



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.

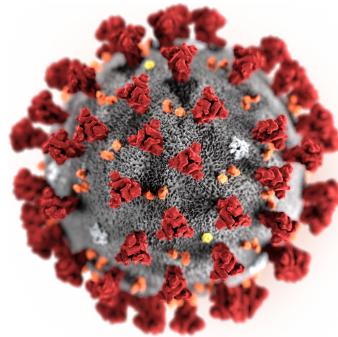


Figure 1: L'illustrazione, creata dai Centers for Disease Control and Prevention (CDC) statunitense, rivela la morfologia ultrastrutturale del SARS-CoV-2

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 documentate 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 tenendo come riferimento la prima sequenza 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-351/2020 | 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_VHI407/2020 | 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 l'allineamento delle sequenze di New York con i tre tool abbiamo ottenuto, nonostante i diversi approcci, output identici.

In tutte le sequenze, esclusa la numero 3, sono presenti le stesse variazioni nelle posizioni 240, 3036, 1058, 14047, 23402 e 25562. La terza sequenza, infatti, è l'unica che non presenta mutazioni rilevate anche nelle altre sequenze studiate.

Russia

Anche nel caso delle sequenze della Russia, come per il caso di New York, gli output ottenuti dai tre tool sono uguali.

Sono presenti delle variazioni rispetto al reference comuni fra più sequenze:

- Nelle sequenze 5 e 6 in posizione 26749
- Nelle sequenze 2, 4, 5, 6 in posizione 28880
- Nelle sequenze 1, 2, 3, 4, 6, 7 in posizione 240
- In tutte le sequenze nelle posizioni 3036, 14407, 23402

Italia

L'esecuzione dei tre tool con le sequenze dell'Italia ha prodotti output con delle leggere differenze. Solo con Kalign viene evidenziata una mutazione nella posizione 29879 delle sequenze 3, 4 e 6, mentre solo con Clustal Omega e MAFFT sono evidenziati dei cambiamenti nelle posizioni 29890, 29898, 29899 rispettivamente nelle sequenze 3, 4 e 6.

Con tutti e tre i tool vengono evidenziate le seguenti variazioni comuni:

- In tutte le sequenze, esclusa la 1, in posizione 241, 3037, 14408, 23403
- Nelle sequenze 4, 7, 8 in posizione 2881

Spagna

Analizzando le sequenze della Spagna abbiamo ottenuto un risultato diverso dal tool Clustal Omega rispetto a quelli ottenuti con Kalign e MAFFT, che sono identici.

In particolare, con Clustal Omega sono individuate delle mutazioni nelle posizioni 5175, 6353, 28882, 29687 e 29733 della sequenza 6 e nelle posizioni 8738, 18743 e 22892 della sequenza 7. Con Kalign e MAFFT invece si hanno delle variazioni nelle posizioni 8738, 18743 e 22892 della sesta sequenza e nelle posizioni 5175, 6353, 28882, 29687 e 29733 della settima.

Tutti i tool hanno però evidenziato questi cambiamenti comuni fra più sequenze:

- Nelle sequenze 2 e 3 nelle posizioni 9476, 14804, 25978, 28143, 28656, 28862

- Nelle sequenze 1, 2 e 3 in posizione 8781
- Nelle sequenze 4, 7 e 6 in posizione 20267
- Nelle sequenze 1, 4, 5, 6, 7 nelle posizioni 240, 3036, 14407, 23402

Analisi orizzontale

Nell'analisi orizzontale sono state selezionate le ultime sequenze considerate nelle analisi verticali dei singoli paesi, quindi le più recenti al momento della scelta, e sono state allineate sempre con la sequenza di riferimento. Anche questi risultati sono consultabili nell'appendice B della relazione.

I tre tool hanno fornito risultati identici e sono presenti delle variazioni comuni fra sequenze di paesi differenti, in particolare:

- Nella sequenza russa e in quella spagnola si ha la stessa mutazione in posizione 20267
- In tutte le sequenze si ha la stessa mutazione nelle posizioni 240, 3036, 14407 e 23402

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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | _____ |
| 2_USA—EPI_ISL_426291 | 0 | 30 | ATTAAGGTTATACCTCCAG 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 | CCATGTGATTAAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | _____ |

| | | | | |
|----------------------|-------|-----|--|---|
| 3_USA—EPI_ISL_421365 | 0 | 55 | ATTAAGGTTATACCTCCC AGGTAAACCAACCAACT TTCGATCTCTGTA | |
| 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 TAATGTGTAAAATTAAATTAGT AGTGCTATCCCCATGTGATTTA ATAGCTCTTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | |
| 4_USA—EPI_ISL_421594 | 0 | 55 | ATTAAGGTTATACCTCCAG GTAACAAACCAACCAACTTCG ATCTCTGTA | |
| 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 | TGAACAAATGCTAGGGAGAGC TGCCTATATGGAAGAGCCCTA ATGTGTAAAATTAAATTAGTA GTGCTATCCCCATGTGATTTA ATAGCTCTTAGGAGAATGAC AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | |
| 5_USA—EPI_ISL_426309 | 0 | 25 | ATTAAGGTTATACCTCCA 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 |
| | | | TAATAGCTTCTTAGGAGAATG | |
| 5_USA—EPI_ISL_426309 | 29846 | 56 | ACAAAAAAA AAAAAAA | |
| 6_USA—EPI_ISL_428767 | 0 | 9 | ATTAAAGGT | NNNNNNNN |
| 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 |

| | | | | |
|----------------------|-------|-----|---|--|
| | | | ATTAAGGTTATACCTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTCTTAGATCTGT TCTCTAACGAACCTTAAAT CTGTGTGGCTGTCACTCGGCT GCATGCTTAGTGCACTCACGC AGTATAATTAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 9_USA—EPI_ISL_435547 | 0 | 136 | | NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 |
| | | | CTGACACACGTTATGTGCTCATG GATGGCTCTATTATTCAATTCCCT AACACCTACCTTGAAGGTTCTGT TAGAGTGGTAACAACTTTGATT CTGAGTACT | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 9_USA—EPI_ISL_435547 | 9113 | 102 | | NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | ————— |
| 2_USA—EPI_ISL_426291 | 0 | 30 | ATTAAAGGTTATACCTTCCC 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 | CCATGTGATTTAATAGCTT CTTAGGAGAACAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAA | ————— |
| 3_USA—EPI_ISL_421365 | 0 | 55 | ATTAAAGGTTATACCTTCC 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 |

| | | | | | |
|----------------------|-------|-----|--|---------------------------------|----------|
| | | | | AGCTGCCTATATGGAAGAGCC | |
| 3_USA—EPI.ISL.421365 | 29780 | 122 | | CTAATGTGAAAATTAAATTAA | |
| | | | | GTAGTGCTATCCCCATGTGATT | |
| | | | | TTAATAGCTTCTTAGGAGAATG | |
| | | | | ACAAAAAAA AAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAA | |
| 4_USA—EPI.ISL.421594 | 0 | 55 | | ATTAAAGGTTATACCTTCCA | |
| | | | | 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 |
| | | | | TGAACAATGCTAGGGAGAGCTG | |
| | | | | CCTATATGGAAGAGCCCTAATGT | |
| 4_USA—EPI.ISL.421594 | 29763 | 139 | | GTAAAATTAAATTAGTAGTGCTA | |
| | | | | TCCCCATGTGATTAAATAGCTTC | |
| | | | | TTAGGAGAATGACAAAAAAA AAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAA | |
| 5_USA—EPI.ISL.426309 | 0 | 25 | | ATTAAAGGTTATACCTCCAGGT | |
| 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 |
| | | | | TAATAGCTTCTTAGGAGAATGA | |
| 5_USA—EPI.ISL.426309 | 29846 | 56 | | CAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | |
| 6_USA—EPI.ISL.428767 | 0 | 9 | | ATTAAAGGT | NNNNNNNN |
| 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 | ATTAAGGTT | 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 | | 136 | ATTAAGGTTTATAACCTTCCC AGGTAACAAACCAACCAACT TTCGATCTTGTAGATCTGTT CTCTAACGAACCTTAAATC TGTGTGGCTGTCACTCGGCTG CATGCTTAGTGCACTCACGCA GTATAATTAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 ACTTTGATTCTGAGTACT | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | |
| 2_USA—EPI.ISL_426291 | 0 | 30 | ATTAAAGGTTTACCTTCCCAG 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 | CCATGTGATTTAACAGCTTC TTAGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | |
| 3_USA—EPI.ISL_421365 | 0 | 55 | ATTAAAGGTTTACCTTCCC 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 |

| | | | | |
|----------------------|-------|-----|--------------------------|-----------|
| | | | AGCTGCCTATATGGAAGAGCC | |
| 3_USA—EPI.ISL_421365 | 29780 | 122 | CTAATGTGAAAATTAAATTTA | |
| | | | GTAATGCTATCCCCATGTGATT | |
| | | | TTAATAGCTTCTTAGGAGAACATG | |
| | | | ACAAAAA AAAAA | |
| | | | AAAAA | |
| 4_USA—EPI.ISL_421594 | 0 | 55 | ATTAAAGGTTATACCTTCCCA | |
| | | | 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 |
| | | | TGAACAATGCTAGGGAGAGC | |
| | | | TGCCTATATGGAAGAGCCCTA | |
| 4_USA—EPI.ISL_421594 | 29763 | 139 | ATGTGAAAATTAAATTTAGTA | |
| | | | GTGCTATCCCCATGTGATTAA | |
| | | | ATAGCTTCTTAGGAGAACATGAC | |
| | | | AAAAA AAAAA | |
| | | | AAAAA | |
| 5_USA—EPI.ISL_426309 | 0 | 25 | ATTAAAGGTTATACCTTCCCA | |
| | | | 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 |
| | | | TAATAGCTTCTTAGGAGAACATG | |
| 5_USA—EPI.ISL_426309 | 29846 | 56 | ACAAAAA AAAAA | |
| | | | AAAAA | |
| 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 | ATTAAGGTT | 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 | | | ATTAAGGTTTACCTTCCC AGGTAAACCAACCAAC TTTCGATCTCTGTAGATCTG TTCTCTAACGAACCTTAAAA TCTGTGTGGCTGTCACTCGGC TGCGATGCTTAGTGCACTCACG CAGTATAATTAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 TCCTAACACACTACCTTGAAGG TTCTGTTAGAGTGGTAACAAC TTTGATTCTGAGTACT | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 |

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 |

| | | | | | |
|-------------------------|-------|-----|--|--|--|
| | | | | TTTAAAATCTGTGTGGCTGT CACTCGGCTGCATGCTTAGT GCACTCACGCAGTATAATT ATAACTAATTACTGTCGTTG ACAGGACACGAGTAACTCG TCTATCTTCTGCAGGCTGCT TACGGTTTCGTCGTGTTGC AGCCGATCATCAGCACATCT AGGTTTCGTCCGGGTGTGACC | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 75 | 180 | | C | T |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 3036 | 1 | | C | T |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 14407 | 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 | | GACAAAAAAAAAAAAAA AAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNN 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 | | AAAAA AAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNN 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 | | AAAAA AAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN |

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 |

| | | | | | |
|-------------------------|-------|-----|--|---|--|
| | | | | TTTAAAATCTGTGTGGCTGTC ACTCGGCTGCATGCTTAGTGC ACTCACGCAGTATAATTAAATAA CTAATTACTGTCGTTGACAGGA CACGAGTAACTCGTCTATCTTC TGCAGGCTGCTTACGGTTCGT CCGTGTTGCAGCCGATCATCAG CACATCTAGGTTCGTCCGGGT GTGACC | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 75 | 180 | | C | T |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 3036 | 1 | | C | T |
| 5_Russia—EPI_ISL_427334 | 14407 | 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 | | GACAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 | | AAAAAAA AAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN |
| 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 | | AAAAAAA AAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNN |

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 | AAAAAAAAAAAAAA | ————— |
| 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 | ATTAAAGGTTATACCTTCCCAGGT | ————— |
| 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 | AGGAGAATGACA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | ————— |
| 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 | ATTAAGGTTATACCTTCC CAGGTAACAAACCAACC | 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 AAAAAAAAAAAAA | ————— ————— |
| 8_Italy—EPI_ISL_436729 | 1 | 9 | ATTAAGGT | NNNNNNNN |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAA | ----- |
| 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 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | ----- |
| 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 | ATTAAGGTTATACCTTC CCAGGTAACAAACCAACC | NNNNNNNNNNNNNNNN 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 | AAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA | ————— |
| 8_Italy—EPI_ISL_436729 | 1 | 9 | ATTAAGGT | NNNNNNNN |
| 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 AAAAAAAAAAAAAA | ————— |

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 | AAAAAAAAAAAAAA | ----- |
| 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 | ATTAAGGTTATA 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 | ATTAAGGTTTACCTCC CAGGTAACAAACCAACC | NNNNNNNNNNNNNNNN 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 | 29878 | 25 | AAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAA | ————— |
| 8_Italy—EPI_ISL_436729 | 1 | 9 | ATTAAAGGT | NNNNNNNNNN |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAA 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 | |
| | | | CCTAATGTGAAAATTAAATT | |
| 1_Spain—EPI_ISL_418251 | 29780 | 122 | TTAGTAGTGCTATCCCCATG | |
| | | | TGATTTTAATAGCTTCTTAG | |
| 1_Spain—EPI_ISL_418251 | 29780 | 122 | GAGAATGACAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | |
| 2_Spain—EPI_ISL_419240 | 8781 | 1 | AA | |
| | | | 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 | |
| | | | TGTAAAATTAATTAGTAGTG | |
| 2_Spain—EPI_ISL_419240 | 29786 | 116 | CTATCCCCATGTGATTAAATA | |
| | | | GCTTCTTAGGAGAATGACAA | |
| 2_Spain—EPI_ISL_419240 | 29786 | 116 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | AAAAAAAAAAAAAA | |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 0 | 54 | ATTAAAGGTTTATACCTCCC | |
| | | | AGGTAACAAACCAACCAACT | |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 2000 | 1 | TTCGATCTCTTGT | |
| | | | G | A |

| | | | | |
|------------------------|-------|-----|------------------------|----------------------|
| 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 |
| | | | AGCTTCTTAGGAGAATGACA | |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 29850 | 52 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | AAAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | ATTAAAGGTTTATACCTTCC | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 0 | 47 | CAGGTAACAAACCAACCAA | |
| | | | CTTCGAT | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 240 | 1 | C | T |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 3036 | 1 | C | T |
| | | | TCTGCGGTATGTGGAAAGGT | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | TATGGCTGTAGTTGTGATCA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | ACTCCGCGAACCCATGCTTC | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | AGTCAGCTGATGCACAATCG | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | TTTTAAACGGGTTGCGGT | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | GTAAGTGCAGCCGTCTTAC | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 13379 | 227 | ACCGTGCGGCACAGGCACTA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | GTACTGATGTCGTATACAGG | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | GCTTTGACATCTACAATGA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | TAAAGTAGCTGGTTTGCTA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | AATTCCCTAAAAACTAATTGT | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | TGTCGCT | 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 |
| | | | AGCTTCTTAGGAGAATGACA | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 29850 | 52 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | AAAAAAAAAAAAAAA | |
| 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 AAATTAATTAGTGA GTGCTATCCCCATGT GATTTTAATAGCTTC TTAGGAGAATGACAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA |
| 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 CTAATGTGTAAATT AATTTTAGTAGTGCT ATCCCCATGTGATT TAATAGCTTCTTAGG AGAATGACAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 0 | 54 | ATTAAAGGTTATACC TTCCCAGGTAACAAAC CAACCAAATTCGATC TCTTGT | |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 2000 | 1 | G | A |

| | | | | | |
|------------------------|-------|-----|--|-------------------|-----------------|
| | | | | CCATGTGATTTAATA | |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 29835 | 67 | | GCTTCTTAGGAGAAC | |
| | | | | ACAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAA | |
| | | | | AAAAA | |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 0 | 49 | | ATTAAAGGTTTACCT | |
| | | | | TCCCAGGTAACAAACC | |
| | | | | AACCAACTTCGATCT | |
| 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 | NNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TTCAAGTGAAATCAT | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | AGGATACAAGGCTAT | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TGATGGTGGTGTAC | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TCGTGACATAGCATT | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TACAGATACTTGT | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TGCTAACAAACATGC | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TGATTTGACACATG | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GTTTAGCCAGCGTGG | NNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TGGTAGTTATACTAA | NNNNNNNNNNNNNNN |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 8807 | 74 | | ACAAAGCTTGCCCA | NNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TTGATTGCTGCAGTC | NNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | ATAACAAGAGAACGTG | NNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GGTTTTGTCGTGCCCTG | NNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GTTTGCCCTGGCACG | NNNNNNNNNNNNNN |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 8888 | 5 | | GCACA | NNNN |
| 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 | |
| | | | | TGACAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAA | |
| | | | | AAAAAA | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 0 | 47 | | ATTAAAGGTTTACCT | |
| | | | | TTCCCAGGTAACAAAC | |
| | | | | CAACCAACTTCGAT | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 240 | 1 | | C | T |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 3036 | 1 | | C | T |

| | | | | |
|------------------------|-------|---|---|---|
| 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 AAAATTAAATTAGT AGTGCTATCCCCATG TGATTTAATAGCTT 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 | | | CTATATGGAAGAGGCC CTAATGTGTAAAATT AATTTAGTAGTGCT ATCCCCATGTGATT TAATAGCTCTTAGG AGAATGACAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAA | _____ |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 0 | 54 | ATTAAGGTTATACCT TCCCAGGTAACAAACCA ACCAACTTCGATCTCTGT | _____ |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 2000 | 1 | G | A |

| | | | | | |
|------------------------|-------|-----|--|-------------------|------------------|
| | | | | CCATGTGATTAAAT | |
| 3_Spain—EPI_ISL_419685 | 29835 | 67 | | AGCTTCTTAGGAGA | |
| | | | | ATGACAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAAAAA | |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 0 | 49 | | ATTAAGGTTTATAC | |
| | | | | CTTCCCAGGTAACAA | |
| | | | | ACCAACCAACTTCG | |
| | | | | ATCT | |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 240 | 1 | | C | T |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 3036 | 1 | | C | T |
| | | | | TAAACATACTGACTTT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TCAAGTGAAATCATA | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GGATACAAGGCTATT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GATGGTGGTGTCACT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 8655 | 150 | | CGTGACATAGCATCT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | ACAGATACTTGTTTT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GCTAACAAACATGCT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GATTTGACACATGG | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TTTAGCCAGCGTGGT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GGTAGTTATACTAA | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 8807 | 74 | | ACAAAGCTGCCCAT | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TGATTGCTGCAGTC | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | TAACAAAGAGAACGTGG | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GTTTGTCTGCCTG | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| | | | | GTTCGCCTGGCACG | NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 8888 | 5 | | GCACA | NNNN |
| 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 |
| | | | | AGCTTCTTAGGAGAA | |
| 4_Spain—EPI_ISL_436301 | 29850 | 52 | | TGACAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAAAAAAAAA | |
| | | | | AAAAAAA | |
| 5_Spain—EPI_ISL_436324 | 0 | 47 | | ATTAAGGTTTATAC | |
| | | | | CTTCCCAGGTAACAA | |
| | | | | ACCAACCAACTTCG | |
| | | | | AT | |

| | | | | |
|------------------------|-------|---|---|---|
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA | ————— |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN |

| | | | | |
|----------------------|-------|---|---|--|
| 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 | | | ATTAAAGGTTTATACCTTCC CAGGTAAACAAACCAACCAA CTTCGATCTCTTAGATCT GTTCTCTAACGAACCTTAAA ATCTGTGTGGCTGTCACTCGG CTGCATGCTTAGTGCACTCAC GCAGTATAATTAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 | | | CTGACACACGTTATGTGCTC ATGGATGGCTCTATTATTCAA TTTCCTAACACCTACCTTGAA GGTTCTGTTAGAGTGGTAACA ACTTTGATTCTGAGTACT | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNNNN 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA | ————— |
| 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 | AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNN |
| 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 |

MAFFT

| ID_SEQ | POS | LENGTH | REFERENCE | MUTATION |
|-----------------------|-------|--------|------------------------------------|------------------------------------|
| Italy—EPI_ISL_436729 | 0 | 9 | ATTAAGGT | 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 AAAAAAAAAAAAAAA | NNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 ACCAACCAACTTCG ATCTCTGTAGATCTG TTCTCTAACGAACCT TAAAATCTGTGTGGCT GTCACTCGGCTGCATG CTTAGTGCACTCACGC AGTATAATTAA | NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 CTATTATTCAATTCC TAACACCTACCTTGA AGGTTCTGTTAGAGT GGTAACAACCTTTGA TTCTGAGTACT | NNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN NNNNNNNNNNNNNNNN |
| 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 |