

VÍRUS DA VARÍOLA DO MACACO: MODELAGEM E ANÁLISE DE PROTEÍNAS POR BIOINFORMÁTICA

MONKEYPOX VIRUS: MODELING AND ANALYSIS OF PROTEINS BY BIOINFORMATICS

SILVA, Bruna¹; SOUZA, Matheus¹; CURCELLI, Felipe²; CREMONESI, Aline Sampaio³;
¹ Graduandos do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco; ² Professor do curso de Medicina Veterinária - Universidade São Francisco; ³ Professora do curso de Biomedicina - Universidade São Francisco

bruna.sousa.silva@mail.usf.edu.br

matheus.pereira.souza@mail.usf.edu.br

RESUMO. *Monkeypox virus*, agente causador da varíola do macaco, é um *Orthopoxvirus* de infecção zoonótica aparentemente semelhante ao *Smallpox virus*, causador da varíola humana. A iniciativa das análises através de bioinformática (*in silico*) se deu pelo apelo à rapidez, praticidade e tecnologia que ela confere, além de estar sendo muito requisitada em estudos científicos atuais. Este estudo teve como objetivo identificar, modelar e analisar estruturas proteicas de importância clínica do vírus, através de sites e programas de bioinformática e homologia de proteínas, a fim de trazer conhecimento e material para estudos experimentais futuros. Teve-se como resultados seis proteínas homólogas modeladas e estudadas, sendo uma delas do vírus *Smallpox*, seguindo alguns critérios de seleção. Todas mostraram grande acurácia em relação às proteínas descritas e com regiões de sítios alvo em total estado de conservação, com exceção de uma, onde não foi possível definir este. Foi sugerido que estes modelos são válidos e condizentes com a realidade, servindo de base para estudos com finalidade de desenvolver terapêuticas contra a varíola do macaco, além de que há relação entre a sintomatologia das duas varíolas e a conservação de aminoácidos nas proteínas.

Palavras-chave: Monkeypox, varíola, proteínas, bioinformática, *in silico*, modelagem

ABSTRACT. *Monkeypox virus*, the causative agent of monkeypox, is an *Orthopoxvirus* of zoonotic infection apparently similar to *Smallpox virus*, which causes human smallpox. The initiative for analysis using bioinformatics (*in silico*) was due to the appeal to speed, practicality and technology that it confers, in addition to being in great demand in current scientific studies. This study aimed to identify, model and analyze protein structures of clinical importance of the virus, through sites and programs of bioinformatics and protein homology, in order to bring knowledge and material for future experimental studies. Six homologous proteins were modeled and studied, one of them from the *Smallpox virus*, following some selection criteria. All showed great accuracy in relation to the proteins described and with regions of target sites in full conservation status, with the exception of one, where it was not possible to define this. It was concluded that these models are valid and consistent with reality, serving as a basis for studies with the aim of developing therapies against monkeypox, in addition to the fact that there is a relationship between the symptomatology of the two smallpox and the conservation of amino acids in the proteins.

Keywords: Monkeypox, smallpox, proteins, bioinformatics, *in silico*, modeling

INTRODUÇÃO

A varíola do macaco é considerada uma infecção zoonótica causada pelo agente etiológico *Monkeypox virus* (MPXV), vírus pertencente à família *Poxviridae* e ao gênero *Orthopoxvirus* (BIGARAN, *et al*, 2022). Sabe-se que existe uma semelhança à varíola humana em relação ao período de incubação e manifestações clínicas (BIGARAN, *et al*, 2022).

O nome *Monkeypox* é originário da descoberta inicial do vírus em macacos em um laboratório dinamarquês em 1958 (BUNGE, *et al*, 2022). Os poxvírus contêm moléculas de DNA de fita dupla, lineares e tamanho de 130 a 375 kbp, e se replicam no citoplasma da célula, tendo a forma de tijolos em micrografias eletrônicas (BROOKS, *et al*, 2014). Sua fase de incubação varia entre 6 a 16 dias, podendo se prolongar em até 21 dias (JARDIM, 2022; DAMON, 2011 *apud* BIGARAN *et al*, 2022). Na fase inicial da doença os pacientes têm os primeiros indícios clínicos como febre, dores de cabeça, dores nas costas, dores musculares, linfadenopatia, cefaleia, mialgia e adenomegalia (JARDIM, 2022; DAMON, 2011 *apud* BIGARAN *et al*, 2022). Em seguida, há a aparição de uma ou mais erupções cutâneas e mucosas, com possíveis evoluções para estágios de máculas, pápulas, vesículas, pústulas e crostas, neste último é dado encerrado o período de contaminação (DIAZ, 2021).

O número de casos da varíola do macaco tem aumentado desde a década de 70, na África. A situação epidemiológica no Brasil até 8 de outubro de 2022, segundo o Ministério da Saúde, está avaliada em cerca de 5.610 casos suspeitos e 8.274 casos confirmados. Ao analisar sua distribuição espacial, acerca de casos confirmados, dados mostram que maior concentração tanto em incidência quanto em residência da infecção encontra-se nas Regiões Sudeste e Centro Oeste, respectivamente (BRASIL, 2022).

Diante deste cenário, o presente trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar proteínas de importância estrutural e clínica do *Monkeypox virus* (e do *Smallpox virus* de forma comparativa) e que não possuíam estrutura resolvida, a fim de modelá-las, a partir de análises *in silico* e homologia. A modelagem por homologia consiste em determinar a estrutura tridimensional de uma proteína a partir do alinhamento de sequências de aminoácidos entre a proteína-alvo com uma ou mais proteínas-molde de estrutura conhecida (WEBB e SALI, 2016; CALIXTO, 2013). A importância em modelar, analisar e conhecer a estrutura tridimensional das proteínas está nos possíveis modos de aplicações dos resultados obtidos, a fim de coletar informações acerca de sua conformação e função, de maneira que estes dados auxiliem em pesquisas focadas em desenvolvimento de fármacos ou mecanismos capazes de inibir as funções destas proteínas. Além disso, de forma complementar, o objetivo de associar as diferenças e semelhanças destas proteínas com a sintomatologia padrão da doença.

METODOLOGIA

Busca e Identificação das proteínas

Foi utilizado o site *RCSB Protein Data Bank* (RCSB PDB) - <https://www.rcsb.org/> - BURLEY *et al.*, 2021) e NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> - SCHOCH *et al.*, 2020) a fim de obter a identificação e informações de proteínas, como nome, código, sequência de aminoácidos, organismo pertencente, *Monkeypox* ou *Smallpox*, e situação da estrutura.

Percentual de identidade e cobertura

Foi utilizado a ferramenta BLASTP do site *Basic Local Alignment Search Tool* - <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> - ALTSCHUL *et al.*, 1997), um algoritmo de comparação que busca todas as proteínas já descritas em bancos de dados científicos que possuam qualquer nível de semelhança com a proteína de estudo, identificando proteínas homólogas que apresentam estrutura tridimensional resolvida com alta cobertura e identidade de sequência.

Análise de estrutura secundária de proteínas

Foi realizado teste de predição de estrutura secundária das proteínas homólogas através do site PSIPRED (<https://http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/> - BUCHAN *et al.*, 2019), o qual aponta regiões de *coil*, hélices e folhas-beta de proteínas.

Região de Peptídeo Sinal e Modelagem por Homologia

Em busca de regiões de peptídeo sinal, foi utilizado o site SignalIP 6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-6.0> - TEUFEL *et al.*, 2022). A modelagem por homologia foi feita a partir da ferramenta HHPRED (<https://toolkit.tuebingen.mpg.de/tools/hhpred> - ZIMMERMANN *et al.*, 2018) e os modelos gerados foram validados pelo diagrama de Ramachandran e visualizados no software PyMol (<https://pymol.org/2/> - DELANO, 2002).

Alinhamento de proteínas

Foi utilizado o site Clustal (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/> - CHENNA *et al.*, 2003) com o objetivo de alinhar as sequências de proteínas e identificar aminoácidos conservados nas sequências.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas vinte e uma proteínas: doze proteínas pertencentes ao *Monkeypox virus* e nove proteínas pertencentes ao *Smallpox virus* (vírus causador da varíola humana), através de pesquisa no site NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) e o RCSB PDB (*Protein Data bank*); as informações descritas foram conferidas por estes. Os resultados destas análises mostraram proteínas que possuíam ou não suas estruturas resolvidas, sendo utilizadas para o estudo apenas as que não possuíam. Entre doze proteínas do *Monkeypox virus*, apenas uma já possuía estrutura resolvida (Tabela 1); entre nove proteínas do *Smallpox virus*, seis não tinham estrutura resolvida (Tabela 2).

Tabela 1 – Identificação das Proteínas evidenciando respectivos nomes, códigos dos bancos de dados do site PDB e NCBI e estruturas resolvidas (proteínas do *Monkeypox virus*)

Proteínas	Código	Estrutura Resolvida?
Proteína profilina A42R	4QWO	Sim
Proteína F1L	AF380138_51	Não
Proteína A29L	QJQ40281	Não
Proteína A30L	QJQ40282	Não

Proteína A35R	QJQ40286	Não
Proteína B16R	QJQ40314	Não
Proteína C19L	AF380138_45	Não
Proteína D6L	AAV84864	Não
Proteína E8L	QJQ40248	Não
Proteína H3L	AGR38652	Não
Proteína I1L	AF380138_62	Não
Proteína L1R	QJQ40228	Não

Fonte: Próprio autor.

Tabela 2 – Identificação das Proteínas evidenciando respectivos nomes, códigos dos bancos de dados do site PDB e NCBI e estruturas resolvidas (proteínas do *Smallpox virus*)

Proteínas	Código	Estrutura Resolvida?
Proteína F1L homóloga	5AJK	Sim
DNA topoisomerase 1	2H7G	Sim
Proteína fosfatase	2P4D	Sim
Proteína A29L	CAA49074	Não
Proteína A35R	CAA47509	Não
Proteína B16R	AAA69458	Não
Proteína C19L	CAA48980	Não
Proteína D6L	CAA48947	Não
Proteína E8L	CAA48947	Não

Fonte: Próprio autor.

A partir da análise comparativa de todas as sequências destas proteínas pré-selecionadas, por BLASTP (*Blast de Proteínas*), foi possível encontrar as proteínas com maior identidade de sequência e cobertura (Tabela 3). Isso viabilizou que as análises se restringissem a apenas seis das vinte e uma proteínas encontradas no total (cinco proteínas de *Monkeypox* e apenas uma de *Smallpox*), considerando que estas tiveram sua porcentagem de identidade acima de 80% e a porcentagem de cobertura acima de 70%. Estes dão uma margem aceitável para a modelagem por homologia.

Os peptídeos sinal são sequências curtas de aminoácidos responsáveis pelo endereçamento da proteína, ou seja, direcionam elas para o destino específico, seja ele uma via secretora ou a membrana plasmática (TEUFEL *et al.*, 2022). O site SignalP evidenciou essas regiões em duas das seis proteínas destacadas (Tabela 3), sendo que na proteína B16R essa região se encontra entre o primeiro e o aminoácido de número 23, e na proteína D6L encontra-se entre o primeiro e o de número 20.

Tabela 3 – Identificação de proteínas homólogas com maior percentual (%) de Identidade e Cobertura juntamente com a identificação de regiões de Peptídeo Sinal, Organismo pertencente e seu código do banco de dados do site PDB

Homólogas/Proteínas de estudo	Identidade	Cobertura	Peptídeo sinal	Organismo
RNA Polimerase/F1L	98,96%	100%	Não	<i>Vaccinia virus WR/3ER9</i>
Proteína de ligação a IFN-alfa/beta C12R/B16R	88,48%	93%	Sim	<i>Ectromelia virus Moscow/3OQ3</i>

Proteína de ligação à IL-18/D6L	94,34%	84%	Sim	<i>Ectromelia virus/3F62</i>
Proteína de membrana/envelope - homóloga D8/E8L	93,89%	86%	Não	<i>Vaccinia virus/4E9O</i>
Proteína de envelope - H3/H3L	93,25%	73%	Não	<i>Vaccinia virus WR/5EJ0</i>
Proteína de fusão de membrana (entrada do vírus) - homóloga A26/A29L	91,74%	72%	Não	<i>Vaccinia virus WR/6A9S</i>

Fonte: Próprio autor.

As proteínas homólogas selecionadas tiveram sua composição de estrutura secundária analisada pelo PSIPRED, no qual as regiões de *coil*, hélices-alfa e fitas-beta foram identificadas e quantificadas. Como o esperado, as estruturas secundárias mostraram-se similares em sua maior parte em comparação às estruturas já conhecidas e visualizadas no *Protein Data Bank* (PDB), obedecendo, nesta similaridade, o percentual de cobertura de cada proteína.

Alinhamentos múltiplos de sequências mostraram aminoácidos conservados nas proteínas homólogas, sugerindo fortemente que desempenham a mesma função que as proteínas *in vivo*.

Proteínas modeladas por homologia

A proteína F1L teve como homóloga a proteína RNA polimerase de *Vaccinia virus*, cepa WR, a qual é crucial para a maturação do vírion, e mostrou possuir domínios N-terminal, central ou catalítico e C-terminal, sendo que o sítio ativo se encontra na fenda do domínio catalítico com o C-terminal (MOURE, *et al*, 2006). Este sítio ativo permaneceu conservado na estrutura modelada e foram destacados os aminoácidos pertencentes à região (Figura 1).

A proteína B16R teve como homóloga uma proteína de ligação a IFN-alfa/beta (C12R) de *Ectromelia virus Moscow*, porém não foram encontradas publicações acerca deste, sendo que o artigo da estrutura no site *Protein Data Bank* (PDB) está a ser publicado. Porém, sabendo que se trata de uma proteína ligante de IFN-alfa/beta (glicoproteínas imunes), fica relatado a necessidade de mais estudos em nível molecular e farmacológico, podendo ser um potencial alvo de terapêuticas. Apesar disso, sua estrutura foi modelada e apresentada (Figura 1).

A proteína A29L, a única da *Smallpox* analisada no presente estudo, e sua homóloga, uma proteína de fusão de membrana (auxílio da entrada do vírus na célula) (A26), se deriva do *Vaccinia virus WR* e é sensível ao ácido dos endossomos (CHANG, *et al*, 2019). Seu domínio N-terminal, encontrado do aminoácido 1 ao 75, é uma região ácido-sensível responsável por regular a fusão da membrana (CHANG, *et al*, 2019). A estrutura dessa proteína mostra que as histidinas (em posição 48 e 53) (Figura 1) desempenham papel importante na infectividade do vírus, onde, quando a sua interação com outros aminoácidos de sua própria estrutura é afetada, esta infectividade do vírus é perdida (CHANG, *et al*, 2019). E em pH baixo, foi analisado que há mudanças conformacionais na proteína através destas histidinas (CHANG, *et al*, 2019). Estes

dois aminoácidos se conservam no modelo estruturado, como apresentado em literatura, e mostra um potencial alvo terapêutico por possuir um papel fundamental no ciclo de um vírus, além de abrir caminho para novos estudos acerca da análise da manutenção ou não desta proteína também no *Monkeypox virus* (diferenças na sintomatologia e virulência entre os dois vírus).

A proteína D6L teve como homóloga uma proteína de ligação à IL-18 (de *Ectromelia virus*), uma citocina humana com papel imunoregulador (KRUMM, *et al*, 2008). Esta proteína se conserva em todos os poxvírus e desempenha um papel de virulência, permitindo o escape das regulações imunes naturais (KRUMM, *et al*, 2008). Possui três domínios e seu sítio ativo é composto por dezessete aminoácidos (KRUMM, *et al*, 2008). Os quais se conservam de forma idêntica no modelo estruturado (Figura 2).

A proteína E8L possui homologia com uma proteína de envelope (D8) (derivada de *Vaccinia virus*), sendo uma proteína antigênica muito importante, contando com inúmeros testes de ligação antígeno-anticorpo (MATHO, *et al*, 2012). Seu sítio ativo é relativamente grande e mantém-se no modelo estruturado (Figura 2).

A proteína H3L também possui como homóloga uma proteína de envelope (H3) e que é derivada do vírus *Vaccinia*, sendo que é expressa tardiamente na infecção e encontrada como proteína de membrana na superfície das partículas do vírus maduro (SINGH, *et al*, 2016). Ela se insere nas membranas pós tradução e é “amarrada” por uma região hidrofóbica, sendo que assim pode interagir com as membranas celulares por meio de seu domínio hidrofóbico C-terminal, sendo assim, outro antígeno que permite a entrada do vírus nas células e um dos grandes alvos do sistema imunológico (SINGH, *et al*, 2016). O sítio onde ocorrem ligações de moléculas aceptoras está destacado e mostra que há conservação total dos aminoácidos (Figura 2).

Comparando com a literatura é possível sugerir fortemente que todas as proteínas analisadas possuem elevado grau de confiabilidade, tanto estrutural como funcionalmente, e podem servir para serem posteriormente estudadas, analisadas e finalmente terem sua estrutura experimentalmente concluídas. Também, considerando que a região central do genoma do MPXV (*Monkeypox virus*) que codifica enzimas essenciais é 96,3% idêntica ao do vírus da *Smallpox* e que, no entanto, as regiões terminais do genoma do MPXV, que codificam fatores de virulência, diferem substancialmente (ANDRADE, 2012 *apud* GIULIO & ECKBURG, 2004), sugere-se uma relação entre a semelhança na sintomatologia da *Monkeypox* com a *Smallpox*, porém com a primeira sendo substancialmente menos letal. Isso é corroborado ao saber que as proteínas da *Monkeypox*, assim como as da *Smallpox*, tiveram seus modelos sendo de maior parte do vírus *Vaccinia* (também um poxvírus) - de espécie diferente, porém estreitamente relacionado ao vírus da varíola humana e que serviu de amostra vacinal contra ela -, e que outra parte foi do vírus *Ectromelia*, o causador da varíola dos camundongos, mostrando como os poxvirus mantém grande similaridade entre eles e a conservação de algumas proteínas.

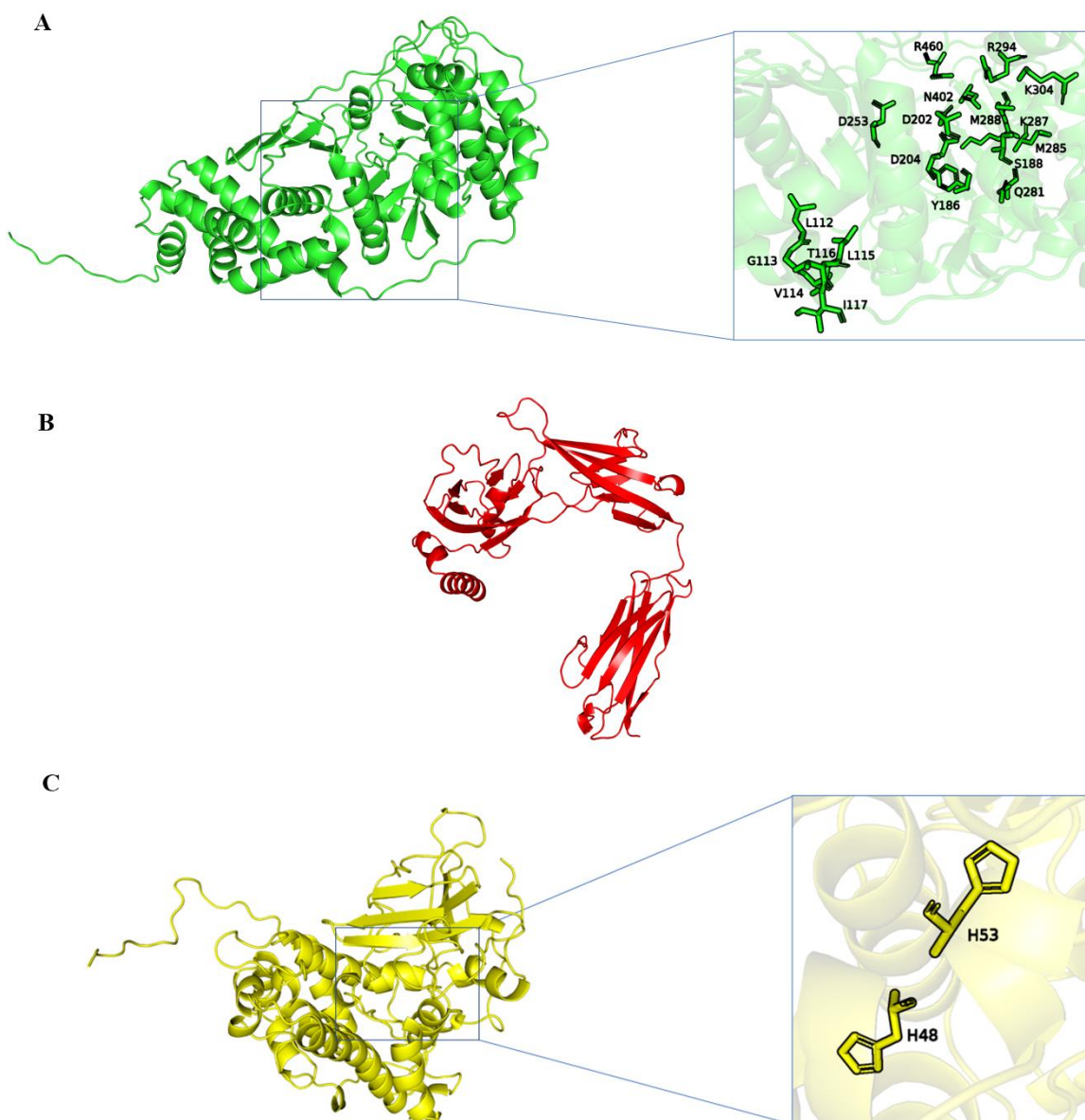
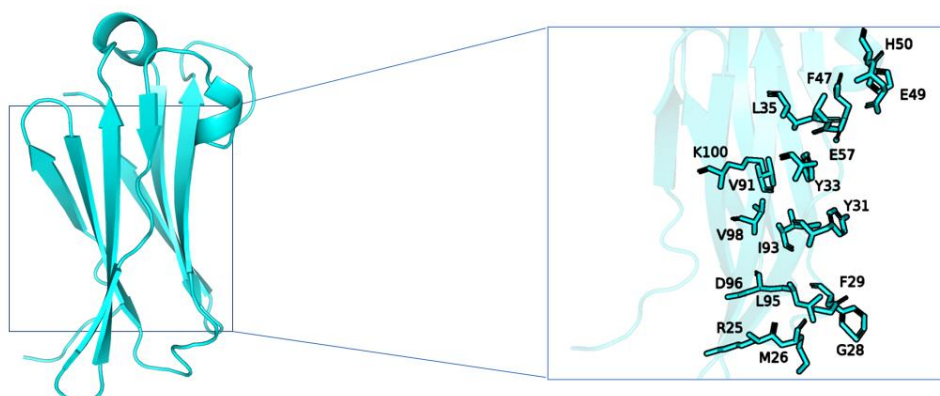
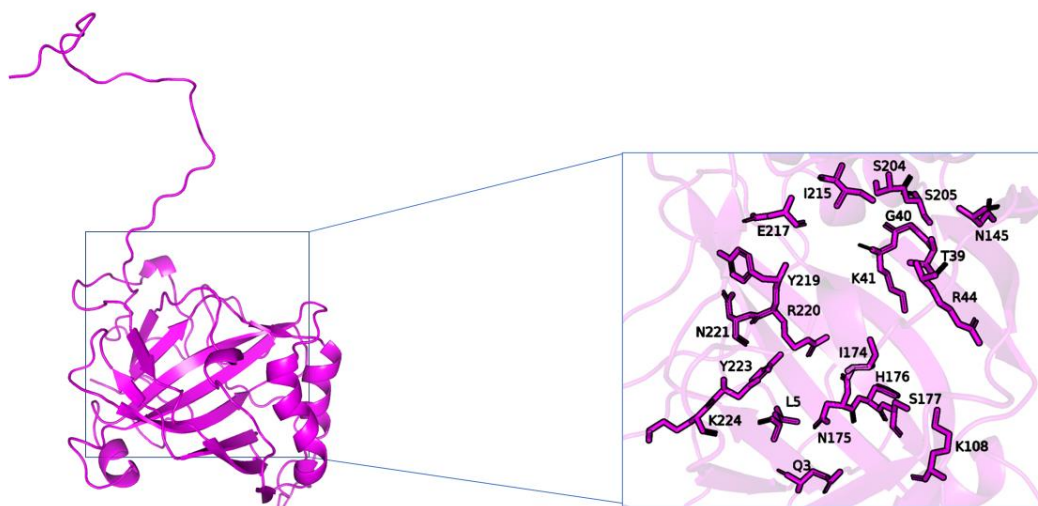


Figura 1 - Estruturas das proteínas modeladas por homologia (proteínas separadas por tamanho - maior quantidade de aminoácidos). A: RNA Polimerase (F1L) (*Monkeypox*) com seus aminoácidos do sítio ativo destacados e ampliados à direita; **B:** Proteína de ligação a IFN-alfa/beta C12R (B16R) (*Monkeypox*), onde não foi possível destacar sítios de ligação por inconclusão bibliográfica; **C:** Proteína de fusão de membrana (entrada do vírus) - A26 (A29L) (*Smallpox*) com seus aminoácidos do sítio ativo destacados e ampliados à direita. (Fonte: próprio autor).

D



E



F

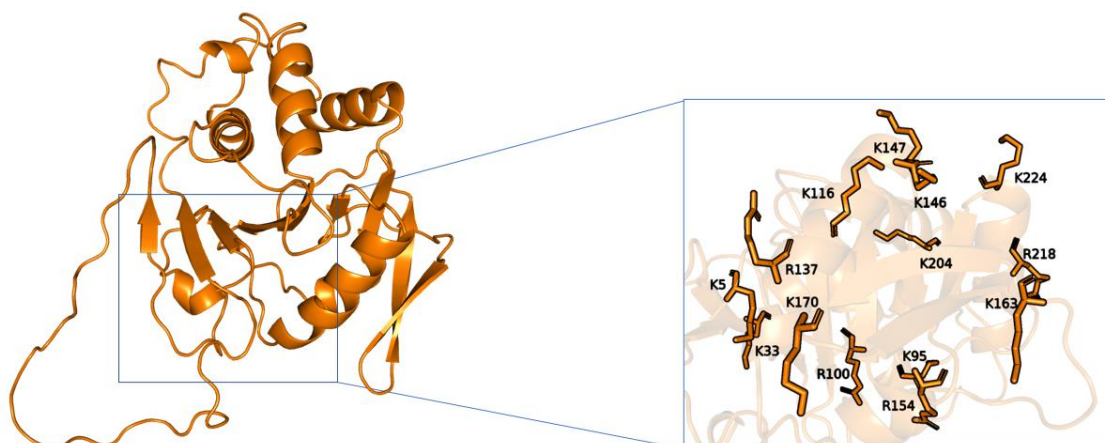


Figura 2 - Estruturas das proteínas modeladas por homologia (proteínas separadas por tamanho - menor quantidade de aminoácidos). D: Proteína de ligação à IL-18 (D6L) (*Monkeypox*) com seus aminoácidos do sítio ativo destacados e ampliados à direita; **E:** Proteína de membrana/envelope - D8 (E8L) (*Monkeypox*) com seus aminoácidos do sítio ativo destacados e ampliados à direita; **F:** Proteína de envelope - H3 (H3L) (*Monkeypox*) com seus aminoácidos do sítio ativo destacados e ampliados à direita. (Fonte: próprio autor).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo é possível sugerir que as proteínas analisadas conservam aminoácidos importantes para a funcionalidade das proteínas originais, além de suas homologias derivarem de outros poxvírus. Desse modo, estas proteínas podem exercer atividades iguais ou semelhantes às das proteínas homólogas. Isso também vale quando relacionado à sintomatologia ou manifestações clínicas, uma vez que são proteínas semelhantes e conservam as mesmas regiões importantes.

Ressalta-se a importância de estudos complementares (em especial à proteína B16R, a qual não foi possível estabelecer a região de importância), para o avanço de terapêuticas acerca do combate à *Monkeypox* e os poxvírus em geral, dada sua importância clínica e histórica, e de serem constantes potenciais de novos surtos, endemias ou mesmo pandemias. Além disso, que a predição de estruturas por bioinformática promove a otimização dos estudos proteômicos.

REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, Stephen F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: new generation of protein a database search programs. **Nucleic acids research**, v. 25, n. 17, p. 3389-3402, 1997.

ANDRADE, Kétyllen. Monkeypox virus associado à infecções humanas. **Monografia**, p. 25, 2012.

BIGARAN, Larissa Toloy et al. A literature review on the clinical and epidemiological aspects of Monkeypox. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e23411931612-e23411931612, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Saúde divulga boletim epidemiológico especial sobre a varíola dos macacos. **Boletim Epidemiológico de Monkeypox nº 8 (COE)**, n. 8, p. 1-17, 2022.

BROOKS, Geo F. et al. **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg-26**. AMGH Editora, 2014.

BUCHAN, D. W. A.; JONES, D. T. The PSIPRED Protein Analysis Workbench: 20 years on. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. W1, p. W402–W407, 26 abr. 2019.

BUNGE, Eveline M. et al. The changing epidemiology of human monkeypox—A potential threat? A systematic review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 16, n. 2, p. e0010141, 2022.

BURLEY, S. K. et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D437–D451, 19 nov. 2020.

CALIXTO, Paulo Henrique Matayoshi. Aspectos gerais sobre a modelagem comparativa de proteínas. **Ciência Equatorial**, v. 3, n. 1, 2013.

CHANG, Hung-Wei et al. Vaccinia viral A26 protein is a fusion suppressor of mature virus and triggers membrane fusion through conformational change at low pH. **PLoS pathogens**, v. 15, n. 6, p. e1007826, 2019.

CHENNA, Ramu et al. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. **Nucleic acids research**, v. 31, n. 13, p. 3497-3500, 2003.

DA FONSECA, Flávio G. et al. Characterization of the vaccinia virus H3L envelope protein: topology and posttranslational membrane insertion via the C-terminal hydrophobic tail. **Journal of Virology**, v. 74, n. 16, p. 7508-7517, 2000.

DAMON, Inger K. Status of human monkeypox: clinical disease, epidemiology and research. **Vaccine**, v. 29, p. D54-D59, 2011.

DELANO, W.L. **The PyMol Molecular Graphics System DeLano Scientific**, 2002.

DIAZ, J. H. The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, Management, Prevention, and Control of Increasing Human Infections with Animal Orthopoxviruses. **Wilderness & Environmental Medicine**, 32(4), 528–536, 2021.

JARDIM, Fabiana. Varíola dos macacos: Novo surto global. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 34, n. 1, p. 7-8, 2022.

GIULIO, Daniel B Di; Eckburg, Paul B. Human monkeypox: an emerging zoonosis. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 4, p. 15-25, jan., 2004.

HALANI, Sheliza; MISHRA, Sharmistha; BOGOCH, Isaac I. The monkeypox virus. **CMAJ**, 2022.

KABUGA, Auwal I.; EL ZOWALATY, Mohamed E. A review of the monkeypox virus and a recent outbreak of skin rash disease in Nigeria. **Journal of Medical Virology**, v. 91, n. 4, p. 533-540, 2019.

KRUMM B, MENG X, LI Y, XIANG Y, DENG J. Structural basis for antagonism of human interleukin 18 by poxvirus interleukin 18-binding protein. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2008;

MATHO MH, MAYBENO M, BENHNIA MR, et al. Structural and biochemical characterization of the vaccinia virus envelope protein D8 and its recognition by the antibody LA5. **J Virol**. 2012;

MOORE MJ, Rathish B, Zahra F. **Monkeypox**. 2022 Jul 16. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; Jan. 2022.

MOURE CM, BOWMAN BR, GERSHON PD, QUIOCHO FA. Crystal structures of the vaccinia virus polyadenylate polymerase heterodimer: insights into ATP selectivity and processivity. **Mol Cell**. 2006;

NILES, EDWARD G.; SETO, JANNY. Vaccinia virus gene D8 encodes a virion transmembrane protein. **Journal of virology**, v. 62, n. 10, p. 3772-3778, 1988.

SCHOCH, C. L. et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **Database**, v. 2020, 1 jan. 2020.

SINGH, Kavita et al. The vaccinia virus H3 envelope protein, a major target of neutralizing antibodies, exhibits a glycosyltransferase fold and binds UDP-glucose. **Journal of Virology**, v. 90, n. 10, p. 5020-5030, 2016.

SOUSA, Álvaro Francisco Lopes de; SOUSA, Anderson Reis de; FRONTEIRA, Inês. Varíola de macacos: entre a saúde pública de precisão e o risco de estigma. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 75, 2022.

TEUFEL, Felix et al. SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. **Nature biotechnology**, p. 1-3, 2022.

WEBB, Benjamin; SALI, Andrej. Comparative protein structure modeling using MODELLER. **Current protocols in bioinformatics**, v. 54, n. 1, p. 5.6. 1-5.6. 37, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Surveillance, case investigation and contact tracing for monkeypox: interim guidance, 25 August 2022. **World Health Organization**, 2022.

ZIMMERMANN, Lukas et al. A completely reimplemented MPI bioinformatics toolkit with a new HHpred server at its core. **Journal of molecular biology**, v. 430, n. 15, p. 2237-2243 2018.