

Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas con actividad antiviral

Gayozo, E.¹ & Rojas, L.²

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo, Paraguay.

E-mail del autor: elviologo@gmail.com

Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas con actividad antiviral. El brote del SARS-CoV-2 ha ocasionado en pocos meses una pandemia de la enfermedad respiratoria denominada COVID-19. La glicoproteína viral S (SARS-CoV-2-S) cumple un rol fundamental en el proceso de infección viral, por lo que encontrar moléculas capaces de neutralizar dicha glicoproteína es una de las metas en la carrera por desarrollar un tratamiento eficaz para dicha afección. Las lectinas son proteínas capaces de interactuar con glicoproteínas y algunas tienen actividad antiviral neutralizante y aglutinante. Este estudio tiene por objetivos identificar *in silico* lectinas cianobacterianas capaces de interactuar con la SARS-CoV-2-S, y predecir los posibles sitios de acoplamiento en la glicoproteína viral y las lectinas analizadas. Para ello se seleccionaron tres lectinas aisladas de cianobacterias con actividades antivirales conocidas (la Microvirina, la Cianovirina y la Scytovirina), y se obtuvieron las estructuras proteicas de estas y de la SARS-CoV-2-S. Primeramente, se procedió a caracterizar las proteínas según las propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas de sus residuos, seguido por las pruebas de acoplamiento entre las lectinas seleccionadas y la SARS-CoV-2-S mediante simulaciones computacionales, empleando para ello algoritmos FTDock y pyDockRST. Se seleccionó el mejor modelo de acoplamiento basado en el valor de la energía de unión del complejo. La lectina cianobacteriana con el mejor resultado en el acoplamiento con la SARS-CoV-2-S, fue la Microvirina, siendo capaz de demostrar buena afinidad con el dominio de unión al receptor (RBD), demostrando de esta manera su posible capacidad como neutralizante viral, sin embargo, la validación experimental *in vitro* e *in vivo* de estas observaciones son fundamentales.

Palabras clave: Lectinas, COVID-19, cribado computacional, acoplamiento molecular

***In silico* predictive study of the possible molecular docking between SARS-CoV-2-S protein and cyanobacterial lectins with antiviral activity.** The outbreak of SARS-CoV-2 has caused in a few months a pandemic of a new respiratory disease called COVID-19. Viral glycoprotein S (SARS-CoV-2-S) plays a fundamental role in viral infection process, so finding molecules with the ability to neutralize to this viral glycoprotein is one of the goals in the race to develop an effective treatment for this affection. Lectins are proteins capable to interact with glycoproteins and some of them have antiviral activities neutralizing and binding to them. The objective of this study is to identify *in silico* cyanobacterial lectins capable to interact with SARS-CoV-2-S, and to predict the possible coupling sites in the viral glycoprotein and the analyzed lectins. For this, three lectins isolated from cyanobacteria with known antiviral activities (Microvirin, Cyanovirin and Scytovirin) were selected, these protein structures and SARS-CoV-2-S structure were obtained. Firstly, the proteins were characterized according to their residues' hydrophobic and hydrophilic properties, followed by molecular docking experiments between selected lectins and SARS-CoV-2-S by means of computer simulations, using for it, FTDock and pyDockRST algorithms. Best docking model was selected based on binding energy values of the complex. The cyanobacterial lectin with best result in docking

experiments with SARS-CoV-2-S, was the Microvirin, being able to demonstrate good affinity for the receptor binding domain (RBD) of SARS-CoV-2-S, thus demonstrating its possible capacity as a neutralizer. However, an *in vitro* and *in vivo* experimental validation of these observations are essential to be performing.

Keywords: Lectins, COVID-19, computational screening, molecular docking

INTRODUCCIÓN

A inicios del año 2020 se dio a conocer al mundo una nueva enfermedad respiratoria severa (COVID-19), los pacientes presentan sintomatologías en común: fiebre alta (>38 °C), tos seca y en el peor de los casos neumonía atípica (Wu *et al.*, 2020). El agente causal fue identificado como un nuevo virus (SARS-CoV-2), perteneciente a la Familia Coronaviridae, específicamente al grupo de los Betacoronavirus (Chen *et al.*, 2020; Gralinski & Menachery, 2020; Wu *et al.*, 2020). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) lleva hasta la fecha (18 de octubre 2020) más de 40 millones de infectados en 188 países, con más de 1,1 millón de fallecidos. La familia de los Coronavirus poseen en común un genoma de cadena simple positiva de ARN (+ssRNA), la cual codifica varias proteínas (estructurales y no estructurales), entre todas las proteínas codificadas una de las más indispensables para la infección y replicación del virus es la glicoproteína S (SARS-CoV-2-S) ya que esta es la responsable del reconocimiento entre el virus y las células hospederas (Chen *et al.*, 2020).

SARS-CoV-2-S es un homotrímero conformado por tres cadenas (A, B y C), en las cuales se pueden identificar regiones funcionalmente diferenciadas: dominio N-Terminal, región del péptido de fusión, región de hélice central, región de repetición Heptad 1 y 2, dominio conector, y la región de unión al receptor (RBD). Este último reconoce e interacciona directamente con el dominio peptidasa de la proteína ACE2 (Enzima Conversora de An-

giotensina 2), permitiendo de esta manera la infección de células del pulmón, intestino delgado, colon, duodeno y riñones, que expresan en gran proporción la proteína ACE2 (Chen *et al.*, 2020; Gralinski & Menachery, 2020; Kirchdoerfer *et al.*, 2016; Wrapp *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2020). El acoplamiento entre SARS-CoV-2-S:ACE2 ha puesto en la mira de la comunidad científica a ambas proteínas, específicamente al dominio RBD de la SARS-CoV-2-S, como posibles blancos para el desarrollo de nuevos tratamientos que eviten la interacción entre ambas proteínas bloqueando sus sitios activos con el empleo de inhibidores de bajo peso molecular, disminuyendo los niveles de infección (Chen *et al.*, 2020).

Entre estos inhibidores de bajo peso molecular se encuentran las lectinas, conocidas por su capacidad de interactuar irreversiblemente con carbohidratos, glicoproteínas o con proteínas, que se encuentran en las superficies de las membranas, confiriéndoles actividad aglutinante, sin presentar actividad catalítica, es por esto que desde las últimas décadas son investigadas exhaustivamente (Kulandaivel *et al.*, 2015; Nilsson, 2011; Singh *et al.*, 2017). Esto permite a las lectinas bloquear interacciones intercelulares, uniéndose a los receptores proteicos como ligandos, y le provee actividad antiviral evidenciada en varios estudios, cobrando de esta manera protagonismo para áreas como la farmacología, la biotecnología y la medicina (Adamson, 2020; Nilsson, 2011; Rüdiger & Gabius, 2001; Singh *et al.*, 2017).

Gayozo, E. & L. Rojas. Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas

Las lectinas son aisladas de varios organismos (bacterias, algas, plantas, hongos y animales), las de menor peso molecular y conformación monomérica son las obtenidas de microalgas, siendo las más estudiadas por sus actividades antivirales. Entre las más prometedoras se encuentran la Microvirina, la Cianovirina y la Scytovirina, aisladas de cianobacterias *Microcystis aeruginosa*, *Nostoc ellipsosporum* y *Scytonema varium* respectivamente, estas demostraron actividades antivirales ante el HIV-1, HIV-2 (virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2), HCV (virus de la hepatitis C), virus de inmunodeficiencia del simio DeltaB₆₇₀, virus parainfluenza tipo 3, HSV-1 (virus herpes simplex 1), virus Epstein-Barr, HHV-6 (virus herpes humano), virus influenza A y B, EboZV (virus del Ébola-Zaire) y MbgV (virus Marburgo). Su acción neutralizante a estos virus se da mediante la unión a proteínas receptoras, por lo que pueden ser consideradas como potenciales candidatas para el desarrollo de nuevos tratamientos y para detener afecciones de origen viral en tempranas etapas de la infección (Barrientos *et al.*, 2004; Boyd *et al.*, 1997; de Souza *et al.*, 2016; Garrison *et al.*, 2014; Helle *et al.*, 2006; Huskens *et al.*, 2010; Manivannan & Muralitharan, 2017; Min *et al.*, 2017; Mitchell *et al.*, 2017; O’Keefe *et al.*, 2003; Shahid *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2017; Takebe *et al.*, 2013).

En el presente estudio se realiza el análisis *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la región RBD de la SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas (Microvirina, Cianovirina y Scytovirina), caracterizando los probables sitios de interacción y los residuos activos implicados en la formación de los complejos, así como la determinación de las fuerzas intermolecu-

lares que podrían asistir en la estabilización de la estructura del complejo. Este tipo de investigaciones pretende encontrar, mediante simulaciones computacionales, moléculas de bajo peso molecular que puedan presentar la posibilidad de unirse a sitios activos de proteínas del SARS-CoV-2, ofreciendo ventajas en la carrera por la búsqueda de posibles tratamientos farmacológicos antivirales o neutralizantes para este nuevo virus.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pruebas *in silico* de acoplamiento molecular y predicción de sitios de unión

Las estructuras de las proteínas SARS-CoV-2-S, Microvirina, Cianovirina y Scytovirina, fueron obtenidas de la base de datos Protein Data Bank RCSB (rcsb.org, Berman *et al.*, 2000) en formato PDB (PDB-ID: 6VSB, 6VXX, 2Y1S, 3EZM y 2QT4 respectivamente). A modo de obtener información acerca del contenido de residuos hidrofóbicos e hidrofílicos de las estructuras proteicas empleadas se determinaron los índices de hidropatía GRAVY (gran promedio de hidropatía) (Kyte & Doolittle, 1982), para la SARS-CoV-2-S, el ectodominio RBD de la misma y de las lectinas, además de realizar la visualización de la distribución de los residuos hidrofóbicos e hidrofílicos en la superficie de las proteínas, para ello se emplearon los programas Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2017) y UCSF Chimera v. 1.14 (Pettersen *et al.*, 2004).

Las pruebas de acoplamiento molecular entre el ectodominio RBD en la configuración abierta de la SARS-CoV-2-S y las lectinas cianobacterianas (Microvirina, Cianovirina y Scytovirina) se llevaron a

cabo utilizando el programa pyDock 3.0 (Cheng *et al.*, 2007; Jiménez-García *et al.*, 2013), teniendo en cuenta para la selección del mejor modelo de acoplamiento las energías electrostáticas, desolvatación y una contribución limitada de la energía de Van der Waals (Cheng *et al.*, 2007; Grosdidier *et al.*, 2007; Jiménez-García *et al.*, 2013; Pallara *et al.*, 2017). Para las pruebas se emplearon las distancias restraints de la proteína SARS-CoV-2-S (cadena A, K 417, Y 453, P 491, Q 498, T 500, V 503), el cual corresponde al sitio de unión del ec-todominio RBD con la proteína ACE2, la optimización de las orientaciones de las proteínas (receptor-ligando) se realizaron utilizando los algoritmos FTDock (Fourier Transform Dock) y pyDockRST (Chelliah *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2007; Gabb *et al.*, 1997; Grosdidier *et al.*, 2007; Jiménez-García *et al.*, 2013; Pons *et al.*, 2010; Wrapp *et al.*, 2020).

Se seleccionó el modelo de acoplamiento molecular RBD-SARS-CoV-2-S:Lectina con menor energía de unión (modelo más favorable), y se realizaron pruebas de acoplamiento molecular entre la lectina seleccionada y las otras cadenas de SARS-CoV-2-S (cadena B y C) para identificar sitios de afinidad de acoplamiento entre la lectina y la proteína viral. Todas las pruebas de acoplamiento molecular realizadas fueron posteriormente sometidas a un refinamiento empleando para ello el programa FireDock (Andrusier *et al.*, 2007; Mashiah *et al.*, 2008)

La identificación de los sitios probables de unión entre las proteínas SARS-CoV-2-S y las lectinas, así como de los residuos activos se realizó empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2017) y UCSF

Chimera v. 1.14 (Pettersen *et al.*, 2004). Los diferentes tipos de fuerzas intermoleculares existentes, así como las distancias entre residuos activos en los sitios de acoplamiento se determinaron empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2017), la visualización de los residuos activos en interacción se realizó utilizando el programa UCSF Chimera v. 1.14 (Pettersen *et al.*, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según las investigaciones de Walls *et al.* (2020) existen dos conformaciones probables del ectodominio RBD de la cadena A de la SARS-CoV-2-S, una cerrada y otra abierta, y es en esta última la que se da la unión entre la SARS-CoV-2-S y la proteína ACE2 de las células hospederas, la representación del mismo ajustado a las propiedades hidrofóbicas-hidrofílicas de sus residuos, reveló pequeños cambios en la conformación tridimensional de la proteína, la más evidente es la exposición de una región rica en aminoácidos hidrofóbicos por debajo del dominio RBD (Walls *et al.*, 2020) -Figura 1.

El índice de hidropatía del homotrímero SARS-CoV-2-S (GRAVY_S) fue de -0,163 determinada en cada una de las tres cadenas (A, B y C), también se calculó el índice para el ectodominio RBD (L335-P527) GRAVY_{RBD} siendo este -0,098. Estos valores indican el grado de hidrofobicidad de la glicoproteína, demostrando un comportamiento mayoritariamente hidrofílico (GRAVY<0), concordando con la disposición extraviral de la misma (Kyte & Doolittle, 1982; Walls *et al.*, 2020).

Así también la estructura tridimensional de la lectina Microvirina evidenció la

Gayozo, E. & L. Rojas. Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas

presencia de un segmento rico en aminoácidos hidrofóbicos y la misma se encuentra en la región interna de la estructura proteica, a su vez los residuos con una tendencia hidrofílica se disponen en las regiones periféricas, ajustándose a su índice de hidropatía (GRAVY = -0,618) -Figura 2.A. En el caso la lectina Cianovirina también se pudo observar regiones hidrofóbicas distribuidas en la estructura proteica, el índice de hidropatía GRAVY fue de -0,447 -Figura 2.B. Sin embargo, la lectina Scytovirina, no presentó regiones hidrofóbicas apreciables sino solo residuos en su mayoría de tendencia hidrofílica, esta observación se ajusta al valor del índice de hidropatía (GRAVY= -1,100) el cual fue menor a las mencionadas anteriormente -Figura 2.C.

La prueba del acoplamiento molecular entre la Cianovirina y la RBD-SARS-CoV-2-S, presentó un valor de energía de unión igual a -95,997 kcal.mol⁻¹, los residuos activos identificados en la lectina fueron Q14, G15, S16, V17, T19, D35, N37, H90 y Y100, estos intervienen formando en su mayoría interacciones del tipo puentes de hidrógeno con el ectodominio de la glicoproteína, también se identificaron interacciones del tipo hidrofóbica y una unión del tipo enlace de hidrógeno generado entre orbitales π (π) del residuo aromático Tirocina de la glicoproteína viral y el átomo hidrógeno del mismo residuo pero perteneciente a la de la lectina -Tabla 1.

Así también el experimento de acoplamiento molecular entre la Scytovirina y el ectodominio de la glicoproteína viral, evidenció un valor de energía de unión de -89,393 kcal.mol⁻¹, también se pudo identificar los residuos activos en la lectina siendo estos P14, D57, E58, A59, P65, R67, A94, T415, Y421, V503 y Y505, las

interacciones intermoleculares en su mayoría fueron del tipo hidrofóbicas y puentes de hidrógeno, también se pudo identificar interacciones electrostáticas pero en menor número -Tabla 1. De igual manera la simulación de acoplamiento entre el ectodominio RBD-SARS-CoV-2-S y la Microvirina manifestó un valor de energía de unión de -108,790 kcal.mol⁻¹, por lo que este modelo de acoplamiento molecular resulta ser el más favorable comparada con la Cianovirina y Scytovirina (Cheng *et al.*, 2007; Jiménez-García *et al.*, 2013; Kulan-daivel *et al.*, 2015; Pallara *et al.*, 2017).

Se identificaron los posibles residuos activos de la Microvirina siendo estos S10, N12, S21, E23, Q25, E30, W31, P33 y E35, este acoplamiento se encuentra estabilizado por puentes de hidrógeno, interacciones del tipo carbono hidrógeno no convencional, uniones electrostáticas e interacciones hidrofóbicas -Tabla 1, Figura 3.A, Figura 5.

Consecutivamente, la prueba de acoplamiento molecular entre la cadena B de la glicoproteína viral y la Microvirina, evidenció una energía de unión mucho mayor a las observadas anteriormente siendo esta de -37,286 kcal.mol⁻¹, por lo que este modelo es menos favorable en comparación al modelo de acoplamiento entre la Microvirina y el ectodominio RBD de la cadena A de la SARS-CoV-2-S.

Los residuos activos de la Microvirina en este modelo de unión (Microvirina:Cadena B) fueron M01, P02, H06, E48, L49, F51, D69, W75, T90, Q91, I92, L93, S96 y Q97, se registraron la formación de interacciones hidrofóbicas en su mayoría, interacciones del tipo puentes de hidrógeno, uniones electrostáticas y unión del tipo carbono hidrógeno no convencional. A su vez los residuos activos de la cadena B

de la SARS-CoV-2-S también fueron identificados siendo estos A27, Y28, W64, F65, H66, P82, E96, I100, N137, F140 y R237 -Tabla 2, Figura 3.B.

De igual manera el experimento de acoplamiento entre la cadena C de la glicoproteína SARS-CoV-2-S y la Microvirina presentó una energía de unión de $-33,419 \text{ kcal.mol}^{-1}$, la cual también nos indica que el modelo de acoplamiento entre la lectina y la cadena C es muy poco favorable (mayor valor de energía de unión) al igual que el modelo anterior, en comparación a la energía de acoplamiento existente entre la lectina y el ectodominio RBD.

Los residuos activos de la lectina en este modelo de interacción receptor-ligando fueron T07, S09, S10, W31, F67, G68 y E71, los cuales están involucrados en la formación de interacciones del tipo puente de hidrógeno, interacciones del tipo hidrofóbicas, uniones del tipo electrostática y del tipo carbono hidrógeno no convencionales con la cadena C de la glicoproteína, las cuales estabilizan la formación del complejo. A su vez, los residuos activos de la cadena C de la glicoproteína viral también fueron identificados siendo estos R102, A123, N125, F157, R158, Y160 y H245 -Tabla 2, Figura 3.C.

El modelo receptor-ligando más favorable, de acuerdo a la puntuación de energía de unión pyDock es el de la RBD-SARS-CoV-2-S y la Microvirina (valor de energía menor). Este complejo se encuentra estabilizado principalmente por interacciones del tipo de puentes de hidrógeno, los cuales se dan entre los residuos R403:W31, Q498:Q25, G504:E30, P491:N12 y Q493:S21, en la configuración RBD-SARS-CoV-2-S:Microvirina respectivamente, es importante destacar que entre los residuos Q498:Q25 se generan dos puentes

de hidrógeno donde ambos residuos actúan como donadores y aceptores de interacciones con átomos de hidrógeno – Tabla 2, Figura 4.A-D.

Otro tipo de fuerza intermolecular que estabiliza la estructura del complejo de unión entre estas proteínas es conocido como interacciones de uniones de carbono-hidrógeno no convencionales, que se da entre los residuos R403:E23, R403:W37, K417:E35, S494:S10 y Q493:S10. Esta interacción es del tipo puente de hidrógeno débil y la misma ocurre gracias a un átomo de carbono polarizado que se encuentra inmediatamente contiguo a otro átomo de oxígeno o nitrógeno en el mismo residuo, el carbono actúa de donador de hidrógeno para que se genere el puente de hidrógeno con otro átomo de otro residuo, este tipo de unión se encuentra activamente involucrado en la formación de la mayoría de los complejos receptor-ligando, sin embargo, son poco considerados, pese a ello cumplen un rol importante en la estabilización de la estructura (Gómez-Jeria *et al.*, 2020; Itoh *et al.*, 2019) -Tabla 2, Figura 4. E-H.

Otras de las fuerzas intermoleculares presentes en la predicción del modelo de acoplamiento son las uniones del tipo electrostáticas, formadas por cargas de residuos básicos y ácidos generalmente, los residuos que forman este tipo de interacciones en el modelo RBD-SARS-CoV-2-S:Microvirina son R403:E23 y K417:E35 respectivamente, es importante destacar que este tipo de fuerza intermolecular es la más fuerte luego de las uniones covalentes como los puentes de disulfuros, algunos investigadores nominan a este tipo de unión como puente salino (Mathews & Ahern, 2002) -Tabla 2, Figura 4.I-J.

También se registró la existencia de interacciones hidrofóbicas que ayudan a es-

Gayozo, E. & L. Rojas. Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas

tabilizar el modelo del complejo acoplado, es una de las uniones intermoleculares más débiles sin embargo, ayudan a mantener muy estable la conformación del sistema de acoplamiento, dicha unión se forma en los residuos K417:P33 y Y453:P33 del complejo RBD-SARS-CoV-2-S:Microvirina respectivamente. El aporte de dicha interacción no se da necesariamente por el enlace hidrófobo sino por la interacción de Van der Waals resultante, y así la estructura receptor-ligando formado termina siendo estable por efectos de la entropía del sistema (Appling *et al.*, 2018; Mathews & Ahern, 2002) -Tabla 2, Figura 4.K-L.

Entre las fuerzas intermoleculares que se encuentran participando en la formación de estructuras de acoplamiento del tipo receptor-ligando o antígeno-anticuerpo, las más fuertes son las interacciones electrostáticas conocidas también como interacciones carga-carga o puentes salinos, este tipo de uniones aportan en gran medida en la estabilidad de los complejos siendo capaces de perder la interacción solo en condiciones desfavorable de pH, menor o mayor al pK_a o pK_b de las cadenas laterales de los residuos implicados en la unión (Appling *et al.*, 2018; Mathews & Ahern, 2002).

El tipo de interacción que aporta a la estabilidad del acoplamiento, es el puente de hidrógeno, el cual se da generalmente entre residuos con grupos hidroxilos, grupos aminos y el oxígeno de grupos carbonilos, estas uniones son relativamente fuertes si existen más de una y constituyen otra posible opción en la generación de interacciones de hidrógeno por átomos que actúan como donadores de hidrógeno, estos hidrógenos son capaces de interactuar inclusive con orbitales π (pi) de residuos con grupos aromáticos en cadenas laterales (Appling *et al.*, 2018; Mathews & Ahern,

2002). Entre las interacciones más débiles se encuentran las interacciones hidrofóbicas y las de Van der Waals, ambas aportan solo unas pocas kcal por mol de energía a la entalpía total de la conformación del complejo, sin embargo participan activamente en la estabilización de la estructura en el medio citoplasmático (Appling *et al.*, 2018; Mathews & Ahern, 2002).

Las predicciones generadas en este estudio resultaron ser energéticamente favorables para la formación del complejo Microvirina:RBD-SARS-CoV-2-S; estudios semejantes fueron realizadas *in silico* con lectinas buscando predecir interacciones con proteínas de importancia médica (Kulandaivel *et al.*, 2015). Estos tipos de predicciones son muy empleadas ya que la viabilidad del análisis, así como la precisión de los métodos matemáticos empleados para el modelado de la interacción entre las proteínas son constantemente validadas y comparadas con ensayos *in vitro* e *in vivo* (Kulandaivel *et al.*, 2015; Pallara *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2007; Jiménez-García *et al.*, 2013; Grosdidier *et al.*, 2007).

Estudios han demostrado la efectividad de las lectinas en la neutralización de los virus bloqueando la interacción de las glicoproteínas con los receptores de las potenciales células hospederas, y evitando la agregación viral, conllevando a la alteración de los niveles de infectividad directa de los virus (Ji *et al.*, 2005). Uno de los claros ejemplos de este tipo de actividad mediada por lectinas es la MBL (Mannose-Binding Lectin), lo cual fue evidenciado ante el virus de la influenza A, la lectina MBL se une con la glicoproteína viral y evita de esta manera la interacción con el receptor celular bloqueando el reconocimiento y la infección; también se pudo

observar que esta lectina (MBL) es capaz de interactuar con glicoproteínas de filovirus circundantes (virus del Ébola y Marburg) neutralizando a las mismas y reduciendo efectivamente la infección viral (Hartshorn *et al.*, 1993; Ji *et al.*, 2005).

La Microvirina fue primeramente aislada de la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* PCC7806, y comparte un poco más del 30% de semejanza con otras lectinas monoméricas, sin embargo, posee una mayor capacidad de inhibir la infección del virus HIV-1 (cepas laboratoriales y aislados clínicos), los ensayos *in vitro* que confirmaron esta actividad antiviral inhibitoria, fueron llevadas a cabo con líneas celulares MT-4 T, y se pudo registrar que esta actividad inhibitoria se da por la capacidad de la Microvirina de interactuar con glicoproteínas virales (gp 120) que participan en reconocimiento de las células dianas, además es importante destacar que esta lectina evidencia una citotoxicidad 50 veces menor comparada a la encontrada en la Cianovirina (Huskens *et al.*, 2010; Kehr *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2017).

En el análisis estructural y funcional de la Microvirina, de Souza *et al.* (2016) demostraron que la misma puede ser potencializable en cuanto a sus actividades antivirales (neutralizantes), mediante ciertos cambios puntuales en algunos aminoácidos que dotarían a la misma de mayor rigidez a la estructura. Un estudio llevado a cabo con una variante modificada de la Microvirina (LUMS1), evidencia dicha potencialización en las actividades neutralizantes en los virus del HIV-1 y el virus de la Hepatitis C (HCV), este ensayo se realizó *in vitro* con células TZM-bl, HEK293 T y HepG2, demostrando que esta variante de Microvi-

rina no presenta actividad inmunogénica, de igual manera esta actividad antiviral se da por la formación de un complejo de acoplamiento también con las glicoproteínas virales gp120, evitando el reconocimiento del virus con células dianas (Adamson, 2020; Mitchell *et al.*, 2017; Shahid *et al.*, 2020).

Se ha observado un mayor poder neutralizante de la Microvirina en presencia de trímeros y tetrámeros de la lectina ante el virus HCV (Virus de la Hepatitis C) empleando células Huh-7.5, registrándose una mayor eficacia con estos oligómeros en el acoplamiento a la glicoproteína viral (Min *et al.*, 2017).

El posible acoplamiento existente entre la SARS-CoV-2-S (específicamente el ectodominio RBD) y la Microvirina, encontrado en este estudio mediante análisis de aproximaciones computacionales de acoplamiento molecular, sugiere que esta lectina podría ser blanco de estudios de análisis de dinámica molecular así como de ensayos en sistemas a escalas *in vitro* y consecuentemente *in vivo* lo cual sería fundamental y necesaria para corroborar si la interacción aquí observada podría desencadenarse en una posible actividad neutralizante, esperando que pueda darse el bloqueo del reconocimiento entre la ACE2 y la SARS-CoV-2-S (Li *et al.*, 2011; Shahid *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2017).

CONCLUSIÓN

La SARS-CoV-2-S es una de las proteínas estructurales más importante del nuevo Coronavirus, siendo la responsable del reconocimiento y posterior infección a células hospederas. Las predicciones realizadas en este estudio demostraron que la lectina Microvirina presenta un acopla-

miento favorable con el ectodominio RBD de la proteína viral, según los valores de energía registradas en el análisis. Esta posible formación del complejo del tipo receptor-ligando se encuentra estabilizado principalmente por interacciones de hidrógeno, uniones electrostáticas e hidrofóbicas entre residuos del sitio de acoplamiento entre ambas proteínas, indicando una alta probabilidad de que esta lectina actúe como neutralizante viral impidiendo su entrada a las células hospederas, lo cual aún queda por validar experimentalmente para confirmar a la Microvirina como potencial inhibidor de la infección viral.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adamson, C. S. (2020). Antiviral Agents: Discovery to Resistance. *Viruses*, 12(4), 406. <https://doi.org/10.3390/v12040406>
- Andrusier, N.; Nussinov, R. & Wolfson, H. J. (2007). FireDock: Fast interaction refinement in molecular docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 69(1), 139-159. <https://doi.org/10.1002/prot.21495>
- Appling, D. R.; Anthony-Cahill, S. J. & Mathews, C. K. (2018). *Biochemistry: Concepts and Connections*. Pearson.
- Barrientos, L. G.; Lasala, F.; Otero, J. R.; Sanchez, A. & Delgado, R. (2004). In Vitro Evaluation of Cyanovirin-N Antiviral Activity, by Use of Lentiviral Vectors Pseudotyped with Filovirus Envelope Glycoproteins. *The Journal of Infectious Diseases*, 189(8), 1440-1443. <https://doi.org/10.1086/382658>
- Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N. & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Boyd, M. R.; Gustafson, K. R.; McMahon, J. B.; Shoemaker, R. H.; O'Keefe, B. R.; Mori, T.; Gulakowski, R. J.; Wu, L.; Rivera, M. I.; Laurencot, C. M.; Currens, M. J.; Cardellina, J. H.; Buckheit, R. W.; Nara, P. L.; Pannell, L. K.; Sowder, R. C. & Henderson, L. E. (1997). Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: Potential applications to microbicide development. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(7), 1521-1530. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.7.1521>
- Chelliah, V.; Blundell, T. L. & Fernández-Recio, J. (2006). Efficient Restraints for Protein-Protein Docking by Comparison of Observed Amino Acid Substitution Patterns with those Predicted from Local Environment. *Journal of Molecular Biology*, 357(5), 1669-1682. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.001>
- Chen, Y.; Liu, Q.; & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, 92(4), 418-423. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Chen, Y.; Guo, Y.; Pan, Y. & Zhao, Z. J. (2020). Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(1), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.071>
- Cheng, T. M. K.; Blundell, T. L. & Fernandez-Recio, J. (2007). pyDock: Electrostatics and desolvation for

- effective scoring of rigid-body protein-protein docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 68(2), 503-515. <https://doi.org/10.1002/prot.21419>
- Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, version 20.1. (2019). San Diego: Dassault Systèmes.
- de Souza, C. R.; de Medeiros Muniz, G.; Siqueira, A. S.; de Melo Lima, A.; da Silva, A. P.; Gonçalves, E. C. & da Silva Gonçalves Vianez Júnior, J. L. (2016). Investigating the effects of point mutations on the affinity between the cyanobacterial lectin microvirin and high mannose-type glycans present on the HIV envelope glycoprotein. *Journal of Molecular Modeling*, 22(11), 269. <https://doi.org/10.1007/s00894-016-3137-3>
- Gabb, H. A.; Jackson, R. M. & Sternberg, M. J. E. (1997). Modelling protein docking using shape complementarity, electrostatics and biochemical information. *Journal of Molecular Biology*, 272(1), 106-120. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1203>
- Garrison, A. R.; Giomarelli, B. G.; Lear-Rooney, C. M.; Saucedo, C. J.; Yellayi, S.; Krumpke, L. R. H.; Rose, M.; Paragas, J.; Bray, M.; Olinger, G. G.; McMahon, J. B.; Huggins, J. & O'Keefe, B. R. (2014). The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent in vitro and in vivo activity against Zaire Ebola virus. *Antiviral Research*, 112, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.09.012>
- Gómez-Jeria, J. S., Robles-Navarro, A., Kpotin, G. A., Garrido-Sáez, N., & Gatica-Díaz, N. (2020). Some remarks about the relationships between the common skeleton concept within the Klopman-Peradejordi-Gómez QSAR method and the weak molecule-site interactions. *Chemistry Research Journal*, 5, 32-52.
- Gralinski, L. E. & Menachery, V. D. (2020). Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses*, 12(2), 135. <https://doi.org/10.3390/v12020135>
- Grosdidier, S.; Pons, C.; Solernou, A. & Fernández-Recio, J. (2007). Prediction and scoring of docking poses with pyDock. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 69(4), 852-858. <https://doi.org/10.1002/prot.21796>
- Hartshorn, K. L.; Sastry, K.; White, M. R.; Anders, E. M.; Super, M.; Ezekowitz, R. A. & Tauber, A. I. (1993). Human mannose-binding protein functions as an opsonin for influenza A viruses. *The Journal of Clinical Investigation*, 91(4), 1414-1420. <https://doi.org/10.1172/JCI116345>
- Helle, F.; Wychowski, C.; Vu-Dac, N.; Gustafson, K. R.; Voisset, C. & Dubuisson, J. (2006). Cyanovirin-N Inhibits Hepatitis C Virus Entry by Binding to Envelope Protein Glycans. *Journal of Biological Chemistry*, 281(35), 25177-25183. <https://doi.org/10.1074/jbc.M602431200>
- Huskens, D.; Férrir, G.; Vermeire, K.; Kehr, J. C.; Balzarini, J.; Dittmann, E. & Schols, D. (2010). Microvirin, a Novel $\alpha(1,2)$ -Mannose-specific Lectin Isolated from *Microcystis aeruginosa*, Has Anti-HIV-1 Activity Comparable with That of Cyanovirin-N but a Much Higher Safety Profile. *Journal of Biological Chemistry*, 285(32), 24845-24854. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.128546>
- Itoh, Y.; Nakashima, Y.; Tsukamoto, S.; Kurohara, T.; Suzuki, M.; Sakae, Y.;

Gayozo, E. & L. Rojas. Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas

- Oda, M.; Okamoto, Y. & Suzuki, T. (2019). N + -C-H...O Hydrogen bonds in protein-ligand complexes. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36987-9>
- Ji, X.; Olinger, G. G.; Aris, S.; Chen, Y.; Gewurz, H. & Spear, G. T. (2005). Mannose-binding lectin binds to Ebola and Marburg envelope glycoproteins, resulting in blocking of virus interaction with DC-SIGN and complement-mediated virus neutralization. *Journal of General Virology*, 86(9), 2535-2542. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81199-0>
- Jiménez-García, B.; Pons, C. & Fernández-Recio, J. (2013). pyDock WEB: A web server for rigid-body protein-protein docking using electrostatics and desolvation scoring. *Bioinformatics*, 29(13), 1698-1699. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt262>
- Kehr, J.-C.; Zilliges, Y.; Springer, A.; Disney, M. D.; Ratner, D. D.; Bouchier, C.; Seeberger, P. H.; Marsac, N. T. D. & Dittmann, E. (2006). A mannan binding lectin is involved in cell-cell attachment in a toxic strain of *Microcystis aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 59(3), 893-906. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.05001.x>
- Kirchdoerfer, R. N.; Cottrell, C. A.; Wang, N.; Pallesen, J.; Yassine, H. M.; Turner, H. L.; Corbett, K. S.; Graham, B. S.; McLellan, J. S. & Ward, A. B. (2016). Pre-fusion structure of a human coronavirus spike protein. *Nature*, 531(7592), 118-121. <https://doi.org/10.1038/nature17200>
- Kulandaivel, S.; Nagarajan, S.; Jagatheesan, K. & Oorkalan, P. (2015). *In silico* docking evaluation of bacterial derived anticancer (Lectin) Protein with different oncogene protein. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 4(2), 650-658.
- Kyte, J. & Doolittle, R. F. (1982). A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *Journal of Molecular Biology*, 157(1), 105-132. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0)
- Li, M.; Patton, D. L.; Cosgrove-Sweeney, Y.; Ratner, D.; Rohan, L. C.; Cole, A. M.; Tarwater, P. M.; Gupta, P. & Ramratnam, B. (2011). Incorporation of the HIV-1 microbicide cyanovirin-N in a food product. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 58(4), 379-384. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31823643fe>
- Manivannan, P. & Muralitharan, G. (2017). Probing Potent Interfacial Residues in Microvirin before Complexation with Glycoproteins: Visualizing Anti-HIV Activity *in silico*. *J Marine Sci Res Dev* 7: 241. doi: 10.4172/2155-9910.1000241 Page 2 of 5 *J Marine Sci Res Dev*, an open access journal ISSN: 2155-9910 Volume 7• Issue 7• 1000241. *Asp*, 62(2.57), 3.
- Mashiach, E.; Schneidman-Duhovny, D.; Andrusier, N.; Nussinov, R. & Wolfson, H. J. (2008). FireDock: A web server for fast interaction refinement in molecular docking. *Nucleic Acids Research*, 36(suppl_2), W229-W232. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn186>
- Mathews, C. K. & Ahern, K. G. (2002). *Bioquímica*. Pearson Educación.
- Min, Y. Q.; Duan, X. C.; Zhou, Y. D.; Kulinich, A.; Meng, W.; Cai, Z. P.; Ma, H. Y.; Liu, L.; Zhang, X. L. & Voglmeir, J. (2017). Effects of microvirin monomers and oligomers on hepatitis C virus. *Bioscience Reports*,

- 37(3). <https://doi.org/10.1042/BSR20170015>
- Mitchell, C. A.; Ramessar, K. & O’Keefe, B. R. (2017). Antiviral lectins: Selective inhibitors of viral entry. *Antiviral Research*, 142, 37-54. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.03.007>
- Nilsson, C. L. (2011). *Lectins: Analytical Technologies*. Elsevier.
- O’Keefe, B. R.; Smee, D. F.; Turpin, J. A.; Saucedo, C. J.; Gustafson, K. R.; Mori, T.; Blakeslee, D.; Buckheit, R. & Boyd, M. R. (2003). Potent Anti-Influenza Activity of Cyanovirin-N and Interactions with Viral Hemagglutinin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(8), 2518-2525. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.8.2518-2525.2003>
- Pallara, C.; Jiménez-García, B.; Romero, M., Moal, I. H. & Fernández-Recio, J. (2017). pyDock scoring for the new modeling challenges in docking: Protein-peptide, homo-multimers, and domain-domain interactions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 85(3), 487-496. <https://doi.org/10.1002/prot.25184>
- Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Couch, G. S.; Greenblatt, D. M.; Meng, E. C. & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Pons, C.; Solernou, A.; Perez-Cano, L.; Grosdidier, S. & Fernandez-Recio, J. (2010). Optimization of pyDock for the new CAPRI challenges: Docking of homology-based models, domain-domain assembly and protein-RNA binding. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 78(15), 3182-3188. <https://doi.org/10.1002/prot.22773>
- Rüdiger, H. & Gabius, H.-J. (2001). Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal*, 18(8), 589-613. <https://doi.org/10.1023/A:1020687518999>
- Shahid, M.; Qadir, A.; Yang, J.; Ahmad, I.; Zahid, H.; Mirza, S.; Windisch, M. P. & Shahzad-ul-Hussan, S. (2020). An Engineered Microvirin Variant with Identical Structural Domains Potently Inhibits Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus Cellular Entry. *Viruses*, 12(2), 199. <https://doi.org/10.3390/v12020199>
- Singh, R. S.; Walia, A. K.; Khattar, J. S.; Singh, D. P. & Kennedy, J. F. (2017). Cyanobacterial lectins characteristics and their role as antiviral agents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 475-496. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.041>
- Takebe, Y.; Saucedo, C. J.; Lund, G.; Uenishi, R.; Hase, S.; Tsuchiura, T.; Kneteman, N.; Ramessar, K.; Tyrrell, D. L. J.; Shirakura, M.; Wakita, T.; McMahan, J. B. & O’Keefe, B. R. (2013). Antiviral Lectins from Red and Blue-Green Algae Show Potent In Vitro and In Vivo Activity against Hepatitis C Virus. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064449>
- Walls, A. C.; Park, Y.-J.; Tortorici, M. A.; Wall, A.; McGuire, A. T. & Veesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- Wrapp, D.; Wang, N.; Corbett, K. S.; Goldsmith, J. A.; Hsieh, C. L.; Abiona, O.; Graham, B. S. & McLellan, J. S.

Gayozo, E. & L. Rojas. Estudio predictivo *in silico* del posible acoplamiento molecular entre la proteína SARS-CoV-2-S y lectinas cianobacterianas

- (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263. <https://doi.org/10.1126/science.abb2507>
- Wu, F.; Zhao, S.; Yu, B.; Chen, Y. M.; Wang, W.; Song, Z. G.; Hu, Y.; Tao, Z. W.; Tian, J. H.; Pei, Y. Y.; Yuan, M. L.; Zhang, Y. L.; Dai, F. H.; Liu, Y.; Wang, Q. M.; Zheng, J. J.; Xu, L.; Holmes, E. C. & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3>
- Yan, R.; Zhang, Y.; Li, Y.; Xia, L.; Guo, Y. & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444-1448. <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>

ANEXOS

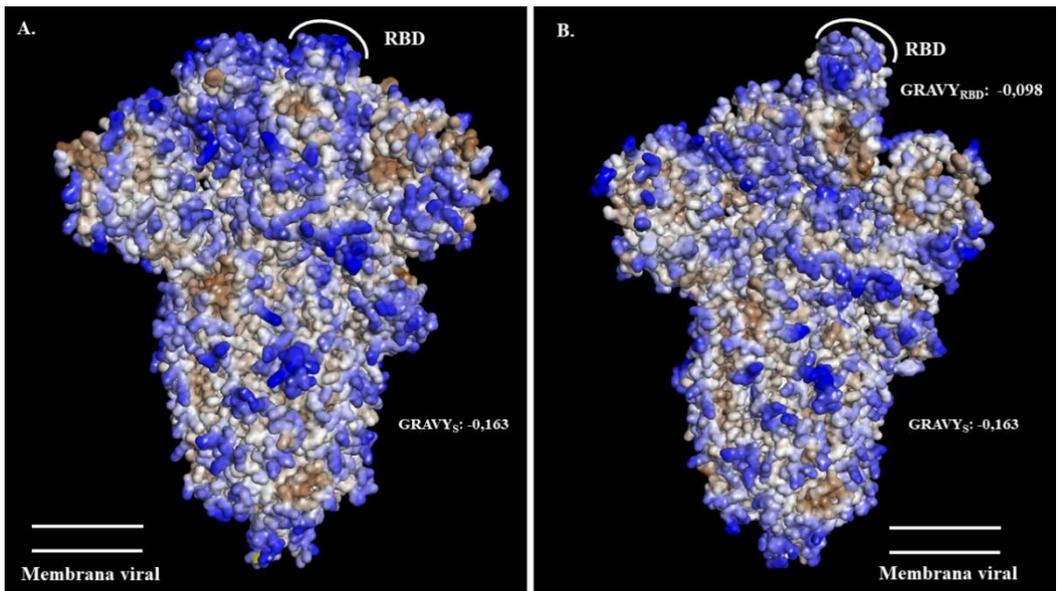


Figura 1: Hidrofobicidad e hidrofilia de la SARS-CoV-2-S. **A.** SARS-CoV-2-S con el ectodominio RBD (Dominio de Unión al Receptor) cerrado, PDB: 6VXX. **B.** SARS-CoV-2-S con el ectodominio RBD abierto, PDB: 6VSB. Código de colores: marrón: hidrofobicidad, azul: hidrofilia.

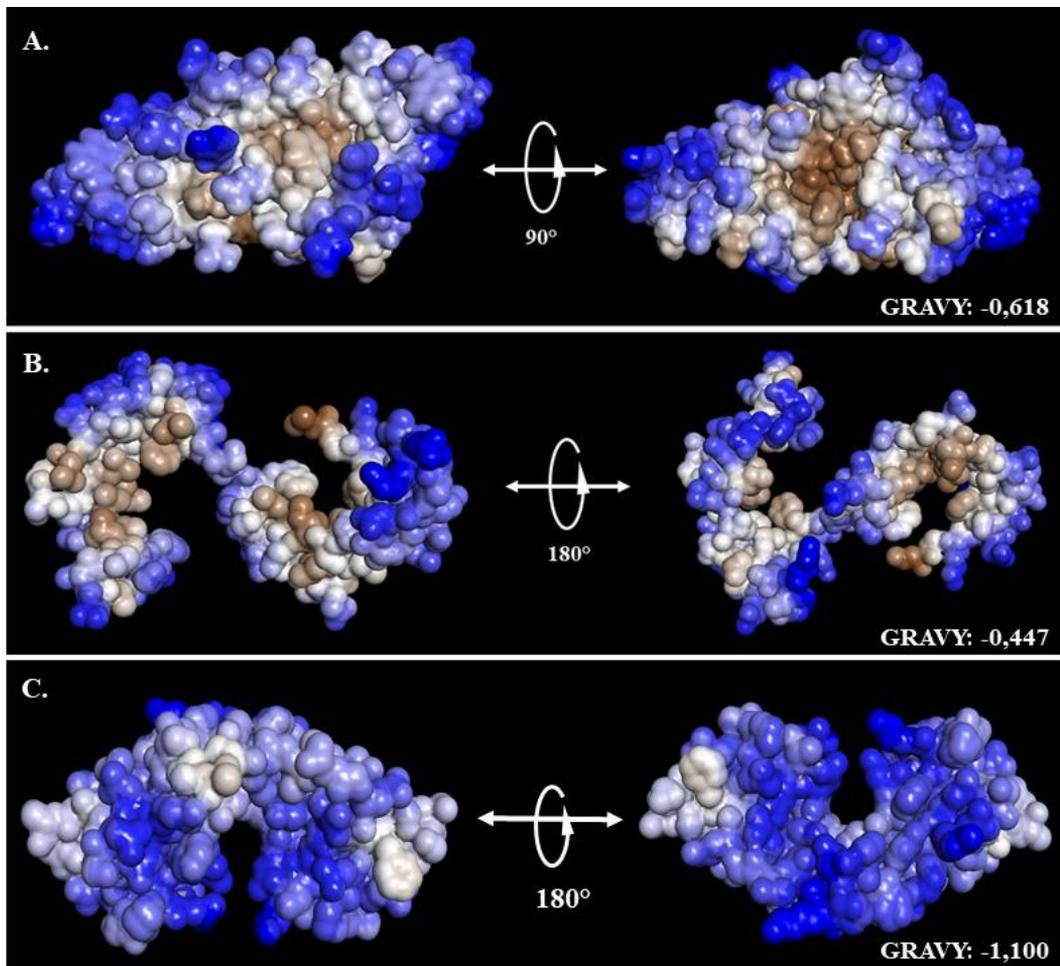


Figura 2: Hidrofobicidad e hidrofilia de las lectinas cianobacterianas. **A.** Microvirina, PDB: 2Y1S. **B.** Cianovirina, PDB: 3EZM, **C.** Scytovirina, PDB: 2QT4.

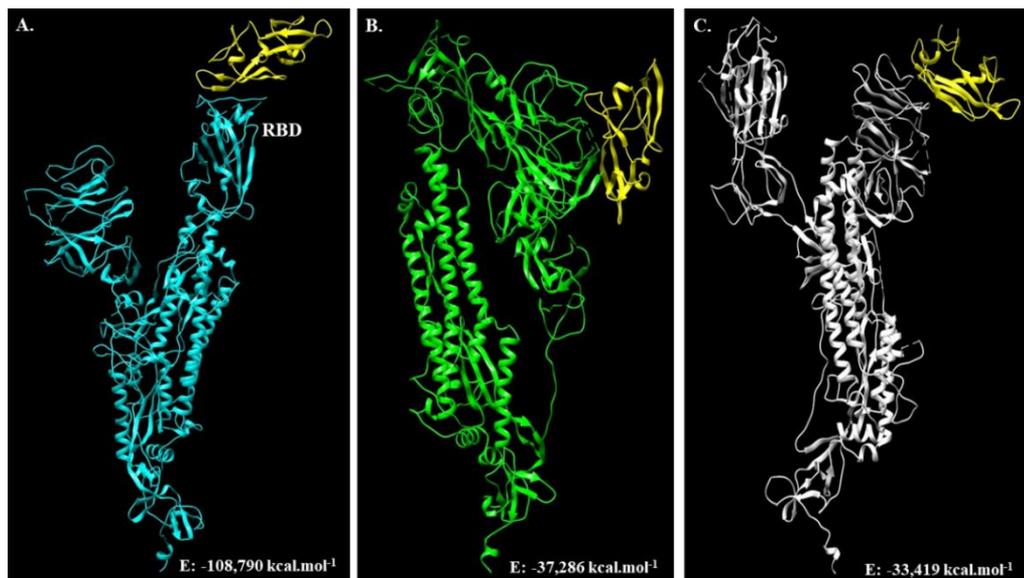


Figura 3: Complejo receptor ligando entre Microvirina y las cadenas de la SARS-CoV-2-S. **A.** Complejo formado entre la Microvirina (amarillo) y la cadena A de la SARS-CoV-2-S (cian). **B.** Complejo formado entre la Microvirina (amarillo) y la cadena B de la SARS-CoV-2-S (verde). **C.** Complejo formado entre la Microvirina (amarillo) y la cadena C de la SARS-CoV-2-S (blanco). **E:** Energía de unión.

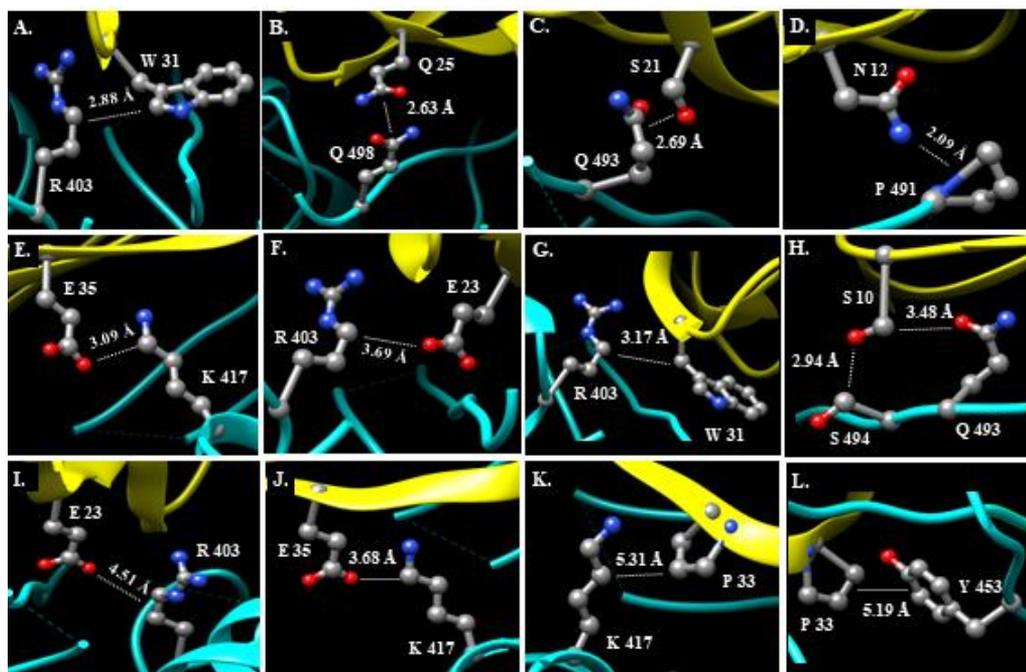


Figura 4: Interacciones entre residuos en el sitio de acoplamiento entre la Microvirina (amarillo) y el ectodominio RBD-SARS-CoV-2-S (cian). **A-D.** Puentes de hidrógeno. **E-H.** Interacciones carbono hidrógeno no convencionales. **I-J.** Interacciones electrostáticas. **K-L.** Interacciones hidrofóbicas. Distancia entre residuos en Angstrom (Å) (líneas blancas que unen a cadenas laterales de residuos).

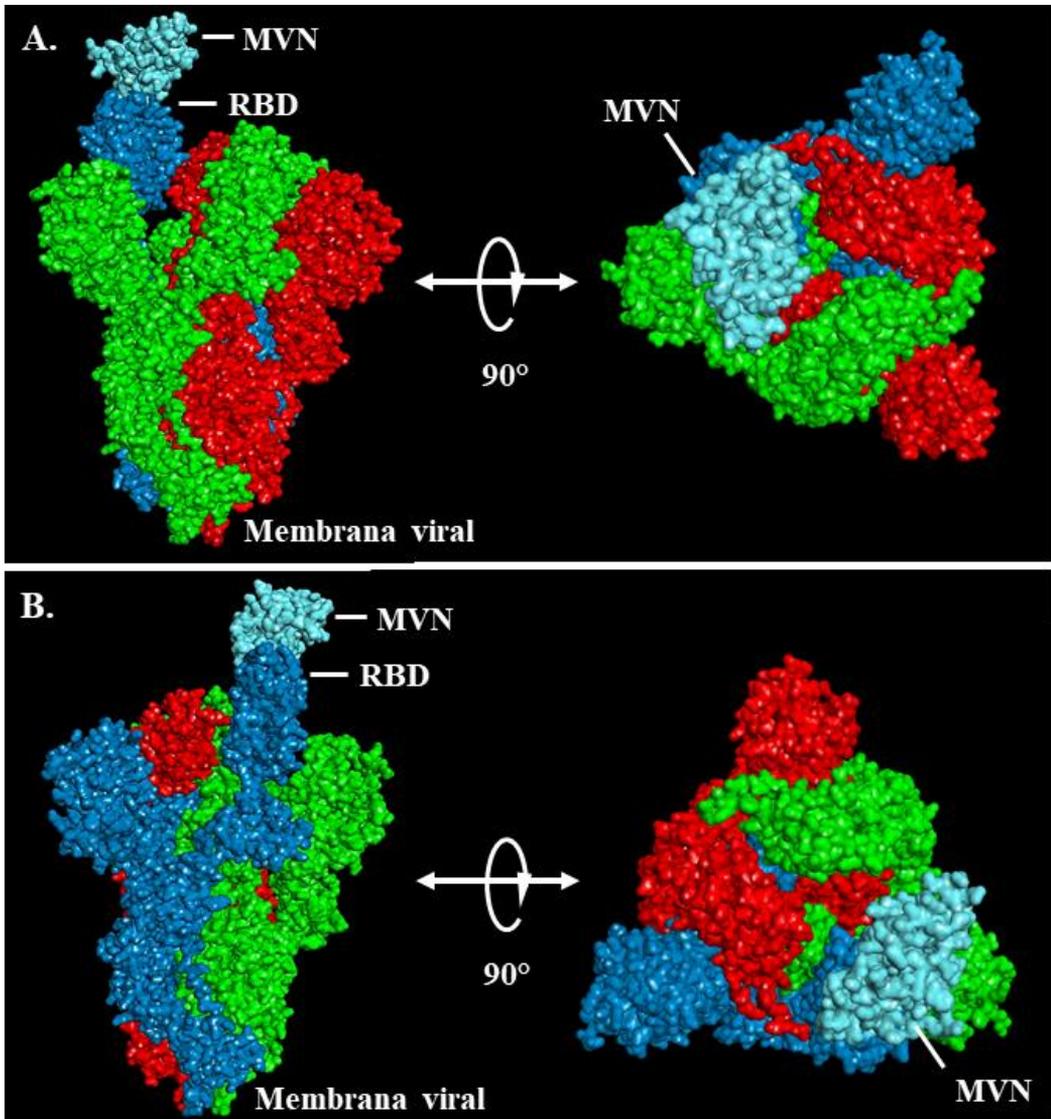


Figura 5: Estructura del complejo acoplado SARS-CoV-2-S:Microvirina (MVN). **A-B.** Diferentes vistas del complejo de unión. Código de colores: azul: cadena A; verde: cadena B; rojo: cadena C; cian: Microvirina.

Tabla 1: Residuos activos implicados en la unión entre RBD-SARS-CoV-2-S y las lectinas cianobacterianas.

Lectina	Energía de unión (kcal.mol ⁻¹)	Interacciones de hidrógeno				Interacciones electrostáticas				Interacciones hidrofóbicas			
		Puentes de hidrógeno		Interacciones de hidrógeno no convencionales		SARS-CoV-2-S		Lectina		SARS-CoV-2-S	Lectina		
		N	SARS-CoV-2-S	Lectina	N	SARS-CoV-2-S	Lectina	N					
Cianovirina	-95,997	9	R403 K417 N439 Y453 Q493 G496 V503 Y453 Y453	N37 G15 Y100 Q14 T19 D35 Y100 S16 V17	1	‡Y505	Y100	–	–	–	1	V503	H90
Scytovirina	-89,393	4	Y421 Y505 V503 T415	Y421 Y505 V503 T415	–	–	–	3	K417 K417 K417	D57 E58 D75	5	K417 Y421 Y449	P65 P14 A59 R67 A94
Microvirina	-108,790	6	R403 Q493 Q498 G504 P491 Q498	W31 S21 Q25 E30 N12 Q25	5	‡R403 ‡R403 ‡K417 ‡S494 ‡Q493	E23 W31 E35 S10 S10	2	R403 K417	E23 E35	2	K417 Y453	P33 P33

‡Interacciones entre Orbitales P_i-Donadores de hidrógeno; †Interacción carbono hidrógeno; N: número de interacciones entre residuos activo.

Tabla 2: Residuos activos implicados en la unión entre la proteína SARS-CoV-2-S y la lectina Microvirina.

Cadenas SARS-CoV-2-S	Energía de unión (kcal.mol ⁻¹)	Interacciones de hidrógeno				Interacciones electrostáticas				Interacciones hidrofóbicas									
		Puentes de hidrógeno		Interacciones carbono no convencionales		SARS-CoV-2-S		Microvirina		SARS-CoV-2-S		Microvirina							
		N	SARS-CoV-2-S	N	SARS-CoV-2-S	N	SARS-CoV-2-S	N	Microvirina	N	SARS-CoV-2-S	N	Microvirina						
Cadena A (RBD)	-108,790	6	R403 Q493 Q498 G504 P491 Q498	5	R403 R403 K417 S494 Q493	2	E23 W37 E35 S10 S10	2	R403 K417	2	E23 E35	2	K417 Y453	2	P33 P33				
		Cadena B	-37,286	5	N137 H66 E96 H66 Y28	1	H66	2	L93	2	A27 R237	9	E48 D69	9	A27 A27 Y28 F65 P82 P82	9	P02 M01 F51 L49 I92 T90 L93 L93 W75		
				Cadena C	-33,419	5	F157 R158 R158 N125 N125 Y160	1	H245	2	S10	2	F157 R102	2	E71 E71	2	A123 R158	2	F67 W31

N: número de interacciones entre residuos activo.