



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



Tema: Identificación y modelamiento de mutaciones que otorgan resistencia a inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2.

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

Este Trabajo de Titulación forma parte del Proyecto “Diseño racional de inhibidores con potencial actividad antiviral contra el virus SARS-CoV-2 (COVID-19)”, auspiciado por la UODIDE mediante la Convocatoria 2020 y coordinado por Mario Daniel García Solís, PhD.

Autor: Karen Andrea Jaramillo Guapisaca

Tutor: PhD. Mario Daniel García Solís

Ambato-Ecuador

Enero - 2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mario Daniel García Solís, PhD.

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, de la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, 18 de diciembre de 2020

Mario Daniel García Solís, PhD.

C.I. 110360547-1

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Jaramillo Guapisaca Karen Andrea, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación la modalidad de Proyectos de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink that reads "Karen Jaramillo". The signature is stylized with a large loop at the end and some horizontal strokes underneath.

Karen Andrea Jaramillo Guapisaca

C.I. 180514334-2

AUTORA

APROBACIÓN 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 del Tribunal
PhD. Orestes Darío Lopez Hernández
C.I. 175478486-4

PhD. David Andrés Terán Mera
C.I. 171656972-6

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

Ambato, 8 de enero 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 líneas 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 autora.

A handwritten signature in blue ink that reads "Karen Jaramillo". The signature is stylized with loops and is positioned above a horizontal line.

Karen Andrea Jaramillo Guapisaca

C.I. 180514334-2

AUTORA

DEDICATORIA

*Dedicada primero a Dios por su grandeza,
a mi madre Rocío Guapisaca, a mi padre Luis
Jaramillo y
a mis hermanos Kevin y Sebastián.*

*Y a todas las personas que me
acompañaron en este camino.*

AGRADECIMIENTOS

Todos tenemos sueños. Pero para convertir los sueños en realidad, se necesita una gran cantidad de determinación, dedicación, autodisciplina y esfuerzo (Jesse Owens). Por lo que quiero agradecer en primer lugar a Dios por ser quién me ha brindado salud y vida para lograr este sueño. A mi madre que a pesar de las dificultades que hemos cruzado supo apoyarme y estar cuando mas la necesitaba. Ella es la mujer que me enseñó a nunca rendirme y a ser la mujer que hoy en día soy.

También a mi padre por sus enseñanzas, responsabilidad y dedicación que me supo inculcar, a mis hermanos que son la fuerza que me dan para seguir adelante, a mi tía Nancy por el amor que me ha brindado y el apoyo incondicional, a mis bellos abuelitos por ser una parte importante en mi vida que me han enseñado a que, aunque la vida no sea fácil siempre debemos dar lo mejor de nosotros y a mis sobrinos Liam y Luciana que ha pesar de ser tan pequeños me enseñaron a tener una sonrisa a pesar de que tan difícil sea la vida.

Debo agradecer a esas personas que caminaron conmigo en este largo camino llamado universidad. A mis amigos Mayra y Erick que estuvieron junto a mí en todas las etapas universitarias, sintiéndome agradecida por su amistad y los momentos que hemos compartido y de los momentos que seguiremos compartiendo. Agradezco a Danny por ser mi apoyo incondicional y por su amor y cariño que me ha brindado en estos últimos años.

Finalmente, al Doc. Mario García por sus enseñanzas en aulas y como tutor ya que hizo posible cumplir uno de mis sueños; y a todos aquellos docentes de los cuales aprendí no solo en lo eferente a lo académico si no también en valores.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

PORTADA	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
CAPÍTULO I	14
MARCO TEÓRICO.....	14
1.1 Antecedentes Investigativos	14
1.1.1 Enfermedades Respiratorias Emergentes.....	14
1.1.2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2).....	14
1.1.3 Taxonomía del SARS-CoV-2.....	15
1.1.4 Coronavirus capaces de infectar seres humanos	16
1.1.5 Retos que impone el SARS-CoV-2 a los sistemas de salud pública	17
1.1.6 Estructura del SARS-CoV-2.....	19
1.1.7 Mecanismo de infección del SARS-CoV-2	21
1.1.8 Inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del SARS-CoV-2 ..	22
1.1.9 Posibles tratamientos para el SARS-CoV-2	25
1.1.10 Mutaciones del SARS-CoV-2	26
1.2 Objetivos.....	27
1.2.1 Objetivo General	27
1.2.2 Objetivos Específicos	27
1.3 Hipótesis	27
1.3.1 Hipótesis Nula.....	27
1.3.2 Hipótesis Alternativa.....	27
1.4 Señalamiento de las variables de hipótesis.....	28

1.4.1 Variable Dependiente	28
1.4.2 Variable Independiente.....	28
CAPÍTULO II.....	29
METODOLOGÍA	29
2.1 Materiales y equipos	29
2.1.1 Materiales.....	29
2.1.2 Equipos	29
2.2 Métodos	29
2.2.1 Análisis de la estructura de RdRP del SARS-CoV-2.....	29
2.2.2 Análisis de homología de RdRp del SARS-CoV-2.....	30
2.2.3 Alineamiento múltiple de secuencias	31
2.2.4 Identificación de los residuos que forman interacciones no covalentes con el inhibidor.....	32
2.2.5 Construcción de modelos tridimensionales de variantes mutantes de la enzima RdRp de SARS-CoV-2.....	32
2.2.5.1 Identificación de las mutaciones de la polimerasa del SARS-CoV-2	32
2.2.6 Determinación de la resistencia de las variantes mutantes de la enzima RdRp de SARS-CoV-2	34
2.2.7 Elaboración de figuras enzima-ligando	35
CAPITULO III.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1 Análisis y discusión de resultados	36
3.1.1 Análisis de homología de RdRp del SARS-CoV-2.....	36
3.1.2 Identificación de los residuos que forman interacciones no covalentes con el inhibidor.....	41
3.1.3 Alineamiento múltiple de secuencias	43
3.1.4 Mutaciones introducidas en el sitio activo de RdRp.....	48
3.1.5 Efecto de mutaciones puntuales sobre la afinidad de Remdesivir por el sitio activo de RdRp	51
3.2 Verificación de hipótesis	58
CAPITULO IV	59
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	59
4.1 Conclusiones	59
4.2 Recomendaciones.....	59
BIBLIOGRAFÍA	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Candidatos a fármacos actuales para el SARS-CoV-2.....	23
Tabla 2 Frecuencia de codones en Escherichia coli.....	33
Tabla 3 Valores de similitud de secuencia entre RdRp del SARS-CoV-2 y proteínas homólogas.....	36
Tabla 4 Aminoácidos que interactúan con el ligando remdesivir.	42
Tabla 5 Mutaciones en tres aminoácidos de la RdRp del SARS-CoV-2.....	49
Tabla 6 Mejores soluciones de las mutaciones generadas con la solución nativa.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Taxonomía de las especies de Betacoronavirus que infectan al ser humano (Lain, Zhou, Liu, & Bi, Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses, 2016).	16
Fig. 2 Representación de la transmisión intra e interespecie de los coronavirus que afectan a los seres humanos (Cortéz, 2020).....	17
Fig. 3 Curva de crecimiento de nuevos contagios confirmados por COVID-19 a escala global. A) Gráfico de barras del número de nuevos casos confirmados por día. B) Escala logarítmica del número de casos totales por día (Dong, Du, & Gardner, 2020).	19
Fig. 4 Estructura del complejo nsp12-nsp7-nsp8 del complejo RdRp en Cryo-EM.....	20
Fig. 5 Estructura del SARS-CoV-2.....	20
Fig. 6 Replicación del coronavirus SARS-CoV-2. Proceso de unión de la glicoproteína S (Subunidad 1) del virión al receptor celular (enzima convertidora de angiotensina 2) (Ruiz & Jiménez, 2020).	21
Fig. 7 Estructura química del remdesivir en su forma pro-droga (Reina J. , 2020).	24
Fig. 8 Representación del modelo de incorporación de remdesivir en RdRp del SARS-CoV-2 (Gao, Yan, Huang, Liu, & Zhao, 2020).....	25
Fig. 9 Remdesivir en el sitio activo de RdRp del SARS-CoV-2 (Código PDB: 7BV2).	41
Fig. 10 Interacciones de los diez residuos del sitio activo de la polimerasa del SARS-CoV-2 con el remdesivir. Los paneles A) y B) muestran al inhibidor en el sitio activo de RdRp con un ángulo de rotación de 180° (Jaramillo, 2020).....	43
Fig. 11 Identificación de los aminoácidos que forma interacciones con el remdesivir en el alineamiento múltiple.....	48
Fig. 12 Mutación del aminoácido Val por Ile, en la posición 557. A) Representación de la mutación 1 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 1 en formato surface (PYMOL)	50
Fig. 13 Mutación del aminoácido Ala por Gly, en la posición 688. A) Representación de la mutación 2 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 2 en formato surface (PYMOL).	50
Fig. 14 Mutación del aminoácido Ser por Thr, en la posición 759. A) Representación de la mutación 3 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 3 en formato surface (PYMOL).	51
Fig. 15 Acoplamiento molecular de Remdesivir en la forma nativa de RdRp del SARS-CoV-2 (7BV2).	52

Fig. 16 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Val557Ile. La mejor solución está muestra a Remdesivir en color amarillo.	54
Fig. 17 Representación de las interacciones de la mutación Val557Ile y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa.	54
Fig. 18 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ala688Gly. La mejor solución está muestra a Remdesivir en color amarillo.	55
Fig. 19 Representación de las interacciones de la mutación Ala688Gly y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa.	56
Fig. 20 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ser759Thr. La mejor solución está muestra a Remdesivir en color amarillo.	57
Fig. 21 Representación de las interacciones de la mutación Ser759Thr y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa.	58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Alineamiento múltiple de la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) del SARS-CoV-2 con cincuenta especies.	65
Anexo 2 Secuenciación del complejo nsp12 del cDNA del virus SARS-CoV-2.	80
Anexo 3 Resultados generados en GOLD de la proteína nativa (WT) de la RdRp del SARS-CoV-2.	82
Anexo 4 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Valina en la posición 557.	83
Anexo 5 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Alanina en la posición 688.	83
Anexo 6 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Serina en la posición 759.	83

RESUMEN

El surgimiento de un nuevo coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), del cual no existe aún un tratamiento efectivo, por lo que la enzima ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp) del SARS-CoV-2, es uno de los principales objetivos para desarrollar compuestos con actividad antiviral. Partiendo de este principio, análogos estructurales de los nucleósidos como el Favipiravir, Ribavirin y Remdesivir, particularmente, este último es un eficaz inhibidor de RdRp del SARS-CoV-2 y de otros virus de ARN como el MERS siendo gran candidato como opción terapéutica para el tratamiento del COVID-19.

Se identificó los residuos clave de RdRp del virus, que asisten en la unión de Remdesivir que mantiene interacciones no covalentes. El grado de conservación de estos residuos se analizó mediante un alineamiento múltiple de secuencias con RdRps. Permitiendo modelar variantes mutantes en tres posiciones, Val557Ile, Ala688Gly y Ser759Thr, y evaluar el efecto de estas mutaciones sobre la unión del inhibidor. La afinidad y la energía libre fue determinada mediante acoplamiento molecular en el programa GOLD. Los resultados muestran que las tres mutaciones disminuyen la afinidad teórica de Remdesivir por el sitio activo de RdRp. La mutación más perjudicial para la unión de Remdesivir con la enzima fue la variante Val557Ile, con un Score de afinidad 1.4 veces menor que el observado para la enzima nativa. Estos resultados permiten preveer el efecto de posibles cambios que puedan ocurrir en la polimerasa viral de forma natural y generar alternativas terapéuticas para contrarrestar el efecto de resistencias a inhibidores de RdRp, como Remdesivir.

Palabras claves: Modelado de mutaciones, RdRp, acoplamiento molecular, Remdesivir, SARS-CoV-2.

Abstract

The emergence of a new severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2), of which there is not yet effective treatment, so the SARS-CoV-2 dependent RNA polymerase (RdRp) enzyme, is one of the main goals for developing compounds with antiviral activity. Based on this principle, structural analogues of nucleosides such as Favipiravir, Ribavirin and Remdesivir, particularly, the latter is an effective SARS-CoV-2 RdRp inhibitor and other RNA viruses such as MERS being a major candidate as a therapeutic option for the treatment of COVID-19.

Key RdRp residues of the virus, which assist in the junction of Remdesivir that maintain non-covalent interactions, were identified. The degree of conservation of these residues was analyzed by multiple sequence alignment with RdRps. This analysis allowed mutant variants to be modeled in three specific positions of the enzyme's active site, Val557Ile, Ala688Gly and Ser759Thr, and evaluate the effect of these mutations on the binding properties of the inhibitor. Affinity and free energy was determined by molecular coupling in the GOLD program. The results show that all three mutations decrease Remdesivir's theoretical affinity for the active RdRp site. The most harmful mutation for the binding of Remdesivir with the enzyme was the Val557Ile variant with an affinity Score 1.4 times lower than that observed for the native enzyme. These results allow us to foresee the effect of possible changes that may occur in the viral polymerase in a natural way and to generate therapeutic alternatives to counteract the effect of resistance to RdRp inhibitors, such as Remdesivir.

Keywords: Mutation modeling, RdRp, molecular coupling, Remdesivir, SARS-CoV-2.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes Investigativos

1.1.1 Enfermedades Respiratorias Emergentes

En los últimos 25 años han surgido nuevos virus respiratorios de alta transmisión que, por su alcance territorial y elevada tasa de mortalidad, han llegado a considerarse pandemias. En el siglo pasado, las pandemias más importantes se registraron en los años de 1918, 1957 y 1968, todas ellas causadas por el virus de la influenza. En lo que va del presente siglo, durante el año 2003 surgió una nueva enfermedad viral denominada síndrome respiratorio agudo severo (SARS), la cual es provocada por un coronavirus (SARS-CoV). Se conoce que esta enfermedad alcanzó 30 países y causó más de 8000 casos confirmados, con un índice de mortalidad de aproximadamente el 10%. Posteriormente, surgieron otras enfermedades respiratorias causadas por virus emergentes, tales como aquellas causadas por el coronavirus que provoca el Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) (descubierto en Arabia Saudita en el año 2012) y el adenovirus-14 (descubierto en 2008) (**Van der Hoek, y otros, 2004**). Entre estos virus, el MERS-CoV es el más letal ya que, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), hasta el 2018 se confirmaron 2.279 casos, con 806 muertes, lo cual equivale al 35.3% de los contagios.

1.1.2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2)

A finales del año 2019 se descubrió un nuevo coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), también conocida como COVID-19, que hasta el 18 de octubre de 2020 ha causado alrededor de 40 millones de casos confirmados y 1.1 millones de fallecidos en todo el mundo (**WHO, 2020**). Estos datos indican que este nuevo virus tiene una tasa de mortalidad del 2,75%, lo cual es 3.6 veces menor a la observada para el SARS-CoV. En el contexto local, en el Ecuador se registró la tasa más alta de contagio por el virus SARS-CoV-2 de América del Sur con el 13.15 por cada 100 000 habitantes (**WHO, 2020**). Este fenómeno se produjo por el desacato de la población a las medidas de prevención, especialmente el uso de tapabocas y evitar aglomeraciones, y a la diseminación del virus en los núcleos familiares.

Debido al reciente descubrimiento de esta enfermedad aún no existe un tratamiento efectivo para combatirla, por lo que países como China, Italia y Estados Unidos tomaron medidas de distanciamiento social y cuarentena, las cuales también se implementaron en la mayoría de los países que confirmaron casos positivos. Según la Organización Mundial de la Salud (2020), la incapacidad de las diferentes naciones de detener el SARS-CoV-2 provocó una crisis sanitaria de escala global. Hasta el momento se desconoce el origen del SARS-CoV-2. Sin embargo, se cree que es una enfermedad zoonótica por la alta identidad de secuencia que presenta con respecto al genoma del coronavirus de murciélago BatCoV RaTG13 (96%) y el SARS-CoV (79,6%) (Xiaolu Tang, 2020). En contraste, estudios de secuenciación de genomas de virus que infectan pangolines y su posterior comparación con el genoma del SARS-CoV-2 sugieren una identidad de hasta el 99%. Estos resultados levantan una nueva hipótesis, la cual ubica a los pangolines como animales hospederos intermediarios para la transmisión del SARS-CoV-2 a los seres humanos. Adicionalmente, estos estudios descartan a los murciélagos como animales intermediarios de este virus basándose en el hecho de que el brote de SARS-CoV-2 ocurrió durante el invierno, periodo en el cual estos mamíferos hibernan. De esta forma existiría una menor probabilidad de que los murciélagos transfieran directamente el virus a personas (Alviso, Gómez, García, & Velázquez, 2020). De todas formas, está claro que, gracias a un proceso evolutivo llevado a cabo en animales hospederos intermediarios, el virus SARS-CoV-2 consiguió infectar a los seres humanos mediante la adaptación de su proteína espiga para reconocer el receptor ACE2 de las células humanas (Lam, y otros, 2020).

1.1.3 Taxonomía del SARS-CoV-2

Los coronavirus pertenecen a la familia *Coronaviridae*, que son virus de ARN de cadena positiva con una longitud de 27 a 32kb, envueltos por una nucleocápside de glicoproteínas. El nuevo SARS-CoV-2, descubierto en Wuhan en el 2019 en 41 personas que presentaban una infección respiratoria atípica, pertenece a la única especie del género *Betacoronavirus*, subgénero *Sarbecovirus*, denominada “*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*” (Fig 1) (Jiménez, 2020). Los virus pertenecientes a esta familia se denominan coronavirus ya que muestran proyecciones

proteicas externas que corresponden a la glicoproteína espiga (S) que se observa en forma de corona bajo el microscopio electrónico (**Gordon, 2020**).

SUPERREINO <i>Riboviria</i>			
ORDEN <i>Nidovirales</i>			
SUBORDEN <i>Cornidovirineae</i>			
FAMILIA <i>Coronaviridae</i>			
SUBFAMILIA <i>Orthocoronavirinae</i>	GÉNERO <i>Betacoronavirus</i>	SUBGÉNERO <i>Embecovirus</i>	ESPECIE <i>Human coronavirus 229E</i> <i>Human coronavirus HKU1</i>
		<i>Hibecovirus</i>	
		<i>Merbecovirus</i>	<i>Middle East respiratory syndrome-related coronavirus (MERS-CoV)</i>
		<i>Nobecovirus</i>	
		<i>Sarbecovirus</i>	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARS-CoV, SARS-CoV-2)</i>

Fig. 1 Taxonomía de las especies de *Betacoronavirus* que infectan al ser humano (Lain, Zhou, Liu, & Bi, *Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses*, 2016).

1.1.4 Coronavirus capaces de infectar seres humanos

Los coronavirus capaces de infectar a los seres humanos (HCoV) fueron descubiertos en la década de 1960s por June Almeida (**Saisfer, 2020**). Con el descubrimiento del SARS-CoV-2 suman ya seis tipos de coronavirus capaces de causar enfermedades en los seres humanos y que pueden ser transmitidos de animal a humano y de humano a humano. Cuatro de estos virus (229E, OC43, NL63 y HKU1) producen síntomas similares a los de la gripe común, mientras que dos tipos de coronavirus (SARS-CoV, MERS-CoV) causan enfermedades severas agudas, con elevadas tasas de mortalidad (**Cui, Li, & Shi, 2018**). Se conoce que los coronavirus OC43 y HKU-1 circulan libremente entre la población humana, en ocasiones incluso sin provocar síntomas. Por otra parte, esporádicamente se dan brotes de MERS-CoV y el SARS-CoV, ya que estos virus conservan reservorios en animales como los dromedarios, pangolines y murciélagos (Fig 2). El ciclo de vida de los coronavirus y su fácil circulación entre diferentes especies ha facilitado que exista una mayor recombinación de su ARN en comparación con aquellos virus que solo se transmiten una sola vez, otorgándoles así

una alta capacidad de adaptación para infectar a nuevas especies (Lain, Zhou, Liu, & Bi, 2016).

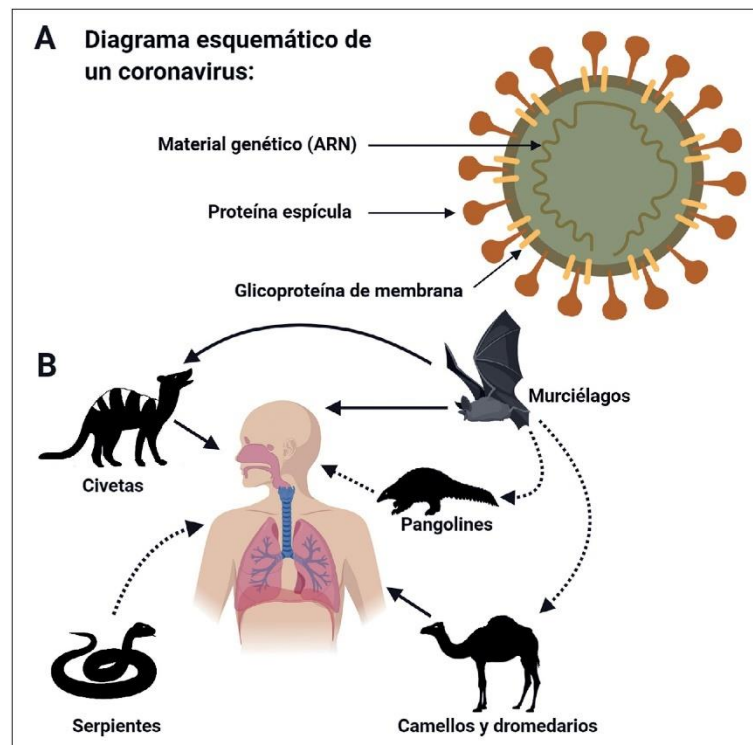


Fig. 2 Representación de la transmisión intra e interespecie de los coronavirus que afectan a los seres humanos (Cortéz, 2020).

En la familia *Coronaviridae* existen varias especies que afectan principalmente a animales. Entre ellos podemos citar a los *Alphacoronavirus 1*, CCoV y FCoV, que infectan selectivamente caninos y felinos, respectivamente. Estos virus son incapaces de infectar a los seres humanos ya que sus proteínas espiga no reconoce ningún receptor de células humanas (Le Poder, 2011).

1.1.5 Retos que impone el SARS-CoV-2 a los sistemas de salud pública

La CPI (Prevención y Control de Infecciones) indica que la principal vía de contagio del virus son las secreciones respiratorias o gotículas que una persona infectada expulsa cuando tose o estornuda (Richard, y otros, 2020). Estas partículas se mantienen por un tiempo prolongado sobre las superficies o en el aire, favoreciendo así el contagio a personas expuestas o que mantienen contacto directo con el paciente. Según la **Organización Mundial de la Salud**, (2020) casi el 80% de las personas que padecen la enfermedad son asintomáticas y se recuperan sin la necesidad de un

tratamiento hospitalario. Sin embargo, una de cada cinco personas contagiadas presenta un cuadro clínico grave, entre ellas las personas mayores de edad y las que padecen enfermedades crónicas como asma, diabetes, problemas cardiovasculares y pulmonares (**Giordano, y otros, 2020**).

La facilidad de contagio del virus, sumada a la gran cantidad de casos asintomáticos, han posado una gran presión en la capacidad de los sistemas públicos de salud. Las medidas de prevención, como el uso del tapabocas, el lavado constante de manos y el distanciamiento social, han sido medianamente efectivas para combatir la pandemia. Los datos de la **Organización Mundial de la Salud (2020)** muestran inflexiones en la curva de contagios que coinciden con la imposición y levantamiento de medidas de confinamiento, cierre y apertura de escuelas, universidades y negocios y a la pérdida de flexibilidad de teletrabajo (Fig. 3). Al no contar con un tratamiento o vacuna que ayude a contrarrestar los contagios por el COVID-19, se han agudizado las condiciones en los hospitales y centros asistenciales. A nivel global se han reportado picos de ingreso de pacientes con necesidades de hospitalización y cuidados intensivos, llegando en algunos casos a una ocupación de camas del 100%. Se han hecho esfuerzos para reutilizar medicamentos que han sido desarrollados para otras enfermedades y de los cuales existe datos de su actividad farmacológica para así evaluar su posible actividad contra el SARS CoV-2 (**Tedijanto, Kissler, Goldstein, Grad, & Lipsitch, 2020**). Ninguno de estos tratamientos ha demostrado ser completamente efectivo.

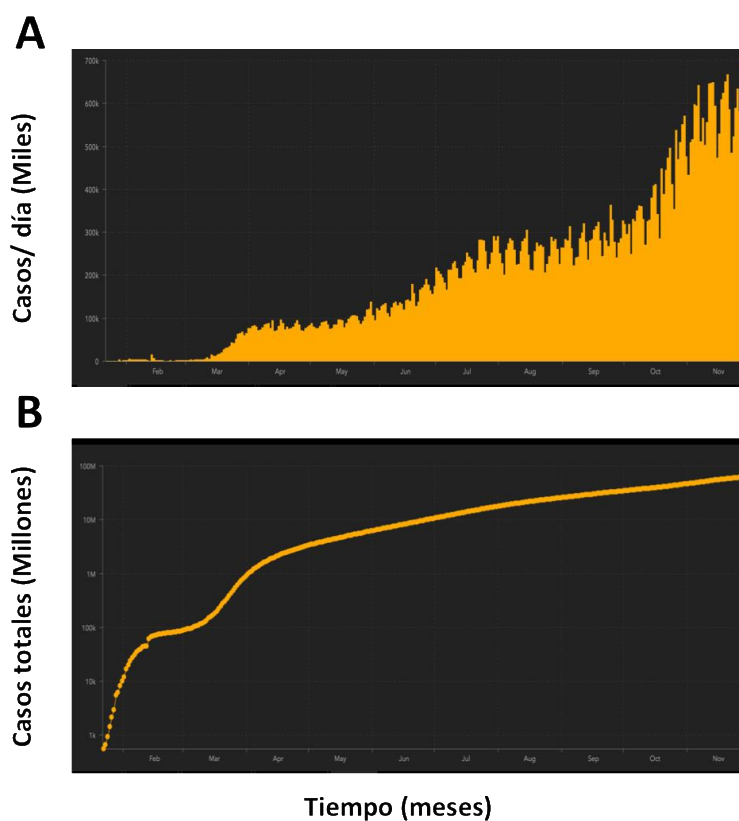


Fig. 3 Curva de crecimiento de nuevos contagios confirmados por COVID-19 a escala global. A) Gráfico de barras del número de nuevos casos confirmados por día. B) Escala logarítmica del número de casos totales por día (Dong, Du, & Gardner, 2020).

1.1.6 Estructura del SARS-CoV-2

El genoma del SARS-CoV-2 está conformado por ARN de cadena sencilla con una longitud aproximada de 30.0000 nucleótidos, los que codifican para 14 marcos de lectura abiertos (ORFs). Una vez depositado en la célula hospedera, el genoma viral es reconocido como ARNm y procesado por su maquinaria molecular. En el extremo 5' se localizan los ORF1a y ORF1ab, que codifican para las poliproteínas pp1a y pp1ab, respectivamente. Estas poliproteínas son procesadas extensivamente por proteasas virales, como la proteasa M^{pro}, y dan lugar a 16 proteínas no estructurales (NSPs) que participan en la mediación de la replicación y la transcripción viral y obstruyen la respuesta inmune del hospedero (Jin, y otros, 2020). El complejo de replicación/transcripción (RTC) está conformado por varias subunidades de NSPs. La proteína principal de este complejo es la subunidad nsp12 que corresponde a una enzima ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp), que para su funcionamiento

necesita de dos cofactores, nsp7 y nsp8 (Fig. 4), los que permiten la unión de RdRp al ARN viral (Wanchao, y otros, 2020).

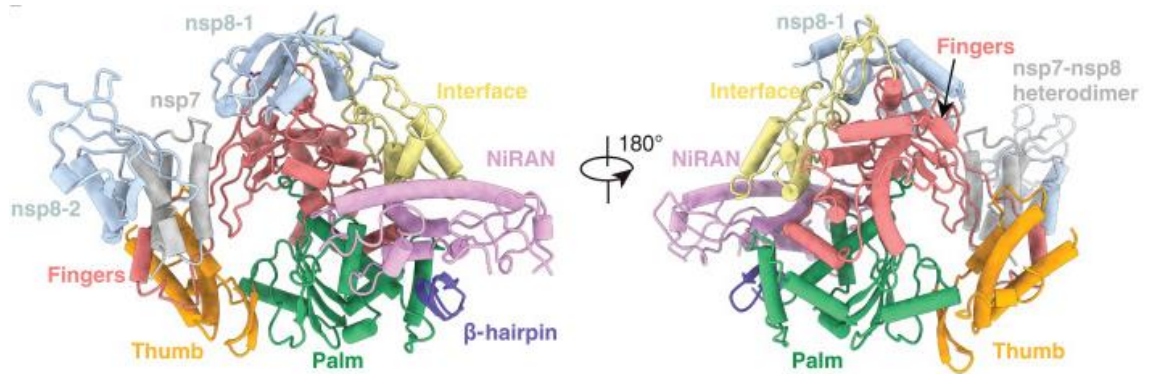


Fig. 4 Estructura del complejo nsp12-nsp7-nsp8 del complejo RdRp en Cryo-EM (Jin, y otros, 2020)

Adicionalmente, el genoma viral codifica para 4 proteínas esenciales estructurales como la glicoproteína espiga (S), que se encarga de la unión y función del virus; la proteína de membrana (M), que sirve para el transporte transmembranal; la nucleocápside (N) y la proteína de envoltura (E) (Fig. 5) (Wit, van Doremalen, & Falzarano, 2006).

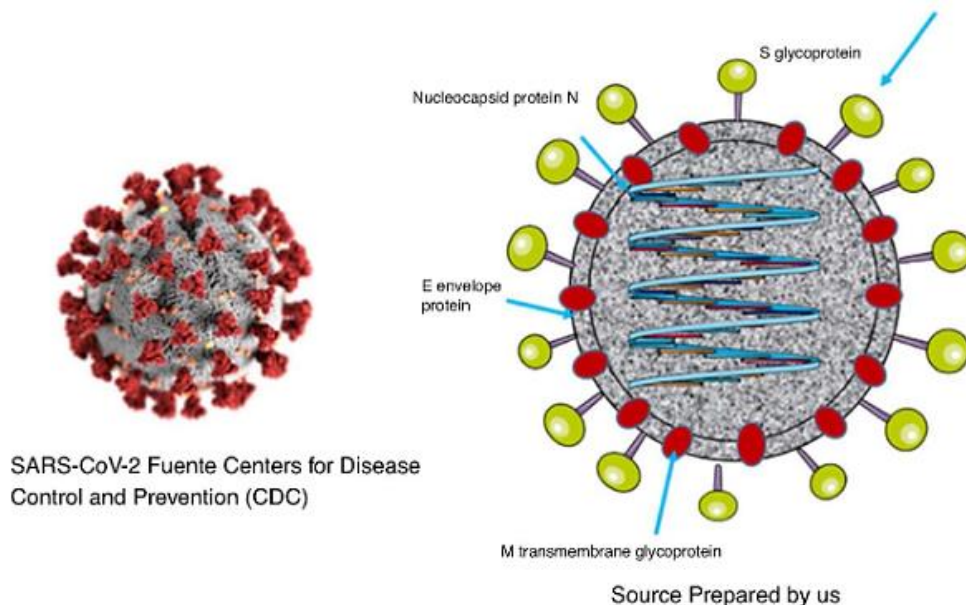


Fig. 5 Estructura del SARS-CoV-2 (Wit, van Doremalen, & Falzarano, 2006).

1.1.7 Mecanismo de infección del SARS-CoV-2

Para la replicación del SARS-CoV-2 es necesario que el virus reproduzca su genoma y proteínas estructurales y ensamble estos componentes mediante la maquinaria molecular de la célula hospedera. Para ello, el virus debe primeramente interactuar con la célula e introducir su genoma. Este proceso es facilitado por el reconocimiento de un receptor, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), la cual se encuentra ubicada en la superficie de la membrana celular y se encarga de la regulación de la presión sanguínea (Li, y otros, 2003). Esta proteína se encuentra principalmente en células epiteliales del pulmón, intestino delgado, células del tracto respiratorio y cavidad oral, células del corazón, riñón y estómago. Zhang et. Al., 2020 señala que para que comience la infección viral, la subunidad S1 de la proteína S del SARS-CoV-2 debe reconocer el dominio receptor (RBD) de la proteína ACE2. Una vez que se ha dado esta interacción, la subunidad S2 de la proteína S induce la fusión de las membranas viral y celular por escisión de la subunidad S2. El ingreso del genoma viral a la célula hospedera se da por endocitosis y, como se mencionó anteriormente, es reconocido por la célula como ARNm propio. De esta forma inicia la traducción de los genes virales y el ensamblaje de las nuevas partículas virales (Fig 6).

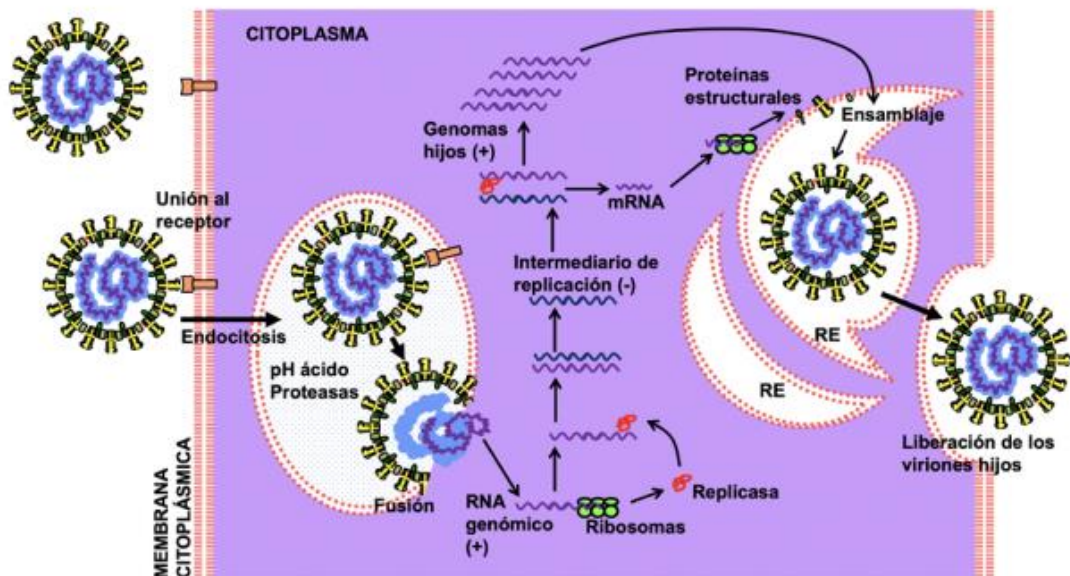


Fig. 6 Replicación del coronavirus SARS-CoV-2. Proceso de unión de la glicoproteína S (Subunidad 1) del virión al receptor celular (enzima convertidora de angiotensina 2) (Ruiz & Jiménez, 2020).

El mecanismo de acción del SARS-CoV-2 es aún desconocido debido a su reciente descubrimiento, pero se cree que opera como otros coronavirus, como por ejemplo el BatCoV RaTG13 y SARS-CoV, debido a la alta similitud de sus secuencias de ARN. Varios estudios han demostrado que el nivel de expresión del gen ACE2 afecta directamente a la afinidad y reconocimiento del virus SARS-CoV-2, explicando la gran diferencia de la agresividad de la enfermedad en diferentes pacientes o etnias (Cao, Li, Feng, & Dand, 2020).

1.1.8 Inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del SARS-CoV-2

El reciente descubrimiento del SARS-CoV-2 y el complejo proceso de infección que provoca han sido grandes limitantes para el desarrollo e implementación de opciones terapéuticas que permitan tratar o prevenir la enfermedad. En la actualidad, una de las aproximaciones más prometedoras para desarrollar fármacos contra el COVID-19 es la reutilización de medicamentos que han sido diseñados para tratar otras enfermedades como el ébola, la hepatitis, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la influenza o enfermedades causadas por parásitos intracelulares (Tabla 1). Un estudio reciente analizó alrededor de 10000 compuestos farmacológicos aprobados para el tratamiento de enfermedades en humanos o que se encuentran en ensayos clínicos, de donde se logró identificar varios compuestos con alta afinidad por la proteasa viral M^{pro}. Uno de estos compuestos, el inhibidor N3, presenta además una elevada actividad antiviral y por ende tiene grandes posibilidades de convertirse en un fármaco contra el COVID-19 (Jin, y otros, 2020). Así mismo se ha logrado determinar que la hidroxiclороquina, ivermectina, ritonavir y remdesivir, entre otras moléculas, ejercen algún grado de actividad antiviral mediante la inhibición de la replicación viral (Kumar, Zhi, Mukherji, & Gerth, 2020).

Tabla 1 Candidatos a fármacos actuales para el SARS-CoV-2

Classification	Drug Name	Dosage Form	Approved Indication	Potential Use in COVID19
Immunosuppressive drug	Tocilizumab	Injection	N/A	IL-6 receptor antagonist, reduce cytokine release syndrome-like features in severe patients.
Immunosuppressive drug	Sarilumab	Injection	N/A	IL-6 receptor antagonist, reduce cytokine release syndrome-like features in severe patients.
Immunosuppressive drug	Corticosteroids			reduce cytokine release syndrome-like features in severe patients.
Immunosuppressive drug	Baricitinib		For rheumatoid arthritis in adults who have had an inadequate response to one or more tumor necrosis factor (TNF) antagonist therapies.	A JAK inhibitor to reduce inflammation caused by cytokine storm.
	Hydroxychloroquine Sulfate	Oral (tablet)	Treatment of uncomplicated malaria	Block viral entry through the endo-lysosomal pathway.
Antiviral drugs	Lopinavir and ritonavir	Oral (tablet; solution)	HIV-1 protease inhibitor indicated in combination with other antiretroviral agents for the treatment of HIV-1 infection in adults and pediatric patients	Not clear
	Chloroquine Phosphate	Oral	Treatment of uncomplicated malaria	Block viral entry through the endo-lysosomal pathway.
	Remdesivir	Injection	Initially designed for protection against Ebola virus infection	Inhibit viral RNA synthesis
Antibiotic drug	Azithromycin (Injectable)	Injection	Community acquired pneumonia	Reduce pneumonia symptoms.
Blood Product, Antibody	Convalescent plasma	Injection	N/A	Use antibody-antigen strategy to eliminate virus.

Fuente: (Kumar, Zhi, Mukherji, & Gerth, 2020).

Las enzimas helicasa y RdRp, que forman parte del RTC del SARS-CoV-2, son elementos importantes en ciclo viral y se consideran atractivas para el descubrimiento de inhibidores que bloqueen la replicación y la transcripción. Esta es la base para el desarrollo de varios proyectos de investigación que tienen como objetivo descubrir nuevos medicamentos contra el SARS-CoV-2 que actúan mediante la inhibición del RTC (**Gordon, 2020**). Uno de los inhibidores con grandes posibilidades de tratar esta enfermedad es el Remdesivir (Fig. 7), molécula que fue desarrollada por la compañía Gilead Sciences para el tratamiento de infecciones por *filovirus*, como aquellos causantes del ébola y marburg (**Liu, y otros, 2020**). Importantemente, se ha

demostrado que el Remdesivir muestra una alta actividad antiviral contra el SARS-CoV-2. Así mismo, el favipiravir, que fue aprobado en el año 2004 para el tratamiento de un nuevo brote de influenza, ha demostrado ser efectivo contra el SARS-CoV-1 y MERS-CoV en animales. Tanto el remdesivir como el favipiravir son activos contra el SARS-CoV-2 en células humanas *in vitro* (Guy, DiPaola, Romanelli, & Dutch, 2020). Por esta razón, varios estudios clínicos para el tratamiento de COVID-19 mencionan que el Remdesivir podría ser eficaz, siempre y cuando el tratamiento sea manejado de manera correcta.

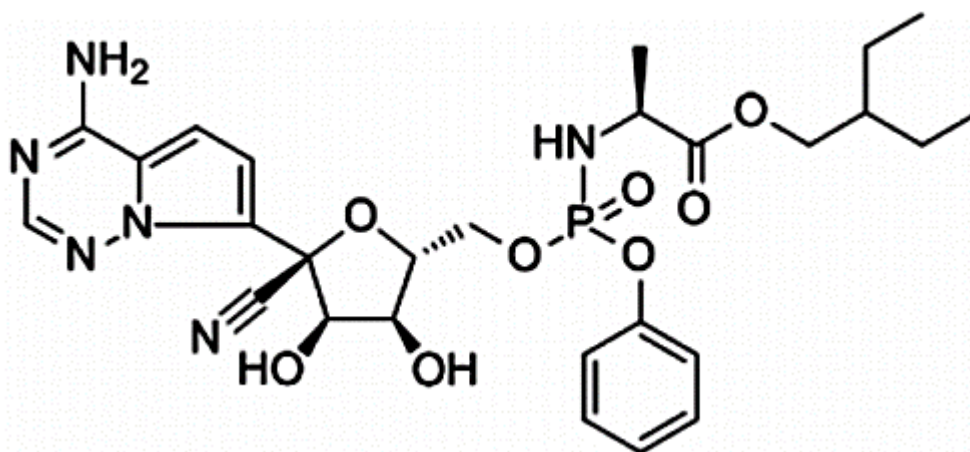


Fig. 7 Estructura química del remdesivir en su forma pro-droga (Reina J. , 2020).

La enzima RdRp del SARS-CoV-2 es hoy en día uno de los principales objetivos para desarrollar compuestos con actividad antiviral debido a su rol crucial en el ciclo de replicación viral y a la ausencia de enzimas con dominios similares en células humanas (Chien, y otros, 2020). Partiendo de este principio, inhibidores como el Favipiravir, Ribavirin, Galidesivir y Remdesivir, que son análogos estructurales de los nucleósidos que participan como sustratos de la enzima, inhiben fuertemente RdRp y, por ende, la replicación viral. Estos inhibidores se unen químicamente a la cadena naciente de ARN provocando la terminación temprana de la cadena (Yin, y otros, 2020). De forma particular, mediante la determinación de la estructura del complejo RdRp-remdesivir (Fig 8) se ha logrado demostrar que el Remdesivir se incorpora de manera covalente a la hebra del cebador, demostrando así el mecanismo por el cual ejerce su actividad antiviral (Harder, Damm, Maple, & Chuanjie, 2015).

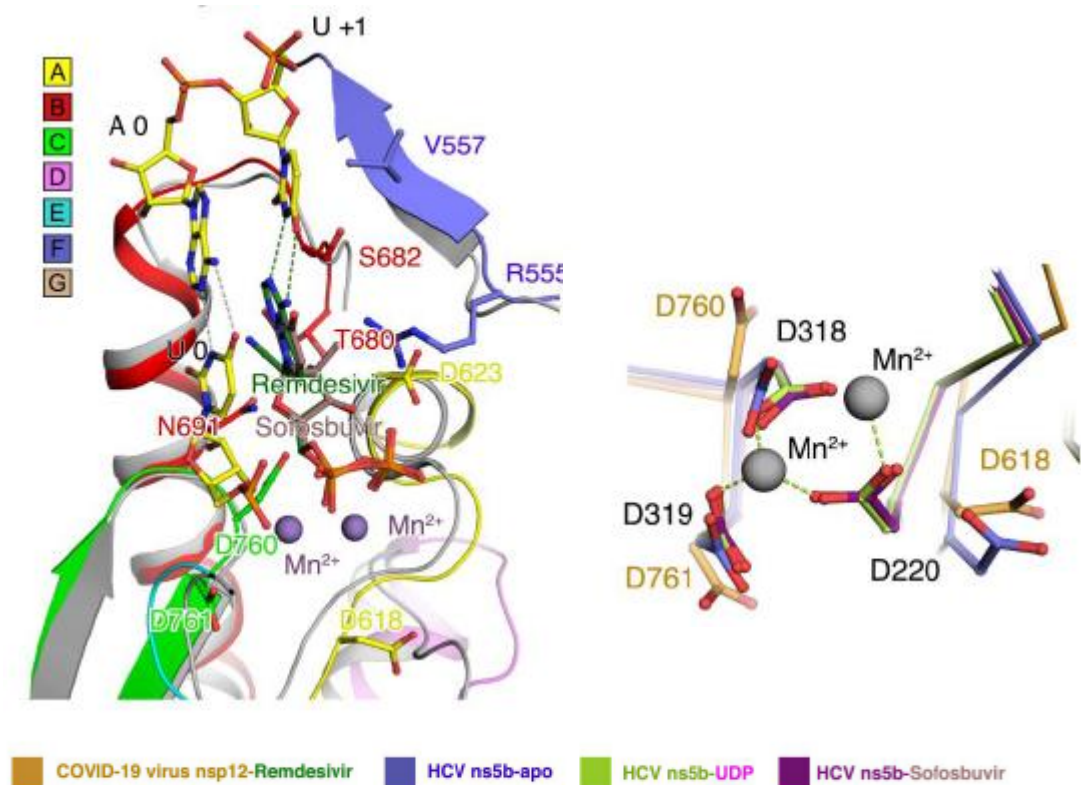


Fig. 8 Representación del modelo de incorporación de Remdesivir en RdRp del SARS-CoV-2 (Gao, Yan, Huang, Liu, & Zhao, 2020).

1.1.9 Posibles tratamientos para el SARS-CoV-2

Una de las opciones terapéuticas que tiene grandes posibilidades para tratar el COVID-19 es la reutilización de inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus (RdRp). Como se mencionó anteriormente, en este contexto destaca el Remdesivir, que ha demostrado ser un eficaz inhibidor de RdRp del SARS-CoV-2 y de otros virus de ARN como el ébola, MERS, el virus sincitial respiratorio y el virus Junin (Liu, y otros, 2020). Estudios estructurales han revelado el mecanismo de inhibición de RdRp por Remdesivir a nivel atómico, de los cuales se ha logrado identificar que el Remdesivir bloquea la síntesis de ARN viral mediante la terminación temprana de la nueva cadena (Wanchao Yin, 2020). Así mismo, otros inhibidores de RdRp, como el Favipiravir, Ribavirin, Sofosbuvir y Galidesivir, comparten el mecanismo de inhibición de Remdesivir y actúan como análogos de los nucleósidos empleados para la síntesis de nuevas cadenas de ARN. Por lo tanto, estas moléculas también son excelentes candidatos para combatir el COVID-19 (Reina J., 2020).

Los inhibidores de proteasas también reúnen las características para ayudar a combatir el COVID-19. Por ejemplo, se ha demostrado que lopinavir/ritonavir (inhibidores de proteasas), en combinación con el interferón- β , tiene la capacidad de inhibir la replicación del virus MERS-CoV. Por otra parte, cuando se realizó una monoterapia con lopinavir y rivabirina; se observó mejores resultados clínicos y una disminución del riesgo de muerte en pacientes infectados. **Jiang, Du & Zhengli (2020)** lograron inhibir hasta siete tipos de coronavirus, entre estos el SARS-CoV y MERS-CoV, mediante la fusión del inhibidor pan-CoV, que está integrado por el péptido EK1. Todos estos antecedentes indican que existen buenas perspectivas para desarrollar tratamientos seguros contra el SARS-CoV-2 empleando estos inhibidores (**Li, Wang, Xu, & Cao, 2020**).

Otra alternativa para prevenir la diseminación del COVID-19 es el desarrollo de una vacuna. Por ejemplo, la vacuna candidata PicoVacc demostró la capacidad de crear inmunidad contra 10 diferentes cepas del SARS-CoV-2 en primates no humanos, tanto en dosis bajas y altas (**Gao, y otros, 2020**). Sin embargo, pese a estos grandes avances y a la expectativa mundial sobre el desarrollo de una vacuna, no se sabe con certeza cuándo esta vacuna podrá ser distribuida a nivel mundial para su uso en humanos. Además, se desconoce los potenciales efectos secundarios en infantes y en grupos vulnerables de la población, y es incierto si la vacuna podrá proteger eficientemente de todas las variantes del virus por un tiempo prolongado.

Finalmente, otra medida para contrarrestar los efectos del SARS-CoV-2 en el organismo es la terapia a base de la fisiopatología, la cual tiene como enfoque principal la inyección directa de la enzima convertidora de angiotensina 2 recombinante (ECA2) a los pacientes. Los resultados de esta terapia; han demostrado su efectividad disminuyendo lesiones pulmonares en ratones. Los inhibidores de esta enzima, como el lisinopril que actúa en el equilibrio de la función de ECA/ECA2, también logra aliviar las lesiones pulmonares causadas por este virus (**Wu, 2020**).

1.1.10 Mutaciones del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2, así como otros coronavirus, presentan una elevada tasa de mutación de su genoma. Mediante la secuenciación del genoma completo del SARS-CoV-2 en varios países del mundo se logró evidenciar el rápido surgimiento de variantes mutantes del virus durante los primeros 6 meses de la pandemia. Por ejemplo, estudios

realizados en el Hospital Metodista de Houston, Estados Unidos, indican que el análisis de aproximadamente 5085 secuencias genéticas del SARS-CoV-2 reveló una acumulación de mutaciones en el genoma viral (Musser, 2020), especialmente en la región que codifica para la proteína S. Estos resultados son un testimonio de la facilidad con la que este virus cambia para adaptarse y ha levantado dudas sobre la efectividad que tendrían los tratamientos farmacológicos a futuro. En efecto, la posibilidad de la aparición de mutaciones en las proteínas drogables del SARS-CoV-2, como la proteína S, la proteasa M^{pro} y la enzima RdRp es de especial preocupación. Proyectar el efecto de estas mutaciones sobre potenciales fármacos y desarrollar nuevos inhibidores mediante diseño racional basado en biología estructural es la mejor alternativa ante esta amenaza.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

- Identificar y modelar mutaciones que otorgan resistencia a inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Identificar variaciones en los restos de aminoácidos del sitio de unión de inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2.
- Construir modelos tridimensionales de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2 resistente a inhibidores.
- Predecir el efecto de mutaciones en los restos de aminoácidos del sitio de unión de inhibidores de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2 y el grado de resistencia sobre inhibidores de la enzima.

1.3 Hipótesis

1.3.1 Hipótesis Nula

Mutaciones en la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del SARS-CoV-2 no otorgan resistencia contra inhibidores de esta enzima.

1.3.2 Hipótesis Alternativa

Mutaciones en la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del SARS-CoV-2 otorgan resistencia contra inhibidores de esta enzima.

1.4 Señalamiento de las variables de hipótesis

1.4.1 Variable Dependiente

- Valor ChemPLP
- Valor S(PLP)

1.4.2 Variable Independiente

- Modelos tridimensionales de la enzima RdRp y sus variantes mutantes
- Librería de ligandos (remdesivir).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

2.1.1 Materiales

- Software Bioinformático y bases de datos públicas:
 - PDB (Protein Data Bank)
 - Unitprot (Datos de proteína)
 - GenBank
 - Blast (Basic Local Alignment Sequence Tool)
 - T-Coffe (software para el alineamiento múltiple de secuencias)
 - Wincoot (software para la visualización de sistemas biológicos y moléculas)
 - Boxshade (impresiones de salida de alineamiento múltiple)
 - PyMol
 - YASSARA
 - GOLD - Protein Ligand Docking Software
 - Mercury
 - ApE1
- Archivo PDB y fasta
 - 7BTF
 - 7BV2
 - 5IPE

2.1.2 Equipos

- Computadora personal

2.2 Métodos

2.2.1 Análisis de la estructura de RdRP del SARS-CoV-2

Para este estudio se empleó la estructura tridimensional de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp) del SARS-CoV-2 que se encuentra depositada en la base de datos Protein Data Bank (PDB) con código de acceso 7BTF. Las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de RdRp se extrajeron de las bases de datos de libre acceso Uniprot y GenBank.

2.2.2 Análisis de homología de RdRp del SARS-CoV-2

Para el análisis de homología de RdRp se utilizó la base de datos UniProt, la cual registra una gran cantidad de información sobre proteínas, incluyendo su secuencia de aminoácidos. Uniprot está enlazada con GenBank y hace uso de las secuenciaciones genómicas publicadas en revistas científicas y depositadas en esta base de datos. El análisis de homología de secuencia de RdRp se realizó mediante el algoritmo BLAST, que es una herramienta de búsqueda mediante alineación local básica. BLAST permitió localizar regiones similares entre la secuencia objetivo RdRp del SARS-CoV-2 y las secuencias disponibles en UniProt.

Para identificar la secuencia nativa de RdRp y su código de acceso en Uniprot, primero se realizó un análisis BLAST tomando como referencia la secuencia de aminoácidos de la estructura de la enzima RdRp (7BTF) disponible en el Protein Data Bank (PDB). Este paso tuvo como objetivo evitar posibles errores que podrían ser introducidos en el análisis de homología debido a modificaciones introducidas en RdRp para su producción y purificación en laboratorio, tales como la introducción de colas de afinidad, sitios de corte por proteasas, o mutaciones para mejorar su solubilidad y rendimiento y que podrían estar presentes en la secuencia de aminoácidos obtenida de 7BTF. Este paso permitió identificar que la secuencia nativa de RdRp se encuentra entre las posiciones 4393-5324 de pp1ab con código de acceso P0DTD1 (R1AB_SARS2).

El procedimiento para realizar el BLAST en UniProt inició accediendo a la página <https://www.uniprot.org/>, en donde se seleccionó la opción “BLAST”. Luego, en el espacio en blanco disponible en la herramienta se colocó la secuencia de aminoácidos de RdRp, descargada de UniProt, en su formato FASTA. Los parámetros de búsqueda se mantuvieron en los valores preestablecidos por defecto, excepto la opción “Hits” para la cual se seleccionó 50. Por último, se dió clic en el botón “Run BLAST” para iniciar el algoritmo de alineamiento y posteriormente se analizó los datos desplegados de acuerdo con su Score (puntuación de alineamiento) y el porcentaje de identidad de secuencia. A continuación, se seleccionó los 50 primeros resultados de la lista de acuerdo con la similitud presentada y se procedió a descargar las secuencias de las proteínas homólogas en su formato FASTA, dando clic en el código de cada proteína y copiando la secuencia a una hoja de texto de Word.

Para el análisis de resultados se evaluó el valor E, el cual representa la homología entre dos secuencias dadas. Si E es menor o igual a 0,02 indica que las secuencias son probablemente homólogas, mientras que, si este se encuentra entre 0,2 y 1 significa homología no descartable. Si el valor de E sobrepasa a 1 quiere decir que la homología de las secuencias no es significativa. Así mismo se analizó el porcentaje de identidad de secuencia con valores superiores al 45%, valores que sugieren que la secuencia, la estructura y la función de las secuencias analizadas son similares a la de la secuencia objetivo.

2.2.3 Alineamiento múltiple de secuencias

Para el alineamiento de la secuencia de la polimerasa del SARS-CoV-2 se empleó las secuencias en el formato FASTA, descargadas previamente de Uniprot. Luego se alineó las 50 primeras secuencias con mayor similitud con RdRp de forma descendente de acuerdo con el porcentaje de similitud. Luego, se realizó el alineamiento múltiple de secuencias mediante la herramienta T-Coffee (<http://tcoffee.crg.cat/apps/tcoffee/do:regular>), donde se colocó las secuencias en su formato FASTA en el espacio disponible. Finalmente, se seleccionó “Submit”, y una vez terminado el alineamiento se descargó los resultados en formato “fasta_aln”.

Para la generación de ilustraciones coloreadas que faciliten el análisis del alineamiento múltiple se empleó la herramienta Boxshade (http://www.ch.embnet.org/software/BOX_form.html). En la ventana en blanco disponible se ingresó los resultados descargados de T-Coffee, y luego se descargó los resultados en formato “RTF_new”. El alineamiento obtenido se analizó en Word. Con este procedimiento se logró identificar aminoácidos que se encuentran conservados de las proteínas alineadas de los diferentes organismos, específicamente aquellos que están relacionados con el sitio de unión a inhibidores. Finalmente, de acuerdo con el alineamiento de secuencias, se identificó los residuos del sitio activo que pueden ser susceptibles de sufrir mutaciones de forma natural o que el modelamiento de su mutación pueda proporcionar más información sobre el mecanismo de inhibición de RdRp.

2.2.4 Identificación de los residuos que forman interacciones no covalentes con el inhibidor

La identificación de los residuos de RdRp que interactúan directamente con el inhibidor Remdesivir se realizó en el programa Wincoot. Para ello, se abrió la estructura del complejo RdRp-Remdesivir (código PDB: 7BV2) en Wincoot y se definirán las distancias entre los átomos de Remdesivir y los átomos de aminoácidos de su entorno ubicados en un rango de distancias de 1.8 – 4.2 Å que incluye interacciones electrostáticas (aprox. 1.8 Å), puentes de hidrógeno (2.2 – 3.2 Å) e interacciones hidrofóbicas (3.2 – 4.2 Å).

2.2.5 Construcción de modelos tridimensionales de variantes mutantes de la enzima RdRp de SARS-CoV-2.2.5.1 Identificación de las mutaciones de la polimerasa del SARS-CoV-2

Para realizar las mutaciones dirigidas de los residuos de aminoácidos que interactúan con el inhibidor Remdesivir, primero se obtuvo la secuencia de nucleótidos que codifica para el ORF1ab del SARS-CoV-2, el cual incluye a RdRp. La secuencia fue obtenida de la base de datos GenBank. Los codones que codifican para los aminoácidos de RdRp fueron identificados mediante la traducción de la secuencia de proteína mediante el programa ApE1. Para llevar a cabo este paso, se seleccionó la región del ORF1ab comprendida entre las posiciones 13,442 y 16,237 y se pegó en la ventana en blanco del programa ApE1. A continuación, se eligió la opción “ORFs” de la barra principal, y la opción “traslate” de su submenú. En la ventana emergente se seleccionaron los siguientes parámetros:

- Code: “1 letter” and “codon spacing”,
- Line number: “both” y,
- DNA: Above, y finalmente “OK”

Una vez traducida la proteína de RdRp se identificó los codones de los tres residuos seleccionados para introducir mutaciones puntuales y se los comparó con la Tabla 2 de codones. Las mutaciones se eligieron tomando en consideración, la ocurrencia de un solo cambio puntual en uno de los nucleótidos que conforman el codón.

Tabla 2 Frecuencia de codones en *Escherichia coli*.

	Codón	Amino ácido ²	% ³	Ratio ⁴	Codón	Amino ácido	%	Ratio	Codón	Amino ácido	%	Ratio	Codón	Amino ácido	%	Ratio	
U	UUU	Phe (F)	1.9	0.51	UCU	Ser (S)	1.1	0.19	UAU	Tyr (Y)	1.6	0.53	UGU	Cys (C)	0.4	0.43	U
	UUC	Phe (F)	1.8	0.49	UCC	Ser (S)	1.0	0.17	UAC	Tyr (Y)	1.4	0.47	UGC	Cys (C)	0.6	0.57	C
	UUA	Leu (L)	1.0	0.11	UCA	Ser (S)	0.7	0.12	UAA	STOP	0.2	0.62	UGA	STOP	0.1	0.30	A
	UUG	Leu (L)	1.1	0.11	UCG	Ser (S)	0.8	0.13	UAG	STOP	0.03	0.09	UGG	Trp (W)	1.4	1.00	G
C	CUU	Leu (L)	1.0	0.10	CCU	Pro (P)	0.7	0.16	CAU	His (H)	1.2	0.52	CGU	Arg (R)	2.4	0.42	U
	CUC	Leu (L)	0.9	0.10	CCC	Pro (P)	0.4	0.10	CAC	His (H)	1.1	0.48	CGC	Arg (R)	2.2	0.37	C
	CUA	Leu (L)	0.3	0.03	CCA	Pro (P)	0.8	0.20	CAA	Gln (Q)	1.3	0.31	CGA	Arg (R)	0.3	0.05	A
	CUG	Leu (L)	5.2	0.55	CCG	Pro (P)	2.4	0.55	CAG	Gln (Q)	2.9	0.69	CGG	Arg (R)	0.5	0.08	G
A	AUU	Ile (I)	2.7	0.47	ACU	Thr (T)	1.2	0.21	AAU	Asn (N)	1.6	0.39	AGU	Ser (S)	0.7	0.13	U
	AUC	Ile (I)	2.7	0.46	ACC	Thr (T)	2.4	0.43	AAC	Asn (N)	2.6	0.61	AGC	Ser (S)	1.5	0.27	C
	AUA	Ile (I)	0.4	0.07	ACA	Thr (T)	0.1	0.30	AAA	Lys (K)	3.8	0.76	AGA	Arg (R)	0.2	0.04	A
	AUG	Met (M)	2.6	1.00	ACG	Thr (T)	1.3	0.23	AAG	Lys (K)	1.2	0.24	AGG	Arg (R)	0.2	0.03	G
G	GUU	Val (V)	2.0	0.29	GCU	Ala (A)	1.8	0.19	GAU	Asp (D)	3.3	0.59	GGU	Gly (G)	2.8	0.38	U
	GUC	Val (V)	1.4	0.20	GCC	Ala (A)	2.3	0.25	GAC	Asp (D)	2.3	0.41	GGC	Gly (G)	3.0	0.40	C
	GUA	Val (V)	1.2	0.17	GCA	Ala (A)	2.1	0.22	GAA	Glu (E)	4.4	0.70	GGA	Gly (G)	0.7	0.09	A
	GUG	Val (V)	2.4	0.34	GCG	Ala (A)	3.2	0.34	GAG	Glu (E)	1.9	0.30	GGG	Gly (G)	0.9	0.13	G
	U				C				A				G				

Fuente: (Gómez, 2014)

Nota: Los codones resaltados en rectángulos indican las tres mutaciones que fueron analizadas en el presente proyecto tomando como consideración la ocurrencia de una mutación puntual en cada codón.

2.2.5.2 Mutaciones dirigidas en el sitio activo de RdRp

Los modelos de las tres mutaciones seleccionadas (Val557Ile, Ala688Gly y Ser759Thr), se realizaron mediante el programa WinCoot versión 8.9.1, software que es utilizado para revelar y manejar modelos espaciales de proteínas o ácidos nucleicos, empleando gráficos 3D por computadora (Emsley & Lohkamp, 2010).

Para ilustrar el proceso de mutación virtual, primeramente, se abrió la estructura del complejo RdRp-remdesivir (7BV2) en WinCoot y se identificó el residuo Val557. A continuación, se seleccionó en la barra de menú derecha el botón “mutate simple” y luego se escogió el residuo isoleucina (Ile) de la ventana emergente. Finalmente se eliminó el ligando Remdesivir del sitio activo y se guardó las coordenadas de la enzima mutante como un nuevo archivo .pdb. La optimización de energía de los mutantes generados se realizó mediante el servidor de minimización YASARA. Este proceso se repitió para introducir la mutación deseada en los dos residuos restantes.

2.2.6 Determinación de la resistencia de las variantes mutantes de la enzima RdRp de SARS-CoV-2

Los ensayos de acoplamiento molecular se realizaron empleando los programas de docking GOLD - Protein Ligand Docking Software que se basan en un algoritmo genético para caracterizar y puntuar las posibles posiciones que puede adoptar una molécula (ligando) en un sitio determinado de la proteína y las interacciones que se puede formar (**Granados, Arias, Pacheco, Valdiris, & Vivas, 2010**). Para ello se empleó la estructura de RdRp-remdesivir (7BV2) y las variantes mutantes de la enzima construidas anteriormente.

2.2.6.1 Preparación de Ligandos

Para generar el ligando Remdesivir, se extrajo el código SMILES de esta molécula de la página del PDB, la cual está disponible en la estructura con el código 7BV2 y bajo el ligando con código F86. La estructura tridimensional de Remdesivir se generó introduciendo el código SMILES en el servidor PRODRG. Una vez generada la molécula, se descargó el archivo “DRGFIN” con extensión .MOL2. Consecuentemente, se optimizó la estructura de la molécula mediante la herramienta “Auto edit structure” del programa Mercury - Crystal Structure Visualisation, Exploration que forma parte del paquete CSD (Cambridge Structural Database) <https://www.ccdc.cam.ac.uk/>.

2.2.6.2 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular de Remdesivir se realizó en el sitio activo de la estructura 7BV2 y en las 3 variantes mutantes generadas. Estos experimentos se llevaron a cabo en el programa GOLD. Primeramente, se cargaron las coordenadas tridimensionales de RdRp en formato .pdb en GOLD. A continuación, se preparó la proteína mediante la adición de hidrógenos, la eliminación de moléculas de agua y la extracción de los ligandos o cofactores. En un tercer paso, se definió el sitio de acoplamiento molecular mediante las opciones: “define the binding site” y “one more ligands or cofactors”; donde se escogió el ligando F86 que corresponde a Remdesivir en la estructura de RdRp. Finalmente, el sitio de docking se limitó a todos los aminoácidos en un radio de 3.5 Å alrededor del ligando.

La configuración del docking se realizó empleando las opciones por defecto. El ligando acoplado en el sitio de activo de RdRp fue el ligando Remdesivir preparado

anteriormente (archivo .MOL2) y se utilizó la molécula de Remdesivir presente en la estructura 7BV2 como ligando de referencia. La función de evaluación seleccionada fue CHEMPLP con una terminación temprana del algoritmo cuando se determine tres soluciones con un RMSD menor o igual a 1 Å. No se asignó flexibilidad para ningún residuo durante el acoplamiento molecular. Este proceso se realizó para cada mutación de estudio.

Las mejores soluciones fueron definidas con base a los resultados arrojados por la función CHEMPLP. Se seleccionaron las mejores soluciones de cada mutante para su posterior análisis y comparación con el control, que en este caso fue el resultado obtenido del acoplamiento molecular de Remdesivir en su sitio de unión en RdRp sin ninguna modificación (Wild type, WT).

2.2.7 Elaboración de figuras enzima-ligando

Las ilustraciones de los resultados del acoplamiento molecular se realizaron en el programa bioinformático PyMol. Las distancias entre los residuos claves y el ligando se dibujaron mediante el siguiente procedimiento:

- Seleccionar el inhibidor Remdesivir.
- Dar clic en la pestaña “Wizard” del menú principal.
- Seleccionar la opción “measurement” en el menú desplegado.
- Seleccionar los dos átomos que generan una interacción no covalente.

Este proceso se realizó para cada interacción de interés.

Mediante el proceso anterior se logró identificar las interacciones existentes del inhibidor con los residuos específicos de la polimerasa.

Las ilustraciones de los complejos enzima – ligando fueron representadas mediante modelos de “cartoon” y “sticks”, para RdRp y el ligando, respectivamente. Imágenes de alta resolución fueron obtenidas mediante la opción Ray tracing, con una resolución de 5000 pixeles.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de resultados

3.1.1 Análisis de homología de RdRp del SARS-CoV-2

Producto del análisis de la estructura primaria de la enzima RdRp del SARS-CoV-2 mediante la herramienta BLAST se logró determinar su homología con 141 proteínas de diferentes organismos. Las cincuenta primeras secuencias presentaron una identidad mayor al 60% (Tabla 3), Los resultados sugieren que existe una alta identidad de secuencia (96.4%) con la enzima RdRp del virus SARS-CoV. Estos resultados fueron esperados, ya que los virus SARS-CoV y SARS-CoV-2 pertenecen al mismo género (*Betacoronavirus*) (Pastrian, 2020). Sin embargo, los resultados también revelan que varias especies de coronavirus que infectan animales (murciélago y varios murinos) presentan una identidad superior al 70% con la secuencia de RdRp del SARS-CoV-2, lo cual sugiere una estrecha conexión del SARS-CoV-2 con virus de animales y sustentan la hipótesis de que el virus tuvo un origen zoonótico (Xiaolu Tang, 2020).

Tabla 3. Valores de similitud de secuencia entre RdRp del SARS-CoV-2 y proteínas homólogas.

CÓDIGO	NOMBRE DE ESPECIE	VALORES DE SIMILITUD
P0C6X7	R1AB_CVHSA - Replicase polyprotein 1ab Coronavirus del SARS human	E-value : 0.0 Score : 4,867 Ident .: 96.4%
<u>Q6UZF5</u>	Q6UZF5_CVHSA - 2'-O-methyltransferase - SARS coronavirus	E-value : 0.0 Score : 4,867 Ident .: 96.4%
<u>A0A0U1WHG0</u>	A0A0U1WHG0_CVHSA - 2'-O- methyltransferase BtRf-BetaCoV / JL2012	E-value : 0.0 Score : 4,867 Ident .: 96.2%
<u>A0A166ZL34</u>	A0A166ZL34_9NIDO - 2'-O-methyltransferase Bat coronavirus	E-value : 0.0 Score : 4.867

		Ident : 96,2%
<u>A0A0K1YZY7</u>	A0A0K1YZY7_SARS - 2'-O-methyltransferase-Bat SARS-like coronavirus YNLF_31C	E-value : 0.0 Score : 4,863 Ident : 96.2%
<u>A0A0U1WHG8</u>	A0A0U1WHG8_CVHSA - 2'-O-metiltransferasa BtRf-BetaCoV / HeB2013	E-value : 0.0 Score : 4.860 Ident : 96,1%
<u>P0C6W6</u>	R1AB_BCRP3 - Replicase polyprotein 1ab Bat coronavirus Rp3/2004	E-value : 0.0 Score : 4,858 Ident .: 96.2%
<u>P0C6W2</u>	R1AB_BCHK3 - Replicase polyprotein 1ab-Bat coronavirus HKU3	E-value : 0.0 Score : 4,851 Ident : 95.6%
<u>P0C6V9</u>	R1AB_BC279 - Replicase polyprotein 1ab - Bat coronavirus 279/2005	E-value : 0.0 Score : 4,850 Ident .: 95.9%
<u>R9QTA1</u>	R9QTA1_CVHSA - ORF1b protein - Bat coronavirus Rp/Shaanxi2011	E-value : 0.0 Score : 4,482 Ident .: 96.6%
<u>A0A088DIE1</u>	A0A088DIE1_9BETC - Non-structural polyprotein - Bat Hp-betacoronavirus/Zhejiang2013	E-value : 0.0 Score : 4,005 Ident .: 77.8%
<u>P0C6W5</u>	R1AB_BCHK9 - Replicase polyprotein 1ab-Bat coronavirus HKU9	E-value : 0.0 Score : 3,703 Ident : 72.7%
<u>A0A1B3Q5W8</u>	A0A1B3Q5W8_9BETC - 2'-O-methyltransferase-Rousettus bat coronavirus	E-value : 0.0 Score : 3,687 Ident : 72.2%
<u>A3EXI9</u>	A3EXI9_BCHK9 - 2'-O-methyltransferase-Bat coronavirus HKU9-4	E-value : 0.0 Score : 3,686 Ident : 72.4%
<u>E0ZN59</u>	E0ZN59_BCHK9 - 2'-O-methyltransferase-Bat coronavirus HKU9-10-2	E-value : 0.0 Score : 3,680 Ident : 72.2%

<u>E0ZN43</u>	E0ZN43_BCHK9 - Orf1ab polyprotein -Bat coronavirus HKU9-5-2	E-value: 0.0 Score: 3,673 Ident.: 72.1%
<u>E0ZN35</u>	E0ZN35_BCHK9 - Orf1ab polyprotein -Bat coronavirus HKU9-5-1	E-value: 0.0 Score: 3,668 Ident.: 72.2%
<u>U5KNA9</u>	U5KNA9_9BETC - Orf1ab -Betacoronavirus Erinaceus/VMC/DEU/2012	E-value: 0.0 Score: 3,667 Ident.: 71.5%
<u>A3EXD8</u>	A0A0U1WHL2_BCHK5 - ORF1ab polyprotein-BtPa-BetaCoV/GD2013	E-value: 0.0 Score: 3,645 Ident.: 71.0%
<u>A0A023YA54</u>	A0A023YA54_MERS - 2'-O-methyltransferase BtVs-BetaCoV/SC2013	E-value : 0.0 Score: 3,641 Ident .: 71.6%
<u>P0C6W4</u>	R1AB_BCHK5 - Replicase polyprotein 1ab- Bat coronavirus HKU5	E-value : 0.0 Score: 3,638 Ident .: 70.9%
T2B9U0	T2B9U0_MERS - 2'-O-methyltransferase - Middle East respiratory syndrome-related coronavirus	E-value : 0.0 Score: 3,621 Ident .: 71.4%
<u>A3EXD8</u>	3EXD8_BCHK5 - 2'-O-methyltransferase - Bat coronavirus	E-value: 0.0 Score: 3,645 Ident.: 71.0%
<u>A3EXA2</u>	A3EXA2_BCHK4 - 2'-O-methyltransferase- Bat coronavirus HKU4-2	E-value: 0.0 Score: 3,617 Ident.: 71.0%
K9N7C7	R1AB_MERS1 - Replicase polyprotein 1ab- Middle East respiratory syndrome-related coronavirus (isolate United Kingdom/H123990006/2012)	E-value: 0.0 Score: 3,615 Ident.: 71.3%
P0C6W1	R1AB_BC133 - Replicase polyprotein 1ab-Bat coronavirus 133/2005	E-value: 0.0 Score: 3,612 Ident.: 71.0%

P0C6X8	R1AB_CVM2 - Replicase polyprotein 1ab - Murine coronavirus (strain 2)	E-value: 0.0 Score: 3,346 Ident.: 66.6%
P0C6X2	R1AB_CVHN1 - Replicase polyprotein 1ab- Human coronavirus HKU1 (isolate N1)	E-value: 0.0 Score: 3,338 Ident.: 67.1%
P0C6X3	R1AB_CVHN2 - Replicase polyprotein 1ab- Human coronavirus HKU1 (isolate N2)	E-value: 0.0 Score: 3,337 Ident.: 67.0%
A0A140H1G9	A0A140H1G9_CVHK1 - 3C-like proteinase- Human coronavirus HKU1	E-value: 0.0 Score: 3,337 Ident.: 67.1%
P0C6X9	R1AB_CVMA5 - Replicase polyprotein 1ab- Murine coronavirus (strain A59)	E-value: 0.0 Score: 3,336 Ident.: 66.5%
P0C6X4	R1AB_CVHN5 - Replicase polyprotein 1ab- Human coronavirus HKU1 (isolate N5)	E-value: 0.0 Score: 3,335 Ident.: 67.0%
I1TMI0	I1TMI0_9BETC - 3C-like proteinase-Rat coronavirus	E-value: 0.0 Score: 3,333 Ident.: 66.4%
C0KYR8	C0KYR8_9BETC - Growth factor-like peptide- Murine coronavirus RJHM/A	E-value: 0.0 Score: 3,331 Ident.: 66.1%
A0A0A7UXR0	A0A0A7UXR0_9BETC - 3C-like proteinase - Betacoronavirus HKU24	E-value: 0.0 Score: 3,328 Ident.: 66.9%
H9BZX5	H9BZX5_9BETC - 3C-like proteinase-Murine hepatitis virus strain S/3239-17	E-value: 0.0 Score: 3,319 Ident.: 66.3%
P0C6X6	R1AB_CVHOC - Replicase polyprotein 1ab- Human coronavirus OC43	E-value: 0.0 Score: 3,318 Ident.: 66.3%
Q9J3E8	Q9J3E8_9BETC - Growth factor-like peptide- Murine hepatitis virus	E-value: 0.0 Score: 3,317

		Ident.: 65.8%
H9AA60	H9AA60_9BETC - 3C-like proteinase -Rabbit coronavirus HKU14	E-value: 0.0 Score: 3,314 Ident.: 66.3%
P0C6W8	R1AB_CVBLU - Replicase polyprotein 1ab- Bovine coronavirus (strain 98TXSF-110-LUN)	E-value: 0.0 Score: 3,310 Ident.: 66.1%
P0C6W7	R1AB_CVBEN - Replicase polyprotein 1ab- Bovine coronavirus (strain 98TXSF-110-ENT)	E-value: 0.0 Score: 3,310 Ident.: 66.1%
P0C6Y0	R1AB_CVMJH - Replicase polyprotein 1ab- Murine coronavirus (strain JHM)	E-value: 0.0 Score: 3,305 Ident.: 66.1%
P0C6X0	R1AB_CVBQ - Replicase polyprotein 1ab- Bovine coronavirus (strain Quebec)	E-value: 0.0 Score: 3,301 Ident.: 66.1%
P0C6W9	R1AB_CVBM - Replicase polyprotein 1ab- Bovine coronavirus (strain Mebus)	E-value: 0.0 Score: 3,294 Ident.: 65.9%
Q06BE0	Q06BE0_9BETC - Growth factor-like peptide- Bovine coronavirus isolate Alpaca	E-value: 0.0 Score: 3,105 Ident.: 67.3%
V5TFR4	V5TFR4_9GAMC - 3C-like proteinase - Bottlenose dolphin coronavirus HKU22	E-value: 0.0 Score: 3,053 Ident.: 61.0%
B2BW31	B2BW31_9GAMC - 3C-like proteinase Beluga whale coronavirus SW1	E-value: 0.0 Score: 3,043 Ident.: 60.8%
P0C6W0	Replicase polyprotein 1ab Bat coronavirus 512/2005	E-value: 0.0 Score: 3,036 Ident.: 60.4%

Fuente: Datos obtenidos del programa GENBANK.

***E-value** = Valor esperado; **Score** = Puntuación; **Ident** = Porcentaje de identidad*

3.1.2 Identificación de los residuos que forman interacciones no covalentes con el inhibidor

El Remdesivir es un fármaco con actividad antiviral con grandes oportunidades de ser empleado para el tratamiento de pacientes que padecen el virus del SARS-CoV-2. Químicamente el Remdesivir es un análogo de nucleótidos, que inhibe la replicación de la ARN viral mediante la terminación temprana de la cadena de ARN (Moneriz & Castro, 2020). Por lo tanto, se estudió a nivel molecular y atómico es de gran importancia. El sitio de unión de Remdesivir en RdRp ha sido determinado y publicado en la base de datos PDB con código 7BV2 (Fig 9).

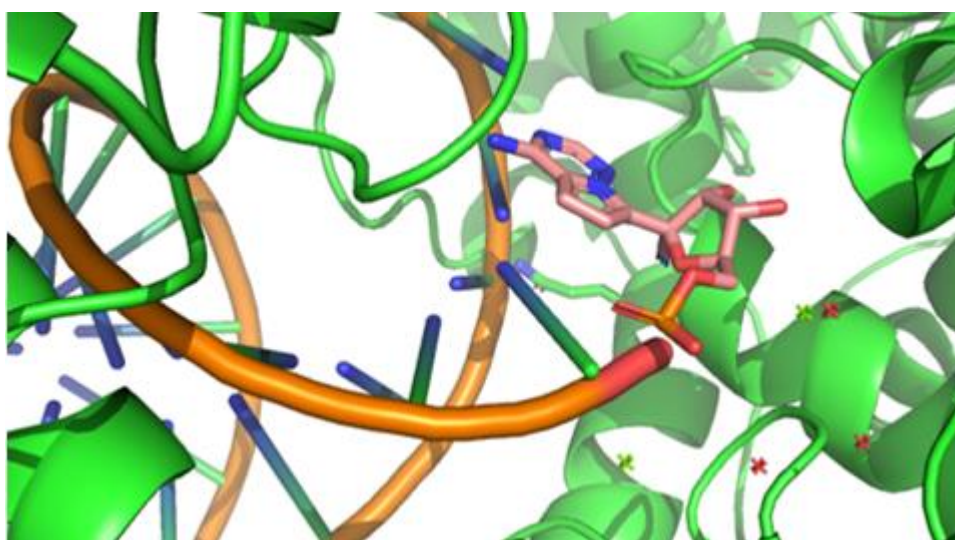


Fig. 9 Remdesivir en el sitio activo de RdRp del SARS-CoV-2 (Código PDB: 7BV2).

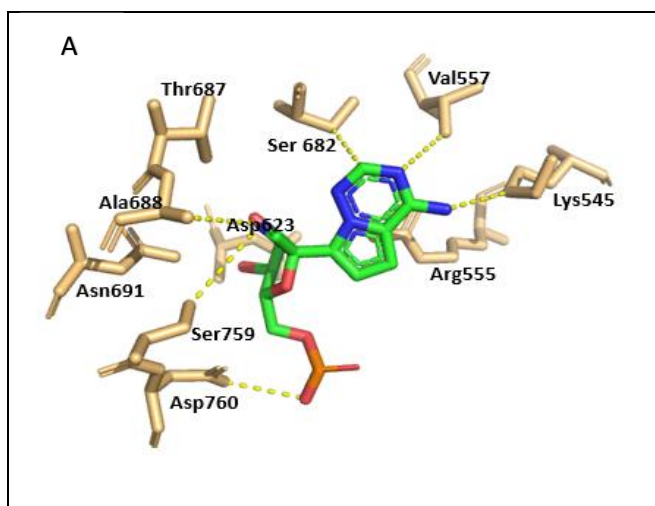
El análisis de las interacciones que el ligando Remdesivir forma con los aminoácidos que contornan el sitio activo de la polimerasa muestra que el inhibidor se une a la enzima mediante una gran cantidad de interacciones no covalentes. **García, Pascual & Fernández (2004)** señalan que las fuerzas que mayormente participan en la unión ligando-receptor son interacciones hidrofóbicas (3.2 - 4.2 Å), enlaces de hidrógeno (2.2 - 3.2 Å) y fuerzas de Van der Waals (>3.2 Å). Remdesivir se ancla a la enzima mediante las interacciones que forma con los aminoácidos Lys545, Arg555, Val557, Asp623, Ser682, Thr687, Ala688, Asn691, Ser759 y Asp760 (Fig. 10), las mismas que se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4 Aminoácidos que interactúan con el ligando Remdesivir.

AMINOÁCIDO	POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO	DISTANCIA (Å)
Lisina (K)	Lys545	3.91
Arginina (R)	Arg555	2.92
Valina (V)	Val557	4.08
Ácido aspártico (D)	Asp623	3.45
Serina (S)	Ser682	3.62
Treonina (T)	Thr687	3.42
Alanina (A)	Ala688	4.09
Asparagina (N)	Asn691	3.61
Serina (S)	Ser759	4.17
Ácido aspártico (D)	Asp760	3.98

Elaborado por: Jaramillo, 2020.

Los aminoácidos Ser682, Asp623, Thr687 y Ser759, actúan como donadores de oxígeno (O) en los enlaces hidrógenos debido a que en su estructura presenta un -OH, facilitando el desprendimiento del hidrógeno, por lo tanto, son denominados donadores típicos y los residuos Lys545 y Arg555 también actúan como donadores de hidrógenos mediante los grupos amino terminal de su estructura de la cadena lateral (Wanchao, y otros, 2020).



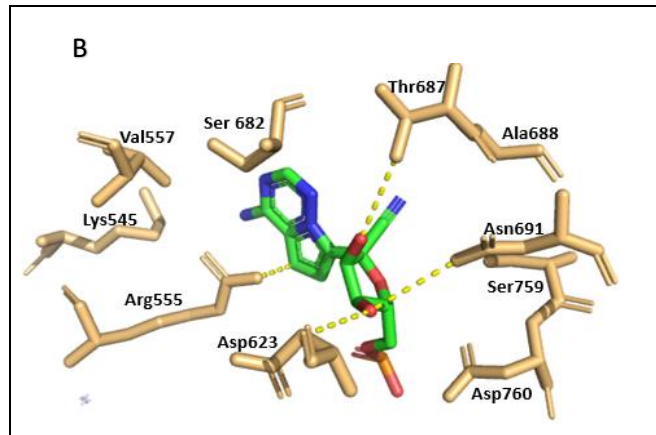


Fig. 10 Interacciones de los diez residuos del sitio activo de la polimerasa del SARS-CoV-2 con el remdesivir. Los paneles A) y B) muestran al inhibidor en el sitio activo de RdRp con un ángulo de rotación de 180° (Jaramillo, 2020).

3.1.3 Alineamiento múltiple de secuencias

El alineamiento múltiple de secuencias de la polimerasa del SARS-CoV-2 y diversas RdRp virales, que se presenta en la Fig. 11 (el alineamiento completo se presenta en el Anexo 1), muestra que los residuos del sitio activo que interactúan con el inhibidor Remdesivir se encuentran altamente conservados. Esto quiere decir que los 10 aminoácidos que forman interacciones fuertes con este ligando (residuos resaltados con color amarillo) se encuentra presentes en las cincuenta especies consideradas para el análisis. Esto se debe a la relación que existe entre el SARS-CoV-2 y otros virus (principalmente coronavirus) que convergen con su origen evolutivo (**Robert & Batzoglou, 2006**). Estos resultados fueron de cierta forma inesperados, ya que por lo general los procesos evolutivos introducen mutaciones al azar a lo largo del genoma de los organismos, y por ende, en sus proteínas. De hecho, los virus, incluyendo el COVID-19, son conocidos por su alta tasa de cambio. Sin embargo, la enzima RdRp parece escapar a esta regla por su rol crucial en el complejo de replicación y transcripción, donde un cambio en la conformación de su sitio activo podría afectar significativamente la replicación viral y disminuir la capacidad del virus para transmitirse de persona a persona. De este modo, no fue posible identificar variaciones naturales en el sitio de unión de Remdesivir mediante el análisis de secuencias de RdRps de virus ortólogos al SARS-CoV-2 y fue necesario modelar mutaciones basadas en el análisis minucioso del sitio activo de la polimerasa y la ubicación de Remdesivir en la enzima. Es así como se logró identificar que los residuos Val557,

Ala688 y Ser759 aparentemente no se encuentran estrechamente ligados a actividad catalítica de la enzima, sino que proveen una superficie que orienta a los nucleósidos en la posición correcta en el sitio activo. Las interacciones no covalentes que se forman entre estos tres residuos con el ARN nascente y con el sustrato son mínimas. En efecto, Ala688 y Ser759 se encuentran a distancias superiores a los 4 Å con estas moléculas. Además, Ala688 y Ser759 forman contactos con el grupo CN añadido al C1 del azúcar del Remdesivir, el cual es un grupo funcional característico de este inhibidor y ausente en el sustrato de la enzima (Fig. 10). Por otro lado, el residuo Val557 asiste con escasas interacciones hidrofóbicas entre uno sus los grupos CH₃ de la cadena lateral y el átomo N3 de la base nitrogenada, con lo cual una substitución como Val-Ile, la cual es frecuente en la naturaleza, hipotéticamente no causaría un cambio severo en la unión del sustrato a la enzima.

SARS-COV-2	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
SARS-COV	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
SARS-COV-PUMC02	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BetaCoV_JL2012	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-COV	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-SARS-COV-Y7	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BtRf-BETACOV_He	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-COV-Rp3_200	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-COV-HKU3	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-COV-279_200	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-COV-Rp_Shaa	460	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA ATRGAT VV IGT SKFY G
BAT-BETACOV_Zhe	532	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI CS TMTNRQ FHQK LK SIA AT RNV SVVIGT TKFY G
BAT-COV-HKU9	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
ROUSETTUS-BAT-C	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU9-4	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU9-10	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU9-5-	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU9-10	532	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU9-3	532	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI AS TMTNRQ FHQK LK SIA A ARG AS VV IGT TKFY G
BETACOV-ERINACE	535	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU5-2	535	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
BtVs-BetaCoV_SC	535	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU5	537	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
MERS-COV	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
BAT-COV-HKU4-2	535	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
MERS-COV-ISK_20	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
BAT-COV-133_200	535	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTNRQ FHQK LK SMA ATRGAT CV IGT TKFY G
MURINE-COV	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
HUMAN-COV-HKU1-	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
HUMAN-COV-HKU1_	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
HUMAN-COV-HKU1_	531	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
MURINE-COV-A59	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
HUMAN-COV-HKU1_	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
RAT-COV	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
MURINE-COV-RJHM	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
BETA-COV-HKU24	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
MURINE-HEP-17	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
HUMAN-COV-OC43	529	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G
MURINE-HEP-VIRU	534	PTITQMN LKY AISAKNR ARTV AGVSI IL STMTGR MFHQK CL SIA ATRGV FPV IGT TKFY G

RABBIT-COV-HKU1	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOVINE-COV-98LU	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOVINE-COV-98EN	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
MURINE-COV-JHM	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOVINE-COV-BEC	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOVINE-COV-MEBU	529	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOVINE-COV-Alpa	447	PTITQMNLYAISAKNRARTVAGVSI	LSMTGRMFHQK	CLKSIAATRGV	PV	VVIGTTK	FYG
BOT-DOLPHIN-HKU	528	PTITQINMNYAISAKSRARTVAGVSI	LSMTNRQFHQK	CLKSIVNTRNAT	VVIGTTK	FYG	
BEL-WHALE-COV_S	528	PTITQINMNYAISAKSRARTVAGVSI	LSMTNRQFHQK	CLKSIVNTRNAT	VVIGTTK	FYG	
BAT-COV-512_200	527	PTITQINLYAISAKDRARTVAGVSI	LSMTTRQFHQK	HLKSIVNTRGAS	VVIGTTK	FYG	

SARS-COV-2	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHHTCCNSLSHRFYRLA
SARS-COV	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHNTCCNSLSHRFYRLA
SARS-COV-PUMC02	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHNTCCNSLSHRFYRLA
BetaCoV_JL2012	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-COV	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-SARS-COV-Y7	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BtRf-BETACOV_He	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-COV-Rp3_200	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-COV-HKU3	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-COV-279_200	597	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-COV-Rp_Shaa	520	GWHNMLKTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNSLSHRFYRLA
BAT-BETACOV_Zhe	592	GWNMLKTLIYADVNTAQLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHNTCCNSVSERYRLA
BAT-COV-HKU9	594	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHATCCNASERFYRLA
ROUSETTUS-BAT-C	597	GWNRLRTLCDGVEKPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNTSERFYRLA
BAT-COV-HKU9-4	594	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHATCCNASERFYRLA
BAT-COV-HKU9-10	597	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHATCCNASERFYRLA
BAT-COV-HKU9-5-	597	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHATCCNASERFYRLA
BAT-COV-HKU9-10	592	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNASERFYRLA
BAT-COV-HKU9-3	592	GWNRLRTLCEGVNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHSTCCNASERFYRLA
BETACOV-ERINACE	595	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
BAT-COV-HKU5-2	595	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
BtVs-BetaCoV_SC	595	GWDFMLRTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
BAT-COV-HKU5	597	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
MERS-COV	594	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
BAT-COV-HKU4-2	595	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
MERS-COV-ISK_20	594	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
BAT-COV-133_200	595	GWDFMLKTLTKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMCRIFASLVLARKHSTCCNTSDRFYRLA
MURINE-COV	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1-	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	591	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
MURINE-COV-A59	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
RAT-COV	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
MURINE-COV-RJHM	594	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BETA-COV-HKU24	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
MURINE-HEP-17	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
HUMAN-COV-OC43	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
MURINE-HEP-VIRU	594	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
RABBIT-COV-HKU1	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOVINE-COV-98LU	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOVINE-COV-98EN	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
MURINE-COV-JHM	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOVINE-COV-BEC	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOVINE-COV-MEBU	589	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOVINE-COV-Alpa	507	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BOT-DOLPHIN-HKU	588	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BEL-WHALE-COV_S	588	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA
BAT-COV-512_200	587	GWDDMLRRLIKDNDNPHLMGWDPKCDRAMPNMLRIASLVLARKHDSCCSHTDRFYRLA

SARS-COV-2	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
SARS-COV	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
SARS-COV-PUMC02	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BetaCoV_JL2012	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-COV	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-SARS-COV-Y7	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BtRf-BETACOV_He	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-COV-Rp3_200	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-COV-HKU3	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-COV-279_200	657	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-COV-Rp_Shaa	580	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNALLSTDGNKIA
BAT-BETACOV_Zhe	652	NECAQVLSEVMVCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVLSALLAANGNKIV
BAT-COV-HKU9	654	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
ROUSETTUS-BAT-C	657	NECAQVLSEIVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSRDGNKIY
BAT-COV-HKU9-4	654	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
BAT-COV-HKU9-10	657	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
BAT-COV-HKU9-5-	657	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
BAT-COV-HKU9-10	652	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
BAT-COV-HKU9-3	652	NECAQVLSEVMVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDSSTAYANSVFNICQAVSANLNTFLSIDGNKIY
BETACOV-ERINACE	655	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMSANGNKII
BAT-COV-HKU5-2	655	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMGANGNKIV
BtVs-BetaCoV_SC	655	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMGANGNKIV
BAT-COV-HKU5	657	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMGANGNKIV
MERS-COV	654	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMGANGNKIV
BAT-COV-HKU4-2	655	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMSANGNKII
MERS-COV-ISK_20	654	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMGANGNKIV
BAT-COV-133_200	655	NECAQVLSEYVLCGGGSLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVTANVNSALMSANGNKII
MURINE-COV	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
HUMAN-COV-HKU1-	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
HUMAN-COV-HKU1_	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
HUMAN-COV-HKU1_	651	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
MURINE-COV-A59	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
HUMAN-COV-HKU1_	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
RAT-COV	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
MURINE-COV-RJHM	654	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BETA-COV-HKU24	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
MURINE-HEP-17	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
HUMAN-COV-OC43	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
MURINE-HEP-VIRU	654	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
RABBIT-COV-HKU1	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOVINE-COV-98LU	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOVINE-COV-98EN	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
MURINE-COV-JHM	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOVINE-COV-BEC	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOVINE-COV-MEBU	649	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOVINE-COV-Alpa	567	NECAQVLSEIVMCGGSLYVVKPGGTSSGDATTAFANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BOT-DOLPHIN-HKU	648	NECAQVLSEIVALSNGGLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BEL-WHALE-COV_S	648	NECAQVLSEIVALSNGGLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE
BAT-COV-512_200	647	NECAQVLSEIVALSNGGLYVVKPGGTSSGDATTAYANSVFNICQAVSANVCSLMACNGHKIE

SARS-COV-2	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDTDFVNEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	FNSTYAS	QGLV		
SARS-COV	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
SARS-COV-PUMC02	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BetaCoV_JL2012	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-COV	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-SARS-COV-Y7	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BtRf-BETACOV_He	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-COV-Rp3_200	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-COV-HKU3	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-COV-279_200	717	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-COV-Rp_Shaa	640	DKYVRNLQHRLYECLYRNRD	VDFE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DAVVC	CNSNYAAQGLV		
BAT-BETACOV_Zhe	712	DVYIRD	LQQRKLYANVYRS	VHVDHE	FVDEE	FYAYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYVAAGLYI		
BAT-COV-HKU9	714	TTYVQELQRR	LYLGYRSNT	VDNELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYN	ADYAQKGYV		
ROUSETTUS-BAT-C	717	NSYVQGLQRR	LYLGYRTH	TVDME	LVT	EYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYASKGYV		
BAT-COV-HKU9-4	714	TTYVQELQRR	LYLGYRSNT	VDNELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYN	ADYAQKGYV		
BAT-COV-HKU9-10	717	TTYVQDLQRR	LYLGYRSNT	VDEYELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	QKGYV		
BAT-COV-HKU9-5-	717	TTYVQDLQRR	LYLGYRSNT	VDEYELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	QKGYV		
BAT-COV-HKU9-10	712	TTYVQELQRR	LYMG	LYRSNT	VDNELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	QKGYV	
BAT-COV-HKU9-3	712	TTYVQELQRR	LYMG	LYRSNT	VDNELV	LYYNYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	QKGYV	
BETACOV-ERINACE	715	DKEVRDMQ	FELYVNVYR	NSKPD	PKFV	DKYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNKDYAAAGYI	
BAT-COV-HKU5-2	715	DKEVRDMQ	FELYVNVYR	KSQDP	PKFV	DRYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYATKGYI	
BtVs-BetaCoV_SC	715	DKEVRDMQ	FELYVNVYR	RNMPD	QK	FVDRYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	AKGYV
BAT-COV-HKU5	717	DEEVRDMQ	FELYVNVYR	KSQDP	PKFV	DRYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYATKGYI	
MERS-COV	714	DKEVRDMQ	FELYVNVYR	STSPD	PKFV	DKYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	AKGYI
BAT-COV-HKU4-2	715	DREIKDMQ	FELYVNVYR	KVVPD	PKFV	DKYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	AKGYV
MERS-COV-ISK_20	714	DKEVRDMQ	FELYVNVYR	STSPD	PKFV	DKYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	AKGYI
BAT-COV-133_200	715	DREIKDMQ	FELYVNVYR	KVVPD	PKFV	DKYYAFLN	KHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	AKGYV
MURINE-COV	709	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
HUMAN-COV-HKU1-	709	DLSEIRNLQ	KRRLYSNVYR	TDYVD	YTFV	NEYYEFL	CKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	709	DLSEIRNLQ	KRRLYSNVYR	TDYVD	YTFV	NEYYEFL	CKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	711	DLSEIRNLQ	KRRLYSNVYR	TDYVD	YTFV	NEYYEFL	CKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
MURINE-COV-A59	709	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	709	DLSEIRNLQ	KRRLYSNVYR	TDYVD	YTFV	NEYYEFL	CKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ANKGYI
RAT-COV	709	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
MURINE-COV-RJHM	714	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BETA-COV-HKU24	709	DLSEIRSLQ	RRLYSHVYR	SDYVD	PAFV	NEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
MURINE-HEP-17	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDKVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
HUMAN-COV-OC43	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDKVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
MURINE-HEP-VIRU	714	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
RABBIT-COV-HKU1	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDTVD	PTFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOVINE-COV-98LU	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDMVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOVINE-COV-98EN	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDMVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
MURINE-COV-JHM	709	DLSEIRELQ	KRRLYSNVYR	ADHVD	PAFV	SEYEF	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOVINE-COV-BEC	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDMVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOVINE-COV-MEBU	709	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDMVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOVINE-COV-Alpa	627	DLSEIRALQ	KRRLYSHVYR	SDMVD	STFV	TEYYEFL	LNKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ASKGYI
BOT-DOLPHIN-HKU	708	VEEVRALQ	HELYTQVYR	RDKP	DMDFVY	TFYAYLNKHF	SMMILSD	DGVCYN	KSYAEAGMV	
BEL-WHALE-COV_S	708	AEEVRALQ	HELYTQVYR	RDKP	DMDFVY	TFYAYLNKHF	SMMILSD	DGVCYN	KSYAEAGMV	
BAT-COV-512_200	707	NIEVRQ	LQQRKLYDCCYR	SSV	DQSFVEE	YFGLYLRKHF	SMMILSD	DGVCYNSDYA	ALGYV	

Fig. 11 Identificación de los aminoácidos que forma interacciones con el remdesivir en el alineamiento múltiple.

3.1.4 Mutaciones introducidas en el sitio activo de RdRp

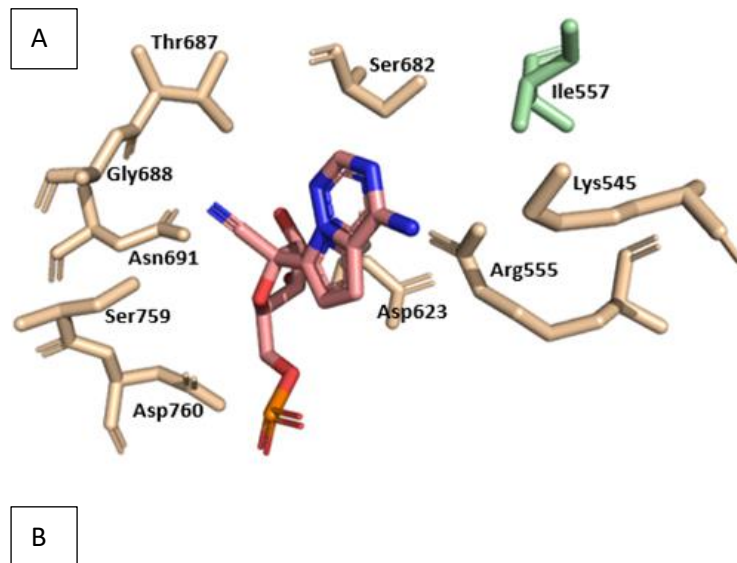
Una vez seleccionados los residuos Val557, Ala688 y Ser759 que fueron sujetos de una de mutación puntual de forma virtual, se realizó un análisis de la secuencia codificante de RdRp, la cual fue extraída del genoma viral depositado en el GenBank (Anexo 2). De esta forma se identificó que el cambio de un nucleótido en el triplete

que codifica para cada uno de estos residuos puede dar lugar a las mutaciones Val557Ile, Ala688Gly y Ser759Thr que se presentan en la Fig 12, 13 y 14, respectivamente, y que se resume en la Tabla 5. Este análisis surge de la premisa que indica que un cambio de una sola base en genomas pequeños como el del SARS-CoV-2 tiene una probabilidad de 1:10,000 pb. Esto se suma al hecho de que los virus de ARN no poseen mecanismos de reparación de errores como ocurre en los virus de ADN (Callawey, 2020). De la misma manera, la estructura química de los aminoácidos valina e isoleucina, alanina y glicina y serina y treonina pertenecen al mismo grupo en función de las propiedades de sus cadenas laterales: no polar-alifáticos y polar; y solo difieren de un carbono en la cadena -R.

Tabla 5 Mutaciones en tres aminoácidos de la RdRp del SARS-CoV-2.

MUTACIÓN	POSICIÓN	WT	CODÓN	MUTANTE	CODÓN
1	557	Val	GUA	Ile	AUA
2	688	Ala	GCU	Gly	GGU
3	759	Ser	UCU	Thr	ACU

Fuente: Jaramillo,2020



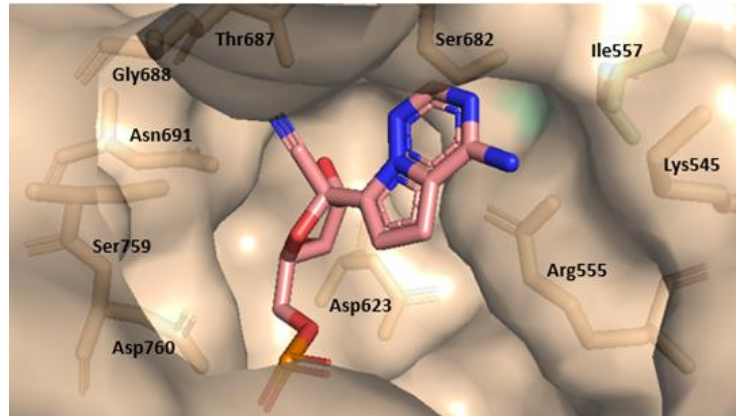


Fig. 12 Mutación del aminoácido Val por Ile, en la posición 557. A) Representación de la mutación 1 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 1 en formato surface (PYMOL)

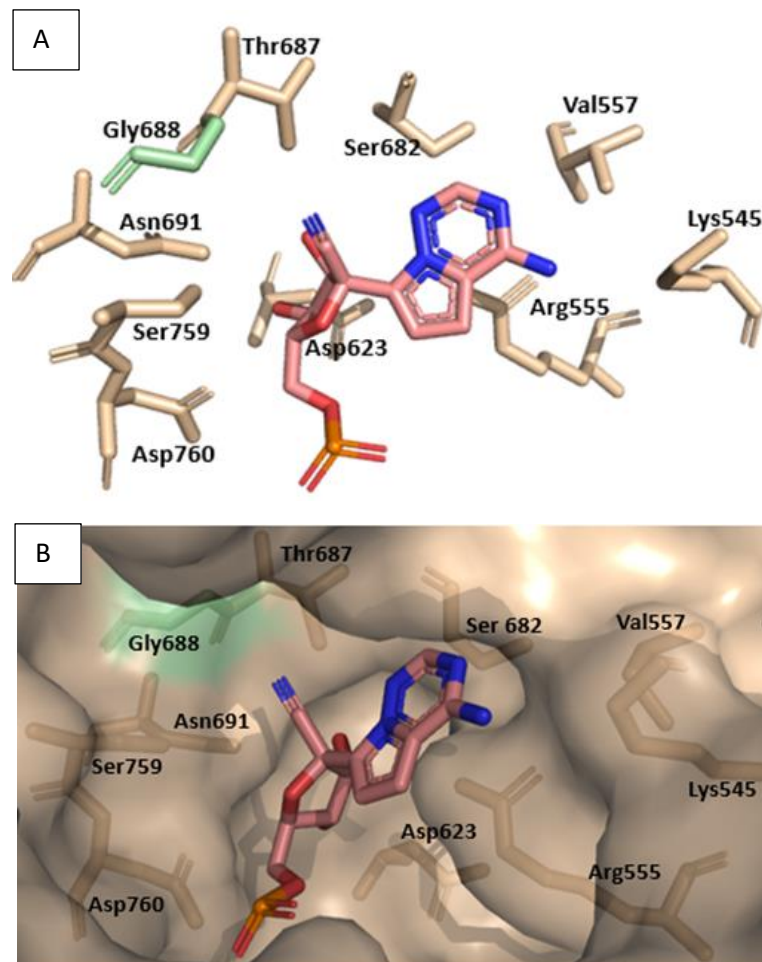


Fig. 13 Mutación del aminoácido Ala por Gly, en la posición 688. A) Representación de la mutación 2 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 2 en formato surface (PYMOL).

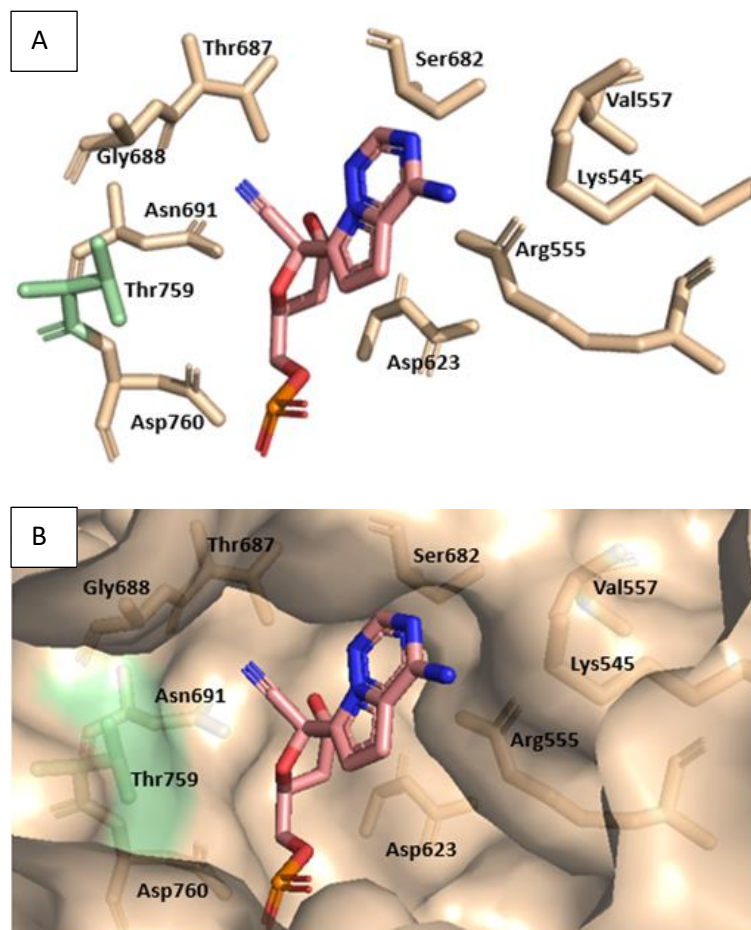


Fig. 14 Mutación del aminoácido Ser por Thr, en la posición 759. A) Representación de la mutación 3 en formato sticks (PYMOL). B) Representación de la mutación 3 en formato surface (PYMOL).

3.1.5 Efecto de mutaciones puntuales sobre la afinidad de Remdesivir por el sitio activo de RdRp

El acoplamiento molecular o docking es una herramienta muy útil para determinar la energía de unión de un ligando a un sitio en particular de una proteína. Este parámetro determina la afinidad del ligando por la proteína y está relacionado a la naturaleza y número de las interacciones no covalentes que se dan entre los átomos del ligando y de los residuos del receptor. De esta forma, se realizó el docking de Remdesivir en el sitio activo de las variantes mutantes generadas, y se las comparó con el valor de afinidad obtenido del docking del inhibidor en la proteína nativa (WT). Estos experimentos, se realizaron empleando la estructura con código PDB 7BV2, que corresponde al complejo RdRp-Remdesivir.

Primeramente, se evaluó la afinidad de Remdesivir en RdRp sin mutaciones. En la Fig.15 se muestra las tres mejores soluciones del acoplamiento molecular para la proteína nativa, siendo la solución 3 con un Score de 57.11 y S (PLP) de - 43.11, la más alta. Estos valores nos indica la energía libre es producto de las interacciones atracción y repulsión que se dan en la formación del complejo proteína-ligando (Pérez, 2018). Las poses generadas por GOLD para la unión de Remdesivir en el sitio activo de RdRp son prácticamente iguales a la posición que adopta el inhibidor en la estructura de RdRp-Remdesivir determinada mediante microscopía electrónica (7BV2).

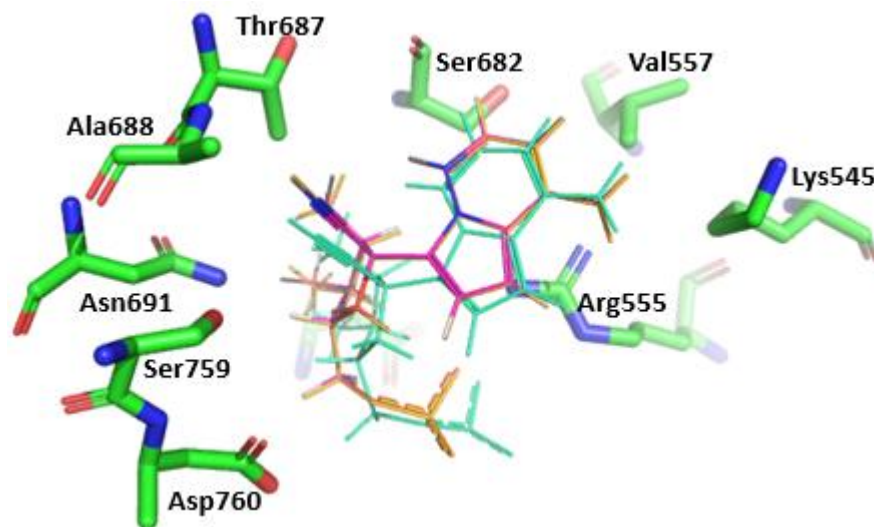


Fig. 15 Acoplamiento molecular de Remdesivir en la forma nativa de RdRp del SARS-CoV-2 (7BV2).

Posteriormente, se realizó el docking de Remdesivir en cada una de las variantes mutantes generadas en el presente estudio. En la Tabla 6 se presentan los resultados de las mejores soluciones para cada mutación y para la proteína nativa (WT). Estas ponderaciones (Score) representan la afinidad de unión de energía libre que se da entre el ligando y la proteína y obtenidas mediante la función CHEMPLP de GOLD. Consecuentemente, se pudo determinar que el acoplamiento termodinámicamente más favorable fue obtenido para la variante Ser759Thr, con un Score de 53.36. Al comparar este valor con aquel determinado para la variante nativa de la enzima se puede deducir que un cambio de serina por treonina en esta posición no afecta significativamente la unión de Remdesivir a la enzima. En contraste, los valores de Score obtenidos para las

variantes Val557Ile y Ala688Gly (40.74 y 44.90, respectivamente) indican que el inhibidor tiene dificultad para acoplarse apropiadamente en el sitio activo, lo cual podría indicar el apareamiento de resistencia a este fármaco. Los valores de unión del inhibidor para estas dos variantes mutantes sugieren un factor de resistencia de 1.4, para la sustitución Val557Ile, y 1.27, para la sustitución Ala688Gly. Estos resultados no tienen precedentes, ya que aún no se conoce la existencia de variantes mutantes de RdRp del SARS-CoV-2 originadas de forma natural.

Tabla 6 Mejores soluciones de las mutaciones generadas con la solución nativa.

MUTACIÓN	BEST S/N	SCORE CHEMPLP	S (PLP)	S (HBOND)	S(CHO)
Wild Type (WT)	Sol. 3	57.11	-43.11	5.44	0.00
Val557Ile	Sol.5	40.74	-32.28	3.00	0.00
Ala688Gly	Sol.2	44.90	-33.54	4.57	0.00
Ser759Thr	Sol.1	53.36	-24.81	2.44	0.00

Elaborado por: Jaramillo, 2020

3.1.5.1 Mutación Val557Ile.

En la Fig.16 se indica las tres mejores soluciones para el docking de la mutación valina por isoleucina en la posición 557, siendo la solución 5 la que presentó la puntuación más alta: Score ChemPLP = 40.74 y S(PLP) = -32.28, (Tabla 6). Los resultados de todas las soluciones generadas por el programa GOLD se visualiza en el Anexo 3.

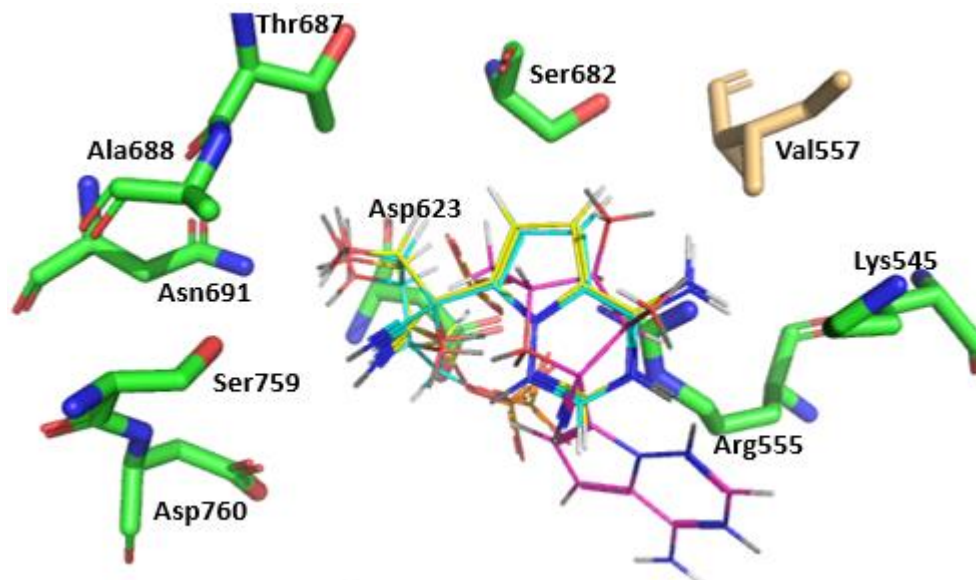


Fig. 16 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Val557Ile. La mejor solución muestra a Remdesivir en color amarillo.

Al comparar la posición adoptada por el inhibidor en la proteína mutada y en la nativa (Fig17), se puede visualizar que la disposición espacial de los residuos que interactúan directamente con el ligando se ve ligeramente afectada por la sustitución valina por isoleucina. Las interacciones no covalentes que forman el residuo isoleucina con el ligando conectan los átomos de hidrógeno del C γ 2 del aminoácido con el átomo N5 de la adenina modificada del Remdesivir. Estas interacciones son similares a aquellas que se observan entre el inhibidor y el residuo valina presente en la enzima nativa. El único cambio significativo que adopta Remdesivir al unirse en el sitio activo de RdRp en presencia de la mutación Val557Ile es la ubicación de la cola de fosfato, el cual se puede atribuir a la desviación que existe en la posición de los residuos Ile557, Lys545 y Arg555, con respecto a la posición de estos residuos en la enzima nativa. Este cambio, sin lugar a duda, afecta las propiedades de unión de Remdesivir a la enzima y, por ende, da lugar al surgimiento de resistencia.

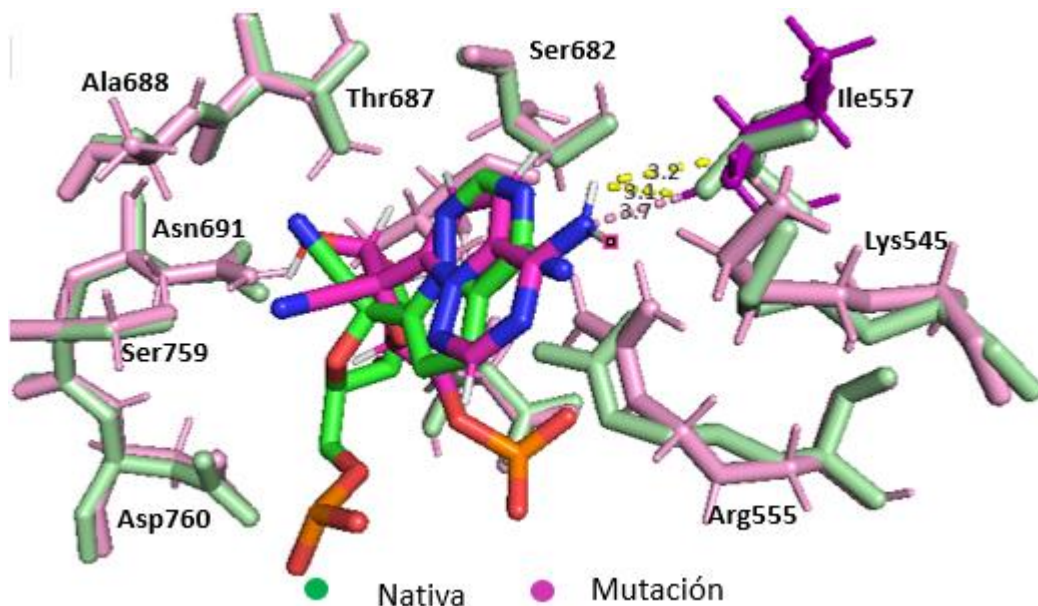


Fig. 17 Representación de las interacciones de la mutación Val557Ile y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa.

3.1.5.2 Mutación Ala688Gly.

Producto del acoplamiento molecular de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ala688Gly, GOLD determinó 5 posibles soluciones las cuales se muestran en

el Anexo 5. El resultado con mayor Score (44.90) y una energía libre S (PLP) de -33.54, fue de la solución 2 que se presenta en la Tabla 6. Las poses adoptadas por las tres mejores soluciones se representan en la Fig. 18, donde se demuestra que el inhibidor prácticamente mantiene la misma pose, con apenas una pequeña desviación en su conformación.

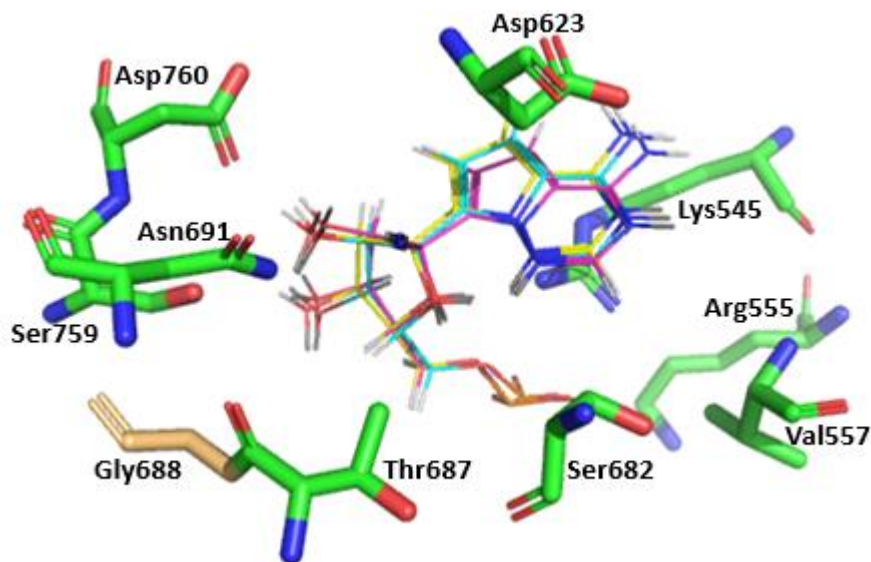


Fig. 18 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ala688Gly. La mejor solución está muestra a Remdesivir en color amarillo.

Como se mencionó anteriormente, la variante Ala699Gly genera un valor de afinidad 1.27 veces menor con respecto a la afinidad Remdesivir en la enzima nativa, lo cual es producto de la ausencia de las interacciones no covalentes que se observan entre el C β de la alanina y el átomo de nitrógeno del grupo CN de Remdesivir. El aminoácido glicina carece de cadena lateral, y de esta forma aporta con menos interacciones no covalentes con el inhibidor, las cuales son además más débiles que las observadas cuando en esta posición se encuentra la alanina. Al sobreponer la pose de Remdesivir en la variante mutante Ala688Gly en la estructura 7BV2 se puede observar que el inhibidor adopta una posición totalmente diferente, con la cola de monofosfato ocupando el lugar de la base nitrogenada del inhibidor (Fig, 19). Esto ilustra la importancia del aminoácido Ala688 en la unión de Remdesivir al sitio activo de RdRp y sugiere que la sustitución alanina por glicina en esta posición puede desembocar en el desarrollo de resistencia contra este fármaco.

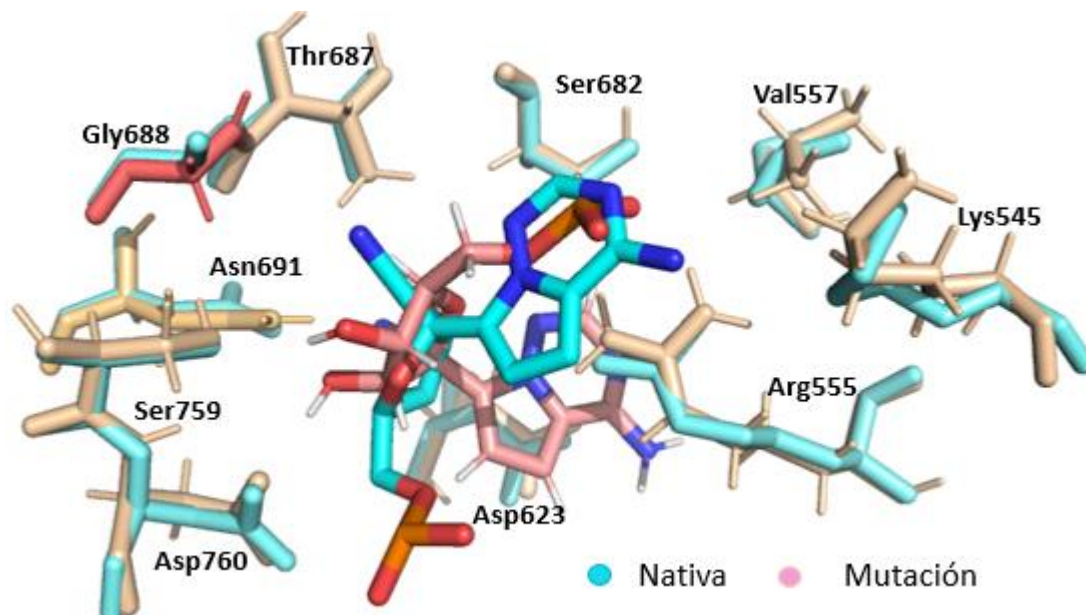


Fig. 19 Representación de las interacciones de la mutación Ala688Gly y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa

3.1.5.3 Mutación Ser759Thr.

El docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ser759Thr mostró solo tres posibles soluciones en las que el inhibidor (Remdesivir) puede ocupar el sitio activo en presencia de esta mutación. En la Fig 20 se visualiza las diferentes disposiciones espaciales de las tres soluciones, por lo que la solución 1 muestra el mejor Score (53.36), con una energía libre o S (PLP) de -24.81, como se indica en la Tabla 6.

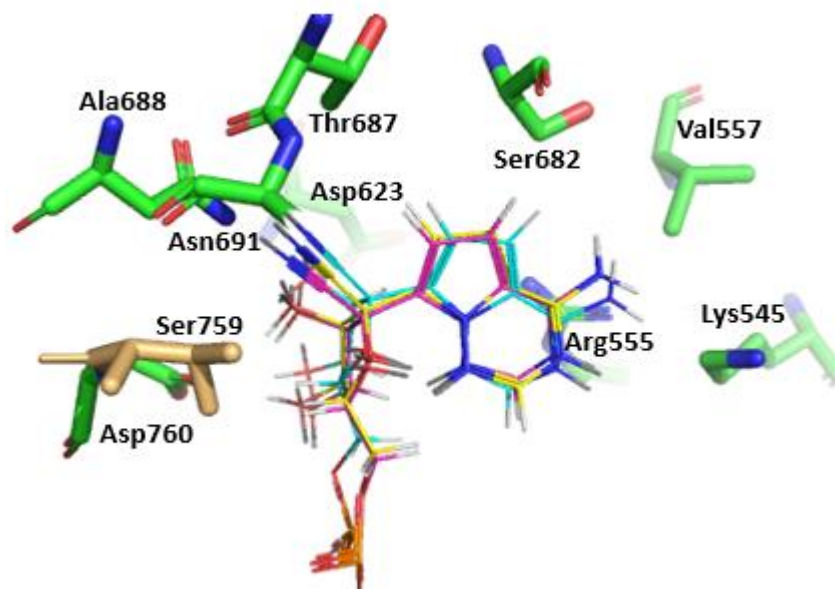


Fig. 20 Representación de las tres mejores soluciones para el docking de Remdesivir en el sitio activo de la variante mutante Ser759Thr. La mejor solución muestra a Remdesivir en color amarillo.

Interesantemente, al comparar estos resultados con el acoplamiento del ligando en el sitio activo de la molécula nativa (7BV2), se puede observar que existe una alta similitud en la conformación que adopta Remdesivir en ambas macromoléculas. Esto corrobora la similitud de los valores de afinidad determinado por GOLD, 57.11 para la enzima nativa y 53.36 para la variante mutante (Tabla 6).

En la Fig. 21 se determina que a pesar de realizar la mutación por un aminoácido que presenta un carbono más en su estructura (treonina), en términos generales se mantienen la mayoría de las interacciones. Entre las más importantes se encuentra la del oxígeno (O1) de la treonina 759 y el hidrógeno (H81) del ligando con una distancia de 3.9 Å. Además, se visualiza la interacción del (O1) de la ribosa del inhibidor y el carbono (C8) de la proteína con una distancia de 4.27 Å. Otra interacción importante que se genera es entre el nitrógeno (N3) del grupo ciano (C≡N) del ligando y el hidrógeno (H1) del segundo carbono de la cadena -R del aminoácido. Esta última interacción es una de las más importantes ya que este grupo funcional es capaz de disminuir la actividad viral de las ARN polimerasas en mamíferos (Reina J. , 2020).

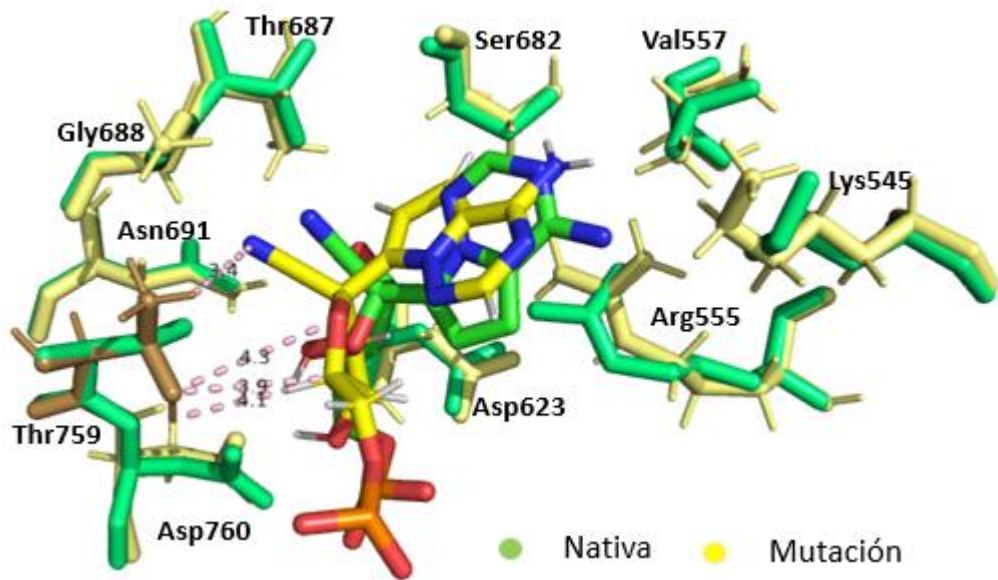


Fig. 21 Representación de las interacciones de la mutación Ser759Thr y la comparación de la configuración espacial de la proteína nativa.

3.2 Verificación de hipótesis

El acoplamiento molecular de Remdesivir en variantes mutantes de la RdRp del SARS-CoV-2 provee evidencia que sustenta la aceptación de la hipótesis alternativa “Mutaciones en la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del SARS-CoV-2 otorgan resistencia contra inhibidores de esta enzima”, y, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se analizó el alineamiento múltiple de la secuencia de la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) del SARS-CoV-2 con cincuenta especies; encontrando que el sitio de unión del ligando a la proteína se mantiene altamente conservado.
- Se logró la construcción de los modelos tridimensionales de la enzima ARN polimerasa ARN dependiente del virus SARS-CoV-2 con tres mutaciones puntuales; identificados mediante el análisis del alineamiento múltiple y la estructura tridimensional de RdRp-Remdesivir. Las mutaciones seleccionadas potencialmente no tienen un efecto significativo sobre la catálisis enzimática, pero implican cambios en la afinidad del inhibidor por el sitio activo de la enzima.
- Se efectuaron los estudios de acoplamiento molecular de las mutaciones Val557Ile, Ala688Gly y Ser759Thr con el ligando, Remdesivir, con lo que se pudo determinar que las mutaciones Val557Ile y Ala688Gly tienen posibilidades de generar resistencias.

4.2 Recomendaciones

- Estudiar las variantes mutantes seleccionadas en el presente estudio en laboratorio para así determinar su efecto en la actividad de la enzima y en la constante de inhibición del inhibidor Remdesivir.
- Realizar estudios con otros inhibidores como sofosbuvir y ribavirin que demuestran actividad antiviral en la polimerasa del SARS-CoV-2.
- Realizar un estudio más detallado de aminoácidos mas lejanos y su participación en el sitio activo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alviso, M., Gómez, R., García, C., & Velázquez, L. (2020). Infecciones por Coronavirus y el nuevo COVID-19:. *Revista Médico Científica de la Secretaría de Salud Jalisco*, 9-14.
- Andersen, K., Rambaut, A., Lipkin, I., Holmes, E., & Garry, R. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *NATURE MEDICINE*, 450-452. doi:<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Arciniegas, Y. (2020). América Latina región con mayor desempleo. *FRANCE 24*.
- Callaway, E. (2020). The coronavirus is mutating — does it matter? *nature*, 174-177. doi:[10.1038/d41586-020-02544-6](https://doi.org/10.1038/d41586-020-02544-6)
- Cao, Y., Li, L., Feng, Z., & Dand, X. (2020). Análisis genético comparativo del receptor ACE2 del nuevo coronavirus (2019-nCoV / SARS-CoV-2) en diferentes poblaciones. *Cell Discov*, 6-11.
- Cortéz, M. (2020). Coronavirus como amenaza a la salud pública. *Revista Médica de Chile*, 148(1), 124-126. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872020000100124>
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2018). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 181–192. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Dong, E., Du, H., & Gardner, L. (2020). An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *THE LANCET Infectious Diseases*, 533-534. doi:[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30120-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30120-1)
- Emergencias, S. N. (20 de octubre de 2020). *Gestión de Riesgos*. Obtenido de <https://www.gestionderiesgos.gob.ec/informes-de-situacion-covid-19-desde-el-13-de-marzo-del-2020/>
- Emsley, P., & Lohkamp, B. (2010). Features and development of Coot. *Journal*, 486-501. Obtenido de <http://journals.iucr.org/d/issues/2010/04/00/ba5144/ba5144.pdf>
- Gao, Q., Bao, L., Mao, H., Wang, L., Xu, K., Yang, M., & Li, Y. (2020). Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*, 77-81. doi:[10.1126/science.abc1932](https://doi.org/10.1126/science.abc1932)
- Gao, Y., Yan, L., Huang, Y., Liu, F., & Zhao, Y. (2020). Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*, 368, 779-782. doi: [10.1126/science.abb7498](https://doi.org/10.1126/science.abb7498)

- Giordano, G., Blanchini, F., Bruno, R., Colaneri, P., Filippo, A., Di Matteo, A., & Colaneri, M. (2020). Modelling the COVID-19 epidemic and implementation of population-wide interventions in Italy. *nature medicine*, 855-860. doi:<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0883-7>
- Gómez, J. (2014). *DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN ALGORITMO INTEGRATIVO PARA GUIAR LA MUTACION DE SECUENCIAS CODIFICANTES DE ADN PARA MAXIMIZAR SU EXPRESIÓN*. Obtenido de Repositorio Chile: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130312/cf-urzua_jg.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gordon, D. J. (2020). SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *NATURE*, 459-468. doi:<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2286-9>
- Granados, J., Arias, E., Pacheco, D., Valdiris, V., & Vivas, R. (2010). ACOPLAMIENTO MOLECULAR, 3DQSAR Y DISEÑO DE NOVO DE BENZIMIDAZOLES E IMIDAZOLINAS DERIVADOS DE (S)-ISOTIAZOLIDINONAS COMO INHIBIDORES DE LA PROTEÍNA PTP 1B. *VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA*, 317-327. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169815641010.pdf>
- Guy, K., DiPaola, R., Romanelli, F., & Dutch, R. (2020). Rapid repurposing of drugs for COVID-19. *Science*, 829-830. doi:10.1126/science.abb9332
- Harder, E., Damm, W., Maple, J., & Chuanjie, W. (2015). A Force Field Providing Broad Coverage of Drug-like Small Molecules and Proteins. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 12-16. doi:10.1021/acs.jctc.5b00864
- Inca, G. I. (2020). *Evolución de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) en Ecuador*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- J Cui, F. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Natural Reviews Microbiology*, 181-192.
- Jeffrey, G. (1997). *An Introduction to Hydrogen Bonding*. Oxford: Oxford University Press.
- Jiang, S., Du, L., & Zhengli, S. (2020). An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Journal*, 275-277. doi:10.1080/22221751.2020.1723441.
- Jiménez, A. R. (2020). SARS-CoV-2 y pandemia de síndrome respiratorio agudo (COVID-19). *SCIELO*, 63-79.
- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., . . . Liu, X. (2020). Structure-based drug design, virtual screening and high-throughput screening rapidly identify antiviral leads targeting COVID-19. *The Preprint Server for Biology*, 234-240. doi:<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>

- Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Yongqiang, D., Li, M., Yao, Z., . . . Yang, X. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *nature*, 289-293. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.02.26.964882>
- Kumar, S., Zhi, K., Mukherji, A., & Gerth, a. K. (2020). Repurposing Antiviral Protease Inhibitors Using Extracellular Vesicles for Potential Therapy of COVID-19. *Journal Virules*, 486-492. doi:10.3390/v12050486
- Lain, A., Zhou, J., Liu, W., & Bi, Y. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *CelPress*, 490-502. doi:10.1016/j.tim.2016.03.003
- Lain, A., Zhou, J., Liu, W., & Bi, Y. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *CelPress*, 490-502.
- Lam, T. J. (2020). Identificación de coronavirus relacionados con el SARS-CoV-2 EN PANGOLINES MALAYOS. *NATURE*, 282-285.
- Lam, T.-Y., Jia, N., Zhang, Y.-W., Ho-Hin Shum, M. J.-F., Zhu, H.-C., Tong, Y.-G., . . . Qia, X. (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 282-285. doi:<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- Le Poder, S. (2011). Feline and Canine Coronaviruses: Common Genetic and Pathobiological Features. *Advances in Virology*, 1-11. Obtenido de <https://doi.org/10.1155/2011/609465>
- Li, H., Wang, Y., Xu, J., & Cao, B. (2020). [Potential antiviral therapeutics for 2019 Novel Coronavirus]. *PubMed- NCBI*.
- Li, W., Moore, M., Vasilieva, N., Sui, J., Wong, S. K., Berne, M., . . . Farzan, H. C. (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 450-454. doi:<https://doi.org/10.1038/nature02145>
- Liu, C., Zhou, Q., Li, Y., Garner, L., Watkins, S., Carter, L., . . . Gregg, A. (2020). Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases. *ACS Publications*, 315-331.
- Moneriz, C., & Castro, C. (2020). Fármacos prometedores y potenciales para el tratamiento de COVID-19. *SciELO (Revista chilena de infectología)*, 205-215. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300205>.
- Musser, J. (19 de octubre de 2020). *Tododisca*. Obtenido de <https://www.tododisca.com/un-estudio-revela-una-nueva-mutacion-del-coronavirus-mas-contagiosa/>
- Organization, W. H. (s.f.). MERS SITUATION UPDATE DECEMBER 2018. *WHO*.
- Ozili, P. K. (2020). Spillover of COVID-19: Impact on the Global Economy. *SSRN*, 27.
- Pastrian, G. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *SciELO (International*

journal of odontostomatology), v3, 331-337.
doi:<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300331>

- Pérez, I. (2018). Herramientas de cribado virtual aplicadas a inhibidores de entrada del VIH. Diseño de nuevos compuestos anti-VIH. *Claravall*, 472-590.
- Ramirez, R. J. (2020). en la busqueda de antivirales:evolución y estructura del SARS-CoV-2. *UNAM*.
- Reina, J. (2020). Remdesivir, la esperanza antiviral contra el SARS-CoV-2. *Revista Española de Quimioterapia*, 176-179.
- Reina, J. (2020). Remdesivir, la esperanza antiviral frente al SARS-CoV-2. *Revista Española Quimioter.*, Vol 3, 176–179. doi:Reina J. (2020). Remdesivir, la esperanza antiviral frente al SARS-CoV-2 [Remdesivir, the antiviral hope against SARS-CoV-2]. *Revista española de* <https://doi.org/1037201/req/0.98.2020>
- Reina, J. (2020). Remdesivir, la esperanza antiviral frente al SARS-CoV-2. *Revista Española de Quimioterapia*, 176-179. doi:10.37201/req/028.2020
- Richard, M., Kok, A., Meulder, D., Bestebroer, T., Lamers, M., Okba, N., . . . Herfst, S. (2020). SARS-CoV-2 is transmitted via contact and via the air between ferrets. *National Library of Medicine*. doi:10.1038/s41467-020-17367-2.
- Robert, E., & Batzoglou, S. (2006). Multiple sequence alignment. *ELSEVIER*, 1-6.
- Saisfer, A. (2020). Los siete tipos de coronavirus que afectan a los humanos. *La Vanguardia*.
- Salud, O. M. (2020). Nuevo coronavirus 2019.
- Tedijanto, C., Kissler, S., Goldstein, E., Grad, Y., & Lipsitch, M. (2020). Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science*, 860-868. doi:10.1126/science.abb5793
- Van der Hoek, L., Pyrc, K., Jebbink, M., Vermeulen-Oost, W., Berkhout, R. J., Wolthers, K., . . . Berkhout, B. (2004). Identification of a new human coronavirus. *nature medicine*, 368-373. doi:<https://doi.org/10.1038/nm1024>
- Wanchao Yin, C. M.-D. (2020). Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science*, 1499-1504.
- Wanchao, Y., Chunyou, M., Xiaodong, L., Dan-Dan, S., Qingya, S., & Haixia, S. (2020). Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *nature*, 1499-1504. doi:10.1126/science.abc1560
- WHO. (2020). Inforgrafía de contagios en el mes de octubre por el SARS-CoV-2 en el mundo. *WHO*.

- Wit, E., van Doremalen, N., & Falzarano, D. e. (2006). SARS y MERS: conocimientos recientes sobre coronavirus emergentes. *Nature Review Microbiology*, 523-534. doi:10.1038/nrmicro.2016.81
- Wu, Y. (2020). Compensation of ACE2 Function for Possible Clinical Management of 2019-nCoV-Induced Acute Lung Injury. *Europe PMC*, 256-258. doi:10.1007/s12250-020-00205-6
- Xiaolu Tang, C. W. (2020). On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*, 1012-1023. doi:https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036
- Xiaolu Tang, C. W. (2020). On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*, 1012-1023.
- Yin, W., Mao, C., Luan, X., Shen, D.-D., Shen, Q., Su, H., . . . Tao, S.-C. (2020). Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir. *Science*. doi: 10.1021/acs.jpcb.0c04198

ANEXOS

Anexo 1 Alineamiento múltiple de la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) del SARS-CoV-2 con cincuenta especies.

SARS-COV-2	1	SADAQSF	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--D	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																												
SARS-COV	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
SARS-COV-PUMC02	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BetaCoV_JL2012	1	SADASP	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BAT-COV	1	SADASP	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BAT-SARS-COV-Y7	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BtRf-BETACOV_He	1	SADASAF	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																												
BAT-COV-Rp3_200	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BAT-COV-HKU3	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BAT-COV-279_200	1	SADAST	F	LNRVCG	VS	-AARLT	PCGT	GTST	DVVY	RAFDI	YN	--E	VAGF	AK	FLKT	NCCRFQ																																											
BAT-COV-Rp_Shaa	1	-----																																																									
BAT-BETACOV_Zhe	1	----	S	F	LNRV	R	G	V	S	-AARLT	PC	S	G	L	S	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	Y	N	--S	K	I	G	G	F	G	L	R	Y	K	G	N	C	C	R	F	Q														
BAT-COV-HKU9	1	----	E	C	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	Q	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q				
ROUSETTUS-BAT-C	1	AND-	D	C	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	Q	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--S	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q				
BAT-COV-HKU9-4	1	----	E	C	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	Q	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q				
BAT-COV-HKU9-10	1	AKD-	E	C	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	Q	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q				
BAT-COV-HKU9-5-	1	AKD-	E	C	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	Q	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q				
BAT-COV-HKU9-10	1	----	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	E	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q						
BAT-COV-HKU9-3	1	----	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-G	V	A	R	L	V	P	L	C	S	G	V	E	P	D	V	I	V	R	A	F	D	I	C	N	--T	V	A	G	F	G	L	H	L	K	N	N	C	C	R	F	Q						
BETACOV-ERINACE	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	D	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
BAT-COV-HKU5-2	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
BtVs-BetaCoV_SC	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
BAT-COV-HKU5	1	---	P	T	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V	
MERS-COV	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
BAT-COV-HKU4-2	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	F	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
MERS-COV-ISK_20	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-I	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	Y	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
BAT-COV-133_200	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	F	K	A	V	A	G	I	G	K	Y	K	T	N	T	C	R	F	V			
MURINE-COV	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
HUMAN-COV-HKU1-	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--T	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
HUMAN-COV-HKU1_	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--T	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
HUMAN-COV-HKU1_	1	---	M	O	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--T	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q	
MURINE-COV-A59	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
HUMAN-COV-HKU1	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--T	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
RAT-COV	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
MURINE-COV-RJHM	1	SV	K	R	H	E	F	K	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q	
BETA-COV-HKU24	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
MURINE-HEP-17	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	Y	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
HUMAN-COV-OC43	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
MURINE-HEP-VIRU	1	SV	K	R	H	E	L	F	K	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q
RABBIT-COV-HKU1	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
BOVINE-COV-98LU	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
BOVINE-COV-98EN	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
MURINE-COV-JHM	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	N	R	A	G	I	G	L	M	Y	K	V	N	C	C	R	F	Q			
BOVINE-COV-BEC	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
BOVINE-COV-MEBU	1	----	N	F	L	N	R	V	R	G	V	S	-S	V	N	A	R	L	E	P	C	A	S	G	L	A	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	C	N	--A	S	V	A	G	I	G	L	H	L	K	V	N	C	C	R	F	Q			
BOVINE-COV-Alpa	1	-----																																																									
BOT-DOLPHIN-HKU	1	----	Q	N	L	N	R	V	R	G	L	S	-E	A	R	L	R	P	C	A	S	G	L	L	P	D	V	V	K	R	A	F	D	I	Y	N	--S	N	T	A	G	Y	A	S	L	K	H	N	C	A	R	F	Q						
BEL-WHALE-COV_S	1	----	Q	N	L	N	R	V	R	G	L	S	-E	A	R	L	R	P	C	A	S	G	L	L	P	D	V	V	K	R	A	F	D	I	Y	N	--S	N	T	A	G	Y	A	S	L	K	H	N	C	A	R	F	Q						
BAT-COV-512_200	1	----	L	N	R	V	R	G	V	S	-A	A	R																																														

SARS-COV-2 58 EKDEEDNLDSDYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAKHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
SARS-COV 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
SARS-COV-PUMC02 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BetaCoV_JL2012 58 EMDEDGNLSDYFVVKRHTMSNYQHEEAITYNLKPCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-COV 58 EMDEDGNLSDYFVVKRHTMSNYQHEEAITYNLKPCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-SARS-COV-Y7 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BtRf-BETACOV_He 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEEAITYNLKPCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-COV-Rp3_200 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-COV-HKU3 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-COV-279_200 58 EKDEEGNLLDSYFVVKRHTMSNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-COV-Rp_Shaa 1 -----SNYQHEETIYNLKKDCPAVAVHDFFKFRVDGDMVPHISRQ
BAT-BETACOV_Zhe 53 ELDDEGKALDSYFVVKRHTEDNKKLEQEMYDLKDCSGVAVHDFHFRVTVGRMTPHITRQ
BAT-COV-HKU9 55 ELDDADGTQLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
ROUSETTUS-BAT-C 58 ELDDSEGKALDSYFVVKRHTMSNYALEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHISRQ
BAT-COV-HKU9-4 55 ELDDADGTQLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
BAT-COV-HKU9-10 58 ELDDAEGNQLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
BAT-COV-HKU9-5- 58 ELDDAEGNQLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
BAT-COV-HKU9-10 53 ELDDVDEGVLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
BAT-COV-HKU9-3 53 ELDDVDEGVLDSYFVVKRHTMSNYLLEQRQCYEKLKDCGVARHDFFKFNIEGVMTPHVSRE
BETACOV-ERINACE 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BAT-COV-HKU5-2 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BtVs-BetaCoV_SC 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BAT-COV-HKU5 58 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MERS-COV 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BAT-COV-HKU4-2 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MERS-COV-ISK_20 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BAT-COV-133_200 56 ELDDQGHKLDSDYFVVKRHTMSNYELEKHCYDLEKDCDAVAHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-COV 54 RADEDDGNKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
HUMAN-COV-HKU1- 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
HUMAN-COV-HKU1_ 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
HUMAN-COV-HKU1_ 56 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-COV-A59 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
HUMAN-COV-HKU1_ 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
RAT-COV 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-COV-RJHM 59 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BETA-COV-HKU24 54 CADEDDGTLDDQYFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-HEP-17 54 CVDEYGNKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
HUMAN-COV-OC43 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-HEP-VIRU 59 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
RABBIT-COV-HKU1 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOVINE-COV-98LU 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOVINE-COV-98EN 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
MURINE-COV-JHM 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOVINE-COV-BEC 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOVINE-COV-MEBU 54 RVDDEGKLDKDFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOVINE-COV-Alpa 1 -----YEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BOT-DOLPHIN-HKU 54 ELDDENDDSDYFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BEL-WHALE-COV_S 54 ELDDENDDSDYFVVKRHTMSNYEVNKEKTYELETKSCGVVAEHDFHFRVTVGRMTPHIVRQ
BAT-COV-512_200 51 NLDK-----HDAFWIVKRTKTSVMEHEQSIYNLKKDCGAVAKHDFFKFRVDGDMVPHISRQ

SARS-COV-2	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
SARS-COV	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
SARS-COV-PUMC02	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BetaCoV_JL2012	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-SARS-COV-Y7	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BtRf-BETACOV_He	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-Rp3_200	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU3	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDNYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-279_200	118	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-Rp_Shaa	41	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCDDDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-BETACOV_Zhe	113	RLTKYTMADLVYALRHFDEGNCSTLKEILVITYNCCGSDYFNKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9	115	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCSTLKEILVLRCCCTADYFDKDWYDFVENPDIIRVYAN
ROUSETTUS-BAT-C	118	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCSTLKEILVMRCCDEEFTKKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9-4	115	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCSTLKEILVLRCCCTADYFDKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9-10	118	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCMLKEILVLRCCCTEDYFDRKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9-5-	118	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCMLKEILVLRCCCTEDYFDRKDWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9-3	113	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCSTLKEILVLRCCCTSDYFDRADWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU9-10	113	RLTKYTMADLVYSLRHFDMNNCCSTLKEILVLRCCCTSDYFDRADWYDFVENPDIIRVYAN
BETACOV-ERINACE	116	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCCEESYFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU5-2	116	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCCEESYFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
BtVs-BetaCoV_SC	116	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCDTSYFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU5	118	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCDAS YFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
MERS-COV	116	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCDVTYFENKLWDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-HKU4-2	116	SLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCCEQSYFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
MERS-COV-ISK_20	116	RLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCDVTYFENKLWDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-133_200	116	SLTEYTMADLVYALRHFDMNNCCVLRKTIILVRYCCCEQSYFDNKLWDFVENPDIIRVYAN
MURINE-COV	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCDESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
HUMAN-COV-HKU1-	114	NLSKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLCEYDCKESYFSKKDWYDFVENPDIINVYAN
HUMAN-COV-HKU1_	114	NLSKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLCEYDCKESYFSKKDWYDFVENPDIINVYAN
HUMAN-COV-HKU1_	116	NLSKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLCEYDCKESYFSKKDWYDFVENPDIINVYAN
MURINE-COV-A59	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCDESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
HUMAN-COV-HKU1_	114	NLSKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLCEYDCKESYFSKKDWYDFVENPDIINVYAN
RAT-COV	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCGESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
MURINE-COV-RJHM	119	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCDESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
BETA-COV-HKU24	114	YLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLCLYECCESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
MURINE-HEP-17	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
HUMAN-COV-OC43	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
MURINE-HEP-VIRU	119	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
RABBIT-COV-HKU1	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLCEILLSMYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOVINE-COV-98LU	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOVINE-COV-98EN	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
MURINE-COV-JHM	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCSTLKEILLITYECCDESYFOKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOVINE-COV-BEC	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOVINE-COV-MEBU	114	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOVINE-COV-Alpa	32	DLTKYTMADLCYALRHFDRNDCMLCPIILSIYAGCEQSYFTKKDWYDFVENPDIINVYAN
BOT-DOLPHIN-HKU	109	RLTKYTMADLCYALRHFDRNDCVLRKTIILVRYCCCEWDYFDQPNWYDFVENPDIIRVYAN
BEL-WHALE-COV_S	109	RLTKYTMADLCYALRHFDRNDCVLRKTIILVRYCCCEWDYFDQPNWYDFVENPDIIRVYAN
BAT-COV-512_200	107	DLTEYTMADLCYALRHFDMNNCCSTLKEILLVRYCCCEWDYFDQPNWYDFVENPDIIRVYAN

SARS-COV-2	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQTTPGSGVPEIVDSY
SARS-COV	178	LGERVRQSLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
SARS-COV-PUMC02	178	LGERVRQSLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BetaCoV_JL2012	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVTPGCCGVEIVDSY
BAT-COV	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVTPGCCGVEIVDSY
BAT-SARS-COV-Y7	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BtRf-BETACOV_He	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-Rp3_200	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-HKU3	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-279_200	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-Rp_Shaa	101	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRDAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-BETACOV_Zhe	173	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVTPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-HKU9	175	LGETVRNANLSAVKMDMSVVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
ROUSETTUS-BAT-C	178	LGETVRNANLSANKMADAMVKAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BAT-COV-HKU9-4	175	LGETVRNANLSAVKMDMSVVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BAT-COV-HKU9-10	178	LGETVRNANLSAVEMADAMVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BAT-COV-HKU9-5-	178	LGETVRNANLSAVEMADAMVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BAT-COV-HKU9-10	173	LGETVRNANLSATKLADAMVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BAT-COV-HKU9-3	173	LGETVRNANLSATKLADAMVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVEGPAAGVAMMDIY
BETACOV-ERINACE	176	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-HKU5-2	176	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BtVs-BetaCoV_SC	176	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-HKU5	178	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
MERS-COV	175	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-HKU4-2	176	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
MERS-COV-ISK_20	175	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
BAT-COV-133_200	176	LGERVRQALLKKTVOFCDAMRNAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVQVAPGCCGVEIVDSY
MURINE-COV	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
HUMAN-COV-HKU1-	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
HUMAN-COV-HKU1_	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
HUMAN-COV-HKU1_	176	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
MURINE-COV-A59	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
HUMAN-COV-HKU1_	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
RAT-COV	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
MURINE-COV-RJHM	179	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BETA-COV-HKU24	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
MURINE-HEP-17	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
HUMAN-COV-OC43	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
MURINE-HEP-VIRU	179	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
RABBIT-COV-HKU1	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOVINE-COV-98LU	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOVINE-COV-98EN	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
MURINE-COV-JHM	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOVINE-COV-BEC	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOVINE-COV-MEBU	174	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOVINE-COV-Alpa	92	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BOT-DOLPHIN-HKU	169	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BEL-WHALE-COV_S	169	LGPIFNALLNNTAKFADTVEAGLVGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVKTVPGCCGVAIADSY
BAT-COV-512_200	167	LGTIVARALLKCKVFCDAMVEQGLGVLTLDNQLDNGWYDFGDFVTSVKGMGVPICTSY

SARS-COV-2	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
SARS-COV	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
SARS-COV-PUMC02	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BetaCoV_JL2012	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-SARS-COV-Y7	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BtRf-BETACOV_He	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV-Rp3_200	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU3	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV-279_200	238	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-AKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV-Rp_Shaa	161	YSLMPILTLTRALAAESHMDADR-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-BETACOV_Zhe	233	YSLMPILTLTRALAAESHMDADL-TKPLIKWDLKDYDFTEERICLFDRYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9	235	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDF-SKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
ROUSETTUS-BAT-C	238	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDL-TKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9-4	235	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDL-GKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9-10	238	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDF-SKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9-5-	238	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDF-SKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9-10	233	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDL-SKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU9-3	233	YSLAMPVYMTNMLAAECHVDGDL-SKPKRVDLCKYDVTQFKYSLFKYFKYWDQTYHP
BETACOV-ERINACE	236	YSYMPVLSMTDCLAAETHKDCDL-SKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU5-2	236	YSYMPVLSMTNCLAAETHKDCDL-TKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
BtVs-BetaCoV_SC	236	YSYMPVLSMTDCLAAETHKDCDL-NKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU5	238	YSYMPVLSMTNCLAAETHKDCDL-TKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
MERS-COV	235	YSYMPVLSMTDCLAAETHKDCDF-NKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-HKU4-2	236	YSYMPVLSMTNCLAAETHKDCDF-NKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
MERS-COV-ISK_20	235	YSYMPVLSMTDCLAAETHKDCDF-NKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-133_200	236	YSYMPVLSMTNCLAAETHKDCDF-NKPLIEWLLEFDYDQYDTEHRLNLHOKYFKYWDQTYHP
MURINE-COV	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
HUMAN-COV-HKU1-	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVND-----SYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
HUMAN-COV-HKU1_	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVND-----SYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
HUMAN-COV-HKU1_	236	YSYMPVLTMCHALDCELYVND-----SYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
MURINE-COV-A59	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
HUMAN-COV-HKU1_	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVND-----SYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
RAT-COV	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
MURINE-COV-RJHM	239	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BETA-COV-HKU24	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
MURINE-HEP-17	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
HUMAN-COV-OC43	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
MURINE-HEP-VIRU	239	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
RABBIT-COV-HKU1	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----TYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOVINE-COV-98LU	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOVINE-COV-98EN	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
MURINE-COV-JHM	234	YSYMPVLTMCHALDSELYVNG-----TYREFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOVINE-COV-BEC	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOVINE-COV-MEBU	234	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOVINE-COV-Alpa	152	YSYMPVLTMCHALDCELYVNN-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BOT-DOLPHIN-HKU	229	YSYMPCLTACDALASERFFEFKA-TSGYKQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BEL-WHALE-COV_S	229	YSYMPCLTACDALASERFFEFKA-TSGYKQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP
BAT-COV-512_200	227	YSYMPVLTMCHALDCELYVNG-----AYRQFDLMQYDFTDYKLELFNKYFKYWDQTYHP

SARS-COV-2	297	NCVNC	LD	DR	CIL	HCA	NFN	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N											
SARS-COV	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
SARS-COV-PUMC02	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BetaCoV_JL2012	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-COV	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-SARS-COV-Y7	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BtRf-BETACOV_He	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-COV-Rp3_200	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-COV-HKU3	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-COV-279_200	297	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-COV-Rp_Shaa	220	NC	N	C	L	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	F	R	E	L	G	V	V	H	N	
BAT-BETACOV_Zhe	292	NC	Q	S	C	P	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	T	V	F	E	P	P	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	A	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N
BAT-COV-HKU9	294	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
ROUSETTUS-BAT-C	297	NC	V	A	C	P	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU9-4	294	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU9-10	297	NC	V	A	C	T	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU9-5-	297	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU9-10	292	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU9-3	292	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	T	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BETACOV-ERINACE	295	NC	V	N	C	V	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU5-2	295	NC	V	N	C	T	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BtVs-BetaCoV_SC	295	NC	V	A	C	A	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU5	297	NC	V	N	C	T	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MERS-COV	294	NC	V	N	C	T	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-HKU4-2	295	NC	V	N	C	S	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MERS-COV-ISK_20	294	NC	V	N	C	T	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	T	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BAT-COV-133_200	295	NC	V	N	C	G	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MURINE-COV	289	NT	C	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	C	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
HUMAN-COV-HKU1-	289	NT	V	D	C	D	N	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
HUMAN-COV-HKU1_	289	NT	V	D	C	D	N	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
HUMAN-COV-HKU1_	291	NT	V	D	C	D	N	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MURINE-COV-A59	289	NT	C	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
HUMAN-COV-HKU1_	289	NT	V	D	C	D	N	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
RAT-COV	289	NT	C	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MURINE-COV-RJHM	294	NT	S	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
BETA-COV-HKU24	289	NT	C	D	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MURINE-HEP-17	289	NT	C	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
HUMAN-COV-OC43	289	NT	V	D	C	Q	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	N	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V	M	N	
MURINE-HEP-VIRU	294	NT	C	E	C	E	D	D	R	C	I	L	H	C	A	N	F	N	L	F	S	M	V	L	P	K	T	S	F	G	P	L	V	R	K	I	F	V	D	G	V	P	F	V	V	S	I	G	Y	H	Y	K	E	L	G	V	V			

SARS-COV-2	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
SARS-COV	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
SARS-COV-PUMC02	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BetaCoV_JL2012	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-SARS-COV-Y7	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BtRf-BETACOV_He	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV-Rp3_200	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU3	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV-279_200	357	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV-Rp_Shaa	280	QDVNLHSSRSLSEKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-BETACOV_Zhe	352	QDTHVHNARLSLKELLYAADPAMHAASNLLLDKRTTCFSVAALTNNVAFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9	354	QDTRQHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
ROUSETTUS-BAT-C	357	QDQKVHQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9-4	354	QDTRQHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9-10	357	QDTRQHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9-5-	357	QDTRQHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9-10	352	QDVROHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU9-3	352	QDVROHAQRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALADKRTVCMSSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BETACOV-ERINACE	355	MDVNMHSHRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU5-2	355	MDVSLHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BtVs-BetaCoV_SC	355	MDVSLHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU5	357	MDVSLHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MERS-COV	354	MDVSLHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-HKU4-2	355	MDFNIHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MERS-COV-ISK_20	354	MDVSLHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BAT-COV-133_200	355	MDVNIHRRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-COV	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
HUMAN-COV-HKU1-	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
HUMAN-COV-HKU1_	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
HUMAN-COV-HKU1_	351	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-COV-A59	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
HUMAN-COV-HKU1_	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
RAT-COV	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-COV-RJHM	354	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BETA-COV-HKU24	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-HEP-17	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
HUMAN-COV-OC43	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-HEP-VIRU	354	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
RABBIT-COV-HKU1	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOVINE-COV-98LU	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOVINE-COV-98EN	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
MURINE-COV-JHM	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOVINE-COV-BEC	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOVINE-COV-MEBU	349	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOVINE-COV-Alpa	267	MDVDTHRYRSLSEKELLYAADPAMHVAASNALLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGNFN
BOT-DOLPHIN-HKU	348	KDNSMSFSKMSIGELMRYAADPSLLVVSASDAFVLDLRTSCFSLSALSTGTYQTVKPGHFN
BEL-WHALE-COV_S	348	KDNSMSFSKMSIGELMRYAADPSLLVVSASDAFVLDLRTSCFSLSALSTGTYQTVKPGHFN
BAT-COV-512_200	347	KDNLHSSRLTINELLOCADPSLLVVSASDAFVLDLRTSCFSVAALTTIGVTFQTVKPGHFN

SARS-COV-2	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
SARS-COV	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
SARS-COV-PUMC02	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BetaCoV_JL2012	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-COV	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-SARS-COV-Y7	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BtRf-BETACOV_He	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-COV-Rp3_200	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU3	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-COV-279_200	417	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-COV-Rp_Shaa	340	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIR	QLLFVVEVV
BAT-BETACOV_Zhe	412	KDFYDFAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYSYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9	414	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
ROUSETTUS-BAT-C	417	EDFYKFAVAKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9-4	414	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9-10	417	EDFYKFAVAKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9-5-	417	EDFYKFAVAKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9-10	412	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU9-3	412	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIS	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BETACOV-ERINACE	415	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU5-2	415	KDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYSYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BtVs-BetaCoV_SC	415	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU5	417	KDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYSYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MERS-COV	414	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-HKU4-2	415	KDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYSYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MERS-COV-ISK_20	414	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-133_200	415	KDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGHAAIT	DYSYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-COV	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
HUMAN-COV-HKU1-	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
HUMAN-COV-HKU1_	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
HUMAN-COV-HKU1_	411	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-COV-A59	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
HUMAN-COV-HKU1_	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
RAT-COV	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-COV-RJHM	414	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BETA-COV-HKU24	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-HEP-17	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
HUMAN-COV-OC43	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-HEP-VIRU	414	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
RABBIT-COV-HKU1	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOVINE-COV-98LU	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOVINE-COV-98EN	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
MURINE-COV-JHM	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOVINE-COV-BEC	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOVINE-COV-MEBU	409	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOVINE-COV-Alpa	327	QDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYNYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BOT-DOLPHIN-HKU	408	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIT	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BEL-WHALE-COV_S	408	EDFYNFVAVKCGFFKEGSS	IFSKHFFFAQDGNAAIT	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV
BAT-COV-512_200	407	RDFYDFVAVSKGFFKEGSSV	LKHFFFAQDGNAAIT	DYDYRYNLP	TMCDIK	QLLFVVEVV

SARS-COV-2	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
SARS-COV	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
SARS-COV-PUMC02	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BetaCoV_JL2012	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-SARS-COV-Y7	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BtRf-BETACOV_He	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-Rp3_200	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU3	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-279_200	477	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-Rp_Shaa	400	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYDS	MSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-BETACOV_Zhe	472	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVN	SLDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9	474	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
ROUSETTUS-BAT-C	477	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9-4	474	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9-10	477	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9-5-	477	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9-10	472	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-HKU9-3	472	DKYFDCYDGGCI	QASQV	IVANYDKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BETACOV-ERINACE	475	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
BAT-COV-HKU5-2	475	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
BtVs-BetaCoV_SC	475	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
BAT-COV-HKU5	477	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
MERS-COV	474	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
BAT-COV-HKU4-2	475	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
MERS-COV-ISK_20	474	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
BAT-COV-133_200	475	NKYFEIYDGGCI	NASEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV
MURINE-COV	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
HUMAN-COV-HKU1-	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
HUMAN-COV-HKU1_	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
HUMAN-COV-HKU1_	471	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
MURINE-COV-A59	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
HUMAN-COV-HKU1_	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
RAT-COV	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
MURINE-COV-RJHM	474	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BETA-COV-HKU24	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
MURINE-HEP-17	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
HUMAN-COV-OC43	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
MURINE-HEP-VIRU	474	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
RABBIT-COV-HKU1	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOVINE-COV-98LU	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOVINE-COV-98EN	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
MURINE-COV-JHM	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOVINE-COV-BEC	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOVINE-COV-MEBU	469	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOVINE-COV-Alpa	387	NKYFEIYDGGCI	PASQV	IVNNYDKSAG	PFNK	GKARLYYE	ALS	EEQDEL	IYAYTKRNV
BOT-DOLPHIN-HKU	468	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BEL-WHALE-COV_S	468	DKYFDCYDGGCI	ANQVIVNNL	DKSAG	PFNK	GKARLYYES	LSYED	QDALFAYTKRNV	
BAT-COV-512_200	467	QCYFGLYDGGCI	TAKEV	IVNNL	DKSAG	PFNK	GKAGLYY	DSLSYEEQDEL	IYAYTKRNV

SARS-COV-2	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
SARS-COV	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
SARS-COV-PUMC02	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BetaCoV_JL2012	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-SARS-COV-Y7	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BtRf-BETACOV_He	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV-Rp3_200	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV-HKU3	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV-279_200	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV-Rp_Shaa	460	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-BETACOV_Zhe	532	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ICSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	VVIGTSKIFYG
BAT-COV-HKU9	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
ROUSETTUS-BAT-C	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU9-4	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU9-10	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU9-5-	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU9-10	532	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU9-3	532	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	IASMTNRQFHQK	LKLSIAAARGAI	VVIGTTKIFYG
BETACOV-ERINACE	535	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU5-2	535	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
BtVs-BetaCoV_SC	535	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU5	537	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
MERS-COV	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
BAT-COV-HKU4-2	535	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
MERS-COV-ISK_20	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
BAT-COV-133_200	535	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	LKLSIAATRGAI	CVIGTTKIFYG
MURINE-COV	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
HUMAN-COV-HKU1-	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
HUMAN-COV-HKU1_	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
HUMAN-COV-HKU1_	531	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
MURINE-COV-A59	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
HUMAN-COV-HKU1_	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
RAT-COV	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
MURINE-COV-RJHM	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BETA-COV-HKU24	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
MURINE-HEP-17	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
HUMAN-COV-OC43	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
MURINE-HEP-VIRU	534	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
RABBIT-COV-HKU1	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOVINE-COV-98LU	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOVINE-COV-98EN	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
MURINE-COV-JHM	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOVINE-COV-BEC	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOVINE-COV-MEBU	529	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOVINE-COV-Alpa	447	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTGRMFHQK	CLKLSIAATRGV	VVIGTTKIFYG
BOT-DOLPHIN-HKU	528	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	CLKLSIVNTRNAI	VVIGTTKIFYG
BEL-WHALE-COV_S	528	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	CLKLSIVNTRNAI	VVIGTTKIFYG
BAT-COV-512_200	527	PTITQMNLYAI SAKNRARTVAGVSI	ILSTMTNRQFHQK	CLKLSIVNTRNAI	VVIGTTKIFYG

SARS-COV-2	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHTTCCSLSHRFYRLA
SARS-COV	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHNTCCNLSHRFYRLA
SARS-COV-PUMC02	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHNTCCNLSHRFYRLA
BetaCoV_JL2012	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-COV	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-SARS-COV-Y7	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BtRf-BETACOV_He	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-COV-Rp3_200	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-COV-HKU3	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-COV-279_200	597	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-COV-Rp_Shaa	520	GWHNMLRTVYSDVETPHLMGWDPKCDRAMPNLRIMASLVLARKHSTCCNLSHRFYRLA
BAT-BETACOV_Zhe	592	GWNNMLRTLYADVDAQLMVGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHNTCCNVSHRFYRLA
BAT-COV-HKU9	594	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHATCCNASRFRYRLA
ROUSETTUS-BAT-C	597	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
BAT-COV-HKU9-4	594	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHATCCNASRFRYRLA
BAT-COV-HKU9-10	597	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
BAT-COV-HKU9-5-	597	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHATCCNASRFRYRLA
BAT-COV-HKU9-10	592	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
BAT-COV-HKU9-3	592	GWNRMLRTLCEGVENPHLMGWDPKCDRAMPNLRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
BETACOV-ERINACE	595	GWDFMLRTLYKVDNPELPMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHNTCCNTSHRFYRLA
BAT-COV-HKU5-2	595	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
BtVs-BetaCoV_SC	595	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHGTCCSTRDRFYRLA
BAT-COV-HKU5	597	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
MERS-COV	594	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHGTCCSTRDRFYRLA
BAT-COV-HKU4-2	595	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
MERS-COV-ISK_20	594	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHGTCCSTRDRFYRLA
BAT-COV-133_200	595	GWDFMLRTLYKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLCRIFASLTLARKHSTCCNTSHRFYRLA
MURINE-COV	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1-	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEFCSSHGDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEFCSSHGDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	591	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEFCSSHGDRFYRLA
MURINE-COV-A59	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
HUMAN-COV-HKU1_	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEFCSSHGDRFYRLA
RAT-COV	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
MURINE-COV-RJHM	594	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
BETA-COV-HKU24	589	GWDDMLCRLIKGVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDACCSTDRFYRLA
MURINE-HEP-17	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
HUMAN-COV-OC43	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEFCSSHGDRFYRLA
MURINE-HEP-VIRU	594	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
RABBIT-COV-HKU1	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDACCSTDRFYRLA
BOVINE-COV-98LU	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BOVINE-COV-98EN	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
MURINE-COV-JHM	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHDSCCSHDRFYRLA
BOVINE-COV-BEC	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BOVINE-COV-MEBU	589	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BOVINE-COV-Alpa	507	GWDDMLRRLIKDVDNPEVLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BOT-DOLPHIN-HKU	588	GWDNMLRNLMLRGVDEPVLMLGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BEL-WHALE-COV_S	588	GWDNMLRNLMLRGVDEPVLMLGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA
BAT-COV-512_200	587	GWDNMLRTLIKVDNPHLMGWDPKCDRAMPNLRIVSSLVLARKHEACCSTDRFYRLA

SARS-COV-2	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
SARS-COV	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
SARS-COV-PUMC02	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BetaCoV_JL2012	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-SARS-COV-Y7	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BtRf-BETACOV_He	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-Rp3_200	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-HKU3	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-279_200	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-Rp_Shaa	580	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-BETACOV_Zhe	652	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-HKU9	654	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
ROUSETTUS-BAT-C	657	NECAQVLSEIVLCGGGFLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SRDGNK	IY
BAT-COV-HKU9-4	654	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
BAT-COV-HKU9-10	657	NECAQVLSEIVLCGGGFLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
BAT-COV-HKU9-5-	657	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
BAT-COV-HKU9-10	652	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
BAT-COV-HKU9-3	652	NECAQVLSEVMVCGGSLVVKPGGTS	SGDST	TAYANSVFNICQAV	ANNTFL	SIDGNK	IY
BETACOV-ERINACE	655	NECAQVLSEIVLCGGGFLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-HKU5-2	655	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMGANGN	TI	IV
BtVs-BetaCoV_SC	655	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMGANGN	TI	IV
BAT-COV-HKU5	657	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMGANGN	TI	IV
MERS-COV	654	NECAQVLSEIVLCGGGFLVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVNALL	STDGNK	IA
BAT-COV-HKU4-2	655	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMSANGN	TI	II
MERS-COV-ISK_20	654	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMGANGN	TI	IV
BAT-COV-133_200	655	NECAQVLSEYVLCGGGYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVSALMSANGN	TI	II
MURINE-COV	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
HUMAN-COV-HKU1-	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
HUMAN-COV-HKU1_	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
HUMAN-COV-HKU1_	651	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
MURINE-COV-A59	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
HUMAN-COV-HKU1_	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
RAT-COV	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
MURINE-COV-RJHM	654	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BETA-COV-HKU24	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
MURINE-HEP-17	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
HUMAN-COV-OC43	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
MURINE-HEP-VIRU	654	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
RABBIT-COV-HKU1	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOVINE-COV-98LU	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOVINE-COV-98EN	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
MURINE-COV-JHM	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOVINE-COV-BEC	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOVINE-COV-MEBU	649	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOVINE-COV-Alpa	567	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BOT-DOLPHIN-HKU	648	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BEL-WHALE-COV_S	648	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	
BAT-COV-512_200	647	NECAQVLSEIVMCGGCYYVVKPGGTS	SGDAT	TAYANSVFNICQAV	ANVCSLMAONGHK	IE	

SARS-COV-2	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDTDFVNEFYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	HNSTYASQGLV
SARS-COV	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
SARS-COV-PUMC02	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BetaCoV_JL2012	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-COV	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-SARS-COV-Y7	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BtRf-BETACOV_He	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-COV-Rp3_200	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-COV-HKU3	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-COV-279_200	717	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-COV-Rp_Shaa	640	DKYVVRNLOQRRLYECLYRNRD	VDFEYAYLRKHFSMMILSDDAVVC	NSNYAAQGLV
BAT-BETACOV_Zhe	712	DVYTRDLQRKLYANVYRSVHVDY	KFEVDEYAYLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BAT-COV-HKU9	714	TTYVQELQRRLYLGTYSRNTVDN	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNADYAKGYV
ROUSETTUS-BAT-C	717	NSYVQGLQRRLYLGTYSRNTVDN	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYV
BAT-COV-HKU9-4	714	TTYVQELQRRLYLGTYSRNTVDN	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNADYAKGYV
BAT-COV-HKU9-10	717	TTYVQDLQRRLYLGTYSRNTVDY	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAKGYV
BAT-COV-HKU9-5-	717	TTYVQDLQRRLYLGTYSRNTVDY	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAKGYV
BAT-COV-HKU9-10	712	TTYVQELQRRLYMGYSRNTVDN	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAKGYV
BAT-COV-HKU9-3	712	TTYVQELQRRLYMGYSRNTVDN	ELVLDYYNLRKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAKGYV
BETACOV-ERINACE	715	DKEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BAT-COV-HKU5-2	715	DKEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BtVs-BetaCoV_SC	715	DKEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BAT-COV-HKU5	717	DEEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
MERS-COV	714	DKEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BAT-COV-HKU4-2	715	DRETRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
MERS-COV-ISK_20	714	DKEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
BAT-COV-133_200	715	DRETRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI
MURINE-COV	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
HUMAN-COV-HKU1-	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	711	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
MURINE-COV-A59	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
HUMAN-COV-HKU1_	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
RAT-COV	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
MURINE-COV-RJHM	714	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BETA-COV-HKU24	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
MURINE-HEP-17	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
HUMAN-COV-OC43	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
MURINE-HEP-VIRU	714	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
RABBIT-COV-HKU1	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOVINE-COV-98LU	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOVINE-COV-98EN	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
MURINE-COV-JHM	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOVINE-COV-BEC	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOVINE-COV-MEBU	709	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOVINE-COV-Alpa	627	DLSTRALQRRLYSNVYRSDYVDP	PAFVSEYEFNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYASKGYI
BOT-DOLPHIN-HKU	708	VEEVRALQHELYTQVYRDKPDM	DFVYTFYAYLNKHFSMMILSDDGVC	CNKSVAEAGMV
BEL-WHALE-COV_S	708	AEBVRALQHELYTQVYRDKPDM	DFVYTFYAYLNKHFSMMILSDDGVC	CNKSVAEAGMV
BAT-COV-512_200	707	NIEVTRDQRFELYVNVYRSKVPD	KFEVDRYYAFLNKHFSMMILSDDGVC	CNSDYAAGYI

SARS-COV-2	777	ASIKNFKSVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
SARS-COV	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
SARS-COV-PUMC02	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BetaCoV_JL2012	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-SARS-COV-Y7	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BtRf-BETACOV_He	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-Rp3_200	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU3	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-279_200	777	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-Rp_Shaa	700	ASIKNFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEETDLTKGPHEFCSQHTMLVKQGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-BETACOV_Zhe	772	AGIKDFKQVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEHNGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9	774	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
ROUSETTUS-BAT-C	777	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMHGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9-4	774	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9-10	777	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9-5-	777	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9-10	772	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-HKU9-3	772	ADIQGFKEILYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVDMKGGDYVYLYPYDPDSR
BETACOV-ERINACE	775	AGIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGEGDYFLPYDPDSR
BAT-COV-HKU5-2	775	ASTIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
BtVs-BetaCoV_SC	775	ASTIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
BAT-COV-HKU5	777	ASTIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
MERS-COV	774	AGIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
BAT-COV-HKU4-2	775	ASTIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
MERS-COV-ISK_20	774	AGIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
BAT-COV-133_200	775	ASTIQNFKETLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
MURINE-COV	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKEGDDGYFLPYDPDSR
HUMAN-COV-HKU1-	769	ANISVFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDITNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
HUMAN-COV-HKU1_	769	ANISVFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDITNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
HUMAN-COV-HKU1_	771	ANISVFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDITNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
MURINE-COV-A59	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
HUMAN-COV-HKU1_	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDITNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
RAT-COV	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
MURINE-COV-RJHM	774	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BETA-COV-HKU24	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDITNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
MURINE-HEP-17	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
HUMAN-COV-OC43	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEHDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
MURINE-HEP-VIRU	774	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
RABBIT-COV-HKU1	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOVINE-COV-98LU	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOVINE-COV-98EN	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
MURINE-COV-JHM	769	ANISDFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVEPDITKGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOVINE-COV-BEC	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOVINE-COV-MEBU	769	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOVINE-COV-Alpa	687	ANISAFQOVLYYQNNVFMSEAKCWVENDINNGPHEFCSQHTMLVKIDGGDYVYLYPYDPDSR
BOT-DOLPHIN-HKU	768	ASTIASFBEVLYYQNNVFMSEAKCWTEEDVTKIGPHEFCSQHTMLVKEHNGDYVYLYPYDPDSR
BEL-WHALE-COV_S	768	ASTIASFBEVLYYQNNVFMSEAKCWTEEDVTKIGPHEFCSQHTMLVKEHNGDYVYLYPYDPDSR
BAT-COV-512_200	767	ADINAFKAVLYYQNNVFMSEAKCWTEEDVTKIGPHEFCSQHTMLVKEHNGDYVYLYPYDPDSR

SARS-COV-2	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
SARS-COV	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
SARS-COV-PUMC02	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BetaCoV_JL2012	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-SARS-COV-Y7	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BtRf-BETACOV_He	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV-Rp3_200	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV-HKU3	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV-279_200	837	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV-Rp_Shaa	760	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-BETACOV_Zhe	832	ILGAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL
BAT-COV-HKU9	834	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
ROUSETTUS-BAT-C	837	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHHDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BAT-COV-HKU9-4	834	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHSDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BAT-COV-HKU9-10	837	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHSDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BAT-COV-HKU9-5-	837	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHSDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BAT-COV-HKU9-10	832	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHSDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BAT-COV-HKU9-3	832	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHSDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLHEBL
BETACOV-ERINACE	835	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
BAT-COV-HKU5-2	835	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
BtVs-BetaCoV_SC	835	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
BAT-COV-HKU5	837	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
MERS-COV	834	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
BAT-COV-HKU4-2	835	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
MERS-COV-ISK_20	834	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
BAT-COV-133_200	835	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHNDPEYQNVFVWCYLOYIKKLLKDLT
MURINE-COV	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
HUMAN-COV-HKU1-	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
HUMAN-COV-HKU1_	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
HUMAN-COV-HKU1_	831	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
MURINE-COV-A59	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
HUMAN-COV-HKU1_	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
RAT-COV	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
MURINE-COV-RJHM	834	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BETA-COV-HKU24	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
MURINE-HEP-17	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
HUMAN-COV-OC43	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
MURINE-HEP-VIRU	834	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
RABBIT-COV-HKU1	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOVINE-COV-98LU	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOVINE-COV-98EN	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
MURINE-COV-JHM	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOVINE-COV-BEC	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOVINE-COV-MEBU	829	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOVINE-COV-Alpa	747	ILGAGCFVDDLLKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BOT-DOLPHIN-HKU	828	ILGAGCFVDDVEKTEPVVMMERFVALAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BEL-WHALE-COV_S	828	ILGAGCFVDDVEKTEPVVMMERFVALAIDAYPLVYHENEPEYQNVFVWCYLOYIKKLYNDLG
BAT-COV-512_200	827	ILSAGCFVDDIVKTDGTLMIERFVSLAIDAYPLTKHPNQEYADVFHLYLOYIRKLLHDEL

SARS-COV-2	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
SARS-COV	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
SARS-COV-PUMC02	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BetaCoV_JL2012	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-SARS-COV-Y7	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BtRf-BETACOV_He	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV-Rp3_200	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV-HKU3	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV-279_200	897	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV-Rp_Shaa	820	GHMLDMYSVMLINDNTSRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-BETACOV_Zhe	892	GHMLDMYSVMLISGDNAQRWEEPEFYEAMYPHTVLO
BAT-COV-HKU9	894	GHMLDITYSVMLASDNASKWEEVEFYENMYTESATLQ
ROUSETTUS-BAT-C	897	GHMLDITYSVMLASENAAKWEEVEFYENMYTESATLQ
BAT-COV-HKU9-4	894	GHMLDITYSVMLASDNASKWEEVDFYENMYTESATLQ
BAT-COV-HKU9-10	897	GHMLDITYSVMLASDNAAKWEEVDFYENMYTESATLQ
BAT-COV-HKU9-5-	897	GHMLDITYSVMLASDNAAKWEEVDFYENMYTESATLQ
BAT-COV-HKU9-10	892	GHMLDITYSVMLASDNASKWEEVDFYENMYTESATLQ
BAT-COV-HKU9-3	892	GHMLDITYSVMLASDNASKWEEVDFYENMYTESATLQ
BETACOV-ERINACE	895	GHMLDITYSVMLCGDNSSKFEWEEQFYKDIYSPAPTLO
BAT-COV-HKU5-2	895	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEFYRDIYTPAPTLO
BtVs-BetaCoV_SC	895	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEFYRDIYTPAPTLO
BAT-COV-HKU5	897	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEFYRDIYTPAPTLO
MERS-COV	894	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEAFYRDIYSSPTTLO
BAT-COV-HKU4-2	895	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEGFYRDIYSSPTTLO
MERS-COV-ISK_20	894	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEAFYRDIYSSPTTLO
BAT-COV-133_200	895	GHMLDSYSVMLCGDNSAKFEWEEGFYRDIYSSPTTLO
MURINE-COV	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
HUMAN-COV-HKU1-	889	TQHLDSYSVILLSTCDGLKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
HUMAN-COV-HKU1_	889	NQHLDSYSVILLSTCDGLKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
HUMAN-COV-HKU1_	891	TQHLDSYSVILLSTCDGLKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
MURINE-COV-A59	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
HUMAN-COV-HKU1_	889	TQHLDSYSVILLSTCDGLKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
RAT-COV	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
MURINE-COV-RJHM	894	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BETA-COV-HKU24	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
MURINE-HEP-17	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
HUMAN-COV-OC43	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
MURINE-HEP-VIRU	894	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
RABBIT-COV-HKU1	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOVINE-COV-98LU	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOVINE-COV-98EN	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
MURINE-COV-JHM	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOVINE-COV-BEC	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOVINE-COV-MEBU	889	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOVINE-COV-Alpa	807	NQHLDSYSVILLSTCDGQKFTDETFYKNMYLRSAVMQ
BOT-DOLPHIN-HKU	888	NDMLMDYSFVMMNIDTSSKFEWEEFYRQMYESSPTLO
BEL-WHALE-COV_S	888	NDMLMDYSFVMMNIDTSSKFEWEEFYRQMYGSSPTLO
BAT-COV-512_200	887	QGVLDSYSVILLLEDATAKFEWEEFYASMYEQSSVLO

Anexo 2 Secuenciación del complejo nsp12 del cDNA del virus SARS-CoV-2.

1	TCA	GCT	GAT	GCA	CAA	TCG	TTT	TTA	AAC	CGG	GTT	TGC	GGT	GTA	AGT	GCA	GCC	CGT	CTT	ACA	60
1	S	A	D	A	Q	S	F	L	N	R	V	C	G	V	S	A	A	R	L	T	20
61	CCG	TGC	GGC	ACA	GGC	ACT	AGT	ACT	GAT	GTC	GTA	TAC	AGG	GCT	TTT	GAC	ATC	TAC	AAT	GAT	120
21	P	C	G	T	G	T	S	T	D	V	V	Y	R	A	F	D	I	Y	N	D	40
121	AAA	GTA	GCT	GGT	TTT	GCT	AAA	TTC	CTA	AAA	ACT	AAT	TGT	TGT	CGC	TTC	CAA	GAA	AAG	GAC	180
41	K	V	A	G	F	A	K	F	L	K	T	N	C	C	R	F	Q	E	K	D	60
181	GAA	GAT	GAC	AAT	TTA	ATT	GAT	TCT	TAC	TTT	GTA	GTT	AAG	AGA	CAC	ACT	TTC	TCT	AAC	TAC	240
61	E	D	D	N	L	I	D	S	Y	F	V	V	K	R	H	T	F	S	N	Y	80
241	CAA	CAT	GAA	GAA	ACA	ATT	TAT	AAT	TTA	CTT	AAG	GAT	TGT	CCA	GCT	GTT	GCT	AAA	CAT	GAC	300
81	Q	H	E	E	T	I	Y	N	L	L	K	D	C	P	A	V	A	K	H	D	100
301	TTC	TTT	AAG	TTT	AGA	ATA	GAC	GGT	GAC	ATG	GTA	CCA	CAT	ATA	TCA	CGT	CAA	CGT	CTT	ACT	360
101	F	F	K	F	R	I	D	G	D	M	V	P	H	I	S	R	Q	R	L	T	120
361	AAA	TAC	ACA	ATG	GCA	GAC	CTC	GTC	TAT	GCT	TTA	AGG	CAT	TTT	GAT	GAA	GGT	AAT	TGT	GAC	420
121	K	Y	T	M	A	D	L	V	Y	A	L	R	H	F	D	E	G	N	C	D	140
421	ACA	TTA	AAA	GAA	ATA	CTT	GTC	ACA	TAC	AAT	TGT	TGT	GAT	GAT	GAT	TAT	TTC	AAT	AAA	AAG	480
141	T	L	K	E	I	L	V	T	Y	N	C	C	D	D	D	Y	F	N	K	K	160
481	GAC	TGG	TAT	GAT	TTT	GTA	GAA	AAC	CCA	GAT	ATA	TTA	CGC	GTA	TAC	GCC	AAC	TTA	GGT	GAA	540
161	D	W	Y	D	F	V	E	N	P	D	I	L	R	V	Y	A	N	L	G	E	180

541 CGT GTA CGC CAA GCT TTG TTA AAA ACA GTA CAA TTC TGT GAT GCC ATG CGA AAT GCT GGT 600
181 R V R Q A L L K T V Q F C D A M R N A G 200
601 ATT GTT GGT GTA CTG ACA TTA GAT AAT CAA GAT CTC AAT GGT AAC TGG TAT GAT TTC GGT 660
201 I V G V L T L D N Q D L N G N W Y D F G 220
661 GAT TTC ATA CAA ACC ACG CCA GGT AGT GGA GTT CCT GTT GTA GAT TCT TAT TAT TCA TTG 720
221 D F I Q T T P G S G V P V V D S Y Y S L 240
721 TTA ATG CCT ATA TTA ACC TTG ACC AGG GCT TTA ACT GCA GAG TCA CAT GTT GAC ACT GAC 780
241 L M P I L T L T R A L T A E S H V D T D 260
781 TTA ACA AAG CCT TAC ATT AAG TGG GAT TTG TTA AAA TAT GAC TTC ACG GAA GAG AGG TTA 840
261 L T K P Y I K W D L L K Y D F T E E R L 280
841 AAA CTC TTT GAC CGT TAT TTT AAA TAT TGG GAT CAG ACA TAC CAC CCA AAT TGT GTT AAC 900
281 K L F D R Y F K Y W D Q T Y H P N C V N 300
901 TGT TTG GAT GAC AGA TGC ATT CTG CAT TGT GCA AAC TTT AAT GTT TTA TTC TCT ACA GTG 960
301 C L D D R C I L H C A N F N V L F S T V 320
961 TTC CCA CCT ACA AGT TTT GGA CCA CTA GTG AGA AAA ATA TTT GTT GAT GGT GTT CCA TTT 1020
321 F P P T S F G P L V R K I F V D G V P F 340
1021 GTA GTT TCA ACT GGA TAC CAC TTC AGA GAG CTA GGT GTT GTA CAT AAT CAG GAT GTA AAC 1080
341 V V S T G Y H F R E L G V V H N Q D V N 360
1081 TTA CAT AGC TCT AGA CTT AGT TTT AAG GAA TTA CTT GTG TAT GCT GCT GAC CCT GCT ATG 1140
361 L H S S R L S F K E L L V Y A A D P A M 380
1141 CAC GCT GCT TCT GGT AAT CTA TTA CTA GAT AAA CGC ACT ACG TGC TTT TCA GTA GCT GCA 1200
381 H A A S G N L L L D K R T T C F S V A A 400
1201 CTT ACT AAC AAT GTT GCT TTT CAA ACT GTC AAA CCC GGT AAT TTT AAC AAA GAC TTC TAT 1260
401 L T N N V A F Q T V K P G N F N K D F Y 420
1261 GAC TTT GCT GTG TCT AAG GGT TTC TTT AAG GAA GGA AGT TCT GTT GAA TTA AAA CAC TTC 1320
421 D F A V S K G F F K E G S S V E L K H F 440
1321 TTC TTT GCT CAG GAT GGT AAT GCT GCT ATC AGC GAT TAT GAC TAC TAT CGT TAT AAT CTA 1380
441 F F A Q D G N A A I S D Y D Y Y R Y N L 460
1381 CCA ACA ATG TGT GAT ATC AGA CAA CTA CTA TTT GTA GTT GAA GTT GTT GAT AAG TAC TTT 1440
461 P T M C D I R Q L L F V V E V V D K Y F 480
1441 GAT TGT TAC GAT GGT GGC TGT ATT AAT GCT AAC CAA GTC ATC GTC AAC AAC CTA GAC AAA 1500
481 D C Y D G G C I N A N Q V I V N N L D K 500
1501 TCA GCT GGT TTT CCA TTT AAT AAA TGG GGT AAG GCT AGA CTT TAT TAT GAT TCA ATG AGT 1560
501 S A G F P F N K W G K A R L Y Y D S M S 520
1561 TAT GAG GAT CAA GAT GCA CTT TTC GCA TAT ACA AAA CGT AAT GTC ATC CCT ACT ATA ACT 1620
521 Y E D Q D A L F A Y T K R N V I P T I T 540
1621 CAA ATG AAT CTT AAG TAT GCC ATT AGT GCA AAG AAT AGA GCT CGC ACC GTA GCT GGT GTC 1680
541 Q M N L K Y A I S A K N R A R T V A G V 560
1681 TCT ATC TGT AGT ACT ATG ACC AAT AGA CAG TTT CAT CAA AAA TTA TTG AAA TCA ATA GCC 1740
561 S I C S T M T N R Q F H Q K L L K S I A 580
1741 GCC ACT AGA GGA GCT ACT GTA GTA ATT GGA ACA AGC AAA TTC TAT GGT GGT TGG CAC AAC 1800
581 A T R G A T V V I G T S K F Y G G W H N 600
1801 ATG TTA AAA ACT GTT TAT AGT GAT GTA GAA AAC CCT CAC CTT ATG GGT TGG GAT TAT CCT 1860
601 M L K T V Y S D V E N P H L M G W D Y P 620
1861 AAA TGT GAT AGA GCC ATG CCT AAC ATG CTT AGA ATT ATG GCC TCA CTT GTT CTT GCT CGC 1920
621 K C D R A M P N M L R I M A S L V L A R 640
1921 AAA CAT ACA ACG TGT TGT AGC TTG TCA CAC CGT TTC TAT AGA TTA GCT AAT GAG TGT GCT 1980
641 K H T T C C S L S H R F Y R L A N E C A 660
1981 CAA GTA TTG AGT GAA ATG GTC ATG TGT GGC GGT TCA CTA TAT GTT AAA CCA GGT GGA ACC 2040
661 Q V L S E M V M C G G S L Y V K P G G T 680
2041 TCA TCA GGA GAT GCC ACA ACT GCT TAT GCT AAT AGT GTT TTT AAC ATT TGT CAA GCT GTC 2100
681 S S G D A T T A Y A N S V F N I C Q A V 700
2101 ACG GCC AAT GTT AAT GCA CTT TTA TCT ACT GAT GGT AAC AAA ATT GCC GAT AAG TAT GTC 2160
701 T A N V N A L L S T D G N K I A D K Y V 720
2161 CGC AAT TTA CAA CAC AGA CTT TAT GAG TGT CTC TAT AGA AAT AGA GAT GTT GAC ACA GAC 2220
721 R N L Q H R L Y E C L Y R N R D V D T D 740
2221 TTT GTG AAT GAG TTT TAC GCA TAT TTG CGT AAA CAT TTC TCA ATG ATG ATA CTC TCT GAC 2280

```

741 F V N E F Y A Y L R K H F S M M I L S D 760
2281 GAT GCT GTT GTG TGT TTC AAT AGC ACT TAT GCA TCT CAA GGT CTA GTG GCT AGC ATA AAG 2340
761 D A V V C F N S T Y A S Q G L V A S I K 780
2341 AAC TTT AAG TCA GTT CTT TAT TAT CAA AAC AAT GTT TTT ATG TCT GAA GCA AAA TGT TGG 2400
781 N F K S V L Y Y Q N N V F M S E A K C W 800
2401 ACT GAG ACT GAC CTT ACT AAA GGA CCT CAT GAA TTT TGC TCT CAA CAT ACA ATG CTA GTT 2460
801 T E T D L T K G P H E F C S Q H T M L V 820
2461 AAA CAG GGT GAT GAT TAT GTG TAC CTT CCT TAC CCA GAT CCA TCA AGA ATC CTA GGG GCC 2520
821 K Q G D D Y V Y L P Y P D P S R I L G A 840
2521 GGC TGT TTT GTA GAT GAT ATC GTA AAA ACA GAT GGT ACA CTT ATG ATT GAA CGG TTC GTG 2580
841 G C F V D D I V K T D G T L M I E R F V 860
2581 TCT TTA GCT ATA GAT GCT TAC CCA CTT ACT AAA CAT CCT AAT CAG GAG TAT GCT GAT GTC 2640
861 S L A I D A Y P L T K H P N Q E Y A D V 880
2641 TTT CAT TTG TAC TTA CAA TAC ATA AGA AAG CTA CAT GAT GAG TTA ACA GGA CAC ATG TTA 2700
881 F H L Y L Q Y I R K L H D E L T G H M L 900
2701 GAC ATG TAT TCT GTT ATG CTT ACT AAT GAT AAC ACT TCA AGG TAT TGG GAA CCT GAG TTT 2760
901 D M Y S V M L T N D N T S R Y W E P E F 920
2761 TAT GAG GCT ATG TAC ACA CCG CAT ACA GTC TTA CAG 2796
921 Y E A M Y T P H T V L Q 932

```

Anexo 3 Resultados generados en GOLD de la proteína nativa (WT) de la RdRp del SARS-CoV-2.

SOLUCIÓN	SCORE	S (PLP)	S (HBOND)	S(CHO)	DE (CLASH)	DE (TORS)
Sol. 1	54.90	-40.72	5.22	0.00	0.00	0.81
Sol.2	54.89	-41.85	5.05	0.00	0.00	0.00
Sol. 3	57.11	-43.11	5.44	0.00	0.00	1.22
Sol. 4	55.73	-41.90	4.80	0.00	0.00	0.02
Sol. 5	53.21	-42.84	4.42	0.00	0.00	1.51
Sol. 6	50.92	-40.37	4.38	0.00	0.00	1.35
Sol. 7	53.50	-41.73	4.42	0.00	0.00	0.81
Sol. 8	56.54	-43.07	5.22	0.00	0.00	1.15
Sol. 9	35.67	-24.80	3.90	0.00	0.00	0.47
Sol. 10	37.62	-26.68	3.96	0.00	0.00	0.52

Anexo 4 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Valina en la posición 557.

SOLUCIÓN	SCORE	S (PLP)	S (HBOND)	S(CHO)	DE (CLASH)	DE (TORS)
Sol. 1	38.34	-31.52	2.90	0.00	0.00	0.00
Sol.2	38.08	-27.31	3.72	0.00	0.00	0.25
Sol. 3	37.83	--27.41	3.73	0.00	0.00	0.44
Sol. 4	53.36	-24.81	2.44	0.00	0.00	0.27
Sol. 5	40.74	-32.28	3.00	0.00	0.00	0.32
Sol. 6	37.26	-27.82	3.58	0.00	0.00	0.70
Sol. 7	35.57	-25.39	4.00	0.00	0.00	0.97
Sol. 8	34.86	-34.75	0.00	0.76	0.93	0.68
Sol. 9	35.67	-24.80	3.90	0.00	0.00	0.47
Sol. 10	37.62	-26.68	3.96	0.00	0.00	0.52

Anexo 5 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Alanina en la posición 688.

SOLUCIÓN	SCORE	S (PLP)	S (HBOND)	S(CHO)	DE (CLASH)	DE (TORS)
Sol. 1	42.27	-27.21	5.35	0.00	0.00	0.54
Sol.2	44.90	-33.54	4.57	0.00	0.00	1.23
Sol. 3	43.64	-32.70	4.60	0.00	0.00	1.48
Sol. 4	36.89	-23.54	4.58	0.00	0.00	0.25
Sol. 5	44.74	-32.13	4.68	0.00	0.00	0.77

Anexo 6 Resultados generados en GOLD de la mutación del aminoácido Serina en la posición 759.

SOLUCIÓN	SCORE	S (PLP)	S (HBOND)	S(CHO)	DE (CLASH)	DE (TORS)
Sol. 1	53.36	-24.81	2.44	0.00	0.00	1.23
Sol.2	52.58	-24.81	1.64	0.00	0.00	0.54
Sol. 3	50.87	-24.96	1.88	0.00	0.00	0.49