

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang diperoleh serta pembahasannya maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pada reseptor Mpro/3CLpro senyawa yang bersifat aktif dapat menghambat infeksi virus dan memiliki nilai *binding affinity* terkecil yaitu senyawa Amentoflavone dan Taiwanhomoflavone A dengan nilai sebesar -9,7 kkal/mol dan juga senyawa Catechin Gallate yang memiliki nilai *binding affinity* sebesar -9,1 kkal/mol. Pada reseptor *spike glikoprotein* senyawa yang memiliki nilai *binding affinity* terkecil yaitu senyawa Withaferin A dengan nilai sebesar -8,0 kkal/mol. Pada reseptor ACE2 senyawa yang dapat menghambat infeksi virus yaitu senyawa Amentoflavone, Catechin Gallate, Epicatechin gallate, Lactucopicrin 15-Oxalate, Rosmanol, Silibin, Withaferin A, dan Taiwanhomoflavone A dengan nilai binding affiniry sebesar -8,0 hingga -8,9 kkal/mol. Senyawa 1,8-sineol memiliki nilai binding affinity sebanding yaitu -4,2 hingga -4,6 kkal/mol pada ketiga reseptor.
2. Dari hasil *molecular docking* yang dilakukan adanya ikatan antara senyawa ligan dan reseptor pada residu asam amino. Pada reseptor Mpro/3CLpro, residu asam amino Cys 145, Ser 144 dan Glu 166 merupakan residu yang paling sering berinteraksi dengan ligan. Pada reseptor *spike glikoprotein*, residu asam amino Val 367 merupakan residu yang paling sering berinteraksi

dengan ligan. Pada reseptor ACE2, residu asam amino Trp 349 dan Asp 350 merupakan residu yang paling sering berinteraksi dengan ligan.

## 5.2 Saran

Disarankan kepada pihak-pihak yang ingin melakukan penelitian serupa atau yang ingin melanjutkan penelitian ini agar dilakukan pengujian lebih lanjut untuk validasi menggunakan model *in vitro* dan *in vivo* agar diketahui apakan senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan dalam studi untuk penemuan obat maupun vaksin COVID-19.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agung Nugroho. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. *Lambung Mangkurat University Press*, (January 2017), 155.
- Alfaridz, F., & Amalia, R. (2018). Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*, 16(3), 1–9.
- Apriani, F. (2015). Studi *Molecular docking* Senyawa-Senyawa Amidasi Etil Para Metokisinamat Pada Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (Ppar $\gamma$ ), 1–121.
- Dev, A., & Kaur, I. (2020). putih penghambat potensial infeksi virus corona COVID 19 oleh *Molecular docking* studies Abstrak grafis Abstrak Tujuan : Penelitian in silico dirancang untuk mengevaluasi efek Eucalyptol (1 , 8 cineole ), komponen minyak esensial dari minyak kayu putih , , 1–8.
- Dev, S., & Kaur, I. (2020). Bioactive molecules from eucalyptus essential oil as potential inhibitors of COVID 19 corona virus infection by *molecular docking* studies. *Kragujevac Journal of Science*, (42), 29–43. <https://doi.org/10.5937/kgjsci2042029d>
- Di Gennaro, F., Pizzol, D., Marotta, C., Antunes, M., Racalbuto, V., Veronese, N., & Smith, L. (2020). Coronavirus diseases (COVID-19) current status and future perspectives: A narrative review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijerph17082690>
- Ekaputri, A. A. (2015). *Studi Toksisitas Secara In Silico Senyawa Flavanoid dan Alkaloid Daun Justicia gendarussa Burm. f.* Universitas Airlangga.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Kannan, S., Ali Pakeer, P. S. S., Ali, A. S., & Hemalatha, K. (2020). Reply Letter - COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) - Recent trends. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(12), 6482–6483. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_202006\\_21629](https://doi.org/10.26355/eurrev_202006_21629)
- Khan, A. U., & Gilani, A. H. (2015). Natural Products Useful in Respiratory Disorders: Focus on Side-Effect Neutralizing Combinations. *Phytotherapy Research*, 29(9), 1265–1285. <https://doi.org/10.1002/ptr.5380>
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar : Fitokimia*.
- Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., ... Wang, X. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, 581(7807), 215–220. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2180-5>

Li, H., Liu, S., Yu, X., Tang, S., & Tang, C. (2020). Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information , (January).

Ma'arif Z.A, B. (2015). *Aktivitas Ekstrak n-Heksana dan Fraksi Hasil Pemisahan Daun Marsilea crenata Presl. terhadap Diferensiasi Sel Preosteoblas MC3T3-E1 melalui Pengukuran Alkaline phosphatase In vitro.* UNIVERSITAS AIRLANGGA.

Makatita, A. F., Wardhani, R., & Nuraini. (2020). Jurnal abdi. *Riset In Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging*, 2(1), 59–67.

Rachmania, R. A., Hariyanti, H., Zikriah, R., & Sultan, A. (2018). Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum L.*) pada Penghambatan Enzim Siklookksigenase (COX). *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(2), 124–136. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i2.7686>

S, S. (2012). *Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase.* Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar.

Setyawan, A. D. (2008). Biflavonoid compounds of *Selaginella Pal. Beauv.* and its benefit. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 9(1), 64–81. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090115>

Simanjuntak, K. (2012). Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan, 135–140.

Susilo, A., Rumende, C. M., Pitoyo, C. W., Santoso, W. D., Yulianti, M., Herikurniawan, H., ... Yunihastuti, E. (2020). Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(1), 45. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v7i1.415>

Ubani, A., Agwom, F., Shehu, N. Y., Luka, P., Umera, E. A., Umar, U., ... Aguiyi, J. C. (2020). *Molecular docking Analysis Of Some Phytochemicals On Two SARS-CoV-2 Targets.* *BioRxiv*, 2020.03.31.017657. <https://doi.org/10.1101/2020.03.31.017657>

Utomo, R. Y., Ikawati, M., & Meiyanto, E. (2020). Revealing the Potency of Citrus and Galangal Constituents to Halt SARS-CoV-2 Infection, 2(March), 1–8. <https://doi.org/10.20944/preprints202003.0214.v1>

W, L. A. (2020). Bolstering Your Defenses Against COVID-19: An “Epigenetic” Diet. *What Is Epigenetic.*

WHO. (2020). Interim guidance April 2020: Water, sanitation, hygiene and waste management for the COVID-19 virusInterim guidance April 2020. *World Health*

*Organisation*, (April), 1–9.

World Health Organization. (2020). Transmisi SARS-CoV-2 : implikasi terhadap kewaspadaan pencegahan infeksi. *Pernyataan Keilmuan*, 1–10. Retrieved from who.int

Yuniarti, L., Tejasari, m dan purbaningsih, W. (2020). *Bunga Rampai Artikel Penyakit Virus Korona ( COVID-19 ) Editor : Titik Respati. Kopidpedia*.

Zarah, J., & No, V. (2018). Struktur , Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure , Bioactivity And Antioxidant Of Flavonoid, 6(1), 21–29.

## LAMPIRAN-LAMPIRAN

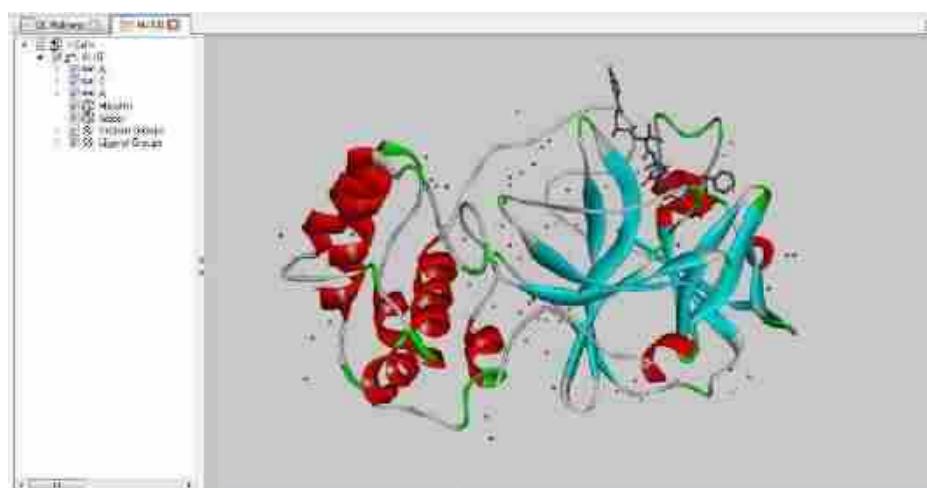
### Lampiran 1. Prosedur kerja *molecular docking* dengan Autodock vina

- a. Penyiapan reseptor
1. Pengunduhan makromolekul dari Protein Data Bank dengan situs <https://www.rcsb.org/>. identitas molekul tersebut yaitu Mpro/3CLpro (6LU7), Spike glikoprotein (7BZ5), dan ACE2 (6M0J). makromolekul diunduh dalam format .pdb.



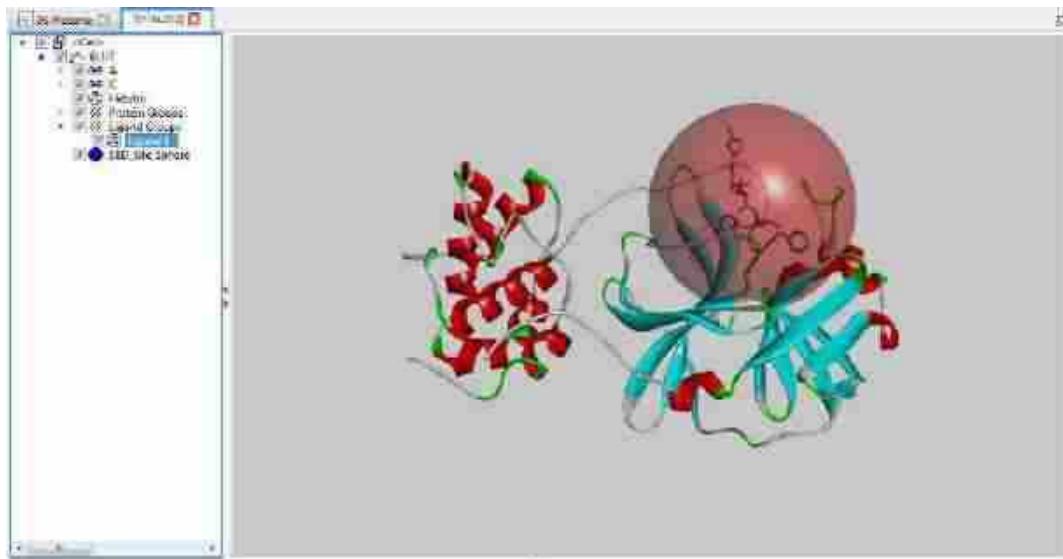
Pilih ‘Download Files → PDB Format’

2. Pemisahan makromolekul dari molekul air dan ligan dengan discovery studio. Disimpan dalam format .pdb

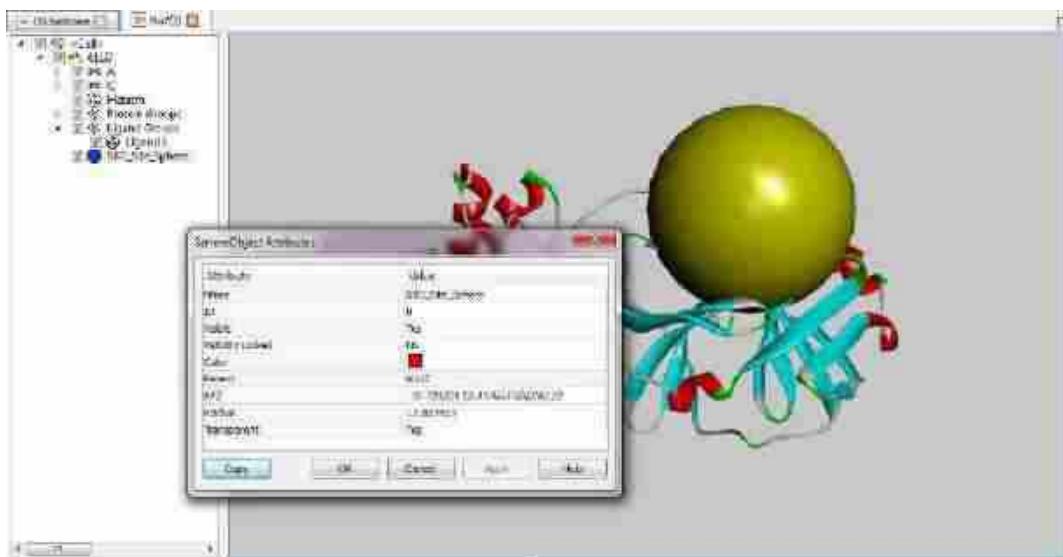


Pilih ‘Water → Delete’

3. Pengaturan *grid box* yaitu nilai center X, Y, dan Z. disimpan dalam format .pdb



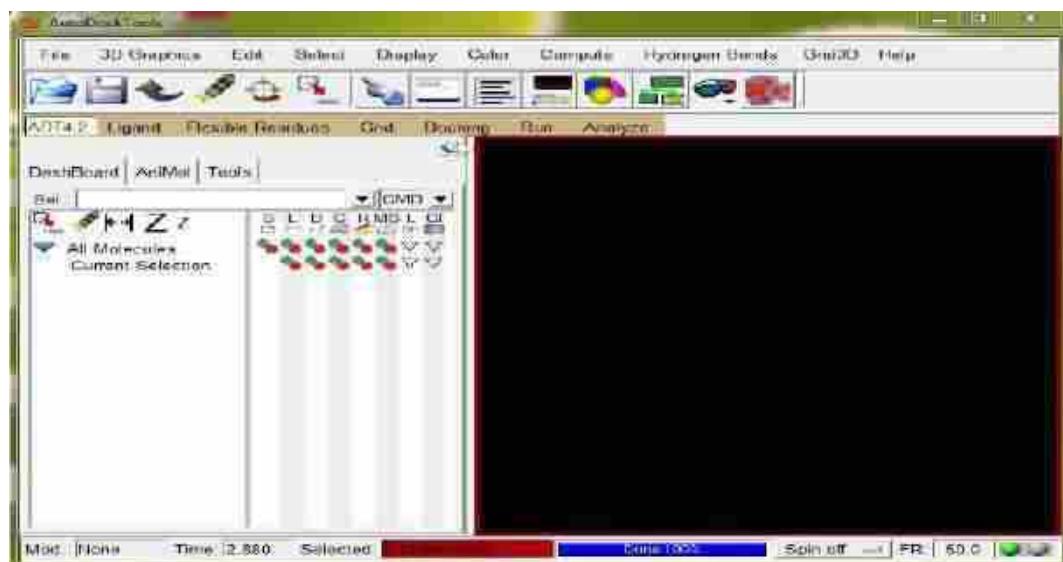
Pilih ‘Ligan Groups → Define and Edit Binding Site → From Current Selection’



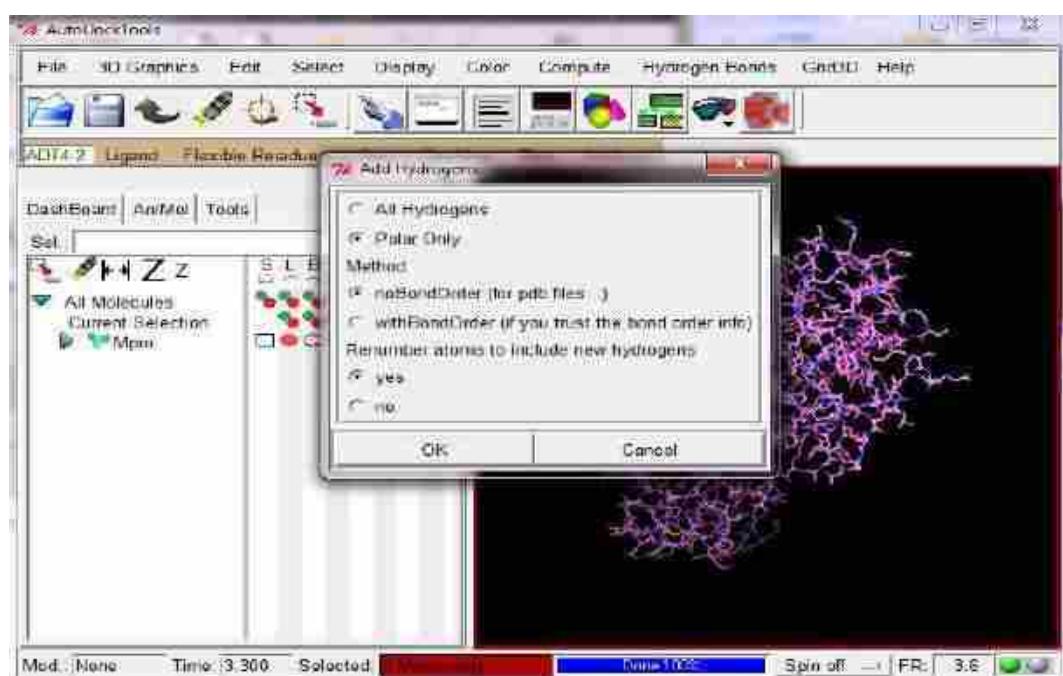
Klik Kanan pilih ‘Attributes’

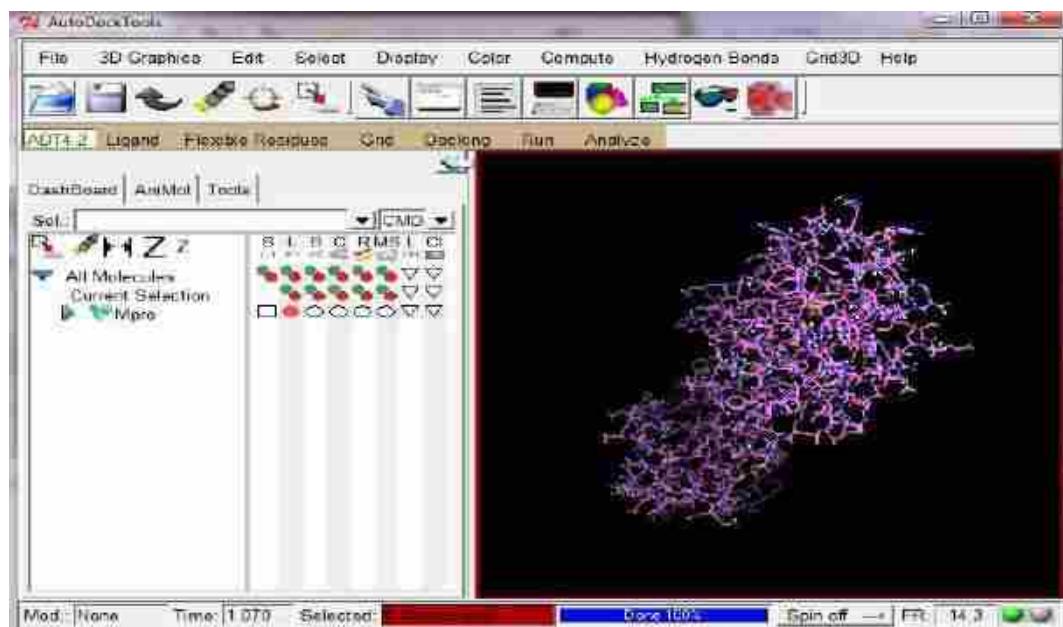
Save as ‘Mpro.pdb’

4. Optimasi Makromolekul dengan Autodock tools yaitu penambahan atom hidrogen. Disimpan dalam format .pdbqt

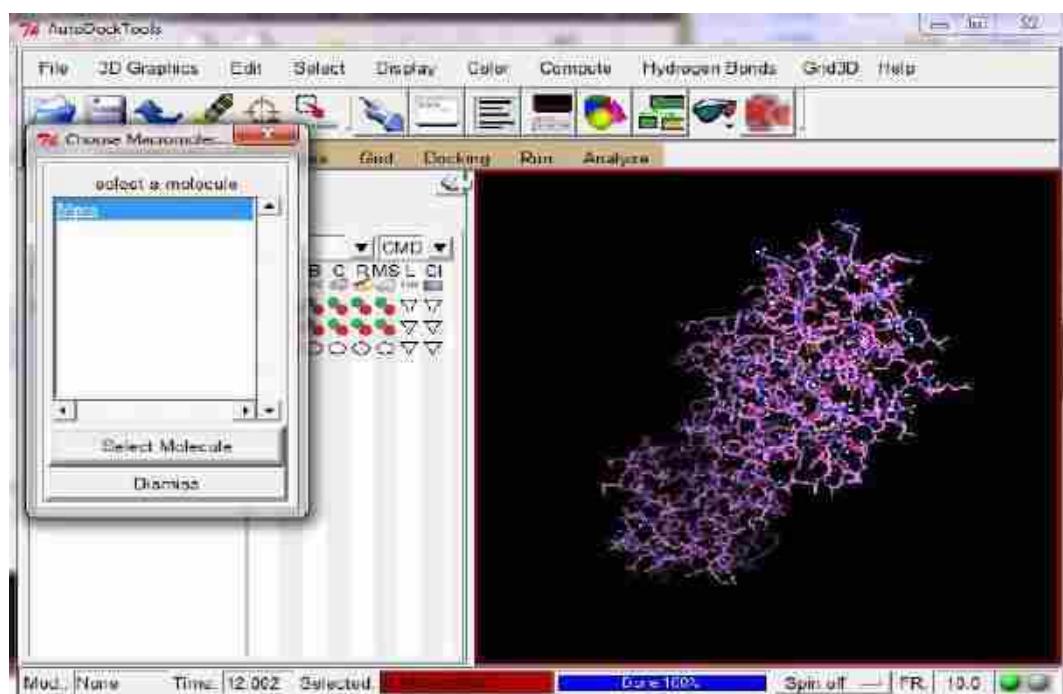


Pilih 'File → Read Molecule', pilih molekul yang akan digunakan.





Pilih ‘Edit → Charges → Add Kollman charges’



Pilih ‘ Grid →macromolecule → Choose → Select Molecule → Ok’

Save as ‘Mpro.pdbqt’

- b. Penyiapan Ligan
1. Pengujian Hukum Lima Lipinski dengan SWISS ADME dengan situs <http://www.swissadme.ch/index.php>.

2. Pengunduhan struktur 3D dengan format .sdf dari Pubchem dengan situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

PubChem Eucalyptol (Compound)

Structure

Chemical Safety

Molecular Formula

Synonyms

Molecular Weight

Modif. Create

3D Conformer

GHS Gender Structures

Hazardous

! Toxic

Harmful

Corrosive

Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Eucalyptol

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O

Chemical name  
Eucalyptol  
Caryophyllene  
4,8-dimethyl-1,2,3,7,8-penta-2,4-dien-1-ol

470-32-7

110-01-1

154.25 g/mol

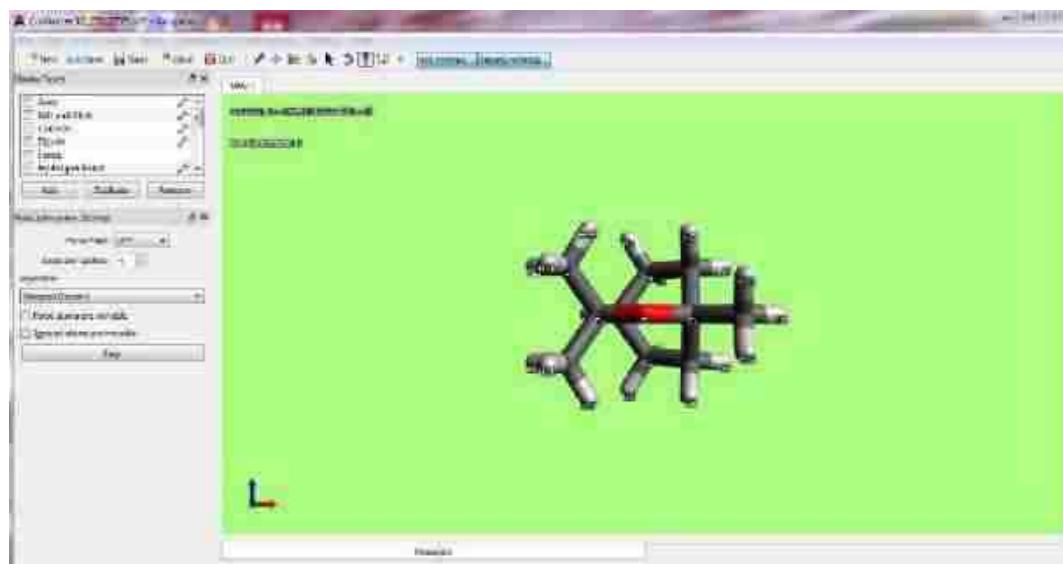
Download

CONTENTS

- General Summary
- Chemical
- Chemical and Physical Properties
- 毒理学信息
- 生态学信息
- 环境和废物
- 物理和运输信息
- 危险和紧急情况
- 火灾和爆炸性
- 毒性和易燃性
- 健康危害
- 储存

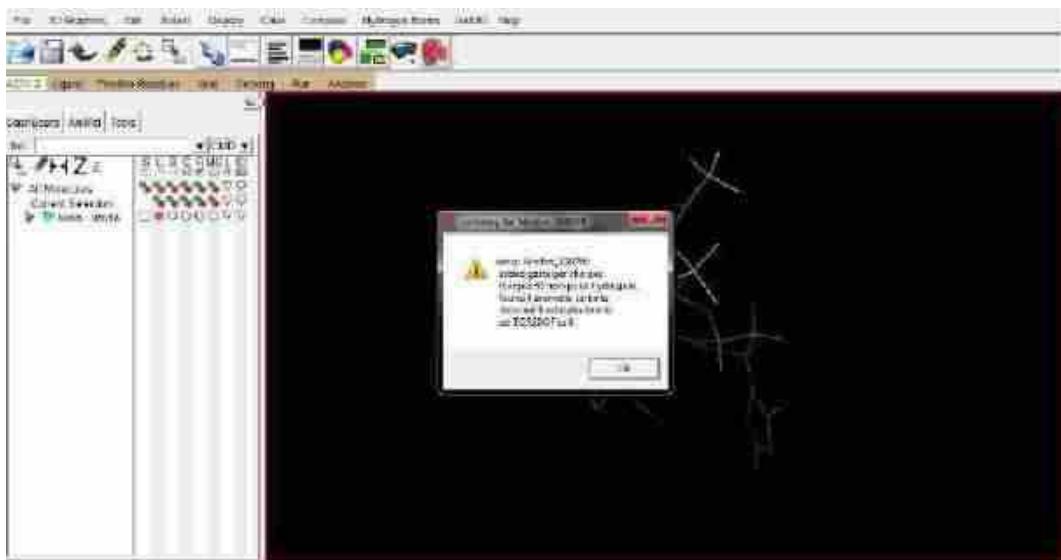
Pilih ‘Download → 3D Conformer → SDF → Save’

3. Format ligan diubah menjadi .pdb dengan Advogardo

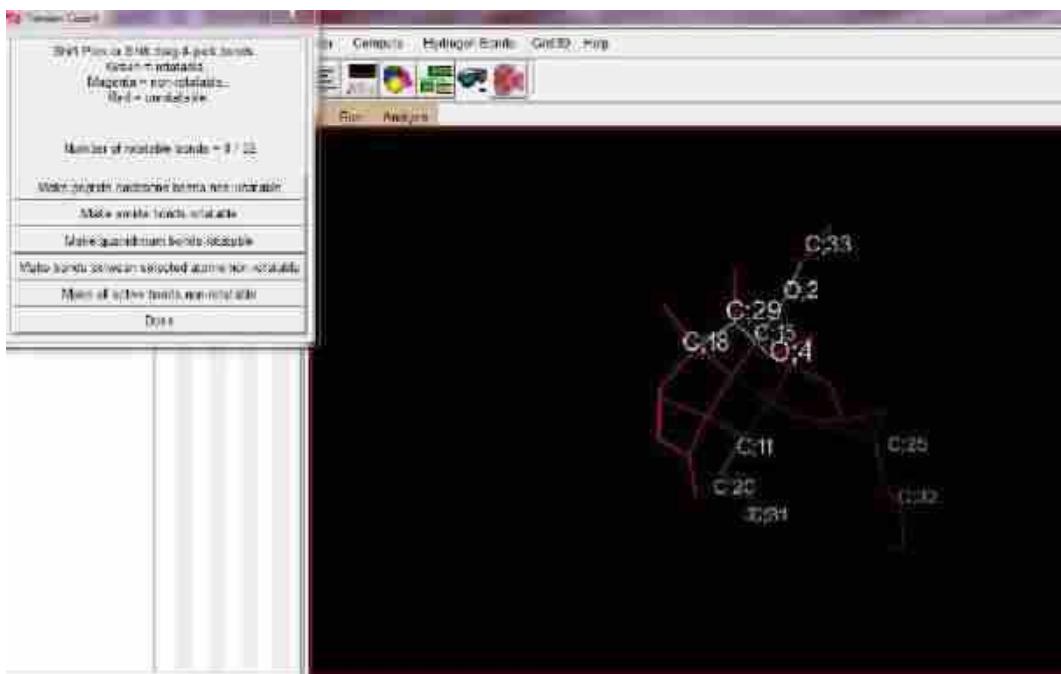


Pilih Save as ‘Ligan.pdb’

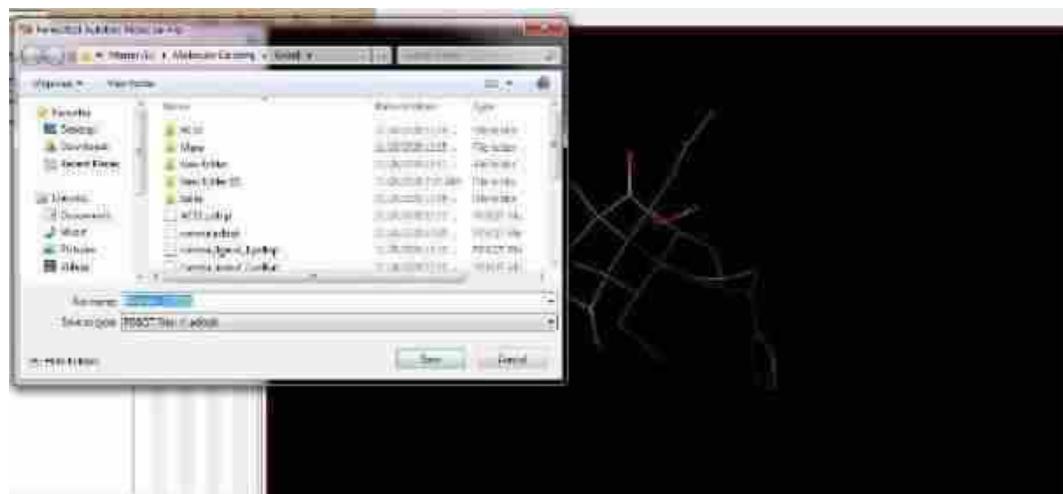
#### 4. Optimasi struktur ligan dengan Autodock tools



Pilih ‘Ligand → Input → Open → pilih ligan yang akan dipakai → Open → Ok’



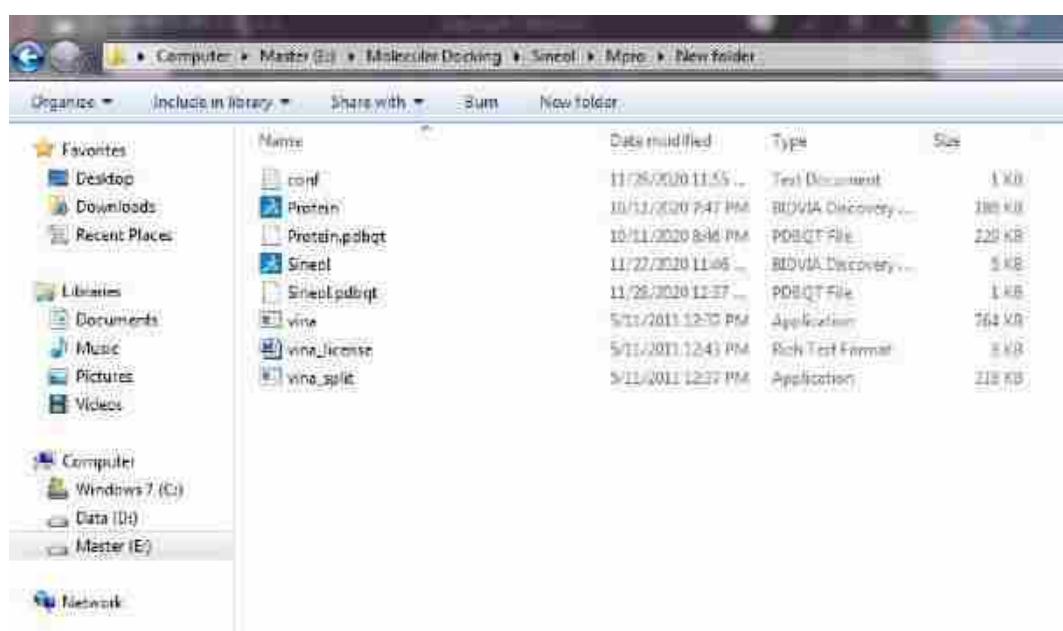
Pilih ‘Torsion Tree → Choose Torsions → Done’



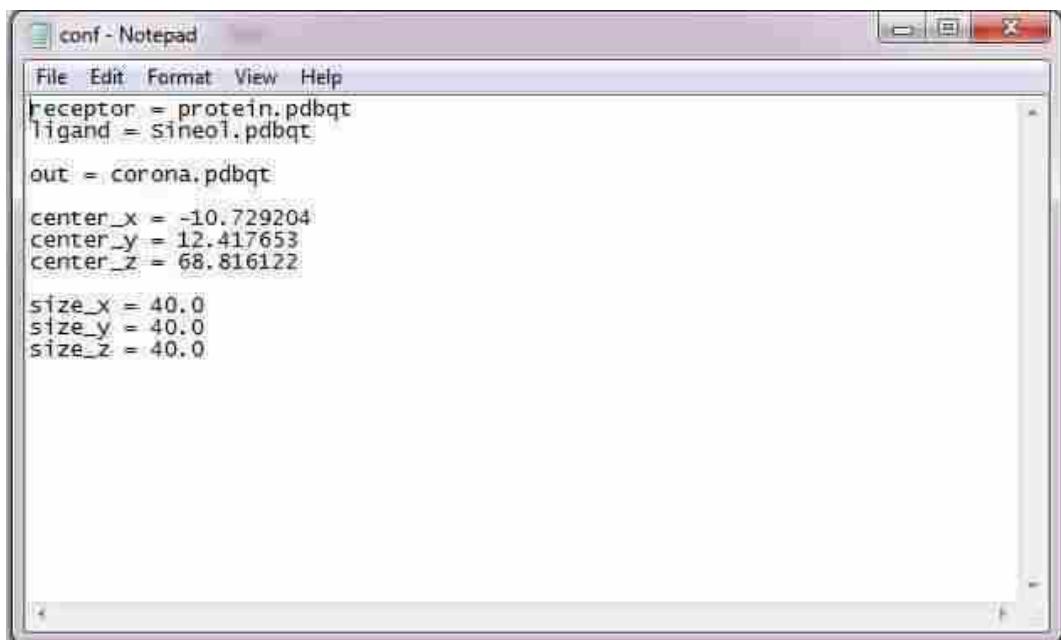
Pilih ‘Ligan → Output → Save as PDBQT → save’

c. *Molecular docking dengan Autodock vina*

1. Menyimpan file ligan dan protein yang telah disiapkan dalam satu file kerja

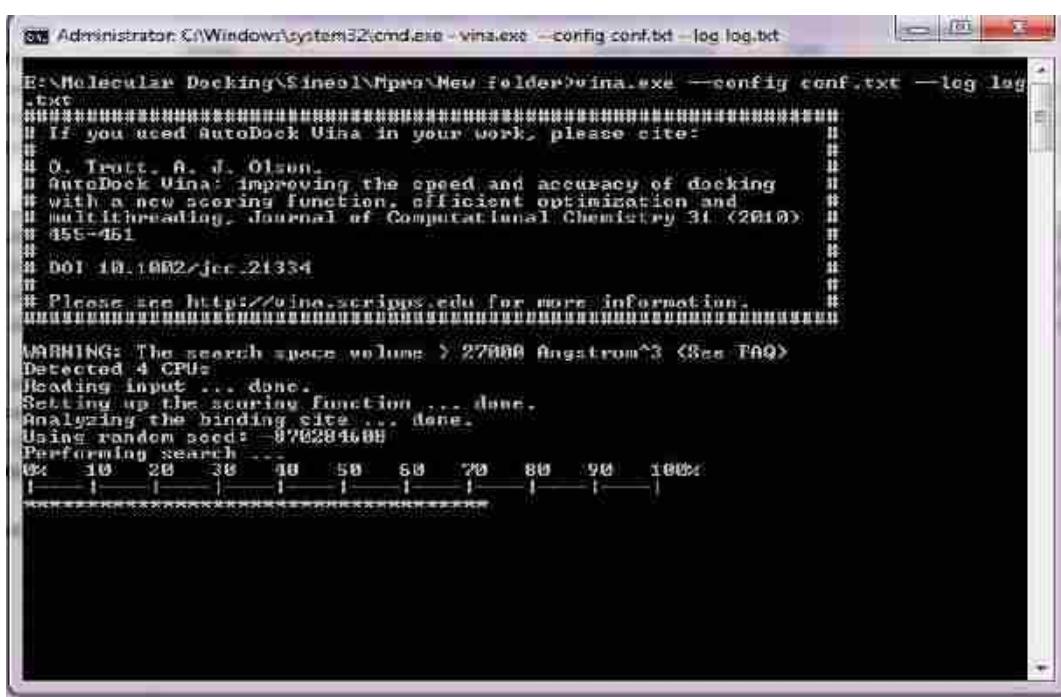


2. Membuat file konfigurasi *vina* pada notepad, disimpan dengan nama conf.



```
conf - Notepad
File Edit Format View Help
receptor = protein.pdbqt
ligand = sineol.pdbqt
out = corona.pdbqt
center_x = -10.729204
center_y = 12.417653
center_z = 68.816122
size_x = 40.0
size_y = 40.0
size_z = 40.0
```

3. Autodock *vina* dijalankan melalui perintah *command prompt*



```
Administrator: C:\Windows\system32\cmd.exe -vina.exe --config conf.txt --log log.txt
E:\Molecular Docking\Sineol\Open>New folder>vina.exe --config conf.txt --log log.txt
=====
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI: 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 4 CPU(s).
Loading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 070204608
Performing search ...
[ 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100]
[-----]
```

Tekan ‘Shift + Ctrl + Enter + Tombol kanan pada mouse / tombol kanan pada touchpad → Open command window here’

Ketik perintah ‘*vina.exe –config conf.txt –log log.txt* → Enter’

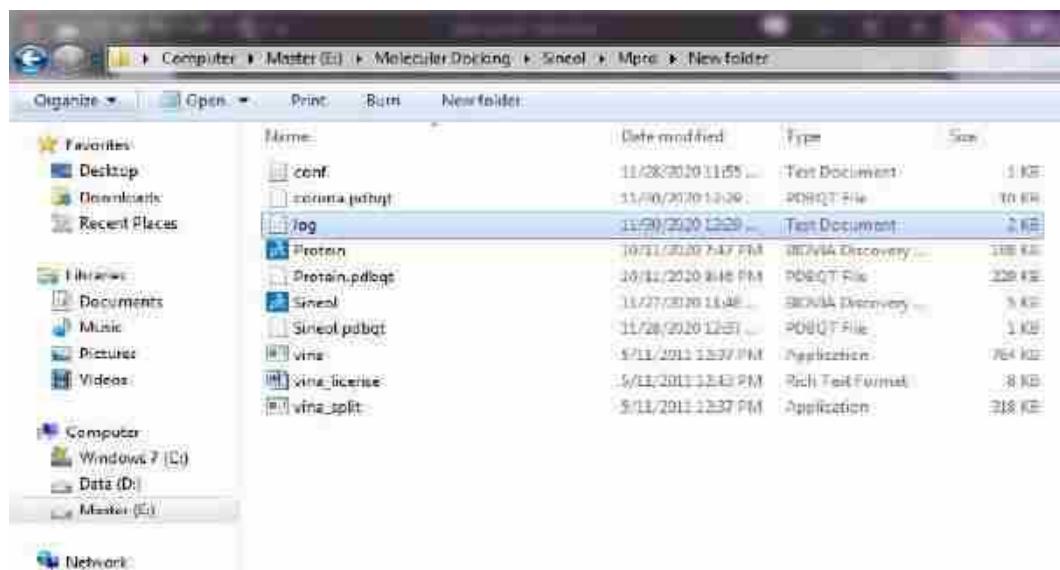
#### 4. Hasil Molecular docking

```

Administrator: C:\Windows\system32\cmd.exe
B\> Molecular Docking\Since\INProteins\Enzider2vina.exe --confG conf.conf --log log
=====
If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
O. Trott, R. J. Olson,
AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
with a new scoring function, efficient optimization and
multicore computing. Journal of Computational Chemistry, 31 (2010),
455-461
DOI: 10.1002/jcc.21394
Please see http://vina.scripps.edu for more information.
=====
WARNING: The search space volume: 5.22900 Angstrom^3 (See PDB)
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding sites ... done.
Using random seed: -828234688
Performing search
    0% 10% 20% 30% 40% 50% 60% 70% 80% 90% 100%
done.
Refining results ... done.
mode | affinity (kcal/mol) | dist from best mode
      | (real/nb) | rmd (1.8) | rmd (n.b.)
      |-----|-----|-----|
1   | -4.2 | 0.000 | 0.000
2   | -4.2 | 1.368 | 0.013
3   | -4.1 | 4.298 | 0.957
4   | -4.1 | 3.629 | 0.929
5   | -4.1 | 1.755 | 0.951
6   | -4.0 | 16.231 | 17.544
7   | -4.0 | 3.761 | 0.980
8   | -3.9 | 0.263 | 0.960
9   | -3.9 | 16.280 | 17.519
Writing output ... done.
B\> Molecular Docking\Since\INProteins\Enz

```

Dalam folder kerja akan muncul folder baru ‘log.txt’ setelah proses *docking* selesai



```

log - Notepad
File Edit Format View Help
#####
# IF you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####

WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -870284608
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
     | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
---+-----+-----+-----+
 1 | -4.2 | 0.000 | 0.000
 2 | -4.2 | 1.528 | 3.043
 3 | -4.1 | 4.200 | 5.957
 4 | -4.1 | 3.699 | 5.420
 5 | -4.1 | 1.755 | 3.451
 6 | -4.0 | 16.231 | 17.544
 7 | -4.0 | 3.961 | 6.380
 8 | -3.9 | 0.963 | 3.360
 9 | -3.9 | 16.283 | 17.519

writing output ... done.

```

## 5. Visualisasi hasil moleculafr docking

```

Administrator: C:\Windows\system32\cmd.exe
E:\Molecular Docking\Simolv\More>vina.exe --config conf.txt --log log.txt
#####
# IF you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####

WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -422811004
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
     | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
---+-----+-----+-----+
 1 | -4.2 | 0.000 | 0.000
 2 | -4.2 | 1.542 | 3.059
 3 | -4.1 | 4.165 | 5.940
 4 | -4.1 | 0.912 | 2.198
 5 | -4.1 | 1.297 | 3.485
 6 | -4.0 | 16.308 | 17.692
 7 | -4.0 | 3.971 | 6.388
 8 | -3.9 | 24.225 | 25.814
 9 | -3.9 | 1.776 | 3.283

writing output ... done.

E:\Molecular Docking\Simolv\More>vina_split --input corona.pdbqt
Prefix for ligands will be corona_ligand_
Prefix for flexible side chains will be corona_flex_
E:\Molecular Docking\Simolv\More>

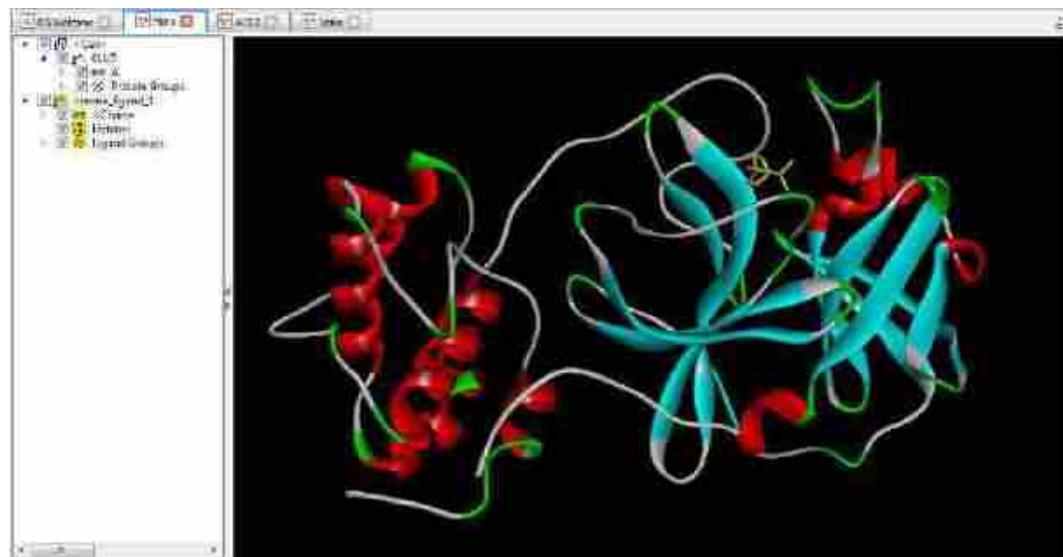
```

Ketik perintah ‘vina\_split –input corona.pdbqt (nama file output yang diiginkan)  
→ enter’

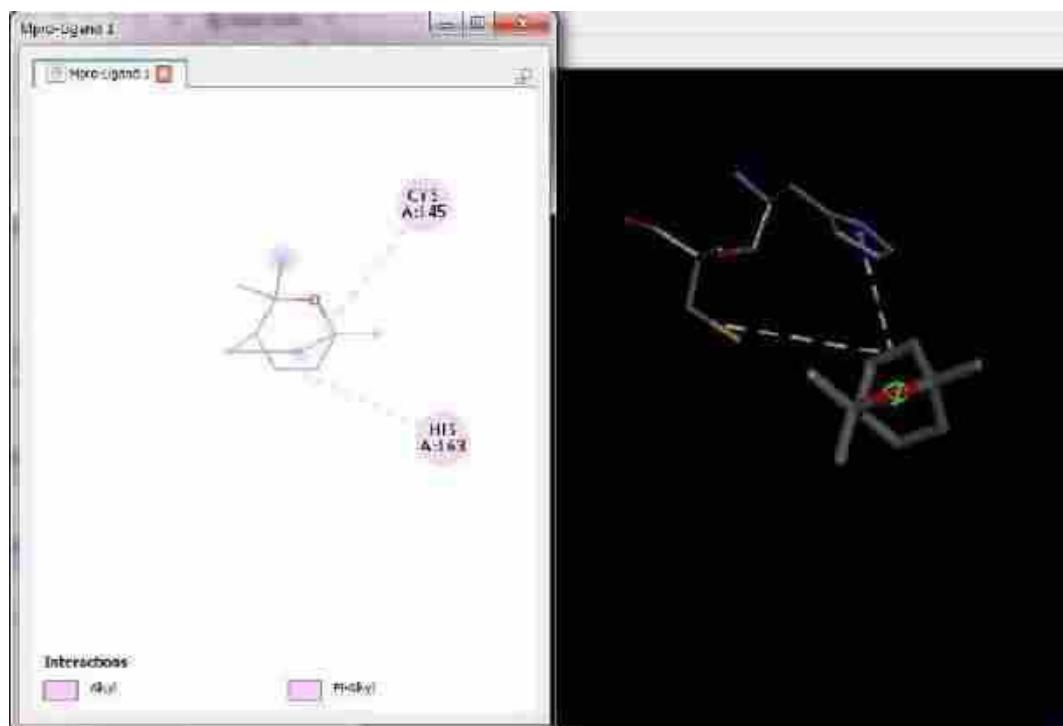
	Name	Date modified	Type	Size
	conf.txt	11/26/2020 11:35	Text Document	1 KB
	corona.pdbqt	11/26/2020 12:01	PDBQT File	10 KB
	corona_ligand_1.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	3 KB
	corona_ligand_2.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	7 KB
	corona_ligand_3.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	3 KB
	corona_ligand_4.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	3 KB
	corona_ligand_5.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	2 KB
	corona_ligand_6.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	3 KB
	corona_ligand_7.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	2 KB
	corona_ligand_8.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	1 KB
	corona_ligand_9.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	2 KB
	coronazinc_ligand.pdbqt	11/26/2020 12:05	PDBQT File	3 KB
	lrg...	11/26/2020 12:01	Text Document	3 KB
Computer	Protein	11/11/2020 7:47 PM	RDKit Discovery...	100 KB
	Protein.pdbqt	11/11/2020 8:46 PM	PDBQT File	229 KB
Master (E:	Smina	11/27/2020 11:46	RDKit Discovery...	3 KB
	Smina.pdbqt	11/29/2020 12:37	PDBQT File	3 KB
	vina	5/11/2011 12:37 PM	Application	364 KB
	vina.licence	5/11/2011 12:42 PM	Rich Text Format	8 KB
	vina_split	5/11/2011 12:47 PM	Application	218 KB

Akan muncul file output ligan dalam format .pdbqt dalam folder kerja.

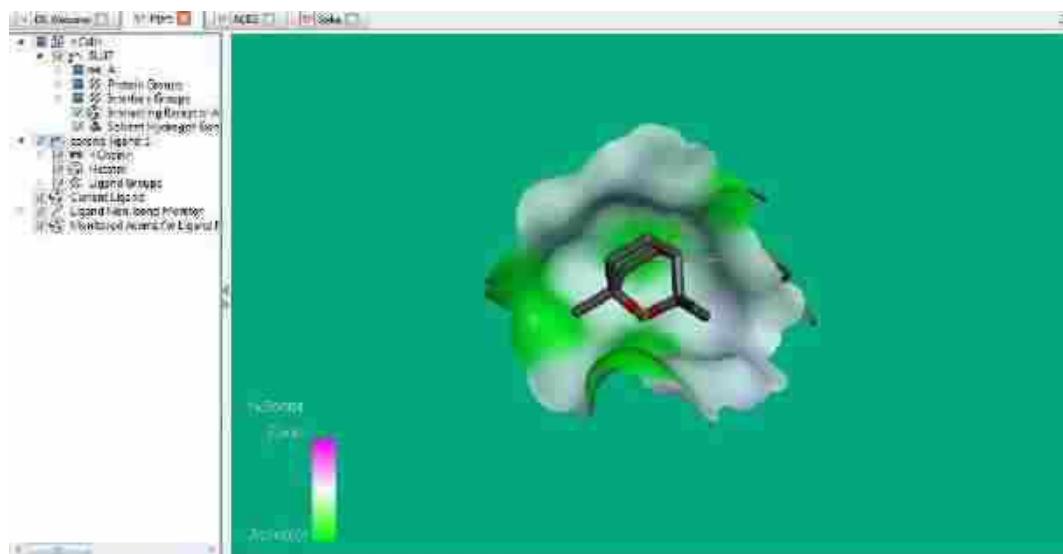
## 6. Melihat interaksi reseptor dan ligan dengan discovery studio



Pilih ‘File → Open → pilih file reseptor yang telah dipreparasi → memasukan file output ligan’



Untuk hasil 2D ‘Output Ligan → View Interactions → Ligan Interactions → Show 2D Diagram’



Untuk interaksi dengan ikatan hidrogen ‘Display receptor surfaces → H-Bond’

## Lampiran 2. Gambar 2D hasil *molecular docking* dengan Autodock vina

<img alt="A grid showing molecular docking results for two ligands against three targets: Mpro, Spike, and ACE2. The rows are labeled 'Ligan' (top) and '1,8-Sineol' (left), 'Amentoflavone' (bottom-left). Each cell contains a 3D surface plot of the protein-ligand complex with interaction residues highlighted in pink. A legend in each cell identifies the residues involved in interactions: CYS A:245, HIS A:163, VAL A:367, TRP A:349, PHE A:40; Asp A:105, Glu A:106, Asp A:107, Glu A:108, Lys A:109, Arg A:110, Ile A:111, Val A:112, Leu A:113, Tyr A:114, Phe A:115, His A:116, Asn A:117, Gln A:118, Asp A:119, Glu A:120, Asp A:121, Glu A:122, Lys A:123, Arg A:124, Ile A:125, Val A:126, Leu A:127, Tyr A:128, Phe A:129, His A:130, Asn A:131, Gln A:132, Asp A:133, Glu A:134, Asp A:135, Glu A:136, Lys A:137, Arg A:138, Ile A:139, Val A:140, Leu A:141, Tyr A:142, Phe A:143, His A:144, Asn A:145, Gln A:146, Asp A:147, Glu A:148, Asp A:149, Glu A:150, Lys A:151, Arg A:152, Ile A:153, Val A:154, Leu A:155, Tyr A:156, Phe A:157, His A:158, Asn A:159, Gln A:160, Asp A:161, Glu A:162, Lys A:163, Arg A:164, Ile A:165, Val A:166, Leu A:167, Tyr A:168, Phe A:169, His A:170, Asn A:171, Gln A:172, Asp A:173, Glu A:174, Lys A:175, Arg A:176, Ile A:177, Val A:178, Leu A:179, Tyr A:180, Phe A:181, His A:182, Asn A:183, Gln A:184, Asp A:185, Glu A:186, Lys A:187, Arg A:188, Ile A:189, Val A:190, Leu A:191, Tyr A:192, Phe A:193, His A:194, Asn A:195, Gln A:196, Asp A:197, Glu A:198, Lys A:199, Arg A:200, Ile A:201, Val A:202, Leu A:203, Tyr A:204, Phe A:205, His A:206, Asn A:207, Gln A:208, Asp A:209, Glu A:210, Lys A:211, Arg A:212, Ile A:213, Val A:214, Leu A:215, Tyr A:216, Phe A:217, His A:218, Asn A:219, Gln A:220, Asp A:221, Glu A:222, Lys A:223, Arg A:224, Ile A:225, Val A:226, Leu A:227, Tyr A:228, Phe A:229, His A:230, Asn A:231, Gln A:232, Asp A:233, Glu A:234, Lys A:235, Arg A:236, Ile A:237, Val A:238, Leu A:239, Tyr A:240, Phe A:241, His A:242, Asn A:243, Gln A:244, Asp A:245, Glu A:246, Lys A:247, Arg A:248, Ile A:249, Val A:250, Leu A:251, Tyr A:252, Phe A:253, His A:254, Asn A:255, Gln A:256, Asp A:257, Glu A:258, Lys A:259, Arg A:260, Ile A:261, Val A:262, Leu A:263, Tyr A:264, Phe A:265, His A:266, Asn A:267, Gln A:268, Asp A:269, Glu A:270, Lys A:271, Arg A:272, Ile A:273, Val A:274, Leu A:275, Tyr A:276, Phe A:277, His A:278, Asn A:279, Gln A:280, Asp A:281, Glu A:282, Lys A:283, Arg A:284, Ile A:285, Val A:286, Leu A:287, Tyr A:288, Phe A:289, His A:290, Asn A:291, Gln A:292, Asp A:293, Glu A:294, Lys A:295, Arg A:296, Ile A:297, Val A:298, Leu A:299, Tyr A:300, Phe A:301, His A:302, Asn A:303, Gln A:304, Asp A:305, Glu A:306, Lys A:307, Arg A:308, Ile A:309, Val A:310, Leu A:311, Tyr A:312, Phe A:313, His A:314, Asn A:315, Gln A:316, Asp A:317, Glu A:318, Lys A:319, Arg A:320, Ile A:321, Val A:322, Leu A:323, Tyr A:324, Phe A:325, His A:326, Asn A:327, Gln A:328, Asp A:329, Glu A:330, Lys A:331, Arg A:332, Ile A:333, Val A:334, Leu A:335, Tyr A:336, Phe A:337, His A:338, Asn A:339, Gln A:340, Asp A:341, Glu A:342, Lys A:343, Arg A:344, Ile A:345, Val A:346, Leu A:347, Tyr A:348, Phe A:349, His A:350, Asn A:351, Gln A:352, Asp A:353, Glu A:354, Lys A:355, Arg A:356, Ile A:357, Val A:358, Leu A:359, Tyr A:360, Phe A:361, His A:362, Asn A:363, Gln A:364, Asp A:365, Glu A:366, Lys A:367, Arg A:368, Ile A:369, Val A:370, Leu A:371, Tyr A:372, Phe A:373, His A:374, Asn A:375, Gln A:376, Asp A:377, Glu A:378, Lys A:379, Arg A:380, Ile A:381, Val A:382, Leu A:383, Tyr A:384, Phe A:385, His A:386, Asn A:387, Gln A:388, Asp A:389, Glu A:390, Lys A:391, Arg A:392, Ile A:393, Val A:394, Leu A:395, Tyr A:396, Phe A:397, His A:398, Asn A:399, Gln A:400, Asp A:401, Glu A:402, Lys A:403, Arg A:404, Ile A:405, Val A:406, Leu A:407, Tyr A:408, Phe A:409, His A:410, Asn A:411, Gln A:412, Asp A:413, Glu A:414, Lys A:415, Arg A:416, Ile A:417, Val A:418, Leu A:419, Tyr A:420, Phe A:421, His A:422, Asn A:423, Gln A:424, Asp A:425, Glu A:426, Lys A:427, Arg A:428, Ile A:429, Val A:430, Leu A:431, Tyr A:432, Phe A:433, His A:434, Asn A:435, Gln A:436, Asp A:437, Glu A:438, Lys A:439, Arg A:440, Ile A:441, Val A:442, Leu A:443, Tyr A:444, Phe A:445, His A:446, Asn A:447, Gln A:448, Asp A:449, Glu A:450, Lys A:451, Arg A:452, Ile A:453, Val A:454, Leu A:455, Tyr A:456, Phe A:457, His A:458, Asn A:459, Gln A:460, Asp A:461, Glu A:462, Lys A:463, Arg A:464, Ile A:465, Val A:466, Leu A:467, Tyr A:468, Phe A:469, His A:470, Asn A:471, Gln A:472, Asp A:473, Glu A:474, Lys A:475, Arg A:476, Ile A:477, Val A:478, Leu A:479, Tyr A:480, Phe A:481, His A:482, Asn A:483, Gln A:484, Asp A:485, Glu A:486, Lys A:487, Arg A:488, Ile A:489, Val A:490, Leu A:491, Tyr A:492, Phe A:493, His A:494, Asn A:495, Gln A:496, Asp A:497, Glu A:498, Lys A:499, Arg A:500, Ile A:501, Val A:502, Leu A:503, Tyr A:504, Phe A:505, His A:506, Asn A:507, Gln A:508, Asp A:509, Glu A:510, Lys A:511, Arg A:512, Ile A:513, Val A:514, Leu A:515, Tyr A:516, Phe A:517, His A:518, Asn A:519, Gln A:520, Asp A:521, Glu A:522, Lys A:523, Arg A:524, Ile A:525, Val A:526, Leu A:527, Tyr A:528, Phe A:529, His A:530, Asn A:531, Gln A:532, Asp A:533, Glu A:534, Lys A:535, Arg A:536, Ile A:537, Val A:538, Leu A:539, Tyr A:540, Phe A:541, His A:542, Asn A:543, Gln A:544, Asp A:545, Glu A:546, Lys A:547, Arg A:548, Ile A:549, Val A:550, Leu A:551, Tyr A:552, Phe A:553, His A:554, Asn A:555, Gln A:556, Asp A:557, Glu A:558, Lys A:559, Arg A:560, Ile A:561, Val A:562, Leu A:563, Tyr A:564, Phe A:565, His A:566, Asn A:567, Gln A:568, Asp A:569, Glu A:570, Lys A:571, Arg A:572, Ile A:573, Val A:574, Leu A:575, Tyr A:576, Phe A:577, His A:578, Asn A:579, Gln A:580, Asp A:581, Glu A:582, Lys A:583, Arg A:584, Ile A:585, Val A:586, Leu A:587, Tyr A:588, Phe A:589, His A:590, Asn A:591, Gln A:592, Asp A:593, Glu A:594, Lys A:595, Arg A:596, Ile A:597, Val A:598, Leu A:599, Tyr A:600, Phe A:601, His A:602, Asn A:603, Gln A:604, Asp A:605, Glu A:606, Lys A:607, Arg A:608, Ile A:609, Val A:610, Leu A:611, Tyr A:612, Phe A:613, His A:614, Asn A:615, Gln A:616, Asp A:617, Glu A:618, Lys A:619, Arg A:620, Ile A:621, Val A:622, Leu A:623, Tyr A:624, Phe A:625, His A:626, Asn A:627, Gln A:628, Asp A:629, Glu A:630, Lys A:631, Arg A:632, Ile A:633, Val A:634, Leu A:635, Tyr A:636, Phe A:637, His A:638, Asn A:639, Gln A:640, Asp A:641, Glu A:642, Lys A:643, Arg A:644, Ile A:645, Val A:646, Leu A:647, Tyr A:648, Phe A:649, His A:650, Asn A:651, Gln A:652, Asp A:653, Glu A:654, Lys A:655, Arg A:656, Ile A:657, Val A:658, Leu A:659, Tyr A:660, Phe A:661, His A:662, Asn A:663, Gln A:664, Asp A:665, Glu A:666, Lys A:667, Arg A:668, Ile A:669, Val A:670, Leu A:671, Tyr A:672, Phe A:673, His A:674, Asn A:675, Gln A:676, Asp A:677, Glu A:678, Lys A:679, Arg A:680, Ile A:681, Val A:682, Leu A:683, Tyr A:684, Phe A:685, His A:686, Asn A:687, Gln A:688, Asp A:689, Glu A:690, Lys A:691, Arg A:692, Ile A:693, Val A:694, Leu A:695, Tyr A:696, Phe A:697, His A:698, Asn A:699, Gln A:700, Asp A:701, Glu A:702, Lys A:703, Arg A:704, Ile A:705, Val A:706, Leu A:707, Tyr A:708, Phe A:709, His A:710, Asn A:711, Gln A:712, Asp A:713, Glu A:714, Lys A:715, Arg A:716, Ile A:717, Val A:718, Leu A:719, Tyr A:720, Phe A:721, His A:722, Asn A:723, Gln A:724, Asp A:725, Glu A:726, Lys A:727, Arg A:728, Ile A:729, Val A:730, Leu A:731, Tyr A:732, Phe A:733, His A:734, Asn A:735, Gln A:736, Asp A:737, Glu A:738, Lys A:739, Arg A:740, Ile A:741, Val A:742, Leu A:743, Tyr A:744, Phe A:745, His A:746, Asn A:747, Gln A:748, Asp A:749, Glu A:750, Lys A:751, Arg A:752, Ile A:753, Val A:754, Leu A:755, Tyr A:756, Phe A:757, His A:758, Asn A:759, Gln A:760, Asp A:761, Glu A:762, Lys A:763, Arg A:764, Ile A:765, Val A:766, Leu A:767, Tyr A:768, Phe A:769, His A:770, Asn A:771, Gln A:772, Asp A:773, Glu A:774, Lys A:775, Arg A:776, Ile A:777, Val A:778, Leu A:779, Tyr A:780, Phe A:781, His A:782, Asn A:783, Gln A:784, Asp A:785, Glu A:786, Lys A:787, Arg A:788, Ile A:789, Val A:790, Leu A:791, Tyr A:792, Phe A:793, His A:794, Asn A:795, Gln A:796, Asp A:797, Glu A:798, Lys A:799, Arg A:800, Ile A:801, Val A:802, Leu A:803, Tyr A:804, Phe A:805, His A:806, Asn A:807, Gln A:808, Asp A:809, Glu A:810, Lys A:811, Arg A:812, Ile A:813, Val A:814, Leu A:815, Tyr A:816, Phe A:817, His A:818, Asn A:819, Gln A:820, Asp A:821, Glu A:822, Lys A:823, Arg A:824, Ile A:825, Val A:826, Leu A:827, Tyr A:828, Phe A:829, His A:830, Asn A:831, Gln A:832, Asp A:833, Glu A:834, Lys A:835, Arg A:836, Ile A:837, Val A:838, Leu A:839, Tyr A:840, Phe A:841, His A:842, Asn A:843, Gln A:844, Asp A:845, Glu A:846, Lys A:847, Arg A:848, Ile A:849, Val A:850, Leu A:851, Tyr A:852, Phe A:853, His A:854, Asn A:855, Gln A:856, Asp A:857, Glu A:858, Lys A:859, Arg A:860, Ile A:861, Val A:862, Leu A:863, Tyr A:864, Phe A:865, His A:866, Asn A:867, Gln A:868, Asp A:869, Glu A:870, Lys A:871, Arg A:872, Ile A:873, Val A:874, Leu A:875, Tyr A:876, Phe A:877, His A:878, Asn A:879, Gln A:880, Asp A:881, Glu A:882, Lys A:883, Arg A:884, Ile A:885, Val A:886, Leu A:887, Tyr A:888, Phe A:889, His A:890, Asn A:891, Gln A:892, Asp A:893, Glu A:894, Lys A:895, Arg A:896, Ile A:897, Val A:898, Leu A:899, Tyr A:900, Phe A:901, His A:902, Asn A:903, Gln A:904, Asp A:905, Glu A:906, Lys A:907, Arg A:908, Ile A:909, Val A:910, Leu A:911, Tyr A:912, Phe A:913, His A:914, Asn A:915, Gln A:916, Asp A:917, Glu A:918, Lys A:919, Arg A:920, Ile A:921, Val A:922, Leu A:923, Tyr A:924, Phe A:925, His A:926, Asn A:927, Gln A:928, Asp A:929, Glu A:930, Lys A:931, Arg A:932, Ile A:933, Val A:934, Leu A:935, Tyr A:936, Phe A:937, His A:938, Asn A:939, Gln A:940, Asp A:941, Glu A:942, Lys A:943, Arg A:944, Ile A:945, Val A:946, Leu A:947, Tyr A:948, Phe A:949, His A:950, Asn A:951, Gln A:952, Asp A:953, Glu A:954, Lys A:955, Arg A:956, Ile A:957, Val A:958, Leu A:959, Tyr A:960, Phe A:961, His A:962, Asn A:963, Gln A:964, Asp A:965, Glu A:966, Lys A:967, Arg A:968, Ile A:969, Val A:970, Leu A:971, Tyr A:972, Phe A:973, His A:974, Asn A:975, Gln A:976, Asp A:977, Glu A:978, Lys A:979, Arg A:980, Ile A:981, Val A:982, Leu A:983, Tyr A:984, Phe A:985, His A:986, Asn A:987, Gln A:988, Asp A:989, Glu A:990, Lys A:991, Arg A:992, Ile A:993, Val A:994, Leu A:995, Tyr A:996, Phe A:997, His A:998, Asn A:999, Gln A:1000, Asp A:1001, Glu A:1002, Lys A:1003, Arg A:1004, Ile A:1005, Val A:1006, Leu A:1007, Tyr A:1008, Phe A:1009, His A:1010, Asn A:1011, Gln A:1012, Asp A:1013, Glu A:1014, Lys A:1015, Arg A:1016, Ile A:1017, Val A:1018, Leu A:1019, Tyr A:1020, Phe A:1021, His A:1022, Asn A:1023, Gln A:1024, Asp A:1025, Glu A:1026, Lys A:1027, Arg A:1028, Ile A:1029, Val A:1030, Leu A:1031, Tyr A:1032, Phe A:1033, His A:1034, Asn A:1035, Gln A:1036, Asp A:1037, Glu A:1038, Lys A:1039, Arg A:1040, Ile A:1041, Val A:1042, Leu A:1043, Tyr A:1044, Phe A:1045, His A:1046, Asn A:1047, Gln A:1048, Asp A:1049, Glu A:1050, Lys A:1051, Arg A:1052, Ile A:1053, Val A:1054, Leu A:1055, Tyr A:1056, Phe A:1057, His A:1058, Asn A:1059, Gln A:1060, Asp A:1061, Glu A:1062, Lys A:1063, Arg A:1064, Ile A:1065, Val A:1066, Leu A:1067, Tyr A:1068, Phe A:1069, His A:1070, Asn A:1071, Gln A:1072, Asp A:1073, Glu A:1074, Lys A:1075, Arg A:1076, Ile A:1077, Val A:1078, Leu A:1079, Tyr A:1080, Phe A:1081, His A:1082, Asn A:1083, Gln A:1084, Asp A:1085, Glu A:1086, Lys A:1087, Arg A:1088, Ile A:1089, Val A:1090, Leu A:1091, Tyr A:1092, Phe A:1093, His A:1094, Asn A:1095, Gln A:1096, Asp A:1097, Glu A:1098, Lys A:1099, Arg A:1100, Ile A:1101, Val A:1102, Leu A:1103, Tyr A:1104, Phe A:1105, His A:1106, Asn A:1107, Gln A:1108, Asp A:1109, Glu A:1110, Lys A:1111, Arg A:1112, Ile A:1113, Val A:1114, Leu A:1115, Tyr A:1116, Phe A:1117, His A:1118, Asn A:1119, Gln A:1120, Asp A:1121, Glu A:1122, Lys A:1123, Arg A:1124, Ile A:1125, Val A:1126, Leu A:1127, Tyr A:1128, Phe A:1129, His A:1130, Asn A:1131, Gln A:1132, Asp A:1133, Glu A:1134, Lys A:1135, Arg A:1136, Ile A:1137, Val A:1138, Leu A:1139, Tyr A:1140, Phe A:1141, His A:1142, Asn A:1143, Gln A:1144, Asp A:1145, Glu A:1146, Lys A:1147, Arg A:1148, Ile A:1149, Val A:1150, Leu A:1151, Tyr A:1152, Phe A:1153, His A:1154, Asn A:1155, Gln A:1156, Asp A:1157, Glu A:1158, Lys A:1159, Arg A:1160, Ile A:1161, Val A:1162, Leu A:1163, Tyr A:1164, Phe A:1165, His A:1166, Asn A:1167, Gln A:1168, Asp A:1169, Glu A:1170, Lys A:1171, Arg A:1172, Ile A:1173, Val A:1174, Leu A:1175, Tyr A:1176, Phe A:1177, His A:1178, Asn A:1179, Gln A:1180, Asp A:1181, Glu A:1182, Lys A:1183, Arg A:1184, Ile A:1185, Val A:1186, Leu A:1187, Tyr A:1188, Phe A:1189, His A:1190, Asn A:1191, Gln A:1192, Asp A:1193, Glu A:1194, Lys A:1195, Arg A:1196, Ile A:1197, Val A:1198, Leu A:1199, Tyr A:1200, Phe A:1201, His A:1202, Asn A:1203, Gln A:1204, Asp A:1205, Glu A:1206, Lys A:1207, Arg A:1208, Ile A:1209, Val A:1210, Leu A:1211, Tyr A:1212, Phe A:1213, His A:1214, Asn A:1215, Gln A:1216, Asp A:1217, Glu A:1218, Lys A:1219, Arg A:1220, Ile A:1221, Val A:1222, Leu A:1223, Tyr A:1224, Phe A:1225, His A:1226, Asn A:1227, Gln A:1228, Asp A:1229, Glu A:1230, Lys A:1231, Arg A:1232, Ile A:1233, Val A:1234, Leu A:1235, Tyr A:1236, Phe A:1237, His A:1238, Asn A:1239, Gln A:1240, Asp A:1241, Glu A:1242, Lys A:1243, Arg A:1244, Ile A:1245, Val A:1246, Leu A:1247, Tyr A:1248, Phe A:1249, His A:1250, Asn A:1251, Gln A:1252, Asp A:1253, Glu A:1254, Lys A:1255, Arg A:1256, Ile A:1257, Val A:1258, Leu A:1259, Tyr A:1260, Phe A:1261, His A:1262, Asn A:1263, Gln A:1264, Asp A:1265, Glu A:1266, Lys A:1267, Arg A:1268, Ile A:1269, Val A:1270, Leu A:1271, Tyr A:1272, Phe A:1273, His A:1274, Asn A:1275, Gln A:1276, Asp A:1277, Glu A:1278, Lys A:1279, Arg A:1280, Ile A:1281, Val A:1282, Leu A:1283, Tyr A:1284, Phe A:1285, His A:1286, Asn A:1287, Gln A:1288, Asp A:1289, Glu A:1290, Lys A:1291, Arg A:1292, Ile A:1293, Val A:1294, Leu A:1295, Tyr A:1296, Phe A:1297, His A:1298, Asn A:1299, Gln A:1300, Asp A:1301, Glu A:1302, Lys A:1303, Arg A:1304, Ile A:1305, Val A:1306, Leu A:1307, Tyr A:1308, Phe A:1309, His A:1310, Asn A:1311, Gln A:1312, Asp A:1313, Glu A:1314, Lys A:1315, Arg A:1316, Ile A:1317, Val A:1318, Leu A:1319, Tyr A:1320, Phe A:1321, His A:1322, Asn A:1323, Gln A:1324, Asp A:1325, Glu A:1326, Lys A:1327, Arg A:1328, Ile A:1329, Val A:1330, Leu A:1331, Tyr A:1332, Phe A:1333, His A:1334, Asn A:1335, Gln A:1336, Asp A:1337, Glu A:1338, Lys A:1339, Arg A:1340, Ile A:1341, Val A:1342, Leu A:1343, Tyr A:1344, Phe A:1345, His A:1346, Asn A:1347, Gln A:1348, Asp A:1349, Glu A:1350, Lys A:1351, Arg A:1352, Ile A:1353, Val A:1354, Leu A:1355, Tyr A:1356, Phe A:1357, His A:1358, Asn A:1359, Gln A:1360, Asp A:1361, Glu A:1362, Lys A:1363, Arg A:1364, Ile A:1365, Val A:1366, Leu A:1367, Tyr A:1368, Phe A:1369, His A:1370, Asn A:1371, Gln A:1372, Asp A:1373, Glu A:1374, Lys A:1375, Arg A:1376, Ile A:1377, Val A:1378, Leu A:1379, Tyr A:1380, Phe A:1381, His A:1382, Asn A:1383, Gln A:1384, Asp A:1385, Glu A:1386, Lys A:1387, Arg A:1388, Ile A:1389, Val A:1390, Leu A:1391, Tyr A:1392, Phe A:1393, His A:1394, Asn A:1395, Gln A:1396, Asp A:1397, Glu A:1398, Lys A:1399, Arg A:1400, Ile A:1401, Val A:1402, Leu A:1403, Tyr A:1404, Phe A:1405, His A:1406, Asn A:1407, Gln A:1408, Asp A:1409, Glu A:1410, Lys A:1411, Arg A:1412, Ile A:1413, Val A:1414, Leu A:1415, Tyr A:1416, Phe A:1417, His A:1418, Asn A:1419, Gln A:1420, Asp A:1421, Glu A:1422, Lys A:1423, Arg A:1424, Ile A:1425, Val A:1426, Leu A:1427, Tyr A:1428, Phe A:1429, His A:1430, Asn A:1431, Gln A:1432, Asp A:1433, Glu A:1434, Lys A:1435, Arg A:1436, Ile A:1437, Val A:1438, Leu A:1439, Tyr A:1440, Phe A:1441, His A:1442, Asn A:1443, Gln A:1444, Asp A:1445, Glu A:1446, Lys A:1447, Arg A:1448, Ile A:1449, Val A:1450, Leu A:1451, Tyr A:1452, Phe A:1453, His A:1454, Asn A:1455, Gln A:1456, Asp A:1457, Glu A:1458, Lys A:1459, Arg A:1460, Ile A:1461, Val A:1462, Leu A:1463, Tyr A:1464, Phe A:1465, His A:1466, Asn A:1467, Gln A:1468, Asp A:1469, Glu A:1470, Lys A:1471, Arg A:1472, Ile A:1473, Val A:1474, Leu A:1475, Tyr A:1476, Phe A:1477, His A:1478, Asn A:1479, Gln A:1480, Asp A:1481, Glu A:1482, Lys A:1483, Arg A:1484, Ile A:1485, Val A:1486, Leu A:1487, Tyr A:1488, Phe A:1489, His A:1490, Asn A:1491, Gln A:1492, Asp A:1493, Glu A:1494, Lys A:1495, Arg A:1496, Ile A:1497, Val A:1498, Leu A:1499, Tyr A:1500, Phe A:1501, His A:1502, Asn A:1503, Gln A:1504, Asp A:1505, Glu A:1506, Lys A:1507, Arg A:1508, Ile A:1509, Val A:1510, Leu A:1511, Tyr A:1512, Phe A:1513, His A:1514, Asn A:1515, Gln A:1516, Asp A:1517, Glu A:1518, Lys A:1519, Arg A:1520, Ile A:1521, Val A:1522, Leu A:1523, Tyr A:1524, Phe A:1525, His A:1526, Asn A:1527, Gln A:1528, Asp A:1529, Glu A:1530, Lys A:1531, Arg A:1532, Ile A:1533, Val A:1534, Leu A:1535, Tyr A:1536, Phe A:1537, His A:1538, Asn A:1539, Gln A:1540, Asp A:1541, Glu A:1542, Lys A:1543, Arg A:1544, Ile A:1545, Val A:1546, Leu A:1547, Tyr A:1548, Phe A:1549, His A:1550, Asn A:1551, Gln A:1552, Asp A:1553, Glu A:1554, Lys A:1555, Arg A:1556, Ile A:1557, Val A:1558, Leu A:1559, Tyr A:1560, Phe A:1561, His A:1562, Asn A:1563, Gln A:1564, Asp A:1565, Glu A:1566, Lys A:1567, Arg A:1568, Ile A:1569, Val A:1570, Leu A:1571, Tyr A:1572, Phe A:1573, His A:1574, Asn A:1575, Gln A:1576, Asp A:1577, Glu A:1578, Lys A:1579, Arg A:1580, Ile A:1581, Val A:1582, Leu A:1583, Tyr A:1584, Phe A:1585, His A:1586, Asn A:1587, Gln A:1588, Asp A:1589, Glu A:1590, Lys A:1591, Arg A:1592, Ile A:1593, Val A:1594, Leu A:1595, Tyr A:1596, Phe A:1597, His A:1598, Asn A:1599, Gln A:1600, Asp A:1601, Glu A:1602, Lys A:1603, Arg A:1604, Ile A:1605, Val A:1606, Leu A:1607, Tyr A:1608, Phe A:1609, His A:1610, Asn A:1611, Gln A:1612, Asp A:1613, Glu A:1614, Lys A:1615, Arg A:1616, Ile A:1617, Val A:1

