NeoArgos-tools: Un Pipleline de Detección *In-silico* de Neoantígenos de Cáncer para el Desarrollo de Vacunas Personalizadas

Vicente Machaca e Ývan Túpac

12 de octubre de 2023

Propuesta de la Investigación

1. Título

NeoArgos-tools: Un Pipleline de Detección *In-silico* de Neoantígenos de Cáncer para el Desarrollo de Vacunas Personalizadas.

2. Lineas de investigación

Inteligencia Artificial y Áreas transversales.

3. Áreas de conocimiento OCDE

Área	Ciencias naturales
Sub áreas	Informática y Ciencias de la Información
Disciplina	Bioinformática
URI	https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.02.03

4. Breve estado de la cuestión

El cáncer representa el mayor problema de salud mundial (Siegel et al., 2023). Además, según el instituto de investigación del cáncer del Reino Unido, se ha registrado más de 18 millones de nuevos casos y 10 millones de muertes en el 2020 (UK, 2023b). Más alarmante aún, se predice que habrá 28 millones de nuevos casos por año alrededor del 2040, si la incidencia se mantiene estable y el crecimiento de la población y el envejecimiento continúan de acuerdo con las tendencias recientes (UK, 2023a). Esto representa un aumento del 54.9 % con respecto a 2020 y se espera que sea mayor en hombres (aumento del 60.6 %) que en mujeres (aumento del 48.8 %). A todo esto, se sabe que los métodos tradicionales basados en cirugías, radioterapias y quimioterapias tienen baja efectividad y adversos efectos secundarios (Peng et al., 2019). En este contexto, surge el desarrollo de la inmunoterapia de cáncer, que tiene como objetivo estimular el sistema inmunológico de un paciente (Borden et al., 2022). Existen varios tratamientos como: vacunas personalizadas; terapias de células T adoptivas; e inhibidores de puntos de control inmunológico. De estos, las vacunas basadas en **neoantígenos** han demostrado un gran potencial, al potenciar las respuestas de las células T y es considerada la de mayor probabilidad de éxito (Borden et al., 2022). También, los neantígenos son utilizados en la terapia de bloqueo de puntos de control inmunológico. En este sentido, los neoantígenos son considerados biomarcadores predictivos y objetivos de tratamiento sinérgico en la inmunoterapia del cáncer (Fang et al., 2022).

El desarrollo de vacunas personalizadas contra el cáncer es un proceso largo y depende de la correcta detección de neoantígenos (ver Figura 1). Estos neoantígenos son péptidos que solo están presentes en las células cancerosas. De esta forma, el objetivo de un tratamiento basado en vacunas personalizadas, es entrenar a los linfocitos del paciente (células T) para reconocer los neoantígenos y activar el sistema inmunológico (Mattos et al., 2020; Peng et al., 2019). El proceso se resume en la Figura 1b y consiste en:

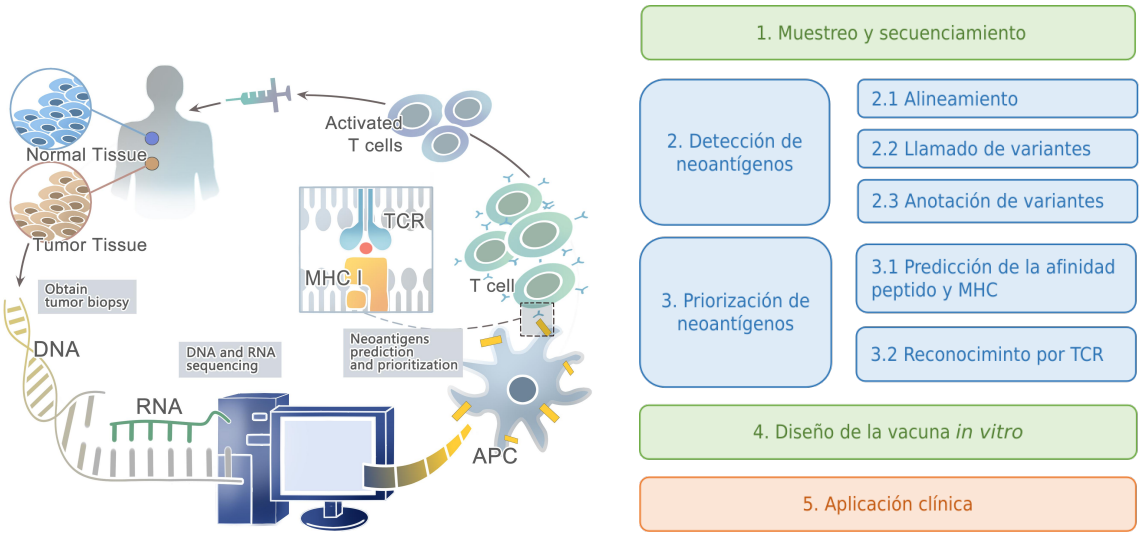
1. Obtener muestras de tejido canceroso y saludable, Luego se secuencia ambos tejidos para obtener el ADN y/o ARN. Algunas propuestas incluyen información inmunopeptidoma de *Mass Spectrometry* (MS).

2. Etapa *in-silico*, aquí realiza alineamiento de secuencias, se desarrolla un *llamado de variantes* para detectar las variantes y/o mutaciones; y se anotan dichas variantes (detección de posibles neoantígenos). Esta etapa cuenta con varias herramientas con buen desempeño.

3. En esta etapa *in-silico* se priorizan neoantígenos. Esta etapa es crucial y ha tenido bastante investigación los últimos años debido a su complejidad y la baja efectividad de propuestas actuales. Aquí, se toman los neoantígenos candidatos (péptidos) de la etapa anterior y se predice su afinidad con el *Major Histocompatibility Complex* (MHC), este problema se conoce como *pMHC binding*. Luego, se evalúa la afinidad del pMHC para enlazarse al T-cell Receptor (TCR). Al finalizar esta etapa, se obtienen los neoantígenos.

4. En esta etapa *in-vitro*, se induce en laboratorio el a las células T del paciente a reconocer los neoantígenos. Aquí, se desarrollan las vacunas. Generalmente, esta etapa es desarrollada por biotecnólogos y biólogos.

5. Finalmente, el médico oncólogo realiza la evaluación clínica de la vacuna.



(a) Proceso de desarrollo de vacunas.

(b) *Pipeline* para el desarrollo de vacunas.

Figura 1: Marco de desarrollo para la elaboración de vacunas personalizadas contra el cáncer basadas en neoantígenos. (a) muestra un panorama general de cada etapa. (b) detalla cada fase enfatizando el desarrollo *in-silico*. Modificado de Han et al. (2020).

La detección *in-silico* de neoantígenos se basa en la segunda y tercera etapa de la Figura 1b. En este contexto, debido a la complejidad del proceso y la cantidad de métodos existentes, se han desarrollado software y *pipelines* para facilitar el uso de estas herramientas. En la Tabla 1, presentamos los *pipelines* publicados a partir del 2018. Estos *pipelines* utilizan diferentes tipos de información como entrada, así PGV Pipeline (Rubinsteyn et al., 2018) y PEPPRMINT (Zhou et al., 2023) utilizan DNA-seq; sin embargo, otras herramientas como PGNneo (Tan et al., 2023), NAP-CNB (Wert-Carvajal et al., 2021), NaoANT-HILL (Coelho et al., 2020), ProGeo-neo (Li et al., 2020), ScanNeo (Wang et al., 2019) y Neopepse (Kim et al., 2018) utilizan RNA-seq porque

estas secuencias encapsulan mejor la información de mutaciones y *non-coding regions* de ADN (Tan et al., 2023).

Con el objetivo de reducir la complejidad de los *pipelines*, otras propuestas han optado por utilizar Variant Calling Format (VCF), como entrada. Estos archivos, contienen información de las mutaciones y son obtenidas a partir de métodos de alineamiento y llamado de mutaciones (etapas 2.1 y 2.2 de la Figura 1b). De esta forma, herramientas como Valid-Neo (Terai et al., 2022), HLA3D (Li et al., 2022), Neoepiscope (Wood et al., 2020) , pVACtools (Hundal et al., 2020) y NeoPredPipe (Schenck et al., 2019), reducen la cantidad de herramientas utilizadas en la deteccion de neoantígenos; sin embargo, los resultados obtenidos, pueden ser inferiores comparado con herramientas que usan DNA-seq y RNA-seq.

Adicionalmente, para una correcta detección de neoantígenos, es necesario contar con la secuenciación de proteínas Major Histocompatibility Complex (MHC) o Human Leukocyte Antigens (HLA). Es necesario contar con estas proteínas porque, son utilizadas para predecir la unión entre posibles neoantígenos al MHC (pMHC: etapa 3.1 de la Figura 1b). Estas proteínas son codificadas por genes altamente polimórficos, esto proporciona una variación sustancial en la unión de péptidos (neoantígenos), influyendo de esta manera en el conjunto de péptidos presentados a las células T. (Abualrous et al., 2021). En este contexto, los *pipelines* Valid-NEO (Terai et al., 2022) y NeoPredPipe (Schenck et al., 2019) y Neopepsee (Kim et al., 2018) solicitan como entrada estas proteínas (HLA); mientras que las otras predicen esta información a partir de DNA-seq. Desde un punto de vista de usabilidad, obtener los tipos de HLA, implica un esfuerzo inncesario para el usuario.

En resumen, el desarrollo de *pipelines* para la detección de neoantígenos es un campo de investigación significativo y de gran envergadura. Además, se está viendo favorecido por el crecimiento exponencial de la información genómica y los avances recientes en inteligencia artificial. Esto ha generado una fuerte demanda de investigaciones interdisciplinarias que integran las disciplinas de la ciencia de la computación y la biología molecular.

Tabla 1: Lista de *pipelines* desarrollados desde el 2018 hasta la actualidad para la detección de neoantígenos.

Nombre	**Año**	**Ref.**	**Entrada**	**Salida**
PEPPRMINT	2023	Zhou et al. (2023)	DNA-seq	Neoantígenos
PGNneo	2023	Tan et al. (2023)	VCF, RNA-seq y MS data	Neoantígenos
Valid-NEO	2022	Terai et al. (2022)	VCF y HLA	Neoantígenos
HLA3D	2022	Li et al. (2022)	VCF, HLA, SMG y HBV	Neoantígenos
NAP-CNB	2021	Wert-Carvajal et al. (2021)	RNA-seq	Neoantígenos
NeoANT-HILL	2020	Coelho et al. (2020)	RNA-seq y VCF	Neoantígenos y gene expression
Neoepiscope	2020	Wood et al. (2020)	VCF y BAM	Neoantígenos y mutaciones
ProGeo-neo	2020	Li et al. (2020)	RNA-seq y VCF	Neoantígenos
pVACtools	2020	Hundal et al. (2020)	VCF	Neoantígenos
NeoPredPipe	2019	Schenck et al. (2019)	VCF y HLA	Neoantígenos y variant annotation
ScanNeo	2019	Wang et al. (2019)	RNA-seq	Neoantígenos
Neopepsee	2018	Kim et al. (2018)	RNA-seq, VCF, HLA	Neoantígenos y gene expression
PGV Pipeline	2018	Rubinsteyn et al. (2018)	DNA-seq	Neoantígenos

5. Planteamiento del problema

A pesar de varios esfuerzos en el desarrollo de *pipelines* y algoritmos, menos del 5 % de neoantígenos detectados activan el sistema immune (Mattos et al., 2020; Mill et al., 2022; Bulik-Sullivan et al., 2019; Bassani-Sternberg et al., 2015; Yadav et al., 2014). Según los autores de los *pipelines* las razones pueden ser:

1. La no inclución en conjunto de varias fuentes de información como DNA-seq, RNS-seq, y datos de *Mass Spectrometry* (MS) (Kim et al., 2018).
2. Uso herramientas de bajo desempeño para la predicción del enlace péptido-MHC (pMHC) (etapa 3.1 de la Figura 1b). La mayoria de aplicaciones, se basa en el uso de MHCFlurry (O'Donnell et al., 2020) y NetMHCpan4.1 (Reynisson et al., 2020). En la actualidad, se cuenta con herramientas de mejor desempeño basado en transformers (Arceda, 2023).
3. Para la etapa 3.2 de la Figura 1b, los autores no consideran la predicción del pMHC al TCR, la mayoria comenta incluir esta tarea en trabajos futuros (Rubinsteyn et al., 2018).
4. Finalmente y quizas la mas importante es no utilizar información de eventos de *alternative splicing*, variaciones estructurales en el ADN y las mutaciones de fusión de genes, está información esta fuertemente relacionada con varios tipos de cancer (Wood et al., 2020).

6. Objetivos de la investigación

6.1. Objetivo general

Desarrollar el *pipeline* NeoArgos-tools de detección *in-silico* de neoantígenos de cáncer para el desarrollo de vacunas personalizadas.

6.2. Objetivos específicos

1. Analizar que fuentes de información o datos de entrada recibirá el *pipeline*. Se evaluará DNA-seq, RNA-seq, VCF y datos de MS.
2. Analizar que herramientas se van a utilizar para la primera etapa del *pipeline*, referente al alineamiento de secuencias, llamado de variantes y anotación de variantes (predicción de posibles neoantígenos).
3. Analizar el uso de información de variaciones estructurales del ADN y mutaciones de fusión de genes. Se evaluará el desempeño de *Arriba* (Uhrig et al., 2021) y FusionQ (Liu et al., 2013).
4. Implementar un modelo basado en transformers para la predicción del enlace de los neoantígenos al MHC (pMHC). Ya se cuenta con resultados previos de una propuesta que es superior a otras del estado del arte (Arceda, 2023).
5. Integrar las herramientas evaluadas y seleccionadas en un contenedor con Docker.
6. Comparar el desempeño del *pipeline* con otras herramientas del estado del arte.

7. Importancia de la investigación

El cáncer es el mayor problema de salud mundial; sin embargo, los métodos tradicionales basados en cirugías, radioterapias y quimioterapias tienen baja efectividad (Peng et al., 2019). En este contexto, los neoantígenos son factores clave en el desarrollo de vacunas contra el Cáncer (Borden et al., 2022; Chen et al., 2021; Gopanenko et al., 2020). Si se logra desarrollar un método con un buen desempeño, la inmunoterapia del cáncer basada en el desarrollo de vacunas personalizadas, podría utilizarse como alternativa a otros métodos como radioterapias y quimioterapias.

En el área de ciencia de la computación existen dos contribuciones importantes. Primero en el campo inteligencia artificial y específicamente en el tópico de *deep learning*, el desarrollo de

un método basado en *transformers* para la predicción del enlace pMHC, representa una contribución importante y demuestra que este tipo de modelos no solo pueden utilizarse en campos del procesamiento natural del lenguaje (como lo hace chatGPT) sino también en otros ámbitos como la Immunoinformática. Luego, el desarrollo propio del *pipeline*, representa un reto en la ingeniería de software, resolviendo problemas de integración, alto costo computacional, heterogeneidad y modularidad. De esta forma, se tiene como objetivo desarrollar un *pipeline* con mejor desempeño a otros del estado del arte al incorporar información de Mass Spectrometry (MS) y fusión de genes.

Finalmente, tener una aplicación de detección de neoantígenos desarrollada por la Universidad La Salle y la Universidad Católica San Pablo, realza el nombre de ambas universidades y demuestra que gracias al trabajo en conjunto se puede desarrollar aplicaciones de gran envergadura aplicadas a campos multidisciplinarios y nos alinea a grandes instituciones como el European Molecular Biology Laboratory (EMBL) y el National Institutes of Health (NIH).

8. Diseño y secuencia lógica de la investigación

Hemos dividido la propuesta en dos módulos NeoArgosMut y NeoArgosAntigen. NeoArgosMut, se enfoca en el llamado y anotación de variantes, como salida se obtiene neoantígenos candidatos. Luego, NeoArgosAntigen, prioriza estos antígenos, al predecir su afinidad al MHC (pMHC) y luego la afinidad del pMHC al TCR (pMHC-TCR). En la Figura 2, mostramos estos módulos. Adicionalmente, ya contamos con resultados previos para NeoArgosAntigen de dos trabajos anteriores: hemos desarrollamos una revisión sistemática de la literatura (Machaca et al., 2023) y también hemos experimentado el *transformers* y *transfer learning* para la predicción del enlace pMHC (Arceda, 2023). Actualmente, contamos con modelos con un desempeño superior a otros del estado del arte.

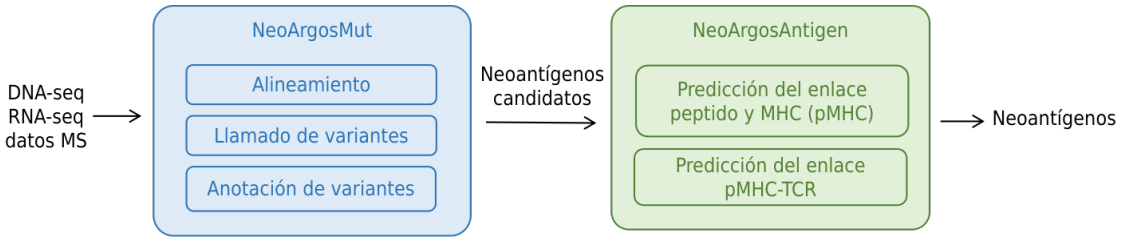


Figura 2: Representación de NeoArgosMut y NeoArgosAntigen para la detección de neoantígenos

8.1. NeoArgosMut

NeoArgosMut, se encarga de recibir como entrada datos de DNA-seq, RNA-seq y Mass Spectrometry (MS). Luego se plantea alinear dichas secuencias con uso de las herramientas como BWA-MEM (Li, 2013), Bowtie2 (Langmead and Salzberg, 2012). Adicionalmente, se usará STAR (Dobin et al., 2013) porque alinea mejor muestras tumorales (Rubinsteyn et al., 2018). Como salida a esta etapa, se optiene archivos de alineamiento BAM.

Para el llamado de variantes se utilizará MuTect (Cibulskis et al., 2013) y Strelka (Saunders et al., 2012). Luego, se utilizará la unión de la información de ambos métodos tal como lo hizo Zhou et al. (2023) y Rubinsteyn et al. (2018). Como salida, se obtienen archivos VCF. Adicionalmente a otros *pipelines*, utilizaremos información sobre la fusión de genes que se obtendrán de las herramientas *Arriba* (Uhrig et al., 2021) y FusionQ (Liu et al., 2013). Esta forma parte de la contribución de este trabajo, porque se sabe que la mayoría de *pipelines* tienen un bajo desempeño debido ausencia de información en su procesos de variantes estructurales y fusión de genes (Wood et al., 2020). Finalmente, también se va a utilizar MaxQuant (Cox and Mann, 2008) para identificar las mutaciones a nivel de péptidos con ayuda de información de Mass Spectrometry (MS), esto también forma parte de la contribución del trabajo al incluir fuentes adicionales de información como MS.

Luego corresponde a la anotación de variantes, en esta etapa se toman los archivos en formato VCF y se obtienen los péptidos generados a partir de estas variaciones o mutaciones. Estos péptidos representan los posibles neoantígenos. Para está tarea se va a utilizar Isovar y ANNOVAR (Wang et al., 2010).

Finalmente, para obtener el tipo de HLA del paciente se va a utilizar la herramienta OptiType (Szolek et al., 2014). Otros *pipelines* optan por solicitar al usuario la información del tipo de HLA; sin embargo, obtener el HLA a partir de las mismas secuencias de ADN, mejora considerablemente el desempeño general del pipeline y la accesibilidad del usuario.

8.2. NeoArgosAntigen

NeoArgosAntigen, prioriza los neoantígenos detectados previamente por NeoArgosMut. Esta priroización la realiza en base a la predicción del enlace de los neoantígenos al MHC y posteriormete al TCR. El módulo se divide en dos partes: la predicción del enlace pMHC y la afinidad del pMHC al TCR. Ambas toman como entrada dos secuencias de proteínas, luego se necesita predecir su afinidad (regresión) o el enlace (clasificación). En resumen, las proteínas se pueden representar como $p = \{A, ..., Q\}$ y $q = \{A, N, ..., Q, E, G\}$. Luego, tenemos que predecir la probabilidad del enlace o afinidad entre p y q.

Para el problema de predicción del enlace pMHC se va a utilizar modelos BERT pre-entrenados y se realizará *fine-tuning* agregando un bloque de capas BiLSTM. Luego se volverá a entrenar estos modelos con una base de datos compuesta por muestras de Zhang et al. (2022) y Gfeller et al. (2023). Se propone la arquitectura de la Figura 3. Como se puede ver, la entrada son dos secuencias de proteínas: el péptido y el MHC. Luego, el modelo basado en transformers está compuesto por un modelo pre-entrenado y un bloque de capas BiLSTM, esta propuesta se basó en el trabajo de Zhang et al. (2022). En esta etapa también. se va a evaluar el desempeño de varios modelos BERT pre-entrenados como: TAPE (Rao et al., 2019), ProtBERT-BFD (Elnaggar et al., 2021) y ESM2 (Lin et al., 2023) cada una con 92 millones, 420 millones, 650 millones parámetros respectivamente. Adicionalmente, TAPE fue entrenado con 30 millones de proteínas, ProtBERT-BFD con 2122 millones de proteínas y 60 millones de proteínas para ESM-2. En base a trabajos anteriores propios, sabemos que el uso de TAPE y el modelo más pequeño de ESM2 tienen buenos resultados (Arceda, 2023).

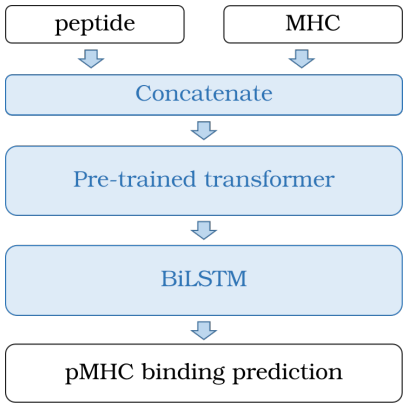


Figura 3: Propuesta: Utilizamos el modelo de transformer ESM2 seguido de BiLSTM para predecir el enlace pMHC.

La misma arquitectura de la Figura 3, se utilizará para la predicción del enlace pMHC y TCR (pMHC-TCR) según recomendaciones de Li et al. (2020) y Myronov et al. (2023). Sin embargo, se va reentrenar el modelo para adaptarse a este nuevo problema, se utilizarán muestras de Li et al. (2020) y la base de datos de VDJdb (Shugay et al., 2018).

Referencias

Abualrous, E. T., Sticht, J., and Freund, C. (2021). Major histocompatibility complex (mhc) class i and class ii proteins: impact of polymorphism on antigen presentation. *Current Opinion in Immunology*, 70:95–104.

Arceda, V. E. M. (2023). Neoantigen detection using transformers and transfer learning in the cancer immunology context. In *International Conference on Practical Applications of Computational Biology & Bioinformatics*, pages 97–102. Springer.

Bassani-Sternberg, M., Pletscher-Frankild, S., Jensen, L. J., and Mann, M. (2015). Mass spectrometry of human leukocyte antigen class i peptidomes reveals strong effects of protein abundance and turnover on antigen presentation*[s]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 14(3):658–673.

Borden, E. S., Buetow, K. H., Wilson, M. A., and Hastings, K. T. (2022). Cancer neoantigens: Challenges and future directions for prediction, prioritization, and validation. *Frontiers in Oncology*, 12.

Bulik-Sullivan, B., Busby, J., Palmer, C. D., Davis, M. J., Murphy, T., Clark, A., Busby, M., Duke, F., Yang, A., Young, L., et al. (2019). Deep learning using tumor hla peptide mass spectrometry datasets improves neoantigen identification. *Nature biotechnology*, 37(1):55–63.

Chen, I., Chen, M., Goedegebuure, P., and Gillanders, W. (2021). Challenges targeting cancer neoantigens in 2021: a systematic literature review. *Expert Review of Vaccines*, 20(7):827–837.

Cibulskis, K., Lawrence, M. S., Carter, S. L., Sivachenko, A., Jaffe, D., Sougnez, C., Gabriel, S., Meyerson, M., Lander, E. S., and Getz, G. (2013). Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *Nature biotechnology*, 31(3):213–219.

Coelho, A. C. M., Fonseca, A. L., Martins, D. L., Lins, P. B., da Cunha, L. M., and de Souza, S. J. (2020). neoant-hill: an integrated tool for identification of potential neoantigens. *BMC Medical Genomics*, 13(1):1–8.

Cox, J. and Mann, M. (2008). Maxquant enables high peptide identification rates, individualized ppb-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nature biotechnology*, 26(12):1367–1372.

Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M., and Gingeras, T. R. (2013). Star: ultrafast universal rna-seq aligner. *Bioinformatics*, 29(1):15–21.

Elnaggar, A., Heinzinger, M., Dallago, C., Rehawi, G., Wang, Y., Jones, L., Gibbs, T., Feher, T., Angerer, C., Steinegger, M., et al. (2021). Prottrans: Toward understanding the language of life through self-supervised learning. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 44(10):7112–7127.

Fang, X., Guo, Z., Liang, J., Wen, J., Liu, Y., Guan, X., and Li, H. (2022). Neoantigens and their potential applications in tumor immunotherapy. *Oncology Letters*, 23(3):1–9.

Gfeller, D., Schmidt, J., Croce, G., Guillaume, P., Bobisse, S., Genolet, R., Queiroz, L., Cesbron, J., Racle, J., and Harari, A. (2023). Improved predictions of antigen presentation and tcr recognition with mixmhcpred2. 2 and prime2. 0 reveal potent sars-cov-2 cd8+ t-cell epitopes. *Cell Systems*, 14(1):72–83.

Gopanenko, A. V., Kosobokova, E. N., and Kosorukov, V. S. (2020). Main strategies for the identification of neoantigens. *Cancers*, 12(10):2879.

Han, X.-J., Ma, X.-l., Yang, L., Wei, Y.-q., Peng, Y., and Wei, X.-w. (2020). Progress in neoantigen targeted cancer immunotherapies. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8:728.

Hundal, J., Kiwala, S., McMichael, J., Miller, C. A., Xia, H., Wollam, A. T., Liu, C. J., Zhao, S., Feng, Y.-Y., Graubert, A. P., et al. (2020). pvactools: a computational toolkit to identify and visualize cancer neoantigens. *Cancer immunology research*, 8(3):409–420.

Kim, S., Kim, H. S., Kim, E., Lee, M., Shin, E.-C., and Paik, S. (2018). Neopepsee: accurate genome-level prediction of neoantigens by harnessing sequence and amino acid immunogenicity information. *Annals of Oncology*, 29(4):1030–1036.

Langmead, B. and Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with bowtie 2. *Nature methods*, 9(4):357–359.

Li, H. (2013). Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with bwa-mem. *arXiv preprint arXiv:1303.3997*.

Li, X., Lin, X., Mei, X., Chen, P., Liu, A., Liang, W., Chang, S., and Li, J. (2022). Hla3d: an integrated structure-based computational toolkit for immunotherapy. *Briefings in bioinformatics*, 23(3):bbac076.

Li, Y., Wang, G., Tan, X., Ouyang, J., Zhang, M., Song, X., Liu, Q., Leng, Q., Chen, L., and Xie, L. (2020). Progeo-neo: a customized proteogenomic workflow for neoantigen prediction and selection. *BMC medical genomics*, 13(5):1–11.

Lin, Z., Akin, H., Rao, R., Hie, B., Zhu, Z., Lu, W., Smetanin, N., Verkuil, R., Kabeli, O., Shmueli, Y., et al. (2023). Evolutionary-scale prediction of atomic-level protein structure with a language model. *Science*, 379(6637):1123–1130.

Liu, C., Ma, J., Chang, C. J., and Zhou, X. (2013). Fusionq: a novel approach for gene fusion detection and quantification from paired-end rna-seq. *BMC bioinformatics*, 14(1):1–11.

Machaca, V. E., Goyzueta, V., Cruz, M., and Tupac, Y. (2023). Deep learning and transformers in mhc-peptide binding and presentation towards personalized vaccines in cancer immunology: A brief review. In *International Conference on Practical Applications of Computational Biology & Bioinformatics*, pages 14–23. Springer.

Mattos, L., Vazquez, M., Finotello, F., Lepore, R., Porta, E., Hundal, J., Amengual-Rigo, P., Ng, C., Valencia, A., Carrillo, J., et al. (2020). Neoantigen prediction and computational perspectives towards clinical benefit: recommendations from the esmo precision medicine working group. *Annals of oncology*, 31(8):978–990.

Mill, N. A., Bogaert, C., van Criekinge, W., and Fant, B. (2022). neoms: Attention-based prediction of mhc-i epitope presentation. *bioRxiv*.

Myronov, A., Mazzocco, G., Krol, P., and Plewczynski, D. (2023). Bertrand-peptide: Tcr binding prediction using bidirectional encoder representations from transformers augmented with random tcr pairing. *bioRxiv*, pages 2023–06.

O'Donnell, T. J., Rubinsteyn, A., and Laserson, U. (2020). Mhcflurry 2.0: improved pan-allele prediction of mhc class i-presented peptides by incorporating antigen processing. *Cell systems*, 11(1):42–48.

Peng, M., Mo, Y., Wang, Y., Wu, P., Zhang, Y., Xiong, F., Guo, C., Wu, X., Li, Y., Li, X., et al. (2019). Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy. *Molecular cancer*, 18(1):1–14.

Rao, R., Bhattacharya, N., Thomas, N., Duan, Y., Chen, P., Canny, J., Abbeel, P., and Song, Y. (2019). Evaluating protein transfer learning with tape. *Advances in neural information processing systems*, 32.

Reynisson, B., Alvarez, B., Paul, S., Peters, B., and Nielsen, M. (2020). Netmhcpan-4.1 and netmhciipan-4.0: improved predictions of mhc antigen presentation by concurrent motif deconvolution and integration of ms mhc eluted ligand data. *Nucleic acids research*, 48(W1):W449–W454.

Rubinsteyn, A., Kodysh, J., Hodes, I., Mondet, S., Aksoy, B. A., Finnigan, J. P., Bhardwaj, N., and Hammerbacher, J. (2018). Computational pipeline for the pgv-001 neoantigen vaccine trial. *Frontiers in immunology*, 8:1807.

Saunders, C. T., Wong, W. S., Swamy, S., Becq, J., Murray, L. J., and Cheetham, R. K. (2012). Strelka: accurate somatic small-variant calling from sequenced tumor–normal sample pairs. *Bioinformatics*, 28(14):1811–1817.

Schenck, R. O., Lakatos, E., Gatenbee, C., Graham, T. A., and @miscNCIdictionary2022, author = NCI, title = National Cancer Institute Dictionary, year = 2022, url = https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary, urldate = 2022-03-20 Anderson, A. R. (2019). Neopredpipe: high-throughput neoantigen prediction and recognition potential pipeline. *BMC bioinformatics*, 20(1):1–6.

Shugay, M., Bagaev, D. V., Zvyagin, I. V., Vroomans, R. M., Crawford, J. C., Dolton, G., Komech, E. A., Sycheva, A. L., Koneva, A. E., Egorov, E. S., et al. (2018). Vdjdb: a curated database of t-cell receptor sequences with known antigen specificity. *Nucleic acids research*, 46(D1):D419–D427.

Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., and Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *Ca Cancer J Clin*, 73(1):17–48.

Szolek, A., Schubert, B., Mohr, C., Sturm, M., Feldhahn, M., and Kohlbacher, O. (2014). Optitype: precision hla typing from next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, 30(23):3310–3316.

Tan, X., Xu, L., Jian, X., Ouyang, J., Hu, B., Yang, X., Wang, T., and Xie, L. (2023). Pgnneo: A proteogenomics-based neoantigen prediction pipeline in noncoding regions. *Cells*, 12(5):782.

Terai, Y. L., Huang, C., Wang, B., Kang, X., Han, J., Douglass, J., Hsiue, E. H.-C., Zhang, M., Purohit, R., deSilva, T., et al. (2022). Valid-neo: A multi-omics platform for neoantigen detection and quantification from limited clinical samples. *Cancers*, 14(5):1243.

Uhrig, S., Ellermann, J., Walther, T., Burkhardt, P., Fröhlich, M., Hutter, B., Toprak, U. H., Neumann, O., Stenzinger, A., Scholl, C., et al. (2021). Accurate and efficient detection of gene fusions from rna sequencing data. *Genome research*, 31(3):448–460.

UK, C. R. (2023a). Worldwide cancer incidence statistics.

UK, C. R. (2023b). Worldwide cancer statistics.

Wang, K., Li, M., and Hakonarson, H. (2010). Annovar: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic acids research*, 38(16):e164–e164.

Wang, T.-Y., Wang, L., Alam, S. K., Hoeppner, L. H., and Yang, R. (2019). Scanneo: identifying indel-derived neoantigens using rna-seq data. *Bioinformatics*, 35(20):4159–4161.

Wert-Carvajal, C., Sánchez-García, R., Macías, J. R., Sanz-Pamplona, R., Pérez, A. M., Alemany, R., Veiga, E., Sorzano, C. Ó. S., and Muñoz-Barrutia, A. (2021). Predicting mhc i restricted t cell epitopes in mice with nap-cnb, a novel online tool. *Scientific reports*, 11(1):1–10.

Wood, M. A., Nguyen, A., Struck, A. J., Ellrott, K., Nellore, A., and Thompson, R. F. (2020). Neoepiscope improves neoepitope prediction with multivariant phasing. *Bioinformatics*, 36(3):713–720.

Yadav, M., Jhunjhunwala, S., Phung, Q. T., Lupardus, P., Tanguay, J., Bumbaca, S., Franci, C., Cheung, T. K., Fritsche, J., Weinschenk, T., et al. (2014). Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing. *Nature*, 515(7528):572–576.

Zhang, Y., Zhu, G., Li, K., Li, F., Huang, L., Duan, M., and Zhou, F. (2022). Hlab: learning the bilstm features from the protbert-encoded proteins for the class i hla-peptide binding prediction. *Briefings in Bioinformatics*.

Zhou, L. Y., Zou, F., and Sun, W. (2023). Prioritizing candidate peptides for cancer vaccines through predicting peptide presentation by hla-i proteins. *Biometrics*, 79(3):2664–2676.

Gestión del Proyecto

1. Integrantes del equipo

En la Tabla 2, presentamos al equipo de investigación. Adicionalmente, para el proyecto se contará con el apoyo de Julio Lopez, quien se desempeña como medico, con experiencia en oncología e investigación en tratamientos contra el cancer.

Tabla 2: Integrantes del equipo de investigación

Nombre	**Cargo**	**Especialidada**	**Funciones**
Vicente Machaca	IP y coordinador ULaSalle	PhD(c) en Ciencia de la computación	Investigación, desarrollo de software y gestión
Ývan Túpac Valdivia	Coordinador UCSP	PhD en Ciencia de la computación	Investigación, desarrollo de software y gestión
Estudiante 01	Asistente	Ciencia de la computación	Desarrollo de software
Estudiante 02	Asistente	Ciencia de la computación	Desarrollo de software
Estudiante 03	Asistente	Ingeniería de Software	Desarrollo de software
Estudiante 04	Asistente	Ingeniería de Software	Desarrollo de software

2. Presupuesto y cronograma

En la Tabla 3, presentamos el presupuesto para el trabajo de investigación. Este asciende a la suma de 4000 mil soles.

Tabla 3: Presupuesto. Abreviaciones, PC: *Personal Computer*

Incentivo	**Miembro del equipo**	**Unidades**	**Precio**	**Total**
Incentivos	Incentivo al IP	1	2000	2000
	Incentivo al coordinador de UCSP	1	2000	2000
Hito	**Insumo o material**	**Unidades**	**Precio**	**Total**
Hito I	Workshops y cursos	2	1500	3000
	Servicios de *cloud computing* para entrenar los modelos de deep learning	1	2000	2000
	Asesoramiento de investigadores externos	1	2000	2000
Hito II	Servicios de *cloud computing* para entrenar los modelos de deep learning	1	1000	1000
	Asesoramiento de investigadores externos	1	2000	2000
	Total			**14000**

En la Tabla 4, presentamos el cronograma de actividades por mes. IA: Inteligencia Artificial.

Tabla 4: Cronograma de actividades por mes.

Actividades	**Entregable**	I	II	III	IV	V	VI	VII
HITO I	Código fuente del modelo							
Revisión de la literatura		x	x	x	x			
Implementación del modelo de IA		x	x	x	x			
Evaluación y comparación del modelo				x	x	x		
HITO II	Página Web							
Implementación de la página Web					x	x	x	
Redacción del artículo de investigación						x	x	x
Difusión de resultados								x

3. Propuesta de la conferencia o revista

El artículo de investigación será sometida a la revista Briefing in Bioinformatics que es H-index 132 y Quartil 1 según Scimago (enlace).

4. Enlaces web de los CV de los miembros del grupo

En la Table 5, presentamos los enlaces a los CV's del CTI vitae y el código RENACYT.

Tabla 5: CV de los investigadores.

Nombre y apellidos	**Link CTI vitae**	**Código RENACYT**
Vicente Machaca Arceda	Enlace	P0022551
Ývan Túpac Valdivia	Enlace	-