas promissoras contra o HCV através da utilização de ferramentas de bioinformática. Para tanto, após as sequências do vírus serem obtidas no Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI), foram realizadas as análises do potencial antigênico através do VaxiJen v.2.0. e do ANTIGENpro, juntamente foi verificado o potencial alergênico com o AlgPred, logo após as proteínas serem selecionadas, seguiriam para as próximas etapas onde foram submetidas para a caracterização das propriedades físico-químicas, através do ProtParam e a predição de epítomos de células T foi realizada no NetTepi. Dentre os resultados obtidos pode-se notar que, a proteína E2 foi a única a se demonstrar alergênica, já a proteína E1 não apresentou potencial antigênico e as demais proteínas foram classificadas como instáveis, seguindo somente a proteína NS4a para predição de epítomos de células T.

**Palavras chave:** Hepatite C; Bioinformática; Vacina.

### Abstract

Hepatitis C is a disease that affects the liver causing its inflammation, reaching thousands of people every year, however currently there are no vaccines for the virus responsible for the disease, HCV, although studies are already carried out on its feasibility. Therefore, reverse vaccinology can be of great help in detecting promising targets for use as a vaccine antigen and concomitantly formulating an effective vaccine. The respective work aims to obtain relevant data for the design of promising vaccines against HCV through the use of bioinformatics tools. Therefore, after the virus sequences were obtained from the National Center for Biotechnological Information (NCBI), analyzes of the antigenic potential were carried out using VaxiJen v.2.0. and from ANTIGENpro, together with AlgPred, the allergenic potential was verified, soon after the proteins were verified and selected, they would proceed to the next steps where they were submitted for the characterization of the physicochemical properties, through and the prediction of T cell epitopes was performed on NetTepi. Among the results obtained, it can be noted that the E2 protein was the only one to demonstrate allergenicity, whereas the E1 protein did not present antigenic potential and the other proteins were classified as unstable, following only the NS4a protein for prediction of T cell epitopes.

**Keywords:** Hepatitis C; Bioinformatics; Vaccine.

### Resumen

La hepatitis C es una enfermedad que afecta al hígado provocando su inflamación, llegando a miles de personas cada año, sin embargo actualmente no existen vacunas para el virus responsable de la enfermedad, el VHC, aunque ya se

están realizando estudios sobre su viabilidad. Por lo tanto, la vacunación inversa puede ser de gran ayuda para detectar dianas prometedoras para su uso como antígeno de vacuna y, concomitantemente, formular una vacuna eficaz. El trabajo respectivo tiene como objetivo obtener datos relevantes para el diseño de vacunas prometedoras contra el VHC mediante el uso de herramientas bioinformáticas. Por lo tanto, después de que se obtuvieron las secuencias de virus del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), se realizaron análisis del potencial antigénico utilizando VaxiJen v.2.0. y desde ANTIGENpro, en conjunto con AlgPred, se verificó el potencial alergénico, luego de verificadas y seleccionadas las proteínas, se pasaría a los siguientes pasos donde se sometían a la caracterización de las propiedades fisicoquímicas, mediante y la predicción de epítomos de células T se realizó en NetTepi. Entre los resultados obtenidos, se puede observar que la proteína E2 fue la única que demostró alergenicidad, mientras que la proteína E1 no presentó potencial antigénico y las demás proteínas se clasificaron como inestables, siguiendo solo a la proteína NS4a para la predicción de epítomos de células T.

**Palabras clave:** Hepatitis C; Bioinformática; Vacuna.

## 1. Introdução

A hepatite C é causada por um vírus (HCV) que produz uma infecção persistente, podendo levar ao desenvolvimento da hepatite crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular (Axley et al., 2018). O agente etiológico instala-se na estrutura hepática, onde inicia um processo inflamatório exacerbado, agredindo-a significativamente. A reprodução viral ocorre em sua maioria, apenas no interior dos hepatócitos, porém infectando outros tipos de tecidos e células, dentre eles os linfócitos B e T, monócitos e células dendríticas, não suportando a multiplicação viral, constituindo-se como reservatórios naturais para a manutenção, persistência e transmissão do patógeno (Stamataki, 2010). O HCV é classificado como pertencente à família *Flaviviridae* do gênero *Hepacivirus*, seu tempo de incubação demonstra-se variável, de pelo menos 2 a 12 semanas aproximadamente (Martinez & Franco, 2021).

O genoma do vírus é composto por uma fita simples positiva de RNA apresentando uma significativa variabilidade genética, resultante de mutações espontâneas ocorridas durante a sua replicação. Dessa forma, a heterogeneidade no genoma, causada pela alta taxa de replicação sem o fator de reparo, gera a possibilidade de classificar seis genótipos, nomeados de 1 à 6 pela ordem de descoberta. Possuindo diversos subtipos, mais de 50 categorizados e descritos atualmente, representados por letras do alfabeto (1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a, 4a, 5a e 6a) e apresenta muitas *quasiespecies*, sendo outro fator importante para a progressão da infectividade (Bulut et al., 2021; Pham, 2017). O genótipo 1 é o mais comum em todo o mundo e o subtipo mais é o subtipo 1b, já no Brasil os genótipos 1, 2 e 3 são encontrados com maior frequência, sendo em números menores ou mesmo rara a infecção por outros tipos (Sawada et al., 2011).

Aproximadamente 170 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas pelo vírus da hepatite C, contudo sendo a maioria dos casos assintomáticos, mostrando também uma distribuição variável entorno do globo (Schuch-Goi et al., 2017). A transmissão do vírus da Hepatite C ocorre principalmente pelo sangue ou por material que esteja contaminado, sendo mais associado atualmente por exposição percutânea e por toxicómanos intravenosos (agulhas hipodérmicas e seringas). Outras formas de se contaminar seriam através de materiais de higiene pessoal como: (lâminas de barbear e depilar, escovas de dente, alicates de unha ou outros objetos cortantes), assim como em procedimentos para realização de tatuagens (Li & Lo, 2015).

Atualmente não existe qualquer procedimento de imunização ativa para o controle da disseminação do HCV. Embora já existam estudos sobre as possibilidades, ainda não existem vacinas. O tratamento para a hepatite C ocorre através do interferon peguillado e a ribavirina em um período de 24 a 48 semanas a depender do genótipo. Contudo a terapia não é ideal, já que apresenta apenas 50% de cura com o tratamento. Já em 2014 o boceprevir, telaprevir, simeprevir, o sofosbuvir e o harvoni foram aprovados pela Food and Drug Administration para tratar a infecção por HCV. Porém, nem todos os indivíduos atingem a cura devido à resistência viral e também ao alto custo dos tratamentos antivirais. Assim, sendo a profilaxia eficiente tende a ser o próximo passo para diminuir o HCV ou quem sabe conseguir uma erradicação (Kaur et al., 2015).

Para a produção de uma vacina que realmente tenha eficácia é necessário se utilizar de metodologias diferentes. Dessa forma, previsões baseadas em análises computacionais através de ferramentas de bioinformática trazem consigo uma enorme

vantagem em relação a outras metodologias existentes, já que a vacinologia reversa pode ser de grande auxílio para detecção de alvos que sejam promissores para utilização como antígenos vacinais e posteriormente formulação de uma vacina. Em suma a vacinologia reversa se utiliza de todo o repertório de proteínas de cada determinado agente patogênico a fim de selecionar os melhores antígenos candidatos à produção de vacinas. Dessa forma é possível o desenvolvimento de vacinas que anteriormente eram difíceis de realizar, podendo assim encaminhar à descoberta de antígenos exclusivos melhorando o perfil das vacinas em testes atualmente existentes (Leow et al., 2020).

A vacinologia reversa é possível devido ao sequenciamento de genomas do agente, com isso traz-se a possibilidade analisar suas proteínas a partir da bioinformática e caracterizá-las quanto a antigenicidade, alergenicidade, assim como caracterizações físico-químicas (Ong et al., 2020). Além disso, é possível verifica epítotos imunodominantes dos antígenos proteicos podendo deste modo, direcionar uma resposta imune eficaz. Para isso é necessário o conhecimento sobre os possíveis fatores de virulência do agente etiológico, no caso do HCV, o mesmo, possui 9 proteínas, sendo divididas entre três estruturais (core, E1 e E2) e 6 proteínas não estruturais (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B) e entre as proteínas estruturais e não estruturais existe a proteína p7 que tem por função regular a permeabilidade dos íons na membrana e apresenta um importante papel na maturação e liberação da partícula viral (Gong & Cun, 2019). Dessa forma, o objetivo desse trabalho é analisar as proteínas que compõem o vírus causador da hepatite do tipo C com o intuito de gerar um desenho vacinal que possibilite alvos importantes para compor uma formulação vacinal eficaz.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Obtenção das sequências das proteínas**

As sequências de aminoácidos das proteínas virais foram obtidas no National Center for Biotechnology Information/ Centro Nacional de Informação Biotecnológica (NCBI) através do GenPept. Foram usadas as sequencias da proteína Core C (AAR91575.1), Proteína do envelope E1 (AGP26374.1), proteína do envelope E2 (AAR85961.1), proteína NS2 (AFM56519.1), proteína NS3 (ADA68311.1), proteína NS4a (ADG28955.1), proteína NS4b (ABO28521.1), proteína NS5a (ABH10010.1) e proteína NS5b (AAP33888.1).

### **2.2 Potencial Antigênico**

Para verificar o Potencial Antigênico das proteínas foi utilizado o VaxiJen v.2.0 disponível em <http://www.ddg-pharmfac.net/vaxijen/VaxiJen/VaxiJen.html>. Este software funciona com base na previsão independente de alinhamento de antígenos protetores. Além disso, foi desenvolvido para permitir a classificação de antígenos de acordo com as propriedades físico-químicas das proteínas, sem recorrer ao alinhamento de sequências. A precisão do servidor varia de 70% a 89%, dependendo dos organismos-alvo. Também foi utilizado o ANTIGENpro disponível em <http://scratch.proteomics.ics.uci.edu> no qual também é capaz de apontar o potencial antigênico das proteínas, de maneira que o modelo é treinado em conjuntos de dados de microarray de proteína balanceada (Magnan et al., 2010).

### **2.3 Potencial Alergênico**

Para observar o potencial alergênico das proteínas foi utilizado o software AlgPred disponível em <http://www.imtech.res.in/raghava/algpred/index.html>. Este servidor executa a previsão com base em seis abordagens diferentes. A combinação das seis abordagens pode ser utilizada para prever proteínas alergênicas com alta precisão.

## 2.4 Propriedades físico-químicas

Diferentes propriedades físico-químicas foram analisadas nas proteínas avaliadas como potencial vacinal nesse trabalho, incluindo peso molecular (MW), ponto isoelétrico (pI), Índice de instabilidade, Índice alifático, meia vida e média total de hidrofobicidade (GRAVY), para isso foi utilizado o ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>).

## 2.5 Predição de epítomos de Células T – MHC classe I

A predição de epítomos imunodominantes de células T para MHC de classe I foi feita através do software NetTepi disponível em <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetTepi/>, o qual integra determinadas propriedades para predição de epítomos, dentre elas a afinidade de ligação ao péptido-MHC, estabilidade ao péptido-MHC e propensão para as células T

## 3. Resultados e Discussão

Com a obtenção das seqüências de aminoácidos das proteínas Core C, Proteína do envelope E1, proteína do envelope E2, proteína NS2, proteína NS3, proteína NS4a, proteína NS4b, proteína NS5a e proteína NS5b foi possível utilizar os softwares ANTIGENpro e VaxiJen, os quais possuem a capacidade de medir o potencial antigênico das proteínas de maneira que o primeiro programa através de microarray é capaz de medir a antigenicidade por meio das análises de proteínas, com limiar de 0,5. Já o segundo programa, o Vaxijen é capaz de prever o potencial antigênico através de um limiar de 0,4 tendo precisão de 70% a 89% (Magnan et al., 2010) Ao submeter às proteínas do vírus HCV aos programas foi possível verificar que a proteína E1 apresenta um baixo potencial de antigenicidade, em ambos os softwares, assim como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Verificação do grau de antigenicidade e alergenicidade das proteínas.

Proteína	AlgPred Threshold= -0.4	ANTIGENpro	VaxiJen 0,4
Proteína Core (C)	Não alergênico	0.557483	0.6952
Proteína E1	Não alergênico	0.303872	0.2739
Proteína E2	Alergênico	0.694279	0.4623
NS2	Não alergênico	0.122726	0.4878
NS3	Não alergênico	0.612568	0.3746
NS4a	Não alergênico	0.082897	0.4969
NS4b	Não alergênico	0.172031	0.5170
NS5a	Não alergênico	0.681694	0.4584
NS5b	Não alergênico	0.750936	0.4158

Fonte: Autores (2021).

Já para a verificação da alergenicidade das proteínas foi utilizado o AlgPred que é uma ferramenta que realiza a previsão com base em seis abordagens diferentes. Os resultados demonstram se o antígeno possui regiões capazes de interagir com Imunoglobulinas E (IgE) (Saha & Raghava, 2007). Assim sendo, ao serem submetidas, as nove proteínas do vírus, conseguiu-se obter que apenas a proteína E2 apresentou sítios de interação com imunoglobulinas E sendo classificada dessa forma como alergênica. Diversas pesquisas demonstram o potencial da glicoproteína E2 como alvo de agentes imunizadores (Deng et al., 2021; El Abd et al., 2011; Meuleman et al., 2021). Porém, como demonstrado na respectiva pesquisa, o software apontou capacidade de ativação de uma possível resposta que prejudicaria a produção da vacina, neste caso, a proteína E2 não se apresenta interessante para compor uma formulação vacinal, pois o intuito da vacina contra o HCV é desenvolver uma resposta TCD8+ eficaz e que não apresente reações adversas, como seria o caso de um possível processo alérgico.

Para realizar uma análise das diferentes propriedades físico-químicas das proteínas, presentes na Tabela 2, o software ProtParam sendo uma ferramenta online que realiza cálculos baseados na região N-terminal da proteína, foi utilizado para verificar as características em relação ao peso molecular, ponto isoelétrico (pI) como também o pH por sua vez, o índice de

estabilidade, semi-vida *in vitro* e *in vivo*, índice alifático e grande média de hidropaticidade (GRAVY), podendo assim indicar a estabilidade nas diversas temperaturas e demonstrar se o antígeno em questão possui características hidrofóbicas ou hidrofílicas. Além disso, o programa também é capaz de medir o peso molecular, o número total de resíduos de aminoácidos negativos como também positivos, pode ser medido o tempo de meia-vida do antígeno em Reticulócitos de mamíferos (*in vitro*), em levedura (*in vivo*) e em *Escherichia coli* (*in vivo*) (Gasteiger et al., 2005).

**Tabela 2:** Caracterização das propriedades físico e químicas.

Propriedade físico-química	Core	NS2	NS3	NS4a	NS4b	NS5a	NS5b
Número de aminoácidos	83	217	155	63	261	451	110
Peso molecular	9428.74	23999.62	16207.68	6686.88	27375.82	48941.29	11832.37
pI	12.01	9.35	9.30	4.49	8.53	5.30	5.11
Número total de resíduos carregados negativamente (Asp + Glu)	4	14	8	7	14	53	14
Número total de resíduos com carga positiva (Arg + Lys)	19	21	15	4	16	40	11
Índice de instabilidade	70.25 instável	41.69 instável	40.24 instável	20.62 estável	42.45 instável	57.10 instável	43.43 instável
Índice alifático	44.70	128.53	92.45	122.22	105.17	72.42	79.82
Grande média de hidropaticidade (GRAVY)	-1.299	0.529	0.124	0.817	0.407	-0.316	-0.205
<b>Meia vida estimada:</b>							
<i>In vitro</i>	30 hours	5.5 hours	5.5 hours	100 hours	4.4 hours	1.1 hours	7.2 hours
Levedura	>20 hours	3 min	3 min	>20 hours	>20 hours	3 min	>20 hours
<i>Escherichia coli</i>	>10 hours	2 min	2 min	>10 hours	>10 hours	>10 hours	>10 hours

Fonte: Autores (2021).

Dessa forma, as sete proteínas virais ao serem submetidas ao ProtParam (Tabela 3) demonstraram os seguintes resultados, em relação à estabilidade, seis proteínas são consideradas instáveis, demonstrando valores acima de 40, dentre elas estão a proteína do Core, NS2, NS3, NS4b, NS5a e NS5b, somente a proteína NS4a apresentou estabilidade. Esse ponto de corte é determinado pelo próprio ProtParam que, mede a partir de uma análise baseada na diferença de dipeptídeos nas proteínas, cuja ocorrência possui significativa diferença, podendo classificá-las como instáveis ou estáveis (Gasteiger et al., 2005). Também se pode notar que os valores negativos na grande média de hidropaticidade das proteínas do Core, E2, NS5a e NS5b demonstram que são hidrofílicas, enquanto que as demais que apresentaram valores positivos demonstraram-se ser hidrofóbicas não tendo afinidade com as moléculas de água.

Em relação à predição de epítomos imunodominantes, o software utilizado foi o NetTepi 1.0 sendo uma ferramenta que torna possível a predição de epítomos de células T para humanos ou outras espécies. Sendo um programa no qual prediz epítomos para MHC classe I a partir de 13 alelos prevalentes entre a população (HLA-A01:01; HLA-A02:01; HLA-A03:01; HLA-A11:01; HLA-A24:02; HLA-A26:01; HLA-B07:02; HLA-B15:01; HLA-B27:05; HLA-B35:01; HLA-B39:01; HLA-B40:01; HLA-B58:01) de maneira que reproduz a ligação de um receptor de células T (TCR), de um anticorpo ou mesmo de

molécula de MHC específicos do epítipo a um antígeno ou epítipo, de maneira que integra determinadas propriedades para predição, dentre elas a afinidade de ligação ao péptido-MHC, estabilidade ao péptido-MHC e propensão para as células T. Assim sendo a proteína do HCV que apresentou estabilidade seguiu para predição de epítopos pelo NetTepi para tentar identificar regiões imunodominantes que possam ser terapeuticamente importantes (Lund et al., 2004; Trolle & Nielsen, 2014).

Para tanto, somente a proteína NS4a por apresentar estabilidade foi submetida ao programa, no qual sua análise ocorreu a partir de três critérios, tendo as previsões de afinidade da ligação de Peptídeo-MHC obtidas a partir do método NetMHCcons, já as previsões para estabilidade do péptido-MHC são obtidas utilizando o método NetMHCstab e por fim a propensão das células T é analisada usando o modelo de imunogenicidade que descrito sobre o comportamento de ativação do sistema imune (Calis et al., 2013). Quando submetidas, vários peptídeos são preditos, contudo o programa aponta quais obtiveram os melhores resultados nos três tipos de análise, de maneira que foram selecionados os epítopos identificados como forte ligantes através das pontuações da análise combinada (Tabela 3).

**Tabela 3:** Sequência de aminoácidos dos epítopos imunodominantes da proteína NS4a

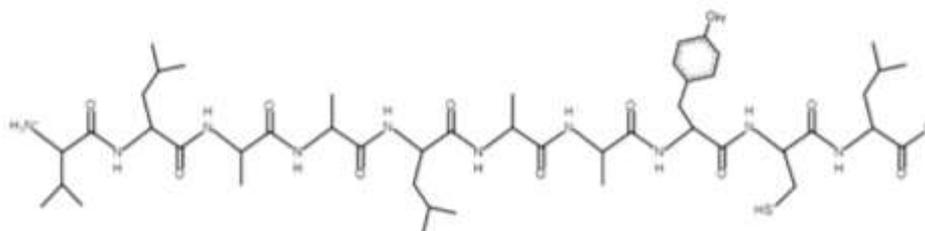
Proteína		Peptídeo imunogênico	VaxiJen
NS4a	1	VLAALAAYCL	0,6860
	2	VLVGGVLAAL	0,3428
	3	IVGRIVLSGK	0,9816
	4	STGCVVIVGR	0,9753
	5	KPAIIPDREV	1,0487
	6	AIPDREVLV	0,6592
	7	MEECASRAAL	-0,4495

Fonte: Autores (2021).

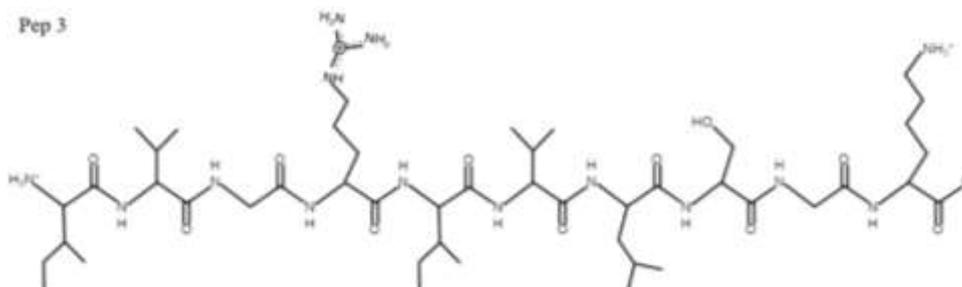
Apesar da alta quantidade de epítopos preditos o NetTepi apontou cerca de 7 epítopos como forte ligantes, posteriormente foram submetidos ao VaxiJen, no qual identificou os epítipo 2 e 7 como não imunogênicos, dessa forma cinco epítopos são alvos potenciais para o desenvolvimento de uma vacina, tendo suas estruturas químicas estruturadas através do software PepDraw na Figura 1.

**Figura 1:** Estrutura química dos epítopos preditos a partir da proteína NS4a.

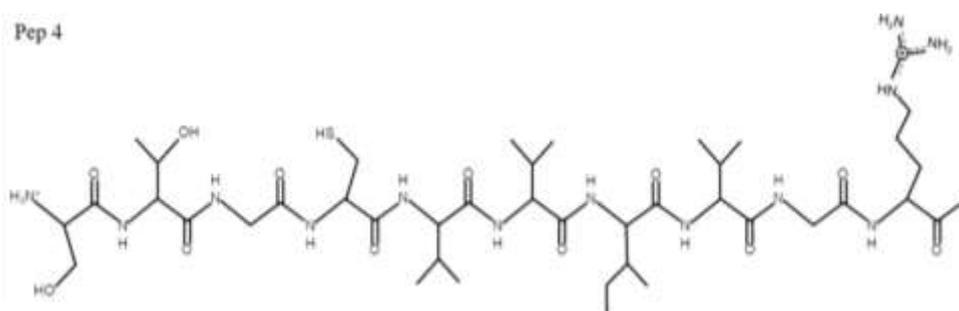
Pep 1



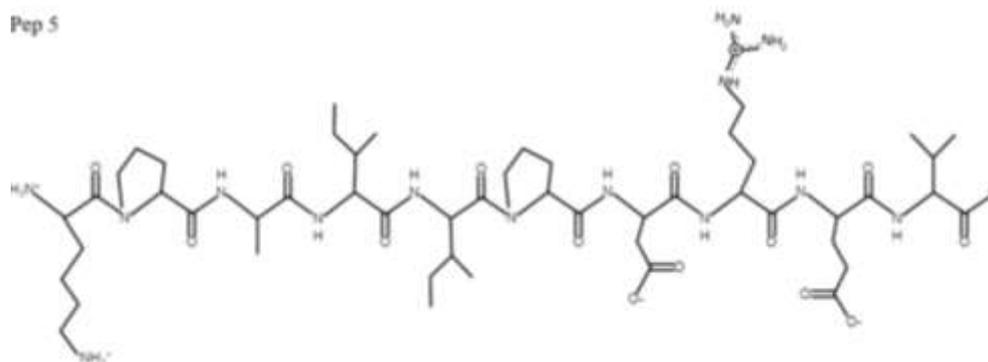
Pep 3



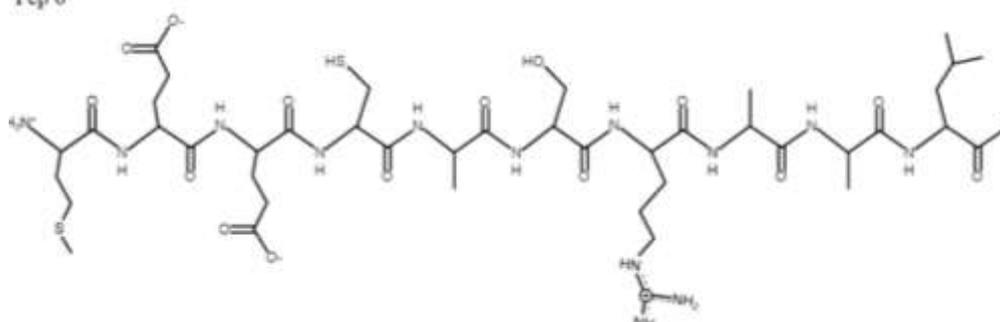
Pep 4



Pep 5



Pep 6



Fonte: Estruturas obtidas no Software PepDraw.

Os epítomos imunodominantes são justamente as regiões específicas dos antígenos proteicos que possuem ligações com os receptores imunológicos, de maneira que sua identificação se torna importante para utilização como composição vacinal. Esses dados são importantes por trazerem possíveis potenciais imunoprotetores contra a hepatite C. Diante desses resultados é possível desenvolver vacinas baseadas em proteínas recombinantes onde pode-se selecionar as que apresentaram maior potencial antigênico e que não foram classificadas como alergênicas. Ao cruzar os dados com a obtenção de epítomos imunodominantes, pode selecionar as proteínas que apresentaram maior quantidade de regiões que podem ser reconhecidas pelo sistema imunológico (Li et al., 2014; Yasmin & Nabi, 2016). Com os resultados dos epítomos imunodominantes abre-se a possibilidade de utilizá-los como vacinas peptídicas, as quais vem apresentando resultados interessantes e promissores em determinados vírus (Adhikari et al., 2018; Castelli et al., 2013).

Uma das problemáticas potenciais de vacinas que sejam a base de epítomos é que os genes HLA são extremamente polimórficos, cada uma das moléculas correspondentes possuem uma especificidade diferente. No caso de uma vacina, torna-se necessário conter um peptídeo único para cada uma destas moléculas que, por sua vez terá de contemplar centenas de peptídeos. Contudo, uma maneira de contrariar tal questão é selecionar conjuntos de algumas das moléculas de HLA que tenham uma ampla distribuição na população humana. Os alelos incluídos no supertipo, sendo agrupamentos com similaridade nos perfis de interação com peptídeo, no qual são descritos em literatura para os HLA de classe I (A1, A2, A3, A24, B7, B27, B44, B58, B62) apresentam uma frequência constante na população (Lund et al., 2004).

Vale ressaltar que, o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) compreende uma grande região genômica, ou seja, um complexo que apresenta múltiplos *loci*, no qual suas moléculas têm a capacidade de apresentar antígenos proteicos para as células do sistema imunológico, dessa forma, participam do desencadeamento de uma série de processos, inclusive a rejeição dos tecidos estranhos. Em seres humanos, tal grupo gênico é denominado de HLA (*Human Leukocyte Antigens*), os genes do HLA de classe I apresentam uma grande diversidade, de maneira que são altamente polimórficos, além disso, demonstram funcionalidade de codificação das moléculas de histocompatibilidade, dentre elas, os HLA-A, HLA-B e HLA-C. Os HLA podem ser classificados em três classes, I, II e III. As moléculas de classe I sendo alvo do referente trabalho, tem por função apresentar antígenos provenientes de uma síntese via citosólica, para as células T citotóxicas (CD8+) (Castro et al., 2019).

As análises de imunoinformática permitem conseguir dados relevantes em relação a informação genética dos patógenos de maneira que permitem a utilização de determinadas proteínas ou mesmo de determinadas sequências que apresentem potencial em ativar o sistema imune de forma eficiente e apropriada, sendo este um desafio para o desenho vacinal. Porém, com a introdução das novas técnicas torna-se possível projetar de forma racional estratégias que superem a baixa imunidade protetora que é gerada de forma natural pela infecção. Vacinas que utilizam proteínas recombinantes já são aplicadas a projetos que estudam aplicação e desenvolvimento vacinais contra determinados vírus como o HVB e o HPV (Nascimento & Leite, 2012; Panahi et al., 2018).

Atualmente vários trabalhos são realizados trazendo a predição *in silico* e análises de bioinformática para epítomos que podem ser utilizados em projetos de possíveis vacinas que sejam eficientes. Pesquisas realizadas com a utilização de análises a partir da bioinformática vêm crescendo continuamente, principalmente em patógenos que apresentam uma alta taxa de variabilidade como os vírus. Dessa maneira, com o uso de ferramentas torna-se possível diminuir o tempo de desenvolvimento, tornando de baixo custo e aumentando as chances de produção agentes profiláticos que sejam eficientes em ativar o sistema imune. Assim sendo a vacinologia reversa permite a identificação de potenciais imunógenos candidatos dentro da sequência genômica dos agentes etiológicos (Sirskyj et al., 2011).

#### 4. Conclusões

A hepatite C é causada por um vírus que produz uma infecção persistente, tendo possivelmente diversas oportunidades para a sua transmissão dentro da população humana. Dessa forma, medidas profiláticas que tenham eficácia em imunizar a população também acabam sendo a principal forma de combater a doença. A utilização dos métodos de imunoinformática, se demonstram importantes uma vez que podem ser obtidos dados importantes sobre as características dos alvos, além disso, apontando possíveis potenciais para o desenho vacinal.

Dessa forma, com a identificação dos alvos proteicos que apresentem capacidade para serem alterados de forma direta por intermédio da interação com fármacos poderão diminuir as causas das doenças ou mesmo os sintomas. O reconhecimento de moléculas que podem agir como princípio ativo para a produção de produtos terapêuticos, podendo inibir ou acelerar determinadas reações bioquímicas, apresentando efeitos de cura ou mesmo a atenuação da doença.

Portanto, a partir dos resultados obtidos é possível concluir que, determinadas proteínas não apresentam características favoráveis para a produção de vacinas, podendo dessa forma, selecionar alvos potenciais e descartar as estruturas do vírus que apresentaram características que podem inviabilizar a produção de uma vacina efetiva, como as proteínas E1 que não apresentou potencial antigênico, não sendo viável para utilização como antígeno de um produto imunizante, além disso, outras proteínas também apresentam características não favoráveis para sua utilização como a proteína E2 que apresentou-se como alergênica, já a proteína C apresentou instabilidade, juntamente com as demais, com exceção da NS4a que seguiu para predição de epítomos, no qual demonstrou ter epítomos favoráveis a produção de uma vacina multi-epítomo, contudo mais testes podem ser realizados a fim de obter dados suficientes, justamente devido à necessidade de uma forma de profilaxia adequada contra o vírus e dessa maneira, controle da doença. Perspectivas futuras em relação a continuidade do trabalho são direcionadas a determinação da estrutura tridimensional da proteína selecionada bem como a verificação de interação com receptores toll-like.

#### Referências

- Adhikari, U. K., Tayebi, M., & Rahman, M. M. (2018). Immunoinformatics approach for epitope-based peptide vaccine design and active site prediction against polyprotein of emerging oropouche virus. *Journal of immunology research*, 2018.
- Axley, P., Ahmed, Z., Ravi, S., & Singal, A. K. (2018). Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma: a narrative review. *Journal of clinical translational hepatology*, 6(1), 79. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00067>
- Bulut, M. E., Topalca, U. S., Murat, A., Teke, L., Canalp, H. Z., Ocal, M., & Bayraktar, B. (2021). HCV Genotype Distribution of Patients with Chronic Hepatitis C in Istanbul. *The Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital*, 55(1), 86.
- Calis, J. J., Maybeno, M., Greenbaum, J. A., Weiskopf, D., De Silva, A. D., Sette, A., . . . Peters, B. (2013). Properties of MHC class I presented peptides that enhance immunogenicity. *PLoS computational biology*, 9(10), e1003266.
- Castelli, M., Cappelletti, F., Diotti, R. A., Sautto, G., Criscuolo, E., Dal Peraro, M., & Clementi, N. (2013). Peptide-based vaccinology: experimental and computational approaches to target hypervariable viruses through the fine characterization of protective epitopes recognized by monoclonal antibodies and the identification of T-cell-activating peptides. *Clinical Developmental Immunology*, 2013.
- Castro, A., Ozturk, K., Pyke, R. M., Xian, S., Zanetti, M., & Carter, H. (2019). Elevated neoantigen levels in tumors with somatic mutations in the HLA-A, HLA-B, HLA-C and B2M genes. *BMC medical genomics*, 12(6), 1-13.
- Deng, L., Hernandez, N., Zhong, L., Holcomb, D. D., Yan, H., Virata, M. L., . . . Struble, E. J. P. o. t. N. A. o. S. (2021). A conserved epitope III on hepatitis C virus E2 protein has alternate conformations facilitating cell binding or virus neutralization. *118*(28).
- El Abd, Y. S., Tabll, A. A., El Din, N. G. B., Hosny, A. E.-D. S., Moustafa, R. I., El-Shenawy, R., . . . El-Awady, M. K. (2011). Neutralizing activities of caprine antibodies towards conserved regions of the HCV envelope glycoprotein E2. *Virology Journal*, 8(1), 1-12.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *The proteomics protocols handbook*, 571-607.
- Gong, Y., & Cun, W. J. I. j. o. m. s. (2019). The role of apoe in HCV infection and comorbidity. *20*(8), 2037.
- Kaur, K., Gandhi, M. A., & Slish, J. (2015). Drug-drug interactions among hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) medications. *Infectious diseases therapy*, 4(2), 159-172.

- Leow, C. Y., Kazi, A., Ismail, C. M. K. H., Chuah, C., Lim, B. H., Leow, C. H., & Singh, K. K. B. (2020). Reverse vaccinology approach for the identification and characterization of outer membrane proteins of *Shigella flexneri* as potential cellular-and antibody-dependent vaccine candidates. *Clinical experimental vaccine research*, 9(1), 15-25.
- Li, H.-C., & Lo, S.-Y. (2015). Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. *World journal of hepatology*, 7(10), 1377. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i10.1377>
- Li, W., Joshi, M. D., Singhanian, S., Ramsey, K. H., & Murthy, A. K. (2014). Peptide vaccine: progress and challenges. *Vaccines*, 2(3), 515-536.
- Lund, O., Nielsen, M., Kesmir, C., Petersen, A. G., Lundegaard, C., Warming, P., . . . Justesen, S. (2004). Definition of supertypes for HLA molecules using clustering of specificity matrices. *Immunogenetics*, 55(12), 797-810.
- Magnan, C. N., Zeller, M., Kayala, M. A., Vigil, A., Randall, A., Felgner, P. L., & Baldi, P. J. B. (2010). High-throughput prediction of protein antigenicity using protein microarray data. 26(23), 2936-2943.
- Martinez, M. A., & Franco, S. J. V. (2021). Therapy Implications of Hepatitis C Virus Genetic Diversity. *Viruses*, 13(1), 41.
- Meuleman, T. J., Cowton, V. M., Patel, A. H., & Liskamp, R. M. (2021). Design and synthesis of HCV-E2 glycoprotein epitope mimics in molecular construction of potential synthetic vaccines. *Viruses*, 13(2), 326.
- Nascimento, I., & Leite, L. (2012). Recombinant vaccines and the development of new vaccine strategies. *Brazilian journal of medical biological research*, 45, 1102-1111.
- Ong, E., Wong, M. U., Huffman, A., & He, Y. J. F. i. i. (2020). COVID-19 coronavirus vaccine design using reverse vaccinology and machine learning. 11, 1581.
- Panahi, H. A., Bolhassani, A., Javadi, G., & Noormohammadi, Z. (2018). A comprehensive in silico analysis for identification of therapeutic epitopes in HPV16, 18, 31 and 45 oncoproteins. *PLoS one*, 13(10), e0205933.
- Pham, L. V., Ramirez, S., Carlsen, T. H., Li, Y. P., Gottwein, J. M., Bukh, J. (2017). Efficient hepatitis C virus genotype 1b core-NS5A recombinants permit efficacy testing of protease and NS5A inhibitors. *Antimicrobial agents chemotherapy*, 61(6).
- Saha, S., & Raghava, G. (2007). Prediction of allergenic proteins and mapping of IgE epitopes in allergens.
- Sawada, L., Pinheiro, A. C. C., Locks, D., Pimenta, A. d. S. C., Rezende, P. R., Crespo, D. M., . . . Oliveira Filho, A. B. d. (2011). Distribution of hepatitis C virus genotypes among different exposure categories in the State of Pará, Brazilian Amazon. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44, 8-12.
- Schuch-Goi, S. B., Scherer, J. N., Kessler, F. H. P., Sordi, A. O., Pechansky, F., & von Diemen, L. (2017). Hepatitis C: clinical and biological features related to different forms of cocaine use. *Trends in psychiatry psychotherapy*, 39, 285-292.
- Sirskyj, D., Diaz-Mitoma, F., Golshani, A., Kumar, A., & Azizi, A. (2011). Innovative bioinformatic approaches for developing peptide-based vaccines against hypervariable viruses. *Immunology cell biology*, 89(1), 81-89.
- Stamatakis, Z. J. E. r. o. a.-i. t. (2010). Hepatitis C infection of B lymphocytes: more tools to address pending questions. 8(9), 977-980.
- Trolle, T., & Nielsen, M. (2014). NetTepi: an integrated method for the prediction of T cell epitopes. *Immunogenetics*, 66(7), 449-456.
- Yasmin, T., & Nabi, A. N. (2016). B and T cell epitope-based peptides predicted from evolutionarily conserved and whole protein sequences of Ebola virus as vaccine targets. *Scandinavian journal of immunology*, 83(5), 321-337.