



Avances de tesis

Ecología de las poblaciones de murciélagos y vigilancia molecular de betacoronavirus en San Luis Potosí: implicaciones para la salud pública.

MSc. Mariana Alejandra Castro Mejía

Director: Dr. Christian A. García-Sepúlveda

Codirector: Dra. Sandra E. Guerra-Palomares

Asesor: Dra. Sofía Bernal Silva

Asesor: Dra. Perla del Carmen Niño Moreno

Asesor externo: Dr. Gerardo Suzán Azpiri

Laboratorio de Genómica Viral y Humana BSL-3

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de San Luis Potosí



La importancia de los murciélagos

Segunda orden de mamíferos más abundante con 1,240 especies (25% de los mamíferos).

En México corresponden al 15% de las especies mamíferas (en SLP se han registrado 53 especies).

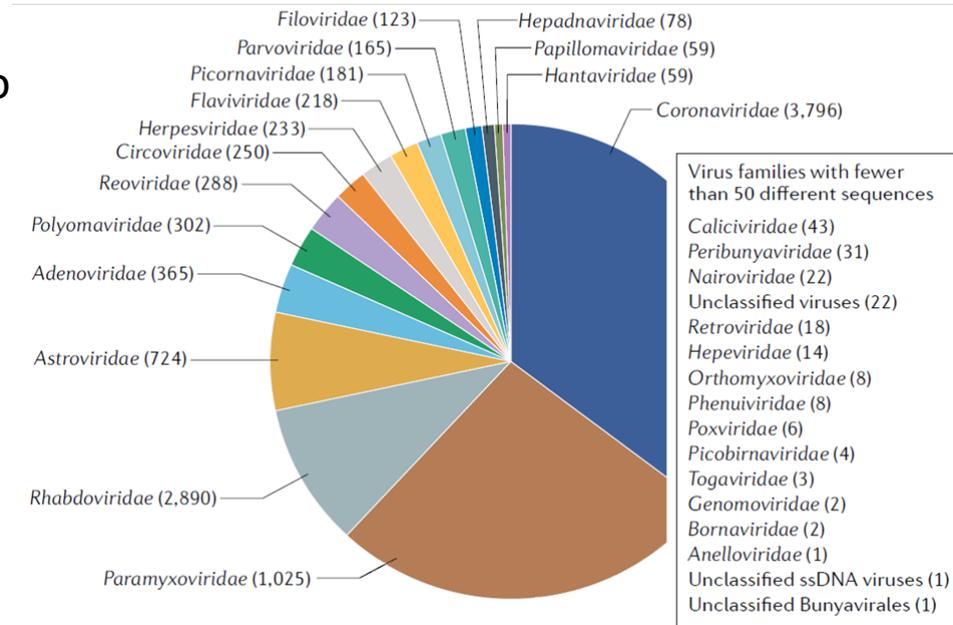
Diversidad alimentaria (insectívoros, frugívoros, nectarívoros y hematófagos).

Clave para polinización y control de insectos.

Reservorios de diversos virus; alta demanda metabólica por vuelo se asocia a respuesta inmune innata vigorosa.

Prevalencia de CoVs en murciélagos 1.5–23%.

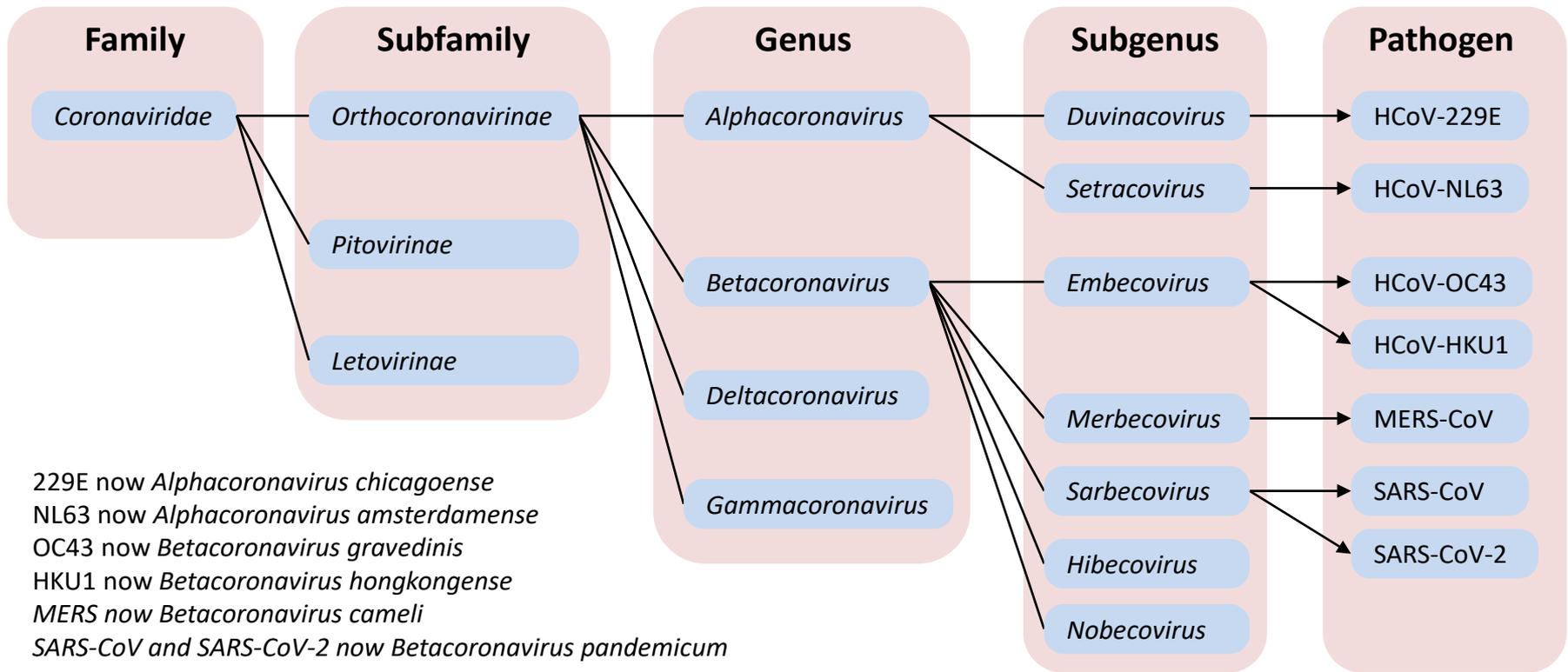
Bat virus diversity 2020



Taxonomía de los coronavirus

Los betacoronavirus (β -CoVs) son uno de los cuatro géneros de coronavirus en la subfamilia *Orthocoronavirinae*.

α -CoVs y β -CoVs infectan a mamíferos, δ -CoVs y γ -CoVs a aves.



Virología y genómica

Virus envueltos entre 120 a 160 nm de tamaño.

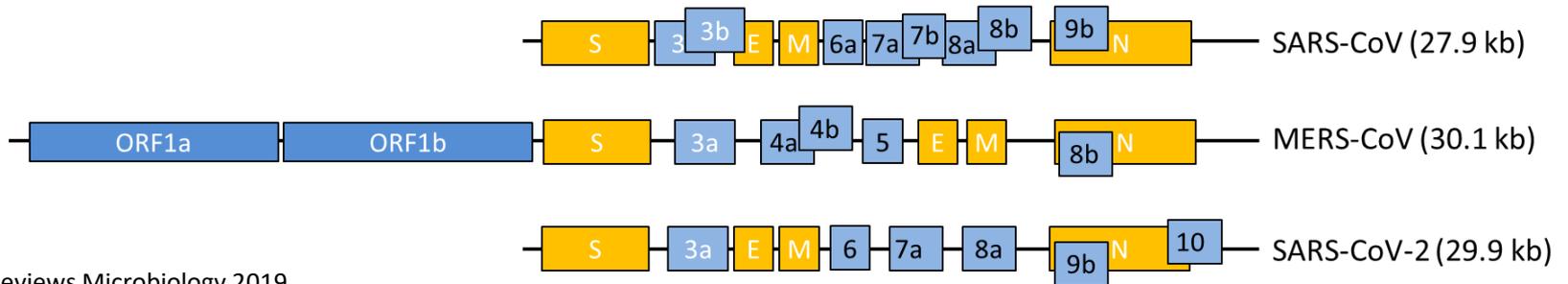
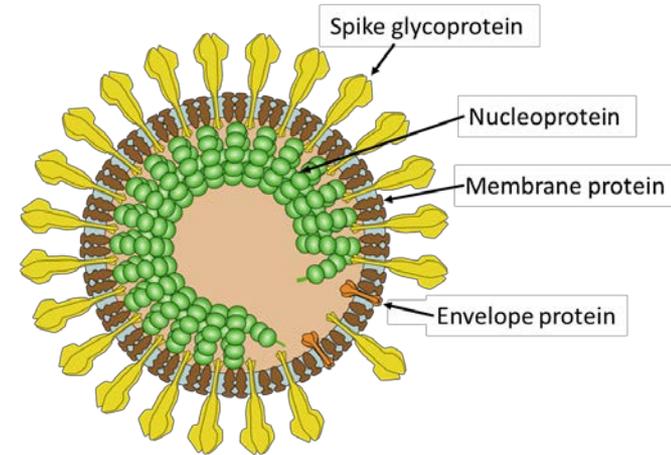
Genoma de (+) ssRNA poliadenilado, no segmentado de 26 a 32 kb.

Codifica para 9 a 12 marcos de lectura (ORF's).

ORF1a y ORF1b codifican poliproteínas que se procesan en 16 proteínas no estructurales involucradas en replicación y transcripción.

Proteínas estructurales son S, E, M y N.

Genes para proteínas accesorias varía entre linajes.

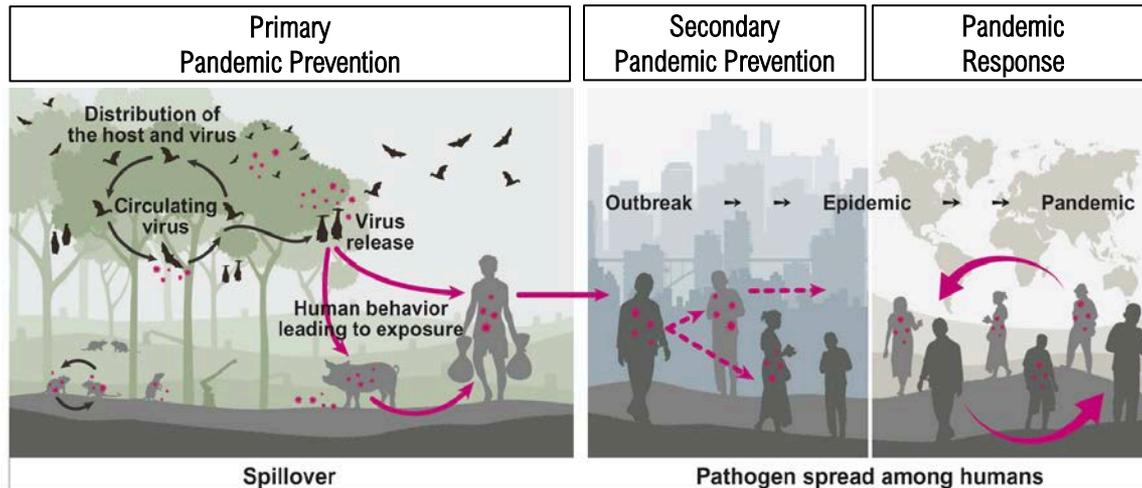


Cui J, Nature Reviews Microbiology 2019

Spill-over

Ocurre cuando virus presentes en murciélagos pasan a hospederos secundarios (intermediarios o finales)

- La deforestación y el cambio de uso de suelo aumentan interacciones entre animales.
- Cambios en temperatura y lluvias llevan a superposición de hábitats / alimentos.
- La superposición de hábitats facilita la transmisión a hospederos intermediarios.
- La movilidad humana puede convertir brotes locales en epidemias o pandemias.



Variables ambientales asociadas a la distribución

Cobertura vegetal: Refleja la densidad y calidad del hábitat. Mayor disponibilidad de alimento y refugios naturales.

Temperatura: Influye en el metabolismo, actividad nocturna y reproducción.

Humedad relativa: Aumenta la disponibilidad de insectos, frutos y flores. Favorece microhábitats húmedos utilizados como refugio.

Altitud: Modifica la temperatura, el oxígeno disponible y el tipo de vegetación.



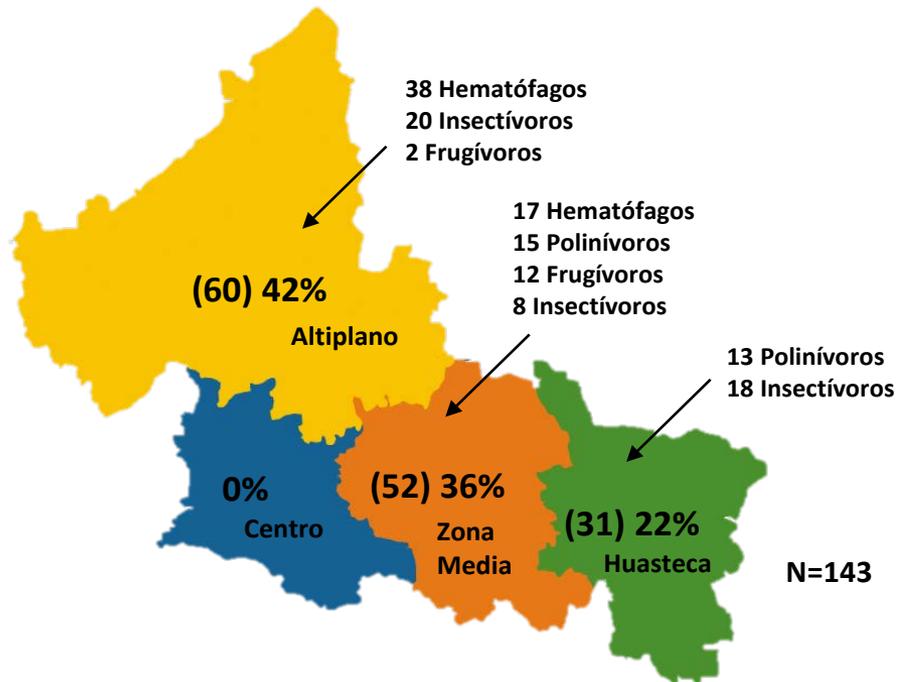
Artibeus jamaicensis

Ambiente y distribución de los murciélagos

San Luis Potosí presenta una elevada biodiversidad como resultado de su diversidad climática, heterogeneidad de tipos de vegetación y ubicación biogeográfica estratégica.

Estas condiciones ambientales favorecen la coexistencia y distribución de múltiples especies de flora y fauna.

Estado actual de colecciones de murciélagos de SLP.



Región	Ecorregiones dominantes
Altiplano	<ul style="list-style-type: none"> - Matorral xerófilo - Pastizal desértico - Matorral crasicaule
Centro	<ul style="list-style-type: none"> - Matorral subtropical - Pastizal inducido - Bosque de encino (en zonas altas) - Zonas agrícolas y periurbanas
Zona Media	<ul style="list-style-type: none"> - Selva baja caducifolia - Bosque tropical seco - Bosque de pino-encino (zonas altas) - Transición selva matorral
Huasteca	<ul style="list-style-type: none"> - Selva mediana subperennifolia - Selva baja húmeda - Vegetación ribereña y humedales

Justificación

La elevada diversidad de especies de murciélagos en el estado de San Luis Potosí, aunada a su capacidad para actuar como reservorios de virus de relevancia sanitaria (SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2), hace necesario el estudio de su distribución geográfica, el “burden” viral y los factores climáticos asociados, con el fin de evaluar el riesgo que estos virus emergentes representan para la salud pública.

Este proyecto propone realizar un diagnóstico situacional del riesgo, basado en un acercamiento One Health que integre datos de distribución ecológica, prevalencia viral, modelos de comportamiento climático y factores sociales, para identificar zonas de riesgo y estimar el riesgo de brotes a futuro.





Objetivos

Generar evidencia ecológica, espacial y molecular sobre la circulación de CoVs en poblaciones de murciélagos del estado de San Luis Potosí, integrando datos de campo, caracterización molecular y modelado espacial del riesgo para fortalecer la vigilancia epidemiológica y la prevención de amenazas a la salud pública bajo el enfoque One Health.

1. Mapear la distribución de murciélagos capturados en el estado de San Luis Potosí.
2. Determinar la prevalencia de CoVs en poblaciones de murciélagos del estado de San Luis Potosí.
3. Identificar asociaciones ambientales o ecológicas entre la distribución de murciélagos y la prevalencia de CoVs.
4. Desarrollar un modelo predictivo preliminar de riesgo de spillover de CoVs en el estado de San Luis Potosí.

Avances: Captura de murciélagos

1. Expansión de sitios de captura de murciélagos complementarios

Incrementar representatividad de ecosistemas del estado.

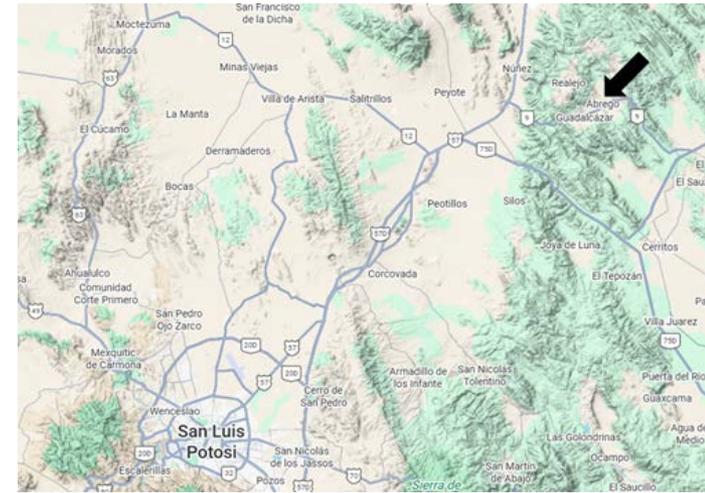
Comité Estatal de Fomento y Protección pecuaria (CEFPP).

1er salida: Ábrego, Guadalcázar, SLP (15 al 17 de octubre 2025).



Variables ecológicas

Ecorregión	Altiplano
Localidad	Rural
Coordenadas	22° 39' N, 100° 23' O
Altitud	1640 – 1660 msn
Vegetación	Matorral xerófilo y pastizal inducido
Cuerpos de agua	Arroyos temporales
Temperatura	17.6 – 21°C
Humedad relativa	69%
Fase lunar	Luna nueva
Tipo de ambiente	No perturbado
Uso de suelo	Agrícola y ganadero





Avances: Captura de murciélagos

2. Ampliar la colección de murciélagos empleando recomendaciones CDC trabajo de campo.

Fórmula basada en probabilidad binomial.

$$n = \frac{\ln(1 - C)}{\ln(1 - P)}$$

n = número mínimo de individuos a muestrear

C = nivel de confianza deseado (ej. 0.95 = 95%)

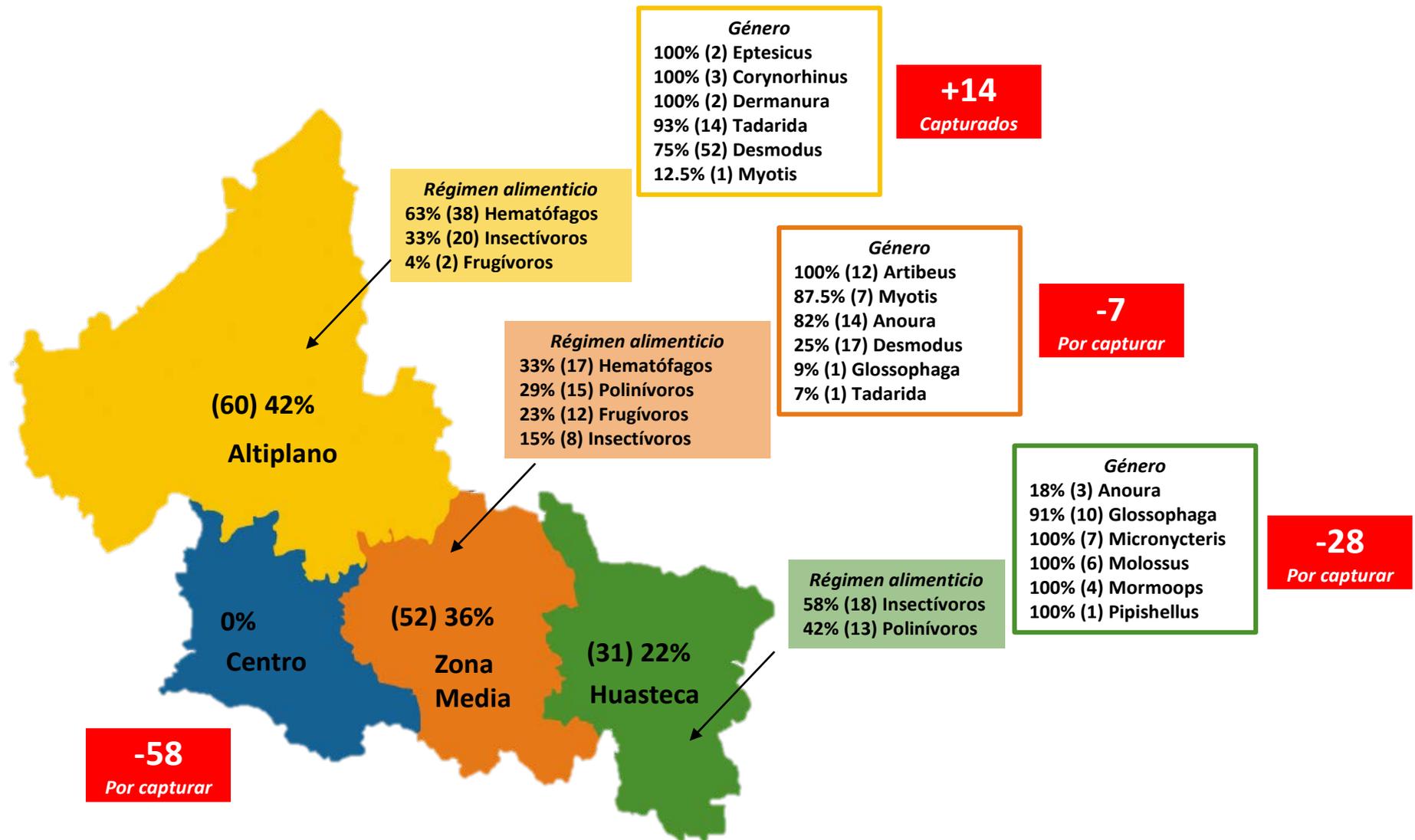
P = prevalencia esperada del virus en la población

Si se espera una prevalencia del 5% (0.05) y se desea un 95% de confianza:

$$n = \frac{\ln(1 - 0.95)}{\ln(1 - 0.05)} = \frac{-2.9957}{-0.0513} \approx 58.4$$

Se necesita al menos 59 murciélagos por región o tipo de ambiente para tener 95% de seguridad de detectar al menos un positivo si la prevalencia es $\geq 5\%$.

Avances: Captura de murciélagos



Avances: Captura de murciélagos

2. Ampliar la colección de murciélagos empleando recomendaciones CDC trabajo de campo.

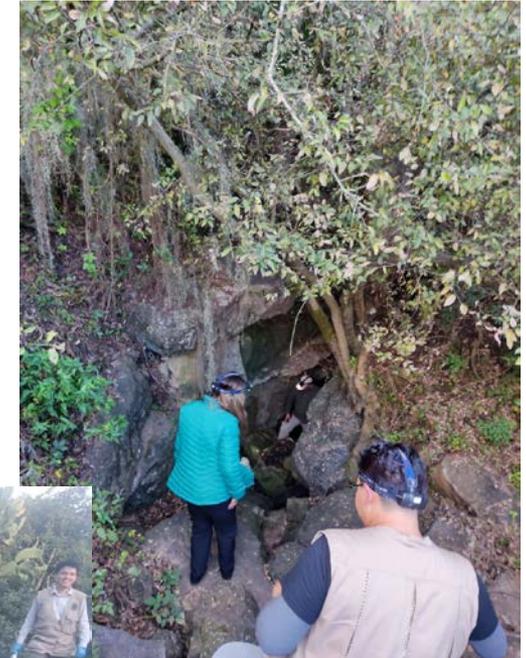
1. Instalación de estación de trabajo

a) 17:00 hrs en cuevas/corral

2. Morfometría y fotodocumentación

3. Necropsias

- a) Hisopado rectal
- b) Sangre en DBS
- c) Pulmón
- d) Hígado
- e) Bazo
- f) Intestino distal
- g) Riñón
- h) Cerebro



Avances: Captura de murciélagos

2. Ampliar la colección de murciélagos empleando recomendaciones CDC trabajo de campo.

1. Instalación de estación de trabajo
 - a) 17:00 hrs en cuevas/corral

2. Morfometría y fotodocumentación

3. Necropsias

- a) Hisopado rectal
- b) Sangre en DBS
- c) Pulmón
- d) Hígado
- e) Bazo
- f) Intestino distal
- g) Riñón
- h) Cerebro



Elat specimen collection form
Laboratorio de Genómica Viral y Humana BSL-3,
Facultad de Medicina, UASLP (Oct 14, 2025 v4)

SPECIMEN ID. _____

Sampling site and weather information

Wilderness Rural Suburban Urban Date: Time:

Location: Lat:

Municipality: Long:

State: Alt:

Temp (°C): Wind (m/s): Baro (hPa): Precip Moon phase: ☾ ☽ ☾ ☽ ☾ ☽

Domestic animals: Bovine Caprine Ovine Equine Canine Feline Poultry

Specimen information and sample documentation

Common name:

Genus & species:

Age:	Health status:	Feeding habits:	Capture motive:	Capture modality:
<input type="checkbox"/> Pre-juvenile	<input type="checkbox"/> Healthy	<input type="checkbox"/> Haematophagous	<input type="checkbox"/> Capture/Release	<input type="checkbox"/> Mist-net
<input type="checkbox"/> Juvenile	<input type="checkbox"/> Injured	<input type="checkbox"/> Insectivore	<input type="checkbox"/> Necropsy	<input type="checkbox"/> Harp-trap
<input type="checkbox"/> Adult	<input type="checkbox"/> Endoparasites	<input type="checkbox"/> Frugivore	<input type="checkbox"/> Voucher	<input type="checkbox"/> Hand-net
<input type="checkbox"/> Pregnant	<input type="checkbox"/> Ectoparasites	<input type="checkbox"/> Carnivore	<input type="checkbox"/> Tagging	<input type="checkbox"/> Ground-collection
<input type="checkbox"/> Senescent	<input type="checkbox"/> Diseased	<input type="checkbox"/> Pollinivore		
	<input type="checkbox"/> Dead	<input type="checkbox"/> Nectarivore		

Morphometry	Samples	Photodocumentation
Weight (grs): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Oral swab	<input type="checkbox"/> Antero-posterior
Wing-span (cm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Rectal swab	<input type="checkbox"/> Postero-anterior
Cephalo-caudal length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Serum	<input type="checkbox"/> Facial detail
Fronto-occipital length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Heart	<input type="checkbox"/> Teeth
Ear length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Lungs	<input type="checkbox"/> Ears
Radial length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Liver	<input type="checkbox"/> Right wing
Thumb length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Spleen	<input type="checkbox"/> Left wing
Tibial length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Kidneys	<input type="checkbox"/> Interfemoral memb
Foot length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Intestine (distal)	<input type="checkbox"/> Tail
Tail length (mm): <input type="text"/>	<input type="checkbox"/> Brain	<input type="checkbox"/> Genitalia
	<input type="checkbox"/> DBS in FTA	<input type="checkbox"/> Calcari/Keel
		<input type="checkbox"/> Other

Avances: Captura de murciélagos

2. Ampliar la colección de murciélagos empleando recomendaciones CDC trabajo de campo.

1. Instalación de estación de trabajo
 - a) 17:00 hrs en cuevas/corral

2. Morfometría y fotodocumentación

3. Necropsias

- a) Hisopado rectal
- b) Sangre en DBS
- c) Pulmón
- d) Hígado
- e) Bazo
- f) Intestino distal
- g) Riñón
- h) Cerebro



Avances: Captura de murciélagos

2. Ampliar la colección de murciélagos empleando recomendaciones CDC trabajo de campo.

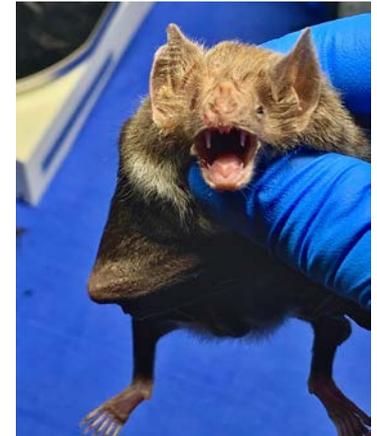
Total de capturas: 18

Especies: *Desmodus rotundus*

Necropsias realizadas: 14



Sitio	Número
Cueva	6
Corral	8
Machos	7
Hembras	7
Adultos	11
Jóvenes	3



Promedio de medidas morfométricas

Peso	32.5 g
Envergadura	40.5 cm
Cefalo-caudal	81.2 cm
Fronto-occipital	18.4 cm
Orejas	17.5 cm
Radio	60.1 cm
Pulgar	19.0 cm
Tibia	26.2 cm
Pie	15.9 cm





Avances: Validación *in silico* de oligonucleótidos

Generación de base de datos de secuencias nucleotídicas y alineamientos de coronavirus

1. Compilación de secuencias y condiciones de PCR para:

- Beta-actina
- Lyssavirus
- Pan-coronavirus Alfa/betaCoV (Pan-CoV)

2. Validación *in silico*

- Mapeo de oligonucleótidos sobre genomas completos
- Selección de región diana
- Recuperación de secuencias homólogas
- Alineamientos múltiples
- Remoción de duplicados
- Construcción de una secuencia consenso (Beta-actina)
- Mapeo de los oligonucleótidos sobre el alineamiento final

3. Diseño de nuevos oligos con verificación *in silico* de parámetros y especificidad.

- Beta-actina (Forward/Reverse)
- SARS-CoV-2 (Reverse)

1. Compilación de secuencias nucleotídicas y condiciones de PCR en motores de búsqueda.

Búsqueda sistemática para identificar protocolos validados para tamizaje molecular en murciélagos de:

- Beta-actina
- Lyssavirus
- Pan-CoV



pathogens



Article

Molecular Surveillance for Potential Zoonotic Pathogens in Troglophilus Bats: Detection and Molecular Characterization of Bat Coronaviruses in Southern Italy

Francesco Mira ^{1,2,*}, Francesca Gucciardi ¹, Giorgia Schiró ^{1,2,*}, Rosario Grasso ³, Maria Teresa Spena ³, Gábor Kemenesi ^{4,5}, Claudia Vaiana ¹, Davide Anzà ¹, Laura Di Paola ¹, Santina Di Bella ¹, Annalisa Guercio ¹ and Giuseppa Purpari ¹



veterinary sciences



Article

Identification and Characterization of Viral and Bacterial Pathogens in Free-Living Bats of Kopaonik National Park, Serbia

Dejan Vidanović ^{1,*}, Nikola Vasković ¹, Marko Dmitrić ¹, Bojana Tešović ¹, Mihailo Debeljak ¹, Milovan Stojanović ¹ and Ivana Budinski ²



viruses



Article

Updated and Validated Pan-Coronavirus PCR Assay to Detect All Coronavirus Genera

Myndi G. Holbrook ¹, Simon J. Anthony ², Isamara Navarrete-Macias ², Theo Bestebroer ³, Vincent J. Munster ¹ and Neeltje van Doremalen ^{1,*}

1.2 Recopilación de oligos publicados para cada blanco.

	Nombre	Secuencia (5' - 3')	Referencia
Beta-actina	B-actin-F	CGATGAAGATCAAGATCATTGC	Gigante CM, 2018
	B-actin-R	GTCCACCGCAAATGCTT	
	B-actin-Pb	TCCACCTTCCAGCAGATGTGGATC	
Lyssavirus	LN34-Fwd1	ACGCTTAACAACCAGATCAAAGAA	Gigante CM, 2018
	LN34-Fwd2	ACGCTTAACAACAAAATCADAGAAG	
	LN34-Rev	GAYCARTATGARTAYAARTACCCKG	
	LN34-Probe	AACACCYCTACAATGGA	
	JW12-Fwd	ATGTAACACCYCTACAATG	Nadin-Davies, 2009
	N165-Rev	TATGAGTAYAARTACCCTGC	Vidanovic D, 2025
Alfa y betacoronavirus	Pan_CoV_F1	GGTTGGGAYTAYCCAARTGYGA	Holbrook, 2021
	Pan_CoV_R1	ATGATWYTDCTGATGAYGG	
	Pan_CoV_R2	ATGATWYTDAGTGATGAYGG	
	Pan_CoV_F2	GAYTAYCCHAARTGTGAYAGA	
	Pan_CoV_F3	GAYTAYCCHAARTGTGAYMGH	



Avances: Validación *in silico* de oligonucleótidos

2.1 Mapeo de oligonucleótidos sobre genomas completos

Para cada virus representativo se descargó el genoma completo de GenBank/NCBI y se evaluó *in silico* el anclaje de los oligos Forward, Probe y Reverse.

Beta-actina: Secuencias de mamíferos

Lyssavirus: Secuencias representativas de cada filogrupo

Pan-coronavirus: Secuencias representativas por subgéneros y linajes de Alfa/BetaCoV

Murciélago
Oso
Castor
Gato
Ciervo
Delfín
Armiño
Hurón
Cabra
Gorila
Caballo
Lémur
Leopardo
Mono
Panda
Pangolín
Ballena
Rata
Tigre
Morsa
Nutria
Jabalí



Avances: Validación *in silico* de oligonucleótidos

2.1 Mapeo de oligonucleótidos sobre genomas completos

Para cada virus representativo se descargó el genoma completo de GenBank/NCBI y se evaluó *in silico* el anclaje de los oligos Forward, Probe y Reverse.

B-actina: Secuencias de mamíferos

Lyssavirus: Secuencias representativas de cada filogrupo

Pan-coronavirus: Secuencias representativas por subgéneros y linajes de Alfa/BetaCoV

Filogrupo I

RABV
DUVV
EBLV-1
ABLV
ARAV
IRKV
BBLV

Filogrupo II

MOKV
SHIBV

Filogrupo III

LLEBV
WCBV
IKOV

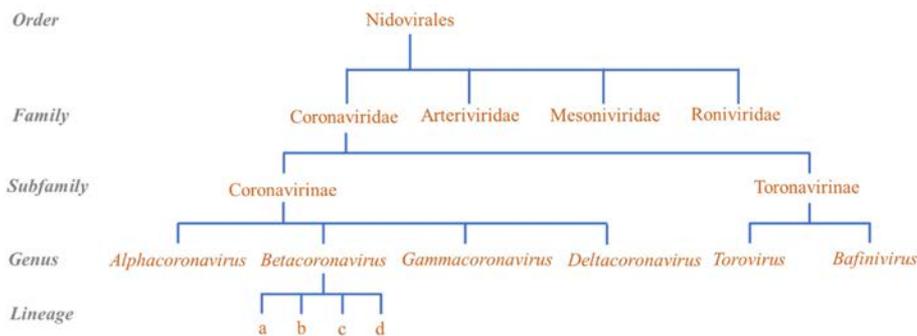
2.1 Mapeo de oligonucleótidos sobre genomas completos

Para cada virus representativo se descargó el genoma completo de GenBank/NCBI y se evaluó *in silico* el anclaje de los oligos Forward, Probe y Reverse.

B-actina: Secuencias de mamíferos

Lyssavirus: Secuencias representativas de cada filogrupo

Pan-coronavirus: Secuencias representativas por subgéneros y linajes de Alfa/BetaCoV



Alfacoronavirus

Tegacovirus

PRCV
TGEV Purdue
CCoV

Duvinacovirus

HCoV-229E

Setracovirus

HCoV-NL63

Rhinacovirus

HKU2

Minunacovirus

HKU8

Betacoronavirus

Linaje A – Embecovirus

HCoV-OC43
BCoV
HCoV-HKU1

Linaje B – Sarbecovirus

HKU3
SARS-CoV
SARS-CoV-2

Linaje C – Merbecovirus

MERS-CoV
HKU5

Linaje D – Nobecovirus

Nobecovirus

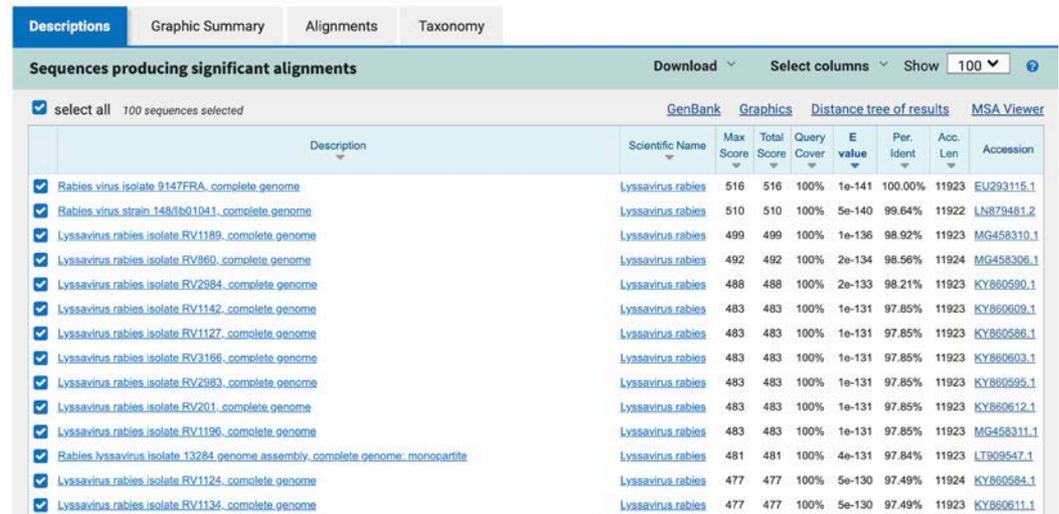
2.2 Selección de región diana

A partir de los genomas completos, se delimitó el segmento que incluyera completamente los sitios de unión de Forward, Probe y Reverse.

La secuencia se recortó de una secuencia referencia en que cabían íntegros los 3 oligos.

2.3 Recuperación de homólogos por BLAST

El segmento recortado se envió a NCBI BLAST (blast n) contra la base nucleotídica (nt) con parámetros por defecto y sin filtros taxonómicos estrictos, recuperando hasta 100 aciertos (límite default) en formato FASTA



Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Rabies virus isolate 9147FRA, complete genome	Lyssavirus rabies	516	516	100%	1e-141	100.00%	11923	EU293115.1
<input checked="" type="checkbox"/> Rabies virus strain 148/01041, complete genome	Lyssavirus rabies	510	510	100%	5e-140	99.64%	11922	LN879481.2
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1189, complete genome	Lyssavirus rabies	499	499	100%	1e-136	98.92%	11923	MG458310.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV960, complete genome	Lyssavirus rabies	492	492	100%	2e-134	98.56%	11924	MG458306.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV2984, complete genome	Lyssavirus rabies	488	488	100%	2e-133	98.21%	11923	KY860590.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1142, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	KY860609.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1127, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	KY860586.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV3166, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	KY860603.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV2983, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	KY860595.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV201, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	KY860612.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1196, complete genome	Lyssavirus rabies	483	483	100%	1e-131	97.85%	11923	MG458311.1
<input checked="" type="checkbox"/> Rabies lyssavirus isolate 13284 genome assembly, complete genome: monopartite	Lyssavirus rabies	481	481	100%	4e-131	97.84%	11923	LT909547.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1124, complete genome	Lyssavirus rabies	477	477	100%	5e-130	97.49%	11924	KY860584.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lyssavirus rabies isolate RV1134, complete genome	Lyssavirus rabies	477	477	100%	5e-130	97.49%	11923	KY860611.1

2.4 Alineamiento múltiple

Las secuencias descargadas se alinearon con CLUSTAL Omega (parámetros por defecto). Las salidas se reportaron en formato Clustal “simple” sin caracteres de coincidencia para facilitar la lectura y el procesamiento.

Clustal Omega is a new multiple sequence alignment program that uses seeded guide trees and HMM profile-profile techniques to generate alignments between three or more sequences. For the alignment of two sequences please instead use our pairwise sequence alignment tools. This tool can align up to 4000 sequences or a maximum file size of 4 MB.

Input sequence Ⓞ

Sequence type
 Protein DNA RNA

Paste your sequence here - or use the example sequence

```
>MG458310.1:8-286 Lyssavirus rabies isolate RV1189, complete genome
ACAACAAAATCAAAGAAGAAGCAGACAGCGTCAGTTACAAGCAAAAATGTAACACCCCT
ACAATGGATGCCACAAGATTGTATTAAGGTCAATAATCAGGTGGTCTTTGAAGCCA
GAGATTATCGTGGATCAATATGAGTACAAGTACCCTGCTATCAAAGATTGAAAAGCCC
TGTATAACCCTAGGGAAAGCCCCGACTTAAACAAAGCATACAAGTCAGTCTTATCAGGC
ATGAATGCAGCCAACTTGATCCTGATGATGTATGTTCC
>MG458306.1:8-285 Lyssavirus rabies isolate RV860, complete genome
```

[Seleccionar archivo](#) Sin archivos seleccionados [Use the example](#) [Clear sequence](#) More example inputs

Parameters

OUTPUT FORMAT Ⓞ
 ClustalW ▼

[More options](#) ▼

Submit

Title
 Clustal Omega's job

[Submit](#)

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

```
LT909537.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAACAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
EU293115.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTACAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OR045939.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGAAAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KR906748.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGAAAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
LN879481.2:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTACAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KX148104.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KF155000.1:8-286 ACGACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KC595280.1:8-286 ACAACAAAATCATAGAAGAAGCAGACAGCGTCAATTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860604.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAAGCAGATAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860605.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAAGCAGATAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KX708503.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
JQ944708.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KC737850.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAACAGACAGTGTCAAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
JQ944706.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860602.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAGGCAGACAGTGTCAAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860599.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAGGCAGACAGTGTCAAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860610.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860598.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAGGCAGACAGTGTCAAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860592.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAGGCAGACAGTGTCAAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
JQ944704.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAACAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
MG458312.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGTAAAATGTAACACCCCT
KY765901.1:8-286 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603677.1:25-303 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603680.1:33-311 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603635.1:1-271 -----ATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603672.1:2-272 -----ATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OP477380.1:1-278 -CAACAAGATCAAAGAAGAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603637.1:5-283 ACAACAAAATCAGAGAAGAAAGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
KY860591.1:8-286 ACAACAAAATCAAAGAAGAGGCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
OQ603609.1:5-283 ACAACAAAATCAGAGAAGAAATCAGACAGCGTCAGTTGCAAAGCAAAAATGTAACACCCCT
```

2.5 Remoción de duplicados con LANL Duplicate Sequence Removal para identificar y eliminar secuencias idénticas (100% de identidad)

Se retuvo un único representante por duplicado, obteniendo un conjunto de secuencias curado y representativo.

ElimDupes

Duplicate Sequence Removal

Purpose: compare the sequences in an alignment and identify or eliminate duplicates or very similar sequences.

For details, see [ElimDupes Explanation](#).

Input

Paste your sequences here [Sample Input]

```

KY860588.1:8-286   ATGAATGCAGCCAAACTTGATCCTGATGATGATGCTCC
KY860593.1:8-286   ATGAATGCAGCCAAACTTGATCCTGATGATGATGCTCC
KY860584.1:8-286   ATGAATGCAGCCAAACTTGATCCTGATGATGATGCTCC
OQ603631.1:1-273   ATGAATGCCGCCAAACTTGATCCTGATGATGATGTTCC
OQ603673.1:3-69    -----
```

or upload your file Seleccionar archivo Sin archivos seleccionados

Yes, sequences are aligned UNCHECK box if your sequences aren't aligned (tool will be much slower)

Analyze input by groups enter number of leading digits

Elimination options

Eliminate sequences 100% identical
 more similar than %

Remove extraneous characters (If seqs are unaligned, this setting may be changed by the tool; check your results.)

Make all letters uppercase

Consider subsequences as duplicates

Output options

Restore original sequences in output Yes No

Create file of unique sequences with Yes No

_count added to sequence names Include rank in sequence names

Sequence names end in '_nn' where nn is the occurrence count

last modified: Wed Oct 31 09:57 2018



Avances: Validación *in silico* de oligonucleótidos

2.5 Remoción de duplicados con LANL Duplicate Sequence Removal para identificar y eliminar secuencias idénticas (100% de identidad)

Secuencias duplicadas vs únicas.

Beta-actina	Lyssavirus	Pan-coronavirus	
35/64	RABV: 35/65 DUVV: 11/7 EBLV-1: 43/57 ABLV: 76/24 ARAV: 98/2 IRKV: 1/3 BBLV: 5/4 MOKV: 77/23 SHIBV: 1/1 LLEBV: 2/2 WCBV: 1/1 IKOV: 2/1	Alfacoronavirus	Betacoronavirus
		PRCV: 5/10 TGEV Purdue: 37/16 CCoV: 12/42 HCoV-229E: 93/7 HCoV-NL63: 85/15 HKU2: 0/6 HKU8: 4/2	HCoV-OC43: 99/1 Bovine CoV: 99/1 HKU1: 73/27 HKU3: 1/5 SARS-CoV: 96/4 SARS-CoV-2: 93/7 MERS-CoV: 87/13 HKU5: 100/86 Nobecovirus: 0/2

2.7 Alineamientos múltiples y consenso para mapeo/diseño de oligos

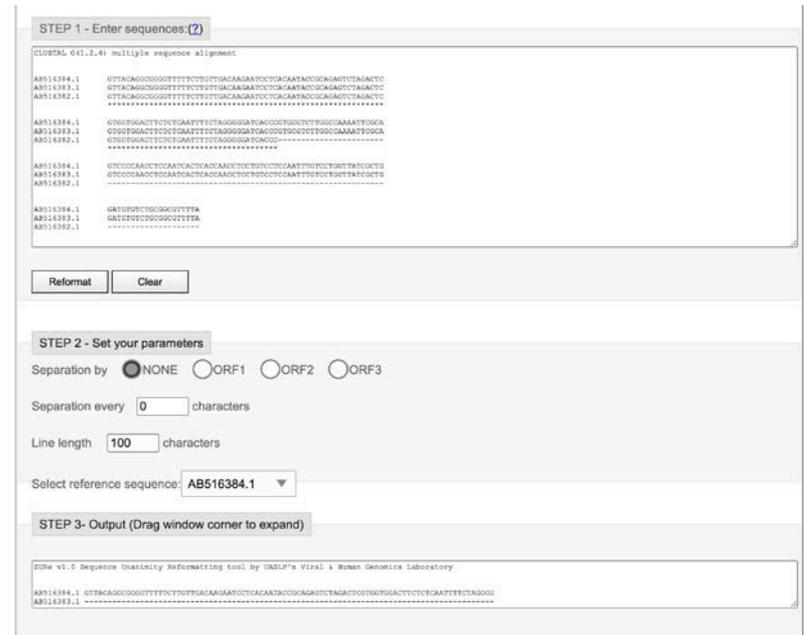
Reformateo y visualización en Sure – Unanimity Reformatting v2.0

Se reformatea el alineamiento respecto a una secuencia de referencia y solo se visualizan las diferencias (mismatches).

Permite ubicar a simple vista las regiones conservadas y hotspots de variación sin ruido.

Configuración aplicada:

- Sin separación por marco de lectura (ORF)
- Sin separación por caracteres especiales
- Ancho de línea entre 100 y 200 caracteres.





Avances: Validación *in silico* de oligonucleótidos

2.8 Construcción de consenso para beta actina

Con el conjunto depurado (64 únicas), se generó una secuencia consenso usando LANL HIV Sequence DB:

- Tools for working sequences
- Consensus maker (simple approach)
- Con un umbral de mayoría 51%

2.9 Validación y mapeo *in silico* de oligonucleótidos publicados

Mapeo *in silico* sobre las secuencias compiladas para verificar:

- Sitio de unión y orientación
- Tamaño esperado del amplicón
- Mismatches y regiones variables

Se resaltaron los desajustes (mismatches) nucleotídicos por especie con relación a cada oligo.

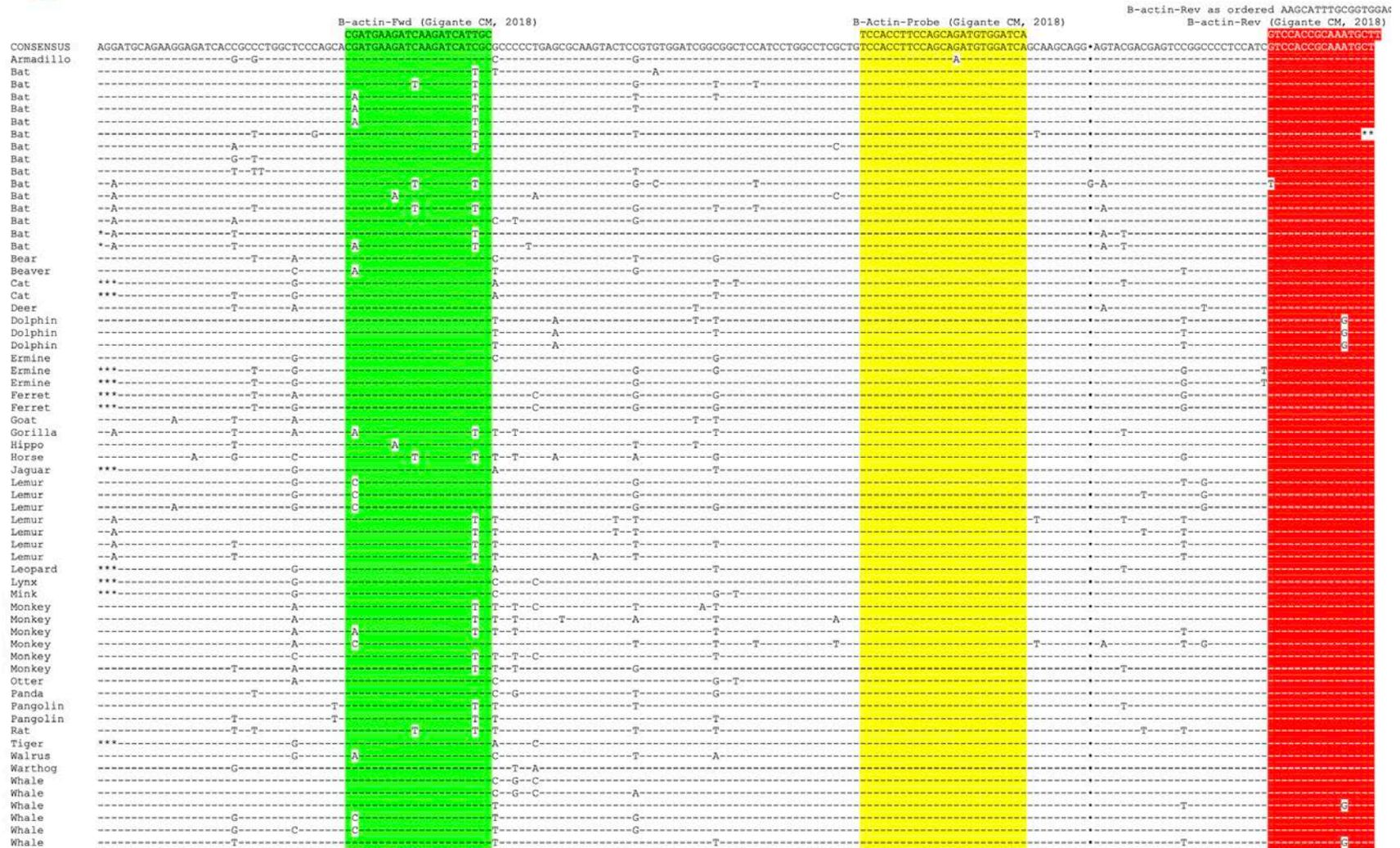
Avances: Validación *in silico* de Beta-actina



Oligonucleotide map of mammalian β -actin nucleotide sequence (Gigante CM, 2018 originals)

SURe v1.0 Sequence Unanimity Reformatting tool by UASLP's Viral & Human Genomics Laboratory

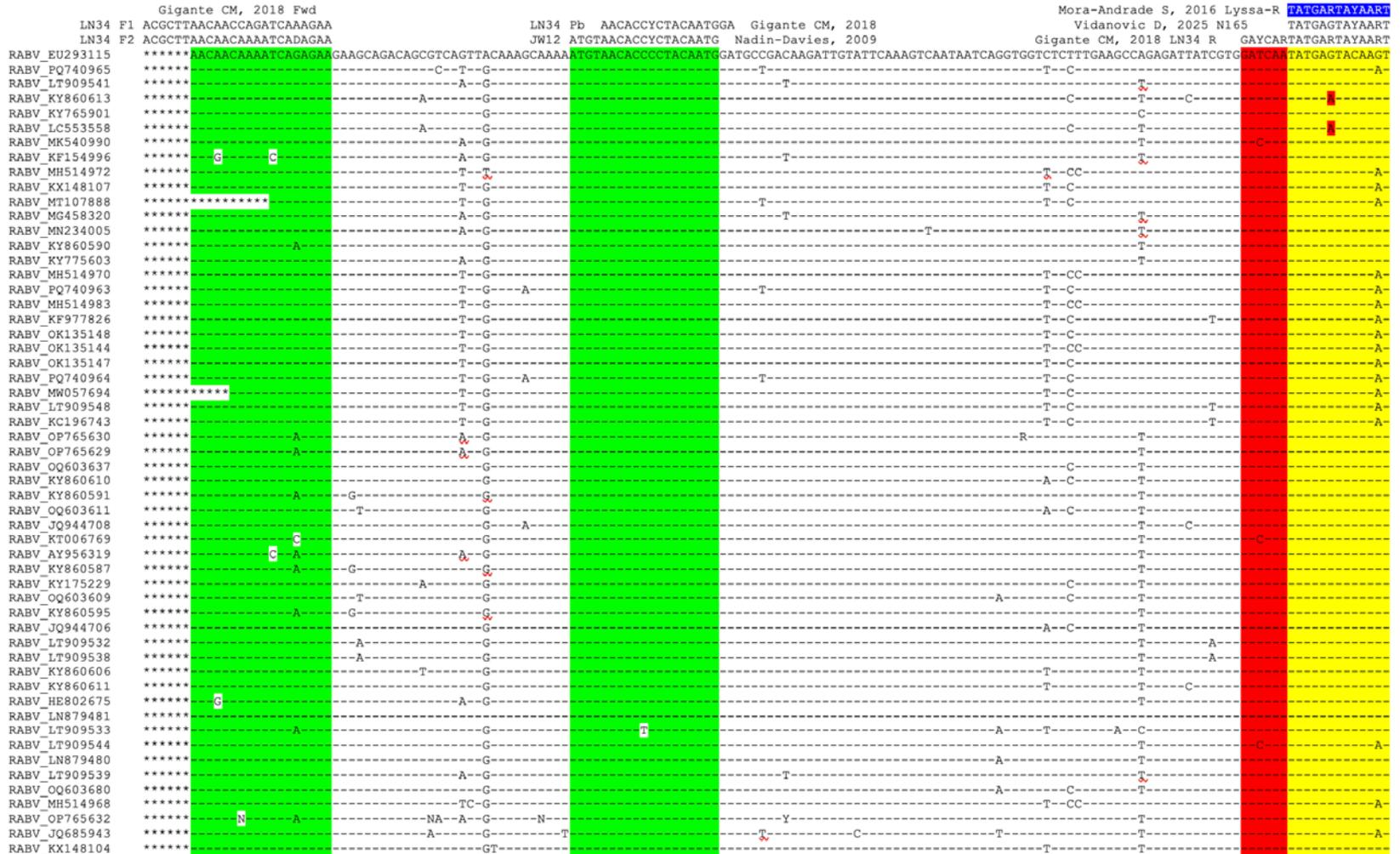
MA Castro-Mejía, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (26/Aug/2025 v1.0)



Avances: Validación *in silico* de Lyssavirus



Oligonucleotide map of bat lyssavirus unique nucleotide sequences
 SURE v1.0 Sequence Unanimity Reformatting tool by UASLP's Viral & Human Genomics Laboratory
 MA Castro-Mejía, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (04/Nov/2025 v5.0)



Avances: Validación *in silico* de Lyssavirus

AYCCKGC	Mora-Andrade S, 2016 Lyssa-R
ACCCCTGC	Vidanovic D, 2025 N165
ACCCKG	Gigante CM, 2018 LN34 R
ACCCCTGC	TATCAAAGATTGGAAAAAGCCCTGTATAACCTAGGGAAAGCCCCGACTTAAACAAAGCATACAAGTCAGTCTTATCAGGCATGAATGCAGCCAAACTTGATCCTGATGATGTATTTC
RABV_EU293115	-----C-----A-C-----T-----G-T-G-----T-----G-----C-----
RABV_PQ740965	-----G-C-----G-----A-T-----T-----G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_LT909541	-----G-C-----G-----A-T-----T-----G-T-G-----T-----T-G-G-TT-----T-----G-----C-----
RABV_KY860613	-----G-C-----G-----A-T-----T-----G-T-G-----T-----T-A-G-----A-----
RABV_KY765901	-----G-C-----G-----A-T-----T-----G-T-G-----T-----T-G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_LC553558	-----T-G-C-----G-----A-C-----T-----G-----G-----T-----T-G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_MK540990	-----G-C-----G-----A-T-----T-----G-----T-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KF154996	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----G-----T-----T-----C-----G-----C-----*
RABV_MH514972	-----CC-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----C-----G-----C-----*
RABV_KX148107	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----T-----G-----C-----C-----
RABV_MT107888	-----G-C-----G-----TA-----T-----T-----G-----TT-----T-----G-----G-----C-----
RABV_MG458320	-----T-G-C-----G-----A-C-----T-----G-----G-----T-----T-G-----T-----T-----G-----C-----
RABV_MN234005	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----TT-----G-----G-----C-----
RABV_KY860590	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----TT-----G-----G-----C-----
RABV_KY775603	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_MH514970	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_PQ740963	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_MH514983	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_KF977826	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_OK135148	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_OK135144	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_OK135147	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_PQ740964	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_MM057694	-----G-----C-----G-----A-----T-----T-----T-----T-----T-----G-----C-----
RABV_LT909548	-----C-----G-----A-----T-----A-----T-----T-----T-----T-----G-----C-----
RABV_KC196743	-----C-----G-----A-----T-----T-----T-----T-----T-----G-----C-----
RABV_OP765630	-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_OP765629	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_OQ603637	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KY860610	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KY860591	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_OQ603611	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_JQ944708	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KT006769	-----C-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_AY956319	-----C-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----TT-----G-----G-----C-----
RABV_KY860587	-----G-----G-----C-----A-----T-----G-----T-----G-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----*
RABV_KY175229	-----C-----G-----G-----A-----T-----G-----T-----G-----T-----T-----G-----TT-----T-----G-----C-----*
RABV_OQ603609	-----C-----G-----G-----A-----T-----G-----T-----G-----T-----T-----G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KY860595	-----C-----G-----G-----A-----T-----G-----T-----G-----T-----T-----G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_JQ944706	-----C-----G-----G-----A-----T-----G-----T-----G-----T-----T-----G-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_LT909532	-----G-----TC-----G-----
RABV_LT909538	-----TC-----G-----
RABV_KY860606	-----C-----T-----G-----
RABV_KY860611	-----C-----T-----G-----
RABV_HE802675	-----G-C-----G-----TA-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----A-----
RABV_LN879481	-----G-----G-----T-----G-----
RABV_LT909533	-----C-----G-----T-----G-----
RABV_LT909544	-----G-----G-----T-----G-----
RABV_LN879480	-----T-----T-----G-----C-----A-----C-----
RABV_LT909539	-----G-C-----G-----TA-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----A-----
RABV_OQ603680	-----C-----G-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----A-----
RABV_MH514968	-----C-----G-----G-----A-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_OP765632	-----G-----G-----A-----C-----T-----T-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_JQ685943	-----CC-----C-----G-----T-----TT-----T-----G-----C-----
RABV_KX148104	-----T-----T-----G-----T-----C-----
RABV_HQ450386	-----T-----G-----T-----C-----C-----C-----
RABV_KR906748	-----T-----G-----T-----C-----A-----
RABV_MG458306	-----T-----T-----T-----C-----*
RABV_PQ040431	-----C-----G-----A-----T-----T-----T-----T-----G-----C-----
RABV_PQ040433	-----C-----G-----A-----T-----T-----T-----T-----G-----C-----



Avances: Validación *in silico* de Alfacoronavirus



Alphacoronavirus RNA-dependent RNA-Polymerase (RdRp) encoding unique nucleotide sequence alignment and primer map.

Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México
MA Castro-Mejía, Am Monreal-Hernández, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (26/Nov/2025, version 2)

9281

|Holbrook MG, 2021 Pan_CoV_F3 **GAYTAYCCHAARTGTGAYMGH**

|Holbrook MG, 2021 Pan_CoV_F2 **GAYTAYCCHAARTGTGAYAGA** 3116

Holbrook MG, 2021 Pan_CoV_F1 **GGTTGGGAYTAYCCHAARTGYGA** |

PRCV_OR689863	GATGTTGATAATGGTTGTTGATGGT	GGTTGGGATATCCTAAGTGTGAT	TCGG	GCCTTACCTAATATGATTAGAATGGCTTCTGCTATGATATTAGGTTCTAAGCAGCTTGGTTGTTGTACACATAAT	
PRCV_OR689864	-----	-----	-----	-----	-----
PRCV_OK078898	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
PRCV_OM830320	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
PRCV_KY406735	-C-----	C-----	C-----	A-----	C-----
PRCV_OR209254	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
PRCV_KR270796	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
PRCV_OR209253	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
PRCV_DQ811787	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
PRCV_OM830319	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900396	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900397	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900408	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900401	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900411	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900399	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900403	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX900398	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_AY437877	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_DQ390461	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KU729220	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KX083668	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_KC962433	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_DQ811785	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_PQ856105	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
TGEV_OP434397	-C-----	C-----	A-----	C-----	T-----
CCOV_PP526171	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_KC175339	-----	C-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_GQ477367	-----	C-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_ON107244	A-C-G-C-----	C-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_AF124986	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_PV296105	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_PP526170	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OQ540913	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_PQ383370	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114538	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OM950729	-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OX335530	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OX335546	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OX335534	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114542	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114539	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114543	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_OM451123	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_PQ383369	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114541	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_MT114540	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----
CCOV_PV259885	-C-----	A-----	C-----	C-----	T-----



Avances: Validación *in silico* de Alfacoronavirus



Alphacoronavirus RNA-dependent RNA-Polymerase (RdRp) encoding unique nucleotide sequence alignment and primer map.

Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México
MA Castro-Mejía, Am Monreal-Hernández, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (26/Nov/2025, version 2)

3389		Holbrook MG, 2021 Pan_CoV_R2	ATGATWYTDAGTGATGAYGG	3492
		Holbrook MG, 2021 Pan_CoV_R1	ATGATWYTDCTGATGAYGG	
PRCV_OR689863	AGTAACAGCATTGATGAAGAATTTGTTGTTGAGTACFTT	TAGTTATTTGAGAAAACACTTTTCTATG	ATGATTTTATCTGATGATGGAGTTGTATGCTACAACAAGATTATGCGGA	
PRCV_OR689864	-----G-----			
PRCV_OK078898	-----G-----			
PRCV_OM830320	-----G-----			
PRCV_KY406735	-----G-----C-----			C--G-----T--
PRCV_OR209254	-----G--T-----			-----G-----T--
PRCV_KR270796	-----G-----			-----G-----T--
PRCV_OR209253	-----G-----			-----G-----T--
PRCV_DQ811787	-----G-----			-----G-----T--
PRCV_OM830319	-----G-----C-----			-----G-----T--
TGEV_KX900396	-----G-----C-----T-----			C--G-----T--
TGEV_KX900397	-----G-----C-----T-----			C--G-----T--
TGEV_KX900408	-----G-----C-----			C--G-----T--
TGEV_KX900401	-----G-----C-----			C--G-----T--
TGEV_KX900411	-----G-----C-----			C--G-----T--
TGEV_KX900399	-----G-----C-----			C--G-----T--
TGEV_KX900403	-----G-----C-----			C--G-----T--
TGEV_KX900398	-----G-----T-----T-----			C--G-----T--
TGEV_AY437877	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_DQ390461	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_KU729220	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_KX083668	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_KC962433	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_DQ811785	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_PQ856105	-----G-----			-----G-----T--
TGEV_OP434397	-----G-----			-----G-----T--
CCOV_PP526171	-----G-----			-----G-----A--
CCOV_KC175339	-----G-----			-----G-----A--
CCOV_GQ477367	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_ON107244	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_AF124986	-----G-----A--C--			-----G-----A--
CCOV_PV296105	-----G-----A--C--			-----G-----A--
CCOV_PP526170	-----G-----A--C--			-----G-----A--
CCOV_OQ540913	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_PQ383370	-----G-----A--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114538	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_OM950729	-----G-----A--C--C--			C--G-----A--
CCOV_OX335530	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_OX335546	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_OX335534	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114542	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114539	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114543	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_OM451123	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_PQ383369	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114541	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114540	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_PV259885	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--
CCOV_MT114544	-----G-----A--C--C--			-----G-----A--

Avances: Validación *in silico* de Betacoronavirus



Betacoronavirus RNA-dependent RNA-Polymerase (RdRp) encoding unique nucleotide sequence alignment and primer map.
 Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México
 MA Castro-Mejía, AM Monreal-Hernández, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (12/Jan/2026, version 7)

	3389	CoV2 R Castro-Mejía MA 2025	Pan_CoV_R1	ATGATWYTDAGTGATGAYGG	Holbrook MG, 2021	3492
		SAATGAGTTTTACGCATATTTGCG	Pan_CoV_R1	ATGATWYTDICTGATGAYGG	Holbrook MG, 2021	
REFR_KC869678	AAATTTGTTGATAAATAATATGGTTTC	CAATAAGCATTTTCTATGATGATACTGCTCGATGATGG	TGTTGTTTGC	TATAATAGCGACTATGCAGCTAAAG*		
OC43_OK073092	-CC--CAG--AA--T-A--AG--TT--AG--G--G--T--TCT--T--GT--C--					
BCOV_OK073092	-CC--CAG--AA--T-A--AG--TT--AG--G--G--T--TCT--T--GT--C--					
HKU1_PQ658381	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--G--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON128616	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--G--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PV685457	-C--A-G-G-C--AA--CT-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON461768	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_LC654447	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MF996627	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MK167038	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556988	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556981	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556961	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PQ187620	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PQ658398	-C--A-G-G--AA--T-ATGC--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556980	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PV685463	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON461769	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_OR260091	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PV685462	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON461756	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556990	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556962	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MH556960	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_MF996636	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PQ658389	-C--A-G-G--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON461757	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--C--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_ON461764	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_LC654448	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
HKU1_PQ658388	-C--A-G-G-C--AA--T-AT--AG--TT--AG--T--CTCT--T--TAG--G--					
NOBE_OK067321	G-T--A--CAG--A--ACT-GCG--C--AG--TAG--C--GCG--T--AG--G--					
NOBE_OK067320	G-T--A--CAG--A--ACT-GCG--C--AG--TAG--C--GCG--T--AG--G--					
COV2_HG999231	G-C--GA--G-G-T--C--A-A-T-GCG--A--C--A--G--G--T-TC--ACT--T-C--					
COV2_OL786143	G-C--GA--G-G-T--C--A-A-T-GCG--A--C--A--G--G--T-TC--ACT--T-C--					
COV2_OY237881	G-C--GA--G-G-T--C--A-A-T-GCG--A--C--A--G--G--T-TC--ACT--T-C--					
COV2_MW577856	G-C--GA--G-G-T--C--A-A-T-GCG--A--C--A--G--G--T-TC--ACT--T-C--					
SARS_KY417149	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_KC881005	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_OQ503502	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_AY595412	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_AY394992	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_KY417148	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--C--TA--G--C--G					
SARS_KP886808	G--C--G--G-G-T--C--AC--GCG--A--C--C--T--T--C--CC--G--G--C--TA--G--C--G					
HKU3_GQ153547	G-G-C--G--G--T--A--A-T-GCG--C--C--C--T--T--C--CC--G--TA-T-C-G--AC***					
HKU3_GQ153543	G--C--G--G--T--A--A-T-GCG--C--C--C--T--T--C--CC--G--TA-T-C-G--AC***					
HKU3_GQ153542	G--C--G--G--T--A--A-T-GCG--C--C--C--T--T--C--CC--G--TA-T-C-G--AC***					
HKU3_GQ153546	G-G-C--G--G--T--A--A-T-GCG--C--C--C--T--T--C--CC--G--TA-T-C-G--AC***					
HKU3_GQ153541	G-G-C--G--G--T--A--A-T-GCG--C--C--C--T--T--C--CC--G--TA-T-C-G--AC***					



Avances: Diseño de oligonucleótidos nuevos

3. Diseño de oligonucleótidos nuevos

El objetivo fue mejorar la capacidad de detección, asegurando alta cobertura y especificidad.

Oligos diseñados:

- **Beta-actina:** Forward/Reverse para control endógeno optimizado.
- **SARS-CoV-2:** Reverse específico para complementar/confirmar dentro del esquema de detección.

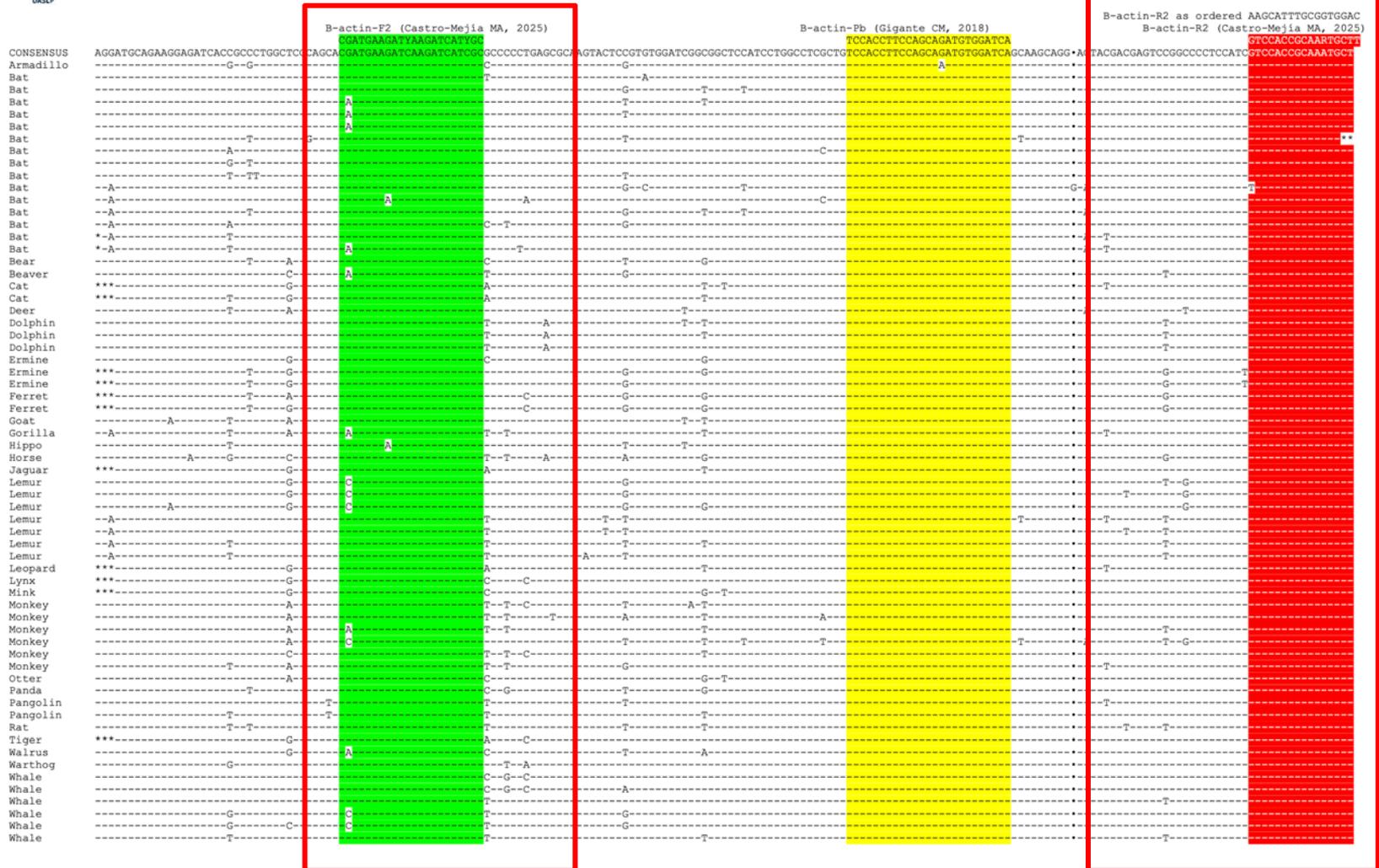
Criterios de diseño (*in silico*):

- Tm compatible entre primers, %GC adecuado y longitud óptima.
- Minimización de dímeros y estructuras secundarias (hairpins).
- Extremo 3' ubicado en región altamente conservada.
- Amplicón compatible con sensibilidad y calidad de muestra.

Avances: Diseño de oligonucleótidos (Beta-actina)



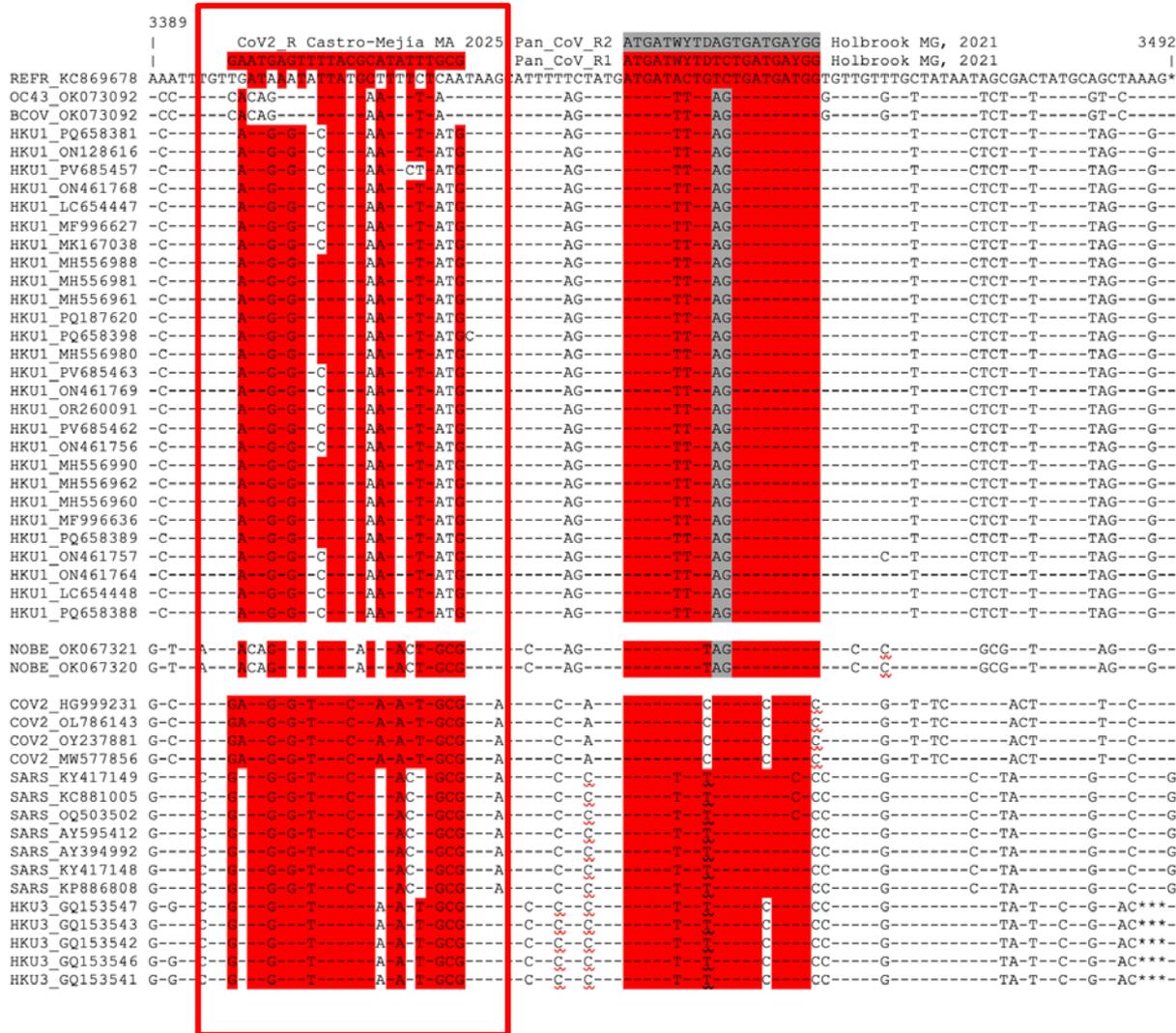
Oligonucleotide map of mammalian β -actin nucleotide sequence (optimized)
 SURE v1.0 Sequence Unanimity Reformatting tool by UASLP's Viral & Human Genomics Laboratory
 MA Castro-Mejía, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (26/Aug/2025 v1.0)



Avances: Diseño de oligonucleótidos (SARS-CoV-2)



Betacoronavirus RNA-dependent RNA-Polymerase (RdRp) encoding unique nucleotide sequence alignment and primer map.
 Laboratorio de Genómica Viral y Humana, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México
 MA Castro-Mejía, AM Monreal-Hernández, SE Guerra-Palomares, CA García-Sepúlveda (12/Jan/2026, version 7)



1. Oligonucleótidos de beta-actina

Name	Sequence	bp	%GC	Tm (°C)	Hair	HmD	HtD	Amplicon	Ref
B-actin-F	5'-CgA-TgA-AgA-TCA-AgA-TCA-TTg-C-3'	22	40.9	59.7	-1.76	-4.64	-7.04	191 bp	1 (Gigante CM, 2018)
B-actin-R	5'-gTC-CAC-CgC-AAA-TgC-TT-3'	17	52.9	60.5	-1.22	-5.09			
B-actin-Pb	5'-TCC-ACC-TTC-CAg-CAg-ATg-Tgg-ATC-A-3'	25	52	68.9	-3.74	-7.94			
B-actin-F2	5'-CgA-TgA-AgA-TYA-AgA-TCA-TYg-C-3'	22	40.9	59.4	-1.02	-5.16	-7.68		2 (Castro-Mejía MA, 2025)
B-actin-R2	5'-gTC-CAC-CgC-AAR-TgC-TT-3'	17	55.9	61.5	-1.22	-5.09			

2. Oligonucleótidos de Lyssavirus

Disease	Spec	ID	Sequence as mapped	bp	%GC	Tm	Hp*	HmD*	HtD*	Amplicon	Reference
Rabies	Lyssavirus	LN34-Fwd1	ACGCTTAACAACCAGATCAAAGAA	24	37.5	63.3	-0.43	-4.85	See below	165 bp	Gigante CM, 2018
		LN34-Fwd2	ACGCTTAACAACAAAATCADAGAAG	25	33.3	61.6	0.75	-4.85			
		LN34-Rev	GAYCARTATGARTAYAARTACCCKG	25	40	60.7	1.05	-8.19			
		LN34-Probe	AACACCYCTACAATGGA	17	44.1	55.9	0.24	-3.07			

Oligonucleotide heterodimer (HtD) ΔG analysis

	LN34 Fwd1	LN34 Fwd2	LN34 Rev
LN34-Fwd1	---	-4.85	-5.31
LN34-Fwd2	-4.85	---	-5.96
LN34-Rev	-4.62	-6.69	---

*Hairpin (Hp), homodimer (HmD) and heterodimer (HtD) ΔG 's are given in kcal/mol.

Disease	Spec	ID	Sequence as mapped	bp	%GC	Tm	Hp	HmD	HtD	Amplicon	Reference
Rabies	Lyssavirus	JW12-Fwd	ATGTAACACCYCTACAATG	19	39.5	55.7	-0.41	-4.26	-3.83	111 bp	Nadin-Davies, 2009
		N165-Rev	TATGAGTAYAARTACCCTGC	20	40	56.4	0.2	-3.83			Vidanovic D, 2025

3. Oligonucleótidos de Pan-coronavirus

Specificity	PCR	ID	Sequence as mapped	bp	%GC	Tm	Hp	HmD	Amplicon	Reference
Pan CoV	1st	Pan_CoV_F1	GGTTGGGAYTAYCCHAARTGYGA	23	49.3	65	0.28	-13.02	441 bp	Holbrook, 2021 ¹
	1st & Nested	Pan_CoV_R1	ATGATWYTDCTGATGAYGG	20	36.7	55.9	0.45	-4.78		
	1st & Nested	Pan_CoV_R2	ATGATWYTDAGTGATGAYGG	20	36.7	55.9	0.45	-4.78		
	1st & Nested	CoV2_R	GAATGAGTTTTACGCATATTTGCG	24	37.5	61.5	-4.47	-8.7	404 bp	Castro-Mejía MA, 2025 ²
	Nested	Pan_CoV_F2	GAYTAYCCHAARTGTGAYAGA	21	39.7	57.8	2.94	-6.46	435 bp or 398 bp if CoV2	
	Nested	Pan_CoV_F3	GAYTAYCCHAARTGTGAYMGH	21	43.7	59.5	2.94	-9.5	435 bp or 398 bp if CoV2	

* Reverse oligonucleotide primer sequences are provided as mapped in the alignment, perform **reverse-complement** for synthesis. Hairpin (Hp), homodimer (HmD) and heterodimer (htD) values are reported as kcal/mol.

Heterodimer (HtD) ΔG analysis

	F1	F2	F3	R1	R2	CoV2_R
F1	---	-13.02	-13.02	-8.95	-8.95	-8.39
F2	-12.57	---	-7.87	-8.95	-8.95	-6.74
F3	-12.57	-9.5	---	-9.5	-8.95	-6.74
R1	-7.9	-8.14	-8.14	---	-4.98	-4.51
R2	-8.07	-8.07	-8.07	-4.51	---	-4.51
CoV2_R	-10.18	-7.32	-7.32	-4.99	-4.99	---



Cronograma de actividades

Cronograma de actividades	2025		2026		2027		2028	
	Ene-Jul	Ago-Dic	Ene-Jul	Ago-Dic	Ene-Jul	Ago-Dic	Ene-Jul	Ago-Dic
Revisión bibliográfica								
Diseño del plan de muestreo y selección de sitios CEFPP								
Muestreo en campo								
Detección molecular de CoV								
Detección molecular de lyssavirus								
Cultivo viral de muestras positivas								
Georreferenciación de capturas								
Generación de árbol filogenético								
Creación de modelo preliminar de riesgo								
Redacción de tesis								

Laboratorio de Genómica Viral & Humana BSL-3, Facultad de Medicina UASLP

- Dr. Christian A. García-Sepúlveda (Operaciones BSL-3, Virología Molecular)
- Dra. Sandra E. Guerra-Palomares (Operaciones BSL-3, Virología Molecular)
- LTS. Dulce M. Hernández Piña (Lab Manager)
- Dr. Andreu Comas García (Epidemiología molecular)
- Dra. Sofía Bernal Silva (Virología molecular)
- Dr. Fernando Díaz-Barriga Martínez (One Health)
- Dr. Guillermo Espinosa Reyes (Salud y Toxicología Ambiental)
- Dr. Mauricio Comas García (Microscopía electrónica y virología estructural)
- Dr. Roberto González Amaro (Inmunología)
- Dr. Juan Carlos Cuevas Tello (Aplicaciones de algoritmos de inteligencia artificial)
- Biol. Ignacio Amezcua Osorio (Trabajo de campo con murciélagos)
- MVZ. Carolina Escalante Vargas (Trabajo de campo con murciélagos)

Laboratorio Nacional de Vacunología y Virus Tropicales, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN

- Dra. Ma. Isabel Salazar Sánchez (Virología molecular e inmunología)
- Dr. Jesús Miguel Torres Flores (Operaciones BSL-3)
- Dr. Joel Armando Vázquez Pérez (Virólogo especializado en Influenzavirus)
- Dr. Rosa Elena Sarmiento Silva (Viróloga especializada en virus respiratorios)

Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM

- Dra. Clara Inés Espitia Pinzón (Operaciones BSL-3)
- Dr. Antonio García Knight (Inmunólogo viral con énfasis en virus emergentes)
- Dr. Renato León Rodríguez (Virología molecular)
- Dr. Wenceslao Coronado Aceves (Evaluación de fármacos in vitro e in vivo)
- Dra. Georgina Diaz Herrera (Médica Veterinaria pequeñas especies)
- Maestra Erika Segura Salinas (Evaluación de fármacos potenciales)



FACULTAD DE
MEDICINA
UASLP



CENTRO COLABORADOR
OMS/OPS UASLP-MÉXICO



LABORATORIO DE GENOMICA VIRAL Y HUMANA
FACULTAD DE MEDICINA
UASLP

Viral & Human Genomics Laboratory

A Biosafety Level 3 (BSL-3) High-Biocontainment Facility and member of the
WHO Collaborating Centre on Health Risk Assessment
San Luis Potosí State University, School of Medicine



www.genomica.uaslp.mx



GenomicaUASLP



GenomicaUASLP