

〈研究論文〉

## コンピュータを用いた新型コロナウイルス感染症 (SARS-CoV-2) の Spike Protein の解析

西口 慶一 ・ 渋谷 明日香  
北村 昭夫 ・ 吉久保 匡甫

### 【要旨】

2019年末に中国湖北省武漢市から始まった新型コロナウイルス感染症 (coronavirus disease 2019: COVID-19、病原体 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)) は世界中へと流行が広がっていった。本研究では、SARS-CoV-2の薬剤への応用が高いと推定され立体構造が得られている spike protein をコンピュータ内で解析した。

spike protein の解析では、severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) と SARS-CoV-2 の配列をアライメントし、解析したところ、宿主細胞への侵入のきっかけとなるヒト Angiotensin converting enzyme2 (ACE2) と結合する部位に特異な変異があった。spike protein について SARS-CoV と SARS-CoV-2 の ACE2 との結合部位を分子レベルで解析したところ、SARS-CoV から SARS-CoV-2 の進化では、二次構造がループ構造から  $\alpha$ ヘリックス・ $\beta$ シート構造に変化していた。また、ヒト ACE2 と SARS-CoV、SARS-CoV-2 のそれぞれの結合部の水素結合の数に違いがあり、SARS-CoV-2 は SARS-CoV よりヒト ACE2 との結合が強固である可能性を示唆した。SARS-CoV から SARS-CoV-2 に進化する際に P475A と N493Q にアミノ酸をそれぞれ変化させて水素結合を獲得していた。SARS-CoV-2 の変異株の変異部位 E484A、N501Y は、進化によりアミノ酸を親水性から疎水性に変化させていることが分かった。

キーワード : COVID-19、SARS-CoV-2、spike protein、evolution

### 1. はじめに

2019年末に中国湖北省武漢市から始まった新型コロナウイルス感染症 (coronavirus disease 2019: COVID-19) は世界中へと流行が広がっていった。2025年9月現在の世界での感染者数は約7億7,900万人、死者は約700万人である<sup>(1)</sup>。さらにこのウイルスの変異型 (オミクロン株など : N501Y, E484K)<sup>(2-4)</sup> が世界に広がり、ますます治療が難しくなっている。国際ウイルス分類委員会 (ICTV) は、その病原体を severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) と命名した。ヒトに感染するコロナウイルスは7種類が分析され、このうち4種類は

風邪の原因と同定され、残り3種類は、severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV)、Middle east respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)、およびSARS-CoV-2である。日本ではCOVID-19に対する治療薬としてデキサメタゾン、バリシチニブ、トシリズマブ、レムデシビル、モルヌピラニル、ニルマトレルビル・リトナビル、エンシトレルビルフマル酸、カシリビマブ・イムデビマブ、ソトロビマブ、チキサゲビマブ・シルガビマブが承認されている<sup>(5)</sup>。本研究では、SARS-CoV-2の薬剤への応用が高いと推定され立体構造が解明されている spike protein をコンピュータ内で解析した。SARS-CoV-2の細胞への侵入、増殖、放出までのメカニズムについては図1に示した。今回は侵入経路の一つである細胞膜表面の Angiotensin converting enzyme2 (ACE2) に結合する spike protein に着目した。

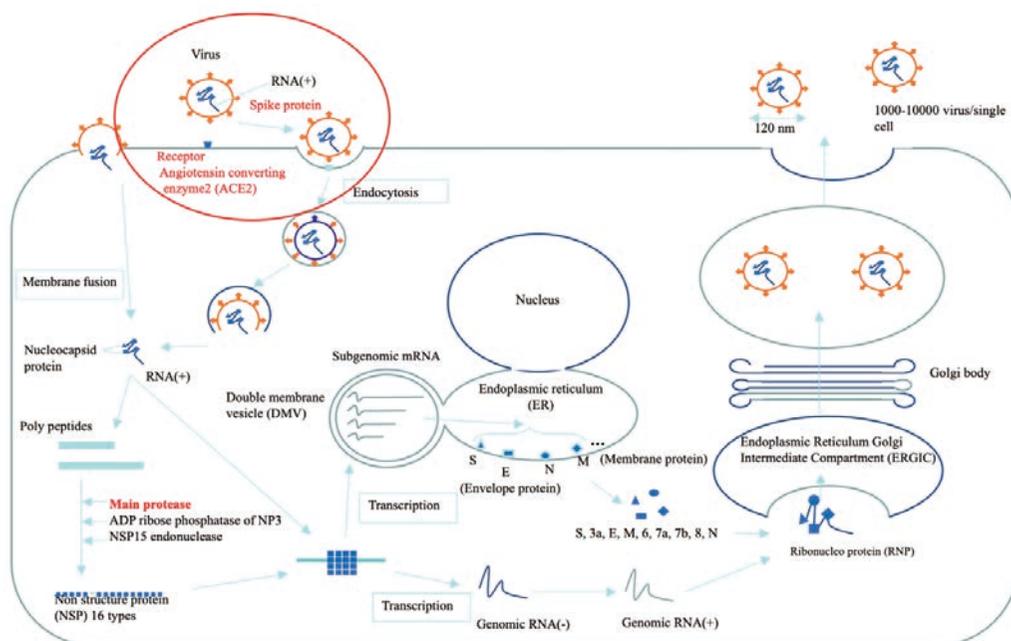


図1 SARS-CoV-2の細胞への侵入、増殖、放出までのメカニズム

## 2. 方法

SARS-CoV、およびSARS-CoV-2の spike protein は、Protein Data Bank Japan (PDBj) のデータを用いた。コンピュータ解析には、PyMOL (Schrödinger社)、Waals (株式会社アルティフ・ラボラトリーズ)を用いた。PyMOLでは、PDBjから用いたタンパク質情報を $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ シート構造を表示できるリボン構造に変換して表示した。Waalsでは、PDBjから用いたタンパク質構造を重ね合わせ、SARS-CoV-2とSARS-CoVの構造の比較を行った。また、タンパク質の原子間距離の測定、比較をした。SARS-CoV (PDB ID No.3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, および5XLRA) とSARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE, 6VXXA, および6X6PA) の spike protein の配列を

アライメントし、アミノ酸1文字表記で示した（図2）。受容体結合部位である receptor-binding domain (RBD) はこのアライメントの中に含まれている。今回はRBDの中の様子について調べた。SARS-CoV-2の3種類（PDB ID No.6VWIE, 6VXXA, および6X6PA）うち2種類が SARS-CoV から変異した部分を白-青色、SARS-CoV-2の3種全てがSARS-CoVから変異した部分を赤-黄色、SARS-CoV-2全てがSARS-CoVから変異しSARS-CoVの5種類（PDB ID No.3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, および5XLRA）のうち1種がMERS-CoVから変異した部分をピンク-緑色、SARS-CoV-2全てがSARS-CoVから変異し、SARS-CoVの5種類のうち2種がMERS-CoVから変異した部分を紫-深緑に色付けした。それぞれ白-青色を blue region、赤-黄色を red/yellow region、ピンク-緑色を pink/green region、紫-深緑色を purple/darkgreen region と定義した。

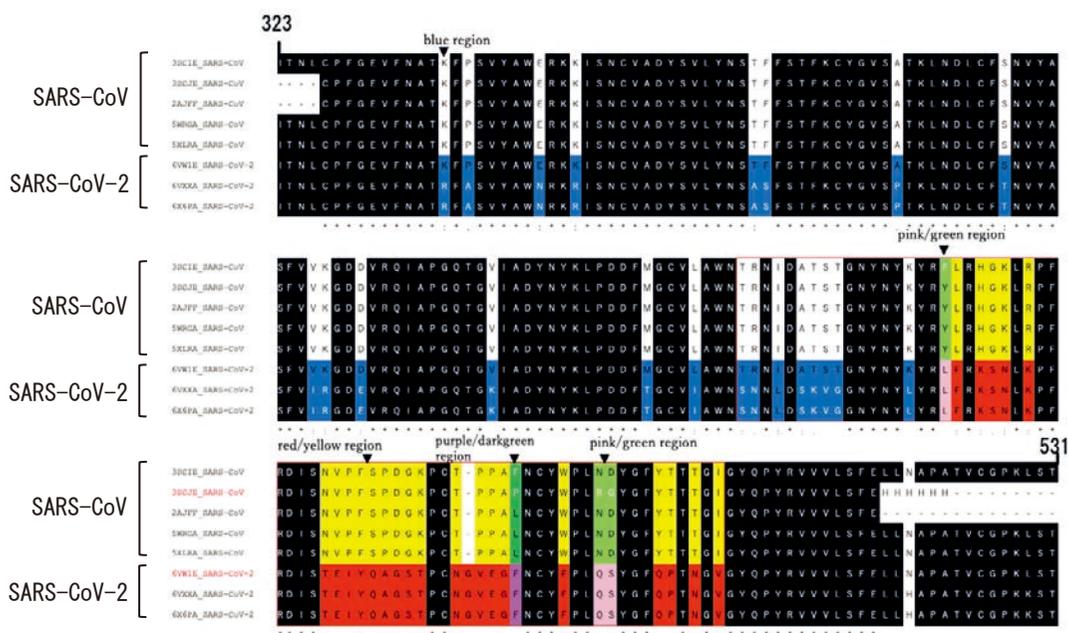


図2 SARS-CoV、SARS-CoV-2のspike proteinのアミノ酸配列の比較

SARS-CoV-2の3種類（PDB ID No.6VWIE, 6VXXA, および6X6PA）うち2種類がSARS-CoVから変異した部分を白-青色、SARS-CoV-2の3種全てがSARS-CoVから変異した部分を赤-黄色、SARS-CoV-2全てがSARS-CoVから変異しSARS-CoVの5種類（PDB ID No.3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, および5XLRA）のうち1種がMERS-CoVから変異した部分をピンク-緑色、SARS-CoV-2全てがSARS-CoVから変異し、SARS-CoVの5種類のうち2種がMERS-CoVから変異した部分を紫-深緑色に色付けした。それぞれ白-青色を blue region、赤-黄色を red/yellow region、ピンク-緑色を pink/green region、紫-深緑色を purple/darkgreen region と定義した。

SARS-CoV: 3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, 5XLRA (PDB ID No.)

SARS-CoV-2: 6VWIE, 6VXXA, 6X6PA (PDB ID No.)

323, 531の数字は、アミノ酸のN末からの配列番号を示す。

### 3. 結果

SARS-CoV-2のspike proteinのRBDのC末端側に多くの変化があった(図2)。SARS-CoV-2のアミノ酸は、変化しやすい部位と変化しにくい部位があると考えられた。

SARS-CoV-2の変異と感染経路については既知の論文が多く報告されている<sup>(3, 4, 6, 7)</sup>。それらの文献を参考に、変異部位(A, B, C, D, E, F, G, A', 1, 2, 3, 1', 2', 3', a, b, c, a', b', c')がspike proteinのタンパク質の一次構造のどこにあるかを確認した(図3、4)。

SARS-CoV-2の変異株の変異箇所をそれぞれ色分けして示した。SARS-CoVからSARS-CoV-2への変異は、N末端側領域(323から452アミノ酸残基:図3)の変異をみると、C末端側領域(453から502アミノ酸残基:図4)の変化より少なかった。SARS-CoV-2のspike proteinのN末端領域の変異は3つのSARS-CoV-2のうち2つである。C末端領域の変異は3つのSARS-CoV-2とも変異していた。また、K417で多くの変異を起こしていることを確認した(図3)。

N501の変異はSARS-CoV-2にとって都合の良い変異のためか、デルタ株、カプタ株では変異を起こしていないが、オミクロン株では変異していた(図4)。

実際にPyMOLを用いて、アミノ酸配列が変異した部分が実際のウイルスではどの部分の構造にあたるのかを表した(図5)。図は、リボン構造と分子構造を重ね合わせて表示している。こ

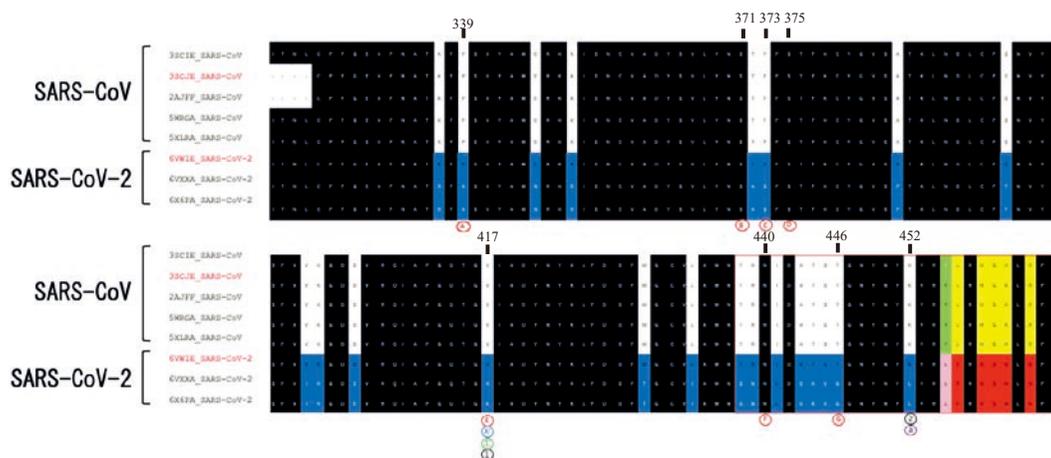


図3 SARS-CoV-2のspike proteinのアミノ酸配列の変異部位-1

SARS-CoV: 3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, 5XLRA (PDB ID No.)

SARS-CoV-2: 6VWIE, 6VXXA, 6X6PA (PDB ID No.)

オミクロン A:G339D B:S371D C:S373P D:S375FE:K417N F:N440K G:G446S

ベータ 1':K417N

ガンマ A':K417T

デルタ 1:K417N\* 2:L452R

カプタ a:L452R

339, 371, 373, 375, 417, 440, 446, 452の数字は、アミノ酸のN末からの配列番号を示す。

A, B, Cなどの記号は、アミノ酸変異部位を示す。

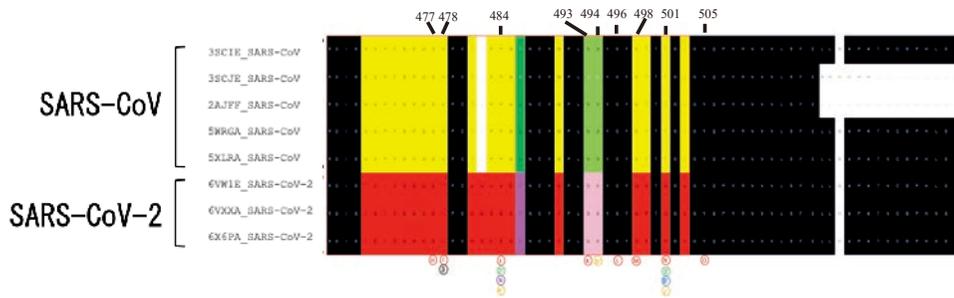


図4 SARS-CoV-2のspike proteinのアミノ酸配列の変異部位-2

SARS-CoV: 3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, 5XLRA (PDB ID No.)

SARS-CoV-2: 6VWIE, 6VXXA, 6X6PA (PDB ID No.)

オミクロン H:S477N I:T478K J:E484A K:Q493R

L:G496S M:Q498R N:N501Y O:Y505H

アルファ a':E484K\* b':S494P\* c':N501Y

ベータ 2':E484K 3':N501Y

ガンマ B':N501Y

デルタ 3:T478K

カッパ b:E484Q

477, 478, 484, 493, 494, 498, 501, 505の数字は、アミノ酸のN末からの配列番号を示す。

H, I, Jなどの記号は、アミノ酸変異部位を示す。

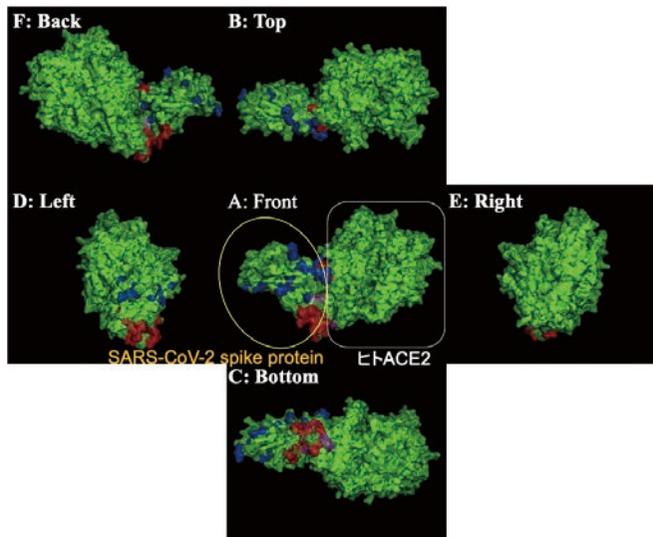


図5 SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VW1) のspike proteinとヒトACE2の結合構造

6つの方向から構造を示した。A: Front (前からの図)、B: Top (上からの図)、C: Bottom (下からの図)、D: Left (左からの図)、E: Right (右からの図)、F: Back (後からの図)

SARS-CoV-2のspike proteinの3種類 (PDB ID No.6VWIE, 6VXXA, および6X6PA) のうち2種類がSARS-CoVから変異した部分を青色、SARS-CoV-2の3種全てがSARS-CoVから変異した部分を赤色、SARS-CoV-2全てがSARS-CoVから変異し、SARS-CoVの5種類のうち2種がMERS-CoVから変異した部分を紫色に色付けした。

の方法では目的アミノ酸が分子の表面か内側であるかを判定できる。Front (前からの図)、Bottom (下からの図)、Left (左からの図)、Right (右からの図)、Top (上からの図)、Back (後からの図) の6つの方向から示した図であり、右部分がヒトACE2で、左部分がウイルスのspike proteinである。ヒト細胞への侵入のきっかけとなるACE2とウイルスのspike proteinが結合する部位に、特異な変異があった。このSARS-CoV-2のタンパク質の変化は、SARS-CoV-2がヒトの細胞に接着し侵入する過程に関与している可能性を示唆した。また、先ほど示したE484とN501はこちらの画像の赤い部分に存在しているため、ヒトACE2とウイルスの結合部であることが分かった (図5)。

先ほど示したE484、N501とは別に変異が多かったK417の位置を示した (図6)。K417はピンク色で示した部分であり、ヒトACE2とウイルスの結合部に存在していることが分かった。以上のことからウイルスの変異はヒトACE2との結合部位で多い可能性を示唆した。

SARS-CoVが結合したヒトACE2とSARS-CoV-2の結合したヒトACE2を示す (図7)。Front、Bottom、Left、Right、Top、およびBackの6つの方向から示した。Front方向からの図では、左がウイルスのspike proteinであり、右がヒトACE2である。SARS-CoVの結合したヒトACE2と、SARS-CoV-2のそれを重ね合わせたところ、2つのヒトACE2がウイルスとの距離が近い側では重なっていないことに気が付いた。この違いの理由を詳細に分子レベルの観察をした (図8)。図8-Aは、ヒトACE2とウイルス (SARS-CoVとSARS-CoV-2) のspike proteinの結合部位 (binding region) を示す。図8-Bは、ヒトACE2とSARS-CoV-2のspike proteinの結合部位を示す。一方、図8-Cは、ヒトACE2とSARS-CoVのspike proteinの結合部位を示す。これら3つの図 (図8-A、

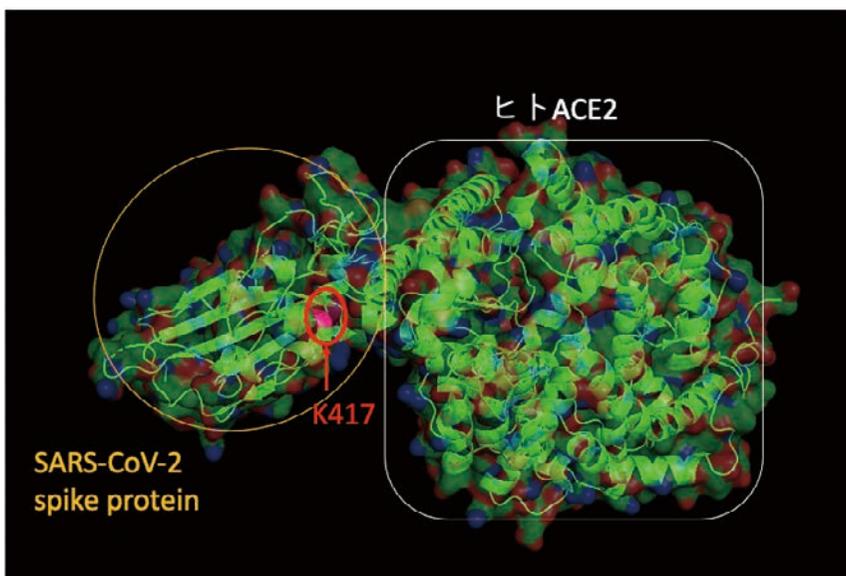


図6 ヒトACE2とSARS-CoV-2 (PDB ID No.6VXXA) の結合部位 spike proteinで変異が多いK417は、ヒトACE2との結合部位である。

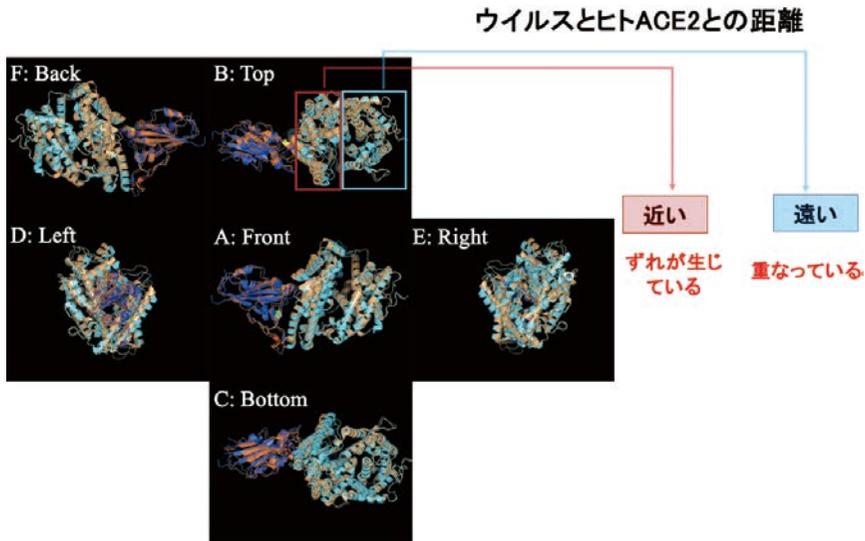


図7 SARS-CoV (立体構造の左部位のオレンジ, PDB ID No.3SCJE) と SARS-CoV-2 (立体構造の左部位の青, PDB ID No.6VWIE) が結合した時のヒトACE2 (立体構造の右部位) の立体構造の違い

6つの方向から構造を示した。A: Front (前からの図)、B: Top (上からの図)、C: Bottom (下からの図)、D: Left (左からの図)、E: Right (右からの図)、F: Back (後からの図)

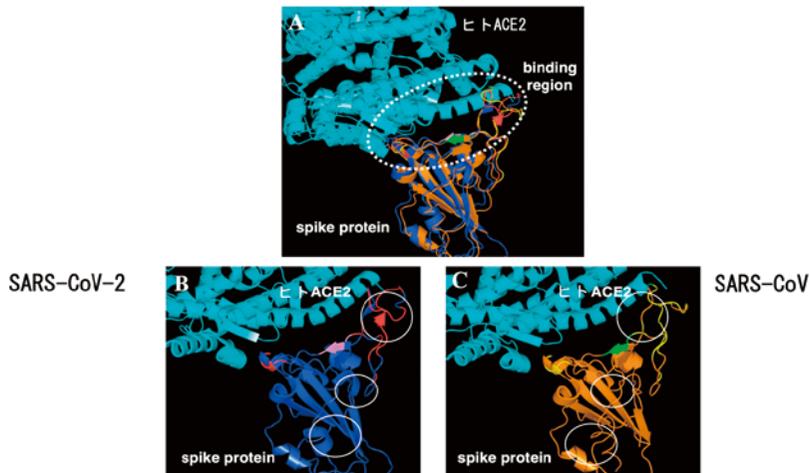


図8 SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE), SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) の詳細解析

SARS-CoVからSARS-CoV-2への進化で、リボン構造から $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートへ変化

A: ヒトACE2とウイルス (SARS-CoVとSARS-CoV-2) のspike proteinの結合部位 (binding region) を示す。

B: ヒトACE2とSARS-CoV-2のspike proteinの結合部位を示す。

C: ヒトACE2とSARS-CoVのspike proteinの結合部位を示す。

SARS-CoVとSARS-CoV-2のspike proteinが、ヒトACE2にそれぞれ結合する2つのspike proteinの構造に違いがあった。

B, C) から、SARS-CoVとSARS-CoV-2のそれぞれのspike proteinがヒトACE2に結合する2つのspike proteinの構造に違いがあった。3つの白丸の部位は、SARS-CoVではリボン構造(図8-B)だが、SARS-CoV-2では $\alpha$ ヘリックスもしくは $\beta$ シート構造(図8-A)だった。この理由を明らかにするために、アミノ酸の側鎖がその他の構造と何かしらの相互作用を示していないかの検討をした。今回は水素結合について分析した。

SARS-CoV-2のspike proteinとヒトACE2との結合の詳細について複数の論文が報告されている<sup>(8-11)</sup>。我々は、原子間距離で水素結合の有無を検討した。また、検討した水素結合の可能性を考察した。

こちらはSARS-CoV-2とACE2の水素結合の可能性のある部分①②③と3ヶ所を示している(図9)。Front、Bottom、およびTopの3つの方向から示している。今回、水素結合の定義に関しては分子間の距離が3Å以下であるものとした。図9-①の部分でSARS-CoVとSARS-CoV-2の水素結合である可能性がある部分の距離を比較した(図10)。MERS-CoV, SARS-CoV, SARS-CoV-2と進化したと推測されている。MERS-CoVからSARS-CoVへと進化したprototypeのSARS-CoV(PDB ID No.6VW1E)と、SARS-CoVからSARS-CoV-2へと進化したprototypeのSARS-CoV-2(PDB ID No.3SCJE)の構造を比較した。それぞれのTとYの距離はSARS-CoVが2.83Å、SARS-CoV-2が2.62Åであった。またYとDの距離はSARS-CoVが3.02Å、SARS-CoV-2が2.99Åであっ

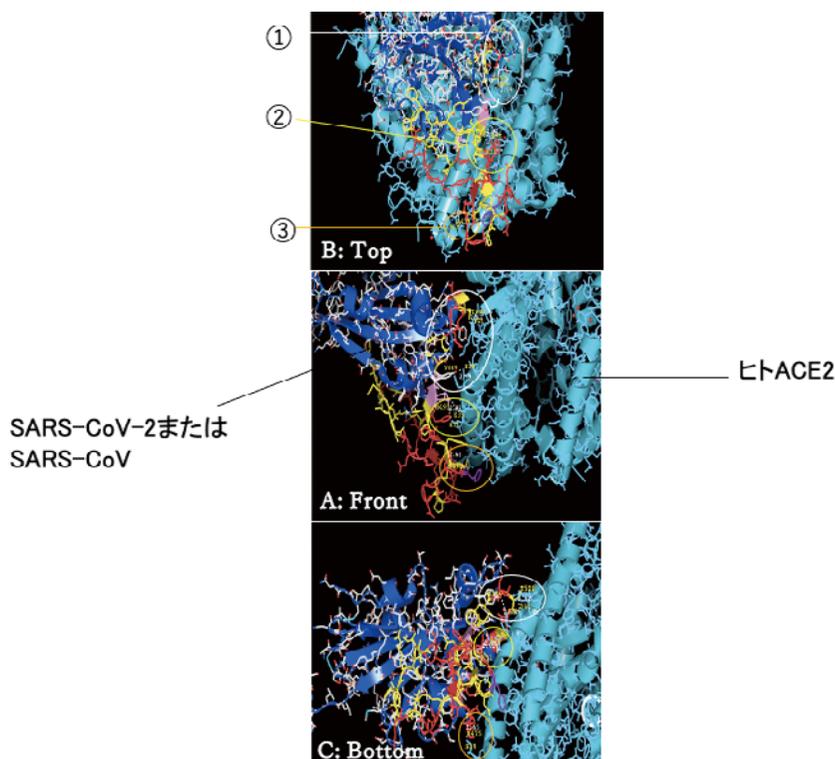


図9 SARS-CoV-2またはSARS-CoVとヒトACE2の間

3つの方向から構造を示した。A: Front (前からの図)、B: Top (上からの図)、C: Bottom (下からの図)

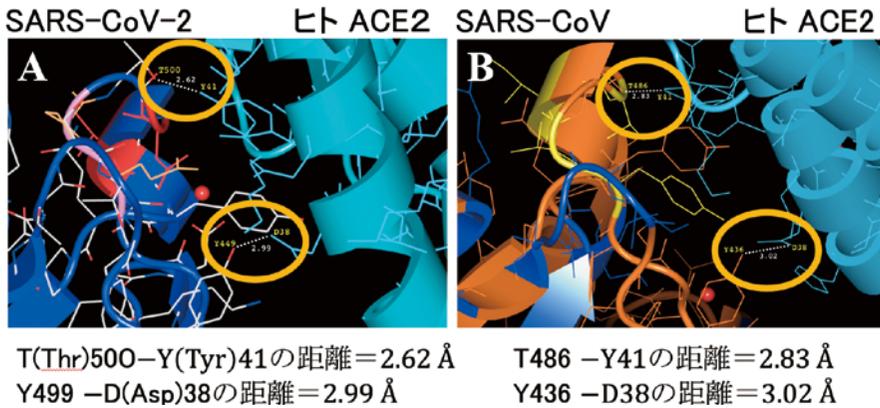


図10 SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) と SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) のそれぞれの spike protein とヒト ACE2 との結合の比較 (図9の①の部位)

A: SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) とヒト ACE2 との結合  
 B: SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) とヒト ACE2 との結合

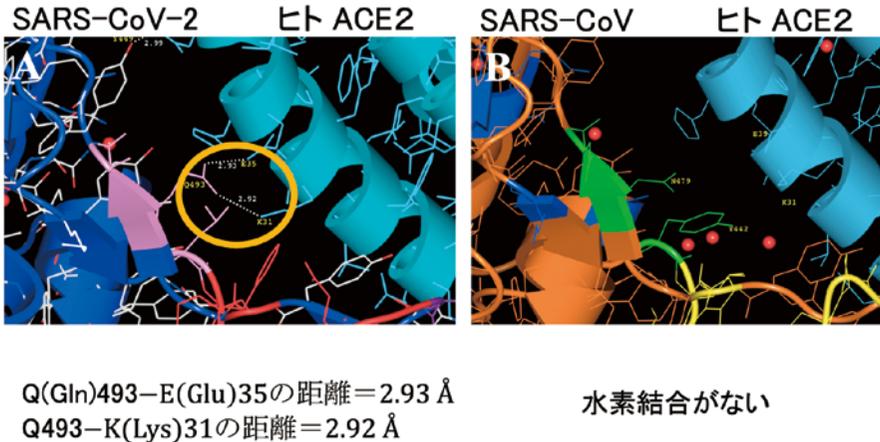
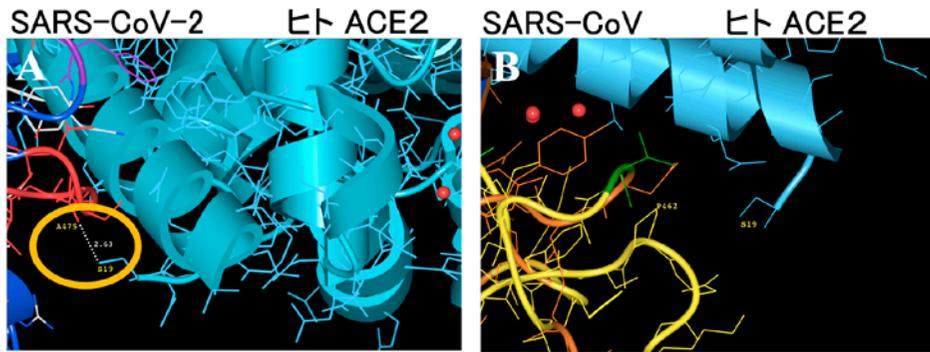


図11 SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) と SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) のそれぞれの spike protein とヒト ACE2 との結合の比較 (図9の②の部位)

A: SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) とヒト ACE2 との結合  
 B: SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) とヒト ACE2 との結合

た。これらの結果から、SARS-CoV-2の方がSARS-CoVよりACE2に近いことが分かった。図9-②の部分、SARS-CoV (PDB ID No.6VWIE) と SARS-CoV-2 (PDB ID No.3SCJE) で比較した(図11)。SARS-CoV-2ではQとEの距離は2.93Å、QとKの距離は2.92Åだが、SARS-CoVでは同じ部分で水素結合の可能性のある距離のアミノ酸は存在しなかった。

図9-③の部分、SARS-CoV (PDB ID No.6VWIE) と SARS-CoV-2 (PDB ID No.3SCJE) で比較した(図12)。SARS-CoV-2ではAとSの距離は2.63Åだが、SARS-CoVでは同じ部分で水素結合の可能性のある距離のアミノ酸は存在しなかった。このことからSARS-CoVに対してSARS-CoV-2では水素結合が増えている可能性があると考えた。



A(Ala)475-S(Ser)19の距離=2.63 Å

水素結合がない

図12 SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) と SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) のそれぞれの spike protein とヒト ACE2 との結合の比較 (図9の③の部位)

A: SARS-CoV-2 (PDB ID No.6VWIE) とヒト ACE2 との結合

B: SARS-CoV (PDB ID No.3SCJE) とヒト ACE2 との結合

SARS-CoV (5つ: PDB ID No.3SCIE, 3SCJE, 2AJFE, 5WRGA, および5XLRA) と SARS-CoV-2 (3つ: PDB ID No.6VWIE, 6VXXA, および6X6PA) の spike protein の配列をアライメントし、解析したところ、宿主細胞への侵入のきっかけとなるヒト Angiotensin converting enzyme2 (ACE2) と結合する部位に特異な変異があった。また、SARS-CoV と SARS-CoV-2 を比較すると、spike protein には大きな変化があり、その変化はC末側のアミノ酸配列にあり、その変化により水素結合が新しく形成されている可能性を示唆した。

#### 4. 考察

SARS-CoV-2 の spike protein のアミノ酸は、変化しやすい部位があると考えられた。また、SARS-CoV-2 の変化しやすい部位の spike protein は、SARS-CoV-2 がヒトの細胞に接着・侵入する過程を模索していると考えられた。ヒト ACE2 と SARS-CoV、SARS-CoV-2 のそれぞれの spike protein との水素結合の可能性についてアミノ酸の側鎖から検討した。ヒト ACE2 と SARS-CoV-2 の結合領域に水素結合があることが示唆された。Jones de Andrade<sup>(12)</sup> らは論文の中でドッキングシミュレーションによる水素結合の比較を行っていたため研究結果を比較したところ、T500-Y41、Y449-D38、Q493-E35、Q493-K31 に水素結合の可能性を示唆した結果は、本研究と一致していた。A475-S19、N487-Y38、G496-K353、Q498-Q42、G502-K353 ではドッキングシミュレーションにおいて水素結合の可能性を示していたが、本研究ではそれらの水素結合の可能性は低いと考えている。

2019年末に中国湖北省武漢市から始まった新型コロナウイルスは現在も変異を繰り返し、いまだ収束に至っていない。本研究では新型コロナウイルスの構造や変異箇所について検討を行っ

た。これらは新型コロナウイルス感染症の治療薬やワクチン開発の足掛かりになると考えている。

今回の実験でSARS-CoVからSARS-CoV-2に進化したことで水素結合が増え、ヒトACE2との結合力が強くなっている可能性があることが分かった。しかしSARS-CoV-2は今でも変異を繰り返しているため、今回の実験内容が現在流行している変異株に対応できているのかを確認する必要があると考える。また、変異を繰り返す際にさらに水素結合が増えていないか、水素結合以外の相互作用が感染力や毒性に関与しているのかどうかを構造から検討し、常に最新の情報を得ていく必要がある。新型コロナウイルスは現在でも変異を繰り返している。本研究では新型コロナウイルスの構造を解析し、変異しにくい部位と変異しやすい部位を発見している。これらの構造解析を進め、新型コロナウイルスの変異に対応できるワクチン開発に貢献していきたい。また、SARS-CoV-2の変異しやすい部位を発見したため、今までの変異の傾向からパターンを検討し、今後の変異を予測していきたい。

## 5. 利益相反

開示すべき利益相反はない。

### 【参考文献】

- (1) Amy C. Sherman, Glenda E. Gray, Bin Cao, Kelvin K. W. To, Nadine Rouphael, Ana Maria Henao-Restrepo, Anthony C. Gordon & Lindsey R. Baden: Acute SARS-CoV-2 infection, nature reviews disease primers p1-17 (2025) doi: 10.1038/s41572-025-00662-x
- (2) Chen Wang, Peter W. Horby, Frederick G. Hayden, George F. Gao: A novel coronavirus outbreak of global health concern, (January 24, 2020)
- (3) Yutaka ITO: *Earozoru Kenkyu*, 36(4), 237-245 (2021) doi: 10.11203/jar.36.237
- (4) Hidehito Kato and Naoko Yanagisawa: 東女医大誌, 91(1), 2-10 (2021.2)
- (5) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症に関する国内の研究開発の振り返り等について (2025) <https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/001513428.pdf>
- (6) Anusha Nathan, et al.: Volume 184, Issue 17, Pages 4401-4413.e10, (19 August 2021)
- (7) Michiaki MASUDA: Mutation of the SARS-CoV-2, Genome モダンメディア 67巻10号「新型コロナウイルス感染症 Up-to-date」 413, (2021)
- (8) Sandipan Chakraborty Evolutionary and structural analysis elucidates mutations on SARS-CoV-2 spike Protein with altered human ACE2 binding affinity Biochemical and Biophysical Research Communications 534, 374-380, (2021)
- (9) Mohamed Hendy, et al.: Molecular strategies for antibody binding and escape of SARS-CoV-2 and its

mutations Department of Mechanical Engineering University of British Columbia, 2054-6250 Applied Science Lane, Vancouver V6T 1Z4, BC, Canada.

- (10) Lokman Liv, et al.: Electrochemical biosensing platform based on hydrogen bonding for detection of the SARS-CoV-2 spike antibody Received: 1 October 2021/Revised: 19 October 2021/Accepted: 25 October 2021 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2021
- (11) Jones de Andrade, et al.: Why Does the Novel Coronavirus Spike Protein Interact so Strongly with the Human ACE2? A Thermodynamic Answer. *ChemBioChem*, 22, 865-875, (2021)
- (12) Jones de Andrade et al.: Why Does the Novel Coronavirus Spike Protein Interact so Strongly with the Human ACE2? A Thermodynamic Answer. *ChemBioChem*, 22, 865-875, (2021)

# The *in silico* Analysis of Spike Protein on SARS-CoV-2

Yoshikazu Nishiguchi, Asuka Shibuya,  
Akio Kitamura, Masato Yoshikubo

## Abstract

Coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), first occurred in Wuhan, Hubei Province, China, in 2019 and has spread worldwide. The spike protein was analyzed in this study using *in silico* technique. The spike protein has potentially strong pharmaceutical applications in the treatment of SARS-CoV-2, for which a three-dimensional structure has been obtained.

In the spike protein analysis, the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and SARS-CoV-2 sequences were aligned and analyzed and some specific mutations were found in the binding site for human angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), which triggers entry into the host cell. A molecular analysis of the site that binds SARS-CoV and SARS-CoV-2 to ACE2 revealed that the secondary structure changed from a loop structure to an  $\alpha$ -helix- $\beta$ -sheet structure during the evolution from SARS-CoV to SARS-CoV-2. In addition, the number of hydrogen bonds in the sites that bind human ACE2 to SARS-CoV and SARS-CoV-2 were different, suggesting that SARS-CoV-2 may bind more tightly to human ACE2 than to SARS-CoV. To acquire hydrogen bonds, the 475th amino acids were changed from proline to alanine, and the 493th amino acid changed from asparagine to glutamine during the evolution from SARS-CoV to SARS-CoV-2. The E484A and N501Y mutation sites in the mutant strain SARS-CoV-2 were examined and were found to be within the specific region analyzed in this study. This evolutionary process changed the amino acids from hydrophilic to hydrophobic.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, spike protein, evolution