Università degli Studi di Milano - Bicocca
Scuola di Scienze
Dipartimento di Informatica, Sistemistica e Comunicazione
Corso di Laurea Magistrale in Informatica

Multiple Sequence Alignment (MSA) di sequenze SARS-Cov2

Alberici Federico - 808058
Bettini Ivo Junior - 806878
Traversa Silvia - 816435

Anno Accademico 2019 - 2020

Indice

SARS-CoV-2 . . . . . **2**

Obiettivo del progetto **3**

Sequenze **3**

Tool **4**

Analisi verticale **5**
- New York (USA) 5
- Russia 5
- Italia 5
- Spagna 5

Analisi orizzontale **7**

Appendice A - risultati confronto verticale **8**
- New York (USA) 8
  - Clustal Omega 8
  - Kalign 12
  - MAFFT 16
- Russia 20
  - Clustal Omega 20
  - Kalign 22
  - MAFFT 24
- Italia 26
  - Clustal Omega 26
  - Kalign 28
  - MAFFT 30
- Spagna 32
  - Clustal Omega 32
  - Kalign 37
  - MAFFT 43

Appendice B - Risultati confronto orizzontale **49**
- Clustal Omega 49
- Kalign 51
- MAFFT 53

SARS-CoV-2

I coronavirus sono una famiglia di virus RNA a filamento positivo, motivo per il quale viene inserito direttamente ai ribosomi per la sintesi proteica delle strutture del virus stesso e l'attività di demolizione della cellula ospite è più immediata. Hanno un aspetto simile a una corona se esaminati al microscopio elettronico (da cui il nome) e noti per causare malattie che vanno dal comune raffreddore a patologie più gravi come la Sindrome respiratoria mediorientale (MERS) o la Sindrome respiratoria acuta grave (SARS).
Nel Dicembre 2019 a Wuhan, in Cina, è stato isolato un nuovo ceppo di coronavirus, denominato SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome - Coronavirus - 2*), la cui sequenza virale ha un'omologia del 76% con il virus che causò la pandemia della Sars nel 2002.La malattia respiratoria causata da questo nuovo coronavirus è stata chiamata COVID-19.

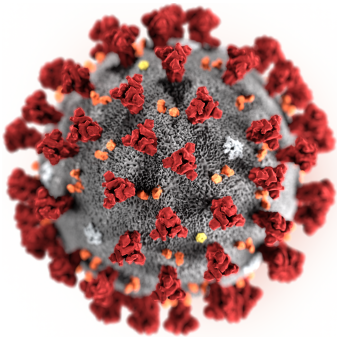

Figure 1: *L'illustrazione, creata dai Centers for Disease Control and Prevention (CDC) statunitense, rivela la morfologia ultrastrutturale del SARS-CoV-2*

Ogni virione (singola particella virale) SARS-CoV-2 ha un diametro di circa 50-200 nanometri. Come altri coronavirus, SARS-CoV-2 presenta quattro proteine strutturali: S (spike), E (inviluppo), M (membrana) e N (nucleocapside). La proteina N contiene il genoma dell'RNA mentre le proteine S, E, M creano insieme l'inviluppo virale. In particolare la proteina spike è quella che permette al virus di attaccarsi alla membrana di una cellula ospite.

Fra le sequenze genomiche SARS-CoV-2 note è stata evidenziata una bassa variabilità, si ritiene dunque che il ceppo sia stato rilevato dalle autorità sanitarie entro poche settimane dalla sua comparsa tra la popolazione umana alla fine del 2019. Dopo il primo caso di infezione noto, avvenuto in Cina verso la fine del 2019, il virus si è diffuso in tutte le province della Cina e in oltre 150 altri paesi in Asia, Europa, Nord America, Sud America, Africa e Oceania. La trasmissione da uomo a uomo di SARS-CoV-2 è stata confermata nel gennaio 2020 e avviene principalmente attraverso goccioline respiratorie da tosse e starnuti entro un raggio di circa 1,8 metri oppure un'altra possibile causa di infezione è il contatto indiretto tramite superfici contaminate.
Il numero di riproduzione di base del virus è stato stimato tra 1.4 e 3.9, il che significa che ogni infezione dal virus dovrebbe causare da 1.4 a 3.9 nuove infezioni nel caso in cui nessun membro della comunità sia immune e non vengano prese misure preventive.
Al 25 maggio 2020, ci sono stati 5.428.605 casi confermati totali di infezione da SARS-CoV-2 nella pandemia in corso, con un totale di decessi attribuiti al virus di 345.375.

Obiettivo del progetto

L'obiettivo del progetto è eseguire un allineamento multiplo di sequenze utilizzando alcuni tra i vari tool di allineamento, scelti in base ai requisiti del progetto e alle sequenze utilizzate. Le variazioni individuate in output sono state documente appositamente.
Per poter raggiungere questo obiettivo, l'analisi è stata divisa in due parti:

- Nella prima parte è eseguita un'analisi verticale fra la sequenza di riferimento (la prima sequenza raccolta presente a database, Wuhan - Dicembre 2019) e le sequenze prese rispettivamente da Italia, New York, Spagna e Russia. Le sequenze dei singoli paesi sono state scelte seguendo un ordine temporale crescente, in modo tale da individuare eventuali mutazioni nel tempo.
- Nella seconda parte, invece, avviene un confronto orizzontale tra le ultime sequenze raccolte dei vari paesi scelti, in modo da poter individuare la presenza di eventuali mutazioni nello stato corrente del virus, sempre tenedo come riferimanto la prima sequenze presente nella banca dati.

Sequenze

I paesi scelti sono quelli con il più alto numero di casi di COVID-19, ossia Stati Uniti (in particolare il suo stato più colpito, New York), Russia, Spagna e Italia. I casi, al 25 Maggio 2020, sono riportati nella tabella seguente:

Stati Uniti	1.678.477
Russia	353.427
Italia	229.858
Spagna	235.823

Tabella 1: Casi di COVID19 al 25 Maggio 2020

La sequenza di reference proviene dal database NCI, ed è la prima sequenza registrata nel database (Wuhan, Dicembre 2019).

PAESE	ACCESSION ID	COLLECTION DATE
China	NC_045512	2019-12

Tabella 2: Sequenza di reference presa dal sito NCI

Le sequenze analizzate provengono dal database GISAID. Per ogni paese abbiamo preso solo sequenze complete (con più di 29000 basi) e su pazienti tutti di sesso maschile. Abbiamo cercato inoltre di seguire una linea temporale che partisse dalla prima sequenza presente nel database fino all'ultima, con in mezzo sequenze che si distanziavano tra di loro di una settimana.

PAESE	SEQUENZA	ACCESSION ID	COLLECTION DATE
USA	hCoV-19/USA/NY_2929/2020	EPI_ISL_420793	02/03/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-Wadsworth-11717-01/2020	EPI_ISL_426291	08/03/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-PV08148/2020	EPI_ISL_421365	14/03/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-PV09019/2020	EPI_ISL_421594	21/03/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-Wadsworth-32104-01/2020	EPI_ISL_426309	28/03/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-NYUMC253/2020	EPI_ISL_428767	05/04/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-NYUMC390/2020	EPI_ISL_430417	13/04/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-NYUMC455/2020	EPI_ISL_435521	20/04/2020
USA	hCoV-19/USA/NY-NYUMC482/2020	EPI_ISL_435547	24/04/2020
Russia	hCoV-19/Russia/Moscow-62505/2020	EPI_ISL_428860	11/03/2020
Russia	hCoV-19/Russia/Moscow_PMVL-1/2020	EPI_ISL_421275	18/03/2020
Russia	hCoV-19/Russia/StPetersburg-RII4326S/2020	EPI_ISL_427337	25/03/2020
Russia	hCoV-19/Russia/Moscow-35I/2020	EPI_ISL_428852	02/04/2020
Russia	hCoV-19/Russia/StPetersburg-RII4726S/2020	EPI_ISL_427334	07/04/2020
Russia	hCoV-19/Russia/StPetersburg-RII5643S/2020	EPI_ISL_430096	14/04/2020
Russia	hCoV-19/Russia/StPetersburg-RII6061S/2020	EPI_ISL_430108	15/04/2020
Italia	hCoV-19/Italy/SPL1/2020	EPI_ISL_412974	29/01/2020
Italia	hCoV-19/Italy/CDG1/2020	EPI_ISL_412973	20/02/2020
Italia	hCoV-19/Italy/FVG-ICGEB_S9/2020	EPI_ISL_417423	01/03/2020
Italia	hCoV-19/Italy/TE4880/2020	EPI_ISL_418256	14/03/2020
Italia	hCoV-19/Italy/INMI6/2020	EPI_ISL_419254	23/03/2020
Italia	hCoV-19/Italy/FVG-ICGEB_S18/2020	EPI_ISL_428854	30/03/2020
Italia	hCoV-19/Italy/TE13858/2020	EPI_ISL_435152	09/04/2020
Italia	hCoV-19/Italy/TE26643/2020	EPI_ISL_436729	27/04/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Madrid201105/2020	EPI_ISL_418251	25/02/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/PaisVasco201607/2020	EPI_ISL_419240	03/03/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Valencia21/2020	EPI_ISL_419685	10/03/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Valencia206/2020	EPI_ISL_436301	17/03/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Valencia229/2020	EPI_ISL_436324	24/03/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Barcelona_VH7773/2020	EPI_ISL_444976	06/04/2020
Spagna	hCoV-19/Spain/Barcelona_VH1407/2020	EPI_ISL_444975	10/04/2020

Tabella 3: Sequenze selezionate dal sito GSAID

Tool

Tra i tool messi a disposizione da EMBL-EBI abbiamo scelto di utilizzare Clustal Omega, Kalign e MAFFT. Abbiamo scelto Clustal Omega poichè sfrutta il modello probabilistico Profilo HMM (Hidden Markov Model), il quale è in grado di incapsulare i cambiamenti evolutivi che si sono verificati in una serie di sequenze correlate ed inoltre questo tool risultava ottimale per sequenze molto lunghe.
Kalign è stato scelto poichè è un tool che si concentra sulle regioni locali e lavora molto velocemente, motivo per il quale ci sembrava particolarmente adatto per le analisi sui singoli stati che volevamo svolgere.
Infine abbiamo scelto MAFFT poichè attraverso l'algoritmo della trasformata di Fourier veloce ottimizza gli allineamenti in base alle proprietà fisiche, utilizzando sia un allineamento progressivo che iterativo. Anche esso risulta essere ottimale per sequenze di lunghezza medio-grandi.

Per raccogliere le differenze fra le sequenze, ed eventuali differenze nei risultati ottenuti dai tre tool, è stato scritto uno script Python, sfruttando la libreria Biopython per poter gestire al meglio i file di allineamento. Il codice è consultabile presso la repository GitLab.

Analisi verticale

Nell'analisi verticale abbiamo deciso di studiare singolarmente ogni stato, prendendo le sequenze scelte e confrontandole con quella di riferimento, effettuando l'allineamento con i 3 tool scelti. I risultati ottenuti sono visibili nell'appendice A della relazione.

New York (USA)

Nell'eseguire i tre tool non abbiamo ottenuto risultati differenti nonostante i tre approcci differenti di calcolo.

Tutte le sequenze, tranne la numero 3, presentano la stessa variazione di carattere nelle posizioni 240, 1058, 14047, 23402 e 25562.
La sequenza numero 3 è l'unica che presenta mutazioni differenti rispetto le altre.

Russia

La Russia, come New York, nonostante i diversi metodi di calcolo non presenta differenze negli output dei tre tool.

Tutte le sequenze, a parte la numero cinque, presentano una variazione nella posizione 240.
Alle posizioni 3036 e 14407 tutte le sequenze presentano dei cambiamenti.

Italia

L'esecuzione dei tre tool con le sequenze dell' Italia ha prodotti output praticamete identici trane per alcune parti.

Tutte le sequenze a parte la numero uno variano il carattere nella posizione 241, stesso discorso accade alla posizione 14408
In tutte le sequenze avviene un cambio di carattere nella stessa posizione, la 23403.
Clustal e e Mafft presentano sequenze con variazioni di carattere nelle posizioni 29890 della sequenza 3, 29898 della sequenza 4 e 29899 della sequenza 6.
Per Kalign invece si hanno dei cambi di carattere nella posizone 29879 delle sequenze 3, 4 e 6.

Spagna

Nell'eseguire l'analisi con i tre differenti tool abbiamo ottenuto dei risultati identici tranne nelle ultime due sequenze della Spagna.

Mentre Kalign e Mafft producono lo stesso output qualcosa cambia con Clustal.
Nell'ouput di Clustal, nella sesta sequenza spagnola, troviamo dei cambi di carattere nell posizioni 5175, 6353, 28882, 29687 e 29733. Per quanto riguarda la sequenza sette, invece, si hanno dei cambi di carattere nelle posizioni 8738, 18743 e 22892.
Con Kalign e Mafft, nella sequena sei, abbiamo dei cambi di caratteri nelle posizioni 8738, 18743 e 22892. Nella sequenza sette i cambi di carattere sono nelle posizioni 5175, 6353, 28882, 29687 e 29733.
Inoltre abiamo notato che le prime tre sequenze presentanto tutte una variazione alla posizione

8781.
Nel complesso, quindi, possiamo affermare che le sequenze spagnole sono quelle che sono risultate più differenti fra di loro, avendo tra una sequenza e un'altra cambiamenti in molte posizioni diverse.

Analisi orizzontale

Nell'analisi verticale abbiamo, invece, deciso di confrontare le ultime sequenze che erano disponibili con quella di riferimento. Anche questi risultati sono consultabili nell'appendice B della relazione
Il risultato che abbiamo ottenuto non differisce fra i tre tool, tutte le sequenze hanno subito gli stessi cambiamenti nonostante si trovassere in aree giografiche diverse. Questo risultato ottenuto in base alle sequenze da noi scelte, sottolinea come nonostante il virus sia molto mutevole, questo potrebbero non dipendere dal clima o il luogo in cui si trova.

Appendice A - risultati confronto verticale

Di seguito sono riportati le variazioni delle sequenze selezionate divise per paese e a loro volta suddivise in base al tool utilizzato. In ogni tabella viene indicato l'ID della sequenza, la posizione nella quale avviene una variazione, la lunghezza di tale modifica, la base (o la sequenza di basi nel caso si tratti di un cambiamento su più posizioni contigue) presente nella sequenza di riferimento e quella presente nella sequenza analizzata.
È importante tener conto che in alcune sequenze sono presenti i caratteri N, W, K, S, Y, M. Se si ha una N vuol dire non è stato possibile individuare la base presente, W (weak) che si ha una base debole (A o T), S (strong) che si ha una base forte (C o G), Y che si ha una pimiridina (C o T), M (amino) che si ha una base con gruppo amminico e K (keto) che si ha una base con gruppo chetonico (G o T) ma in tutti questi casi non si è stati in grado di determinare quale fosse la precisa base presente.

New York (USA)

Clustal Omega

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_USA—EPI_ISL_420793	240	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	1058	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	3036	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	14407	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	23402	1	A	G
1_USA—EPI_ISL_420793	25562	1	G	T
1_USA—EPI_ISL_420793	29881	21	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————
2_USA—EPI_ISL_426291	0	30	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAG GTAACAA	————————————
2_USA—EPI_ISL_426291	240	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	1058	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	3036	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	8769	1	C	Y
2_USA—EPI_ISL_426291	14407	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	23402	1	A	G
2_USA—EPI_ISL_426291	25562	1	G	T
2_USA—EPI_ISL_426291	29835	67	CCATGTGATTTTAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAA	————————————- ————————————

3_USA—EPI_ISL_421365	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTCTTGTA	——————————- ———————————
3_USA—EPI_ISL_421365	2675	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	8781	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	22605	1	A	T
3_USA—EPI_ISL_421365	23524	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	28143	1	T	C
3_USA—EPI_ISL_421365	28877	1	G	A
3_USA—EPI_ISL_421365	29741	1	G	A
3_USA—EPI_ISL_421365	29780	122	AGCTGCCTATATGGAAGAGCCC TAATGTGTAAAATTAATTTTAGT AGTGCTATCCCCATGTGATTTTA ATAGCTTCTTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAA	——————————— ——————————— ——————————— ——————————— ——————————— ———————————
4_USA—EPI_ISL_421594	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAG GTAACAAACCAACCAACTTTCG ATCTCTTGTA	——————————— ——————————— ———
4_USA—EPI_ISL_421594	240	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	1058	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	3036	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	14407	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23125	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23402	1	A	G
4_USA—EPI_ISL_421594	25562	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	29763	139	TGAACAATGCTAGGGAGAGC TGCCTATATGGAAGAGCCCTA ATGTGTAAAATTAATTTTAGTA GTGCTATCCCCATGTGATTTTA ATAGCTTCTTAGGAGAATGAC AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	——————————— ——————————- ——————————- ——————————- ——————————- ——————————- ———
5_USA—EPI_ISL_426309	0	25	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCA GGT	——————————-
5_USA—EPI_ISL_426309	240	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	1058	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	3036	1	C	T

5_USA—EPI_ISL_426309	14407	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	23402	1	A	G
5_USA—EPI_ISL_426309	25562	1	G	T
5_USA—EPI_ISL_426309	29846	56	TAATAGCTTCTTAGGAGAATG ACAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA	——————— ———————
6_USA—EPI_ISL_428767	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
6_USA—EPI_ISL_428767	211	1	T	A
6_USA—EPI_ISL_428767	232	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	240	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	1058	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	2535	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	2841	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	3036	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	14407	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	18936	1	G	A
6_USA—EPI_ISL_428767	23402	1	A	G
6_USA—EPI_ISL_428767	25562	1	G	T
7_USA—EPI_ISL_430418	0	1	A	N
7_USA—EPI_ISL_430418	240	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	1058	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	3036	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	14407	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	23402	1	A	G
7_USA—EPI_ISL_430418	25562	1	G	T
8_USA—EPI_ISL_435521	0	10	ATTAAAGGTT	NNNNNNNNNN
8_USA—EPI_ISL_435521	240	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	1058	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	3036	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	14407	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	15573	1	G	A
8_USA—EPI_ISL_435521	23402	1	A	G
8_USA—EPI_ISL_435521	25562	1	G	T

9_USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTCTTGTAGATCTGT TCTCTAAACGAACTTTAAAAT CTGTGTGGCTGTCACTCGGCT GCATGCTTAGTGCACTCACGC AGTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
9_USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATGTGCTCATG GATGGCTCTATTATTCAATTTCCT AACACCTACCTTGAAGGTTCTGT TAGAGTGGTAACAACTTTTGATT CTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
9_USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
9_USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
9_USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N

Kalign

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_USA—EPI_ISL_420793	240	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	1058	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	3036	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	14407	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	23402	1	A	G
1_USA—EPI_ISL_420793	25562	1	G	T
1_USA—EPI_ISL_420793	29881	21	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————
2_USA—EPI_ISL_426291	0	30	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAA	————————————
2_USA—EPI_ISL_426291	240	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	1058	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	3036	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	8769	1	C	Y
2_USA—EPI_ISL_426291	14407	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	23402	1	A	G
2_USA—EPI_ISL_426291	25562	1	G	T
2_USA—EPI_ISL_426291	29835	67	CCATGTGATTTTAATAGCTT CTTAGGAGAATGACAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	————————- ————————- ————————
3_USA—EPI_ISL_421365	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACCAAC TTTCGATCTCTT GTA	———————— ———————— ——-
3_USA—EPI_ISL_421365	2675	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	8781	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	22605	1	A	T
3_USA—EPI_ISL_421365	23524	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	28143	1	T	C
3_USA—EPI_ISL_421365	28877	1	G	A
3_USA—EPI_ISL_421365	29741	1	G	A

3_USA—EPI_ISL_421365	29780	122	AGCTGCCTATATGGAAGAGCC CTAATGTGTAAAATTAATTTTA GTAGTGCTATCCCCATGTGATT TTAATAGCTTCTTAGGAGAATG ACAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA	—————— —————— —————— —————— —————— ———————
4_USA—EPI_ISL_421594	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCA GGTAACAAACCAACCAACTTT CGATCTCTTGTA	—————— ——————- ————
4_USA—EPI_ISL_421594	240	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	1058	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	3036	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	14407	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23125	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23402	1	A	G
4_USA—EPI_ISL_421594	25562	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	29763	139	TGAACAATGCTAGGGAGAGCTG CCTATATGGAAGAGCCCTAATGT GTAAAATTAATTTTAGTAGTGCTA TCCCCATGTGATTTTAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	—————— —————— —————— —————— —————— —————— ————-
5_USA—EPI_ISL_426309	0	25	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAGGT	——————-
5_USA—EPI_ISL_426309	240	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	1058	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	3036	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	14407	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	23402	1	A	G
5_USA—EPI_ISL_426309	25562	1	G	T
5_USA—EPI_ISL_426309	29846	56	TAATAGCTTCTTAGGAGAATGA CAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	—————— ———————
6_USA—EPI_ISL_428767	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
6_USA—EPI_ISL_428767	211	1	T	A
6_USA—EPI_ISL_428767	232	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	240	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	1058	1	C	T

6_USA—EPI_ISL_428767	2535	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	2841	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	3036	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	14407	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	18936	1	G	A
6_USA—EPI_ISL_428767	23402	1	A	G
6_USA—EPI_ISL_428767	25562	1	G	T
7_USA—EPI_ISL_430418	0	1	A	N
7_USA—EPI_ISL_430418	240	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	1058	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	3036	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	14407	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	23402	1	A	G
7_USA—EPI_ISL_430418	25562	1	G	T
8_USA—EPI_ISL_435521	0	10	ATTAAAGGTT	NNNNNNNNNN
8_USA—EPI_ISL_435521	240	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	1058	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	3036	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	14407	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	15573	1	G	A
8_USA—EPI_ISL_435521	23402	1	A	G
8_USA—EPI_ISL_435521	25562	1	G	T
9_USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTCTTGTAGATCTGTT CTCTAAACGAACTTTAAAATC TGTGTGGCTGTCACTCGGCTG CATGCTTAGTGCACTCACGCA GTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
9_USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T

9_USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATGTGCTC ATGGATGGCTCTATTATTCAA TTTCCTAACACCTACCTTGAA GGTTCTGTTAGAGTGGTAACA ACTTTTGATTCTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
9_USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
9_USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
9_USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N

MAFFT

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_USA—EPI_ISL_420793	240	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	1058	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	3036	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	14407	1	C	T
1_USA—EPI_ISL_420793	23402	1	A	G
1_USA—EPI_ISL_420793	25562	1	G	T
1_USA—EPI_ISL_420793	29881	21	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————
2_USA—EPI_ISL_426291	0	30	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAG GTAACAA	————————————
2_USA—EPI_ISL_426291	240	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	1058	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	3036	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	8769	1	C	Y
2_USA—EPI_ISL_426291	14407	1	C	T
2_USA—EPI_ISL_426291	23402	1	A	G
2_USA—EPI_ISL_426291	25562	1	G	T
2_USA—EPI_ISL_426291	29835	67	CCATGTGATTTTAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	———————— ———————— ———————— ——-
3_USA—EPI_ISL_421365	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACTT TCGATCTCTTGTA	———————— ———————— ————————
3_USA—EPI_ISL_421365	2675	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	8781	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	22605	1	A	T
3_USA—EPI_ISL_421365	23524	1	C	T
3_USA—EPI_ISL_421365	28143	1	T	C
3_USA—EPI_ISL_421365	28877	1	G	A
3_USA—EPI_ISL_421365	29741	1	G	A

3_USA—EPI_ISL_421365	29780	122	AGCTGCCTATATGGAAGAGCC CTAATGTGTAAAATTAATTTTA GTAGTGCTATCCCCATGTGATT TTAATAGCTTCTTAGGAGAATG ACAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA	——————- ——————- —————— —————— —————— ———————
4_USA—EPI_ISL_421594	0	55	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCA GGTAACAAACCAACCAACTTT CGATCTCTTGTA	—————— —————— ————
4_USA—EPI_ISL_421594	240	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	1058	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	3036	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	14407	1	C	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23125	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	23402	1	A	G
4_USA—EPI_ISL_421594	25562	1	G	T
4_USA—EPI_ISL_421594	29763	139	TGAACAATGCTAGGGAGAGC TGCCTATATGGAAGAGCCCTA ATGTGTAAAATTAATTTTAGTA GTGCTATCCCCATGTGATTTTA ATAGCTTCTTAGGAGAATGAC AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	—————— —————— —————— —————— —————— —————
5_USA—EPI_ISL_426309	0	25	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCA GGT	——————-
5_USA—EPI_ISL_426309	240	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	1058	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	3036	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	14407	1	C	T
5_USA—EPI_ISL_426309	23402	1	A	G
5_USA—EPI_ISL_426309	25562	1	G	T
5_USA—EPI_ISL_426309	29846	56	TAATAGCTTCTTAGGAGAATG ACAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA	—————— ———————
6_USA—EPI_ISL_428767	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
6_USA—EPI_ISL_428767	211	1	T	A
6_USA—EPI_ISL_428767	232	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	240	1	C	T

6_USA—EPI_ISL_428767	1058	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	2535	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	2841	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	3036	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	14407	1	C	T
6_USA—EPI_ISL_428767	18936	1	G	A
6_USA—EPI_ISL_428767	23402	1	A	G
6_USA—EPI_ISL_428767	25562	1	G	T
7_USA—EPI_ISL_430418	0	1	A	N
7_USA—EPI_ISL_430418	240	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	1058	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	3036	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	14407	1	C	T
7_USA—EPI_ISL_430418	23402	1	A	G
7_USA—EPI_ISL_430418	25562	1	G	T
8_USA—EPI_ISL_435521	0	10	ATTAAAGGTT	NNNNNNNNNN
8_USA—EPI_ISL_435521	240	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	1058	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	3036	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	14407	1	C	T
8_USA—EPI_ISL_435521	15573	1	G	A
8_USA—EPI_ISL_435521	23402	1	A	G
8_USA—EPI_ISL_435521	25562	1	G	T
9_USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAAC TTTCGATCTCTTGTAGATCTG TTCTCTAAACGAACTTTAAAA TCTGTGTGGCTGTCACTCGGC TGCATGCTTAGTGCACTCACG CAGTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
9_USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T

9_USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATGTGCTCA TGGATGGCTCTATTATTCAATT TCCTAACACCTACCTTGAAGG TTCTGTTAGAGTGGTAACAAC TTTTGATTCTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNN
9_USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
9_USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
9_USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
9_USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
9_USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N

Russia

Clustal Omega

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Russia—EPI_ISL_428860	240	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	3036	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	14407	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	18567	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	23402	1	A	G
1_Russia—EPI_ISL_428860	26529	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	240	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	3036	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	4001	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	10096	1	G	A
2_Russia—EPI_ISL_421275	11082	1	G	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	13535	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	14407	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	23402	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	23730	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	27405	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	28880	3	GGG	AAC
2_Russia—EPI_ISL_421275	29890	12	AAAAAAAAAAAA	————
3_Russia—EPI_ISL_427337	240	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	3036	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	14407	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	240	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	3036	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	10968	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	14407	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	28880	3	GGG	AAC
5_Russia—EPI_ISL_427334	0	8	ATTAAAGG	NNNNNNNN

5_Russia—EPI_ISL_427334	75	180	TTTAAAATCTGTGTGGCTGTCACTCGGCTGCATGCTTAGTGCACTCACGCAGTATAATTAATAACTAATTACTGTCGTTGACAGGACACGAGTAACTCGTCTATCTTCTGCAGGCTGCTTACGGTTTCGTCCGTGTTGCAGCCGATCATCAGCACATCTAGGTTTCGTCCGGGTGTGACC	NNNN

Kalign

ID_SEQ	PO	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Russia—EPI_ISL_428860	240	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	3036	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	14407	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	18567	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	23402	1	A	G
1_Russia—EPI_ISL_428860	26529	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	240	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	3036	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	4001	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	10096	1	G	A
2_Russia—EPI_ISL_421275	11082	1	G	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	13535	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	14407	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	23402	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	23730	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	27405	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	28880	3	GGG	AAC
2_Russia—EPI_ISL_421275	29890	12	AAAAAAAAAAAA	————
3_Russia—EPI_ISL_427337	240	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	3036	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	14407	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	240	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	3036	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	10968	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	14407	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	28880	3	GGG	AAC
5_Russia—EPI_ISL_427334	0	8	ATTAAAGG	NNNNNNNN

5_Russia—EPI_ISL_427334	75	180	TTTAAAATCTGTGTGGCTGT CACTCGGCTGCATGCTTAGT GCACTCACGCAGTATAATTA ATAACTAATTACTGTCGTTG ACAGGACACGAGTAACTCG TCTATCTTCTGCAGGCTGCT TACGGTTTCGTCCGTGTTGC AGCCGATCATCAGCACATCT AGGTTTCGTCCGGGTGTGACC	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
5_Russia—EPI_ISL_427334	3036	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	14407	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	23402	1	A	G
5_Russia—EPI_ISL_427334	26749	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	28880	3	GGG	AAC
5_Russia—EPI_ISL_427334	29866	36	GACAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN
6_Russia—EPI_ISL_430096	0	8	ATTAAAGG	NNNNNNNN
6_Russia—EPI_ISL_430096	240	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	3036	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	14407	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	23402	1	A	G
6_Russia—EPI_ISL_430096	26749	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	28880	3	GGG	AAC
6_Russia—EPI_ISL_430096	29872	30	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
7_Russia—EPI_ISL_430108	240	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	834	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	3036	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	14407	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	20267	1	A	G
7_Russia—EPI_ISL_430108	23402	1	A	G
7_Russia—EPI_ISL_430108	29870	32	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN

MAFFT

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Russia—EPI_ISL_428860	240	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	3036	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	14407	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	18567	1	C	T
1_Russia—EPI_ISL_428860	23402	1	A	G
1_Russia—EPI_ISL_428860	26529	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	240	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	3036	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	4001	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	10096	1	G	A
2_Russia—EPI_ISL_421275	11082	1	G	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	13535	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	14407	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	23402	1	A	G
2_Russia—EPI_ISL_421275	23730	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	27405	1	C	T
2_Russia—EPI_ISL_421275	28880	3	GGG	AAC
2_Russia—EPI_ISL_421275	29890	12	AAAAAAAAAAAA	————
3_Russia—EPI_ISL_427337	240	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	3036	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	14407	1	C	T
3_Russia—EPI_ISL_427337	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	240	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	3036	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	10968	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	14407	1	C	T
4_Russia—EPI_ISL_428852	23402	1	A	G
4_Russia—EPI_ISL_428852	28880	3	GGG	AAC
5_Russia—EPI_ISL_427334	0	8	ATTAAAGG	NNNNNNNN

5_Russia—EPI_ISL_427334	75	180	TTTAAAATCTGTGTGGCTGTC ACTCGGCTGCATGCTTAGTGC ACTCACGCAGTATAATTAATAA CTAATTACTGTCGTTGACAGGA CACGAGTAACTCGTCTATCTTC TGCAGGCTGCTTACGGTTTCGT CCGTGTTGCAGCCGATCATCAG CACATCTAGGTTTCGTCCGGGT GTGACC	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
5_Russia—EPI_ISL_427334	3036	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	14407	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	23402	1	A	G
5_Russia—EPI_ISL_427334	26749	1	C	T
5_Russia—EPI_ISL_427334	28880	3	GGG	AAC
5_Russia—EPI_ISL_427334	29866	36	GACAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN
6_Russia—EPI_ISL_430096	0	8	ATTAAAGG	NNNNNNNN
6_Russia—EPI_ISL_430096	240	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	3036	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	14407	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	23402	1	A	G
6_Russia—EPI_ISL_430096	26749	1	C	T
6_Russia—EPI_ISL_430096	28880	3	GGG	AAC
6_Russia—EPI_ISL_430096	29872	30	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
7_Russia—EPI_ISL_430108	240	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	834	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	3036	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	14407	1	C	T
7_Russia—EPI_ISL_430108	20267	1	A	G
7_Russia—EPI_ISL_430108	23402	1	A	G
7_Russia—EPI_ISL_430108	29870	32	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN

Italia

Clustal Omega

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Italy—EPI_ISL_412974	11083	1	G	T
1_Italy—EPI_ISL_412974	26144	1	G	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	241	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	3037	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	14408	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	23403	1	A	G
2_Italy—EPI_ISL_412973	29867	2	TG	NN
3_Italy—EPI_ISL_417423	0	1	-	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	241	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	3037	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	14408	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	23403	1	A	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	29891	13	AAAAAAAAAAAAA	————-
4_Italy—EPI_ISL_418256	42	1	T	Y
4_Italy—EPI_ISL_418256	44	2	CG	NN
4_Italy—EPI_ISL_418256	241	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	3037	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	14408	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	23403	1	A	G
4_Italy—EPI_ISL_418256	28881	3	GGG	AAC
4_Italy—EPI_ISL_418256	29899	5	AAAAA	——
5_Italy—EPI_ISL_419254	1	25	ATTAAAGGTTTATACCTTCCCAGGT	————————-
5_Italy—EPI_ISL_419254	241	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	3037	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	14408	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	23403	1	A	G
5_Italy—EPI_ISL_419254	29860	44	AGGAGAATGACAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	———————— ————————
6_Italy—EPI_ISL_428854	241	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	3037	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	14408	1	C	T

6_Italy—EPI_ISL_428854	23403	1	A	G
6_Italy—EPI_ISL_428854	29009	1	G	A
6_Italy—EPI_ISL_428854	29900	4	AAAA	—-
7_Italy—EPI_ISL_435152	1	37	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACC	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
7_Italy—EPI_ISL_435152	241	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	3037	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	5986	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	6866	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	6869	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	14408	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	23403	1	A	G
7_Italy—EPI_ISL_435152	28881	3	GGG	AAC
7_Italy—EPI_ISL_435152	29701	1	G	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	29879	25	AAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	———— ———
8_Italy—EPI_ISL_436729	1	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
8_Italy—EPI_ISL_436729	31	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	241	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3037	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3045	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6449	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6863	1	A	M
8_Italy—EPI_ISL_436729	6866	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	6869	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	14408	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	19677	1	G	R
8_Italy—EPI_ISL_436729	21627	1	C	Y
8_Italy—EPI_ISL_436729	23403	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	25459	1	G	K
8_Italy—EPI_ISL_436729	28881	3	GGG	AAC
8_Italy—EPI_ISL_436729	29874	30	AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA	————- ————

Kalign

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Italy—EPI_ISL_412974	11083	1	G	T
1_Italy—EPI_ISL_412974	26144	1	G	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	241	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	3037	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	14408	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	23403	1	A	G
2_Italy—EPI_ISL_412973	29867	2	TG	NN
3_Italy—EPI_ISL_417423	0	1	-	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	241	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	3037	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	14408	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	23403	1	A	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	29879	13	AAAAAAAAAAAAA	————-
4_Italy—EPI_ISL_418256	42	1	T	Y
4_Italy—EPI_ISL_418256	44	2	CG	NN
4_Italy—EPI_ISL_418256	241	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	3037	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	14408	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	23403	1	A	G
4_Italy—EPI_ISL_418256	28881	3	GGG	AAC
4_Italy—EPI_ISL_418256	29879	5	AAAAA	——
5_Italy—EPI_ISL_419254	1	25	ATTAAAGGTTTAT ACCTTCCCAGGT	————————-
5_Italy—EPI_ISL_419254	241	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	3037	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	14408	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	23403	1	A	G
5_Italy—EPI_ISL_419254	29860	44	AGGAGAATGACAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	———————— ————————
6_Italy—EPI_ISL_428854	241	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	3037	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	14408	1	C	T

6_Italy—EPI_ISL_428854	23403	1	A	G
6_Italy—EPI_ISL_428854	29009	1	G	A
6_Italy—EPI_ISL_428854	29879	4	AAAA	—-
7_Italy—EPI_ISL_435152	1	37	ATTAAAGGTTTATACCTTC CCAGGTAACAAACCAACC	NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN
7_Italy—EPI_ISL_435152	241	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	3037	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	5986	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	6866	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	6869	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	14408	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	23403	1	A	G
7_Italy—EPI_ISL_435152	28881	3	GGG	AAC
7_Italy—EPI_ISL_435152	29701	1	G	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	29879	25	AAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA	——————-
8_Italy—EPI_ISL_436729	1	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
8_Italy—EPI_ISL_436729	31	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	241	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3037	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3045	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6449	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6863	1	A	M
8_Italy—EPI_ISL_436729	6866	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	6869	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	14408	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	19677	1	G	R
8_Italy—EPI_ISL_436729	21627	1	C	Y
8_Italy—EPI_ISL_436729	23403	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	25459	1	G	K
8_Italy—EPI_ISL_436729	28881	3	GGG	AAC
8_Italy—EPI_ISL_436729	29874	30	AAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA	————————————

MAFFT

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Italy—EPI_ISL_412974	11083	1	G	T
1_Italy—EPI_ISL_412974	26144	1	G	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	241	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	3037	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	14408	1	C	T
2_Italy—EPI_ISL_412973	23403	1	A	G
2_Italy—EPI_ISL_412973	29867	2	TG	NN
3_Italy—EPI_ISL_417423	0	1	-	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	241	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	3037	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	14408	1	C	T
3_Italy—EPI_ISL_417423	23403	1	A	G
3_Italy—EPI_ISL_417423	29890	13	AAAAAAAAAAAAA	————-
4_Italy—EPI_ISL_418256	42	1	T	Y
4_Italy—EPI_ISL_418256	44	2	CG	NN
4_Italy—EPI_ISL_418256	241	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	3037	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	14408	1	C	T
4_Italy—EPI_ISL_418256	23403	1	A	G
4_Italy—EPI_ISL_418256	28881	3	GGG	AAC
4_Italy—EPI_ISL_418256	29898	5	AAAAA	——
5_Italy—EPI_ISL_419254	1	25	ATTAAAGGTTTATA CCTTCCCAGGT	————————-
5_Italy—EPI_ISL_419254	241	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	3037	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	14408	1	C	T
5_Italy—EPI_ISL_419254	23403	1	A	G
5_Italy—EPI_ISL_419254	29859	44	AGGAGAATGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————————————
6_Italy—EPI_ISL_428854	241	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	3037	1	C	T
6_Italy—EPI_ISL_428854	14408	1	C	T

6_Italy—EPI_ISL_428854	23403	1	A	G
6_Italy—EPI_ISL_428854	29009	1	G	A
6_Italy—EPI_ISL_428854	29899	4	AAAA	—-
7_Italy—EPI_ISL_435152	1	37	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACC	NNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNN
7_Italy—EPI_ISL_435152	241	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	3037	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	5986	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	6866	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	6869	1	A	W
7_Italy—EPI_ISL_435152	14408	1	C	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	23403	1	A	G
7_Italy—EPI_ISL_435152	28881	3	GGG	AAC
7_Italy—EPI_ISL_435152	29701	1	G	T
7_Italy—EPI_ISL_435152	29878	25	AAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA	——————-
8_Italy—EPI_ISL_436729	1	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
8_Italy—EPI_ISL_436729	31	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	241	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3037	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	3045	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6449	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	6863	1	A	M
8_Italy—EPI_ISL_436729	6866	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	6869	1	A	W
8_Italy—EPI_ISL_436729	14408	1	C	T
8_Italy—EPI_ISL_436729	19677	1	G	R
8_Italy—EPI_ISL_436729	21627	1	C	Y
8_Italy—EPI_ISL_436729	23403	1	A	G
8_Italy—EPI_ISL_436729	25459	1	G	K
8_Italy—EPI_ISL_436729	28881	3	GGG	AAC
8_Italy—EPI_ISL_436729	29873	30	AAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA	————————

Spagna

Clustal Omega

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Spain—EPI_ISL_418251	240	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	3036	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	8781	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	11243	1	T	C
1_Spain—EPI_ISL_418251	14407	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	21262	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	23402	1	A	G
1_Spain—EPI_ISL_418251	29780	122	AGCTGCCTATATGGAAGAGC CCTAATGTGTAAAATTAATT TTAGTAGTGCTATCCCCATG TGATTTTAATAGCTTCTTAG GAGAATGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AA	—————— —————— —————— —————— —————— ——————
2_Spain—EPI_ISL_419240	8781	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	9476	1	T	A
2_Spain—EPI_ISL_419240	14804	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	25978	1	G	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28143	1	T	C
2_Spain—EPI_ISL_419240	28656	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28862	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	29786	116	CTATATGGAAGAGCCCTAATG TGTAAAATTAATTTTAGTAGTG CTATCCCCATGTGATTTTAATA GCTTCTTAGGAGAATGACAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAA	—————— —————— —————— —————— —————— —————
3_Spain—EPI_ISL_419685	0	54	ATTAAAGGTTTATACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTCTTGT	—————— —————— —————
3_Spain—EPI_ISL_419685	2000	1	G	A

3_Spain—EPI_ISL_419685	5296	290	ACTGCATTGTTAACACTCCA ACAAATAGAGTTGAAGTTTA ATCCACCTGCTCTACAAGAT GCTTATTACAGAGCAAGGGC TGGTGAAGCTGCTAACTTTT GTGCACTTATCTTAGCCTAC TGTAATAAGACAGTAGGTGA GTTAGGTGATGTTAGAGAAA CAATGAGTTACTTGTTTCAA CATGCCAATTTAGATTCTTG CAAAAGAGTCTTGAACGTGG TGTGTAAAACTTGTGGACAA CAGCAGACAACCCTTAAGGG TGTAGAAGCTGTTATGTACA TGGGCACACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	8781	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	9476	1	T	A
3_Spain—EPI_ISL_419685	13378	243	GTCTGCGGTATGTGGAAAGG TTATGGCTGTAGTTGTGATC AACTCCGCGAACCCATGCTT CAGTCAGCTGATGCACAATC GTTTTTAAACGGGTTTGCGG TGTAAGTGCAGCCCGTCTTA CACCGTGCGGCACAGGCACT AGTACTGATGTCGTATACAG GGCTTTTGACATCTACAATG ATAAAGTAGCTGGTTTTGCT AAATTCCTAAAAACTAATTG TTGTCGCTTCCAAGAAAAGG ACG	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	14804	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	22877	267	ACAATCTTGATTCTAAGGTT GGTGGTAATTATAATTACCT GTATAGATTGTTTAGGAAGT CTAATCTCAAACCTTTTGAG AGAGATATTTCAACTGAAAT CTATCAGGCCGGTAGCACAC CTTGTAATGGTGTTGAAGGT TTTAATTGTTACTTTCCTTT ACAATCATATGGTTTCCAAC CCACTAATGGTGTTGGTTAC CAACCATACAGAGTAGTAGT ACTTTCTTTTGAACTTCTAC ATGCACCAGCAACTGTTTGT GGACCTA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNN

3_Spain—EPI_ISL_419685	25646	278	GTTGTTTGTAACAGTTTACT CACACCTTTTGCTCGTTGCT GCTGGCCTTGAAGCCCCTTT TCTCTATCTTTATGCTTTAG TCTACTTCTTGCAGAGTATA AACTTTGTAAGAATAATAAT GAGGCTTTGGCTTTGCTGGA AATGCCGTTCCAAAAACCCA TTACTTTATGATGCCAACTA TTTTCTTTGCTGGCATACTA ATTGTTACGACTATTGTATA CCTTACAATAGTGTAACTTC TTCAATTGTCATTACTTCAG GTGATGGCACAACAAGTC	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	25978	1	G	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28143	1	T	C
3_Spain—EPI_ISL_419685	28656	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28862	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	29835	67	CCATGTGATTTTAATAGCTT CTTAGGAGAATGACAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	—————— —————— —————— ——-
4_Spain—EPI_ISL_436301	0	49	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACCAAC TTTCGATCT	—————— —————— ———
4_Spain—EPI_ISL_436301	240	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	3036	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	8655	150	TAAACATACTGACTTTTCAA GTGAAATCATAGGATACAAG GCTATTGATGGTGGTGTCAC TCGTGACATAGCATCTACAG ATACTTGTTTTGCTAACAAA CATGCTGATTTTGACACATG GTTTAGCCAGCGTGGTGGTA GTTATACTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8807	74	ACAAAGCTTGCCCATTGATT GCTGCAGTCATAACAAGAGA AGTGGGTTTTGTCGTGCCTG GTTTGCCTGGCACG	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8888	5	GCACA	NNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	14407	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	17125	1	T	C

4_Spain—EPI_ISL_436301	20267	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	23402	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	27577	1	A	W
4_Spain—EPI_ISL_436301	28811	1	G	K
4_Spain—EPI_ISL_436301	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	———————— ———————— —————
5_Spain—EPI_ISL_436324	0	47	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACCAA CTTTCGAT	———————— ———————— ——-
5_Spain—EPI_ISL_436324	240	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	3036	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	13379	227	TCTGCGGTATGTGGAAAGGT TATGGCTGTAGTTGTGATCA ACTCCGCGAACCCATGCTTC AGTCAGCTGATGCACAATCG TTTTTAAACGGGTTTGCGGT GTAAGTGCAGCCCGTCTTAC ACCGTGCGGCACAGGCACTA GTACTGATGTCGTATACAGG GCTTTTGACATCTACAATGA TAAAGTAGCTGGTTTTGCTA AATTCCTAAAAACTAATTGT TGTCGCT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNN
5_Spain—EPI_ISL_436324	14407	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	22403	1	A	W
5_Spain—EPI_ISL_436324	23402	1	A	G
5_Spain—EPI_ISL_436324	29143	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAA	———————— ———————— —————
6_Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A

6_Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
6_Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C
7_Spain—EPI_ISL_444976	240	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444976	3036	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444976	8738	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444976	14407	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444976	18743	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444976	20267	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444976	22892	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444976	23402	1	A	G

Kalign

ID_SEQ	PO	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Spain—EPI_ISL_418251	240	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	3036	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	8781	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	11243	1	T	C
1_Spain—EPI_ISL_418251	14407	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	21262	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	23402	1	A	G
1_Spain—EPI_ISL_418251	29780	122	AGCTGCCTATATGGAA GAGCCCTAATGTGTA AAATTAATTTTAGTA GTGCTATCCCCATGT GATTTTAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA	——————- —————— —————— —————— —————— —————— —————— ——————-
2_Spain—EPI_ISL_419240	8781	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	9476	1	T	A
2_Spain—EPI_ISL_419240	14804	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	25978	1	G	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28143	1	T	C
2_Spain—EPI_ISL_419240	28656	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28862	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	29786	116	CTATATGGAAGAGCC CTAATGTGTAAAATT AATTTTAGTAGTGCT ATCCCCATGTGATTT TAATAGCTTCTTAGG AGAATGACAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA	—————— ——————- ——————- ——————- —————— —————— ——————- ——————-
3_Spain—EPI_ISL_419685	0	54	ATTAAAGGTTTATACC TTCCCAGGTAACAAAC CAACCAACTTTCGATC TCTTGT	—————— ——————- —————— ——————
3_Spain—EPI_ISL_419685	2000	1	G	A

3_Spain—EPI_ISL_419685	5296	290	ACTGCATTGTTAACA CTCCAACAAATAGAG TTGAAGTTTAATCCA CCTGCTCTACAAGAT GCTTATTACAGAGCA AGGGCTGGTGAAGCT GCTAACTTTTGTGCA CTTATCTTAGCCTAC TGTAATAAGACAGTA GGTGAGTTAGGTGAT GTTAGAGAAACAATG AGTTACTTGTTTCAA CATGCCAATTTAGAT TCTTGCAAAAGAGTC TTGAACGTGGTGTGT AAAACTTGTGGACAA CAGCAGACAACCCTT AAGGGTGTAGAAGCT GTTATGTACATGGGC ACACT	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	8781	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	9476	1	T	A
3_Spain—EPI_ISL_419685	13378	243	GTCTGCGGTATGTGG AAAGGTTATGGCTGT AGTTGTGATCAACTC CGCGAACCCATGCTT CAGTCAGCTGATGCA CAATCGTTTTTAAAC GGGTTTGCGGTGTAA GTGCAGCCCGTCTTA CACCGTGCGGCACAG GCACTAGTACTGATG TCGTATACAGGGCTT TTGACATCTACAATG ATAAAGTAGCTGGTT TTGCTAAATTCCTAA AAACTAATTGTTGTC GCTTCCAAGAAAAGG ACG	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	14804	1	C	T

3_Spain—EPI_ISL_419685	22877	267	ACAATCTTGATTCT AAGGTTGGTGGTAAT TATAATTACCTGTAT AGATTGTTTAGGAAG TCTAATCTCAAACCT TTTGAGAGAGATATT TCAACTGAAATCTAT CAGGCCGGTAGCACA CCTTGTAATGGTGTT GAAGGTTTTAATTGT TACTTTCCTTTACAA TCATATGGTTTCCAA CCCACTAATGGTGTT GGTTACCAACCATAC AGAGTAGTAGTACTT TCTTTTGAACTTCTA CATGCACCAGCAACT GTTTGTGGACCTA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	25646	278	GTTGTTTGTAACAGT TTACTCACACCTTTT GCTCGTTGCTGCTGG CCTTGAAGCCCCTTT TCTCTATCTTTATGC TTTAGTCTACTTCTT GCAGAGTATAAACTT TGTAAGAATAATAAT GAGGCTTTGGCTTTG CTGGAAATGCCGTTC CAAAAACCCATTACT TTATGATGCCAACTA TTTTCTTTGCTGGCA TACTAATTGTTACGA CTATTGTATACCTTA CAATAGTGTAACTTC TTCAATTGTCATTAC TTCAGGTGATGGCAC AACAAGTC	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	25978	1	G	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28143	1	T	C
3_Spain—EPI_ISL_419685	28656	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28862	1	C	T

3_Spain—EPI_ISL_419685	29835	67	CCATGTGATTTTAATA GCTTCTTAGGAGAATG ACAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAA AAAAA	———————— ————————- ————————- ————————
4_Spain—EPI_ISL_436301	0	49	ATTAAAGGTTTATACCT TCCCAGGTAACAAACC AACCAACTTTCGATCT	————————- ———————— ————————-
4_Spain—EPI_ISL_436301	240	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	3036	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	8655	150	TAAACATACTGACTT TTCAAGTGAAATCAT AGGATACAAGGCTAT TGATGGTGGTGTCAC TCGTGACATAGCATC TACAGATACTTGTTT TGCTAACAAACATGC TGATTTTGACACATG GTTTAGCCAGCGTGG TGGTAGTTATACTAA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8807	74	ACAAAGCTTGCCCA TTGATTGCTGCAGTC ATAACAAGAGAAGTG GGTTTTGTCGTGCCTG GTTTGCCTGGCACG	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8888	5	GCACA	NNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	14407	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	17125	1	T	C
4_Spain—EPI_ISL_436301	20267	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	23402	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	27577	1	A	W
4_Spain—EPI_ISL_436301	28811	1	G	K
4_Spain—EPI_ISL_436301	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAA TGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	———————— ————————- ————————
5_Spain—EPI_ISL_436324	0	47	ATTAAAGGTTTATACC TTCCCAGGTAACAAAC CAACCAACTTTCGAT	———————— ———————— ————————
5_Spain—EPI_ISL_436324	240	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	3036	1	C	T

5_Spain—EPI_ISL_436324	13379	227	TCTGCGGTATGTGGA AAGGTTATGGCTGTA GTTGTGATCAACTCC GCGAACCCATGCTTC AGTCAGCTGATGCAC AATCGTTTTTAAACG GGTTTGCGGTGTAAG TGCAGCCCGTCTTAC ACCGTGCGGCACAGG CACTAGTACTGATGT CGTATACAGGGCTTT TGACATCTACAATGA TAAAGTAGCTGGTTT TGCTAAATTCCTAAA AACTAATTGTTGTCG CT	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NN
5_Spain—EPI_ISL_436324	14407	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	22403	1	A	W
5_Spain—EPI_ISL_436324	23402	1	A	G
5_Spain—EPI_ISL_436324	29143	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAA TGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	—————— ——————
6_Spain—EPI_ISL_444976	240	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	3036	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	8738	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	14407	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	18743	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	20267	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444976	22892	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444976	23402	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G

7_Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A
7_Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
7_Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C

MAFFT

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
1_Spain—EPI_ISL_418251	240	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	3036	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	8781	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	11243	1	T	C
1_Spain—EPI_ISL_418251	14407	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	21262	1	C	T
1_Spain—EPI_ISL_418251	23402	1	A	G
1_Spain—EPI_ISL_418251	29780	122	AGCTGCCTATATGGA AGAGCCCTAATGTGT AAAATTAATTTTAGT AGTGCTATCCCCATG TGATTTTAATAGCTT CTTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AA	——————————- —————————— —————————— ————————————
2_Spain—EPI_ISL_419240	8781	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	9476	1	T	A
2_Spain—EPI_ISL_419240	14804	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	25978	1	G	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28143	1	T	C
2_Spain—EPI_ISL_419240	28656	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	28862	1	C	T
2_Spain—EPI_ISL_419240	29786	116	CTATATGGAAGAGCC CTAATGTGTAAAATT AATTTTAGTAGTGCT ATCCCCATGTGATTT TAATAGCTTCTTAGG AGAATGACAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA	——————————————- ———————————————— ———————————
3_Spain—EPI_ISL_419685	0	54	ATTAAAGGTTTATACCT TCCCAGGTAACAAACCA ACCAACTTTCGATCTCTTGT	——————————————— —————————
3_Spain—EPI_ISL_419685	2000	1	G	A

3_Spain—EPI_ISL_419685	5296	290	ACTGCATTGTTAACA CTCCAACAAATAGAG TTGAAGTTTAATCCA CCTGCTCTACAAGAT GCTTATTACAGAGCA AGGGCTGGTGAAGCT GCTAACTTTTGTGCA CTTATCTTAGCCTAC TGTAATAAGACAGTA GGTGAGTTAGGTGAT GTTAGAGAAACAATG AGTTACTTGTTTCAA CATGCCAATTTAGAT TCTTGCAAAAGAGTC TTGAACGTGGTGTGT AAAACTTGTGGACAA CAGCAGACAACCCTT AAGGGTGTAGAAGCT GTTATGTACATGGGC ACACT	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	8781	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	9476	1	T	A
3_Spain—EPI_ISL_419685	13378	243	GTCTGCGGTATGTGG AAAGGTTATGGCTGT AGTTGTGATCAACTC CGCGAACCCATGCTT CAGTCAGCTGATGCA CAATCGTTTTTAAAC GGGTTTGCGGTGTAA GTGCAGCCCGTCTTA CACCGTGCGGCACAG GCACTAGTACTGATG TCGTATACAGGGCTT TTGACATCTACAATG ATAAAGTAGCTGGTT TTGCTAAATTCCTAA AAACTAATTGTTGTC GCTTCCAAGAAAAGG ACG	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	14804	1	C	T

3_Spain—EPI_ISL_419685	22877	267	ACAATCTTGATTCTA AGGTTGGTGGTAATT ATAATTACCTGTATA GATTGTTTAGGAAGT CTAATCTCAAACCTT TTGAGAGAGATATTT CAACTGAAATCTATC AGGCCGGTAGCACAC CTTGTAATGGTGTTG AAGGTTTTAATTGTT ACTTTCCTTTACAAT CATATGGTTTCCAAC CCACTAATGGTGTTG GTTACCAACCATACA GAGTAGTAGTACTTT CTTTTGAACTTCTAC ATGCACCAGCAACTG TTTGTGGACCTA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	25646	278	GTTGTTTGTAACAGT TTACTCACACCTTTT GCTCGTTGCTGCTGG CCTTGAAGCCCCTTT TCTCTATCTTTATGC TTTAGTCTACTTCTT GCAGAGTATAAACTT TGTAAGAATAATAAT GAGGCTTTGGCTTTG CTGGAAATGCCGTTC CAAAAACCCATTACT TTATGATGCCAACTA TTTTCTTTGCTGGCA TACTAATTGTTACGA CTATTGTATACCTTA CAATAGTGTAACTTC TTCAATTGTCATTAC TTCAGGTGATGGCAC AACAAGTC	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNN
3_Spain—EPI_ISL_419685	25978	1	G	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28143	1	T	C
3_Spain—EPI_ISL_419685	28656	1	C	T
3_Spain—EPI_ISL_419685	28862	1	C	T

3_Spain—EPI_ISL_419685	29835	67	CCATGTGATTTTAAT AGCTTCTTAGGAGA ATGACAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAA	—————————— ———————————————
4_Spain—EPI_ISL_436301	0	49	ATTAAAGGTTTATAC CTTCCCAGGTAACAA ACCAACCAACTTTCG ATCT	——————————- ————————
4_Spain—EPI_ISL_436301	240	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	3036	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	8655	150	TAAACATACTGACTTT TCAAGTGAAATCATA GGATACAAGGCTATT GATGGTGGTGTCACT CGTGACATAGCATCT ACAGATACTTGTTTT GCTAACAAACATGCT GATTTTGACACATGG TTTAGCCAGCGTGGT GGTAGTTATACTAA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8807	74	ACAAAGCTTGCCCAT TGATTGCTGCAGTCA TAACAAGAGAAGTGG GTTTTGTCGTGCCTG GTTTGCCTGGCACG	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	8888	5	GCACA	NNNNN
4_Spain—EPI_ISL_436301	14407	1	C	T
4_Spain—EPI_ISL_436301	17125	1	T	C
4_Spain—EPI_ISL_436301	20267	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	23402	1	A	G
4_Spain—EPI_ISL_436301	27577	1	A	W
4_Spain—EPI_ISL_436301	28811	1	G	K
4_Spain—EPI_ISL_436301	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAA TGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	—————————— ——————————-
5_Spain—EPI_ISL_436324	0	47	ATTAAAGGTTTATAC CTTCCCAGGTAACAA ACCAACCAACTTTCG AT	———————— ————————

5_Spain—EPI_ISL_436324	240	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	3036	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	13379	227	TCTGCGGTATGTGGAA AGGTTATGGCTGTAG TTGTGATCAACTCCG CGAACCCATGCTTCA GTCAGCTGATGCACA ATCGTTTTTAAACGG GTTTGCGGTGTAAGT GCAGCCCGTCTTACA CCGTGCGGCACAGGC ACTAGTACTGATGTC GTATACAGGGCTTTT GACATCTACAATGAT AAAGTAGCTGGTTTT GCTAAATTCCTAAAA ACTAATTGTTGTCGCT	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN
5_Spain—EPI_ISL_436324	14407	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	22403	1	A	W
5_Spain—EPI_ISL_436324	23402	1	A	G
5_Spain—EPI_ISL_436324	29143	1	C	T
5_Spain—EPI_ISL_436324	29850	52	AGCTTCTTAGGAGAA TGACAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA	—————— ——————————-
6_Spain—EPI_ISL_444976	240	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	3036	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	8738	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	14407	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	18743	1	C	T
6_Spain—EPI_ISL_444976	20267	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444976	22892	1	A	G
6_Spain—EPI_ISL_444976	23402	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
7_Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G

7_Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G
7_Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A
7_Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
7_Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C

Appendice B - Risultati confronto orizzontale

Di seguito sono riportati le variazioni delle sequenze selezionate, l'ultima individuata per ogni paese analizzato nel confronto verticale, suddivise per il tool utilizzato. In ogni tabella viene indicato l'ID della sequenza, la posizione nella quale avviene una variazione, la lunghezza di tale modifica, la base (o la sequenza di basi nel caso si tratti di un cambiamento su più posizioni contigue) presente nella sequenza di riferimento e quella presente nella sequenza analizzata.
Come specificato per i risultati del confronto verticale, anche in questo caso in alcune sequenze sono presenti i caratteri N, W, K, S, Y, M.

Clustal Omega

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
Italy—EPI_ISL_436729	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
Italy—EPI_ISL_436729	30	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	240	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3036	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3044	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6448	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6862	1	A	M
Italy—EPI_ISL_436729	6865	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	6868	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	14407	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	19676	1	G	R
Italy—EPI_ISL_436729	21626	1	C	Y
Italy—EPI_ISL_436729	23402	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	25458	1	G	K
Italy—EPI_ISL_436729	28880	3	GGG	AAC
Italy—EPI_ISL_436729	29872	30	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————
Russia—EPI_ISL_430108	240	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	834	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	3036	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	14407	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	20267	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	23402	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	29870	32	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A
Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C
USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACCAA CTTTCGATCTCTTGTAGATCT GTTCTCTAAACGAACTTTAAA ATCTGTGTGGCTGTCACTCGG CTGCATGCTTAGTGCACTCAC GCAGTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNN
USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATGTGCTC ATGGATGGCTCTATTATTCAA TTTCCTAACACCTACCTTGAA GGTTCTGTTAGAGTGGTAACA ACTTTTGATTCTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NN
USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N

Kalign

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
Italy—EPI_ISL_436729	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
Italy—EPI_ISL_436729	30	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	240	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3036	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3044	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6448	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6862	1	A	M
Italy—EPI_ISL_436729	6865	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	6868	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	14407	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	19676	1	G	R
Italy—EPI_ISL_436729	21626	1	C	Y
Italy—EPI_ISL_436729	23402	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	25458	1	G	K
Italy—EPI_ISL_436729	28880	3	GGG	AAC
Italy—EPI_ISL_436729	29872	30	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	————————
Russia—EPI_ISL_430108	240	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	834	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	3036	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	14407	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	20267	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	23402	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	29870	32	AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G

Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A
Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C
USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACCAA CTTTCGATCTCTTGTAGATCT GTTCTCTAAACGAACTTTAA AATCTGTGTGGCTGTCACTC GGCTGCATGCTTAGTGCACT CACGCAGTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNN
USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATGTGCTC ATGGATGGCTCTATTATTCAA TTTCCTAACACCTACCTTGAA GGTTCTGTTAGAGTGGTAACA ACTTTTGATTCTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NN
USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N

MAFFT

ID_SEQ	POS	LENGTH	REFERENCE	MUTATION
Italy—EPI_ISL_436729	0	9	ATTAAAGGT	NNNNNNNNN
Italy—EPI_ISL_436729	30	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	240	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3036	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	3044	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6448	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	6862	1	A	M
Italy—EPI_ISL_436729	6865	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	6868	1	A	W
Italy—EPI_ISL_436729	14407	1	C	T
Italy—EPI_ISL_436729	19676	1	G	R
Italy—EPI_ISL_436729	21626	1	C	Y
Italy—EPI_ISL_436729	23402	1	A	G
Italy—EPI_ISL_436729	25458	1	G	K
Italy—EPI_ISL_436729	28880	3	GGG	AAC
Italy—EPI_ISL_436729	29872	30	AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA	——————- ——————
Russia—EPI_ISL_430108	240	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	834	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	3036	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	14407	1	C	T
Russia—EPI_ISL_430108	20267	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	23402	1	A	G
Russia—EPI_ISL_430108	29870	32	AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNN
Spain—EPI_ISL_444975	240	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	3036	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	5175	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	6353	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	14407	1	C	T
Spain—EPI_ISL_444975	20267	1	A	G
Spain—EPI_ISL_444975	23402	1	A	G

Spain—EPI_ISL_444975	28882	1	G	A
Spain—EPI_ISL_444975	29687	1	G	C
Spain—EPI_ISL_444975	29733	1	G	C
USA—EPI_ISL_435547	0	136	ATTAAAGGTTTATAC CTTCCCAGGTAACAA ACCAACCAACTTTCG ATCTCTTGTAGATCTG TTCTCTAAACGAACTT TAAAATCTGTGTGGCT GTCACTCGGCTGCATG CTTAGTGCACTCACGC AGTATAATTAA	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN
USA—EPI_ISL_435547	145	3	ACT	NNN
USA—EPI_ISL_435547	240	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	1058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	3036	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	9113	102	CTGACACACGTTATG TGCTCATGGATGGCT CTATTATTCAATTTCC TAACACCTACCTTGA AGGTTCTGTTAGAGT GGTAACAACTTTTGA TTCTGAGTACT	NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNN
USA—EPI_ISL_435547	11915	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	14407	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	18997	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	23402	1	A	G
USA—EPI_ISL_435547	25562	1	G	T
USA—EPI_ISL_435547	27058	1	C	T
USA—EPI_ISL_435547	29539	1	G	A
USA—EPI_ISL_435547	29901	1	A	N