



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA**  
**EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**



---

**TEMA: Análisis comparativo de las proteínas espiga de los coronavirus: MERS CoV, SARS CoV y SARS CoV-2 y sus respectivos receptores.**

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**AUTOR:** Nauque Villacis Jason Damian

**TUTOR:** PhD. David Andrés Terán Mera

**Ambato- Ecuador**

**Marzo - 2021**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

PhD. David Andrés Terán Mera

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 10 de febrero del 2021.

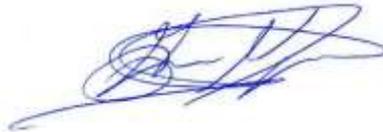
-----  
PhD. David Andrés Terán Mera

**C.I.:** 1716569726

**TUTOR**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Jason Damian Nauque Villacis, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Investigación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



---

Jason Damian Nauque Villacis

**C.I.** 1804437430

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman

Presidente de Tribunal de Grado  
Mg. Liliana Patricia Acurio Arcos  
C.I. 180406708-8

PhD. William Ricardo Calero Cáceres  
C.I. 171434885-9

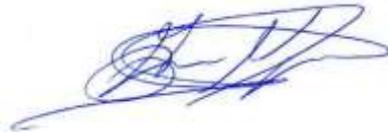
Mg. Cabrera Valle Daniel Alfonso  
C.I. 180256159-5

Ambato, 10 de Marzo del 2021.

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....  
Jason Damian Nauque Villacis

**C.I.** 184437430

**AUTOR**

## DEDICATORIA

*Dedico el presente trabajo de investigación a Dios, por darme la fortaleza para superar las pruebas que se me presentaban, el conocimiento para aprender de mis errores y ante todo no rendirme ante las adversidades.*

*A cada miembro de mi querida familia que me motivaron en las adversidades, me aconsejaron en momentos difíciles y me brindaron su apoyo incondicional.*

*A mis hermanos, por motivarme a cada día ser mejor. Ante todo, porque cada día se aprende algo nuevo, estamos aquí para aprender, no se rindan. ¡Espero sus títulos!*

*A mis padres por forjarme hasta la persona que soy actualmente, motivándome siempre a alcanzar mis metas. Este logro también es de ustedes.*

*En especial a Myrian, por ser madre y amiga. Por demostrarnos que, si la vida se pone dura no debemos rendirnos. Gracias por su paciencia, su esfuerzo, su apoyo, gracias por ser mi madre.*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a Dios, por el regalo de la vida, del conocimiento y del razonamiento. Por permitirme cumplir mis metas, por enseñarme a vivir la vida. Porque sin él nada es posible.*

*A mis padres, por su apoyo incondicional. Por cada palabra de motivación y por cada enseñanza que inculcaron en mí. A mis abuelos por ser pilares fundamentales sobre mi formación. A mis tíos, tías y primos gracias por apoyarme, por cada consejo, por cada experiencia. Ante todo, gracias por ser como son, ya que sin ustedes este logro no se hubiera alcanzado.*

*A mis hermanos, porque a pesar de que tengamos diferentes opiniones sobre ciertas cuestiones, también hemos aportado buenos momentos, que me gustaría nunca terminen.*

*A Alexandra, que has estado desde el principio, gracias por ser mi mejor amiga y confidente. Por cada palabra de apoyo, por motivarme a no rendirme. Por cada lección de vida.*

*A mi querida Universidad Técnica de Ambato, por cada conocimiento impartido hacia mi formación, tanto a nivel profesional como a nivel humanitario.*

*A las personas que conocí durante la carrera, a todos los compañeros, a los docentes, y en especial a quienes puedo llamar amigos.*

## Índice General de Contenido

Índice General de Contenido .....	viii
Resumen .....	xi
Abstract .....	xii
Introducción .....	1
Capítulo I.....	4
Marco teórico .....	4
1.1.    Antecedentes investigativos .....	4
1.1.1.    Zoonosis viral.....	4
1.1.2.    Los Coronavirus (CoVs) .....	5
1.1.3.    Características estructurales de los CoV. ....	5
1.1.4.    Mecanismos de patogénesis .....	7
1.1.5.    Interacción virus-huésped .....	8
1.1.6.    Interacción espiga- receptor .....	8
1.1.7.    Receptores de CoV animales .....	9
1.1.8.    Receptores de CoV en Humanos.....	9
1.1.9.    Funciones de los Receptores Hospederos de HCoV patógenos.....	10
1.1.10.    Genómica comparativa.....	11
1.2.    Objetivos .....	11
1.2.1.    Objetivo general .....	11
1.2.2.    Objetivos específicos .....	12
1.3.    Hipótesis .....	12
Capítulo II.....	13
2.1.    Materiales y equipos: .....	13
2.1.1.    Materiales.....	13
2.1.2.    Equipos.....	13
2.2.    Metodología.....	13
2.2.1.    Compendio y preparación de las bases de datos de las secuencias de proteínas espiga de librerías.....	13
2.2.2.    Análisis de dominios conservados.....	14
2.2.3.    Análisis filogenético.....	14
2.2.4.    Interpretar sitios conservados con el tipo de receptor que reconoce.	15

<b>Capítulo III</b> .....	16
<b>Resultados y discusión</b> .....	16
<b>3.2. Alineamiento múltiple de secuencias.</b> .....	23
<b>3.3. Árbol Filogenético</b> .....	24
<b>3.4. Análisis de Clados:</b> .....	27
<b>3.5. Verificación de Hipótesis</b> .....	30
<b>Capítulo VI</b> .....	30
<b>Conclusiones y recomendaciones</b> .....	30
<b>4.1. Conclusiones</b> .....	30
<b>4.2. Recomendaciones</b> .....	31
<b>Referencias</b> .....	32
<b>Anexos</b> .....	41

### Índice de Tablas

<b>Tabla N°1:</b> Proteínas S de CoV analizados. ....	16
<b>TablaN° 2:</b> Criterios de búsqueda para Dominios conservados .....	19
<b>Tabla 3:</b> Dominio S2 de Proteína Espiga de Coronavirus.....	20
<b>Tabla N°4:</b> Dominio S1 de Proteína Espiga de Coronavirus .....	21
<b>Tabla N°5:</b> Dominio N-terminal de glicoproteína Espiga.....	22
<b>Tabla N°6:</b> Dominio de Unión al receptor de proteína espiga .....	22

### Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Segmento representativo de alineamiento .....	24
<b>Figura 2:</b> Árbol filogenético elaborado a partir de proteínas espiga de CoV.....	25
<b>Figura 3:</b> Árbol filogenético circular de las de proteínas espiga de CoV.....	26
<b>Figura 4:</b> Alineación de proteínas espiga pertenecientes a SARSr-CoV y HKU3-3. ...	27
<b>Figura 5:</b> Alineamiento de proteínas espiga pertenecientes a SARS-CoV-2 y RatG13.28	
<b>Figura 6:</b> Alineamiento de proteínas espiga pertenecientes a SARS-CoV-2 y SARS-CoV.....	29

## Índice de Anexos

<b>Anexo 1:</b> Resultados del alineamiento:.....	41
<b>Anexo 2:</b> Porcentaje de identidad .....	60

## Resumen

A finales del 2019, se reportó el descubrimiento de un nuevo coronavirus con capacidad para infectar a los humanos. Este coronavirus causa el Síndrome Agudo Respiratorio Severo 2 (SARS-CoV-2). Siendo el séptimo virus de esta familia que ha ingresado al ser humano, nace la inquietud sobre las capacidades que poseen estos virus para adaptarse a nuevos huéspedes. Es así como se analizó las proteínas espiga, de los hCoV, haciendo un principal hincapié en aquellos con capacidades patógenas y virulentas, sin dejar de lado a los hCoVs. La proteína espiga es la encargada del reconocimiento de receptores, a la vez que es parte del genoma que posee la tendencia a mutar frecuentemente en todo los CoVs. Por esta razón se analizaron los sitios conservados de aquellos HCoVs. En el presente trabajo se analizaron los sitios conservados de los dominios de unión a receptor (RBD). Se realizó un análisis filogenético para determinar la cercanía con otros CoVs de origen animal e hipotetizar los CoVs con capacidad zoonótica.

Palabras claves: Bioinformática, análisis filogenético, proteínas espiga, coronavirus, MERS COV, SARS COV, SARS-COV-2, zoonosis viral

## **Abstract**

At the end of 2019, the discovery of a new coronavirus with the capacity to infect humans was reported. This coronavirus causes Severe Acute Respiratory Syndrome 2 (SARS-CoV-2). Being the seventh virus of this family that has entered the human being, concern arises about the capacities that these viruses have to adapt to new hosts. This is how the spike proteins of hCoVs were analyzed, with a main emphasis on those with pathogenic and virulent capacities, without neglecting hCoVs. The spike protein is responsible for receptor recognition, as well as being part of the genome that mutates the most in all CoVs. For this reason, the conserved sites of those hCoVs were analyzed. In the present work, the conserved sites of the receptor binding domains (RBD) were analyzed. A phylogenetic analysis was carried out to determine the proximity with other CoVs of animal origin and hypothesize the CoVs with zoonotic capacity.

**Keywords:** Bioinformatic, phylogenetic analysis, spike proteins, coronavirus, MERS CoV, SARS CoV, SARS-CoV-2, viral zoonosis

## Introducción

Los virus ocasionan una gran variedad de enfermedades en la naturaleza, y a la vez que participa en el intercambio genético inter e intra-especies y sirve como mediador en el equilibrio ecológico. Estas capacidades les han permitido evolucionar a la par con la naturaleza (**Santos, Borraz, & Reyes, 2004**). A medida que el sistema inmune de los hospederos evoluciona y se fortifica, también se modifican los mecanismos de infección de los virus. Permitiendo a los virus aumentar su virulencia y su fármaco-resistencia, razón por la cual dejan de ser sensibles a determinados tratamientos. Justificándose la necesidad de entender la tendencia de su evolución para desarrollar vacunas efectivas que controlen y diezmen los virus que provocan las enfermedades emergentes (**Katsuhisa, 2020**).

Entre las principales enfermedades emergentes se puede resaltar las ocasionadas por los coronavirus (CoV), los mismo que poseen una alta variabilidad genética, especialmente en su proteína espiga, que se encarga del reconocimiento de receptores de diferentes especies para su posterior infección celular. Esta variabilidad les ha permitido infectar animales e incluso a los seres humanos (**Gallagher & Buchmeier, 2001**). Los coronavirus humanos no estaban considerados como patógenos debido a que las especies conocidas que ocasionan infecciones leves. Esta perspectiva cambio en los últimos 20 años con la identificación de tres especímenes (los coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (Sars-CoV), del Síndrome Respiratorio Agudo De Medio Oriente (Mers-CoV), y del Síndrome Respiratorio Agudo Severo 2 (Sars-CoV 2)) que ocasionaron enfermedades alrededor de todo el mundo. El Sars-CoV, Mers-CoV, Sars-CoV-2 han demostrado ser altamente transmisibles, causando enfermedades respiratorias e intestinales en animales y humanos (**Cui, Li, & Shi, 2019a**).

El SARS CoV apareció en 2002 y ocasiono alrededor de 8500 casos diagnosticados en 29 países de Asia (92% en China), Europa, África, Norte y Sudamérica. Presentándose tan solo 4 casos entre Brasil y Colombia (**Garcia, Maguiña, & Gutierrez, 2003**). La tasa de letalidad de este CoV fue aproximada de 11%. Estos datos fueron obtenidos hasta el momento que dejaron de diagnosticarse casos. Se determinó que el reservorio más probable y fuente del brote fueron los murciélagos (**Zhong et al., 2003**). El Mers CoV

apareció en 2012 y a pesar de que no se diseminó tanto como su predecesor, la mayoría de los casos diagnosticados pertenecen a países de medio oriente. Alcanzó alrededor de 2500 casos, pero cabe recalcar que su tasa de mortalidad ronda el 35%. El reservorio directo se estableció en los dromedarios, pero se originó en los murciélagos (**OMS, 2019**).

En 2019, apareció el SARS-CoV-2 causante del COVID-19. Dadas sus características para transmitirse entre personas, creció desde un brote hasta convertirse en emergencia sanitaria a nivel mundial. Hasta mediados de octubre del presente año se han contabilizado alrededor de 38 millones de personas infectadas, y aproximadamente 1 millón de muertes a nivel mundial (**OMS, 2020**). En América Latina y Caribe se han contabilizado hasta el 9 de octubre de 2020, un total de 9.876.651 casos confirmados. Brasil, con alrededor de 5 millones posee más casos confirmados en la región, seguidos de Colombia, y México con más de 88600 y 804488 casos respectivamente (**Statista GmbH, 2020**).

Se utilizó análisis filogenéticos para develar como varían las proteínas espiga de CoVs, y como varían sus parientes cercanos en el reconocimiento de receptores. Según **Mattar & González (2018)**, se tiene como ejemplo a distintos CoVs (Bovino, Respiratorio Canino, Dromedario, humano OC43) que provienen potencialmente de un mismo ancestro común y que difieren en cierto porcentaje la composición de aminoácidos que conforman la proteína espiga. Según **Jacqui Wise (2020)**, la existente variabilidad presente en cada “nueva cepa” descubierta, está asociada a mutaciones en las secuencias genómicas, incluyendo a las proteínas espiga. Dicho de otra manera, una o varias mutaciones en las proteínas espiga puede modificar su nivel de patogenicidad y propagación. Comprobando así la variabilidad de las estructuras espiga de estos virus, el reconocimiento de diferentes receptores y por tanto la razón por la que se adaptan frecuentemente a nuevos hospedadores.

No todos los virus que dan un “salto” inter-especie causan un desbordamiento zoonótico detectable debido a diversos factores. Entre los factores principales se pueden resaltar que no todos los virus poseerán la capacidad de transmitirse entre personas. También se debe tomar en cuenta que la mayoría de las veces estas infecciones se dan en zonas remotas, dificultando su diagnóstico (**Johnson et al., 2020**). Cabe mencionar la existencia de casos especiales, en los cuales los virus adquieren la capacidad de infectar a las personas, altos rangos de patogenicidad e incluso llegar a ser mortales. No se descarta la posibilidad que

los CoV de animales domésticos se propaguen en los humanos como fue el caso del MERS CoV **Sanchez & Pajuelo (2020)**.

Se emplearán herramientas bioinformáticas debido a la facilidad para acceder a la información genética de las proteínas espiga (**Serrano-barrera, 2020**), las cuales permitirán comparar y concluir similitudes que ayuden a predecir cuadros epidemiológicos cercanos a los reales, optimizando el tiempo y recursos económicos, que normalmente son empleados en experimentos *in vitro* e *in vivo*. El análisis comparativo se empleará dadas las facilidades para acceder al genoma de estos virus, así como la información pertinente de las proteínas espiga y sus receptores debidamente almacenadas en bases de datos. Aprovechando la actual emergencia sanitaria y la consecutiva liberación de información sobre el SARS-CoV-2, se pretende recolectar información relevante que permita alcanzar resultados cercanos a la realidad, optimizando el tiempo y recursos económicos.

El impacto que el presente trabajo tiene como utilidad servir de soporte para futuras investigaciones y ayudar a predecir coronavirus patógenos con potencial zoonótico para los seres humanos. Cabe destacar que en el futuro la transmisión zoonótica de coronavirus puede continuar ya que se tiene como evidencia el apareamiento de continuos derrames virales en humanos, y la identificación en murciélagos de relacionados con el SARS (SARSr-CoV) (**Walls et al., 2020**). A la vez que el análisis filogenético permite adquirir conocimientos de los receptores para determinar su origen, evolución y variabilidad genética (**Jaiswal & Saxena, 2020**). Dicha información es necesaria para estudios posteriores como es la etiopatogenia viral, manifestaciones clínicas y desarrollo de vacunas.

## Capítulo I

### Marco teórico

#### 1.1. Antecedentes investigativos

Durante los últimos años, ha ido en aumentando la frecuencia en la que virus zoonóticos, que normalmente afectan a animales infectan a los seres humanos (**Jiménez-Clavero, 2010**). En la mayoría de los casos este “salto” es producto de diversas actividades antropomórficas, incluyendo el incremento poblacional mundial, a la invasión de hábitats silvestres, y expansión de redes comerciales (**Carroll et al., 2018a**).

A menudo los virus nuevos que infectan a los humanos son difíciles de detectar a menos que causen enfermedades clínicas (**Olival et al., 2017**). Cada infección causa serias repercusiones en la salud pública, la economía, y seguridad mundial, debido a la dificultad que acarrea contrarrestar enfermedades emergentes, de las que se posee poca información (**ONU, 2020**). Por tal motivo se debe tener un enfoque especial en el lugar de origen, para así evitar que se expanda a nivel regional, previniendo el apareamiento de pandemias (**Carroll et al., 2018b**).

##### 1.1.1. Zoonosis viral.

Los derrames zoonóticos requieren que el virus supere ciertas barreras jerárquicas para establecer la infección. Según **Fermin (2018)**, entre estas barreras se contempla la cantidad de virus disponible, la dosis de exposición y las características (genéticas, fisiológicas e inmunológicas) del receptor del huésped, las mismas que permitirán determinar la gravedad de la infección ya sea en epidemia, o eventualmente en pandemia.

Según **Carroll et al. (2018a)**, existen más de 1,6 millones de virus mamíferos y aves acuáticas de 28 familias virales con potencial zoonótico, de los cuales alrededor de 260 virus han sido ya identificados en humanos. Adicionando la alta capacidad de mutagénesis de los virus, para adaptarse al cambio ambiental (**Wong et al., 2017**), se vuelve un reto identificar a tiempo virus con potencial infeccioso para humanos. Mucho más aun, elaborar una vacuna, que evite su diseminación y proliferación.

*Coronaviridae*, *Paramyxoviridae* y los virus de la influenza son tres de las familias virales más monitoreadas a nivel mundial por su estrecha relación con enfermedades emergentes (**Monchatre et al., 2017**). Para el presente estudio nos enfocaremos en la subfamilia *Orthocoronavirinae*, de la familia *Coronaviridae*, incluyendo los coronavirus

que infectan a animales “domesticados” y específicamente en los virus SARS-CoV, MERS-CoV, y SARS-CoV-2.

### **1.1.2. Los Coronavirus (CoVs)**

Los coronavirus son denominados así, ya que poseen proteínas con forma de espiga que sobresalen en su envoltura, que otorgan la apariencia de corona solar a los viriones (F. Li, 2015). Tienen la capacidad natural de ser patógenos respiratorios virales, que expresan síntomas en el tracto respiratorio superior, así como a nivel gastrointestinal (Zhou et al., 2020).

Pertenecen a la subfamilia *Orthocoronavirinae*, de la familia *Coronaviridae*, de la suborden *Cornidovirineae* del orden *Nidovirales* (International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020). Generalmente son clasificados en cuatro géneros, en base a sus estructuras genéticas y relaciones filogenéticas, comprendidos entre *Alfacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* y *Gammacoronavirus* (Cui, Li, & Shi, 2019b). Los primeros dos generalmente infectan a mamíferos, siendo los murciélagos importantes reservorios de estos. Mientras los dos últimos mantienen a las aves como reservorios responsables, pero no se descarta la capacidad de infectar también a mamíferos (Wu et al., 2020).

Entre los *Alfacoronavirus*, icónicamente se encuentran coronavirus como el Alphacoronavirus 1, que incluye a especies que infectan a caninos, felinos y porcinos (International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020), por otra parte están 229E (HCoV-229E) y NL63 (HCoV-NL63) que afectan a humanos (F. Li, 2015). En el género *Betacoronavirus*, se pueden identificar a 5 de los 7 coronavirus identificados en humanos (HKU1, OC43, SARS-CoV, MERS-CoV & SARS-CoV-2) (Lau et al., 2019).

En cuanto al género *Gammacoronavirus*, el coronavirus aviar, causante de la bronquitis infecciosa aviar (IBV). La enfermedad ocasionada por esta especie, es la primera relacionada con los coronavirus a lo largo de la historia (Acevedo Ana, 2017). Y por último en el género *Deltacoronavirus* virus como: Bulbul HKU11, el coronavirus porcino HKU15, entre otros (Jaiswal & Saxena, 2020).

### **1.1.3. Características estructurales de los CoV.**

Los coronavirus poseen formas esféricas o pleomórficas que rondan desde los 60nm, hasta 140 nm (Calvo, López, Vicente, & Martínez, 2020). Son virus de genoma de

ARN monocatenario (ssARN) de gran tamaño (27- 32kb) y de sentido positivo (F. Li, 2016). Su genoma está constituido siquiera por 6 ORF que codifican para proteínas no estructurales y estructurales. En el extremo 5' se pueden encontrar a ORF1a y ORF1ab que representan las dos terceras partes de su genoma total (**Chen, Liu, & Guo, 2020**). Estos ORF (1a y 1ab) se traducen en poliproteínas replicasa pp1a y pp1b, respectivamente. Posteriormente son procesados por proteasas virales (3CLpro, proteasa principal) y otras proteinasas virales en 16 proteínas no estructurales (**Du et al., 2017**). Una excepción son los *Gammacoronavirus* que no poseen nsp1 (**Chen et al., 2020**).

El tercio sobrante de su genoma viral (extremo 3') posee ORFs que codifican las proteínas estructurales principales como son las proteínas de pico (S), membrana (M), envoltura (E) y la nucleocápside (N) necesarias para el ensamblaje del virión (**Palacios, Santos, Velázquez, & León, 2020**).

La proteína de pico (S) tiene una masa aproximada de 150kDa. Adquiere este nombre ya que forma homotrimeros con forma de “espiga” (en inglés “Spike”), protuberancias fáciles de reconocer en la superficie del virus (**Fehr & Perlman, 2015**). Esta proteína está conformada por tres dominios: ectodominio, ancla transmembrana de paso único, y cola intracelular corta (**F. Li, 2015**). El ectodominio se puede dividir en dos polipéptidos, S1 amino (N) terminal y S2 carboxilo (C) terminal. S1 cumple la función de unión al receptor del huésped, mientras S2 brinda soporte para la actividad de fusión (**Alsaadi & Jones, 2019**).

S1 se conserva entre miembros de cada género, pero difiere entre géneros. S1 se puede dividir en dos dominios terminales (S1-NTD y S1-CTD). Se debe destacar la independencia de cada dominio de S1 para funcionar como un dominio de unión al receptor (RBD) (F. Li, 2015). En la S2, se divide en regiones de repetición de heptada (HR). En el caso del MERS-CoV, se pliegan en una estructura helicoidal intra-horquilla que puede ensamblarse triméricamente en un paquete de seis hélices (un trímero del heterodímero HR1 / HR2). Se ha demostrado la eficiencia de inhibidores a estas regiones (**Yuan et al., 2017**).

La proteína E tiene de 8 a 12 kDa, y es importante para el ensamblaje de la membrana, la gemación, la patogenia viral, la apoptosis e incluso autofagia viral. Interviene muchas veces durante el ciclo de vida de los CoVs. En ausencia de la proteína E, proteínas accesorias pueden suplirla casi completamente. A pesar de que estas proteínas accesorias

están en capacidad de suplirla, utilizan diferentes vías metabólicas, por lo cual, no es de extrañar que aparezcan efectos secundarios en la producción y maduración viral (**Schoeman & Fielding, 2019**). La proteína N participa en la formación de la nucleocápside, en la replicación de CoV, y en la respuesta inmune del huésped ante infecciones virales. Esta proteína tiene la capacidad para unirse al ARN viral de forma helicoidal, lo que le permite protegerlo de la degradación (**Palacios et al., 2020**). También se especula su importancia en la formación completa del virión sobre la formación de envoltura (**Chen et al., 2020**).

La proteína M tiene alrededor de 25 a 30kDa y se encuentra con más abundancia en los viriones en forma de dímeros. Esta proteína ayuda a unirse a la nucleocápside y mantiene la curvatura de la membrana, además de otorgar la forma del virión. También se lo considera como principal promotor en la gemación del virus. Interactúa consigo mismo y el resto de proteínas estructurales importantes durante el ensamblaje del virión (**Rabaan et al., 2020; Schoeman & Fielding, 2019**). La proteína M posee tres dominios, dominio N terminal (exterior de la membrana viral), tres dominios transmembrana y un dominio C-terminal (dentro de la partícula). Esta proteína está glicosilada con O ( $\beta$ ) ó N ( $\alpha$  y  $\delta$ ), con funciones en el mantenimiento de la conformación bioactiva y el carácter antigénico (**Alsaadi & Jones, 2019**).

Además de los genes que codifican proteínas estructurales, existen otros genes accesorios que son específicos de la especie y prescindibles para la replicación del virus (**Cui et al., 2019b**). Un claro ejemplo son las especies HCoV-OC43 y HCoV-HKU1, que poseen un gen que se encuentra solo en algunos *Betacoronavirus* que expresa la proteína hemaglutinina-esterasa (HE). Esta proteína al unirse con los ácidos siálicos de las glicoproteínas de superficie, posibilitan el ingreso vírico a la célula hospedera (**Rabaan et al., 2020**).

#### **1.1.4. Mecanismos de patogénesis**

Los virus zoonóticos emergentes, poseen claramente dos vías para infección a humanos desde sus reservorios silvestres. El primero es al transmitirse de forma inusual, y persistir su transmisión entre humanos. Y es aquí donde específicamente ingresa los coronavirus

en estudio. La segunda forma es por medio de vectores, donde los reservorios de infección son los animales silvestres (**Cabello C & Cabello C, 2008**).

#### **1.1.5. Interacción virus-huésped**

Según **Fermin (2018)**, la relación virus-huésped puede tener impactos positivos, negativos o neutros, independientemente del asociado que se analice y de las condiciones en las que se desarrolle. Los virus, al secuestrar el metabolismo de su anfitrión para solventar sus necesidades, generalmente causan deficiencias fisiológicas que generalmente provocan el deceso del hospedero. Pero en casos especiales, la interacción de virus-huésped no se manifiesta descontroladamente por lo que se establece la relación simbiótica. Un claro ejemplo es la relación entre virus y metazoos, donde la participación de los virus restringe la proliferación de bacterias en las superficies mucosas de los metazoos.

El tropismo del huésped y los cambios en el mismo están determinados particularmente por la susceptibilidad de las células huésped a la infección. Si bien se cree que los genes accesorios de CoV, incluidas las proteínas HE, desempeñan un papel en el tropismo del huésped y la adaptación a un nuevo huésped, la glicoproteína S parece ser el principal determinante para el éxito de los eventos iniciales de infección cruzada entre especies. En esta revisión, nos centramos en los cambios moleculares en la proteína S que subyacen a los cambios de tropismo a nivel celular, tisular y de especies hospedadoras (**R. Hulswit, de Haan, & Bosch, 2016**).

#### **1.1.6. Interacción espiga- receptor**

Tras la unión del receptor y la fusión de la membrana, los CoV entran en las células y se replican en el citoplasma. Los CoV de cada género utilizan diferentes receptores para la unión (**Wong et al., 2017**). El reconocimiento de receptores por los CoVs está mediado por la proteína espiga, específicamente el dominio de unión al receptor (RBD). Al unirse con el receptor permite la fusión de las membranas virales y del huésped. La variedad de huésped que pueden ser infectados por CoVs está definido en su mayoría por la interfaz entre el RBD y sus respectivos receptores (**F. Li, 2015**). Cabe mencionar que se podría utilizar los RBD de CoV como vacunas a posibles infecciones dadas sus capacidades de inducir respuestas inmunitarias en el huésped (**Walls et al., 2020**).

### 1.1.7. Receptores de CoV animales

Actualmente se han identificado los receptores proteicos, que son empleados por *Alfacoronavirus* para infectar a animales. Según **B. Wang et al. (2018)**, esos son: Aminopeptidasa N (APN), molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 1 (CEACAM1), enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), y dipeptidil peptidasa 4 (DPP4). En el género *Betacoronavirus*, utilizan 5-N-acetil-9-O-acetilneuramínico (Neu5Ac) como receptores de entrada. Además, el PHEV es un virus altamente neurotrópico que causa encefalomiелitis porcina que emplea como receptor a la molécula de adhesión de células neurales (NCAM).

A pesar de que los CoV representan impactos a nivel de salud pública, económico y social, la mayoría de estos virus han sido poco estudiados. Tal es el caso del género *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* que se conocen solo algunos receptores. Según **L. Wang & Zhang (2016)**, en los *Gammacoronavirus* el virus de la bronquitis infecciosa (IBV) reconoce el ácido siálico como receptor de unión, mientras que el CoV de pavo usa poli-LacNAc de tipo 2 no dializado. El deltacoronavirus porcino (PDCoV) y emplean la TGEV aminopeptidasa porcina N (pAPN) lo que demuestra el uso de pAPN como un receptor funcional CoV de género cruzado.

### 1.1.8. Receptores de CoV en Humanos.

Según **Pastrian (2020)**, los HCoV-229E, HKU1, OC43 y NL63 provocan afecciones respiratorias leves, capaces de producir cuadros clínicos similares al resfriado común en adultos sanos. Según **Milewska et al. (2016)**, la patogenicidad aumenta para infantes, adultos mayores, y personas inmunodeprimidas, ya que estas cepas pueden agravar los síntomas hasta volverlos mortales. Los HCoV-229E, SARS CoV, SARS CoV 2 y MERS CoV, han sido el foco de importantes infecciones desde su apareamiento. Han llegado a ser mortales para los seres humanos en general, por lo que su rango de patogenicidad es alto.

En los *Alfacoronavirus* encontramos al HCoV-229E que es capaz de reconocer en el dominio S1 C-terminal a aminopeptidasa humana N (hAPN) (**Z. Li et al., 2019**). En el caso del HCoV-NL63 también puede reconocer a hAPN en el dominio S1 C-terminal además de reconocer con S1 N-terminal a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) (**Wong et al., 2017**). En cuanto a *Betacoronavirus* refiere, HCoV-HKU1, reconoce con el dominio S1 N-terminal al receptor ácido 9- O -acetilsalico. En el caso del

HCoV-OC43 puede reconocer a ácido 9- *O* -acetilsalico al igual que HKU1, además de reconocer a ACE2 con el dominio S1 C-terminal (**Ruben Hulswit et al., 2019**).

En cuanto al MERS-CoV, usa como receptor la proteína de superficie dipeptidil peptidasa 4 (DPP4) ampliamente conservada entre especies, que justifica amplio rango de infección zoonótica, así como su hospedadores (**Ison & Lee, 2017**). Además, la secuencia RBD de la proteína MERS-CoV S se considera más conservada en comparación con la proteína S de SARS-CoV y SARS-CoV-2. A pesar de la capacidad de la proteína S de rápida evolución, la transmisión de CoV de murciélago a los humanos parece estar limitada por una barrera. Entonces, se necesitaría forzosamente intermediarios para superar las barreras genéticas y favorecer el inicio de brotes de enfermedad por coronavirus humano (**Yuan et al., 2017**).

En cuanto al SARS-CoV y SARS-CoV-2, los dos pueden reconocer a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) con el dominio de unión al receptor presenten en S1 N-terminal. La diferencia es que los dos poseen diferencias en el sitio de unión al dominio de unión al receptor. Estas diferencias en residuos le permiten a SARS-CoV-2 ser más eficiente al unirse con su receptor, a comparación con el SARS-CoV.

#### **1.1.9. Funciones de los Receptores Hospederos de HCoV patógenos.**

La DPP4 Es una glucoproteína transmembrana intrínseca de tipo II y una serina exopeptidasa. La dipeptidil peptidasa 4 está muy involucrada en el metabolismo de la glucosa y la insulina, así como en la regulación inmunológica (**Aceto, 1975**). Esta proteína se expresa en muchos tejidos y tipos de células, incluidos riñón, intestino, hígado, timocitos y varias células de linaje hematopoyético (**Meyerholz, Lambertz, & McCray, 2016**). Se expresa principalmente en las regiones alveolares y se puede encontrar en grandes cantidades en personas con enfermedades pulmonares preexistentes (**Aceto, 1975**).

La enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) es una carboxipeptidasa anclada a la membrana altamente expresada por el epitelio de las vías respiratorias y las células epiteliales alveolares (**Perrotta, Matera, Cazzola, & Bianco, 2020**). Una mayor expresión de ACE2 se correlaciona con una mayor infectividad viral del pseudotipo

SARS-CoV-2 y del SARS-CoV. Por lo tanto se puede afirmar un aumento en la expresión de esta proteína contribuye a la transmisión de este virus (**Oz, Lorke, & Kabbani, 2020**).

#### **1.1.10. Genómica comparativa.**

La genómica comparativa emplea los genomas de diferentes organismos para analizar como la evolución actuó sobre ellos (**Millo et al., 2014**). Este análisis puede realizarse con la utilización del alineamiento de las secuencias múltiples (MSA), con el fin de encontrar dominios conservados. Existen dos algoritmos más difundidos para alinear secuencias, CLUSTAL W y MUSCLE. Ambos algoritmos poseen resultados similares, exceptuando que MUSCLE es más rápido en obtener resultados (**Sutton & Subbarao, 2015**), mientras CLUSTAL W es mucho más sensible (**Sievers & Higgins, 2021**).

Los métodos de reconstrucción filogenética se pueden dividir en 2 grupos. El primer grupo emplea distancias genéticas (método neighbor- joining (NJ), método de mínima evolución (ME)). El segundo grupo está basado en los caracteres (máxima parsimonia (MP), de máxima verosimilitud (MV) y de inferencia Bayesiana (IB)) (**Valencia & Zambrano, 2019**).

El primer grupo, construyen árboles filogenéticos basándose en encontrar pares de unidades taxonómicas operacionales que infieren en un solo árbol (**Ferrera Rodríguez, 2014**). En el presente estudio se empleó el método de neighbor- joining (NJ). Este algoritmo emplea pocas suposiciones, es rápido, preciso, y se basa en la distancia de taxones (**Hong, Guo, & Wang, 2021**). El segundo grupo se caracteriza por optimizar la distribución de los patrones para cada carácter (**Martínez, 2007**). mientras que otros implementan búsquedas en el espacio de topologías posibles como: el método de máxima parsimonia (MP) (**Valencia & Zambrano, 2019**).

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Objetivo general**

Analizar y comparar las proteínas espiga y respectivo receptor de MERS- CoV, SARS-CoV y SARS-CoV-2.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

Analizar filogenéticamente las proteínas espiga de los coronavirus más representativos de cada género y compararlos con los hCoV en estudio.

Analizar dominios conservados de las proteínas S en hCoV utilizando modelos bioinformáticos.

Interpretar como influye los sitios conservados con el tipo de receptor que reconocen los CoV.

### **1.3. Hipótesis**

#### **1.3.1. Hipótesis Nula**

Los sitios altamente conservados entre secuencias dentro de un clado otorgan el reconocimiento de receptores en huéspedes.

#### **1.3.2. Hipótesis Alternativa**

Los sitios altamente conservados entre secuencias dentro de un clado no otorgan el reconocimiento de receptores en huéspedes.

## Capítulo II

### 2.1. Materiales y equipos:

#### 2.1.1. Materiales

##### 2.1.1.1. Páginas Web para bases de datos

NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Uniprot (<https://www.uniprot.org/>)

##### 2.1.1.2. Software Bioinformático

**Mega X** software v 10.2.4

**Batch CD-Search** (on line)

([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd\\_help.shtml](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd_help.shtml))

**Blast P** (on line) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

**Escript 3.0** (online) (<http://escript.ibcp.fr/ESPrpt/cgi-bin/ESPrpt.cgi>)

##### 2.1.2. Equipos

Computador de uso personal

### 2.2. Metodología

Para realizar el análisis filogenético y todo lo relacionado a estudios bioinformáticos comparativos se requiere de herramientas informáticas sumamente poderosas, no obstante, al reducir el campo de estudio del genoma completo a tan solo las proteínas espiga (S), facilitó el trabajo notablemente.

#### 2.2.1. Compendio y preparación de las bases de datos de las secuencias de proteínas espiga de librerías.

Se trabajó con las bases de datos de: The National Center for Biotechnology Information (NCBI), Protein Information Resource (PIR), The Universal Protein Resource (UniProt). Se consideraron las secuencias de referencia ( Refseq) de proteínas tipo S (spike) en formato “.fasta”, incluyendo coronavirus humanos y de animales domesticados.

### **2.2.2. Análisis de dominios conservados.**

El análisis de dominios conservados se efectuará en diferentes clados, obtenidos previamente en el árbol filogenético. Para esto se compararon los miembros de cada clado con cada HCoV. Se obtuvo el porcentaje de identidad con la ayuda de **Blast P** (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Aquellos miembros que poseían alto grado de identidad se los alineó con Mega X, para su posterior descarga en **Escript 3.0** (<http://escript.ibcp.fr/ESPrpt/cgi-bin/ESPrpt.cgi>).

Posterior a esto se realizó un análisis de los dominios conservados con la herramienta en línea **Batch CD-Search** (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>). Se subió las secuencias a analizarse en formato “.fasta” para analizarlos. Se descargó la información de los dominios conservados con los cuales se podrá visualizar que los aminoácidos conservados entre las proteínas. Se tomará en cuenta el sitio de unión a inhibidores que se conserva entre secuencias.

### **2.2.3. Análisis filogenético.**

Los archivos fasta obtenidos de las páginas previamente descritas, se importó al programa MEGA X, justificando que este programa posee la capacidad para analizar estas secuencias.

Una vez cargados, se procedió a alinear las secuencias utilizando ALIGN BY CLUSTAL W, que permitirá el alineamiento de todas las secuencias, y las alineará por pares similares.

Seguido de esta alineación, se procedió a elaborar el árbol filogenético por el método de unión de vecinos (NJ). Para probar la significancia estadística del árbol filogenético (NJ), se empleará la prueba de Bootstrap, usando 1000 repeticiones.

Las distancias evolutivas se calcularon siguiendo el modelo de distancias de P, mientras los vacíos excesivos / datos faltantes fueron eliminados completamente. El método considera las longitudes de las ramas interiores y proporciona los niveles de probabilidad de confianza de cada nodo en la topología de árbol dada. Finalizado este proceso se guardaron los datos obtenidos, mismos que servirán para el análisis comparativo y descifrar los patrones evolutivos y funcionales.

#### **2.2.4. Interpretar sitios conservados con el tipo de receptor que reconoce.**

Se elaboró una matriz en donde se incluyó el porcentaje de similitud entre dominios conservados en cada clado analizado.

En la matriz previamente elaborada se incluyó los dominios de cada secuencia y los receptores conocidos. De los cuales se hipotetizará la capacidad de las secuencias para reconocer receptores humanos y por tanto la representación de posibles CoV patógenos para el ser humano.

### Capítulo III

#### Resultados y discusión

Se emplearon 63 secuencias pertenecientes a proteínas espiga de CoVs. Estas secuencias se encuentran divididas en 4 subgéneros que son: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* reportados en la tabla N°1.

**Tabla N°1:** Proteínas S de CoV analizados.

Secuencia de Referencia NCBI	Longitud (aa)	Organismo	Abreviación
YP_009380521.1	1126	Coronavirus AcCoV-JC34	a_AcCoV-JC34
YP_001718605.1	1375	Bat coronavirus 1A	a_Bat_CoV_1A
YP_008439202.1	1364	Bat coronavirus CDPHE15/USA/2006	a_Bat_CoV_CDPHE15/USA/2006
YP_009755890.1	1399	Alphacoronavirus Bat-CoV/Pkuhlii/Italy/3398-19/2015	a_Bat-CoV/P.kuhlii/Italy/3398-19/2015
YP_009199609.1	1387	BtMr-AlphaCoV/SAX2011	a_BtMr-AlphaCoV/SAX2011
YP_009201730.1	1343	BtNv-AlphaCoV/SC2013	a_BtNv-AlphaCoV/SC2013
YP_009200735.1	1132	BtRf-AlphaCoV/YN2012	a_BtRf-AlphaCoV/YN2012
YP_009194639.1	1169	Camel alphacoronavirus	a_Camel_alphaCoV
Q65984	1453	Canine coronavirus (strain K378)	a_CCoV_strain K378
YP_004070194.1	1452	Feline infectious peritonitis virus	a_FeCV
YP_009256197.1	1438	Ferret coronavirus	a_Ferret_CoV
NP_073551.1	1173	Human coronavirus 229E	a_HCoV_229E
YP_003767.1	1356	Human coronavirus NL63	a_HCoV_NL63
YP_009336484.1	1134	Lucheng Rn rat coronavirus	a_Lucheng_Rn_rat_CoV
YP_001718612.1	1375	Miniopterus bat coronavirus HKU8	a_Miniopterus_bat_CoV_HKU8
YP_009019182.1	1438	Mink coronavirus strain WD1127	a_Mink_CoV_strain_WD1127
NP_598310.1	1383	Porcine epidemic diarrhea virus	a_PEDV
YP_001552236.1	1128	Rhinolophus bat coronavirus HKU2	a_Rhinolophus_bat_CoV_HKU2

YP_006908642.1	1349	Rousettus bat coronavirus HKU10	a_Rousettus_bat_CoV_HKU10
YP_001351684.1	1371	Scotophilus bat coronavirus 512	a_Scotophilus_bat_CoV_512
YP_009199242.1	1382	Swine enteric coronavirus	a_Se_CoV
YP_009755839.1	1221	Shrew coronavirus	a_Shrew_CoV
NP_058424.1	1447	Transmissible gastroenteritis virus	a_TGEV
YP_009389425.1	1134	Wencheng Sm shrew coronavirus	a_Wencheng_Sm_shrew_CoV_425
YP_009199790.1	1370	BtRf-AlphaCoV/HuB2013	a-AlphaCoV/HuB2013
YP_003858584.1	1259	Bat coronavirus BM48-31/BGR/2008	b_Bat_CoV_BM48-31/BGR/2008
YP_001039953.1	1352	Tylonycteris bat coronavirus HKU4	b_bat_CoV_HKU4
YP_001039962.1	1352	Pipistrellus bat coronavirus HKU5	b_bat_CoV_HKU5
YP_009072440.1	1317	Bat Hp-betacoronavirus/Zhejiang2013	b_Bat_Hp-betaCoV/Zhejiang2013
Q2EF02	1363	Bovine coronavirus	b_Bovine_CoV_02
Q6W355	1363	Equine coronavirus NC99	b_Equine_CoV_NC99
YP_009513010.1	1330	Erinaceus/VMC/DEU/2012	b_Erinaceus/VMC/DEU/2012
Q14EB0.1	1351	HCoV HKU1 (isolate N2)	b_HCoV_HKU1_isolate N2
YP_009555241.1	1353	Human coronavirus OC43	b_HCoV_OC43
YP_009113025.1	1358	Betacoronavirus HKU24	b_HKU24
Q3LZT7	1242	Bat SARS coronavirus HKU3-3	b_HKU3
YP_007188579.1	1353	Betacoronavirus England 1	b_MERS_CoV_England_1
YP_009047204.1	1353	Middle East respiratory syndrome-related coronavirus	b_MERSr_CoV
ACN89689.1	1324	Murine strain RA59/R13	b_MHV_RA59/R13
Q2QKN3	1349	Virus de la encefalomyelitis hemaglutinante porcina	b_PHVE
YP_003029848.1	1360	Rat coronavirus Parker	b_PRC
YP_005454245.1	1362	Rabbit coronavirus HKU14	b_Rabbit_CoV_HKU14
QHR63300.2	1269	Bat coronavirus RaTG13	b_RaTG13
YP_001039971.1	1274	Rousettus bat coronavirus HKU9	b_Rousettus_bat_CoV_HKU9

YP_009724390.1	1273	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2	b_SARS_CoV_2
YP_009825051.1	1255	SARS coronavirus strain Tor2	b_SARS_CoV_Tor2
P59594.1	1255	Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus	b_SARSr_CoV
YP_002308479.1	1165	Bulbul coronavirus HKU11-934	d_Bulbul_CoV_HKU11-934
YP_005352881.1	1214	Common moorhen coronavirus HKU21	d_Common_moorhen_CoV_HKU21
YP_005352854.1	1217	Magpie-robin coronavirus HKU18	d_Magpie-robin_CoV_HKU18
YP_002308506.1	1156	Munia coronavirus HKU13-3514	d_Munia_CoV_HKU13-3514
YP_005352863.1	1254	Night heron coronavirus HKU19	d_Night_heron_CoV_HKU19
YP_009513021.1	1159	Porcine coronavirus HKU15	d_Porcine_CoV_HKU15
YP_005352846.1	1206	Sparrow coronavirus HKU17	d_Sparrow_CoV_HKU17
YP_002308497.1	1192	Thrush coronavirus HKU12-600	d_Thrush_CoV_HKU12-600
YP_005352838.1	1179	White-eye coronavirus HKU16	d_White-eye_CoV_HKU16
YP_005352871.1	1212	Wigeon coronavirus HKU20	d_Wigeon_CoV_HKU20
YP_009755897.1	1184	Canada goose coronavirus	g_Canada_goose_CoV
YP_009825008.1	1191	Duck coronavirus	g_Duck_CoV
YP_009824998.1	1153	Infectious bronchitis virus	g_IBV
P11223.1	1153	IBV_strain Beaudette	g_IBV_B
YP_001941166.1	1226	Turkey coronavirus	g_Turkey_CoV
YP_001876437.1	1472	Beluga whale coronavirus SW1	g_whale_CoV_SW1

En la presente tabla se incluyó el código de referencia para cada secuencia espiga utilizada en este análisis. Además, se agregó la longitud de cada secuencia y se puede observar que la longitud varía entre especies. Se agregó el organismo del cual fue aislado el CoV, así como la abreviación con la que generalmente se conoce y ayudara a identificar fácilmente en el presente trabajo a los CoVs.

### 3.1. Análisis de dominios conservados

Se realizó el análisis de dominios conservados, en los cuales se incluyó a cada una de las proteínas anteriormente nombradas. Se puede señalar que todas las proteínas poseen una región altamente conservada (S2) tal como se puede observar en la tabla N°2. Al ser el segmento S2, un dominio que brinda soporte durante la fusión de las membranas virales y la célula huésped se omitió. Esta acción es debido a que esta es una zona altamente conservada dentro de los CoVs, y no aportara información relevante en cuanto al reconocimiento de receptores.

Para el análisis de dominios conservados se subió estas secuencias a la herramienta en línea **Batch CD-Search** (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>), donde bajo los criterios de búsqueda en plataformas NIH/NLM/NCBI, se obtuvieron los siguientes resultados para tipo de datos concisos.

**Tabla N° 2:** Criterios de búsqueda para Dominios conservados

<b>Herramienta de búsqueda- Batch CD</b>	NIH/NLM/NCBI
<b>Id. De búsqueda</b>	QM3-qcdsearch-356648324FCB3263
<b>Fuente de datos</b>	CDSEARCH/oasis_pfam
<b>Tipo de Datos</b>	Resultados concisos (solo superfamilias)

Se encontraron 4 superfamilias: Dominio S2, Dominio S1, Dominio N-terminal, y el Dominio de Unión al receptor de proteína espiga que se encuentran reportados en las tablas N°3, N°4, N°5 y N°6 respectivamente. En cada tabla se encuentran el código de acceso a la superfamilia correspondiente, el identificador único para la matriz de puntuación específica de posición (PSSM), la ubicación en la que se encuentran dentro de la secuencia analizada, y el Valor E. El valor E determina su importancia estadística, y mientras más cercanos a 0 se encuentren es más significativo su alineamiento con la superfamilia asociada (**Hernandez & Valdez, 2018**)

**Tabla 3:** Dominio S2 de Proteína Espiga de Coronavirus

<b>Acceso: cl20218 PSSM-ID 279881</b>			
<b>Consulta</b>	<b>desde</b>	<b>hasta</b>	<b>Valor E</b>
a AcCoV-JC34	609	1176	1,90E-99
a Bat coronavirus 1A	791	1397	0
a Bat CoV CDPHE15/USA/2006	779	1422	0
a Bat-CoV/P.kuhlii/Italy/3398-19/2015	799	1432	0
a BtMr-AlphaCoV/SAX2011	799	1445	0
a BtNv-AlphaCoV/SC2013	751	1382	0
a BtRf-AlphaCoV/YN2012	607	1179	9,17E-106
a Camel alphaCoV	570	1218	0
a CCoV strain K378	837	1503	0
a FECV	836	1502	0
a Ferret CoV	818	1490	0
a HCoV 229E	572	1220	0
a HCoV NL63	763	1406	0
a Lucheng Rn rat CoV	614	1146	3,96E-97
a Miniopterus bat coronavirus HKU8	796	1397	0
a Mink CoV strain WD1127	819	1487	0
a PEDV	787	1405	0
a Rhinolophus bat CoV HKU2	599	1176	6,19E-109
a Rousettus bat CoV HKU10	770	1373	0
a Scotophilus bat CoV 512	786	1429	0
a SeCoV	787	1405	0
a Shrew CoV	670	1247	9,99E-112
a TGEV	833	1499	0
a Wencheng Sm shrew CoV 425	632	1180	5,22E-99
a-AlphaCoV/HuB2013	786	1400	0
b Bat CoV BM48-31/BGR/2008	682	1296	0
b bat CoV HKU4	802	1394	1,39E-154
b bat CoV HKU5	799	1396	1,05E-150
b Bat Hp-betaCoV/Zhejiang2013	773	1347	0
b Bovine CoV 02	832	1375	1,24E-134
b Equine CoV NC99	821	1375	2,45E-134
b Erinaceus/VMC/DEU/2012	784	1376	1,15E-150
b HCoV HKU1 isolate N2	819	1382	2,74E-141
b HCoV OC43	824	1366	1,06E-135
b HKU24	825	1368	1,99E-142
b HKU3-3	668	1287	0
b MERS CoV England 1	792	1397	5,66E-151
b MERSr CoV	792	1397	1,88E-151
b MHV RA59/R13	756	1331	3,19E-133
b PHVE	804	1363	2,06E-134
b Rabbit CoV HKU14	814	1374	7,83E-135
b Rat CoV Parker	822	1369	1,84E-135
b Rousettus bat CoV HKU9	719	1293	4,38E-163
b SARS CoV 2	692	1314	0
b SARS CoV Tor2	680	1299	0
b SARSr CoV	680	1299	0
b_RaTG13	692	1311	0
d Bulbul CoV HKU11-934	574	1179	0
d Common moorhen CoV HKU21	614	1217	0
d Magpie-robin CoV HKU18	615	1218	0

d Munia CoV HKU13-3514	568	1167	0
d Night heron CoV HKU19	624	1239	0
d Porcine CoV HKU15	567	1167	0
d Sparrow CoV HKU17	606	1209	0
d Thrush CoV HKU12-600	597	1197	0
d White-eye CoV HKU16	590	1190	0
d Wigeon CoV HKU20	604	1204	0
g Canada goose CoV	589	1175	0
g Duck CoV	562	1204	0
g IBV	572	1179	0
g IBV B	572	1204	0
g Turkey CoV	600	1215	3,34E-174
g whale CoV SW1	864	1455	6,20E-170

Se encontró un alto porcentaje de reconocimiento de dominios S2 de Proteína espiga, encontrando además que este dominio tiene poca divergencia en cuanto a los aminoácidos que lo conforman.

**Tabla N°4: Dominio S1 de Proteína Espiga de Coronavirus**

<b>Acceso: cl03276 PSSM-ID 279880</b>			
<b>Consulta</b>	<b>desde</b>	<b>hasta</b>	<b>Valor E</b>
a Camel alphaCoV	32	561	0
a CCoV strain K378	270	813	0
a Bat coronavirus 1A	241	780	3,68E-61
a Bat CoV CDPHE15/USA/2006	240	770	5,56E-58
a Bat-CoV/P.kuhlii/Italy/3398-19/2015	247	790	4,16E-65
a BtMr-AlphaCoV/SAX2011	236	790	6,59E-65
a BtNv-AlphaCoV/SC2013	208	742	9,03E-68
a FECV	269	812	0
a Ferret CoV	256	792	4,63E-95
a HCoV 229E	33	563	0
a HCoV NL63	221	754	4,55E-94
a Miniopterus bat coronavirus HKU8	252	787	1,22E-73
a Mink CoV strain WD1127	263	792	7,16E-108
a PEDV	245	778	3,26E-61
a Rousettus bat CoV HKU10	242	761	1,50E-67
a Scotophilus bat CoV 512	246	777	1,46E-58
a SeCoV	245	778	4,37E-61
a TGEV	267	809	0
a-AlphaCoV/HuB2013	256	777	1,29E-71
d Bulbul CoV HKU11-934	207	564	1,41E-14
d Common moorhen CoV HKU21	98	606	2,35E-30
d Magpie-robin CoV HKU18	70	606	1,57E-52
d Munia CoV HKU13-3514	199	556	1,91E-20
d Night heron CoV HKU19	220	596	3,26E-21
d Porcine CoV HKU15	201	557	9,83E-14
d Sparrow CoV HKU17	52	597	2,19E-46
d Thrush CoV HKU12-600	190	585	4,48E-17
d White-eye CoV HKU16	219	581	4,35E-15
d Wigeon CoV HKU20	59	564	1,09E-36
g Canada goose CoV	217	563	3,96E-18

g IBV	34	546	1,88E-107
g IBV B	34	546	3,06E-128
g whale CoV SW1	480	725	5,54E-02

En cuanto al dominio S1, solo se reconoció para una fracción de *Alfacoronavirus*, esto debido a los parámetros de búsqueda que se utilizó, ya que no se encuentran aquellos CoVs que excedían el umbral de valor E de 0,01. Al modificar este umbral se corre el riesgo de obtener valores falsos positivos putativos. En cuanto a las secuencias analizadas de *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus* se encuentran todas reportadas en este dominio.

**Tabla N°5:** Dominio N-terminal de glicoproteína Espiga

<b>Acceso: cl24879 PSSM-ID 318618</b>			
<b>Consulta</b>	<b>desde</b>	<b>hasta</b>	<b>Valor E</b>
b MHV RA59/R13	19	302	2,20E-148
b HCoV HKU1 isolate N2	18	301	2,87E-143
b Bovine CoV 02	19	305	5,97E-142
b Equine CoV NC99	19	305	6,03E-142
b Rabbit CoV HKU14	19	304	9,18E-140
b Rat CoV Parker	19	302	1,85E-137
b PHVE	19	305	6,64E-133
b HCoV OC43	19	308	1,02E-132
b HKU24	20	306	4,37E-104
b Bat Hp-betaCoV/Zhejiang2013	57	322	8,16E+00

Se reconoció un reducido número de virus para este dominio. Esto es debido a que las inserciones o deleciones propias de cada CoV no permiten el reconocimiento adecuado con el dominio analizado.

**Tabla N°6:** Dominio de Unión al receptor de proteína espiga

<b>Acceso: cl09656 PSSM-ID 370471</b>			
<b>Consulta</b>	<b>desde</b>	<b>hasta</b>	<b>Valor E</b>
b Bat Hp-betaCoV/Zhejiang2013	367	468	6,90E-04
b MHV RA59/R13	337	556	2,53E-89
b Erinaceus/VMC/DEU/2012	404	510	6,24E-06
b Rat CoV Parker	336	551	1,15E-89
b Rousettus bat CoV HKU9	376	561	1,95E-01
b HCoV OC43	342	553	2,69E-85
b HKU24	340	509	1,28E-67
b Bat CoV BM48-31/BGR/2008	338	597	5,41E-62
b HKU3-3	337	584	8,24E-77
b bat CoV HKU4	413	511	1,78E-06
b bat CoV HKU5	415	528	1,04E-08
b Bovine CoV 02	339	560	4,43E-95
b Equine CoV NC99	339	560	2,53E-93
b HCoV HKU1 isolate N2	335	546	2,41E-92
b MERS CoV England 1	408	519	3,81E-06
b MERSr CoV	408	519	3,74E-06
b PHVE	339	549	4,27E-91
b Rabbit CoV HKU14	338	558	1,06E-92
b SARS CoV 2	344	608	3,35E-62

b SARS CoV Tor2	333	596	3,43E-80
b SARSr CoV	333	596	4,03E-80
b_RaTG13	344	608	7,27E-63

El valor E para las secuencias que se reconoció el dominio de unión al receptor difiere mucho entre proteínas, esto debido a que no poseen una significativa alineación con el segmento asociada.

En la tabla N°6, se puede apreciar el dominio de unión al receptor identificado por la página NCBI. En esta tabla encontramos *Betacoronavirus* que han sido aislados en animales silvestres, animales domesticados y personas. De estos HCoV cabe mencionar su relación con CoV de animales silvestres y algunos domesticados (MERS-CoV). Si bien no se puede aislar por completo al ser humano de los animales con el fin de evitar la propagación de enfermedades, se puede restringir el comercio ilegal de animales que utilizados como alimento y medicinas, o regular las condiciones sanitarias en las que son criados, transportados y preparados (Iannacone, Tejada, Alvariano, & Castañeda, 2020).

### 3.2. Alineamiento múltiple de secuencias.

El alineamiento múltiple de secuencias permite el estudio de las secuencias que han sido alteradas. Por tanto se asume que las secuencias que poseen una alineación alta en determinadas posiciones comparten relaciones evolutivas (Solanilla, Arturo, Teshima, & Múnera, 2005). Estas relaciones evolutivas representan regiones conservadas las cuales cumplen funciones necesarias para la proteína que en este caso son la transmisión y propagación del virus. En el caso de las regiones variables se debe a mutaciones en las que los aminoácidos mutan. La mutación de aminoácidos es debido a los intercambios en los nucleótidos, ya sea con uno, dos o tres (Yampolsky & Stoltzfus, 2005).

En la Figura 1, perteneciente a un fragmento del alineamiento total se puede apreciar en la parte superior de cada imagen se encuentran aminoácidos que representan un consenso sobre el 70% de coincidencias para cada puesto. Las “X” representan los sitios que se encuentran semiconservados, mientras los “-” representan los sitios que no están conservados. El alineamiento completo se puede encontrar en Anexo 1.

La tasa de mutación está relacionada con los sesgos de mutación, donde predominan las mutaciones de transición sobre las de transversión. Un claro ejemplo es el intercambio de Ala por Val (GCN↔GTN), que posee una tasa de mutación de transición de nucleótidos superior al intercambio de Ala por Gly (GCN↔GGN) que posee una tasa de mutación de transversión de nucleótidos (Yampolsky & Stoltzfus, 2005). Esto justifica la

conservación de propiedades similares. De color celeste están resaltados los aminoácidos Leu, Phe, Ala, Val, Ile, Met, Cys, los cuales poseen propiedades hidrofóbicas. Thr, Ser, Asn, con propiedades polares. Tyr, His con propiedades aromáticas, Arg positivo, y Asp negativo. Por otra parte, tenemos alineamientos de Gly y Ala, las cuales no conservan propiedades químicas similares.

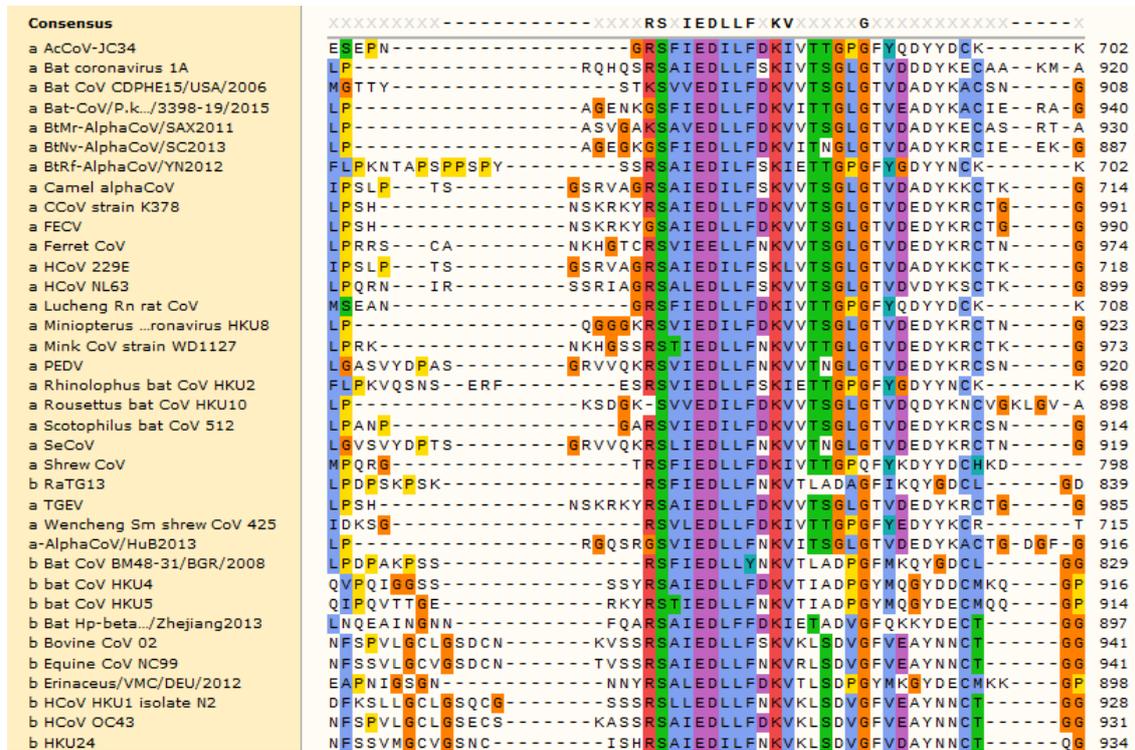
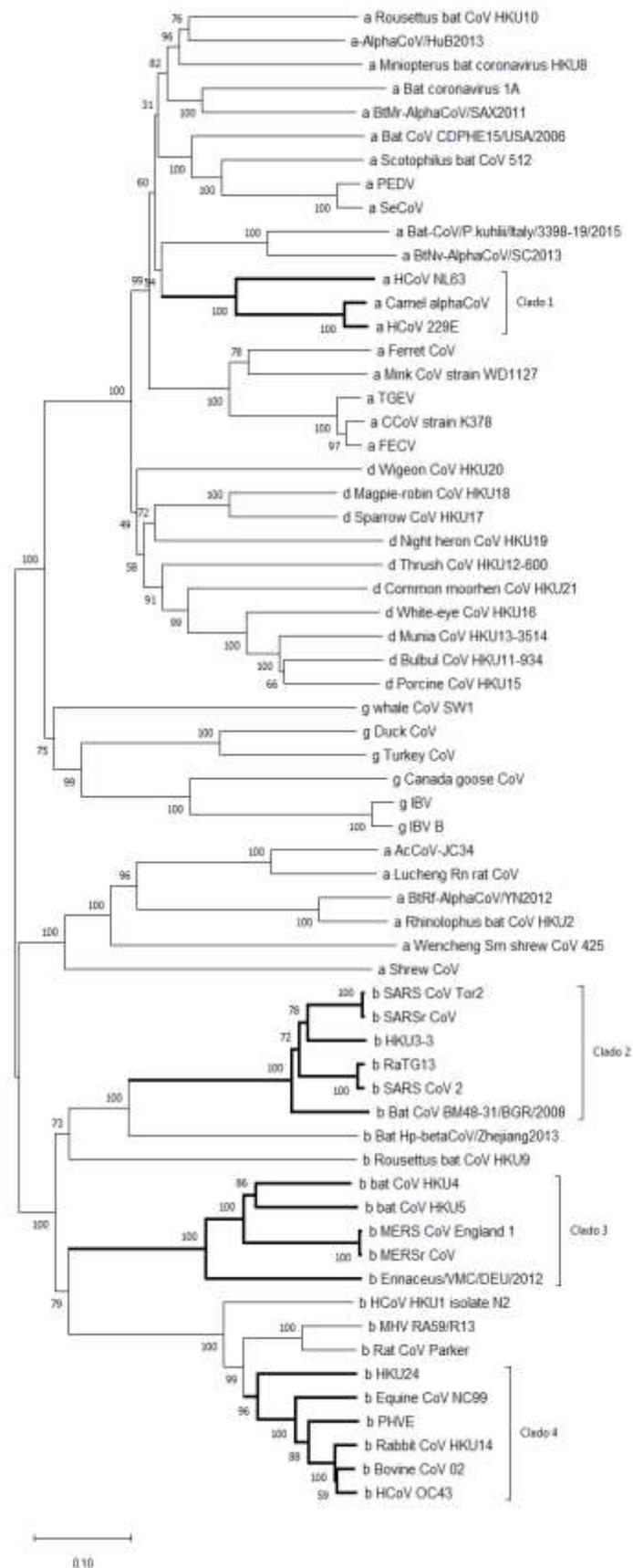


Figura 1: Segmento representativo de alineamiento

### 3.3.Árbol Filogenético

La historia evolutiva para las proteínas espiga completas se infirió mediante el método de unión de vecinos (NJ) (Saitou & Nei, 1987). Junto a las ramas se puede apreciar el porcentaje de árboles replicados en los que los taxones asociados se agruparon en la prueba de Bootstrap con 1000 repeticiones (Felsenstein, 1985). El árbol está dibujado a escala, con la longitud de las ramas en las mismas unidades que las distancias evolutivas utilizadas para inferir el árbol filogenético. Las distancias evolutivas se calcularon utilizando el método de la distancia p (Zuckermandl & Pauling, 1965) y están en las unidades del número de diferencias de aminoácidos por sitio. Todas las posiciones ambiguas se eliminaron para cada par de secuencias (opción de eliminación por pares) Hubo un total de 771 posiciones en el conjunto de datos final. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (Kumar, Stecher, Li, Knyaz, & Tamura, 2018).



**Figura 2:** Árbol filogenético elaborado a partir de proteínas espiga de CoV





Para cada proteína se muestra el organismo al que representa según la abreviatura de la tabla N°1. La posición de aminoácidos entre las secuencias se encuentra resaltados por colores, siendo el rojo una alta conservación, el amarillo una mutación en la que conservan propiedades similares y sin color aquellos no están conservados.

Para el Caso del SARS CoV 2 y RatG13 CoV guarda una identidad elevada del 97.41%. En este caso se sume un ancestro en común más cercano, así como la capacidad de reconocer ACE2. La presencia del sitio de escisión polibásico (PRRAR) se encuentra solo en SARS-CoV-2 por lo que se asume RatG13 no posee la misma capacidad de escisión en S1/S2. El RBD de SARS-COV-2 y RatG13 poseen en común solo 1 de los 6 aminoácidos fundamentales (L455, F486, Q493, S494, N501 e Y505) para el reconocimiento de ACE2 (**Malaiyan, Arumugam, Mohan, & Gomathi Radhakrishnan, 2021**).



**Figura 5:** Alineamiento de proteínas espiga pertenecientes a SARS-CoV-2 y RatG13.

Para cada proteína se muestra el organismo al que representa según la abreviatura de la tabla N°1. La posición de aminoácidos entre las secuencias se encuentra resaltados por colores, siendo el rojo una alta conservación, el amarillo una mutación en la que conservan propiedades similares y sin color aquellos no están conservados.

En el caso del SARS-CoV y SARS-CoV-2 a pesar de que el porcentaje de identidad para proteínas espiga es de 76.04% los aminoácidos situados en el dominio de reconocimiento de receptor poseen una mayor afinidad para reconocer la ACE-2 humana. Los residuos necesarios para que SARS-CoV-2 reconozca a ACE2 son L455, F486, Q493, S494, N501 e Y505. Estos aminoácidos difieren con SARS-CoV, razón por la cual la afinidad con ACE2 difiere entre estos dos CoVs. Cinco residuos en las mismas posiciones poseen propiedades bioquímicas similares en SARS-CoV y SARS-CoV-2( L455 / Y442, F456 / L443, F486 / L472, Q493 / N479 y N501 / T487) (**Lan et al., 2020**).



**Figura 6:** Alineamiento de proteínas espiga pertenecientes a SARS-CoV-2 y SARS-CoV.

Para cada proteína se muestra el organismo al que representa según la abreviatura de la tabla N°1. La posición de aminoácidos entre las secuencias se encuentra resaltados por colores, siendo el rojo una alta conservación, el amarillo una mutación en la que conservan propiedades similares y sin color aquellos no están conservados.

La Leu 455 de SARS-CoV-2 mejora la interacción con el punto de acceso-31 de ACE2 humana, a comparación de la Lys en SARS-CoV-2 que genera una interferencia. El residuo 394 (glutamina) en el dominio de unión al receptor de SARS-CoV-2 (RBD), correspondiente al residuo 479 en SARS-CoV, puede ser reconocido por la lys-31 en el receptor ECA2 humano (Gutierrez & Aruquipa, 2020).

En cuanto al MERS-CoV y su clado, se puede observar que la distancia filogenética mas cercana es HKU4, y HKU5. Se ha demostrado que HKU4 y MERS-COV poseen la capacidad para reconocer DPP4, sin embargo, se han especializado en reconocer el receptor de murciélagos y personas respectivamente. Esto sugiere a su vez que los CoV que poseen la capacidad para reconocer receptores idénticos a los humanos, amenazan a la salud humana dada la facilidad con la que pueden mutar la proteína espiga y transmitirse entre especies (Yang et al., 2014).

Si bien se puede apreciar aquellos CoVs cercanos filogenéticamente que pueden reconocer receptores similares, también se aprecia que CoV de diferentes clados tienen la capacidad de reconocer los mismos receptores a pesar de poseer altas diferencias en cuanto a identidad y relación filogenética. Esto se debe a la conformación tridimensional que adquiere la proteína espiga la cual le permite identificar los mismos receptores. Un

claro ejemplo es la proteína espiga de HCoV-NL63, que a pesar de encontrarse filogenéticamente lejos aun posee la capacidad de reconocer a ACE2 al igual que SARS-CoV y SARS-CoV-2.

### **3.5.Verificación de Hipótesis**

Se identificaron los sitios de conservados en las secuencias de cada clado, con lo cual:

Se acepta para los cladogramas analizados la hipótesis alternativa “Los sitios altamente conservados entre secuencias dentro de un clado no otorgan el reconocimiento de receptores en huéspedes” y se rechaza la hipótesis nula

## **Capítulo VI**

### **Conclusiones y recomendaciones**

#### **4.1. Conclusiones**

Al analizar y comparar las proteínas espiga de SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS-CoV, se encontró similitudes con el RBD. Si bien no existen residuos conservados entre estas secuencias, existen regiones homologas, las cuales difieren en aminoácidos, siendo la principal razón por la que reconocen a diferentes receptores.

Al analizar filogenéticamente las proteínas espiga, se encontró que el género *Alfacoronavirus* posee dos formas evolutivas diferentes, y bien marcadas. Además, las distancias filogénicas permitieron establecer CoV relativamente cercanos a HCoVs. Esta relación permite establecer los posibles CoV con capacidades zoonóticas. Esta comparación permitió prestar atención a CoV que infectan a animales, con los cuales están estrechamente relacionados con la humanidad y que se ha demostrado son portadores e intermediarios de estos virus. Se debe tener cuidado con el consumo de animales como el murciélago, camellos, cerdos, entre otros.

Los dominios conservados entre miembros más cercanos a HCoVs, tiene importancia en la predicción de CoV zoonóticos. Ya que a menudo los CoVs que poseen alto grado de similitud o corta distancia filogenética tienen pequeñas diferencias en su secuencia, por tal razón conservan regiones necesarias para el reconocimiento de receptores humanos. Por otra parte, las regiones conservadas ayudan a comprender el mecanismo de unión de HCoV, aportando al estudio y comprensión de los mecanismos de evolución de CoVs.

Se ha inferido que los CoV más cercanos conservan residuos necesarios para el reconocimiento de receptores similares, y que los residuos varían de acuerdo con el huésped en el que se encuentran y el receptor que utiliza. También cabe recalcar la fuerte tendencia de los CoVs a adquirir nuevas interacciones (Z. Li et al., 2019), las cuales les permiten adherirse con diferente afinidad a receptores, permitiéndoles así saltar entre especies.

Los coronavirus que poseen cortas distancias filogenéticas relacionados a hCoV poseen la capacidad de reconocer receptores similares en humanos, y al dar por hecho la alta capacidad de mutar de las proteínas espiga, existe la posibilidad que se transfieran a humanos causando enfermedades infecciosas.

#### **4.2. Recomendaciones**

Se recomienda la continuación del estudio con enfoque en modelamiento de moléculas tridimensional.

Se recomienda hacer muestreos con el fin de encontrar CoV, ya que aportaría al estudio y predicción de virus zoonóticos, y posibles reservorios, antes que tengan contacto con el ser humano, y causen enfermedades infecciosas.

Realizar análisis sobre los dominios RBD y RBM en *Alfacoronavirus*, *Deltacoronavirus* y *Gammacoronavirus*, ya que hasta el momento se desconoce la delimitación adecuada, así como las propiedades de estos.

## Referencias

- Aceto, M. D. (1975). The antinicotinic effects of drugs with clinically useful sedative antianxiety properties. *Pharmacology*, *13*(5), 458–464. <https://doi.org/10.1159/000136938>
- Acevedo Ana. (2017). Virus de la bronquitis infecciosa: un desafío para la avicultura. Retrieved September 11, 2020, from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2017000300007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2017000300007)
- Alsaadi, E. A., & Jones, I. M. (2019). Membrane binding proteins of coronaviruses. *Future Virology*, *14*(4), 275–286. <https://doi.org/10.2217/fv1-2018-0144>
- Cabello C, C., & Cabello C, F. (2008, March). Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública y a la economía. *Revista Medica de Chile*. Sociedad Médica de Santiago. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872008000300016>
- Calvo, C., López, M., Vicente, J. C. de C., & Martínez, J. L. V. (2020). Recommendations on the clinical management of the COVID-19 infection by the «new coronavirus» SARS-CoV2. Spanish Paediatric Association working group. *Anales de Pediatría (English Edition)*, *92*(4), 241.e1-241.e11. <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2020.02.002>
- Carroll, D., Daszak, P., Wolfe, N. D., Gao, G. F., Morel, C. M., Morzaria, S., ... Mazet, J. A. K. (2018a). *Building a global atlas of zoonotic viruses*. WHO. World Health Organization. <https://doi.org/10.2471/blt.17.205005>
- Carroll, D., Daszak, P., Wolfe, N. D., Gao, G. F., Morel, C. M., Morzaria, S., ... Mazet, J. A. K. (2018b). The Global Virome Project. *Science*, *359*(6378), 872–874. <https://doi.org/10.1126/science.aap7463>
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020, April 1). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2019a). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019b, March 1). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Du, L., Yang, Y., Zhou, Y., Lu, L., Li, F., & Jiang, S. (2017, February 1). MERS-CoV spike protein: a key target for antivirals. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14728222.2017.1271415>
- Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In *Coronaviruses: Methods and Protocols* (Vol. 1282, pp. 1–23). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1)
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, *39*, 783–791.
- Fermin, G. (2018). Host Range, Host-Virus Interactions, and Virus Transmission. In *Viruses: Molecular Biology, Host Interactions, and Applications to Biotechnology* (pp. 101–134). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811257-1.00005-X>
- Ferrera Rodríguez, M. (2014). *Patrones filogenéticos del género Mustelus en el Pacífico nororiental Tesis*.
- Gallagher, T. M., & Buchmeier, M. J. (2001). MINIREVIEW Coronavirus Spike Proteins in Viral Entry and Pathogenesis. *Virology*, *279*, 371–374. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0757>
- García, C., Maguiña, C., & Gutierrez, R. (2003). Síndrome respiratorio agudo severo (SRAS). *Rev Med Hered* (Vol. 14).
- Gonzalez, D. (2013). “ANÁLISIS *in silico* DE LOS POSIBLES DOMINIOS CONSERVADOS Y DE REGULACIÓN DE LA PROTEÍNA FLAVONOIDE-3',5'-HIDROXILASA (F3'5'H) EN *Petunia hybrida*.”
- Gutierrez, J., & Aruquipa, J. (2020). COVID-19: ASPECTOS VIROLOGICOS Y PATOGENESIS. *Rev Cient Cienc Med*, *23*(1), 77–86. Retrieved from [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1817-74332020000100011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1817-74332020000100011&script=sci_arttext)
- Hernandez, C., & Valdez, R. (2018). Análisis de iniciadores con herramientas bioinformáticas libres en línea. *Temas de Ciencia y Tecnología*, *22*, 5–19. Retrieved

from [http://www.utm.mx/edi\\_anteriores/temas64/T64\\_E01\\_Analisis.pdf](http://www.utm.mx/edi_anteriores/temas64/T64_E01_Analisis.pdf)

Hong, Y., Guo, M., & Wang, J. (2021). ENJ algorithm can construct triple phylogenetic trees. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 23, 286–293. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.11.004>

Hulswit, R., de Haan, C., & Bosch, B. (2016). Coronavirus Spike Protein and Tropism Changes. In *Advances in Virus Research* (Vol. 96, pp. 29–57). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.004>

Hulswit, Ruben, Lang, Y., Bakkers, M., Li, W., Li, Z., Schouten, A., ... De Groot, R. (2019). Human coronaviruses OC43 and HKU1 bind to 9-O-acetylated sialic acids via a conserved receptor-binding site in spike protein domain A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(7), 2681–2690. <https://doi.org/10.1073/pnas.1809667116>

Iannacone, J., Tejada, M., Alvariño, L., & Castañeda, L. (2020). Enlaces zoonóticos del coronavirus SARS-CoV-2. *Cátedra Villarreal*. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Jose\\_Iannacone/publication/344012334\\_Enlaces\\_zoonoticos\\_del\\_coronavirus\\_SARS-CoV-2\\_Zoonotic\\_links\\_of\\_coronavirus\\_SARS-CoV-2/links/5f4db6bc299bf13c50713dde/Enlaces-zoonoticos-del-coronavirus-SARS-CoV-2-Zoonotic-links-of](https://www.researchgate.net/profile/Jose_Iannacone/publication/344012334_Enlaces_zoonoticos_del_coronavirus_SARS-CoV-2_Zoonotic_links_of_coronavirus_SARS-CoV-2/links/5f4db6bc299bf13c50713dde/Enlaces-zoonoticos-del-coronavirus-SARS-CoV-2-Zoonotic-links-of)

International Committee on Taxonomy of Viruses. (2020). Taxonomía de virus: versión 2019. Retrieved September 10, 2020, from <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

Ison, M. G., & Lee, N. (2017). Noninfluenza Respiratory Viruses. In *Infectious Diseases* (pp. 1472-1482.e5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-6285-8.00173-8>

Jacqui, W. (2020). Covid-19: New coronavirus variant is identified in UK. *NEWS BRIEFING*, 1–2. <https://doi.org/10.1136/bmj.m4857>

Jaiswal, N. K., & Saxena, S. K. (2020). Classical Coronaviruses (pp. 141–150). Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_12)

Jiménez-Clavero, M. Á. (2010). Influenza, gripe, «gripe española», «gripe porcina» y otras controversias en la denominación de los virus: El lado «políticamente incorrecto» de la virología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(9), 662–663.

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.06.001>

- Johnson, C. K., Hitchens, P. L., Pandit, P. S., Rushmore, J., Evans, T. S., Young, C. C. W., & Doyle, M. M. (2020). Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1924), 20192736. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2736>
- Katsuhisa, S. (2020). El virus, enemigo natural de la humanidad: una interminable carrera armamentística | Nippon.com. Retrieved October 26, 2020, from <https://www.nippon.com/es/in-depth/a06601/>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms.
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., ... Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>
- Lau, S. K. P., Feng, Y., Chen, H., Luk, H. K. H., Yang, W.-H., Li, K. S. M., ... Woo, P. C. Y. (2015). Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus ORF8 Protein Is Acquired from SARS-Related Coronavirus from Greater Horseshoe Bats through Recombination. *Journal of Virology*, 89(20), 10532–10547. <https://doi.org/10.1128/jvi.01048-15>
- Lau, S. K. P., Luk, H. K. H., Wong, A. C. P., Fan, R. Y. Y., Lam, C. S. F., Li, K. S. M., ... Yuen, K. Y. (2019). Identification of a novel betacoronavirus (merbecovirus) in amur hedgehogs from China. *Viruses*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/v11110980>
- Li, F. (2015). Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. *Journal of Virology*, 89(4), 1954–1964. <https://doi.org/10.1128/jvi.02615-14>
- Li, F. (2016, September 29). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual Review of Virology*. Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301>
- Li, Z., Tomlinson, A., Wong, A., Zhou, D., Desforges, M., Talbot, P., ... Rini, J. (2019). The human coronavirus HCoV-229E S-protein structure and receptor binding. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/eLife.51230>

- Liu, D., & Fung, S. (2020). Coronavirus humano-229E, -OC43, -NL63 y -HKU1. Retrieved February 7, 2021, from <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/human-coronavirus-229e>
- Malaiyan, J., Arumugam, S., Mohan, K., & Gomathi Radhakrishnan, G. (2021). An update on the origin of SARS-CoV-2: Despite closest identity, bat (RaTG13) and pangolin derived coronaviruses varied in the critical binding site and O-linked glycan residues. *Journal of Medical Virology*, 93(1), 499–505. <https://doi.org/10.1002/jmv.26261>
- Martínez, L. (2007). *Reconstrucción de la historia de cambio de los caracteres*. (L. Eguiarte, V. Souza, & X. Aguirre, Eds.). Mexico: Instituto Nacional de Ecología. Retrieved from <https://micrositios.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/530/cap4.pdf>
- Mattar, S., & González, M. (2018). Zoonotic emergence of coronavirus: a potential public risk for Latin America Emergencia zoonótica de coronavirus: un potencial riesgo público para América Latina. *MVZ CÓRDOBA*, 23(3), 6775–6778. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1408>
- Meyerholz, D. K., Lambertz, A. M., & McCray, P. B. (2016). Dipeptidyl Peptidase 4 Distribution in the Human Respiratory Tract Implications for the Middle East Respiratory Syndrome. *American Journal of Pathology*, 186(1), 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.09.014>
- Milewska, A., Kaminski, K., Ciejka, J., Kosowicz, K., Zeglen, S., Wojarski, J., ... Pyrc, K. (2016). HTCC: Broad Range Inhibitor of Coronavirus Entry. *PLOS ONE*, 11(6), e0156552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156552>
- Millo, R., Galpert, D., Casa, G., Grau, R., Arco, L., Garcia, M., & Fernández, A. (2014). Aggregation of Similarity Measures for Ortholog Detection: Validation with Measures Based on Rough Set Theory. *Computacion y Sistemas*, 18(1), 19–35. <https://doi.org/10.13053/CyS-18-1-2014-016>
- Monchatre, E., Boué, F., Boucher, J. M., Renault, C., Moutou, F., Gouilh, M. A., & Umhang, G. (2017). Identification of alpha and beta coronavirus in wildlife species in france: bats, rodents, rabbits, and hedgehogs. *Viruses*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/v9120364>

- Olival, K. J., Hosseini, P. R., Zambrana-Torrel, C., Ross, N., Bogich, T. L., & Daszak, P. (2017). Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature*, 546(7660), 646–650. <https://doi.org/10.1038/nature22975>
- OMS. (2019). Coronavirus causante del Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV). *WHO*. Retrieved from <http://www.who.int/features/qa/mers-cov/es/>
- OMS. (2020). Panel de control de la enfermedad por coronavirus de la OMS (COVID-19) | Panel de la OMS sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). Retrieved October 13, 2020, from <https://covid19.who.int/>
- ONU. (2020, March 9). El coronavirus nos llevará a la recesión y desaceleración económica | Noticias ONU. Retrieved September 6, 2020, from <https://news.un.org/es/story/2020/03/1470891>
- Oz, M., Lorke, D. E., & Kabbani, N. (2020). A comprehensive guide to the pharmacologic regulation of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), the SARS-CoV-2 entry receptor. *Pharmacology & Therapeutics*, 221, 107750. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107750>
- Palacios, M., Santos, E., Velázquez, M., & León, M. (2020). COVID-19, a worldwide public health emergency. *Revista Clínica Española*. Elsevier Doyma. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.03.001>
- Pastrian, G. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *International Journal of Odontostomatology*, 14(3), 331–337. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2020000300331>
- Perrotta, F., Matera, M. G., Cazzola, M., & Bianco, A. (2020, July 1). Severe respiratory SARS-CoV2 infection: Does ACE2 receptor matter? *Respiratory Medicine*. W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2020.105996>
- Rabaan, A. A., Al-Ahmed, S. H., Haque, S., Sah, R., Tiwari, R., Singh Malik, Y., ... Rodriguez-Morales, A. J. (2020). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. *Le Infezioni in Medicina*, (2), 174–184. Retrieved from [https://www.infezmed.it/media/journal/Vol\\_28\\_2\\_2020\\_7.pdf](https://www.infezmed.it/media/journal/Vol_28_2_2020_7.pdf)
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for

- reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406–425.
- Sanchez, E., & Pajuelo, C. (2020). IMPORTANCIA DE LA GENÉTICA COMO CIENCIA EN RELACIÓN A LA PANDEMIA DE COVID-19 Facultad de Medicina Humana URP. *Rev. Fac. Med. Hum. Octubre*, 20(4), 690–695. <https://doi.org/10.25176/RFMH.v20i4.2944>
- Santos, G., Borraz, M., & Reyes, R. (2004). La naturaleza e importancia de los virus. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 11(053), 26–31.
- Schoeman, D., & Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein: Current knowledge. *Virology Journal*, 16(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>
- Serrano-barrera, O. R. (2020). Análisis filogenético del receptor humano del coronavirus SARS-CoV-2 e implicaciones en la biología de la infección Phylogenetic analysis of the human receptor of SARS-CoV-2 coronavirus and its implications for the biology of infection, 45(3).
- Sievers, F., & Higgins, D. G. (2021). The Clustal Omega Multiple Alignment Package. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2231, 3–16. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7_1)
- Solanilla, L. F., Arturo, C., Teshima, G., & Múnera, L. E. (2005). *SISTEMAS & TELEMÁTICA Alineamiento de múltiples secuencias de aminoácidos usando algoritmos genéticos*.
- Statista GmbH. (2020). América Latina y el Caribe: número de casos de COVID-19 por país 2020.
- Sutton, T. C., & Subbarao, K. (2015). Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.030>
- Valencia, C., & Zambrano, M. (2019). *USO DE HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS PARA EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LAS ESPECIES DE LA SUBFAMILIA TRIATOMINAE VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA, Quito. Retrieved from

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16977/1/UPS-QT13820.pdf>

- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M., Wall, A., McGuire, A., & Veerler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, *181*(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Wang, B., Liu, Y., Ji, C., Yang, Y.-L., Liang, Q.-Z., Zhao, P., ... Huang, Y.-W. (2018). Porcine Deltacoronavirus Engages the Transmissible Gastroenteritis Virus Functional Receptor Porcine Aminopeptidase N for Infectious Cellular Entry. *Journal of Virology*, *92*(12), 318–336. <https://doi.org/10.1128/jvi.00318-18>
- Wang, L., & Zhang, Y. (2016). Animal Coronaviruses: A Brief Introduction. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3414-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3414-0_1)
- Wong, A. H. M., Tomlinson, A. C. A., Zhou, D., Satkunarajah, M., Chen, K., Sharon, C., ... Rini, J. M. (2017). Receptor-binding loops in alphacoronavirus adaptation and evolution. *Nature Communications*, *8*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01706-x>
- Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., ... Jiang, T. (2020). Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host and Microbe*, *27*(3), 325–328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>
- Yampolsky, L. Y., & Stoltzfus, A. (2005). The exchangeability of amino acids in proteins. *Genetics*, *170*(4), 1459–1472. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.039107>
- Yang, Y., Du, L., Liu, C., Wang, L., Ma, C., Tang, J., ... Li, F. (2014). Receptor usage and cell entry of bat coronavirus HKU4 provide insight into bat-to-human transmission of MERS coronavirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(34), 12516–12521. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405889111>
- Yuan, Y., Cao, D., Zhang, Y., Ma, J., Qi, J., Wang, Q., ... Gao, G. F. (2017). Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains. *Nature Communications*, *8*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms15092>
- Zhong, N. S., Zheng, B. J., Li, Y. M., Poon, L. L. M., Xie, Z. H., Chan, K. H., ... Guan,

- Y. (2003). Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet*, 362(9393), 1353–1358. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14630-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14630-2)
- Zhou, H., Chen, X., Hu, T., Li, J., Song, H., Liu, Y., ... Shi, W. (2020). A novel bat coronavirus reveals natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the Spike protein and a possible recombinant origin of HCoV-19. *BioRxiv*, 2020.03.02.974139. <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.974139>
- Zuckerkindl, E., & Pauling, L. (1965). Evolutionary divergence and convergence in proteins. Edited in *Evolving Genes and Proteins* by V. Bryson and H.J. Vogel, 97–166.

## Anexos

### Anexo 1: Resultados del alineamiento:

Consensus  
1. a AcCoV-1128  
2. a Bat coronavirus 1A  
3. a Bat CoV CPVH15/USA/2016  
4. a Bat-CoV-FuJian/Italy/2016-19/2015  
5. a DPP-Alpha CoV/SAC2811  
6. a DPP-Alpha CoV/SAC2812  
7. a DPP-Malacca/FR0113  
8. a Gammacoronavirus  
9. a GCoV strain K376  
10. a PCoV  
11. a Torus CoV  
12. a HCoV J292  
13. a HCoV NL63  
14. a Lotharing Min rat CoV  
15. a Hemipneumoniae bat coronavirus HCoV  
16. a HCoV strain RD1127  
17. a PCoV  
18. a Bat-CoV-FuJian/Italy/2016-19/2015  
19. a HCoV strain bat CoV HCoV  
20. a HCoV strain bat CoV HCoV  
21. a SeCoV  
22. a SeCoV  
23. a SeCoV  
24. a TGEV  
25. a WestNileVirus strain CoV 423  
26. a AlphaCoV HCoV  
27. a Bat CoV DPP-31/UGR/2016  
28. a Bat CoV HCoV  
29. a Bat CoV HCoV  
30. a Bat HCoV strain W/China/2013  
31. a Bat CoV HCoV  
32. a Equine CoV HCoV  
33. a HCoV strain bat CoV HCoV  
34. a HCoV strain bat CoV HCoV  
35. a HCoV strain bat CoV HCoV  
36. a HCoV strain bat CoV HCoV  
37. a HCoV strain bat CoV HCoV  
38. a HCoV strain bat CoV HCoV  
39. a HCoV strain bat CoV HCoV  
40. a HCoV strain bat CoV HCoV  
41. a HCoV strain bat CoV HCoV  
42. a HCoV strain bat CoV HCoV  
43. a HCoV strain bat CoV HCoV  
44. a HCoV strain bat CoV HCoV  
45. a HCoV strain bat CoV HCoV  
46. a HCoV strain bat CoV HCoV  
47. a HCoV strain bat CoV HCoV  
48. a HCoV strain bat CoV HCoV  
49. a HCoV strain bat CoV HCoV  
50. a HCoV strain bat CoV HCoV  
51. a HCoV strain bat CoV HCoV  
52. a HCoV strain bat CoV HCoV  
53. a HCoV strain bat CoV HCoV  
54. a HCoV strain bat CoV HCoV  
55. a HCoV strain bat CoV HCoV  
56. a HCoV strain bat CoV HCoV  
57. a HCoV strain bat CoV HCoV  
58. a HCoV strain bat CoV HCoV  
59. a HCoV strain bat CoV HCoV  
60. a HCoV strain bat CoV HCoV  
61. a HCoV strain bat CoV HCoV  
62. a HCoV strain bat CoV HCoV  
63. a HCoV strain bat CoV HCoV







```

1  ---MRFKAAVFAAFTHKMTLSPKAAAT---QARTVDFQKQDQ---AVDVLTFPRC---EAFITM---SALVYNA 191
2  ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LTNMS---LIVYFAM---SRAENVTEYVSN---FDVYVDANETSTETSR-QEIRK-V 320
3  ---SRLESTVYDQDQWIFGICLVKSS---ETAL---LVPYK---SNAKFDALFAA---TLGKAPVYK-F 327
4  ---ASG---SGLSSGQKPKLWYFA---LVSNE---LTPNTSKHBLT---MSEFARKDQVYF---EEDVATLAKAJLT---KRIQI-H 348
5  ---SSPSSDQVYDQGLLITLWYFA---LITAA---TGLTQD---MSTQVSDQTEAN---RET---ADAMK---TDSQ-KYFAK-V 328
6  ---SDYKSHVYKMTQDQDQVYFA---LITST---LTPYNSDQFTU---KQWYVYK---EY---ADWLEA---TDR-KAFQI-V 302
7  ---YDFVSPGELTNTLWYFA---ANKVTRKQWYFA---LFFRQI---LQDQK---TVA 145
8  ---SDMVDVYVDFPQLLWYFA---DRFTT---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
9  ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LVAQ---QSCFA---LAUFGDQVYS---LNMVYDVFYKALPTALYK---KATV 362
10 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LVAQ---QSCFA---LAUFGDQVYS---LNMVYDVFYKALPTALYK---KATV 362
11 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LVAQ---QSCFA---LAUFGDQVYS---LNMVYDVFYKALPTALYK---KATV 362
12 ---SSMVDVYVDFPQLLWYFA---LRFTE---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
13 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LKSST---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
14 ---SKPLVYVDFPTHATMTLWYFA---FEHIVIVYVDFPQK---VVTSTLWYFA---YKMAKATYDQVLSQV 194
15 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
16 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
17 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
18 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
19 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
20 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
21 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
22 ---YVWADVAKT---KRTHLWYFA---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
23 ---WFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
24 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
25 ---SKPLVYVDFPTHATMTLWYFA---FEHIVIVYVDFPQK---VVTSTLWYFA---YKMAKATYDQVLSQV 194
26 ---STLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
27 ---WFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
28 ERKAYAPLSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
29 ERKAYAPLSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
30 ---LAKTSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
31 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
32 ---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
33 RKLYLALPSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
34 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
35 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
36 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
37 ---WFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
38 ERKAYAPLSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
39 ERKAYAPLSSGTHSDS---QVYVYSLTII---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
40 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
41 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
42 ---EPFAI---LWYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
43 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
44 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
45 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
46 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
47 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
48 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
49 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
50 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
51 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
52 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
53 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
54 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
55 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
56 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
57 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
58 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
59 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
60 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
61 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
62 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130
63 ---YFTLQSGMVDVQRMESDCKVYV---LMSA---LIVYFA---LTKRQDQVPS---SNVLSQVYKPELCEH---LKH-V 130

```







1	.....	388
2	.....	392
3	.....	396
4	.....	410
5	.....	403
6	.....	357
7	.....	366
8	.....	386
9	.....	405
10	.....	424
11	.....	411
12	.....	300
13	.....	371
14	.....	388
15	.....	401
16	.....	417
17	.....	390
18	.....	306
19	.....	374
20	.....	301
21	.....	309
22	.....	309
23	AKC.....HPNYLYR.....LFRKAALVFER.....DISTEIQAE...K...C...H.....	402
24	LR.....	428
25	DFYD.....	301
26	LQ.....	392
27	SRN.....EFYR.....SFR.....K...H...I.....DIENVLFR...TCG.....	440
28	F...ITK...HAY...IDK...DEL...A.....N...D...V...E...L...Y...N...H...C...S...--E...R...D...F...S...--E...S...C...D...A.....	344
29	FTIK...K...N...Y...Y...I...E...Y...K...I...S...A...T...A.....K...K...--Y...L...Y...R...A...A...T...--K...L...E...L...S...A...R...R...K...B...--	341
30	CHAT...G...L...L...E...W...Y...T...H...L...--I...N...Y...A...L...A...T...A...D...A...S...E...Y...G...I...E...R...Y...Q...M...S...S...E...M...Y...N...D...E...L...Q...E...V...H...Q...Q...F...A.....	524
31	V...V...S...H...N...H...T...H...R...R...F...--F...T...E...Q...S...V...F...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--C...N...C...L...E...T...--	320
32	V...I...V...I...R...S...H...D...A...H...H...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--C...A...C...T...E...D...--	524
33	S...T...A...L...R...T...A...N...A...N...Y...A...Y...S...D...R...C...Q...Y...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	524
34	V...T...I...N...H...R...F...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	521
35	V...S...V...S...R...H...R...F...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	527
36	V...Y...V...T...K...K...H...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	516
37	T...--N...Y...Y...Y...--S...H...R...K...T...E...L...V...F...E...R...--D...I...S...--S...D...--	456
38	F...T...I...T...K...L...K...Y...S...Y...I...N...K...C...S...E...P...L...S...D...--D...R...T...--E...V...H...Q...L...Y...M...A...N...Q...Y...S...--C...V...S...I...V...P...T...Y...M...E...D...D...--	520
39	F...T...I...T...K...L...K...Y...S...Y...I...N...K...C...S...E...P...L...S...D...--D...R...T...--E...V...H...Q...L...Y...M...A...N...Q...Y...S...--C...V...S...I...V...P...T...Y...M...E...D...D...--	539
40	V...T...I...N...H...R...F...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	466
41	V...S...V...T...H...R...F...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	521
42	V...S...V...S...L...R...H...T...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	524
43	V...T...V...T...H...R...F...S...H...R...R...F...--F...R...D...T...H...K...K...D...H...A...V...F...T...H...D...H...V...V...Y...A...Q...H...C...H...K...A...T...H...N...F...C...K...L...L...D...S...L...C...V...H...S...I...D...A...Y...K...N...I...T...C...P...A...T...N...Y...L...T...C...H...R...A...A...D...--	523
44	Y...A...V...A...A...--T...I...S...--I...H...R...V...A...A...E...A...C...E...T...V...A...S...F...C...A...K...S...I...V...Y...S...V...I...E...--K...E...S...A...N...C...E...T...S...H...R...E...E...R...D...A...S...--	488
45	SKV.....HPNYLYR.....LFRKAALVFER.....DISTEIQAE...K...C...H.....	402
46	ATQT.....HPNYLYR.....LFRKAALVFER.....DISRVVFS...D...K...E...T...--	400
47	ATQT.....HPNYLYR.....LFRKAALVFER.....DISRVVFS...D...K...E...T...--	448
48	-T.....	304
49	-L.....	430
50	-T.....	420
51	-A.....	377
52	-F.....	426
53	-T.....	300
54	-T.....	422
55	-D.....	407
56	-T.....	402
57	-S.....	428
58	CKE.....	300
59	NAH.....	338
60	CKQ.....	340
61	CKQ.....	360
62	KLL.....	376
63	VVE.....	642













Q DRLI SRL L V Q L S LA H NECV SOS R FCG G H S AF G F H P V G C

1 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 948  
 2 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1178  
 3 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1187  
 4 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1194  
 5 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 6 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1145  
 7 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 951  
 8 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 973  
 9 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1254  
 10 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1253  
 11 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1237  
 12 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1077  
 13 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 14 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 984  
 15 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1181  
 16 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 17 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 18 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 947  
 19 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 20 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1174  
 21 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1178  
 22 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1043  
 23 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1087  
 24 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1244  
 25 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 962  
 26 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1178  
 27 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1077  
 28 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1187  
 29 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 30 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1134  
 31 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 32 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 33 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1148  
 34 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1173  
 35 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1176  
 36 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1179  
 37 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1060  
 38 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 39 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 40 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1142  
 41 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1172  
 42 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1188  
 43 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1178  
 44 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1088  
 45 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1081  
 46 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1073  
 47 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1073  
 48 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 965  
 49 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1012  
 50 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1017  
 51 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 958  
 52 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1031  
 53 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 988  
 54 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1008  
 55 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 984  
 56 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 979  
 57 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1085  
 58 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 998  
 59 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 981  
 60 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 968  
 61 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 988  
 62 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 988  
 63 QDVRLLRHHNTLQNFVYKLSLQKQDILASGLVYVYVHNFPCGK... 1248





1	RVQ-----	1127
2	EKVHQ-----	1178
3	EKVHQ-----	1184
4	EKVHQ-----	1189
5	EKVHQ-----	1187
6	EHHQ-----	1143
7	HIQ-----	1133
8	EHHQ-----	1189
9	EKVHH-----	1451
10	EKVHH-----	1452
11	ERVHH-----	1438
12	EKHHQ-----	1173
13	EKVHQ-----	1186
14	RVQ-----	1134
15	ERVHQ-----	1178
16	EKVHK-----	1434
17	EKVHQ-----	1181
18	HIQ-----	1128
19	EKVHQ-----	1149
20	EKVHQ-----	1171
21	EKVHQ-----	1182
22	-----	1121
23	HYT-----	1209
24	ERVHH-----	1447
25	HIQ-----	1134
26	EVHHQ-----	1179
27	HYT-----	1188
28	-----	1151
29	-----	1192
30	HY-----	1127
31	SHDR-----	1164
32	SHDR-----	1164
33	T-----	1121
34	SHDR-----	1181
35	SHDR-----	1150
36	SHDR-----	1188
37	HYT-----	1142
38	-----	1150
39	-----	1188
40	SHDR-----	1124
41	SHDR-----	1149
42	SHDR-----	1161
43	SHDR-----	1168
44	KKRIV-----	1179
45	HYT-----	1171
46	HYT-----	1191
47	HYT-----	1188
48	HTVDS-----FKLKV-----	1100
49	QTVFP-----FKLKV-----	1101
50	TVTS-----FKLKV-----	1107
51	TVTS-----FKLKV-----	1188
52	RYETTSKSDDAITTKRMV-----	1184
53	QTVDS-----FKFNV-----	1189
54	HTVDS-----FKFNV-----	1186
55	TVDS-----FKLKV-----	1190
56	HTVDS-----FKLKV-----	1178
57	LLQVDS-----LTYKRY-----	1111
58	DDVYSHIKKRV-----	1104
59	DDVYSHIKKRV-----	1191
60	DDVVT-----	1153
61	DDVYTEQFKKSV-----	1162
62	DDVYVNTDKSLPDSNSATFNSVNSLV-----	1126
63	EVNLEIKAD-----	1470

**Anexo 2: Porcentaje de identidad**

**Tabla N°7: Similitud de secuencias espiga, respecto a HCoV-229E.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
a_Camel_alphaCoV	2262	2262	100%	0.0	94.46%	1169	YP_009194639.1
a_HCoV_NL63	1524	1524	98%	0.0	64.15%	1356	YP_003767.1

**Tabla N°8: Similitud de secuencias espiga, respecto a HCoV-NL63.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
a_HCoV_229E	1542	1542	85%	0.0	64.13%	1173	NP_073551.1
a_Camel_alphaCoV	1534	1534	85%	0.0	64.60%	1169	YP_009194639.1

**Clado 2**

**Tabla N°9: Similitud de secuencias espiga, respecto a SARS-CoV.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
b_SARS_CoV_Tor2	2600	2600	100%	0.0	99.92%	1255	YP_009825051.1
b_HKU3	2050	2050	100%	0.0	78.51%	1242	Q3LZT7
b_RaTG13	2025	2025	100%	0.0	76.67%	1269	QHR63300.2
b_SARS_CoV_2	2012	2012	100%	0.0	76.04%	1273	YP_009724390.1
b_Bat_CoV_BM48-31/BGR/2008	1954	1954	99%	0.0	75.30%	1259	YP_003858584.1
b_Bat_Hp-betaCoV/ Zhejiang2013	888	888	96%	0.0	41.21%	1317	YP_009072440.1

**Tabla N°10: Similitud de secuencias espiga, respecto a SARS-CoV-2.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
b_RaTG13	2565	2565	100%	0.0	97.41%	1269	QHR63300.2
b_SARSr_CoV	2039	2039	100%	0.0	76.04%	1255	P59594.1
b_SARS_CoV_Tor2	2038	2038	100%	0.0	75.96%	1255	YP_009825051.1
b_HKU3	2001	2001	100%	0.0	76.04%	1242	Q3LZT7
b_Bat_CoV_BM48-31/BGR/2008	1887	1887	100%	0.0	71.66%	1259	YP_003858584.1
b_Bat_Hp-betaCoV/ Zhejiang2013	884	884	97%	0.0	41.08%	1317	YP_009072440.1

### Clado 3

**Tabla N°11: Similitud de secuencias espiga, respecto a MERS-CoV.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
<b>b_MERS_CoV_England_1</b>	2800	2800	100%	0.0	99.85%	1353	YP_007188579.1
<b>b_bat_CoV_HKU4</b>	1831	1831	99%	0.0	67.06%	1352	YP_001039953.1
<b>b_bat_CoV_HKU5</b>	1821	1821	100%	0.0	63.72%	1352	YP_001039962.1
<b>b_Erinaceus/VMC/DEU/2012</b>	1555	1555	100%	0.0	56.08%	1330	YP_009513010.1

**Tabla N°12: Similitud de secuencias espiga, respecto a HCoV-OC43.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
<b>b_Bovine_CoV_02</b>	2529	2529	100%	0.0	91.81%	1363	Q2EF02
<b>Rabbit coronavirus HKU14</b>	2508	2508	100%	0.0	90.86%	1362	YP_005454245.1
<b>b_PHVE</b>	2253	2253	100%	0.0	80.66%	1349	Q2QKN3
<b>b_Equine_CoV_NC99</b>	2240	2240	100%	0.0	79.34%	1363	Q6W355

**Tabla N°13: Similitud de secuencias espiga, respecto a HCoV-HKU1.**

Nombre	Punt. máxima	Punt. total	Cobertura	Valor E	Por. Ident	Longitud	Acceso
<b>Rat coronavirus Parker</b>	1769	1769	100%	0.0	63.74%	1360	YP_003029848.1
<b>Murine coronavirus RA59/R13</b>	1683	1683	100%	0.0	61.47%	1324	ACN89689.1
<b>Betacoronavirus HKU24</b>	1680	1680	100%	0.0	60.72%	1358	YP_009113025.1
<b>Bat Hp-beta coronavirus/ Zhejiang2013</b>	497	579	83%	5,0E-156	38.27%	1317	YP_009072440.1
<b>b_HKU3</b>	464	580	76%	1,0E-144	36.04%	1242	Q3LZT7
<b>SARS-CoV-2</b>	461	554	64%	2,0E-143	36.83%	1273	YP_009724390.1
<b>Bat coronavirus RaTG13</b>	459	552	64%	9,0E-143	36.90%	1269	QHR63300.2
<b>Bat coronavirus BM48-31/BGR/2008</b>	457	565	82%	4,0E-142	36.44%	1259	YP_003858584.1
<b>SARS-CoV Tor2</b>	455	563	80%	3,0E-141	35.83%	1255	YP_009825051.1
<b>SARSr-CoV</b>	455	563	80%	3,0E-141	35.83%	1255	P59594.1