

## KEMAMPUAN SENYAWA PATELAMIDA E DARI PROCHLORON DIDEMNI ASAL TELUK MANADO SEBAGAI INHIBITOR REPLIKASI SARS-CoV-2 BERDASARKAN KAJIAN PENAMBATAN MOLEKULER DENGAN AUTODOCK

(*The Ability of Patellamide E of Prochloron didemni from Manado Bay as the Inhibitor for SARS-CoV-2 Replication Based on Molecular Docking Study with AutoDock*)

Trezya Nilam Sari Pangemanan<sup>1</sup>, Eliza J. Sumampouw<sup>2</sup>, Maria M. Lenak<sup>1</sup>,  
Inneke F. M. Rumengan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT

<sup>2</sup>Program Studi Informatika, FATEK, UNSRAT

\*Penulis korespondensi: Inneke F.M. Rumengan; innekerumengan@unsrat.ac.id

### ABSTRACT

The COVID-19 pandemic caused by the *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) has led to a global health emergency. The outbreak of COVID-19 to date indicates an urgency to find and develop effective therapeutic agents. One alternative that needs to be explored is to design drug candidates from marine fauna. Marine microbes have promising molecular potential as a source of pharmaceutical biomaterials, including *Prochloron didemni* which associated with *Ascidacea* belongs to the invertebrate subphylum Tunicata in Manado Bay, North Sulawesi. This microbe has been isolated from its host *Lissoclinum patella* and cultivated in the laboratory. *P. didemni* has been reported to produce several cyclic peptides including patellamide E compound. One approach to develop this compound as antiviral drug is in silico analysis using AutoDock. This analysis aims to predict the ability of patellamide E compounds to inhibit the activity of the non-structural protein (nsp13) SARS-CoV-2 which is known to play an important role in the viral replication. Its molecular structure was downloaded from the RCSB Protein Database with ID 6ZSL. As ligands, the molecular structure of patellamide E and the recommended drugs for COVID-19 (ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir and oseltamivir) were downloaded from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. The binding affinity between the protein and the ligand was assessed using AutoDock and visualized by PyMol. The results show that the free energy ( $\Delta G$ ) value of -15.4 kcal/mol was obtained for binding affinity of patellamide E towards nsp13 SARS-CoV-2, indicating that this compound could inhibit the viral replication. The inhibitory ability of patellamide E is stronger than the recommended drugs (ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir and oseltamivir) with  $\Delta G$  values ranged from -6.7 to -13.7 kcal/mol. This analysis is obviously necessary to accomplish with further computer simulation for assessing the binding stability. The potential of patellamide E as an anti-SARS-CoV-2 drug candidate should be more clinically assayed after *in vitro* and *in vivo* analyses.

**Keywords:** Molecular docking, nsp 13, patellamide E, SARS-CoV-2, marine microbes

### ABSTRAK

Pandemi COVID-19 yang disebabkan oleh *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2) telah menyebabkan situasi darurat kesehatan secara global. Hal ini jelas memunculkan kebutuhan untuk menemukan dan mengembangkan agen terapeutik yang efektif. Alternatif yang perlu dijajaki adalah mendesain kandidat obat dari fauna laut. Mikroba laut memiliki potensi molekuler yang menjanjikan sebagai sumber bahan farmasi, termasuk *Prochloron didemni* yang ditemukan hidup berasosiasi dengan golongan *Ascidacea*, avertebrata dari subfilum Tunicata di Teluk Manado, Sulawesi Utara.

Mikroba ini telah berhasil diisolasi dari inangnya *Lissoclinum patella* dan dikultivasi di laboratorium. *P. didemni* dilaporkan menghasilkan beberapa peptida siklik termasuk senyawa patelamida E. Salah satu pendekatan yang dapat ditempuh yaitu analisis *in silico* menggunakan perangkat lunak AutoDock. Analisis ini bertujuan untuk memprediksi kemampuan senyawa patelamida E dalam menghambat aktivitas protein nonstruktural (nsp13) SARS-CoV-2 yang diketahui berperan dalam proses replikasi virus tersebut. Struktur protein diunduh dari RCSB Protein Data Bank dengan ID 6ZSL. Sebagai ligan, struktur molekul patelamida E dan obat yang direkomendasikan untuk COVID-19 (ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir) diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Afinitas ikatan antara protein dan ligan didapatkan dari pengoperasian perangkat lunak AutoDock dan divisualisasikan menggunakan PyMol. Hasil penambatan patelamida E pada nsp13 SARS-CoV-2 dalam parameter energi bebas ( $\Delta G$ ) sebesar -15.4 kcal/mol mengindikasikan bahwa senyawa ini dapat menghambat replikasi virus tersebut. Kemampuan hambat patelamida E lebih kuat dari obat-obat yang direkomendasikan (ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir) yang nilai  $\Delta G$ -nya berkisar -6.7 hingga -13.7 kcal/mol. Analisis ini perlu dilanjutkan dengan simulasi komputer untuk mengkaji kestabilan ikatan antara ligan dan protein. Potensi senyawa patelamida E sebagai kandidat obat anti SARS-CoV-2 perlu diuji klinis yang didahului dengan analisis *in vitro* dan *in vivo*.

**Kata kunci:** Penambatan molekuler, nsp 13, patelamida E, SARS-CoV-2, mikroba laut

## PENDAHULUAN

Pandemi COVID-19 disebabkan oleh virus *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* atau SARS-CoV-2 yang merupakan virus RNA genus Betacoronavirus (subgenus Sarbecovirus) dari keluarga coronaviridae (subfamili Orthocoronavirinae). Genom SARS-CoV-2 berupa rantai tunggal RNA berukuran 30 kb yang menyandi 16 protein nonstruktural, 4 protein terstruktur yang terdiri dari Spike (S), Membrane (M), Envelope (E), Nukleokapsid (N), serta 8 protein aksesori (Yoshimoto, 2020). Replikasi SARS-CoV-2 dalam sel inangnya difasilitasi oleh ke 16 protein nonstruktural yang disandi oleh sekitar 67% sekuens genom virus tersebut seperti yang dilaporkan oleh Jiang et al. (2021). Sekuens ini relatif terkonservasi yang artinya tidak mudah mengalami perubahan pada urutan nukleotidanya, sedangkan 37% dari genom tersebut yang menyandi protein nonstruktural dikatakan berkemungkinan mengalami mutasi seperti pada varian delta dan omicron yang dilaporkan terjadi akibat mutasi dari sekuens

gen yang menyandi protein *spike* dari SARS-CoV-2 (Tian et al., 2021; Ortega et al., 2022)).

Diantara beragam protein nonstruktural SARS-CoV-2, nsp13 berupa protein helikase diketahui berperan penting dalam sintesis RNA virus dimana sekuens yang menyandinya lebih terkonservasi dibanding sekuens lainnya (Newman et al., 2021; White et al., 2021). Dalam melakukan perannya, nsp13 secara sinergis bekerja dengan protein nonstruktural lainnya membentuk suatu kompleks replikasi-transkripsi yang terikat pada daerah genom yang tidak merupakan kodon-kodon untuk diterjemahkan menjadi asam amino dan menghasilkan rantai RNA yang negatif (Spratt et al., 2021). Jadi dalam kajian penambatan molekuler, nsp13 patut dijadikan reseptor target yang ideal untuk diinhibisi oleh kandidat obat anti SARS-CoV-2.

Sebagai ligan atau agen inhibitor terhadap reseptor target, maka perlu dijajaki penggunaan senyawa alami dari laut. Kekayaan laut dalam hal potensi molekuler seperti yang dipaparkan oleh Ameen et al. (2021), mengandung lebih dari 15.000 senyawa bioaktif yang berpeluang untuk dikembangkan sebagai obat. Salah satu jenis mikroba yang mengandung potensi molekuler

yang bernilai ini adalah mikroba fotosintetik laut, *Prochloron didemni* yang ditemukan berasosiasi dengan avertebrata golongan Ascidiacea di Teluk Manado, Sulawesi Utara oleh Rumengan et al. (2021). Nilai penting potensi molekuler mikroba ini berkaitan dengan gen-gen fungsionalnya termasuk gen *patE* yang menyandi senyawa patelamida E yang memiliki aktivitas sebagai antikanker (Rumengan, 2021).

Patelamida E adalah salah satu senyawa golongan patelamida yang seperti halnya senyawa-senyawa peptida siklik lainnya, dilaporkan memiliki aktivitas biologi yang tinggi (McDonald dan Ireland, 1992; Schmidt et al., 2004, 2005; Donia et al., 2006; Rumengan et al., 2021). Rumengan et al. (2021) menemukan senyawa patelamida E pada *P. didemni* asal Teluk Manado, baik yang di alam maupun yang dikultur di laboratorium. Penjajakan terhadap kemungkinan mengembangkan senyawa ini sebagai antivirus perlu dilakukan. Sebagai prediksi awal terhadap kemampuannya sebagai antivirus dilakukan analisis *in silico* yang dikenal dengan studi penambatan molekuler (*molecular docking*). Kajian dengan studi ini lebih hemat waktu dan biaya dibandingkan dengan studi konvensional dalam penentuan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat kerja suatu molekul target pada suatu penyakit termasuk COVID-19.

Studi penambatan molekuler melibatkan penggunaan perangkat lunak untuk simulasi komputer dalam memprediksi konformasi berbasis struktur molekuler untuk melihat ikatan-ikatan antara reseptor dan ligan, dimana reseptor dapat berupa protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan berupa molekul peptida atau protein berukuran relatif kecil (Dias et al., 2008). Studi ini bertujuan untuk memprediksi orientasi ligan terhadap reseptor melalui *virtual screening*, dan mengestimasi afinitas ikatan antara ligan dan reseptor (Jain et al., 2008). Luaran penambatan molekuler berupa *scoring* nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) yang merupakan parameter yang menunjukkan kekuatan ikatan antara ligan dan reseptor. Perhitungan terhadap  $\Delta G$  didasarkan pada prediksi dari total energi antar molekul untuk berikatan yang berkaitan dengan afinitas ligan terhadap protein, dimana semakin kecil nilai  $\Delta G$  maka ikatan antara ligan dan reseptor semakin stabil (Du et al., 2016).

## METODE PENELITIAN

### Waktu Penelitian

Studi ini dilaksanakan dengan menggunakan perangkat komputer dan peranti lunak beserta ligan dan reseptor yang masing-masing didownload dari situs RCSB Protein Data Bank dan PubChem. Kegiatan penelitian berlangsung selama kurang lebih 3 bulan (Oktober-Desember 2021).

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk studi *in silico* penambatan molekuler ini terdiri dari perangkat keras yaitu laptop Asus dengan spesifikasi Processor Intel(R) N4000 CPU @1.10 GHz, dan RAM 4.00 GB, hardisk eksternal dan perangkat lunak yaitu Open Babel GUI, Discovery Studio, AutoDock Vina, AutoDockTools, dan Pymol.

Bahan yang digunakan dalam studi ini berupa molekul-molekul ligan dan reseptor. Ligan yang digunakan adalah molekul patelamida E sebagai ligan uji dan ligan pembanding yaitu obat-obat umum untuk terapi COVID-19 (ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir). Sedangkan reseptor yang digunakan adalah protein nonstruktural (nsp 13) SARS-CoV-2 dengan ID PDB 6ZSL.

### Penentuan dan Pengunduhan Reseptor

Reseptor diseleksi dari sekian banyak protein nonstruktural yang disandi oleh urutan RNA SARS-CoV-2 yang telah terdeposit dalam bank data protein. Seleksi reseptor didasarkan atas pertimbangan bahwa molekul tersebut diduga berperan dalam proses replikasi virus. Dalam hal ini, dipilih reseptor dengan ID molekul pada PDB yaitu 6ZSL. Setelah ditentukan, struktur tiga dimensi dari protein SARS-CoV-2 diunduh dari bank data protein (<https://rcsb.org/>) dalam format .pdb.

### Preparasi Reseptor

Preparasi reseptor dilakukan dengan perangkat lunak Discovery Studio untuk memisahkan reseptor dari ligan asli dan residu berupa molekul air sehingga diperoleh struktur protein yang bebas ligan dan residu. Reseptor kemudian disimpan kembali dalam format .pdb. Selanjutnya reseptor dioptimasi dengan

bantuan aplikasi AutoDockTools untuk menambahkan atom hidrogen dan pengaturan pada *grid box parameter*. *Grid* dibuat sampai tepat menutupi seluruh permukaan protein. Reseptor yang telah dioptimasi kemudian disimpan dalam format .pdbqt.

### Pengunduhan dan Preparasi Ligan

Ligan uji yang digunakan adalah patelamida E sedangkan ligan pembanding adalah ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir. Seluruh molekul ligan diunduh dari situs Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam format .sdf. Format .sdf kemudian dikonversikan menjadi .pdb dengan bantuan aplikasi OpenBabel GUI. Preparasi ligan dilanjutkan menggunakan aplikasi AutoDockTools untuk mengatur *torsion tree* dan kemudian disimpan dalam format .pdbqt.

### Penambatan Molekuler

Ligan dan reseptor yang sebelumnya telah dipreparasi dimasukkan ke dalam satu folder Vina dan dibuatkan konfigurasi menggunakan notepad dengan nama 'conf.txt'. Selanjutnya *molecular docking* dijalankan dengan AutoDock Vina melalui *command prompt* dengan memasukkan perintah 'vina.exe – config config.txt –log log.txt'. Proses ini menghasilkan *output* berupa nilai energi bebas ( $\Delta G$ ).

### Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil penambatan molekuler dilakukan dengan bantuan aplikasi Pymol. Dengan visualisasi ini maka diketahui orientasi posisi ligan yang tertambat pada reseptor. Ketidaktepatan penempatan ligan pada reseptor oleh proses penambatan dapat diketahui dari visualisasi ini.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penambatan berupa nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) dalam satuan kcal/mol setiap ligan pada reseptor nsp13 SARS-CoV-2 ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1** Nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) patelamida E dan ligan pembanding terhadap reseptor nsp13 SARS-CoV-2

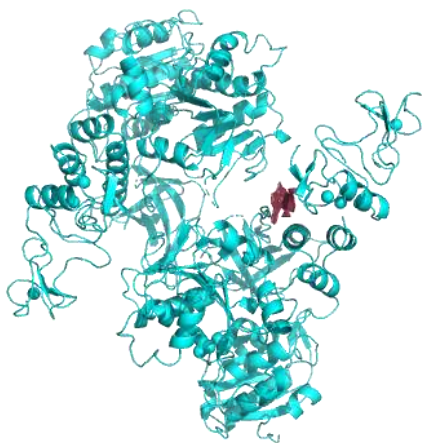
Reseptor	Ligan	Affinitas (kcal/mol)
6ZSL (SARS-CoV-2 NSP13 helicase)	Patelamida E	-15.4
	Ivermectin	-13.7
	Remdesivir	-10.0
	Malnupiravir	-8.3
	Favipiravir	-6.8
	Oseltamivir	-6.7

Tabel di atas menunjukkan bahwa nilai nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) antara semua ligan terhadap reseptor ada dalam besaran negatif. Semakin kecil nilai energi bebas dengan nilai yang semakin negatif mengindikasikan bahwa interaksi antar molekul ligan dan reseptor semakin stabil. Hal ini disebabkan oleh karena pengikatan protein dan ligan terjadi hanya ketika perubahan energi bebas ( $\Delta G$ ) dari sistem bernilai negatif saat mencapai keadaan ekuilibrium pada tekanan dan suhu konstan, sehingga hasil penambatan molekuler yang dipreferensikan adalah yang memiliki nilai  $\Delta G$  terendah (Du et al, 2016).

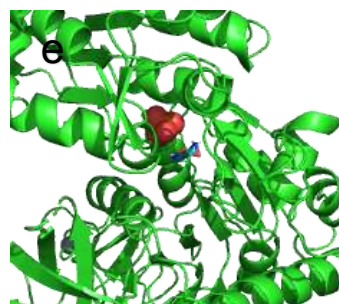
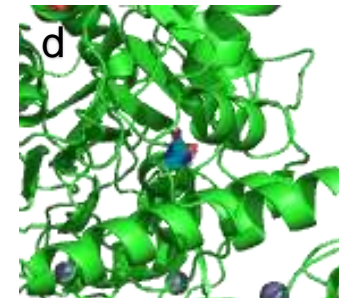
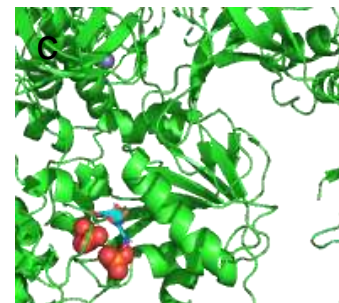
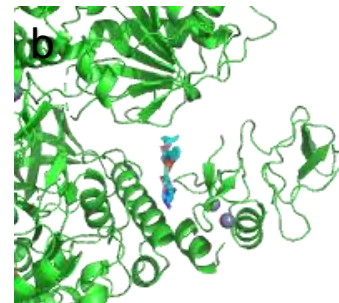
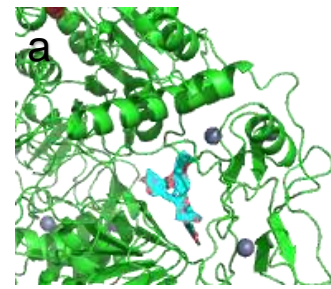
Berdasarkan hasil penambatan molekuler antara ligan dan reseptor menggunakan perangkat lunak AutoDockTools beserta fungsi *scoring*-nya didapati bahwa senyawa patelamida E yang diproduksi oleh *P. didemni* yang ditemukan hidup berasosiasi dengan avertebrata golongan Ascidiacea di Teluk Manado, Sulawesi Utara memiliki nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) terkecil yaitu -15.7 kcal/mol. Hasil penambatan kemudian dioptimalisasi dengan membandingkan nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) patelamida E dengan ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir agar dapat diketahui potensi senyawa patelamida E sebagai kandidat obat. Hasil penambatan

ligan pembanding terhadap protein target yang sama menunjukkan nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) sebesar -13.7, -10.0, -8.3, -6.8, dan -6.7 untuk masing-masing ligan pembanding (ivermectin, remdesivir, molnupiravir, favipiravir dan oseltamivir). Ternyata di antara obat-obat yang umum digunakan sebagai antivirus SARS-CoV-2 ivermectin merupakan obat yang paling efektif menghambat nsp13. Namun masih kurang efektif dibandingkan dengan patellamida E.

Hasil penambatan molekuler juga penting untuk direpresentasikan secara visual. Hal ini bertujuan untuk mengetahui letak penambatan ligan pada protein. Selain itu, visualisasi juga diperlukan untuk mengobservasi lebih lanjut interaksi yang terbentuk antara ligan dan reseptor, seperti jenis ikatan dan jarak ikatan. Dalam analisis ini, penambatan molekuler menghasilkan beberapa pose ikatan berbeda untuk setiap ligan yang dapat dilihat di Gambar 1 dan 2. Protein sebagai makromolekul ditunjukkan berupa untaian benang berwarna biru dan hijau sedangkan ligan yang tertambat ditunjukkan sebagai molekul kecil berwarna merah.



**Gambar 1.** Visualisasi penambatan molekuler antara protein nonstruktural nsp13 SARS-CoV-2 (6ZSL) dan patellamida E menggunakan PyMol.



**Gambar 2** Visualisasi penambatan molekuler antara protein nonstruktural nsp13 SARS-CoV-2 (6ZSL) dan ligan pembanding (a) Ivermectin, (b) Remdesivir, (c) Molnupiravir,

(d) Favipiravir, dan (e) Oseltamivir menggunakan PyMol.

Dari visualisasi diatas dapat dilihat ternyata setiap ligan dapat tertambat pada reseptor target dengan pose dan letak ikatan yang berbeda untuk masing-masing ligan terhadap reseptor. Visualisasi juga menunjukkan bahwa patelamida E dapat tertambat pada nsp13 SARS-CoV-2 dengan jarak sebesar 3.3 Å.

Jadi berdasarkan kajian penambatan molekuler dengan AutoDock, kemampuan patellamida E sebagai penghambat replikasi virus secara virtual, terbukti mengungguli obat-obat yang direkomendasikan sebagai anti terapeutik COVID-19. Untuk itu, dalam pengembangannya sebagai kandidat obat, perlu tersedia biomassa senyawa ini dalam jumlah yang cukup untuk uji-uji secara *in vitro* dan *in vivo*. Dalam hal ini, senyawa patelamida E dapat diproduksi oleh bakteri tertentu, dengan melakukan kloning gen patE pada bakteri atau inang lain. Setelah itu baru dilanjutkan dengan uji-uji klinik yang standar.

### KESIMPULAN

Senyawa patelamida E ternyata dapat menghambat replikasi SARS-CoV-2 secara virtual, yang ditunjukkan oleh nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) sebesar -15.4 kcal/mol terhadap nsp13. Kemampuan senyawa ini bahkan mengungguli obat-obat terapi untuk COVID-19 yang direkomendasikan seperti ivermectin, remdesivir, malnupiravir, favipiravir dan oseltamivir yang nilai energi bebasnya berkisar -6.7 hingga -13.7 kcal/mol. Analisis komputasi tahap berikut perlu dilakukan untuk memperoleh nilai RMSD (*root mean square deviation*) dengan program *Discovery Studio*, dan untuk mengkaji kestabilan ikatan dengan program *molecular dynamics*. Untuk pengembangan senyawa patelamida E sebagai obat anti SARS-CoV-2 perlu diuji klinis yang didahului dengan analisis *in vitro* dan *in vivo*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih sebesar-besarnya disampaikan kepada Rektor Universitas Sam Ratulangi yang telah

memperkenankan pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) dan kepada Lembaga Penelitian, dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) UNSRAT yang telah memfasilitasi proses seleksi dan pemantauan kegiatan ini. Apresiasi kami juga diberikan kepada Aldian Hein Luntungan, S.KM, M.Si dan Q Xaxa Alvin Kai, S.Kel yang telah memungkinkan kami dapat mengoperasikan perangkat lunak untuk penambatan molekuler.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ameen F, AlNadhari S, Al-Homaidan AA. 2021. Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28 (1): 224
- Dias R, Azevedo WF. 2008. Molecular docking algorithms. *Current Drug Targets* 9 (12): 1040-1047
- Donia MS, Hathaway BJ, Sudek S, Haygood MG, Rosovitz MJ, Ravel J, Schmidt EW. 2006. Natural combinatorial peptide libraries in cyanobacterial symbionts of marine ascidians. *Nature chemical biology* 2 (12): 729-735
- Du X, Li Y, Xia YL, Ai SM, Liang J, Sang P, Ji XL Liu SQ. 2016. Insights into protein-ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International journal of molecular sciences* 17 (2): 144
- Jain AN, Nicholls A. 2008. Recommendations for evaluation of computational methods. *Journal of computer-aided molecular design* 22 (3): 139
- Jiang Y, Wanchao Y, Xu HE. 2020. RNA-dependent RNA polymerase: Structure, mechanism, and drug discovery for COVID-19. *Biochem. Biophys*
- McDonald LA, Ireland CM. 1992. Patellamide E: a new cyclic peptide from the ascidian *Lissoclinum patella*. *Journal of natural products* 55 (3): 376-379
- Newman JA, Douangamath A, Yazdani S, Yosaatmadja Y, Aimon A, Brandao-Neto J, Gileadi O. 2021. Structure, Mechanism and Crystallographic fragment screening of the SARS-CoV-2 NSP13 helicase. *Nat Commun* 12: 4848

- Ortega JT, Jastrzebska B, Rangel HR. 2022. Omicron SARS-CoV-2 Variant Spike Protein Shows an Increased Affinity to the Human ACE2 Receptor: An In Silico Analysis. *Pathogens* 11: 45
- Rumengan IFM, Roring VIY, Haedar JR, Siby MS, Luntungan AH, Kolondam BJ, Uria AR, Wakimoto T. 2021. Ascidian-associated photosymbionts from Manado, Indonesia: secondary metabolites, bioactivity simulation, and biosynthetic insight. *Symbiosis* 84 (1): 71-82
- Rumengan IFM. 2021. Mikroba Laut sebagai Penyedia Perangkat Penyuntingan Genom, dalam Pengelolaan Sumberdaya Laut Berkelanjutan. Unsrat Press.
- Schmidt EW, Sudek S, Haygood MG. 2004. Genetic evidence supports secondary metabolic diversity in *Prochloron* spp., the Cyanobacterial Symbiont of a tropical ascidian. *Journal of natural products* 67 (8): 1341-1345
- Schmidt WE, Nelson JT, Rasko DA, Sudek S, Eisen JA, Haygood MG, Ravel J. 2005. Patellamide A and C biosynthesis by a microcin-like pathway in *Prochloron didemni*, the cyanobacterial symbiont of *Lissoclinum patella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102 (20): 7315-7320
- Spratt AN, Gallazzi F, Quinn TP, Lorson CL, Sönnerborg A, Singh K. 2021. Coronavirus helicases: attractive and unique targets of antiviral drug-development and therapeutic patents. *Expert opinion on therapeutic patents* 31 (4): 339–350
- Tian D, Sun Y, Zhou J, Ye Q. 2021. The Global Epidemic of the SARS-CoV-2 Delta Variant, Key Spike Mutations and Immune Escape. *Frontiers in immunology* 12: 751778
- White MA, Lin W, Cheng X. 2020. Discovery of COVID-19 inhibitors targeting the SARS-CoV-2 Nsp13 helicase. *The Journal of physical chemistry letters* 11 (21): 9144-9151
- Yoshimoto FK. 2020. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2 or n-CoV19), the cause of COVID-19. *The protein journal* 39: 198–216