

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

BIOL. GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO

DIRECTOR DE TESIS: DRA: MA. CARMEN GUTIÉRREZ VILLAFUERTE

CO-DIRECTOR: DR: FERNANDO MARTÍNEZ MORALES

CUERNAVACA, MORELOS

MARZO DEL 2019

***"SI BUSCAS LO QUE REALMENTE QUIERES Y DESEAS LO LOGRARAS POR MÁS AÑOS
QUE TARDES Y ADVERSIDADES, QUE SE TE ATRAVIESEN UN PEQUEÑO LOGRÓ
PARA TI ES LO IMPORTANTE; AUNQUE PARA LOS DEMÁS SEA PEQUEÑO O NO
TENGA LA IMPORTANCIA QUE TIENE PARA TI, DEBE NO IMPORTARTE LO
REALMENTE INTERESANTE ES TODO LO QUE ESTUVISTE DISPUESTO HACER PARA
LLEGAR ESA META." Giovanna Patricia Olivos Trejo***

En la vida nada es fácil y en este proyecto lo comprobe. Sin embargo, no fue un impedimento para llegar el final.

Pese a todas las piedras en el camino con las que me tope, ha sido la prueba con mayor obstáculos que se me pusieron pero ante todo, mi **DETERMINACIÓN, APTITUD Y ACTITUD**; fueron mi mejor **DEFENSA**, contando a los **AMIGOS , FAMILIA, PROFESORES** que me ayudaron con todos estos conflictos.

Les agradezco infinitamente y lo plasmo en este escrito.

Pero, no por eso los hago menos y a quien primeramente le dedico este trabajo **TERMINADO, PLASMADO E IMPRESO**; con lagrimas, sudor, regaños muchas veces sin fundamento, berrinches, conflictos, vesículas extirpadas, y noches sin dormir. Pero con más ganas de seguir adelante es: **A MI** por **NO RENDIRME** nunca a pesar de haberlo pensado se que **MI PEOR DEFECTO** es mi **SOBERBIA** pero cuando un defecto es tan marcado se vuelve virtud, es uno de mis tantos motores por lo que siempre busco superarme por eso me doy las gracias.

A mi **MADRE** porque fue la estuvo en esos momentos en los que hubo **SOLEDAD, ESTRÉS, IRA, ENFERMEDAD, GANAS DE DESISTIR**. Y siempre con sus regaños, haciendo que me esforzaré y diera mi máximo eso no tiene precio.

Esta tesis no se hubiese realizado sin los agradecimientos de la primera página y más que eso es lo que me tocó aprender, enseñarme a seguir y lograr lo que me proponga atte. **Giovanna Patricia Olivos Trejo**

Agradecimientos

Agradezco a **CONACYT** por el apoyo brindado a través de la beca nacional No. de **CVU: 737176** correspondiendo al periodo **Febrero 2016, Enero 2018**

Este trabajo se realizó en el **Laboratorio de Neurofarmacología-CEIB** y **Laboratorio de Biotecnología Ambiental ambos ubicados en la UAEM** bajo la dirección de la **Dra. Carmen Gutiérrez** y en Co-Tutoría del Dr. **Fernando Martínez Morales**.

Agradezco a mis sinodales por sus valiosas aportaciones y su gran orientación en la realización de este trabajo.

Dra. Ma. Carmen Gutiérrez villafuerte (Tutora).

Dr. Fernanado Martínez Morales (Co-Tutor).

Dra. Ma. Del Refugio Trejo Hernández.

Dra. María del Rayo Sánchez.

Dra. Ma. Eugenia Núñez Valdez.

Hay muchas personas que les quiero agradecer por haber estado en las buenas y en las malas conmigo empezando.

Con la Dra. Carmen por darme la oportunidad de probarme a mi misma en su laboratorio y por el tiempo y dedicación que tuvo conmigo, la paciencia y muchas veces llegar y desahogar mis tristes penas muchas gracias Doc.

Al Dr. Fernando que fungió como mi Co-Tutor, tengo que darle las gracias por muchas cosas y no tendría una sola hoja para poder describirle mi gratitud hacia usted, mi admiración y respeto. Pocos como usted Dr., aunque usted no lo crea a pesar de que hubo varias veces que no me sentía del todo bien y muchas de ellas llegaba tarde por venir de lejos, lo que más me motivo a seguir fue su paciencia hacia las fallas con mi persona a la hora del desarrollo del proyecto, la confianza que deposito en mi, pero sobretodo sus atenciones conmigo en gran parte de este proyecto creó que usted fue de las claves para que pudiese ver el alcance, ya se que siempre me dijo “ aquí se trabaja mucho para obtener poco” no pense que fuera tan literal como se ve plasmado aquí jajaja aún así me llevó, muy buenas prácticas y recuerdos de sus palabras le agradezco y no es suficiente, pero si puedo pedir algo por usted es que espero que todo lo que me dío y apoyo se le regrese por cosas mucho mejores.

También quiero dar gracias a mis sinodos, por que sin ellos no estaría aquí. A la Dra. Trejo por sus comentarios muy acertados; adémás, de darme el permiso de trabajar en su laboratorio. A la Dra. Ma. Eugenia por su tiempo y dedicación para la mejora tanto del escrito como de mis tutorales. A la Dra. Rayo por la dedicación, tips, ayuda muchas veces a poder acomodar mejor mis ideas y que mi escrito no se quedará como otros que no logramos ver bien lo que nos piden los sinodos

A la técnico Lucero Valladares, por su apoyo en la realización de la parte bioquímica en la que apoyo y ayudó para poder cumplir con mis objetivos.

A todos los del Laboratorio de Neurofarmacología por el tiempo juntos tanto buenos como malos.

También a los Doctores, amigos, maestros. Que me apoyaron en la travesia de este proyecto, con consejos, ayudas y que me llegaron a prestar materiales sin ustedes este proyecto no se hubiese podido desarrollar.

A mis amigos les agradezco infinitamente por que realmente hubo ocasiones que pense que no iba a poder, pero aquí esta la prueba entre ellos estan:

Victor Carpanta, quien me ayudo muchas veces a visualizar el alcance de este proyecto y quien siempre estuvo conmigo cada vez que estaba mal, que necesitaba consejo, que nunca me dejo sola, que se preocupaba por mi, por ese gran amigo que es; y que realmente no todos lo llegan a ser, por los años que llevamos por las buenas anecdotas Victor y Chiva como aquella que paso en.... A verdad pensaron que iba a decir.... pues no, hablaba de la **“Y La Dieta Paty”**

Silvia Hernández, hay amiga contigo pase lo mejor, lo peor y mis dramas generalizados jajaja pero siempre juntas y sabemos que también contigo estuve en tus tiempos malos y buenos te quiero Chiva.

Alis, Iveth, Mariel, Ely, Nancy todo lab. LEFIP, pues como les explico que a todos se les quiere y estima; además se les da las gracias por el apoyo cual fuera y por su amistad realmente los estimó y quiero muchos chicos , Doc Elba.

Existieron otras personas que estuvieron en mi camino cuando fue más pesado y rudo de mi vida el que puedo decir hasta este momento fue lo más difícil, aunque tal ves ellos no lo sepan o vean, quiero que esten en este lugar que es parte de mi vida empezando por mi amigo **Sergio A. Mendiola**, quien con su forma de ser me levanto mucho el ánimo, autoestima y me hizo querer ser mejor en todos los aspectos y el más lindo de **todos HUGO MONDRAGÓN** que cuando estuve más estresada, fue la persona presente en mi vida el que se encargó de apoyarme y además de las risas, las charlas amenas mientras trabaja sin parar. Y entre mis ratos muertos olvidandome de la pesada labor que llevaba en ese momento. Hay amigo realmente te hecho de menos aún así fuiste el mejor motor en mi vida. Gracias a mis amigos desde siempre Sitla, Kika, Fer, Eliazar... por estar ahí en esos momentos gratos, no gratos de todo tipo.

El segundo apartado es para mi familia porque estuvieron varios al pendiente de mi y apoyandome en esta faceta de mi vida desde la incapacidad hasta el día de hoy, por ejemplo a mis tíos **Cristobal Trejo, Francisco Trejo, Margarita Trejo...** por estar en esos momentos los quiero y amo mucho a mi familia.

A mis primos los que siempre han estado **David Trejo** mi primito uno de los que más quiero por escucharme cuando me encontraba mal, **Cristian Trejo** por estar ahí siempre que lo necesito, **Francisco Trejo alias paquito, Barry.... I love you.**

Y llegamos a la más importante y a la que le debo todo y que más amo a mi **MAMÁ** te deje casi hasta el final porque eres mi mejor regalo. Además, de ser la que siempre esta conmigo, quien me ha apoyado, quien a visto mis peores momentos y los más importantes, que te puedo decir no te puedo describir y por quien veo plasmada este nuevo bebe si ya se que le llame bebe pero así es un libro y aunque, también entran mis perros como perrohijos esos son aparte. Aún esten entre los que me apoyaron de otra forma y también sufrieron esa **Chi-chi, Honey, Sukkie y mi difunta Chica**. Pero bueno estoy hablando de ti este nuevo libro, tesis es gracias a tu apoyo y tus mejores deseos de que me supere día-día te amo mucho.

A mi sobrino querido **Benjamin**, quien también a estado todo el tiempo, ademas de el apoyo tanto desde el ayudarme, escuchandome y muchas veces tratando de entender lo que comentaba de mi tesis, lo siento pero es más fácil que tu vieras cosas que yo no; te quiero mucho mijo y espero que todas tus metas se cumplan hechale ya viste que si se puede y no importa si el tiempo pasa oki ánimo.

A mi hermanito **Fernando** alias Panchito, por apoyarme y estar al pendiente aunque se que me faltan más por agradecer les agradezco a todos y cada uno ustedes por que sin ustedes este proyecto no se hubiese terminado mil gracias y se les agradece por esto y mil cosas.

INDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	iv
INDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE GRÁFICAS	vi
RESUMEN.....	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	2
2.1. EL VENENO DE DIFERENTES ORGANISMOS	2
2.1.1. Venenos de artrópodos	3
2.2. ESCOLOPENDRAS	3
2.2.1. Características taxonómicas y morfológicas de las escolopendra	3
2.3. IMPORTANCIA DE LAS ESCOLOPENDRAS.....	5
2.3.1. Importancia médica	5
2.3.2. Importancia farmacológica.....	5
2.4. VENENO DE ESCOLOPENDRA.....	5
2.4.1. Características del veneno de la escolopendra	6
2.5. ESTUDIOS EN VENENOS DE ESCOLOPENDRAS.....	6
2.6. ÁCIDO HIALURÓNICO	8
2.7. HIALURONIDASAS.....	9
2.7.1. Clasificación de las hialuronidasas.....	11
2.8. ANTECEDENTES DIRECTOS	14
2.8.1. Estudios en <i>Scolopendra polymorpha</i>	15
2.8.2. Estudios en <i>Scolopendra viridis</i> Say	15
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVO GENERAL	17
6. OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
7. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	18
8. MATERIALES Y METODOS	19
8.1. PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA CON ACTIVIDAD HIALURONIDASA	19
8.1.1. Colecta de especímenes.....	19
8.1.4. Liofilización	20
8.1.5. Zimograma (gel de actividad)	20
8.1.6. Electroelución.....	20

8.1.7. Secuencia del extremo NH ₂ -terminal.....	21
8.3. PREPARACIÓN DE UNA BIBLIOTECA DE cDNA	21
8.3.3. Síntesis de cDNA	22
8.3.4. Construcción de la biblioteca de cDNA menor a 1000pb del veneno de <i>S. viridis</i> Say..	22
8.4. BIOINFORMÁTICA	24
8.4.2. Estudio bioinformático del uso preferencial de codones mediante proteínas reportadas en el NCBI para escolopendas	24
9. RESULTADOS.....	24
9.1. RECOLECCIÓN DE ESCOLOPENDRAS	25
9.2. EXTRACCIÓN DE VENENO DE <i>Scolopendra viridis</i> Say.....	25
9.3. OBTENCIÓN DE LA BANDA DE 56 kDa DEL VENENO TOTAL DE <i>Scolopendra viridis</i> Say.....	25
9.4. ELUCIDACIÓN DEL EXTREMO NH ₂ -TERMINAL	27
9.5. ANÁLISIS DE CLONAS OBTENIDAS DE UNA BIBLIOTECA DE cDNA DE LAS GLÁNDULAS VENENOSAS en <i>Scolopendra viridis</i> Say.....	28
9.5.1. Visualización, digestión y obtención de fragmentos	29
9.5.6. Secuenciación de clonas.....	31
9.7. USO PREFERENCIAL DE CODONES EN LA BIBLIOTECA cDNA DE <i>Scolopendra viridis</i> Say.....	32
10. DISCUSIÓN	35
11. CONCLUSIONES	39
12. PERSPECTIVAS	40
13. BIBLIOGRAFÍA.....	41
11. ANEXOS.....	I
11.1. ANEXO A.....	I
11.2. ANEXO B	I
11.3. ANEXO C	XIV
11.4. ANEXO D.....	XXXIII
11.5. ANEXO E	XXXIV

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de las escolopendras.....	4
Figura 2. Clasificación de las hialuronidasas.....	12
Figura 3. Sitios de corte del ácido hialurónico.....	13
Figura 4. Mapa del vector de clonación pJet1.2/blunt.....	23
Figura 5. Electroforesis del veneno de la <i>SvS</i>	26
Figura 6. Zimograma de actividad.....	27
Figura 7. Caja Petri con medio LB+AMP con las clonas aisladas.....	28
Figura 8 (A). plásmido sin digerir.....	30
Figura 8 (B). plásmido digerido.....	30
Figura 9. Propuesta de primers basado en el código genético en escolopendra...	34
Figura 10. Se observa la estructura de la hialuronidasa de BVH.....	35 ³⁶

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios realizados en escolopendra de nuestro grupo de trabajo.....	14
Tabla 2. A) Código genético universal y B) Código genético propuesto para escolopendras.....	33
Tablas de Anexos	
Tabla 1. Propiedades bioquímicas de las hialuronidas del Anexo A.....	I
Tabla 2. Especies reportadas en el NCBI y su uso preferencial de codones del Anexo C	XXIX
Tabla 3. Uso preferencial de codones del Anexo C.....	XXXIII
Tabla 4. Datos generales por especie y aminoácidos de la que se partió para hacer el estudio bioestadístico del Anexo D.....	XXXIII
Tabla 5. Clonas, fragmenitos y secuencias del Anexo E.....	XXXV
Tabla 6. Porcentaje e identidad que comparte la secuencia de 25 aminoácidos del NH₂-terminal con las clonas que presentaron plásmido con inserto.....	LXXIV

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráficas uso preferencial de codones por secuencia de <i>Scolopendra</i> del Anexo B de 1-24.....	I-XIII
Gráficas por aminoacidos para uso preferencial de <i>Scolopendra</i> del Anexo C de 25-45.....	XIV-XXVII

ABREVIATURAS

Nomenclatura

* AMPs	Peptidos antimicrobianos	* 2D- geles	Geles de doble dimensión
* PAM			
* SvS	<i>Scolopendra viridis</i> Say	* Da	Daltons
* kDa	kilodalton	* U	unidad
* PcTx1	Psalmotoxina-1	* mg	miligramo
* BvTx47	Braquitoroxina-47	* HPLC	Cromatografía líquida de alta pureza
* AH	Ácido hialurónico, hialuronano	* pI	Punto isoeléctrico
* GlcApl-3	Glucosamil acetil,	* NH ₂ -	Amino terminal
* GalNac 4	Galactodisil-N- acetil	terminal	
* GlcNac	N-acetil-D-glucosamina		
* GlcA	D-glucoronato		
* PLA2	Fosfolipasa A2	* Cu ²⁺	Cobre
* cDNA	Ácido Desoxirribonucleico complementario	* atm	atmosferas
* RNAt	Ácido ribonucleico total	* °C	Grados celsius
* LC-MS/MS	Cromatografía líquida- espectrometría de masas	* µg	microgramo
* M	molar	* ml	mililitro

* NaCl	Cloruro de sodio	* pH	Coeficiente de acides o alcalinidad
* h	hora	* PPO	Proteína Polifenol oxidasa
* mM	milimolar	* TEP-4	Proteína de thio-ester-4
* mAh	miliamperios	* TAE	Triz- acetato- EDTA
* NCBI	National Center for Biotechnology information	* BrEti	Bromuro de Etidio
* μ l	microlitro	* dT	Oligo nucleotido de Timina
* Volts, V	Unidad de voltaje	* pb	Par de base
* min	minutos	* PCR	Reaccion en cadena de la polimerasa
* AMP	ampicilina	* DH5 α	Cepa de <i>E. Coli</i> para clonación
* Blast-nt	Comparaciòn de sencencias de nucleotidos	* ORFs	Open reading frame. (marco de lectura abierto)
* VT	Veneno total	* BTH	Hiauluronidasa testitcular de bovino
* PM	Peso molecular	* IBT-UNAM	Instituto de bioptecnologia de la UNAM
* Cys, C	cisteina	* CEIB	Centro de investigaciones de

biotecnología

* Asp, D	Ácido aspártico	* Glu, E	Ácido glutámico
* Phe, F	fenilalanina	* Gly, G	Glicina
* Hys, H	Histidina	* Ile, I	Isoleucina
* Lys, K	Lisina	* Leu, L	Leucina
* Met, M	Metionina	* Asn, N	Asparagina
* Pro, P	Prolina	* Gln, Q	Glutamina
* Arg, R	Arginina	* Ser, S	Serina
* Thr, T	Treonina	* Val, V	Valina
* Tyr, Y	Tirosina	* Trp, W	triptofano
* HSVS	Nomenclatura de la biblioteca de cDNA	* LB	Luria bertani
* SDS	Dodecilsulfato sódico	* NAOH	Hidróxido de Sodio
* DNA	Ácido Desoxirribonucleico	* C1	Control 1
* RNAasa	Enzima degradadora de RNA	* ng	nanogramo
* F	Forward	* R	Reverse
* ID	Numero de secuencias en NCBI	* BSA	Cerumen de albumina
* No.	Número	* Ident.	Identidad
* Cobr.	Cobertura	* nt	nucleótido
* aa	aminoácido	* RP-HPLC	HPLC fase reversa

* HAS	Hialuronano sintasa	* HYAL	hialuronidasa
* AMPc	AMP cíclico	* AH	Ácido hialurónico

RESUMEN

En la búsqueda de nuevas alternativas para la obtención de fármacos, se han explorado los venenos de diversos organismos, como fuente de péptidos y proteínas con actividades como: anticoagulantes, anticonvulsivas y anticerebrovasculares. Éstas se han estudiado principalmente en serpientes, moluscos y en ciertos artrópodos. En este último grupo, se ha dirigido la investigación en artrópodos que presentan veneno.

Los atropódos son una fuente de estudios novedosos por presentar una amplia diversidad de organismos. Además, de la importancia de los compuestos de sus veneno, igual que los otros dos grupos; que causan toxicidad y daños al ser humano. Algunos artrópodos venenosos han sido poco estudiados, por el bajo impacto de su veneno y no ser un riesgo para la salud humana.

Entre los artrópodos poco estudiados en México, se encuentran las escolopendras (*Scolopendra viridis* Say), que son una fuente interesante de péptidos y proteínas con actividades diversas. Algunos de los reportes de los componentes del veneno con potencial farmacológico de escolopendras, han sido péptidos antimicrobianos, fosfolipasas y hialuronidas.

Las hialuronidas se encuentran en todos los organismos (bacterias, protozoarios, hongos, plantas y animales) entre ellas las escolopendras como es *S. polymorpha* y *S. viridis* Say. Se han caracterizado bioquímicamente algunas proteínas con actividad hialuronidasa y a través de MALDITOF se han elucidado la identidad de algunos fragmentos de estas especies.

En este proyecto se realizó la elucidación del extremo NH₂-terminal de las hialuronidas de 56kDa del veneno de *Scolopendra viridis* Say; se identificaron 25 aminoácidos, mediante un estudio bioinformático se determinó la similitud que presenta el NH₂-terminal con otras secuencias. Por otra parte, a partir de un cDNA de las glándulas venenosas de *S. viridis* Say realizado por Ibarra (comunicación personal, 2016) se analizaron clonas con inserto.

1. INTRODUCCIÓN

Para diversos organismos la producción de venenos, la adaptación que presentan les permite sobrevivir o utilizarlos para sus estrategias de depredación y caza en su ambiente natural. Un veneno está compuesto de una mezcla de sustancias en las que existen proteínas, péptidos, aminas biogénicas, sales y otros compuestos (Nicholson; 2007).

Varios compuestos de los venenos presentan actividades que pueden ser utilizados en diferentes áreas de la biotecnología, como la farmacológica con potencial de uso terapéutico. Por ejemplo pueden utilizarse como: anestésicos, anticonvulsivos, anticoagulantes y en otras funciones. Y en consecuencia algunos compuestos aislados de los venenos son implementados en tratamientos por su actividad biológica (Zhang; 2015).

Los péptidos de los venenos de arácnidos son los más estudiados en la actualidad, además de ser utilizados en tratamientos terapéuticos. Por ejemplo: la araña *Brachypelma verdezi*, presenta una toxina con potencial analgésico, sin efecto hemolítico en el ser humano y lleva por nombre BvTx47, éste presenta una actividad similar a las Psalmotoxinas con la toxina PcTx1 proveniente de la araña *Psalmopoeus cambridgei* del Sur de América, ésta presenta tres actividades diferentes: analgésica, anticoagulante y antimicrobiana. La especie *Brachypelma smithi*, tiene una actividad de péptido antimicrobiano (PAM), contra *Staphylococcus aureus* (Clement *et al.*, 2016).

Debido al descubrimiento de las actividades de los componentes del veneno de algunos artrópodos. En las escolopendras, se han encontrado nuevos compuestos para aplicaciones farmacológicas, en la búsqueda de actividades novedosas. La información respecto a la composición del veneno de *Scolopendra viridis* Say y de sus posibles aplicaciones es limitada en cuanto a su composición y función. Se realizó la caracterización bioquímica de una proteína con actividad hialuronidasa responsable de la degradación del ácido hialurónico y que posiblemente, se encarga de la difusión del veneno en las presas.

2. ANTECEDENTES

2.1. EL VENENO DE DIFERENTES ORGANISMOS

Algunos organismos presentan diferentes adaptaciones para la sobrevivencia, depredación y caza en su ambiente natural. Una adaptación de serpientes, moluscos y artrópodos es el uso en venenos. Un veneno de un organismo se define como una mezcla de sustancias en las que existen proteínas, péptidos, aminas biogénicas y otros compuestos. También, presentan actividades que pueden ser utilizadas en diferentes áreas de la biotecnología con potencial terapéutico. Las actividades que presentan son las de anestésicos, anticonvulsivos, anticoagulantes y algunas otras funciones enfocadas principalmente hacia el área de la farmacología. Algunos compuestos aislados en los venenos han sido implementados en tratamientos por su actividad biológica (Nicholson, 2007; Zhang, 2015).

Se han realizado diferentes tipos de estudios, con el fin de obtener y producir algunos de los compuestos por técnicas bioquímicas y moleculares; se ha realizado mucho esfuerzo en identificar las secuencias proteicas para poder después producirlas en sistemas heterólogos algunos de estos estudios son:

Paine y col. (1992), estandarizaron los días de ordeña del veneno en la serpiente *Echis carinatus* y la extracción de las glándulas venenosas de éste. Realizaron una cinética para conocer los días de mayor producción de veneno y de mayor cantidad de RNAs existiendo una relación directa. El día con mayor cantidad de veneno en peso seco y cantidad de RNA fue al tercer día de la ordeña que se comprobó en un gel SDS-PAGE y gel de agarosa.

En el arácnido *Scorpio maurus palmatus*, se realizó la extracción de glándulas venenosas para la creación de una biblioteca de cDNA, que se obtuvo a los cinco días de ordeña, presentando un 77% de rendimiento en los componentes del veneno y mediante estudios bioinformáticos a partir de cDNAs y se reportaron las siguientes secuencias en el banco genómico. Se localizaron: 24% de péptidos antimicrobianos PAM, 21% de proteínas hipotéticas, 12% con neurotoxinas (péptidos y proteínas) y 23% de las secuencias no presentaron similitud con ninguna secuencia conocida (Possani *et al.*, 2013).

En *Bothrops alternus*, se realizó un estudio transcriptómico, a partir de RNA extraído en el tercer día post-ordeña de glándulas venenosas, de los que se obtuvieron 1920 RNAm identificados en la biblioteca de cDNA (Fonseca *et al.*, 2014).

En un estudio realizado en *Scolopendra polymorpha*, se midió la producción del veneno que era obtenido por horas y días. Se encargaron de estandarizar el peso seco y líquido mediante técnicas de SDS-PAGE. Y a las 48 horas presentó la mayor cantidad de compuestos sintetizados del veneno. Al medir los siguientes días la cantidad de péptidos, proteínas y otros compuestos disminuyó el rendimiento neto del veneno en las escolopendras. También, observaron la influencia que presentaba por lugar geográfico, alimentación, sexo y tamaño en la cantidad de compuestos, detectando que no eran factores para la disminución en la producción de veneno (Cooper *et al.*, 2014).

2.1.1. Venenos de artrópodos

Dentro de los venenos de artrópodos más estudiados está el de los arácnidos. En la araña *Brachypelma verdezi*, se ha descrito una toxina con potencial analgésico y similar a las Psalmotoxinas de la araña *Psalmopoeus cambridgei* encontrada en el sur de América. La particularidad de esta Psalmotoxina es que presenta actividad analgésica, anticoagulante y antimicrobiana. Otra especie de las *Brachypelma*, es *B. smithi* que en su veneno se ha encontrado actividad antimicrobiana PAM (Clement *et al.*, 2016).

Se ha estudiado el veneno de otros artrópodos, debido a que causan daños a la salud humana y se han separado los compuestos que podrían tener usos terapéuticos. Algunas clases como la insecta y otras que no han sido tan estudiadas como la clase Chilopoda en la que se encuentran las escolopendras. Éstas en su veneno presentan actividades y funciones como fuente de nuevas herramientas con potenciales farmacológicas.

2.2. ESCOLOPENDRAS

Son un grupo del phylum artrópoda y su veneno ha sido poco estudiado, aunque se ha utilizado en la medicina alternativa y sus componentes son utilizados con diferentes propósitos.

2.2.1. Características taxonómicas y morfológicas de las escolopendra

Las escolopendras (ciempiés), son artrópodos que pertenecen al subphylum Miriápoda, de la clase Chylopoda (que proviene del griego: chilioi que significa mil), del orden *Scolopendramorpha*,

familia *Scolopendridae*, género *Scolopendra*, el cual comprende a más de 3000 especies. Estas se encuentran tanto en climas cálidos como templados (Costa, 2006; Ibarra, 2011).

Las características principales de las escolopendas son: cuerpos delgados, alargados y planos segmentados (robustos) de forma dorso-ventral, presentan simetría bilateral (diplopodos), en general como todas las escolopendas, el último par de patas es locomotriz, en la cabeza presenta la mordaza con un colmillo terminal, en el que se observan las glándulas venenosas que se encuentran dentro de los telopoditos o forcípulas y la cabeza bien diferenciada como se muestra en la Figura 1 (Barnes, 1989; Costa, 2006 y Ibarra, 2011).



Figura 1. Morfología de las escolopendas. Cabeza y descripción de las partes que componen la cabeza de forma ventral de las escolopendas (Imagen fisiología -Tomada de: <http://www.bioscripts.net/zoowiki/temas/24B.html>).

En la Figura 1, se observa la cabeza de la escolopendra, que se conforma de las forcípulas y la glándula venenosa, se muestra también el primer y segundo maxilar, telopoditos y la placa del coxoesternito. Los componentes del aparato venenoso consisten en la glándula, el ducto y la mandíbula, la glándula venenosa se encuentra dentro de la forcípula y el conducto curvado es por donde se inyecta el veneno. Este movimiento se lleva a cabo, por el músculo abductor en la contracción, el veneno es empujado del lumen central de la glándula para que sea administrado en la presa (González, 2010; Ibarra, 2011).

2.3. IMPORTANCIA DE LAS ESCOLOPENDRAS

Las escolopendras juegan un papel muy importante en el ecosistema, como el control de insectos. Las escolopendras han sido de interés en diferentes culturas y se les ha dado distintos usos. Por ejemplo: en la mitología y en la medicina tradicional.

2.3.1. Importancia médica

Se ha reportado que en la medicina tradicional, el veneno de escolopendra tiene usos terapéuticos para el tratamiento de diferentes enfermedades. Por ejemplo, en el tratamiento de problemas en garganta, ictericia, cistitis, antivenenos, tratamientos de ciática, angina de pecho, abscesos y gangrena. En Corea del Sur se utiliza en dolores de articulaciones, pies, piernas (reumatismo, vascular) y para tratamientos de eventos cerebrovasculares, convulsiones, tétanos, laringitis, alopecia e inflamaciones (Costa, 2006; Ibarra, 2011).

2.3.2. Importancia farmacológica

El veneno de escolopendras se ha empezado a explorar, ya que existen estudios donde se comprueba su actividad anticonvulsiva; además, de observar actividades de inhibición de células tumorales, antifúngica y antimicrobiana (Costa, 2006; Ibarra, 2011).

2.4. VENENO DE ESCOLOPENDRA

El veneno de escolopendras, se ha caracterizado por presentar efectos fisiológicos y bioquímicos importantes, como actividad insecto-específica, PAM, fosfolipasa, hialuronidasa, anticancerígeno, entre otros usos terapéuticos y farmacológicos.

2.4.1. Características del veneno de la escolopendra

El veneno de las escolopendras puede variar según la especie de escolopendra. La apariencia del veneno es un fluido transparente, con un pH ácido y se divide en dos partes, la proteica y la no proteica (Ibarra, 2011).

La proteica esta compuesta de péptidos, proteínas con actividad enzimática y no enzimática, por ejemplo en *Scolopendra morsitans*, se han encontrado pequeñas proteínas, esterasas, carboxipeptidasa, aminopeptidasas, dipeptidasas, fibrinas y fibrógeno (Mohamed *et al.*, 1983; González, 2010; Ibarra 2011).

La no proteica, está relacionada con diferentes sustancias, como aminas biogenéticas, un ejemplo, es la serotonina (5-hidroxitriptamina) con efecto vasoconstructor e histamina con actividad vasodilatadora, polisacáridos y lípidos como son: ácidos grasos, fosfolípidos, colesterol, triglicéridos (Fernandes-Pedrosa *et al.*, 2013).

2.5. ESTUDIOS EN VENENOS DE ESCOLOPENDRAS

Algunos estudios con estos venenos son:

- a) Mohamed y col. (1983), caracterizaron el veneno de *S. morsitans*, en el que separando las fracciones del veneno mediante cromatografía y electroforesis. Encontraron lipoproteínas, lípidos y algunos fosfolípidos.
- b) Bush y col. (2001), realizaron un reporte médico de 5 personas con envenenamiento por escolopendras presentaron síntomas como: dolor local, eritema (enrojecimiento), induración (abultamiento), necrosis y algunas lesiones leves, que son fácilmente tratadas y resulta poco tóxico y no representa un riesgo para la salud.
- c) Gutiérrez y col. (2003), Aislaron una fracción del veneno de *Scolopendra spp*. Esta fracción fue inyectada en el tercer segmento abdominal dorso-lateral en la especie *Cambarellus cambarellus* (acociles) observando un efecto letal. Los Estudios *in-vitro* del cordón

ganglionar del acocil con esta fracción provocaron la liberación de neurotransmisores, afectando la permeabilidad de la membrana a partir de los canales de sodio.

- d) González (2005), purificó y secuenció parcialmente algunos péptidos y proteínas del veneno de *S. polymorpha*, antes caracterizada como *S. viridis* Say (SvS). (Cupul-Magaña, comunicación personal).
- e) Rates y col. (2007), analizaron los venenos de *S. viridicornis nigra* y *S. angulata*, determinando diferentes fracciones de péptidos. Donde 10 compuestos fueron representativos para la familia de péptidos de estas especies. Que no se lograron identificar en las bases de datos de Swiss-Prot.
- f) González-Morales y col. (2009), se encargan de hacer la purificación, expresión, clonación y un análisis filogenético, sobre la fosfolipasa A2 en *S. polymorpha*. En la cromatografía se utilizó, 1mg de proteína del veneno de *S. viridis* Say, de la que se separó en 54 compuestos diferentes, en las que está presente la actividad fosfolipasa. Posteriormente se realizó la clonación, en una biblioteca de cDNA a partir RNA total de las glándulas del veneno de *S. polymorpha*.
- g) Cooper y col. (2014), realizaron un estudio en el que midieron la producción del veneno en *Scolopendra polymorpha* y a las 48 horas observaron una mayor cantidad de veneno, además de depender del número de ordeñas, ya que baja la cantidad de compuestos.
- h) González-Morales y col. (2014), hicieron una caracterización proteómica y un análisis transcriptómico, mediante técnicas bioquímicas y electrofisiológicas del veneno soluble de las glándulas venenosas de *S. polymorpha*, antes caracterizada como *S. viridis* Say, se obtuvieron 54 fracciones diferentes, mediante estudios electroforéticos de SDS-PAGE, se identificaron dos proteínas de peso molecular alto de entre 37 kDa y 42 kDa con actividad hialuronidasa. Además, de un análisis de huellas (Finger Priting Mass), en el que se detectó 86 compuestos,

de los cuales 70% fueron de bajo peso molecular. Por medio de electroforesis de dos dimensiones, mostró la separación de 40 proteínas con un peso molecular alto, que iba de entre 17 a 58 kDa. De las glándulas venenosas de *S. polymorpha*, se obtuvieron un total de 180 secuencias en una biblioteca de cDNA, 155 secuencias que presentaron genes completos de más de 200 pb.

i) Hakim y col. (2015), hicieron una búsqueda de secuencias de péptidos del veneno en escolopendra y otros componentes con potencial terapéutico, utilizaron más de 500 secuencias de péptidos, reportadas en las glándulas venenosas de escolopendas, que se describieron por análisis proteómicos y existen pocas secuencias depositadas. Algunos de estos compuestos presentan actividades con usos terapéuticos que se podrían implementar en el área farmacológica. Como por ejemplo: la modulación de canales iónicos dependientes de voltaje (Na_v , K_v y Ca_v), esto en las especies *Scolopendra subspinipes* y *S. morsitans*. Además, en la especie *S. morsitans* se caracterizó una proteasa que lleva por nombre naphthylamidasa-tipo amino-peptidasa. También, se han reportado en las especies *S. subspinipes dehhani*, *S. morsitans*, *S. viridicornis* y *S. viridis* Say, las actividades de: hipotensor, anticoagulante, anti-trombótico, anti-cáncerígeno, fosfolipasa y hialuronidasa.

La principal función de las hialuronidasas es la degradación del ácido hialurónico y presenta la función de agente dispersor.

2.6. ÁCIDO HIALURÓNICO

El ácido hialurónico (AH) es un polímero de alto peso molecular que se encuentra en la matriz extracelular, que presenta un peso de 10,000 en adelante. Este se forma de unidades repetidas de monosacáridos de DN-acetilglucosamina y D-glucurónico. El polímero se encuentra en pares de disacáridos que se conectan por enlaces tipo β (Stern, 2008).

Meyer y Palmer (1934), identificaron el ácido hialurónico en el humor vítreo de los bovinos y observaron que existía una proteína con su actividad enzimática, que presentaba una actividad de agente dispersor. También, mencionan que las bacterias presentan AH, como componente en el

exterior de la capa celular y en vertebrados se ha encontrado como un componente necesario para la matriz extracelular (MEC).

El ácido hialurónico es necesario en los vertebrados localizado en diferentes tejidos como es: piel, mucosas, ojos, cordón umbilical y articulaciones (líquido sinovial). Siendo esencial para la regeneración de tejidos asociados a la cicatrización y epidermis. En la piel se presentan otros glucosamínicos, como es el dermatan sulfato y queratan sulfato; que se combinan con el AH, están de forma abundante en la matriz extracelular (MEC) del tejido conectivo. Los ácidos hialurónicos ayudan a mejorar la síntesis de colágeno tipo I y VIII (Sugahara *et al.*, 2004; Wu y Liao, 2005).

El AH esta involucrado en diferentes procesos biológicos, es un compuesto glucosamínico no tóxico que funciona de regulador y presenta algunos otros beneficios. En el cáncer cérvico uterino requiere de modificaciones químicas, están relacionados con la inmunogenecidad que tolera el cuerpo humano, se asocia a la inflamación y el crecimiento celular (Kreil, 1995; Thomas, 2015).

Existen diferentes tamaños de AHs y de acuerdo a ello presentan funciones diferentes. Algunos ejemplos en estudios realizados son: las moléculas de 200 kDa que inducen la expresión de las quimiocinas en macrófagos, moléculas de 6.9 kDa que activan a las células integrinas facilitando la inducción o movilización de las células; además, de relacionarse con la propagación de los órganos y tejidos no infectados. Los AHs se relacionan con la angiogénesis, siendo moléculas de 20 a 30 kDa, que están asociados al cáncer de vejiga y próstata. En los AHs angiogénicos no solo se encuentran estos monómeros, sino también por la presencia de hialuronidasas relacionada con la generación de dichos oligosacáridos (Kazuki *et al.*, 2004; Sugahara *et al.*, 2004; Ibarra, 2011).

2.7. HIALURONIDASAS

Las hialuronidasas (E.C.3.2.1. 35), son una familia de enzimas responsables de la degradación del ácido hialurónico (AH), presentan un alto peso molecular. Las hialuronidasas se encuentran en la matriz extracelular y se encargan de la degradación de otros glucosaminoglucanos como: el dermatan sulfato, queratan sulfato, heparan sulfato y condroitin sulfato, que presentan una eficacia lenta (Ibarra, 2011).

Las hialuronidasas (Hyal) se encuentran presentes en bacterias, invertebrados y vertebrados como se muestra en la Figura 2, que presenta ciertas funciones específicas. Su actividad es la degradación del AH. Un ejemplo, es la actividad hemolítica (McClean, 1941).

Las hialuronidasas son de importancia farmacéutica, sobre todo en el área oftalmológica, por la facilitación en la entrada de compuestos como coadyuvante en la células (Kreil, 1995). Clement (2003), Clement y col. (2012), mencionan que los venenos de diferentes organismos pueden presentar hialuronidasas con distintas preferencias para la hidrólisis del sustrato. Existen hialuronidasas capaces de degradar el ácido hialurónico y otros sustratos. En un estudio realizado por Clement y col. (2016), una hialuronidasa proveniente del veneno de la araña *Brachypelma vagans* es específica en la degradación del AH, pero no es capaz de degradar el condroitin sulfato.

La N-acetil-D-hexosamina es una estructura presente en la hialuronidasa, encargada de hidrolizar las uniones glucosídicas, siendo específica en el enlace β 1-4 del ácido hialurónico (Menzel y Farr, 1998).

Lorina y col. (1954), observaron que existían hialuronidasas con actividad hemolítica, en la bacteria *Streptococcus mitis*.

En un estudio previo, se hicieron pruebas con bacterias para observar la actividad hemolítica en ratas, en la que se quizó comprobar la virulencia de bacterias y en el que las hialuronidasas estaban involucradas, en el mecanismo de infección. Este mecanismo consiste en el período de colonización de las bacterias hacia la invasión de ciertos tejidos (Chandramathi *et al.*, 2010).

En el veneno de la serpiente *Bungarus caeruleus* las hialuronidasas, se encargan de la difusión del veneno en el individuo, que se lleva a través del torrente sanguíneo, estas hialuronidasas presentan actividad hemolítica, permitiendo la introducción de los péptidos tóxicos de forma fácil, afectando a la permeabilidad de la membrana y la accesibilidad del veneno; además, de ser una hialuronidasa de bajo peso molecular (Bhavia *et al.*, 2016).

Se han identificado proteínas con actividad hialuronidasa, en algunos arácnidos, como: *Brachypelma vagans*, *B. smithi*, *B. albiceps*, *B. auratum*, *B. verdezi* y *Aphonopelma serratum*, que han sido utilizados en terapias médicas como péptidos anti-microbianos (PAMs) y antiflamaratorios (Clement *et al.*, 2016).

Se han realizado bibliotecas de cDNA a partir de las glándulas del veneno de escorpión *Tityus Serralatus* y en este trabajo se identificó la secuencia de una hialuronidasa (Horta *et al.*, 2014).

Existen pocos estudios en las escolopendras y aún no se entiende como el veneno puede

dispersarse a través de los organismos en quien fue inoculado, en otras especies de artrópodos se ha demostrado que las hialuronidas juegan un papel relevante en este proceso. Por lo que se requiere de un estudio profundo de las hialuronidas en las escolopendras.

2.7.1. Clasificación de las hialuronidas

Las Hyals están asociadas con la difusión o administración de cualquier tipo de virulencia (bacterias) o la facilitación del veneno proveniente de diferentes organismos en su actividad biológica, presenta la filtración de componentes tóxicos a través del tejido conectivo, debido a la perdida estructural integral de MEC, permitiendo la difusión de sustancias del veneno a su sitio blanco, relacionadas con actividades bioquímicas. En la Tabla 1 **ANEXO A**, tomada de Kemparaju y Girish (2008), han hecho una síntesis de las propiedades bioquímicas de hialuronidas, identificadas en venenos de diferentes organismos (artrópodos y reptiles). Las características que se describen son: peso molecular, punto isoeléctrico, pH óptimo y temperatura.

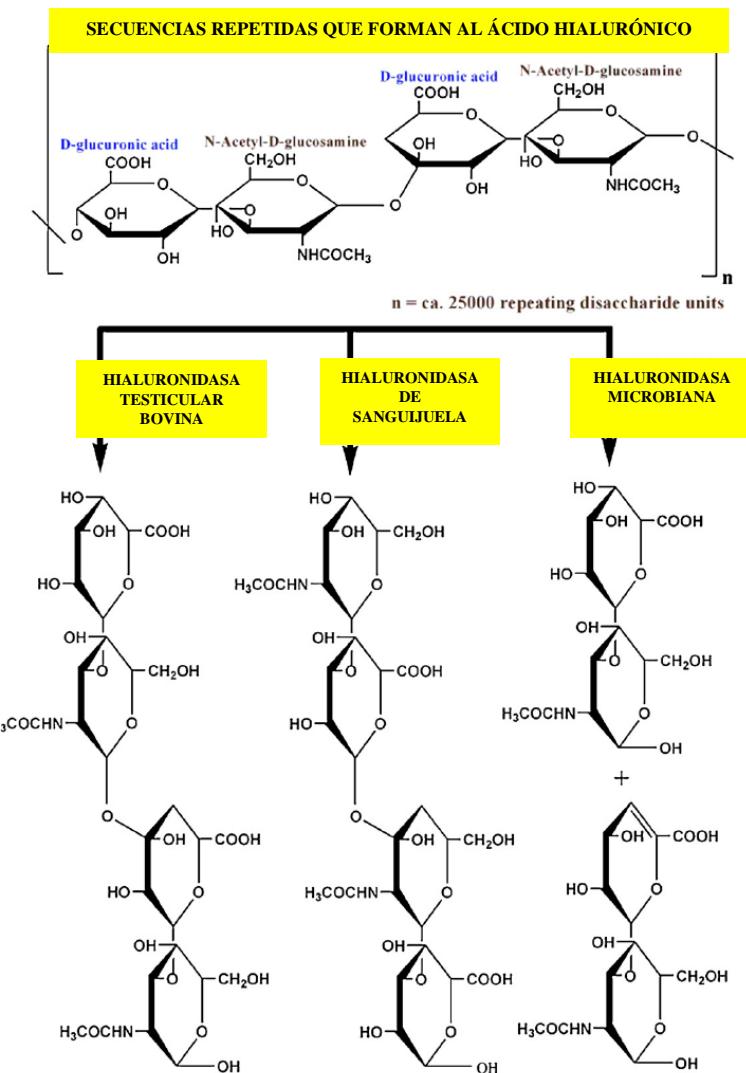


Figura 2. Clasificación de las hialuronidas por Meyer en 1971, modificado por El-Safory et al., 2010

Las hialuronidas se dividen en dos grupos, las glicohidrolasas y las elimininas. Estos grupos se basan en el producto que se obtiene o reacción enzimática para degradar el sustrato (hidrólisis).

Las bacterias fueron las primeras en estudiarse para conocer la actividad hialuronidasa y se identificó la actividad liasa o “eliminasa”, su actividad consiste en catalizar el rompimiento de enlaces químicos por la hidrólisis u oxidación de los enlaces β . Su mecanismo de acción es la eliminación del enlace glucosídico y la introducción de un enlace insaturado (Stern y Jedrzejas, 2006).

Se realizó la digestión del ácido hialurónico con algunas hialuronidasas testiculares de bovino para la elucidación de dos tipos de enzimas, que fueron las condroitinasas y las hialuronidasas, estas presentan una actividad de eliminasa y glucohidrolasa. Entre las que se encontraron GlcApl-3, GalNAc (4-sulfato), GlcA31-3GalNAc (6-sulfato), GlcA (2-sulfato), 31-3GalNAc (6-sulfato) (Sugahara y Nadanaka 1997). En la Figura 3, se puede observar los sitios de corte de las hialuronidasas con actividad liasa e hidrolasa.

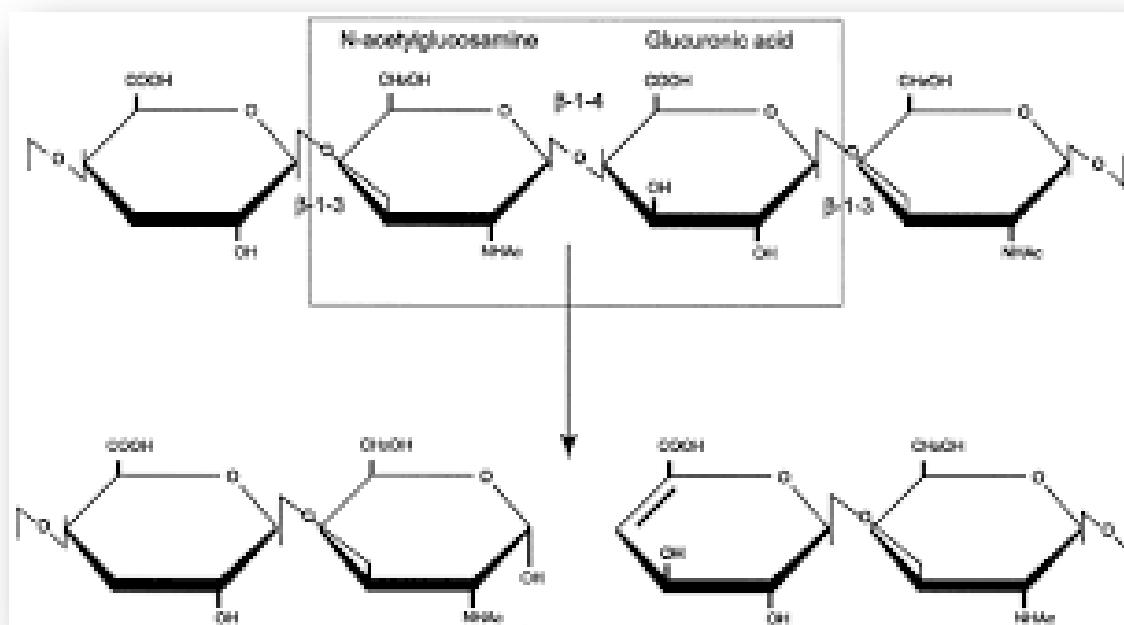


Figura 3. Sitios de corte del ácido hialurónico, presenta enlaces N-acetylglucosamínico y ácido glucurónico estos se unen por enlaces β 1-4 y β 1-3.

Las glucohidrolasas presentan un subgrupo de glucanohidrolasas que están depositadas en la bases de datos del Swist-Prot; que muestran actividad hialuronidasa, en el que el enlace glucosídico es hidrolizado para romper al ácido hialurónico (Henrissat y Bairoch, 1996; Ibarra, 2011).

También se han observado que algunas Hyals actúan como liasas y se relacionan con secuencias nucleotídicas de colágeno. Existe evidencia de un fago con actividad hialuronidasa en *Streptococcus pyogenes*, siendo un factor de virulencia y se relaciona con la degradación de colágeno en los tejidos del huésped. Este mecanismo consiste en que la bacteria no es virulenta, mientras

presenta su cápsula, el fago lisogénico se encarga de la eliminación de la cápsula que protege a la bacteria. Y de esta forma penetra a la cápsula la infección por la actividad hialuronidasa que utiliza, para la internalización e infección de la bacteria (Stern y Jedrzejas, 2006).

2.8. ANTECEDENTES DIRECTOS

en la Tabla 1 se muestran los estudios realizados en nuestro grupo de trabajo.

Tabla 1. Estudios realizados en escolopendra de nuestro grupo de trabajo

Estudios de nuestro grupo de trabajo	Año y realizado por:
Utilización de una fracción del veneno que presentó actividad de GABA en acociles	Abarca (2003)
identificación de una fosfolipasa llamada PLA2 Scol que identificó, a partir de un banco de cDNA	Gonzales (2010)
Caracterización las hialuronidasa 56kDa y encontró las hialuronidasa de 30, 40 y 56 kDa	Ibarra (2011)
actividad de péptidos antimicrobianos (PAMs), que presentaron homología con una histona con actividad H3 en <i>Scolopendra polymorpha</i> y que fue caracterizado	Rodríguez (2014)
toxina con actividad insecto específica en <i>S. polymorpha</i> y <i>S. viridis</i> Say	Gonzales (2015)
Caracterización bioquímica de una hialuronidasa de 46kDa de <i>S. polymorpha</i> y que elucidó por spectrometría de masas la secuencia	Mena (2016)
Se realizó una biblioteca de cDNA de las glándulas venenosas de <i>S. viridis</i> Say en la que no se logró la identificación del gen de 40kDa a partir de la secuenciación MALDI-TOFF.	Ibarra (2016)
Se probó una fracción citotóxica en células HeLa que inducían apoptosis al utilizar las fracciones de <i>S. polymorpha</i>	Ronces (2017)
trabajo con el PAM con el que Rodríguez realizó la caracterización bioquímica y el trabajo con este péptido llamado SP13 en el que se vio la interacción de la unión al DNA mediante técnicas moleculares y bioquímicas, para comprobar que presentaba la actividad de histona	Rivera (2018)
toxinas con actividad citotóxica en <i>S. polymorpha</i>	Tabullo (2018)

2.8.1. Estudios en *Scolopendra polymorpha*

Mena, 2016, hizo la caracterización bioquímica de una hialuronidasa del veneno de *Scolopendra polymorpha*, utilizando el método turbidemétrico y zimograma, para la cuantificación de la actividad de la proteína de 45kDa. En este estudio, se identificaron 5 bandas con actividad hialuronidasa presentes en el veneno total de *S. polymorpha* con pesos de 105, 70, 45, 42 y 37kDa. También, se secuenció la proteína con mejor actividad, que fue la de 45kDa. De esta secuenciación de *novo* se obtuvieron 9 péptidos y no presentaron identidad con ninguna secuencia reportada en Protein Data Bank.

2.8.2. Estudios en *Scolopendra viridis* Say

Ibarra (2011), identificó la actividad hialuronidasa en el veneno de *S. viridis* Say, estas proteínas presentaron, pesos moleculares de: 169, 131, 113, 72, 68, 56, 46, 43, 26, 17 y 8 kDa. Sin embargo, dichas enzimas perdían su actividad al purificarse por HPLC en fase reversa, por lo que se decidió probar la separación del veneno por una columna de filtración en gel, en la que se obtuvieron 10 fracciones del veneno. Posteriormente, se realizó un gel bidimensional en el que presentaron cuatro proteínas con mejor actividad hialuronidasa en presencia de AH y los pesos moleculares obtenidos fueron 185, 169, 56 y 8 kDa, y la proteína de 56 kDa presentó mayor actividad. Se hicieron SDS-PAGE no desnaturizantes para obtener la proteína activa; además, de calcular el punto isoeléctrico (pI) que fue de pI 6-7.

Ibarra (comunicación personal, 2016), preparó una biblioteca de cDNA de las glándulas venenosas de *S. viridis* Say, en el que hizo la búsqueda del gen de la hialuronidasa de 40 kDa, de la identificación se obtuvo 2 fragmentos de la secuencia por MALDI-TOF; a partir de estos se hicieron oligos degenerados. Mediante bioinformática, se conoció el uso preferencial de codones en artrópodos; al buscar el gen, no se logró identificar. Por lo que se propuso en este trabajo conocer el extremo NH₂-terminal.

3. JUSTIFICACIÓN

En general los venenos presentan proteínas con actividad hialuronidasa. Específicamente en el veneno de *Scolopendra viridis* Say, en el que se han observado hasta 10 proteínas de diversos pesos moleculares con actividad hialuronidasa. Además, de la degradación del ácido hialurónico y agente dispersor, se relaciona con otras funciones como antimicrobiana y antitumoral. Por lo que es de interés en el área biotecnológica.

Algunas de las hialuronidas del veneno de *S. viridis* Say, presentan pesos moleculares menores a los reportados para las hialuronidas de bovinos. Sin embargo, la cantidad de esta proteína, que se obtiene a partir del veneno, es muy poca. Por lo que una alternativa para la obtención de una mayor cantidad sería su expresión heteróloga, haciendo necesario el aislamiento de secuencias nucleotídicas.

En un estudio previo, se intentó localizar el gen de una hialuronidasa de 40kDa de *S. viridis* Say mediante fragmentos parciales de la secuencia de aminoácidos, que se obtuvieron por MALDITOF.

De acuerdo a esos resultados, en este presente trabajo se propone elucidar la secuencia del NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56kDa, para la localización del gen. Es importante conocer la secuencia de aminoácidos de la enzima con actividad hialuronidasa. Por otro parte, el uso preferencial de codones que utilizan las escolopendras, para posteriores estudios que permitan la expresión de esta proteína y así poder realizar una mejor caracterización funcional.

4. HIPÓTESIS

La elucidación de la secuencia de aminoácidos del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56kDa del veneno de *Scolopendra viridis* Say y el establecimiento de un código genético para escolopendra se correlacionará con las secuencias nucleotídicas de cDNA de las glándulas venenosas, para la localización del gen de la hialuronidasa.

5. OBJETIVO GENERAL

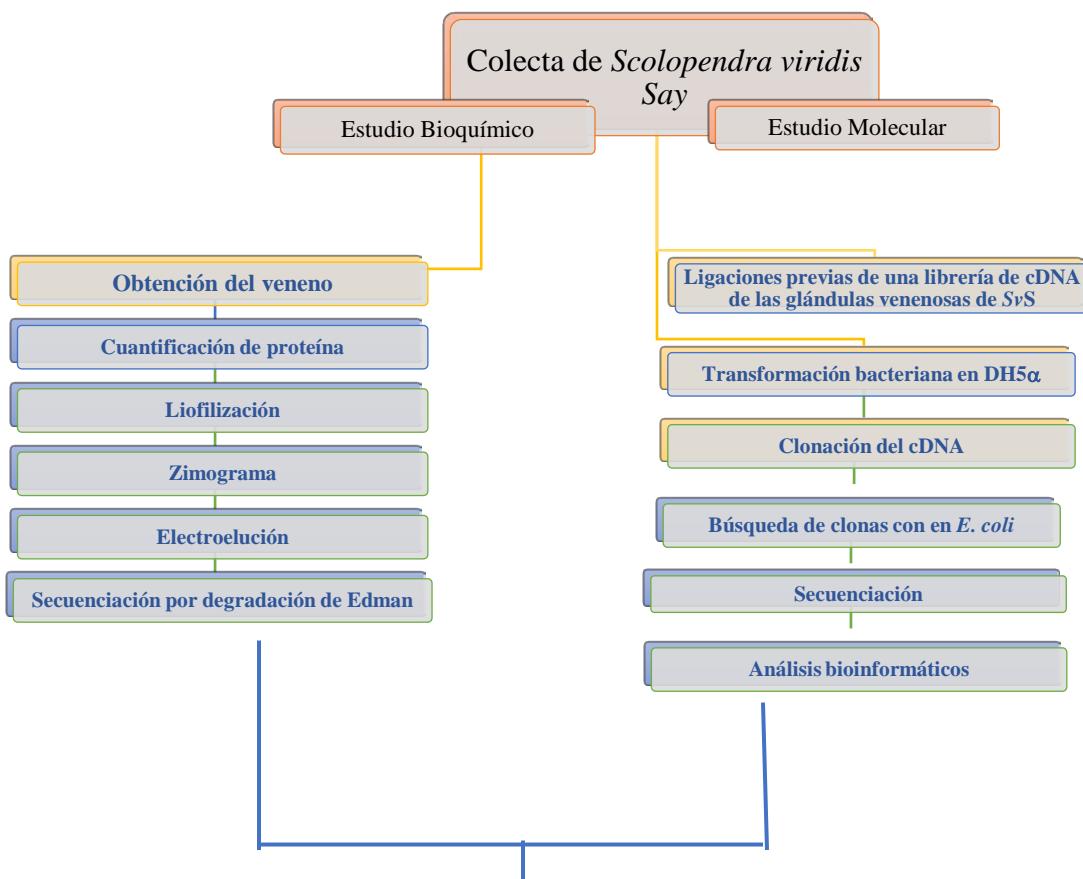
Determinar la secuencia de aminoácidos del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56kDa para la posterior búsqueda del gen en *Scolopendra viridis* Say a partir de un banco de cDNA de glándulas venenosas.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Secuenciar y elucidar el extremo NH₂-terminal de la enzima con actividad hialuronidasa de *Scolopendra viridis* Say
- ✓ Deducir la secuencia preferencial de nucleótidos en el extremo NH₂-terminal
- ✓ Revisar si en la biblioteca de cDNA previamente obtenida por Ibarra (2016) se encuentra el gen de la hialuronidasa de *Scolopendra viridis* Say

7. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

La estrategia experimental será de la siguiente manera:



Comparación de secuencias del extremo NH₂-terminal en la biblioteca de cDNA para identificar el gen.

- A partir del estudio bioinformático de las clonas obtenidas en el banco de cDNA y por medio de la identificación de una hialuronidasa ya conocida
- Comparación de la secuencia del gen de la hialuronidasa con el extremo NH₂-terminal de la proteína de 56 kDa obtenida del veneno de *SvS*
- Identificación del gen.

8. MATERIALES Y METODOS

8.1. PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA CON ACTIVIDAD HIALURONIDASA

8.1.1. Colecta de especímenes

En este trabajo se utilizó a la especie *Scolopendra viridis* Say 1821, que se colectó en la zona Noreste de Cuernavaca Morelos, se mantuvieron en recipientes de plástico de manera individual.

8.1.2. Obtención del veneno

El veneno se extrajo de las escolopendras colectadas y fueron ordeñados (aproximadamente de 400 individuos), se adormecieron colocándolas en un recipiente a 4°C, durante 5 min., después se estimularon las glándulas venenosas por presión manual para la obtención del veneno, depositándolo en un tubo eppendorf de 1ml que contenía 30μl agua milli Q.

El eppendorf se colocó en un recipiente con hielo para evitar la degradación del veneno. Posteriormente se depositó el veneno que se obtuvo con una punta amarilla estéril, al terminar la ordeña; se realizó la cuantificación de colecta del veneno mediante la curva estándar con BSA al 3% y la muestra del veneno total (**VT**) con 1μl, posteriormente se liofilizó y guardó en -20°C.

8.1.3. Cuantificación de proteínas

Se realizó por el método de Lowry (1951). Este es un método de colorimetría de valoración cuantitativa de las proteínas.

En donde los iones Cu²⁺ en medio alcalino, se unen a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos Cu²⁺-proteína tienen un color azul claro.

Además, provocan el desdoblamiento de la estructura tridimensional de la proteína, exponiéndose los residuos fenólicos de tirosina que van a participar en la segunda etapa de la

reacción y presenta la reducción. El Cu²⁺ se mantiene en solución alcalina en forma de su complejo con tartrato, también en medio básico, del reactivo de Folin-Ciocalteau, por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina, presentes en la mayoría de las proteínas, actuando el cobre como catalizador. El principal constituyente del reactivo de Folin-Ciocalteau es el ácido fosfomolibdotungstico, de color amarillo, que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso (Lowry, 1951).

8.1.4. Liofilización

En este proceso se empleó una liofilizadora MAXI-Dry lyo, se colocaron los tubos eppendorf que contenían la solución de veneno total a deshidratar. La MAXI-Dry lyo se opera a una presión de 0.2 atm y -110°C de temperatura en la trampa para vapores.

8.1.5. Zimograma (gel de actividad)

Se realizaron geles de SDS-PAGE al 12% de acrilamida y se adicionó ácido hialurónico (200 µg/ml) al gel. Se utilizó una corriente constante de 15 miliamperios. Una vez cargada la muestra y posterior a la electroforesis, los geles se lavaron dos veces con Tritón X-100 al 2% durante 30 min, para eliminar el SDS. Se dejó incubando por 16 horas en un buffer de fosfatos con NaCl (0.15 M) pH 6.0; posteriormente el gel se deshidrató colocando por 30 min en una solución de etanol al 30% en ácido acético al 10%, posteriormente el gel se colocó en una solución con el colorante Stain all al 0.5% durante 1h; y por último se destiñó con la misma solución etanol-ácido acético (Ibarra, 2011).

8.1.6. Electroelución

A partir de un gel de tris-glicina SDS-PAGE de 12%, se cortó, la banda de la hialuronidasa de 56 kDa para ser electroeluida. Se colocó el pedazo de gel con la proteína en un tubo de electroelución y se pasó por un flujo de corriente de 2.5 mAh, durante 2h con solución amortiguadora que se emplea de tris 50mM a pH6 , con el objetivo de extraer la proteína del gel.

Posteriormente se dializó por 2 h con un cambio de agua. Despues se cuantificó, y se purificó por HPLC en fase reversa y se liofilizó, para posteriormente mandarse a secuenciar el extremo NH₂-terminal (técnico Valladares).

8.1.7. Secuencia del extremo NH₂-terminal

Para obtener la secuencia del extremo NH₂-terminal, se utilizó la degradación de Edman, con un equipo secuenciador de proteínas PPSQ-31^a de Shimadzu Scientific Instruments, Inc. (Columbia, Maryland, USA). Que fue realizado en colaboración con el Instituto de Biotecnología de la UNAM (IBT-UNAM).

8.3. PREPARACIÓN DE UNA BIBLIOTECA DE cDNA

8.3.1. Extracción de RNA a partir de las glándulas venenosas de esclopendra

Las glándulas venenosas de las esclopendas, se colocan en un contenedor (mortero) con nitrógeno líquido en el que se macera el tejido. Posteriormente se realiza la extracción de RNA total con el reactivo TRIsure (BIOLINE), que es un compuesto con una solución de fenol y cloruro de guanidino que preservará al RNA para evitar su degradación.

El RNA se extrae de un par de glándulas venenosas de *S. viridis* Say, recién recolectada para obtener su material genético.

8.3.2. Electroforesis del RNA total en geles de agarosa.

Para observar la integridad del RNA se realizaron geles de agarosa al 1.5% y se realizó una electroforesis utilizando un buffer de corrida TAE 1X. El marcador de pesos moleculares de 200pb-10,000pb con 10 µl (400ng de DNA/µl); se colocó en el primer carril del gel de agarosa, se tomaron 10 µl (150ng/µl) de la muestra se adicionó con un buffer de carga 5 µl (Bioline), éste se corrió por 30 min, a 110 volts y posteriormente se tiñó con bromuro de Etilo (BrEt) por 15 min. en agitación constante, y después se visualizó utilizando una cámara con UV que permite visualizar el RNA total. Despues se realizó un gel en el que se hizo una selección de RNAs totales de tamaños de 1000

a 1600pb de RNA, debido a que es el peso promedio de distintos mensajeros no de hialuronidasas de *Scolopendra viridis* Say. (también se utilizó con las muestras después de la obtención del plásmido la diferencia es que se le agregó el Syber green cuando se preparó el gel de agarosa para visualizar las bandas de DNA este se hace al 1%).

8.3.3. Síntesis de cDNA

Se preparó una biblioteca de cDNA basado en el protocolo SMART cDNA library Construction kit (CLONTECH, Palo Alto, CA, USA), el cual provee un método para producción de bibliotecas completas de cDNA de alta eficiencia.

EL RNAm servirá como molde para la síntesis de la primera cadena de DNA, utilizando el oligonucleótido “SMARTIV” 5’AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTGGCCATTACGGCCGGG-3’ que sirve como molde en el extremo 5’ del RNAm y un oligonucleótido (dT) modificado como cebador del extremo 3’ (CDSIII) 5’AAGAACATCGATTTCATGGCAG-d(T)₁₅N-₁N-3’ Reverse . La primera cadena de cDNA servirá como molde para la generación del DNA de doble cadena. Los oligonucleótidos que se utilizaran durante la PCR poseen sitios de restricción Sfi A y Sfi B en los extremos 5’ y 3’ del DNA respectivamente, lo cual permite que el cDNA pueda insertarse al plásmido con una orientación correcta. Después de la síntesis de la segunda cadena de cDNA se purificó el cDNA de tamaños entre 1000pb-1600pb que se eligió a partir del RNA, se amplificó el cDNA, para que se pueda unir al vector pJET1.2.

8.3.4. Construcción de la biblioteca de cDNA menor a 1000pb del veneno de *S. viridis* Say

El cDNA sintetizado se corrió en un gel de agarosa al 1.5%, y se purificó para ligarlo al vector pJET 1.2 (Thermo scientifics); este plásmido presenta una resistencia a ampicilina (AMP) con una probabilidad de ligación del 99%. Ya que, presenta un gen suicida que mata a las bacterias si no hay fragmento clonado. El vector ligado al cDNA se transformó en bacterias *E. coli* DH5α.

8.3.4.1. Transformación obtenidas de la biblioteca de cDNA de las glándulas venenosas de *Scolopendra viridis* Say

Se trabajó con ligaciones de cDNA previas de Ibarra, 2016 (comunicación personal) en el pJET 1.2 del kit CloneJET con número de catálogo #K1231 Figura 4. Se preparó la transformación del cDNA en células DH5 α quimiocompetentes del que se obtuvieron 22 clonas.

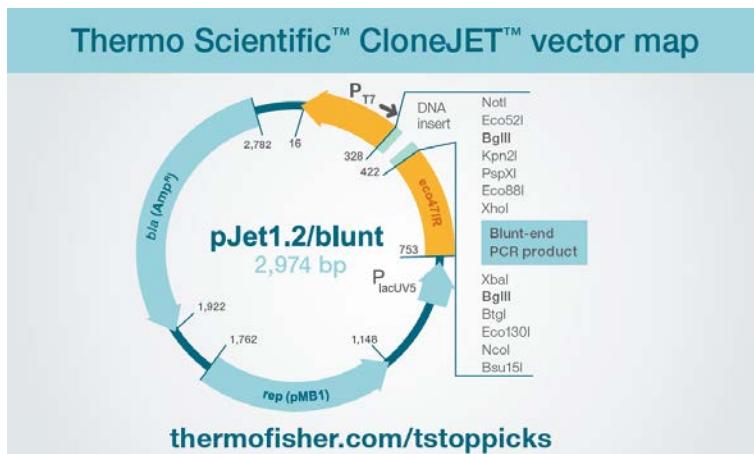


Figura 4. Mapa del vector de clonación pJet1.2/blunt.

8.3.4.2. Obtención de plásmido y digestión de clonas

Se preparó el plásmido de cada una de las 22 clonas obtenidas, se usó el KIT Zymoclean #4019; cada plásmido se digirió con las enzimas de restricción XhoI y NcoI, en una mezcla de digestión de 20 μ l. De cada una de las enzimas se colocó 0.25 μ l, 2 μ l de buffer 5 μ l por 24 horas, posteriormente se visualizó por medio de un gel agarosa al 1%.

8.3.4.3. Secuenciación de clonas

De las 22 clonas que se obtuvieron 19 se prepararon para secuenciación que se llevo a cabo en Macrogen Inc.

8.4. BIOINFORMÁTICA

8.4.1. Comparación de secuencias de la biblioteca de cDNA de *S. viridis* Say en bancos de datos

Se realizó un Blast-nt para determinar con otras secuencias en las bases de datos del NCBI. También se analizaron los marcos de lectura abiertos con el programa ORF finder.

8.4.2. Estudio bioinformático del uso preferencial de codones mediante proteínas reportadas en el NCBI para escolopendras

Se analizó la secuencia nucelotídica de las proteínas reportadas en la base de datos del NCBI para el genero *Scolopendridae*. A partir de estas secuencias se realizó un estudio bioinformatico, mediante el programa en linea http://www.bioinformatics.org/sms2/codon_plot.html en la liga “codón usage”.

El cual funciona mediante el uso de algoritmos basados en la distancia de aparición de codones, con el porcentaje de GCs por la técnica de estadística de interacciones, en donde más de dos variables dan ciertos parámetros en la frecuencia porcentual. Se obtuvo el porcentaje de aparición de cada uno de los genes.

A partir de estos datos se revisó los codones repetidos con mayor aparición de todas las secuencias y se propuso un uso preferencial de codones para escolopendra.

Después de conocer la secuencia del extremo NH₂-terminal de la hialuronidas de 56kDa de *S.viridis* Say y el uso preferencial de codones para escolopendra, se propusieron variantes de posibles primers para la localización del gen.

9. RESULTADOS

Este trabajo se llevó a cabo en dos partes el estudio bioquímico, en el que se elucidó el extremo NH₂-terminal y la parte molecular, en el que se intentó hacer una búsqueda del gen de la hialuronidasa de 56kDa de *Scolopendra viridis* Say, con un cDNA proveniente de las glándulas venenosas de esta escolopendra.

9.1. RECOLECCIÓN DE ESCOLOPENDRAS

Se recolectaron las escolopendras. Se utilizaron aproximadamente 400 *S. viridis* Say con la finalidad de alimentarlos y obtener el veneno.

9.2. EXTRACCIÓN DE VENENO DE *Scolopendra viridis* Say

Las escolopendras se colectaron y se llevaron al laboratorio de neurofarmacología CEIB-UAEM), donde fueron ordeñadas para colectar el veneno a condiciones controladas donde se obtuvo por estimulación mecánica; el veneno que se colectó fue depositado en un eppendorf 1ml con 30 μ l de agua milli Q, posteriormente por medio del método de Lowry se cuantificó, después de conocer la concentración de la ordeña se liofolizó y se mantuvo a una temperatura de -20 °C, hasta que se colectó y se obtuvo la cantidad de la banda de 56kDa de la hialuronidasa de *S. viridis* Say.

9.3. OBTENCIÓN DE LA BANDA DE 56 kDa DEL VENENO TOTAL DE *Scolopendra viridis* Say

Cuando se colectó la cantidad necesaria de veneno total (VT) de *S. viridis* Say. Se hicieron geles nativos de SDS-PAGE al 12% para visualizar la Banda de 56kDa del VT con actividad hialuronidasa, al ver la banda se prosiguió a correr geles en condiciones no desnaturalizantes en presencia de ácido hialurónico al (0.2mg/ml) del gel; se colocó un control positivo de la hialuronidasa testicular Bovina (BTH) a una concentración 0.5 μ g. En la Figura 5. A) se muestra el gel sólo con el marcador y un carril con el veneno total de *S. viridis* Say, en la que se resalta la banda de interés correspondiente a la proteína de 56kDa. En la B) del lado izquierdo se observa el BTH que es nuestro control positivo, del lado derecho se muestra una sola banda resaltada en el VT que es la hialuronidasa de 56kDa y en la otra esquina los pesos moleculares con los que se visualizó el tamaño de la proteína, con esto se logró identificar y cortar la banda de interés.

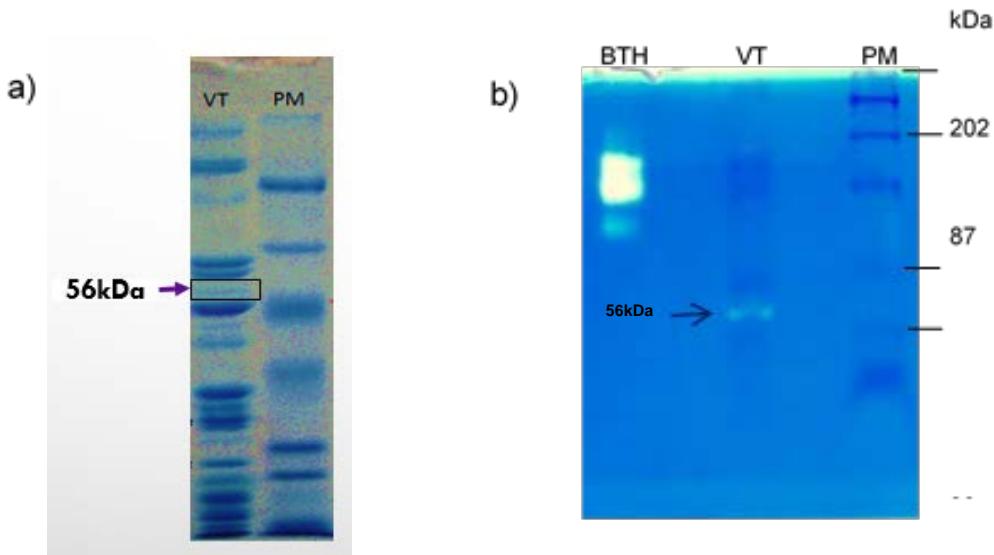


Figura 5. Electroforesis del veneno de la *S. viridis* Say. a) SDS-PAGE al 12%, teñido con azul de Commassie (50 µg de VT); b) Zimograma de veneno total. BTH: hialuronidasa testicular bovina (control positivo), VT: veneno total (la flecha indica la proteína con actividad), PM: ma.

Después de la obtención de la banda de 56kDa del gel nativo, se electroeluyó los fragmentos del gel con la proteína. En la Figura 6, se muestra un zimograma en condiciones no desnaturalizantes, donde se visualizó una banda de 56 kDa con actividad hialuronidasa como control de que se tenía soló la banda de interés. Después de la electroelución para recuperar la proteína, se analizó por HPLC-fase reversa y se mandó secuenciar por degradación de Edman en el IBT-UNAM, para la obtención de la secuencia del extremo amino-terminal.

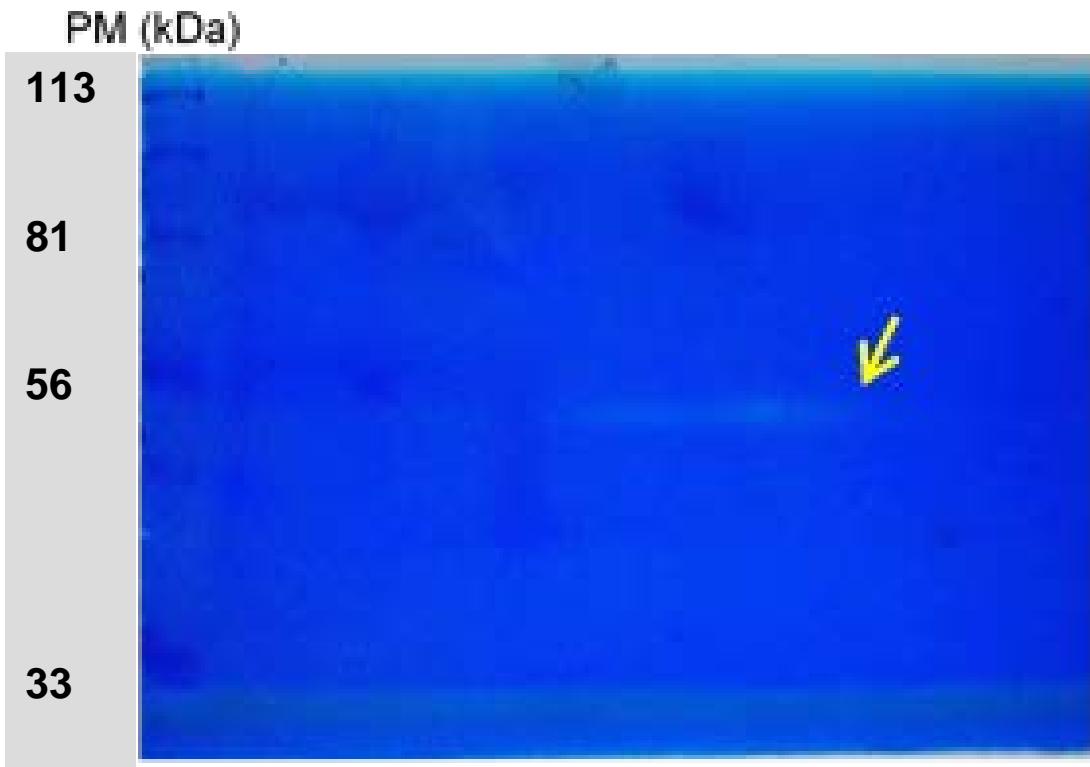


Figura 6. Zimograma de actividad. la flecha indica la zona de actividad gel al 12%de acrilamida, polimerizado con ácido hialurónico (0.2mg/ml), tinción: Stain all.

9.4. ELUCIDACIÓN DEL EXTREMO NH₂-TERMINAL

Con 60 pmol de la hialuronidasa de 56 kDa del veneno total de *S. viridis* Say, se mandó a secuenciar por la técnica de degradación de Edman en el IBT-UNAM. Se conoció parte de la secuencia del extremo NH₂-terminal de la proteína y se logró obtener la identidad de 25 residuos de aminoácidos del extremo NH₂-terminal (**TAHLSVIAPNGDAVVXTSTINYXFG**). Se realizó un estudio bioinformático en la página del NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), con un Blast-tp.

Este análisis mostró un sitio conservado con artrópodos, asociado a una proenzima glutatión hidrolasa 1 y una gamma-glutamiltranspeptidasa, presentando entre todas las secuencias de este dominio conservado, con una cobertura del 88% con *Drosophila grimshawi* (1 de las 12 especie de la mosca de la fruta) y 2 con un 84% de cobertura con *Centruroides sculpturatus* (escorpión de corteza). También presentó una homología que va del 86% *Drosophila grimshawi* a 70% *C. sculpturatus* de identidad. Sin embargo, se sabe que tiene actividad hialuronidasa por la

degradación del ácido hialurónico que presentó en los geles de actividad. Además, que al pasar la muestra después de la electroelución por HPLC se aseguró de conocer el tiempo de retención de esta hialuronidasa ya reportado anteriormente por Ibarra, 2011; siendo la proteína de interés que se envió a secuenciar.

9.5. ANÁLISIS DE CLONAS OBTENIDAS DE UNA BIBLIOTECA DE cDNA DE LAS GLÁNDULAS VENENOSAS en *Scolopendra viridis* Say

Después de obtener las ligaciones de una biblioteca realizada por Ibarra, 2016 (comunicación personal), se hizo una transformación bacteriana en células bacterianas de *E. coli* DH5 α quimiocompetentes, se obtuvieron 22 clonas con DNA plasmídico aisladas en una caja petri con medio LB+Amp Figura 7. El cDNA proviene de las glándulas venenosas de *Scolopendra viridis* Say. Se realizó una extracción del plásmido por lisis alcalina.



Figura 7. Caja Petri con medio LB+AMP con las clonas aisladas. con la técnica de picar colonias para tener las clonas con plásmido, la línea negra es para observar la orientación de la caja y como empieza la numeración de cada una de las clonas.

9.5.1. Visualización, digestión y obtención de fragmentos

Una vez purificado el plásmido de las distintas clonas se corrió un gel de agarosa de los plásmidos sin digerir y digeridos con las enzimas de restricción XhoI y NcoI (ver Figura 8). De las 22 clonas obtenidas en caja petri, sólo 19 clonas que contenían fragmento se enviaron a secuenciar. Estas fueron p1,p2, p3, p4, p5, p6, p7, p8, p10, p11, p12, p14, p15, p16, p17, p18, p19, p20, p21 y p22. El p1 fue uno de los controles del pJET 1.2 con un fragmento de PCR del KIT, estos resultados se encuentran en **ANEXOS**.

Después de la lisis se preparó un gel para la visualización del plásmido y se determinó la concentración mediante la cuantificación en nanodrop, para ver la pureza del DNA plasmídico. Figura 8 (A), se observa la preparación de plásmido de la lisis con KIT Zymoclean, y la Figura 8 (B) una digestión con las enzimas NcoI y XhoI del plásmido p3 a concentraciones de 1 μ l y 3 μ l; además, de un control positivo con un fragmento del kit de CloneJET.

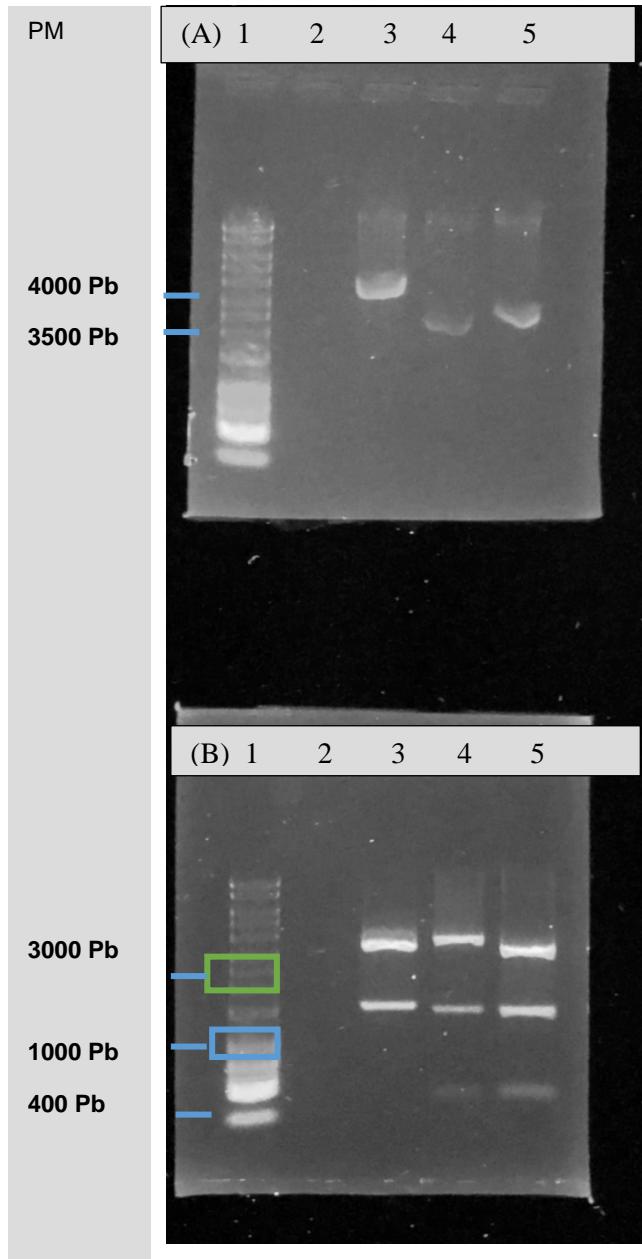


Figura 8 (A). plásmido sin digerir

Figura 8 (B). plásmido digerido. El plásmido se encuentra en la parte superior y el inserto se observa en la parte inferior.

Se realizaron digestiones con las enzimas XhoI y NcoI, estos sitios estan presentes el plásmido pJET 1.2.; después de la digestión y visualización, se preparó cada plásmido para ser secuenciado. Los fragmentos obtenidos de cada plásmido fueron de diferente tamaño, por lo que se obtuvieron diferentes digestiones de esas 22 clonas y se secuenciaron 19 de los 22 plásmidos.

En la Tabla 4 **ANEXO D**. Se indican los tamaños de los distintos fragmentos detectados.

9.5.6. Secuenciación de clonas

Se obtuvo las secuencias de los plásmidos p1, p2, p3, p4, , p6, p7, p8, p10, p11, p12, p14, p15, p16 p17, p18, p19, p20, p21 y p22 siendo las clonas p1,p3, p4, p6, p7, p10, p17 y p22. En la tabla del **ANEXO D** se indica el nombre de la clona, número del plásmido, los fragmentos y tamaño aproximado.

Se emplearon los programas Blast-nt y ORF finder para definir que posibles proteínas o péptidos estaban en los fragmentos clonados (ver Tabla 5 **ANEXO D**). La mayoría de las clonas no presentó fragmento, pero 3 clonas si presentaron 10-20 codones diferentes al plásmido.

La evidencia de los geles demuestra que existe un fragmento liberado y el plásmido linearizado que corresponde al tamaño del plásmido pJET 1.2, lo que hace necesario volver a secuenciar esas clonas.

En la secuenciación solo tres de las muestras mostraron un fragmento pequeño diferente a la secuencia del plásmido, por medio del programa Snap gene y las muestras p5, p7 y p18 con 10-20 bases diferentes. La secuencia control del plásmido+PCR del KIT ClonJet, que se envió a secuenciar si fue identificado, y se observa el fragmento liberado en el gel.

9.6.6.1. Estudio bioinformático de las secuencias obtenidas de la biblioteca de cDNA y la secuencia de 25 aminoácidos elucidada a partir de la proteína con actividad hialuronidasa de 56 kDa

Ninguna de las secuencias obtenidas de la ligaciones tiene relación con la secuencia del amino-terminal elucidado en este trabajo. Se hace necesario tener realmente un mayor número de clonas en la biblioteca de cDNA.

9.7. USO PREFERENCIAL DE CODONES EN LA BIBLIOTECA cDNA DE *Scolopendra viridis* Say

Se realizó un análisis de las secuencias nucleotídicas de las proteínas reportadas para el género *Scolopendridae* en la base datos del NCBI. Que se utilizó como herramienta para crear oligos degenerados, mediante el conocimiento del uso de codones frecuentes en las secuencias reportadas para escolopendra.

En esta búsqueda se encontraron 24 secuencias de proteínas en las que se conoce sus nucleótidos para la clase Chilopoda. De estas secuencias 20 fueron citocromo C y las otras 4 proteínas diferentes son PPO gen (1 y 2), TEP-4 y la fosfolipasa A2 (PLA2 de *S. polymorpha*); de esta proteína se conoce la secuencia nucleotídica.

La proteína de PLA2 fue caracterizada en nuestro grupo de trabajo; y se usó para la búsqueda de las otras 24 secuencias, mediante el programa Blast-nt (nucleótido-nucleótido) de la base de datos del NCBI, estos datos se encuentran descritos y desglosados en **ANEXOS (A-C)**.

Se realizó el estudio por especie con el uso preferencial de codones para cada una de las 24 secuencias obtenidas. En los **ANEXOS (A-C)** se muestra el uso preferencial con respecto al código genético universal. Se puede observar en la tabla por especies el uso preferencial de codones, número de secuencia y aminoácidos que están colocados de mayor a menor valor con respecto a los resultados que se observan en el **ANEXO A**. Gracias a este estudio se hizo la propuesta de primers y se propone el código genético para escolopendra que se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1. A) Código genético universal y B) Código genético propuesto para escolopendras.

A) Código genético

		2nd					
		U	C	A	G		
1st	U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA Paro UAG Paro	UGU Cys UGC Cys UGA Paro UGG Trp	U	C
	C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU Hys CAC Hys CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg	U	C
	A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile AUG Met(Inicio)	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg	U	C
	G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	U	C
						U	C

B) Código genético con el uso preferencial de codones para escolopendras

		2nd					
		U	C	A	G		
1st	U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA Paro UAG Paro	UGU Cys UGC Cys UGG Trp	U	C
	C		CCU Pro CCC Pro CCA Pro	CAU Hys CAC Hys CAA Gln	CGA Arg	U	C
	A	AUU Ile AUG Met(Inicio)	ACU Thr ACC Thr ACA Thr	AAU Asn AAA Lys	AGU Ser AGA Arg AGG Arg	U	C
	G	GUU Val GUA Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala	GAU Asp GAA Glu	GGC Gly GGA Gly	U	C
						U	C

*En amarillo se localizan los codones que presentan un sólo tipo de código

*En verde se localiza la metionina y triptófano que presentan un solo uso de codón

*En azul están resaltados los codones que representan las diferentes variantes que pueden ser utilizadas para el uso preferencial de codones.

Propuesta de oligonucleótidos para la localización del gen de la hialuronidasa de 56kDa en *S. viridis* Say. Esta propuesta consiste en la utilización del código genético que se observa en la Tabla 1 (B), y que tuvo las siguientes variantes como probables primers en la búsqueda de la hialuronidasa de 56kDa, como se muestra en la Figura 9.

	T	A	H	L	S	V	I	A	P	N	G	D	A	V	V	X	T	S	T	I	N	Y	X	F	G
1.	-	U	-	U	C	AGU	U	-	U	-	C	-	U	U	U	U	C	UAGU	-	U	-	C	C	C	C
2.	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	
3.	-	C	-	-	-	U	-	C	-	C	-	-	-	-	-	-	C	U	C	-	-	-	-	-	
4.	ACAGCACAUUA	U	C	AGU	AAU	U	G	CAC	AAA	U	GG	A	G	A	G	U	G	A	U	C	A	U	U	U	U
5.	ACAGCACAUUA	U	G	AGU	AAU	U	G	CAC	AAA	U	GG	A	G	A	G	U	G	A	U	C	A	U	U	U	U
6.	U	U	C	UCA	U	U	U	U	C	U	U	U	C	UUCA	U	-	-	-	C	C	C	C	C	C	
7.	C	C	U	-	-	C	C	-	-	C	-	-	-	-	-	-	C	U	C	-	-	-	-	-	
8.	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	

Figura 9. Propuesta de primers basado en el código genético en escolopendra. En negro se observa la secuencia de 25aa del extremo NH₂-terminal. En líneas azules se propone el uso preferencial de codones en escolopendra, en líneas rojas y amarillas las variantes conform a los codones que están presentes o más selectivos, en amarillo se marca el codón diferente y en gris las letras que cambian en su último nucleótido.

En la parte superior se observa los 25 aminoácidos que se elucidaron del extremo NH₂-terminal, y debajo de la secuencia en aminoácidos se encuentra el uso preferencial de codones en escolopendra, en las líneas azules se propone el uso preferencial de codones y en las líneas rojas y amarillas la disposición de su uso preferencial; tomando cuenta, las tres letras que codifican para los aminoácidos, siendo en algunas hasta tres variantes y para serina el cambio en los 3 nucleótidos, para una variante que esta marcada en color amarillo que se traducen en aminoácidos, esto se propone para la creación de un oligo que nos ayude a localizar o identificar al gen de interés.

10. DISCUSIÓN

Los venenos de diversos organismos tienen importancia en el área biotecnológica, debido a que contiene diversos componentes, como: aminas biogénicas, péptidos, proteínas, con actividades biológicas distintas. Algunas de estas proteínas son tóxicas y dañan a los tejidos, otras funcionan como inductores, causando la destrucción de tejidos, como las metaloproteasas y hialuronidasas (Acosta y Cazorla, 2004; Nagaraju et, al., 2007; Fernandes-Pedrosa et, al., 2013).

Las hialuronidasas tienen aplicaciones médicas, como coadyuvantes en algunos fármacos, así como en tratamientos cosméticos. Estas enzimas ayudan en el transporte y llegada al sitio blanco del fármaco, degradando el ácido hialurónico, como ya se mencionó en antecedentes

En el metabolismo del AH participan dos tipos de enzimas; las hialuronidasas (HYAL), que se encargan de su degradación y las hialuronano sintetas (HAS), encargadas de su síntesis. En la Figura 10, se muestra la hialuronidasa de obtenida del humor vítreo bovino, en la que se observa el dominio C-terminal y el sitio catalítico de la enzima, en el que el residuo Glu131 participa (Stern y Jedrzejas, 2006).

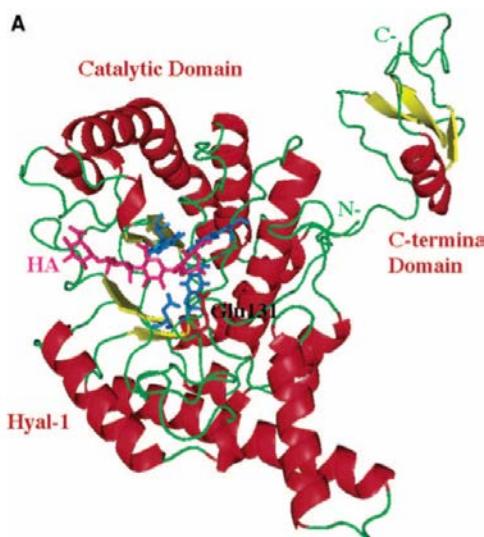


Figura 10. Estructura de la hialuronidasa de BVH. (Humor vítreo de bovino) se resaltan el dominio C-terminal y de la interacción con el residuo Glu131 donde lleva la actividad catalítica de la degradación del AH (tomada de Stern y Jedrzejas, 2006).

En estudios realizados en nuestro grupo de trabajo se han encontrado en los venenos de *S. polymorpha* y *S. viridis* Say al menos 11 proteínas con actividad de hialuronidasa, con pesos moleculares desde 8 a 166 kDa. Mena (2016) purificó y secuenció parcialmente una hialuronidasa de 46kDa del veneno de *S. polymorpha* a partir de un BLAST se observó que las secuencias (9 fragmentos) de *novo* de la proteína con aparente actividad hialuronidasa no presenta identidad con alguna secuencia hasta el momento reportada para hialuronidas.

Por otro lado Ibarra (2011) encontró más de 5 proteínas con actividad hialuronidasa en el veneno de *S. viridis* Say, con pesos moleculares de entre 8 a 166 kDa. A partir de este veneno se purificaron y secuenciaron parcialmente dos hialuronidas de 10 y 40 kDa. Al realizar un BLAST con las secuencias obtenidas, se obtuvo el mismo resultado que con las secuencias de *S. polymorpha*. Este hecho, no es poco común para el genero *Scolopendra*, debido a que existen reportes que refieren que muchas de las proteínas con diferente actividad biológica presentes en el veneno de *Scolopendra subspinipes* y *Scolopendra polymorpha* no muestra similitud significativa con otras secuencias depositadas en las bases de datos públicas (Liu y col. 2000; González-Morales y col. 2014) aún cuando se actividad fue determinada experimentalmente. En el mismo sentido, Undheim y col. (2015), observaron que las proteínas contenidas en el veneno del ciempiés son muy diversas, respecto a 61 familias de péptidos y proteínas de venenos filogenéticamente diferentes, sin tener similitud con cualquier otra proteína caracterizada.

La obtención de cantidades suficientes de hialuronidas provenientes de venenos de diferentes organismos es necesaria para poder caracterizarlas y evaluar su potencial farmacológico; la principal limitante para realizar estudios más completos es la poca disponibilidad de estos compuestos en los venenos. Por lo que la expresión heteróloga de los mismos, es una opción que nos permitirá la obtención de una mayor cantidad del compuesto de interés. Para ello es importante conocer y localizar el gen de la proteína a estudiar.

En nuestro grupo de trabajo se han seguido diferentes estrategias para localizar los genes que codifican para las hialuronidas en escolopendras:

Inicialmente se intentó encontrar un gen de la hialuronidasa a partir de un banco de un estudio bioinformático. Este estudio se realizó con un banco de cDNA de tamaños pequeños (1200pb a 400pb) previamente obtenido de las glándulas venenosas de *S. viridis* Say. Sin embargo, debido a que no existen aún secuencias reportadas en los bancos de datos de genomas para hialuronidas en venenos de escolopendras no fue posible su localización (Ibarra, comunicación personal).

Como segunda estrategia, se optó por sintetizar un oligo, a partir de un fragmento de la proteína de 40kDa previamente secuenciada por Ibarra (2016). Sin embargo, no se logró localizar en el banco de cDNA alguna de estas secuencias (Ibarra, comunicación personal).

Algunos autores mencionan que para localizar el gen de interés en una biblioteca de cDNA es necesario conocer la secuencia del extremo NH₂-terminal de la proteína o toxina. Por lo que en este trabajo se decidió buscar el gen a partir de la secuencia del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56kDa. Cabe mencionar que esta proteína, aunque no fue la más abundante, es la que presentó la mayor actividad. Huys y col. (2002), usaron esta técnica para localizar la toxina de un peso molecular de 4272 Da, que presenta actividad con la interacción de la subfamilia de canales de K⁺, de la que obtuvieron 37 residuos del extremo NH₂-terminal e hicieron un estudio bioinformático, observaron además, que presentaba identidad con una toxina ChTx y obteniendo, mediante expresión heteróloga la toxina funcional. Así mismo Moyre y col. (2006), localizaron el gen de una hialuronidasa de 52kDa, del veneno del escorpión *Palamneus gravimanus* a partir de su extremo NH₂-terminal.

Van de Velde y col. (2018), secuenciaron 37 residuos del extremo amino-terminal de una proteína con actividad metalohidrolasa en el veneno de *Bothrops alternus*; y mediante un estudio bioinformático observaron que presentaba actividad proteolítica en otras serpientes. La ventaja que existe en venenos de serpientes es que la información es abundante en bases de datos, facilitando la búsqueda de actividades similares o que presentan una fácil identificación; sin embargo, este enfoque presenta limitantes para organismos pocos estudiados como las escolopendras (con apenas 24 secuencias reportadas).

Para la hialuronidasa de 56kDa de *S.viridis* Say, logramos determinar la secuencia de los primeros 25 residuos de aminoácidos del extremo NH₂-terminal, cantidad suficiente de aminoácidos para diseñar un oligonucleótido en la búsqueda del gen de esta proteína. Sin embargo, como se mencionó en resultados no pudimos localizar el gen en el banco de cDNA previamente.

Existen algunas técnicas bioinformáticas usando el programa de secuenciación MinION propuesto por Hagreaves y Mulley (2015), este se encarga de la caracterización de las toxinas a partir de una base de datos ya existente. Sin embargo, como ya se ha mencionado, presenta limitantes con organismos pocos estudiados como las escolopendras; por lo que se propuso la disposición de codones que utilizan esta especie.

En nuestro caso hay pocas secuencias reportadas para proteínas de las cuales se conoce su secuencia nucleotídica en escolopendra con solo 24 secuencias de las cuales ninguna es de

hialuronidasa complicando la búsqueda del gen. En este trabajo se determinó el uso preferencial de codones en *Scolopendra* con base en secuencias disponibles de cDNA depositadas en bancos de datos. Lo anterior puede servir para el diseño de oligonucleótidos a ensayar para la identificación del gen en nuevas bibliotecas que se preparen en el futuro.

En este proyecto se trabajó con ligaciones de cDNA. Debido a que el número de clonas obtenidas era muy baja (23 clonas) se decidió analizar cada clona para determinar su tenía inserto con tamaños esperados de 1200pb y 400pb. El análisis de secuencias de las clonas con inserto no reveló secuencias relacionadas con hialuronidas. Con base a la secuencia del amino terminal de la hialuronidasa y al uso preferencial de codones se propone 8 posibles oligonucleótidos que podrían ser usados como sondas para identificar al perspectivo gen en la colección de clonas de cDNA de *S. viridis Say* cuando se prepare un banco de cDNA más representativo.

El principal problema al que nos enfrentamos, fue que en los geles de agarosa se visualizó un fragmento liberado de cada muestra entre los pesos moleculares ya mencionados y la secuencia del plásmido. Al revisar mediante estudios bioinformáticos las secuencias de las muestras la mayoría mostraban únicamente la secuencia del plásmido y en solo 3 muestras se observó de 10pb-20pb diferentes a la secuencia del plásmido, dejando en duda si existen fragmentos en las otras muestras. Por lo que se propone volver a mandar secuenciar las muestras para conocer la secuencia de los fragmentos que se visualizaron en los geles de agarosa.

A partir de las secuencias obtenidas de las muestras del cDNA y conociendo la secuencia del extremo-amino de la proteína de 56 kDa se pretendía, mediante un estudio bioinformático y buscar si entre las secuencias se localizaba la hialuronidasa o alguna identidad con otras proteínas o péptidos del cDNA proveniente de las glándulas venenosas de *S. viridis Say*, como lo hizo Gonzales-Morales y col. (2009) con la fosfolipasa PLA2, que se relacionó con el NH₂-terminal de *S. polymorpha* y genes asociados a otros organismos. Sin embargo, en este trabajo no tuvimos éxito. Se pensó que tal vez esta hialuronidasa de 56 kDa pudiera ser una proteína oligomérica Day (2001) y Stern y Jedrzejas (2006), proponen y mencionan que las hialuronidas sean proteínas ensambladas (oligomérica), se pensó que pudiese ser el caso de esta hialuronidasa de 56kDa de *S. viridis Say*, pero no lo fue.

Finalmente, se hizo un estudio bioinformático con los 25 aminoácidos obtenidos de la secuencia del extremo amino-terminal de la proteína de 56kDa, se realizó la búsqueda en bases de datos; que mostró identidad con las G-glutranspeptidasas de artrópodos, y tuvo mayor identidad con las γ-glutranspeptidasas y una proenzima hidrolasa como un dominio putativo conservado, estas enzimas se caracterizan por crear resistencia a antibióticos. Sin embargo, esta proteína presentó

actividad hialuronidasa en geles de actividad lo que nos demuestra que hace falta conocer los componentes del veneno de *S. viridis* Say, tanto bioquímica como genómicamente, para conocer más a estos organismos; y facilitar la obtención de proteínas específicas y su expresión heteróloga en la obtención de mayor compuesto para realizar más estudios y comprobar su potencial biotecnológico.

Este trabajo aporta una propuesta del uso preferencial de codones en escolopendras. Además de la elucidación de 25 residuos de aminoácidos de la secuencia del extremo amino-terminal de la hialuronidasa de 56kDa. También la propuesta de 8 variantes de primers para utilizarse en la búsqueda del gen de la proteína.

11. CONCLUSIONES

Se obtuvo el extremo NH₂-terminal de la proteína con actividad hialuronidasa de 56 kDa, que se realizó en el IBT-UNAM y se elucidaron 25 aminoácidos. Se hizo un estudio bioinformático en el que se corrió la secuencia del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56kDa *S. viridis* Say, que Arrojó una identidad del 86% a 70% con la superfamilia G_glu_transpeptidasas.

Se realizó un estudio bioinformático, para conocer el uso preferencial de codones en escolopendras y fueron 6 codones específicos siendo Asp, Gly, Ile, Lys, Asn y Glu.

No se logró la identificación del gen de la hialuronidasa de 56kDa *S. viridis* Say, en un cDNA proveniente de las glándulas venenosas de *S. viridis* Say. Sin embargo, se hace la propuesta de 8 variantes, como probables primers que pueden ser utilizados en estudios posteriores, para la identificación del gen de la hialuronidasa de 56kDa, usando los 25 aminoácidos elucidados.

12. PERSPECTIVAS

- * Realizar un banco de cDNA de las glándulas venenosas de *S. viridis* Say y utilizar los primers propuestos para su identificación del gen de la hialuronidasa de 56kDa.
- * Expresar el gen de la hialuronidasa de 56 kDa en *S. viridis* Say.
- * Hacer una expresión heteróloga de la proteína de 56kDa en *S. viridis* Say y observar si presenta actividad.

13. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, M., & Cazorla, D. (2004). Envenenamientos por escolopendras (*Scolopendra sp.*) en una población rural de la zona semiárida del estado Falcón, Venezuela. *Rev. Invest. Clín.*, 56(6), 712-717.
- Barnes, R. D. (1989). Zoología de los invertebrados. Tercera edición. Ed. Interamericana, México.
- Bhavya, J., Vineetha, M. S., Sundaram, P. M., Veena, S. M., Dhananjaya, B. L., & More, S. S. (2016). Low-molecular weight hyaluronidase from the venom of *Bungarus caeruleus* (Indian common krait) snake: Isolation and partial characterization. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 39(4), 203-208.
- Bush, S. P., King, B. O., Norris, R. L., & Stockwell, S. A. (2001). Centipede envenomation. *Wilderness & environmental medicine*, 12(2), 93-99.
- Chandramathi, S., Suresh, K. G., Mahmood, A. A., & Kuppusamy, U. R. (2010). Urinary hyaluronidase activity in rats infected with *Blastocystis hominis*—evidence for invasion?. *Parasitology research*, 106(6), 1459-1463.
- Chao, K. L., Muthukumar, L., & Herzberg, O. (2007). Structure of human hyaluronidase-1, a hyaluronan hydrolyzing enzyme involved in tumor growth and angiogenesis. *Biochemistry*, 46(23), 6911-6920.
- Chao, H., & Spicer, A. P. (2005). Natural antisense mRNAs to hyaluronan synthase 2 inhibit hyaluronan biosynthesis and cell proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, 280(30), 27513-27522.
- Clement, H., Barraza, G., Herrera, E., García, F., Diego-García, E., Villegas, E., & Corzo, G. (2016). Antimicrobial, Insecticides, Analgesics, and Hyaluronidases from the Venom Glands of Brachypelma Spiders. *Spider Venoms*, 345-360.
- Costa Neto, E. M. (2006). Centopeias (Arthropoda, Chilopoda) na concepção dos moradores do povoado de Pedra Branca, Bahia, Brasil. *Boletín de la SEA*, (39), 441-445.
- Cooper, A. M., Fox, G. A., Nelsen, D. R., & Hayes, W. K. (2014). Variation in venom yield and protein concentration of the centipedes *Scolopendra polymorpha* and *Scolopendra subspinipes*. *Toxicon*, 82, 30-51.
- Cupul Magaña, F.G.2010. El escolopendras: Un bicho que se parece al borde de un petate viejo. CONABIO. Biodiversitas, 88:8-11.

- Fernandes-Pedrosa, M. F., Félix-Silva, J., & Menezes, Y. A. (2013). Toxins from venomous animals: gene cloning, protein expression and biotechnological applications. *An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology: From Analytical Procedures to Biomedical Applications*, 23-71. DOI:10.5772/52380.
- Day, A. J. (2001). Understanding hyaluronan-protein interactions. *Glycoforum: Science of Hyaluronan Today*. <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA16/HA16E.html>, (2018).
- de Paula, F. F. P., Ribeiro, J. U., Santos, L. M., de Souza, D. H. F., Leonardecz, E., Henrique-Silva, F., & Selistre-de-Araújo, H. S. (2014). Molecular characterization of metalloproteases from Bothrops alternatus snake venom. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 12, 74-83.
- El-Safory, N. S., Fazary, A. E., & Lee, C. K. (2010). Hyaluronidases, a group of glycosidases: current and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 81(2), 165-181.
- González-Morales, L., Diego-García, E., Segovia, L., del Carmen Gutiérrez, M., & Possani, L. D. (2009). Venom from the centipede Scolopendra viridis Say: Purification, gene cloning and phylogenetic analysis of a phospholipase A2. *Toxicon*, 54(1), 8-15.
- García-Gómez, E., & González-Pedrajo, B. (2011). Transglicosilasas líticas asociadas a los sistemas de secreción en bacterias gram negativas. *Revista de Educación Bioquímica*, 30(2), 45-55.
- Gutierrez, C., & Possani, L. D. (2003). A toxic fraction from esculopendra venom increases the basal release of neurotransmitters in the ventral ganglia of crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(2), 205-214.
- González, L. (2010). Caracterización bioquímica y molecular de los componentes del veneno del esculopendras *Scolopendra viridis* Say. *Tesis de Doctorado*. (CEIB-UAEM).
- González-Morales, L., Pedraza-Escalona, M., Diego-García, E., Restano-Cassulini, R., Batista, C. V., del Carmen Gutiérrez, M., & Possani, L. D. (2014). Proteomic characterization of the venom and transcriptomic analysis of the venomous gland from the Mexican centipede Scolopendra viridis. *Journal of proteomics*, 111, 224-237.
- Hakim, M. A., Yang, S., & Lai, R. (2015). Centipede Venoms and Their Components: Resources for Potential Therapeutic Applications. *Toxins*, 7(11), 4832-4851.
- Hargreaves, A. D., & Mulley, J. F. (2015). Assessing the utility of the Oxford Nanopore MinION for snake venom gland cDNA sequencing. *PeerJ*, 3, e1441. <https://doi.org/10.7717/peerj.1441>.

- Henrissat, B., & Bairoch, A. (1996). Updating the sequence-based classification of glycosyl hydrolases. *Biochemical Journal*, 316(Pt 2), 695.
- Huys, I., Dyason, K., Waelkens, E., Verdonck, F., van Zyl, J., Plessis, J. D., ... & Tytgat, J. (2002). Purification, characterization and biosynthesis of parabutoxin 3, a component of *Parabuthus transvaalicus* venom. *The FEBS Journal*, 269(7), 1854-1865.
- Marković-Housley, Z., Miglierini, G., Soldatova, L., Rizkallah, P. J., Müller, U., & Schirmer, T. (2000). Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. *Structure*, 8(10), 1025-1035.
- Ibarra, E. Y. (2011). Identificación y caracterización de hialuronidasas presentes en el veneno de la *Scolopendra viridis* Say, 1821. *Tesis de Maestría*. (CEIB-UAEAM).
- Jarrar, B. M. (2010). Morphology, histology and histochemistry of the venom apparatus of the centipede, *Scolopendra valida* (Chilopoda, Scolopendridae). *International Journal of Morphology*, 28(1), 19-25.
- Kemparaju, K., & Girish, K. S. (2006). Snake venom hyaluronidase: a therapeutic target. *Cell biochemistry and function*, 24(1), 7-12.
- Kreil, G. (1995). Hyaluronidases. A group of neglected enzymes. *Protein Science*, 4(9), 1666-1669.
- Lenormand, H., Tranchepain, F., Deschrevel, B., & Vincent, J. C. (2009). The hyaluronan–protein complexes at low ionic strength: How the hyaluronidase activity is controlled by the bovine serum albumin. *Matrix Biology*, 28(6), 365-372.
- Liu, W., Luo, F., He, J., Cao, Z., & Miao, L. (2012). Molecular cloning and characterization of a new cDNA sequence encoding a venom peptide from the centipede *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Molecular Biology*, 46(4), 508-513.
- Lorenzano Menna, P., Cardama, G. A., Comin, M. J., Alonso, D. F., & Gómez, D. E. (2010). Rho GTPasas como blancos terapéuticos relevantes en cáncer y otras enfermedades humanas. *Medicina (Buenos Aires)*, 70(6), 555-564.
- Lorina, P. L., Lisanti, V. F., & Chauncey, H. H. (1954). The production of beta-glucuronidase and hyaluronidase by *Streptococcus mitis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 7(9), 998-1010.
- McClean, D. (1941). The cápsulation of streptococci and its relation to diffusion factor (hyaluronidase). *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 53(1), 13-27.
- Mena B. D. M. (2016). Caracterizacion de hilaluronidasas del veneno de *Scolopendra polymorpha*. *Tesis de Maestría*. (CEIB-UAEAM).

- Menzel, E. J., & Farr, C. (1998). Hyaluronidase and its substrate hyaluronan: biochemistry, biological activities and therapeutic uses. *Cancer letters*, 131(1), 3-11.
- Mohamed, A. H., Abu-Sinna, G., El-Shabaka, H. A., & El-Aal, A. A. (1983). Proteins, lipids, lipoproteins and some enzyme characterizations of the venom extract from the centipede *Scolopendra morsitans*. *Toxicon*, 21(3), 371-377.
- Morey, S. S., Kiran, K. M., & Gadag, J. R. (2006). Purification and properties of hyaluronidase from *Palamneus gravimanus* (Indian black scorpion) venom. *Toxicon*, 47(2), 188-195.
- Nadanaka, S., & Sugahara, K. (1997). The unusual tetrasaccharide sequence GlcA β -3GalNAc (4-sulfate)(β 1-4GlcA (2-sulfate) β 1-3GalNAc (6-sulfate) found in the hexasaccharides prepared by testicular hyaluronidase digestion of shark cartilage chondroitin sulfate D. *Glycobiology*, 7(2), 253-263.
- Nagaraju, S., Devaraja, S., & Kemparaju, K. (2007). Purification and properties of hyaluronidase from *Hippasa partita* (funnel web spider) venom gland extract. *Toxicon*, 50(3), 383-393.
- Nicholson, G. M. (2007). Insect-selective spider toxins targeting voltage-gated sodium channels. *Toxicon*, 49(4), 490-512.
- Paine, M. J. I., Desmond, H. P., Theakston, R. D. G., & Crampton, J. M. (1992). Gene expression in *Echis carinatus* (carpet viper) venom glands following milking. *Toxicon*, 30(4), 379-386.
- Abdel-Rahman, M. A., Quintero-Hernandez, V., & Possani, L. D. (2013). Venom proteomic and venomous glands transcriptomic analysis of the Egyptian scorpion *Scorpio maurus palmatus* (Arachnida: Scorpionidae). *Toxicon*, 74, 193-207.
- Rates, B., Bemquerer, M. P., Richardson, M., Borges, M. H., Morales, R. A., De Lima, M. E., & Pimenta, A. M. (2007). Venomic analyses of *Scolopendra viridicornis nigra* and *Scolopendra angulata* (Centipede, ScolopendromorphHa): shedding light on venoms from a neglected group. *Toxicon*, 49(6), 810-826.
- Siiskonen, H., Oikari, S., Pasonen-Seppänen, S., & Rilla, K. (2015). Hyaluronan synthase 1: a mysterious enzyme with unexpected functions. *Frontiers in immunology*, 6, 43. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00043>.
- Spicer, A. P., & McDonald, J. A. (1998). Characterization and molecular evolution of a vertebrate hyaluronan synthase gene family. *Journal of Biological Chemistry*, 273(4), 1923-1932.

- Spicer, A. P., & McDonald, J. A. (1998). Eukaryotic hyaluronan synthases. *Glycoforum: science of hyaluronan today*. <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA07/HA07E.html>.
- Stanier, R. Y. (1996). *Microbiología*. Edit. Reverté.
- Stern, R., & Jedrzejas, M. J. (2006). Hyaluronidases: their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chemical reviews*, 106(3), 818-839.
- Stern, R. (2008, August). Hyaluronidases in cancer biology. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 18, No. 4, pp. 275-280). Academic Press.
- Sugahara, K. N., Hirata, T., Murai, T., & Miyasaka, M. (2004). Hyaluronan oligosaccharides and tumor progression. *TRENDS IN GLYCOSCIENCE AND GLYCOTECHNOLOGY*, 16, 187-198.
- Thomas, R. G., Moon, M. J., Lee, H., Sasikala, A. R. K., Kim, C. S., Park, I. K., & Jeong, Y. Y. (2015). Hyaluronic acid conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticle for cancer diagnosis and hyperthermia therapy. *Carbohydrate polymers*, 131, 439-446.
- Undheim, E., Fry, B., & King, G. (2015). Centipede venom: recent discoveries and current state of knowledge. *Toxins*, 7(3), 679-704.
- Van de Velde, A. C., Gay, C. C., de Oliveira Moritz, M. N., dos Santos, P. K., Bustillo, S., Rodríguez, J. P., ... & Leiva, L. C. (2018). Purification of a fragment obtained by autolysis of a PIIIb-SVMP from Bothrops alternatus venom. *International journal of biological macromolecules*, 113, 205-211.
- Weigel, P. H. (2015). Hyaluronan synthase: the mechanism of initiation at the reducing end and a pendulum model for polysaccharide translocation to the cell exterior. *International journal of cell biology*, 2015.
- Wu, C. S., & Liao, H. T. (2005). A new biodegradable blends prepared from polylactide and hyaluronic acid. *Polymer*, 46(23), 10017-10026.
- Zhang, Y. (2015). Why do we study animal toxins?. Dong wu xue yan jiu, Zoological research/"Dong wu xue yan jiu" bian ji wei yuan hui bian ji, 36(4), 183-222.
- <http://www.bioscripts.net/zoo/wiki/temas/24B.html>
- <https://kidshealth.org/es/parents/test-ggt-esp.html>

11. ANEXOS

11.1. ANEXO A

Tabla 1. Propiedades bioquímicas de las hialuronidasas

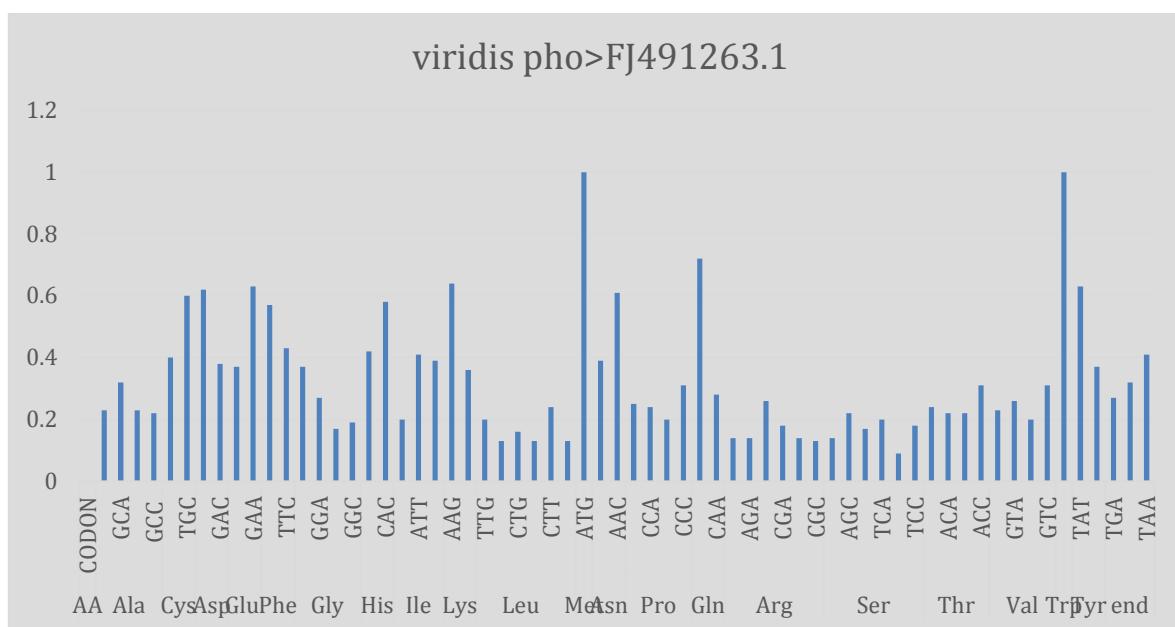
Veneno	PM (kDa)	pI	pH óptimo	Temperatura óptima (°C)
<i>A. acutus</i>	33	10.3	5	37
<i>A. contortrix</i>	59.2	9	6	37
<i>N. naja (dos isoformas)</i>	70.4	9.2	5	37
	52	9.7	5	37
<i>H. fulvipes</i>	82	ND	4	30
<i>T. serrulatus</i>	51	ND	6	40
<i>A. mellifera</i>	41	9	6	37
<i>S. horrida</i>	62	9.2	6	37
<i>H. horridum horridum</i>	63	5.1	5	Sensible
<i>L. oblique (dos isoformas)</i>	49	ND	6 a 7	37
	53	ND	6 a 7	37
<i>L. reclusa (dos isoformas)</i>	33	ND	5 a 6.6	37
	63	ND	5 a 6.6	37

Tomada y modificada de Kemparaju y Girish, 2008

11.2. ANEXO B

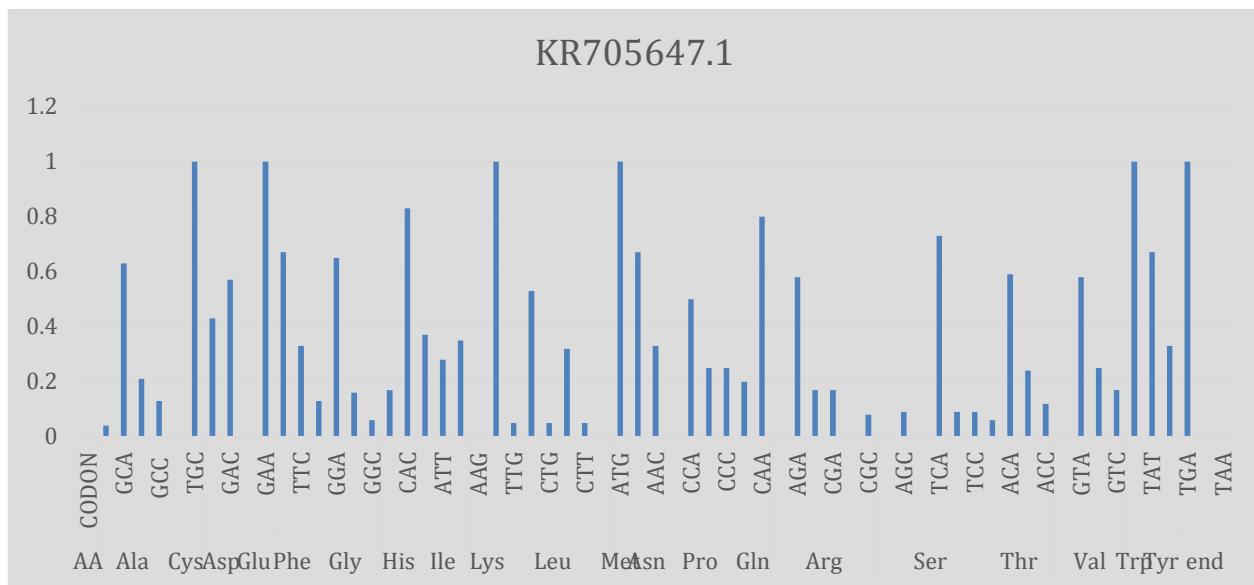
Secuencias, análisis de uso preferencial de codones y gráficas de escolopendra.

- >FJ491263.1 Scolopendra viridis phospholipase Scol/Pla precursor (Pla) mRNA, complete cds



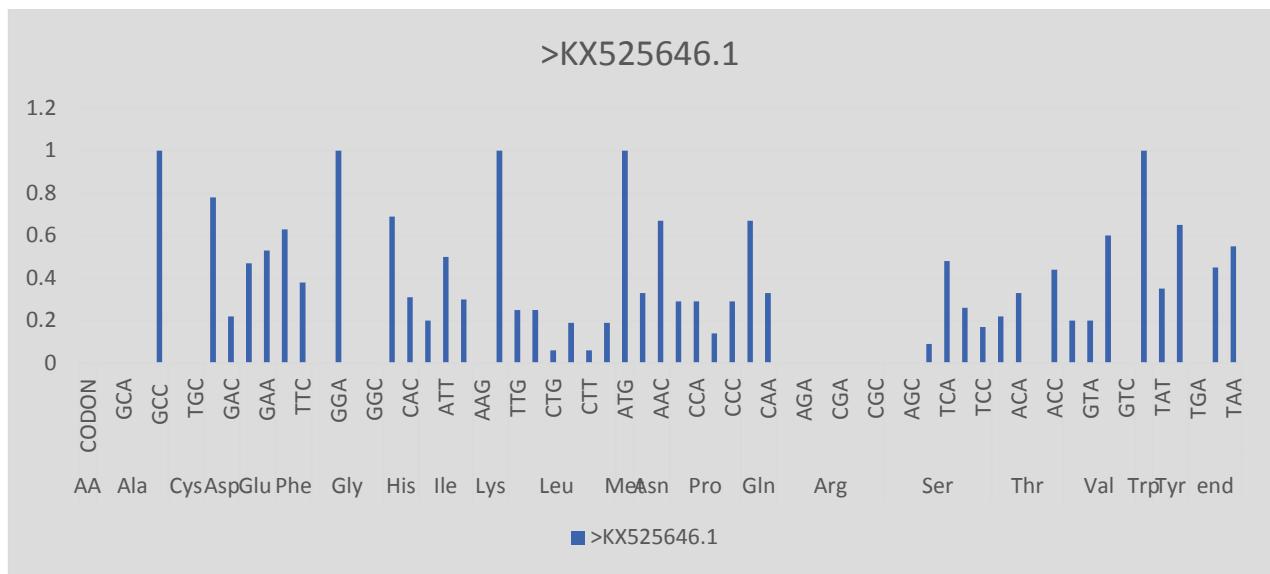
Gráfica 1. Uso preferencial de codones para *Scolopendra viridis* Say

>KR705647.1 Scolopendra pinguis voucher CUMZ 00305 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial



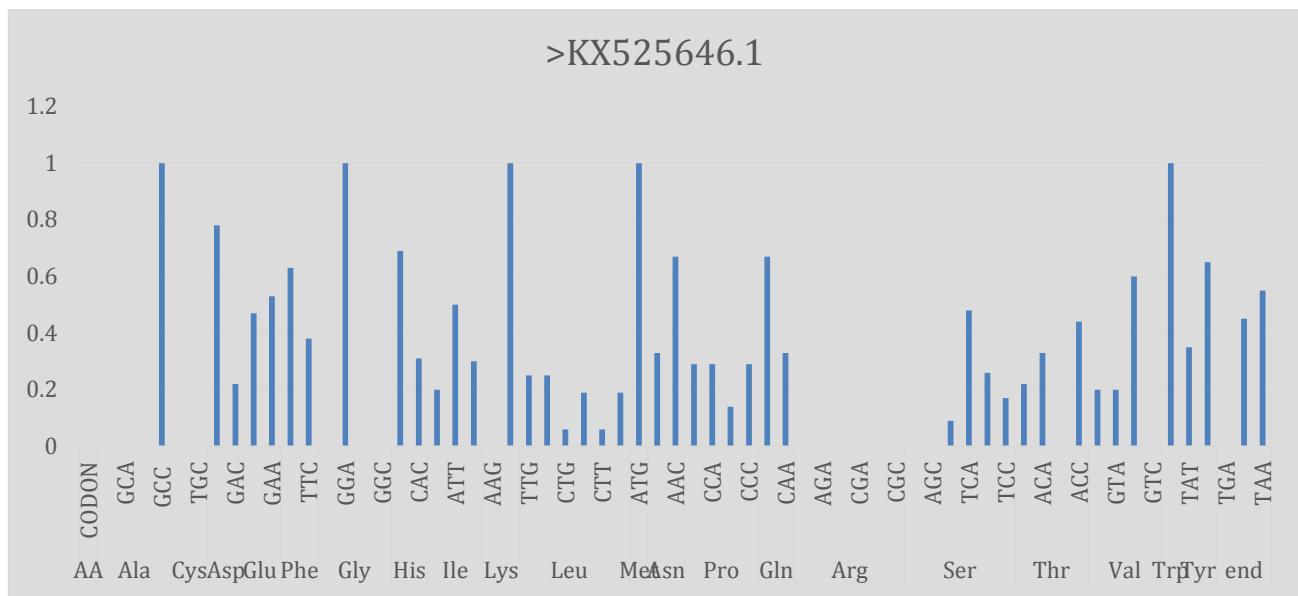
Gráfica 2. Uso preferencial de codones para *Scolopendra pinguis*

- >KF676538.1 Akymnopellis chilensis voucher AMNH LP, IZ-130824 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



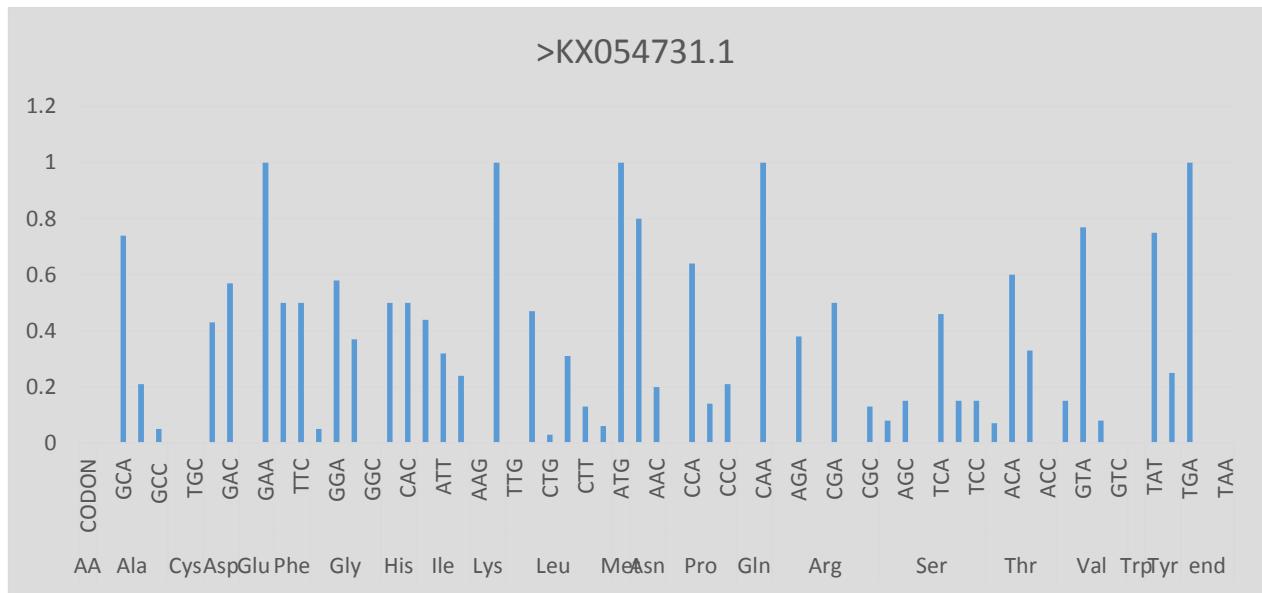
Gráfica 3. Uso preferencial de codones para *Akymnopellis chilensis*

>KX525646.1 Scolopendra negrocapitis isolate SZ22-2 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



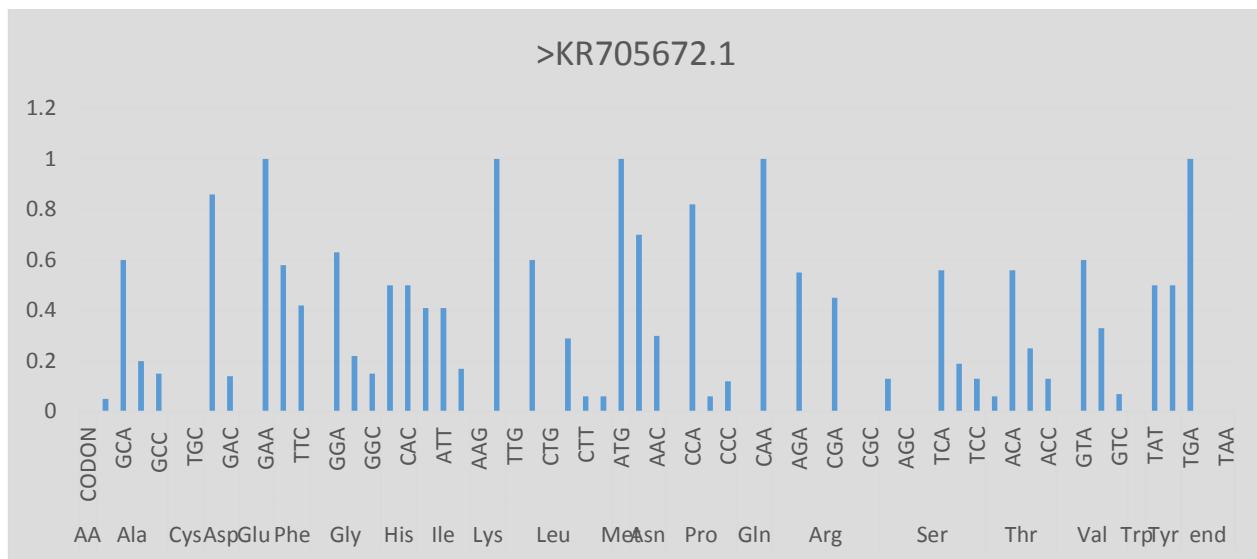
Gráfica 4. Uso preferencial de codones para *Scolopendra negrocapitis*

- >KX054731.1 Scolopendra subspinipes voucher sc_00680 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial



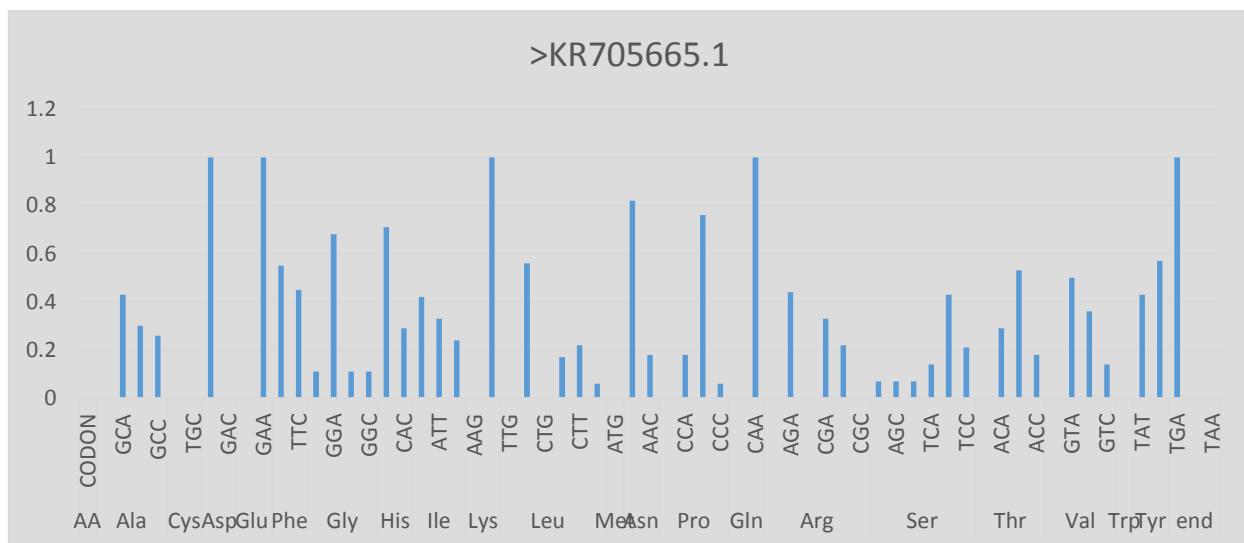
Gráfica 5. Uso preferencial de codones para *Scolopendra subspinipes*

- >KR705672.1 Scolopendra sp. CUMZ 00316 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial



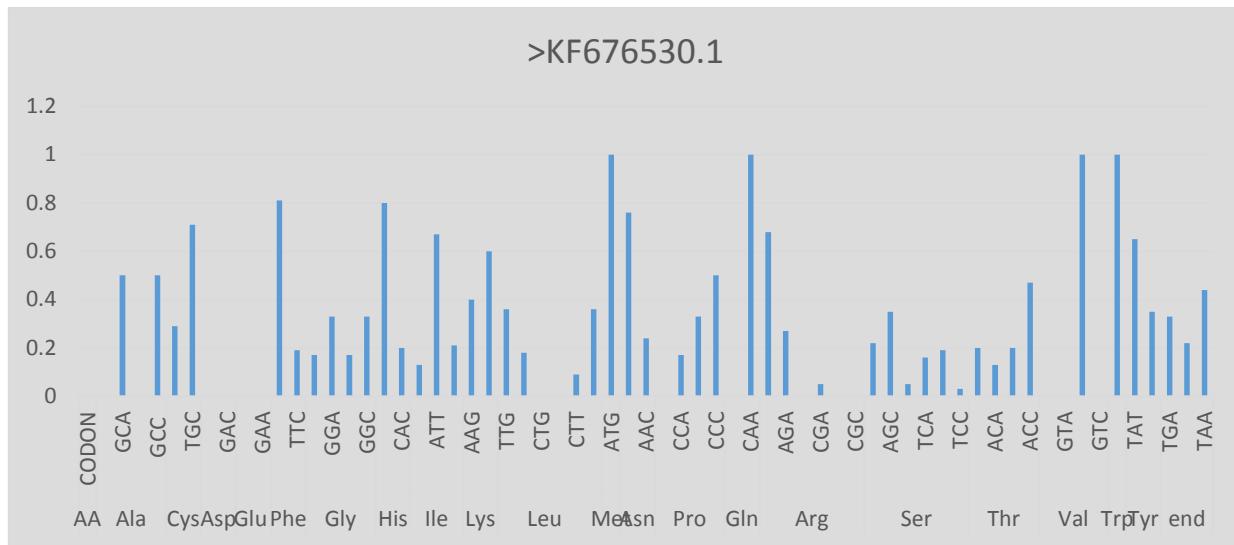
Gráfica 6. Uso preferencial de codones para *Scolopendra* sp.

- >KR705665.1 Scolopendra morsitans voucher CUMZ 00343 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial



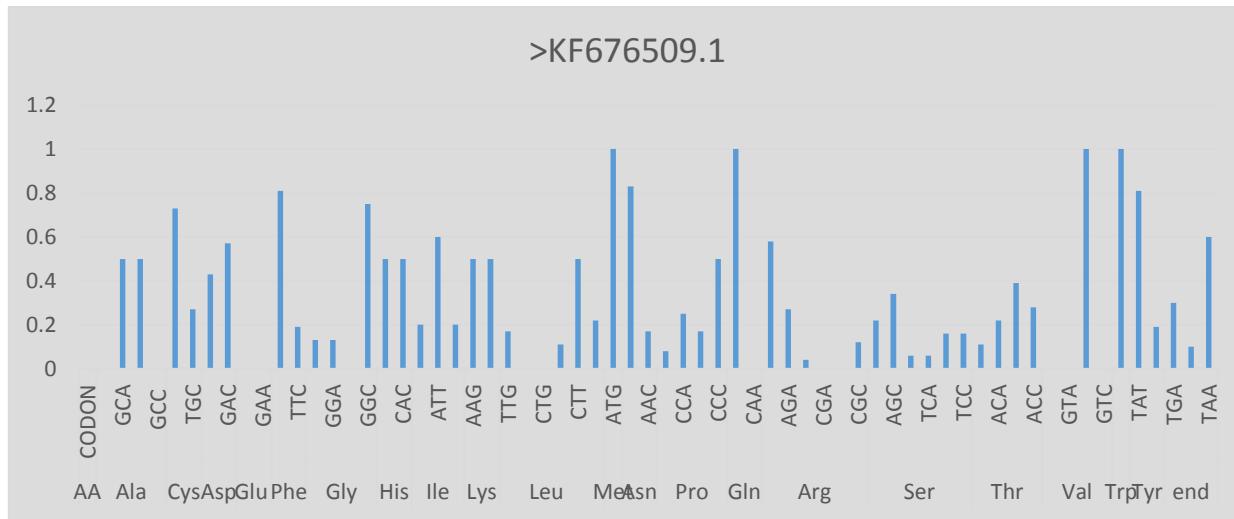
Gráfica 7. Uso preferencial de codones para *Scolopendra morsitans*

- >KF676530.1 *Cormocephalus bonaerius* voucher IZ-130629 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



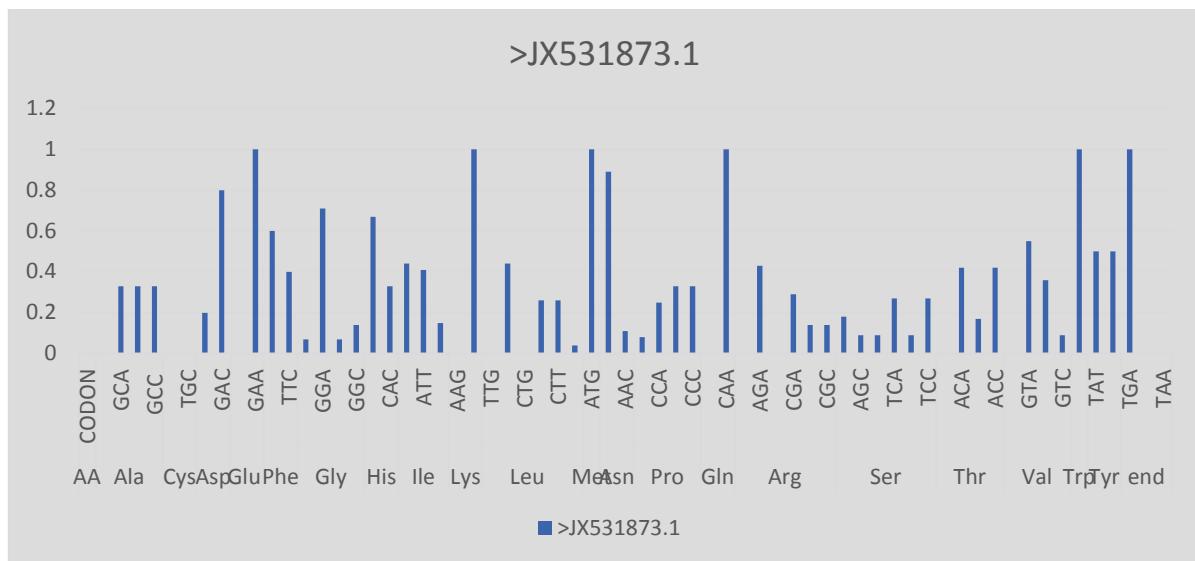
Gráfica 8. Uso preferencial de codones para *Cormocephalus bonaerius*

- >KF676509.1 *Otostigmus angusticeps* voucher IZ-130684 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



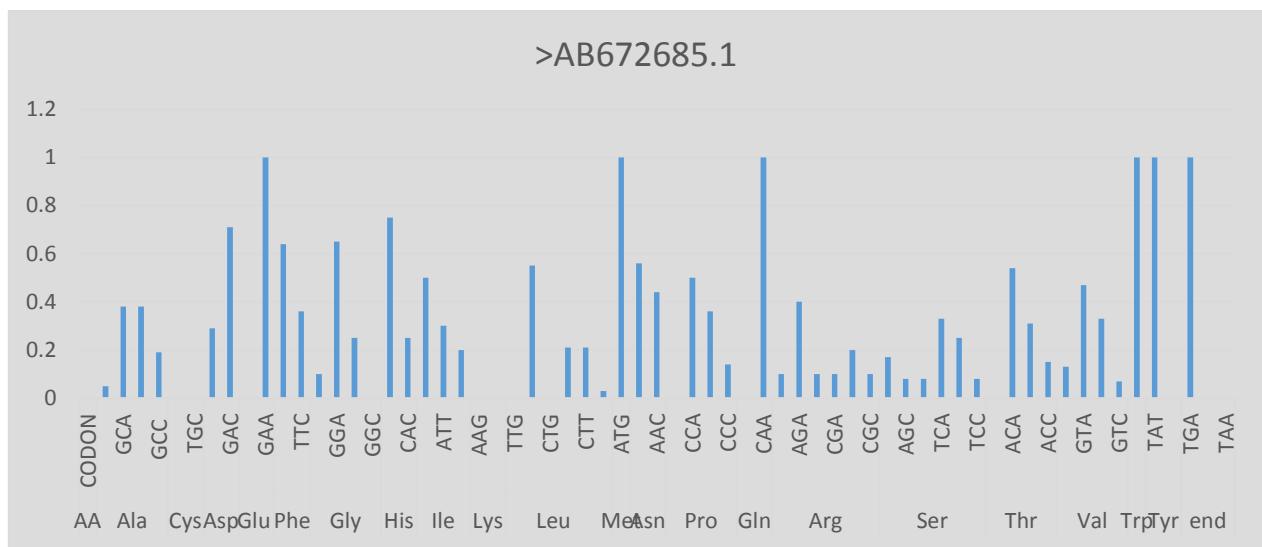
Gráfica 9. Uso preferencial de codones para *Otostigmus angusticeps*

- >JX531873.1 *Digitipes* sp. 9 JJ-2012 isolate CES091048 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



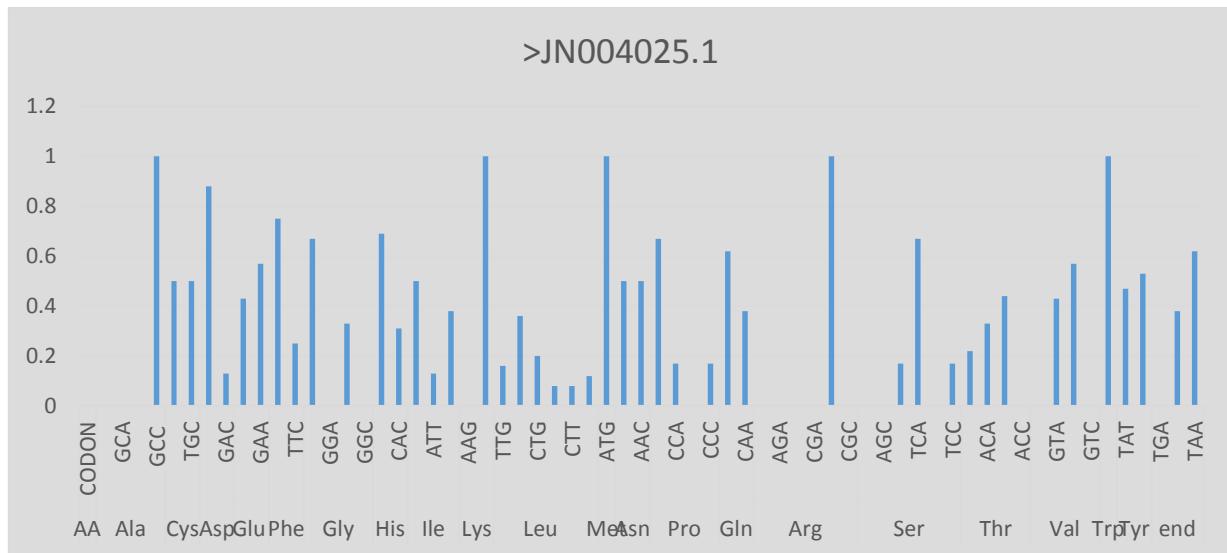
Gráfica 10. Uso preferencial de codones para *Digitipes* sp.

- >AB672685.1 *Otostigmus aculeatus* mitochondrial coi gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds, specimen_voucher: SYSU:Chilo-132



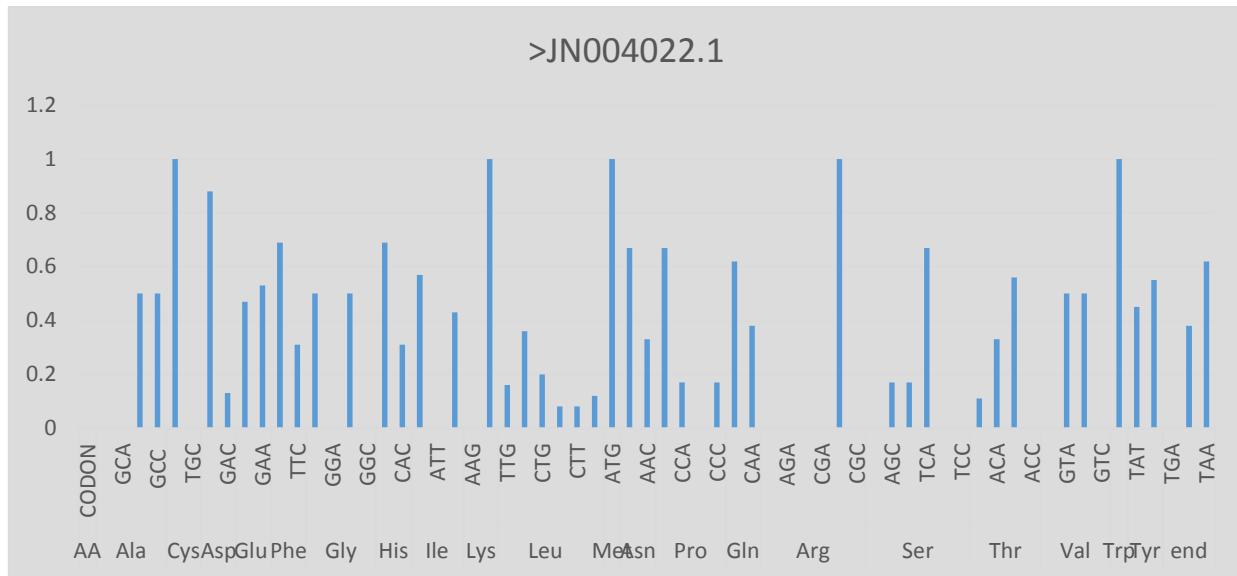
Gráfica 11. Uso preferencial de codones para *Otostigmus aculeatus*

- >JN004025.1 Rhysida longipes isolate CES07262 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



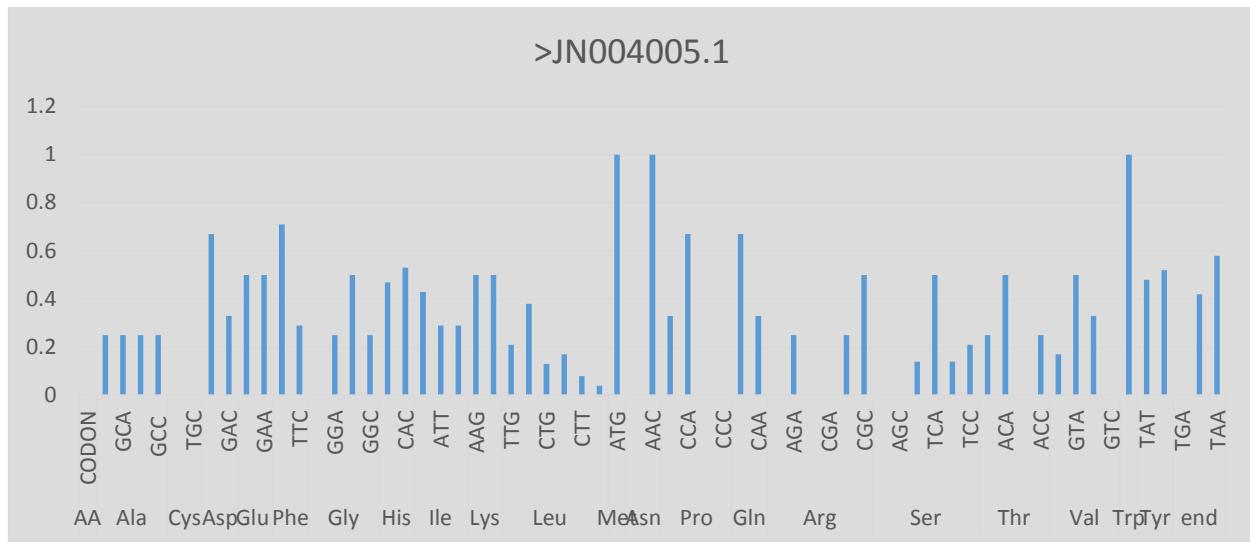
Gráfica 12. Uso preferencial de codones para *Rhysida longipes*

- >JN004022.1 Rhysida cf. immarginata JJ-2011 isolate CES07202 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



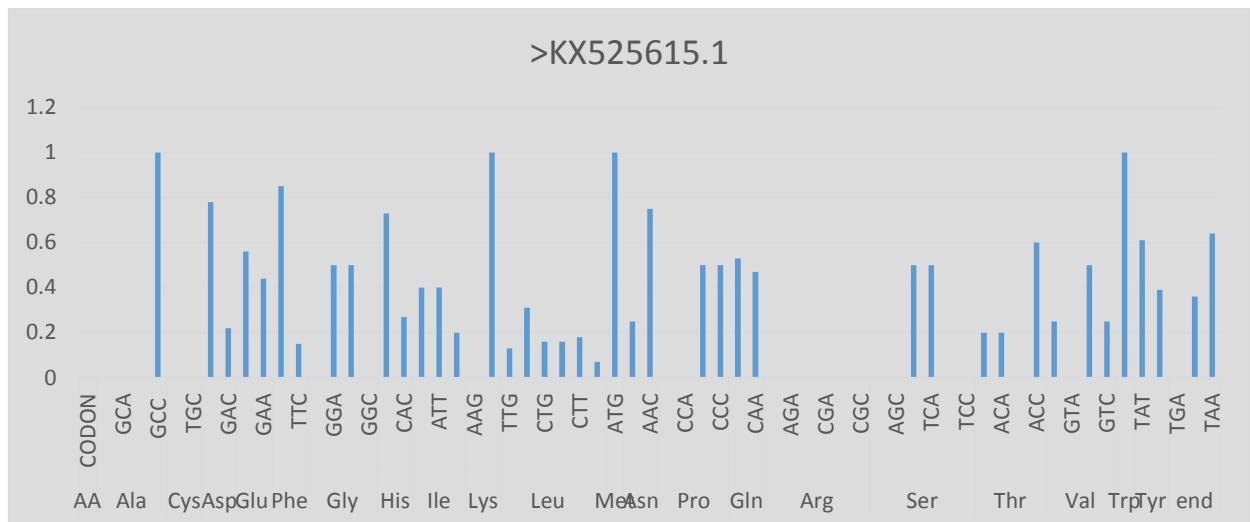
Gráfica 13. Uso preferencial de codones para *Rhysida cf. Immarginata*

- >JN004005.1 *Cormocephalus nudipes* isolate CES07265 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



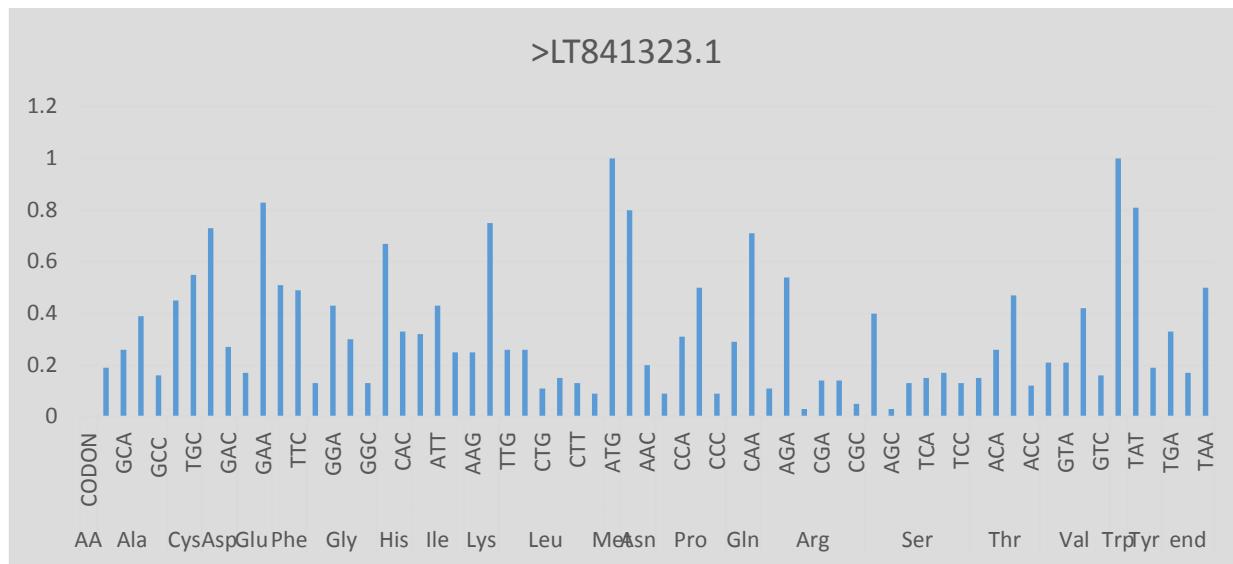
Gráfica 14. Uso preferencial de codones para *Cormocephalus nudipes*

- >KX525615.1 *Scolopendra mutilans* isolate HZ26-1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



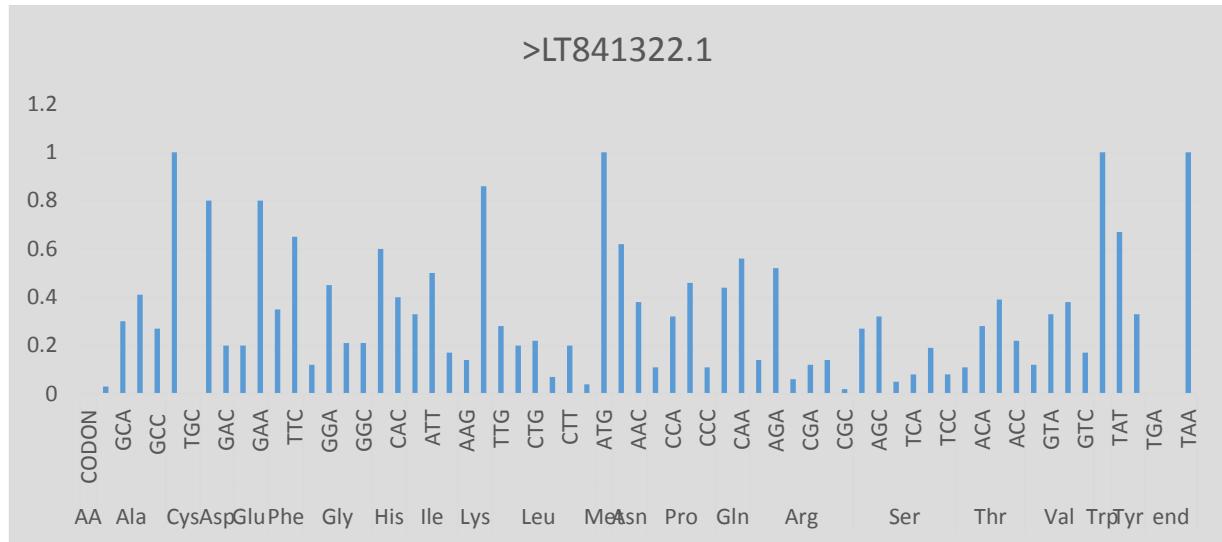
Gráfica 15. Uso preferencial de codones para *Scolopendra mutilans*

- >LT841323.1 *Scolopendra subspinipes dehaani* mRNA for PPO2 (prophenoloxidase 2 gene)



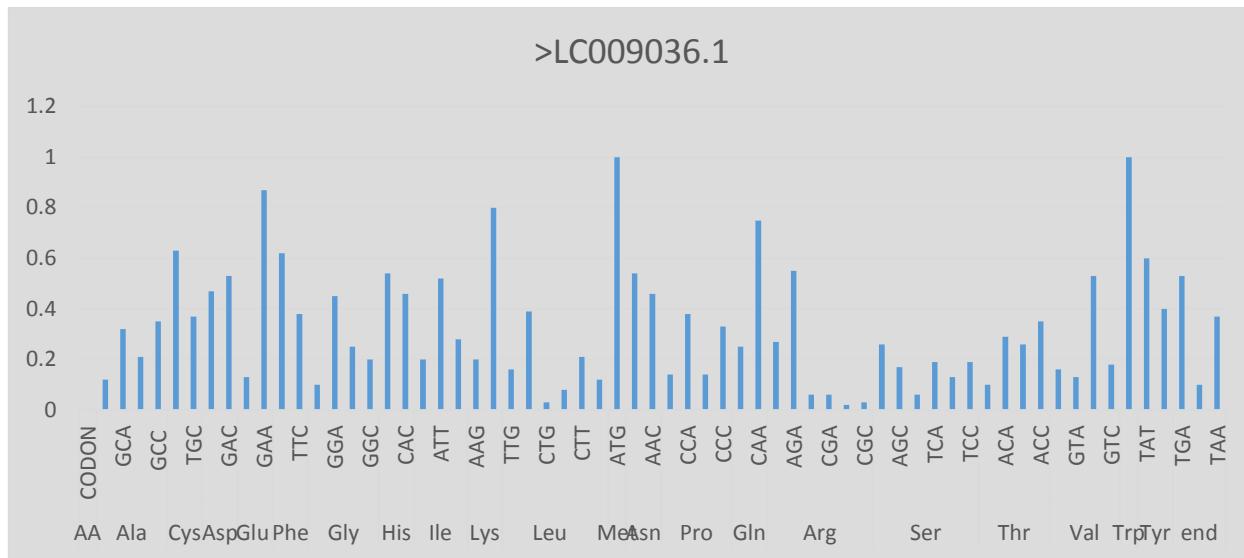
Gráfica 16. Uso preferencial de codones para *Scolopendra subspinipes dehaani*

- >LT841322.1 *Scolopendra subspinipes dehaani* mRNA for PPO1 (prophenoloxidase 1 gene)



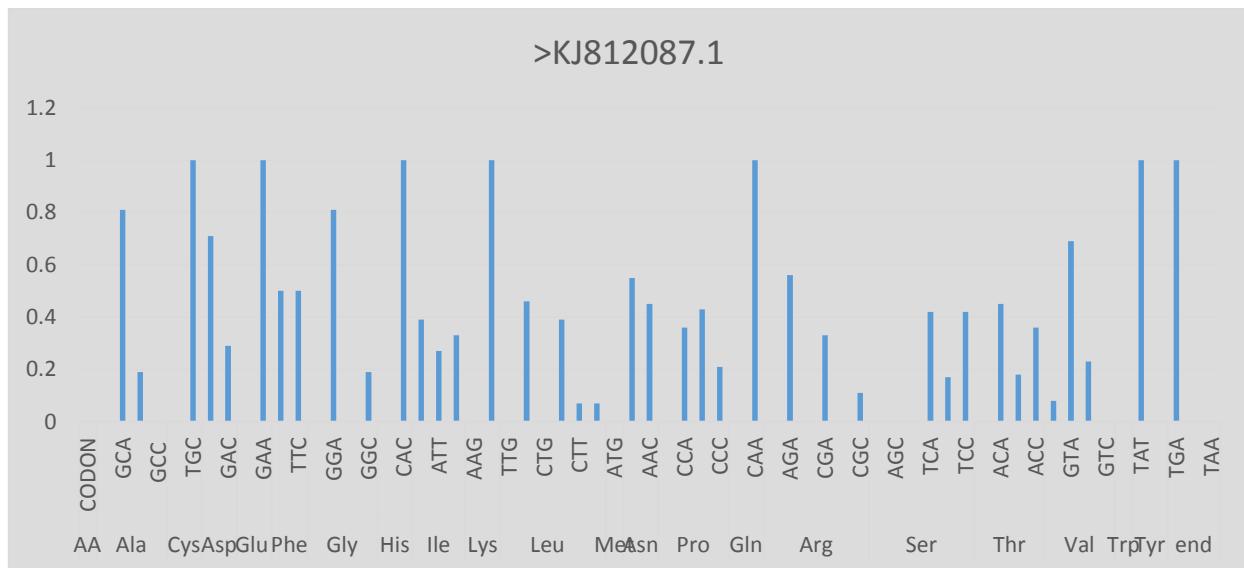
Gráfica 17. Uso preferencial de codones para *Scolopendra subspinipes dehaani*

- >LC009036.1 *Scolopendra subspinipes japonica* TEP4 mRNA for thioester-containing protein 4, complete cds



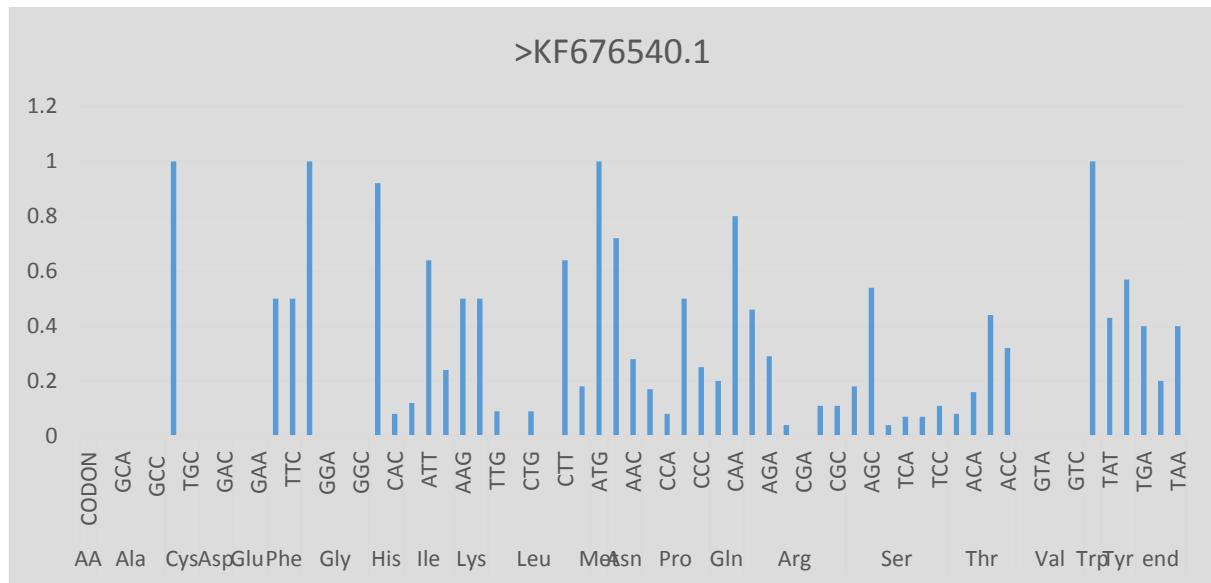
Gráfica 18. Uso preferencial de codones para *Scolopendra subspinipes* japónica

- >KJ812087.1 *Scolopendra cingulata* voucher ZFMK-MYR-01593 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



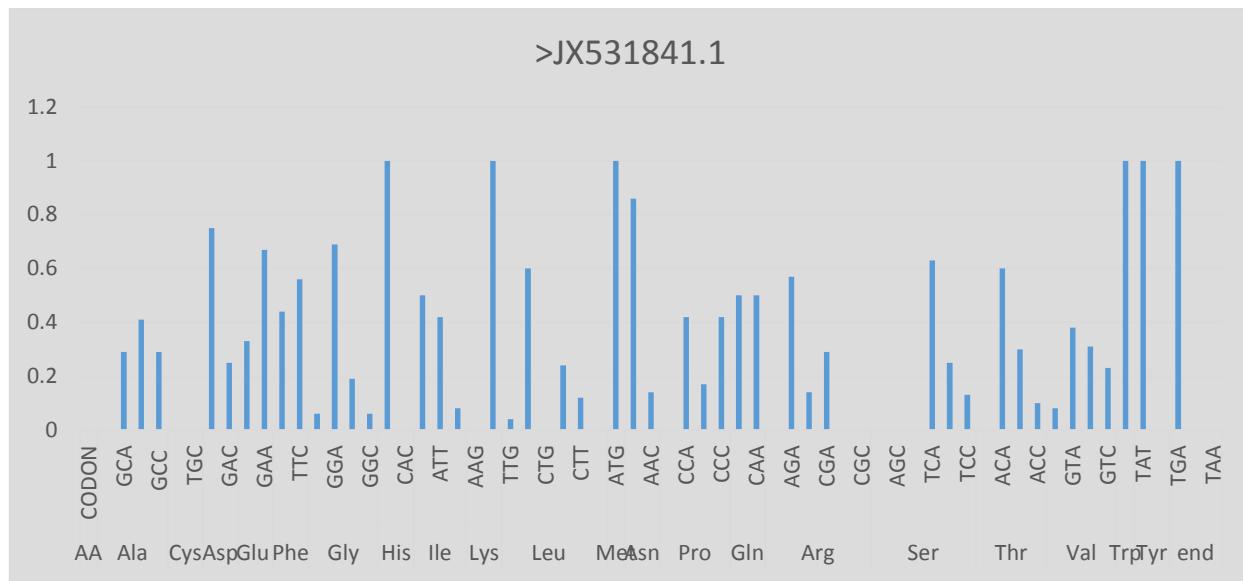
Gráfica 19. Uso preferencial de codones para *Scolopendra cingulata*

- >KF676540.1 *Scolopendra multidens* voucher IZ-131459 cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



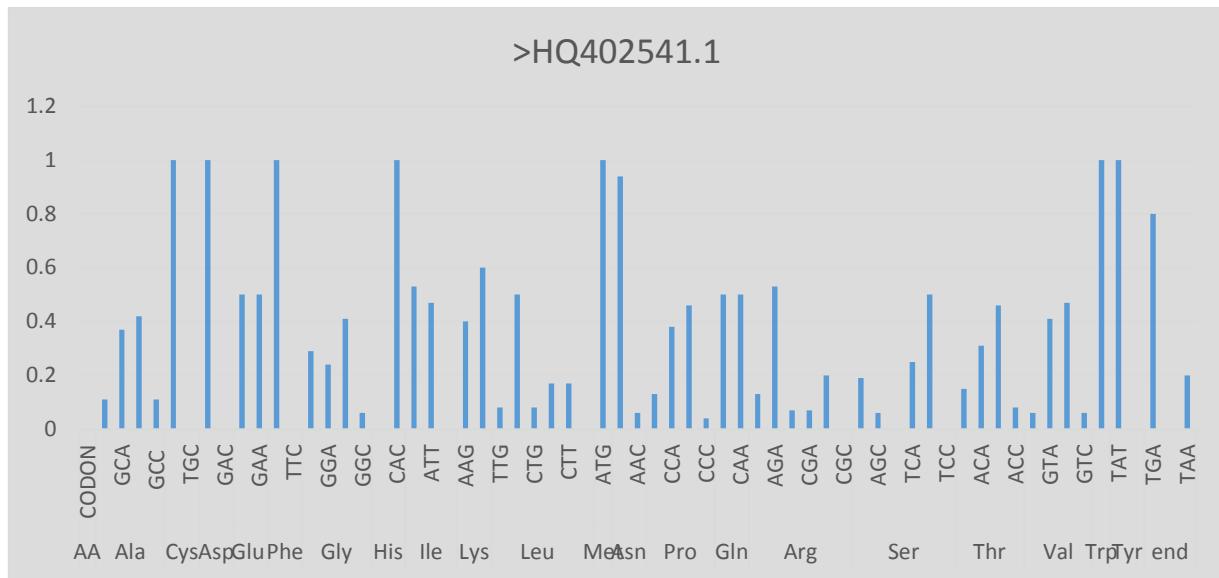
Gráfica 20. Uso preferencial de codones para *Scolopendra multidens*

- >JX531841.1 *Digitipes* sp. 7 JJ-2012 isolate CES08911 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



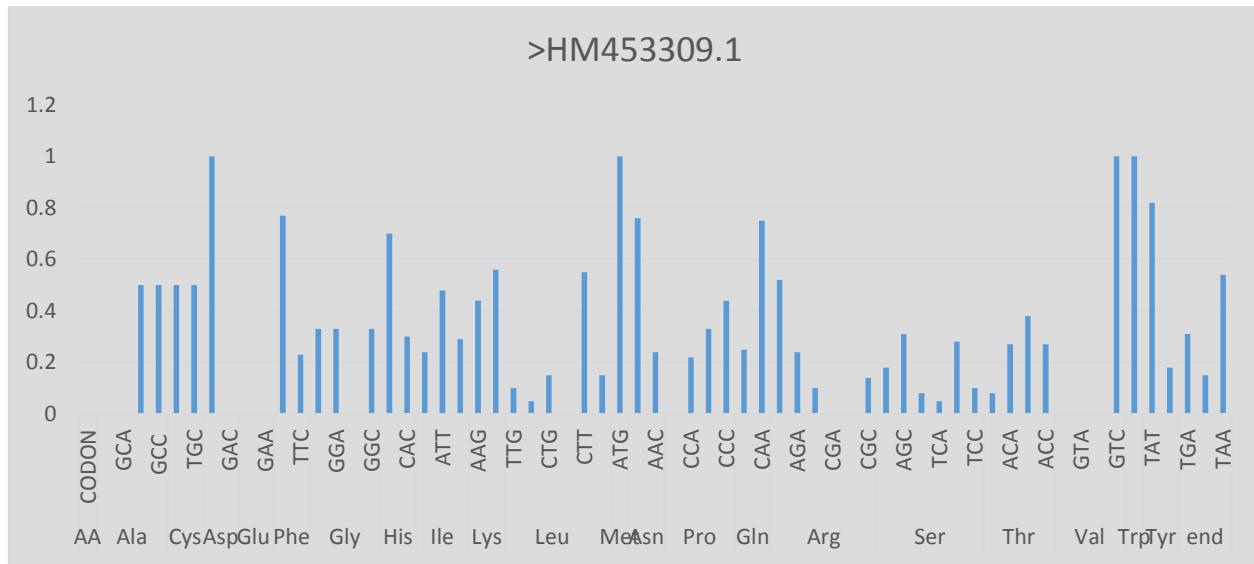
Gráfica 21. Uso preferencial de codones para *Digitipes* sp

- >HQ402541.1 Asanada socotrana cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



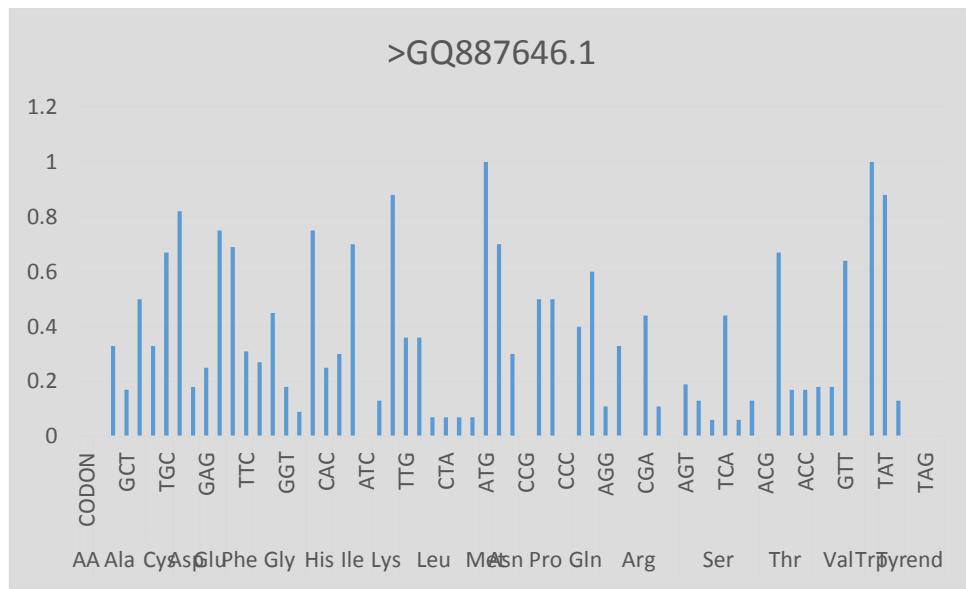
Gráfica 22. Uso preferencial de codones para Asanada socotrana

- >HM453309.1 Cormocephalus monteithi bio-material DNA100274 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial



Gráfica 23. Uso preferencial de codones para Cormocephalus monteithi

- >GQ887646.1 Scolopendra polymorpha voucher SpoCHILO gelsolin mRNA, partial cds



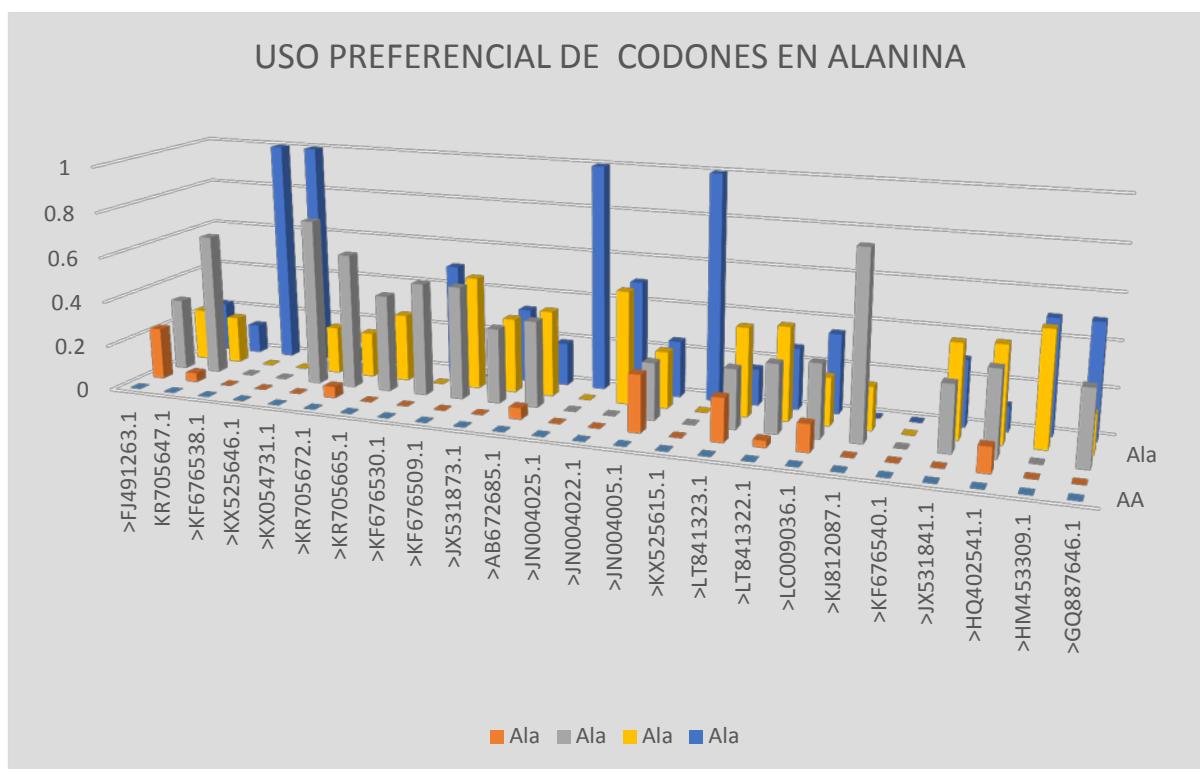
Gráfica 24. Uso preferencial de codones para *Scolopendra polymorpha*

11.3. ANEXO C

Gráficas de aminoácidos por especie:

Uso preferencial de codones para Alanina

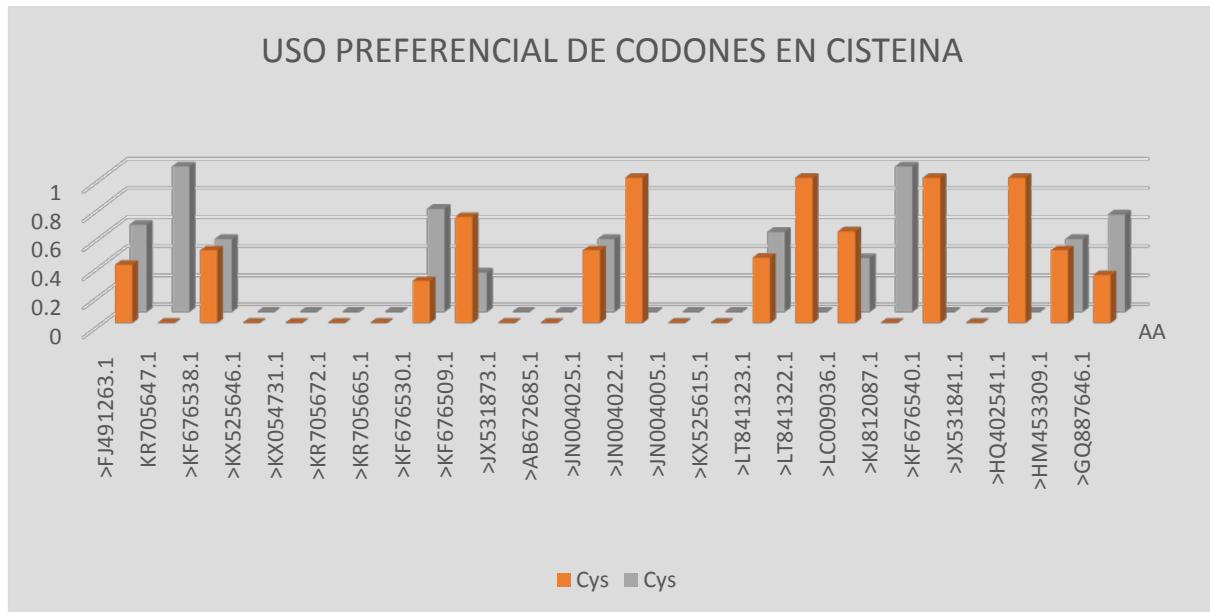
Los codones preferentes para Alanina, Ala (A), son GCC, GCA y GCT aunque para algunas especies, también se observa el GCG. Sin embargo, se observa con más frecuencia la combinación de GCA y GCT que se representa en la gráfica de Ala. En las especies que se observa mayor frecuencia con un porcentaje de 100% son: KF676538.1, KX525646.1, JN004025.1 y KX525615. Con GCA se observan dos más frecuentes KX054731.1 y KJ812087.1 siendo los más representables. Sin embargo, solo 3 especies no presentan este codón en las secuencias analizadas. sin embargo, en 5 especies se observa la presencia del codón GCT y su uso en bajo concentración, con el codón GCG existe menos presencia estando en solo 9 especies de las 24 especies de la Tabla que son las secuencias que se conocen hasta el momento de algunas proteínas entre las cuales están peroxidasa (PPO), citocromo C, fosfolipasa y TEP-4, que son los genes que se han identificado esto puede mejorar la información para el diseño de un oligo degenerado con mayor compatibilidad para encontrar el gen de la hialuronidasa mediante el conocimiento del extremo NH₂-terminal (Gráfica 25).



Gráfica 25. Alanina

Uso preferencial de codones para Cisteina

Para las combinaciones de cisteína, Cys (C). Se observa un balance en las combinaciones de Cys. Sin embargo, no en todas las proteínas está presente y esto probablemente se debe a que las cisteínas crean puentes de disulfuró, que da mayor estabilidad a las proteínas siendo menos solubles o degradadas, por lo que es posible que este aminoácido no esté presente en todos los genes o proteínas (Gráfica 26).

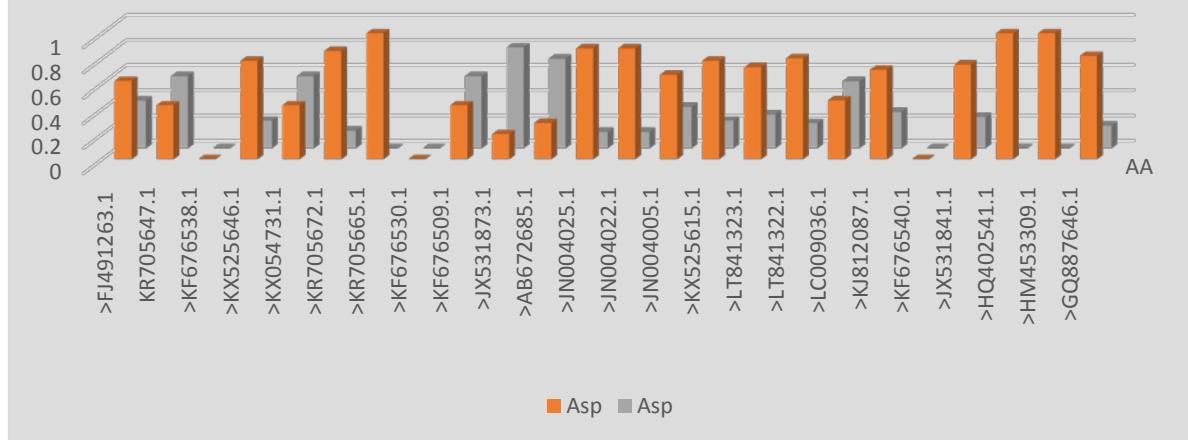


Gráfica 26. Cisteina

Uso preferencial de codones para Ácido Aspártico

Para el ácido aspártico, Asp (D), se observa que se usan de forma similar. Sin embargo, la combinación GAT está presente en su frecuencia. Y en tres especies no se encontró este aminoácido (Gráfica 27).

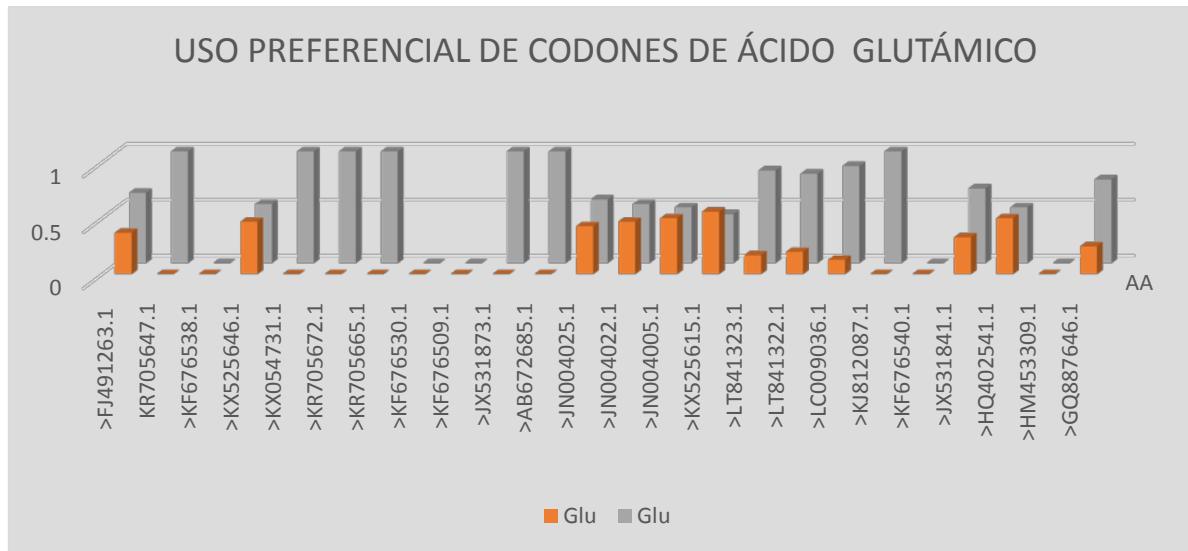
USO PREFERENCIAL DE CODONES DE ÁCIDO ASPÁRTICO



Gráfica 27. Ácido aspártico

Uso preferencial de codones para Ácido Glutámico

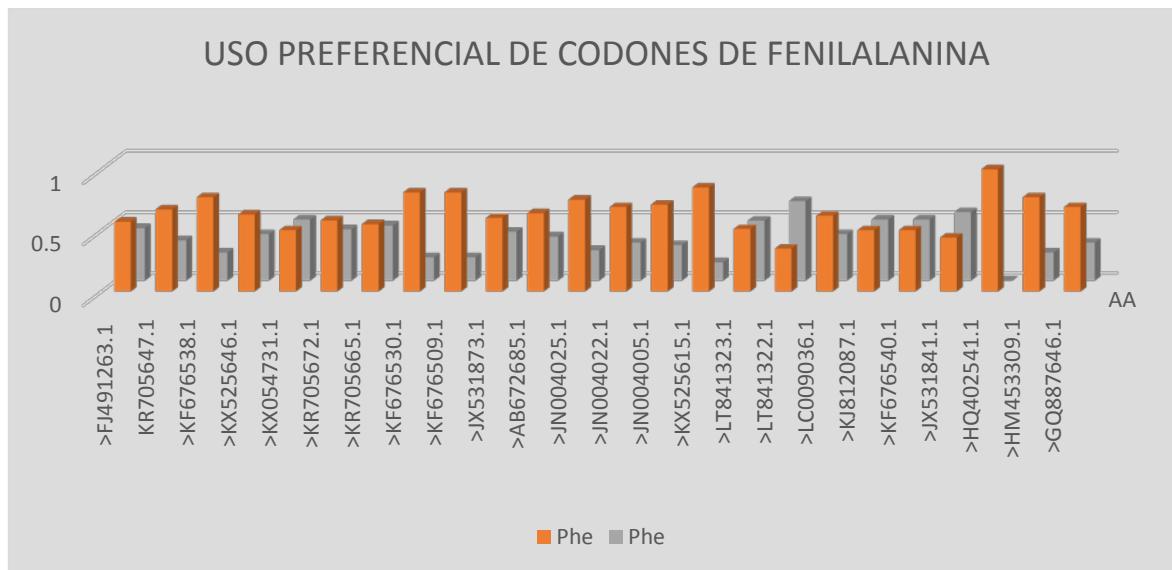
En el caso del ácido glutámico, Glu (E), el mayor porcentaje se observa con el codón GAA, mientras el codón GAG es menos frecuente pero también se presenta en menor cantidad en varias especies y por lo que su uso sea menos frecuente pero si puede estar presente dentro de la secuencia de los genes de escolopendra (Gráfica 28).



Gráfica 28. Ácido glutámico

Uso preferencial de codones para Fenilalanina

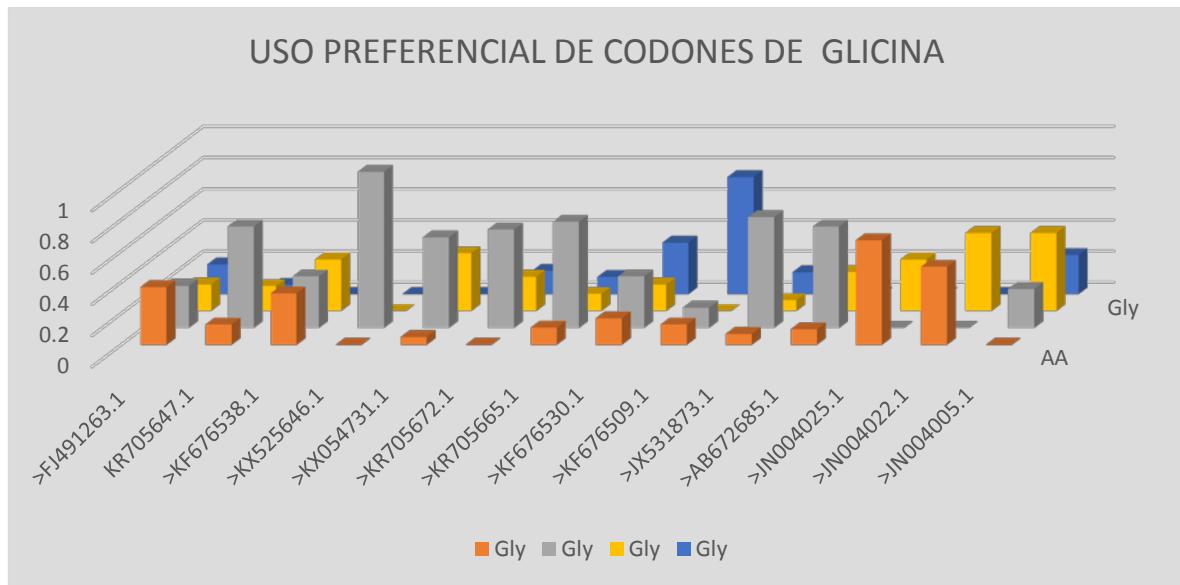
El uso preferencial de codones En fenilalanina, Phe (F),es frecuente tanto en uno como en otro, manteniendo el porcentaje similar en todas las especies, se observa una mínima diferencia con el codón TTT que es más frecuente (Gráfica 29).



Gráfica 29. Fenilalanina

Uso preferencial de codones para Glicina

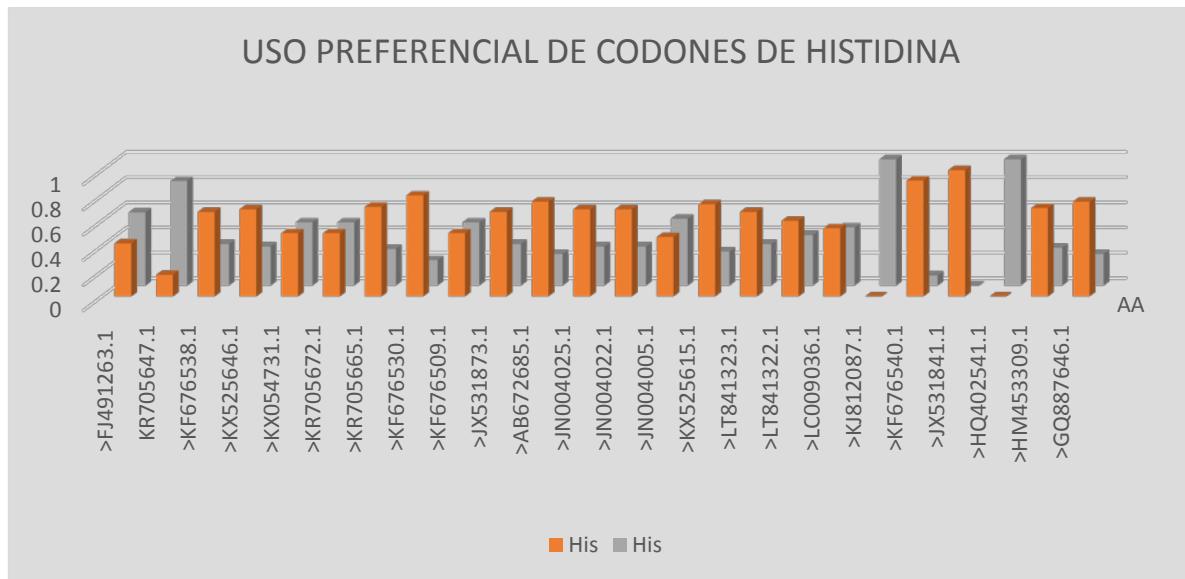
El codón GGA es más común para Glicina, Gly (G),y el segundo más usado es el codón GGT. Sin embargo, las otras combinaciones también se encuentran presentes como es el caso del codón GGC que esta presente en la especie KF676530.1 y en mayor porcentaje el GGA (Gráfica 30).



Gráfica 30. Glicina

Uso preferencial de codones para Histidina

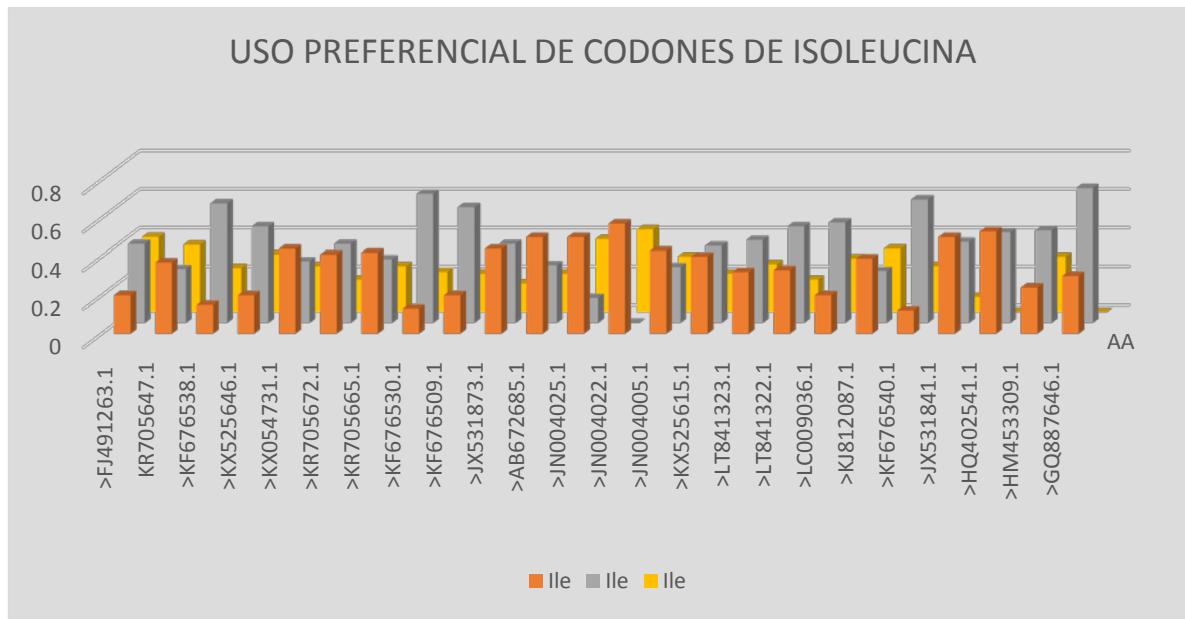
En Histidina, Hys (H), se puede observar que el codón preferente CAT es la combinación más usada. Sin embargo, la combinación del codón CAC es frecuente a pesar de que no está presente en una especie. Sin embargo, el codón CAT presenta un mayor porcentaje en las especies de escolopendra a pesar de no estar presente en 2 escolopendras y en la combinación del codón CAC se presenta en las dos especies con un 100 % mientras que es baja la frecuencia con el que aparece este codón (Gráfica 31).



Gráfica 31. Histidina

Uso preferencial de codones para Isoleucina

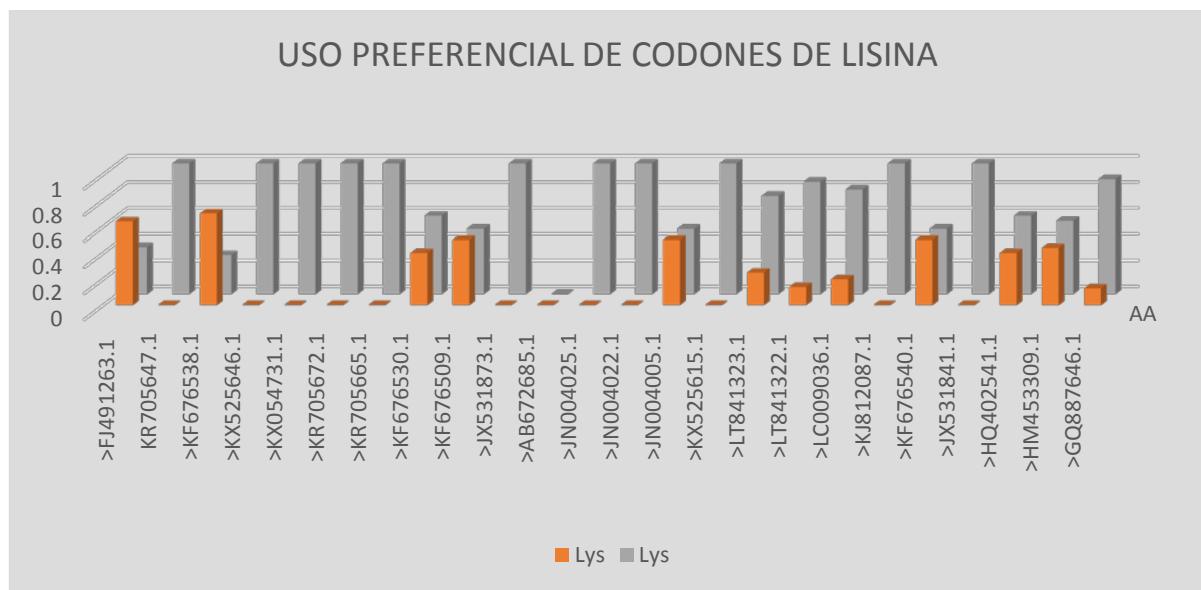
En isoleucina, Ile (I), la combinación con mayor frecuencia es ATT. Sin embargo, la combinación del codón ATA; también, se observa con una alta frecuencia y en 5 especies presenta una alta frecuencia el codón de ATC (Gráfica 32).



Gráfica 32. Isoleucina

Uso preferencial de codones para Lisina

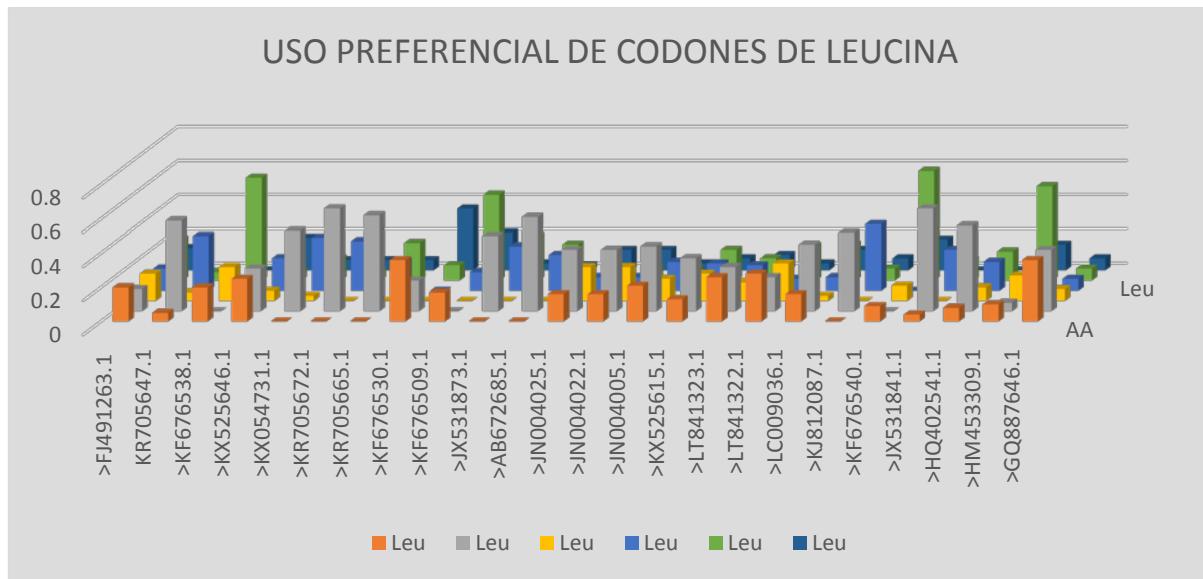
La combinación de codón que se observa con mayor frecuencia para la Lisina, Lys (K), es AAA, mientras que soló una especie no presenta codones para Lys. Por lo que se observa que la combinación AAA podría ser un uso preferencial específico para las escolopendras, mientras que solo una sola especie no presenta la combinación en la que se encuentran todas las especies, aunque el otro codón también está presente solo algunas especies presenta el codón (Gráfica 33).



Gráfica 33. Lisina

Uso preferencial de codones para Leucina

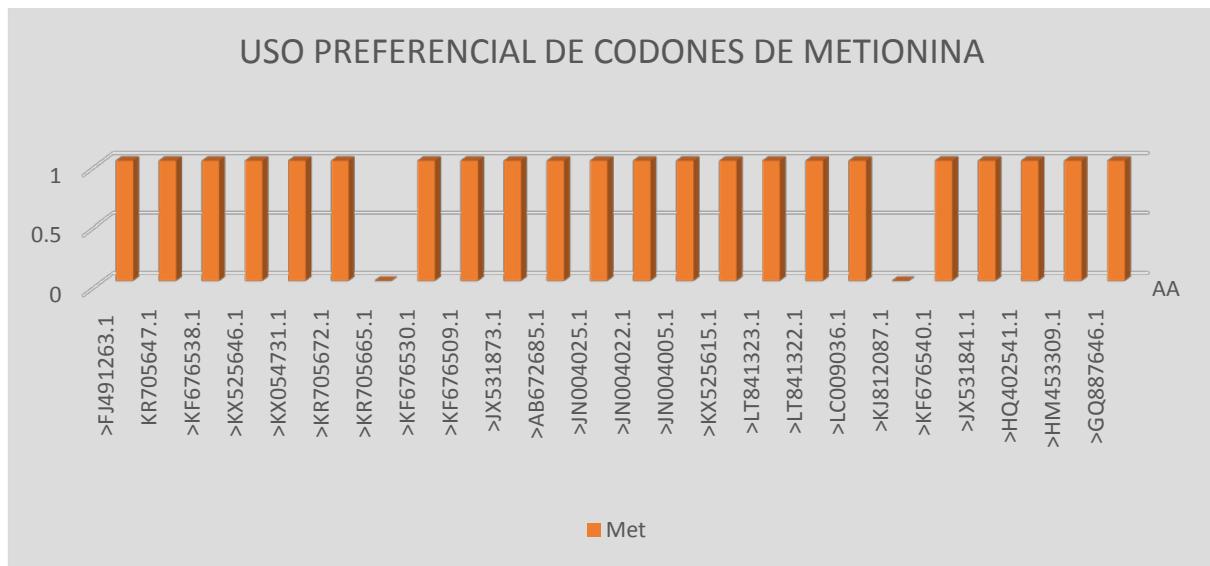
Las combinaciones para el aminoácido Leucina, Leu (L), en los codones frecuentes fueron en el siguiente orden: en primer lugar es TTA, seguido por CTA, TTG y en último lugar CTA. Esto se observó ya que TTA estuvo presente en la mayoría de las especies en la disposición de codones y la combinación del codón CTT en 4 especies de escolopendra tiene la preferencia por este codón (Gráfica 34).



Gráfica 34. Leucina

Uso preferencial de codones para Metionina

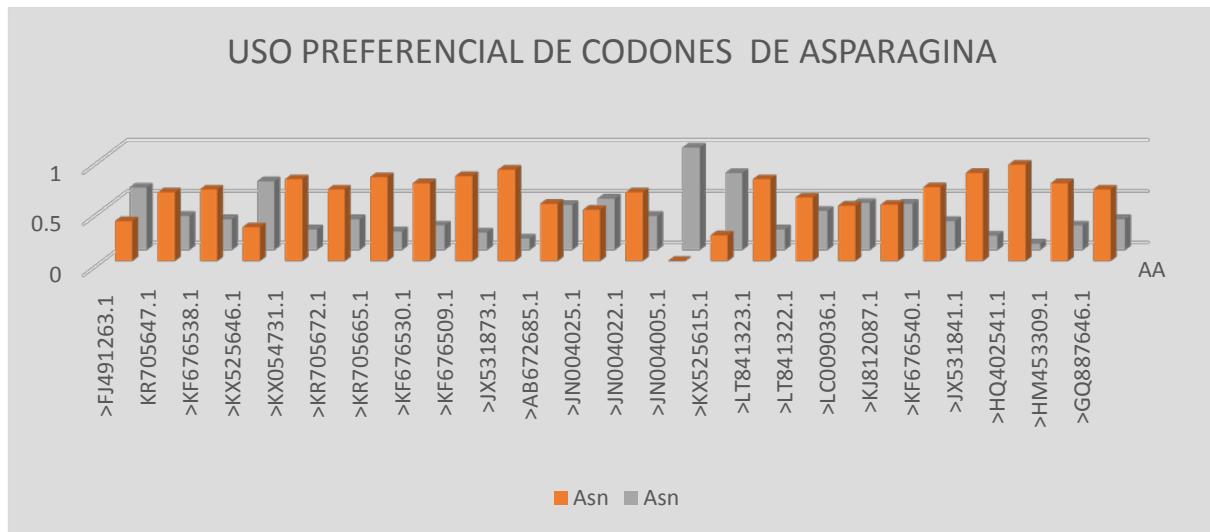
La Metionina, Met (M) es el codón de inicio por lo que todas las secuencias la presentan; sin embargo, hay solo dos especies que no presentan la metionina esto puede ser debido a que sólo se encontró parcialmente el gen en donde no estaba presente la metionina (Gráfica 35).



Gráfica 35. Metionina

Uso preferencial de codones de Asparagina

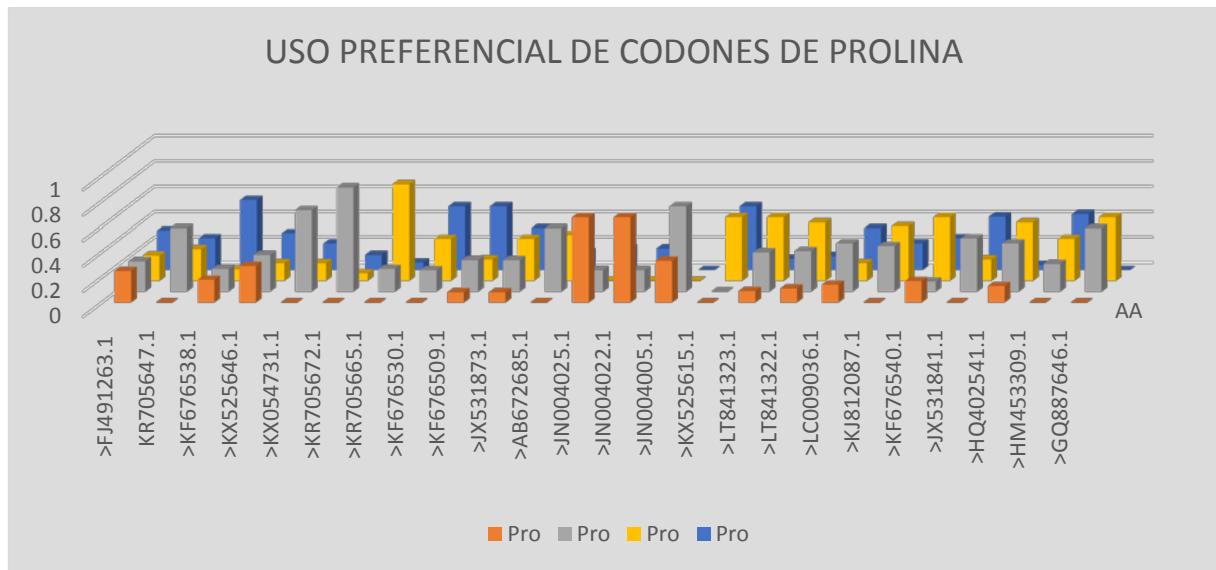
Para Asparagina, Asn (N), el codón más utilizado es AAT. Sin embargo, también se hace uso del codón AAC que es el más frecuente en un 100% en la especie JM004005.1 como representativo (Gráfica 36).



Gráfica 36. Asparagina

Uso preferencial de codones para prolina

De las 4 combinaciones que presentan los codones para prolina Pro (P), sobresalen 3 como: CCA, CCT y CCC a pesar de que la cuarta combinación es menos frecuente en varias especies. El codón CCG sólo está presente en 2 especies en comparación con las otras (Gráfica 37).



Gráfica 37. Prolina

Uso preferencial de codones para Glutamina

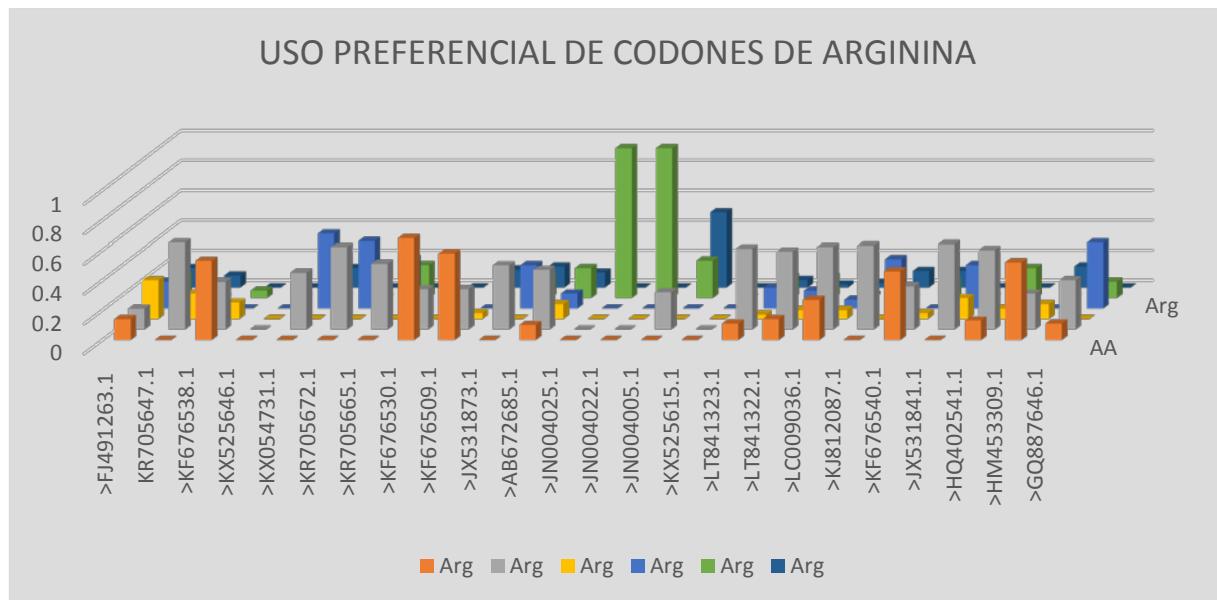
En La glutamina, Gln (Q), la combinación del codón CCA, esta presente en mayor porcentaje y frecuencia que en el codón CAG que esta menos presente y en 8 especies no se presenta. Sin embargo, CAA solo en una especie no esta presente mientras que en las demás si (Gráfica 38).



Gráfica 38. Glutamina

Uso preferencial de codones para Arginina

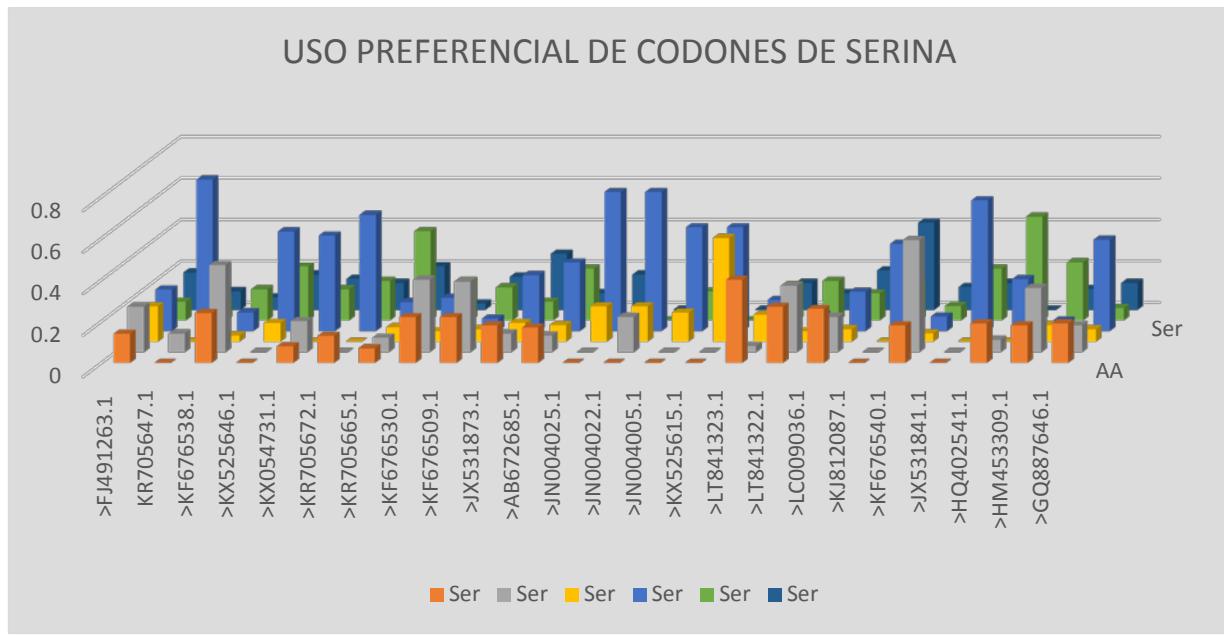
En arginina, Arg (R), la combinación de codones que se encuentra con un alta frecuencia es el codón CGA. Sin embargo, también se encuentra presente el codón AGA. Se puede observar claramente que las otras combinaciones de codones también están presentes, pero en menor cantidad (Gráfica 39).



Gráfica 39. Arginina

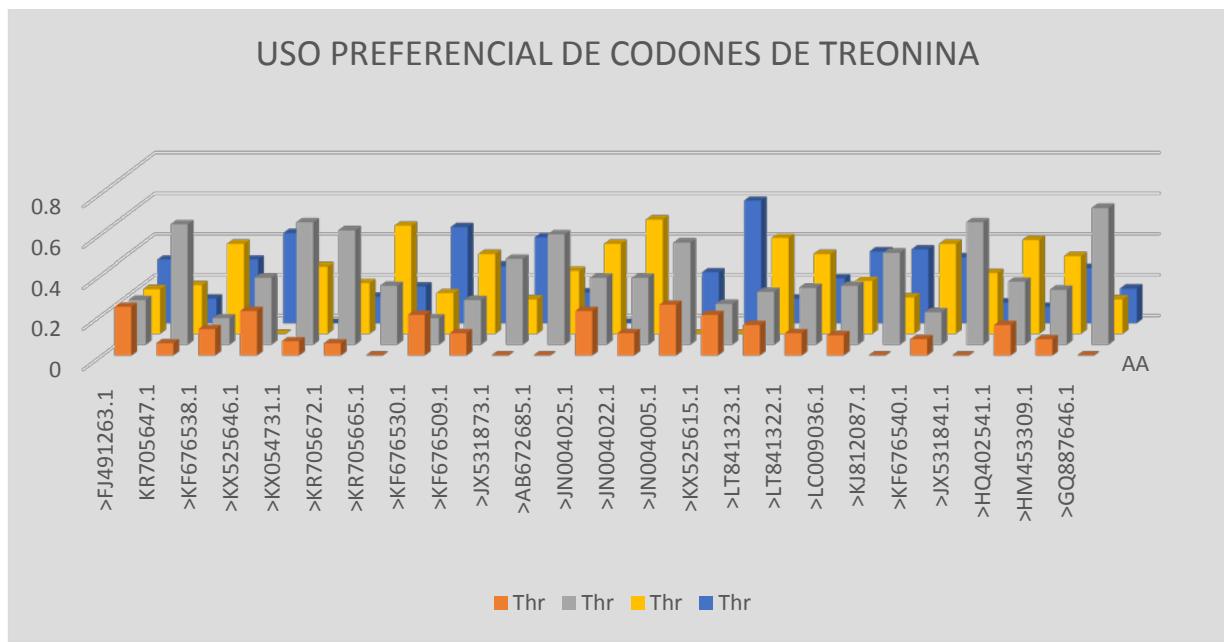
Uso preferencial de codones para Serina

Para serina, Ser (S) se encontró que las combinaciones de codones más comunes o más usados son TCA, TCT, TCC y AGT. En los que se encuentran en las secuencias de nucleótidos reportadas. Sin embargo, TCA es codón con mayor frecuencia que es representada en la gráfica por lo que se sugiere que puede ser el codón preferente (Gráfica 40).



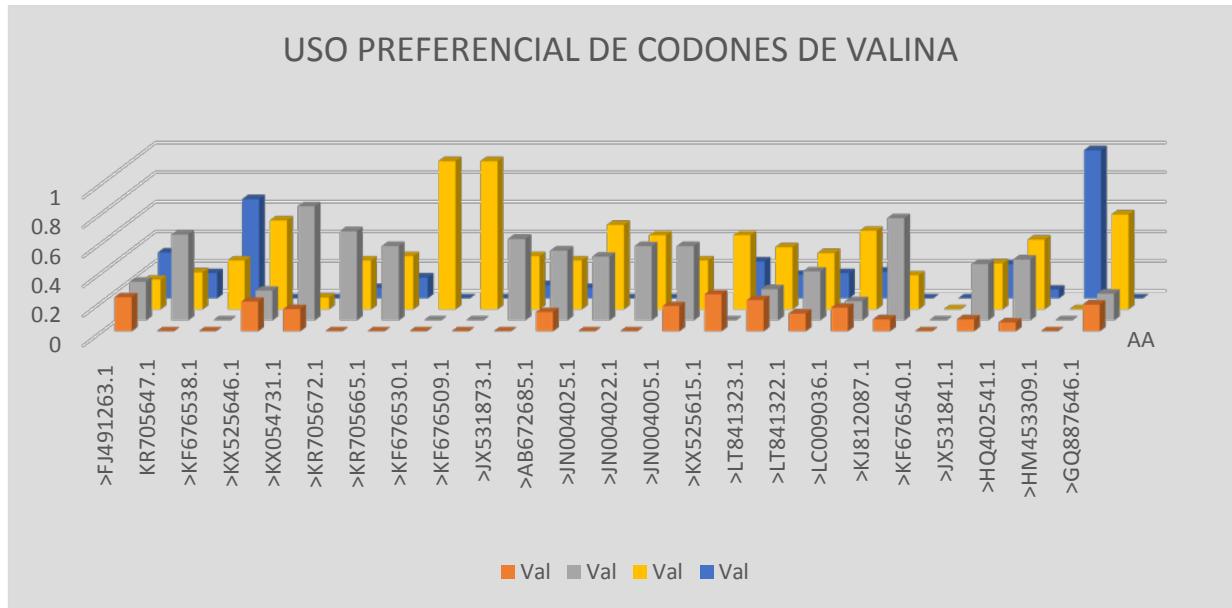
Uso preferencial de codones para Treonina

En el aminoácido treonina, Thr (T), se mantienen las combinaciones de 2 codones frecuentes ACA, ACT seguido por ACC y la que representa una menor frecuencia es ACG (Gráfica 41).



Uso preferencial de codones para Valina

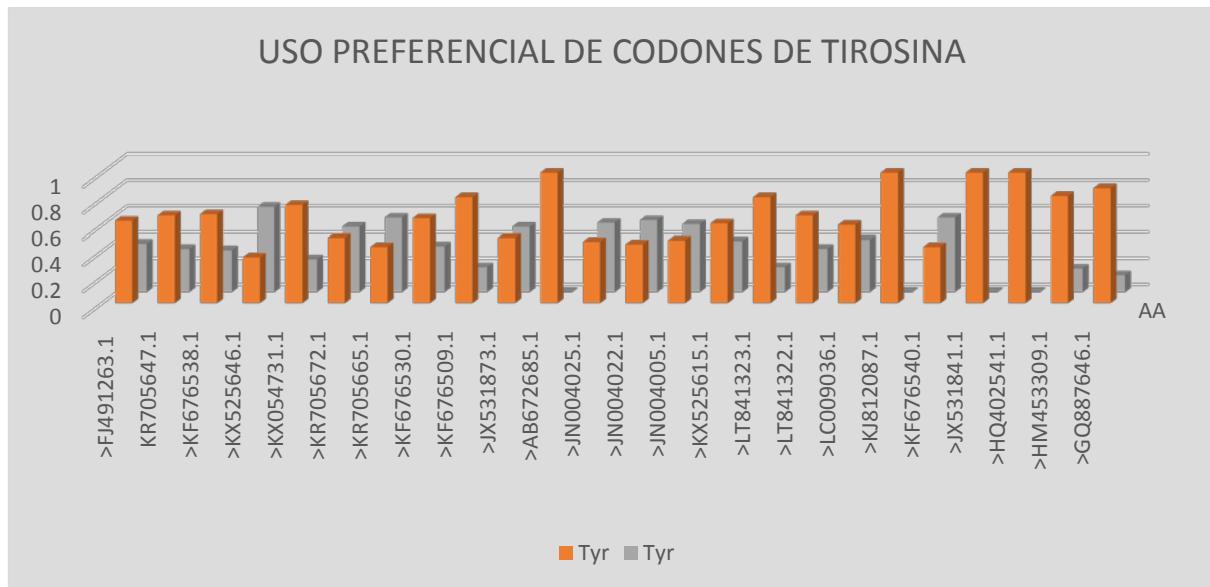
El aminoácido de valina, Val (V), las combinaciones de codones más comunes son GTT y GTA. Sin embargo, menos frecuente se presenta GTC y el codón menos frecuente es GTG (ver Gráfica 42).



Gráfica 42. Valina

Uso preferencial de codones para Tirosina

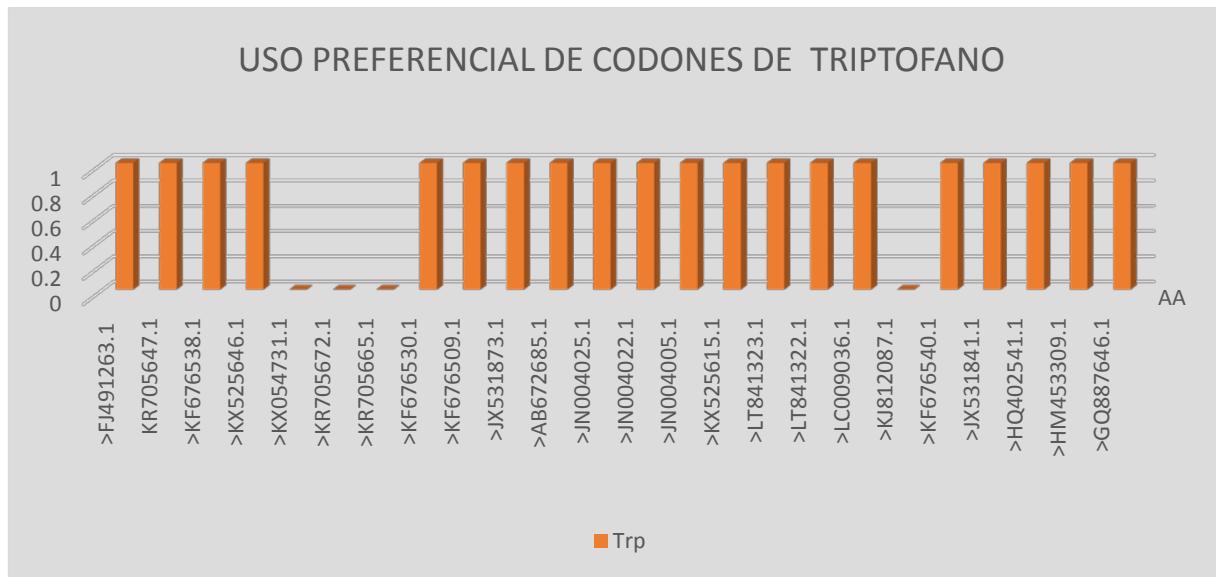
En el aminoácido de tirosina, Tyr (Y), se observa la combinación de codones que se utiliza con mayor frecuencia en el uso de las especies de escolopendra con Tyr, en el que destaca el codón TAT y TAC. Por lo que se dice que se encuentran de forma regular los dos codones en la secuencias de nucleótidos de las escolopendra (Gráfica 43).



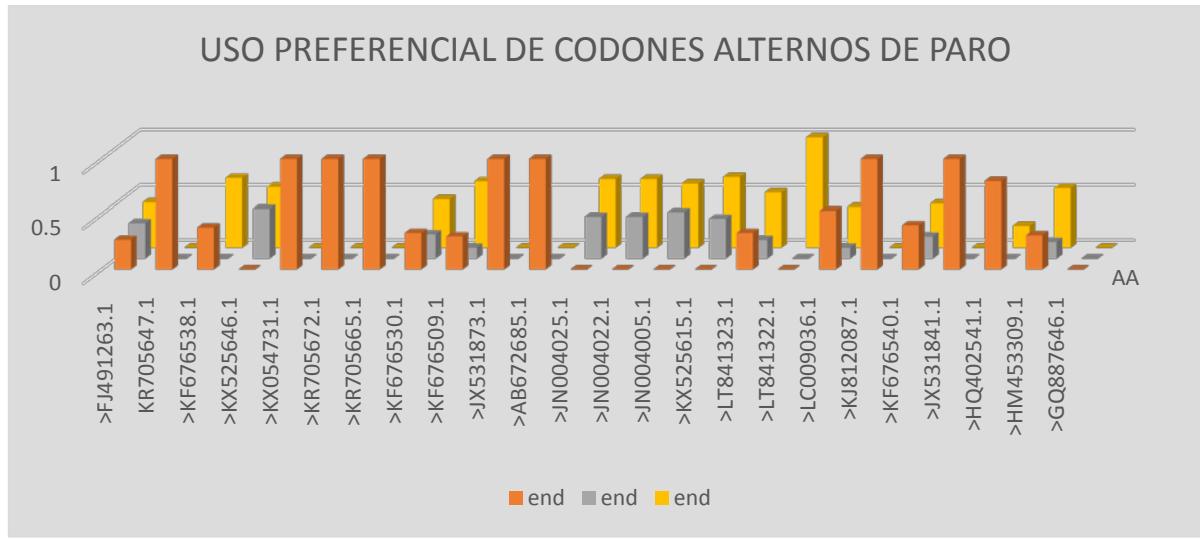
Gráfica 43. Tirosina

Uso preferencial de codones para Triptofano

Para el aminoácido triptofano, Trp (W), solo existe un codón. Sin embargo, existen otros 3 codones de paro que son: el primero es TGG que es el Trp, los otros 3 codones de paro que son TAA,TGA y TAG, se hicieron dos Gráficas una con Trp (Gráfica 44). Y las de los codones de paro alternativos en la (Gráfica 45), quien marca el fin a la proteína o las subunidades, por esto se toman ambas Gráficas para decir que el codón Trp es TGG, se observó en la gráfica que en 4 especies no esta presente, pero en la Gráfica de los codones de paro alternos se mostró que utiliza el codón de paro TAA y TGA y menos frecuente pero presente es TAG, que se presentan en diferentes especies pero en algunas no.



Gráfica 44. Triptofano



Gráfica 45. Codones alternativos de paro

Tabla 2. Especies reportadas en el NCBI y su uso preferencial de codones

Species	Nº de NCBI	secuencia Aminoácidos	Uso preferencial de codones por especie
<i>Scolopendra viridis</i>		A, C, D, E, F,	GCT, GCA y GCG; TGT y TGC; GAC y GAT; GAA
phospholipase	>FJ491263.1	G, H, I, K, L,	y GAG; TTT y TTC; GGA, GGT y GGC; CAT y
<i>Scolopendra precursor</i>		M, N, P, Q, R,	CAC; ATT, ATA y ATC; AAA Y AAG; TTG, TTA,
(Pla) mRNA, complete		S, T, V, Y, W y	CTT y CTC; ATG; AAT y AAC; CCT, CCG y
cds		codones de paro	CCA; CAA y CAG; AGA, AGG y CGA; TCA, AGT, TCC, TCG y TCT; ACA, ACT Y ACC; GTT, GTG, GTA y GTC; TGG; TAT y TAC; TAA y TGA.
<i>Scolopendra pinguis</i>		A, C, D, E, F,	GCA, GCT, GCC y GCG; TGC; GAC y GAT; GAA;
voucher CUMZ 00305		G, H, I, K, L,	TTT y TTC; GGA, GGT, GGG y GGC; CAC y
<i>cytochrome c oxidase</i>	>KR705647.1	M, N, P, Q, R,	CAT; ATA, ATC y ATT; AAA; TTA, CTA, TTG,
subunit 1 (COI)		S, T, V, Y, W y	CTG y CTT; ATG; AAT y AAC; CCA, CCT y
gene, partial cds;		codones de paro	CCC; CAA y CAG; AGA, CGG, CGA y CGC; TCA, AGC, TCT y TCC; ACA, ACT, ACC, y ACG; GTA, GTT y GTC; TGG; TAT y TAC; TGA.
<i>Akymnopellis chilensis</i>	>KF676538.1	F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W y	GCC; TGT y TGC; TTT y TTC; GGG, GGA y GGT; CAT y CAC; ATT, ATC y ATA; AAG y AAA; CTT, TTG y CTG; ATG; AAT y AAC; CCC, CCG, CCA y CCT; CAA; AGG, AGA, CGG y CGT; codones de paro AGC, AGT, TCT, TCA, TCC y TCG; ACT, ACC, ACG y ACA; GTC y GTT; TGG; TAT y TAC; TAA y TGA.
<i>Scolopendra negropacitis isolate</i>		A, D, E, F, G,	GCC; GAT y GAG; TTT y TTC; GGA; CAT y
<i>SZ22-2 cytochrome</i>	>KX525646.1	H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W y	CAC; ATT, ATC y ATA; TTG, TTA, CTA, CTC, CTG y CTT; ATG; AAC y AAT; CCG, CCA, CCC y CCT; CAG y CAA; TCA, TCT, TCC y TCG; codones de paro GTT, GTG y GTA; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.
oxidase subunit I		(COI) gene, partial	
cds; mitochondrial			
<i>Scolopendra subspinipes</i>	>KX054731.1	A, D, E, F, G,	GCA, GCT y GCC; GAA; TTT y TTC; GGA, GGT, H, I, K, L, M, y GGG; CAT y CAC; ATA, ATT y ATC; AAA; N, P, Q, R, S, TTA, CTA, CTT, CTC y CTG; ATG; AAT y AAC; T, V, Y, W y CCA, CCC, y CCT; CAA; CGA, AGA y CGC; codones de paro TCA, AGC, TCT y TCC; ACA, ACT y ACG; GTA, GTG y GTT; TAT y TAC; TGA.
sc_00680 cytochrome			
oxidase subunit 1			
(COI) gene, partial			
cds; mitochondrial			
<i>Scolopendra sp. CUMZ</i>		A, D, E, F, G,	GCA, GCT, GCC y GCG; GAT y GAC; GAA; TTT
00316 cytochrome c		H, I, K, L, M,	y TTC; GGA, GGT y GGC; CAT y CAC; ATA,
oxidase subunit 1	>KR705672.1	N, P, Q, R, S,	ATT y ATC; AAA; TTA, CTA, CTT y CTC; ATG; T, V, Y, W y AAT y AAC; CCA, CCC y CCT; CAA; AGA y CGA; TCA, TCT, AGT y TCC; ACA, ACT, ACC y codones de paro ACG; GTA, GTT y GTC; TAT y TAC; TGA.
(COI) gene, partial			
cds; mitochondrial			
<i>Scolopendra</i>		A, D, E, F, G,	GCA, GCT y GCC; GAT; GAA; TTT y TTC; GGA,

<i>morsitans</i>	voucher	>KR705665.1	H, I, K, L, M, GGG, GGT y GGC; CAT y CAC; ATA, ATT y N, P, Q, R, S, ATC; AAA; TTA, CTT, CTA y CTC; AAT y AAC; T, V, Y, W y CCT, CCA y CCC; CAA; AGA, CGA y CGT; TCT, codones de paro TCC, TCA, AGT, AGC y TGC; ACT, ACA y ACC; gene, partial cds; mitochondrial	GTA, GTT y GTC; TAC y TAT; TGA.
<i>Cormocephalus bonaerius</i>	voucher	>KF676530.1	A, C, F, G, H, GCA y GCC; TGC y TGT; TTT y TTC; GGA, I, K, L, M, N, GGC, GGG y GGT; CAT y CAC; ATT, ATC y P, Q, R, S, T, ATA; AAA y AAG; TTG, CTC, TTA y CTT; ATG; V, Y, W y AAT y AAC; CCC, CCT y CCA; AGG, AGA y codones de paro CGA; AGC, AGT, TCT, TCA, TCG y TCC; ACC, ACG, ACT y ACA; GTT; TGG; TAT y TAC; TAA, TGA y TAG.	CGA; AGC, AGT, TCT, TCA, TCG y TCC; ACC, ACG, ACT y ACA; GTT; TGG; TAT y TAC; TAA, TGA y TAG.
<i>Ostostigmus angusticeps</i>	voucher	>KF676509.1	A, C, D, F, G, GCA y GCT; TGT y TGC; GAC y GAT; TTT y H, I, K, L, M, TTC; GGC, GGG y GGA; CAT y CAC; ATT, ATA N, P, Q, R, S, y ATC; AAG y AAA; CTT, CTC, TTG y CTA; T, V, Y, W y ATG; AAT y AAC; CCC, CCA, CCT y CCG; CAG; codones de paro AGG; AGA, CGC y CGG; AGC, AGT, TCT, TCC, TCG y TCA; ACT, ACC, ACA y ACG; GTT; TGG; TAT y TAC; TAA, TGA y TAG.	TAT y TAC; TAA, TGA y TAG.
<i>Digitipes</i> sp. 9 JJ-2012	isolate	>JX531873.1	A, D, E, F, G, GCA, GCT y GCC; GAC y GAT; TTT y TTC; H, I, K, L, M, GGA, GGC, GGG y GGT; CAT y CAC; ATA, ATT N, P, Q, R, S, y ATC; AAA; TTA, CTA, CTT y CTC; ATG; AAT T, V, Y, W y AAC; CCT, CCC, CCA y CCG; CAA; AGA, codones de paro CGA, CGT y CGC; TCA, TCC, AGT, AGC, TCA y TCT; ACA, ACC y ACT; GTA, GTT y GTC; TGG; TAT y TAC; TGA.	TCT; ACA, ACC y ACT; GTA, GTT y GTC; TGG; TAT y TAC; TGA.
<i>Ostostigmus aculeatus</i>	mitochondrial coi gene for cytochrome c oxidase subunit I, partial cds, specimen_voucher: SYSU:Chilo-132	>AB672685.1	A, D, E, F, G, GCA, GCT, GCC y GCG; GAC y GAT; GAA; TTT H, I, L, M, N, y TTC; GGA, GGT y GGG; CAT y CAC; ATA, ATT P, Q, R, S, T, ATT y ATC; TTA, CTA, CTT y CTC; ATG; AAT V, Y, W y AAC; CCA, CCT y CCC; CAA; AGA, CGT, codones de paro AGG, CGG, CGA y CGC; TCA, TCT, AGC, TCG y TCC; ACA, ACT y ACC; GTA, GTT, GTG y GTC; TGG; TAT; TGA.	TCT; ACA, ACT y ACC; GTA, GTT, GTG y GTC; TGG; TAT; TGA.
<i>Rhysida longipes</i>	isolate CES07262	>JN004025.1	A, C, D, E, F, GCC; TGT y TGC; GAT y GAC; GAA y GAG; TTT G, H, I, K, L, y TTC; GGG y GGT; CAT y CAC; ATA, ATC y M, N, P, Q, R, ATT; AAA; TTA, CTG, TTG, CTC, CTA y CTT; S, T, V, Y, W y ATG; AAT y AAC; CCG, CCA y CCC; CAG y codones de paro CAA; CGT; TCA, TCG y TCC; ACT, ACA y ACG; GTT y GTA; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.	GTG y GTA; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.
<i>Rhysida cf. immarginata</i>	JJ-2011 isolate CES07202	>JN004022.1	A, C, D, E, F, GCT y GCC; TGT; GAT y GAC; GAA y GAG; TTT G, H, I, K, L, y TTC; GGG y GGT; CAT y CAC; ATA y ATC; M, N, P, Q, R, AAA; TTA, CTG, TTG, CTC, CTA y CTT; ATG; S, T, V, Y, W, AAT y AAC; CCG, CCA y CCC; CAG y CAA; y codones de paro CGT; TCA, TCG y AGC; ACT, ACA y ACG; GTA y GTT; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.	y GTT; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.

mitochondrial

<i>Cormocephalus nudipes</i>	<i>isolate CES07265</i>	<i>cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial</i>	A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W, y	GCG, GCA, GCT y GCC; GAT y GAC; GAG y GAA; TTT y TTC; GGT, GGA y GGC; CAC y CAT; ATA, ATT y ATC; AAG y AAA; TTA, TTG, CTA, CTG, CTT y CTC; ATG; AAC; CCA y CCG; codones de paro CAG y CAA; CGC, AGA y CGT; TCA, TCC, TCG y TCT; ACA, ACG y ACC; GTA, GTT y GTG; TGG; TAC y TAT; TAA y TAG.
<i>Scolopendra mutilans</i>	<i>isolate HZ26-1</i>	<i>cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial</i>	A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, S, T, V, Y, W, y	GCC; GAT y GAC; GAG y GAA; TTT y TTC; GGA y GGT; CAT y CAC; ATA, ATT y ATC; AAA; TTA, CTT, CTG, CTA, TTG y CTC; ATG; AAC y AAT; CCT y CCC; CAG y CAA; TCG y TCA; codones de paro ACC, ACG y ACA; GTT, GTG y GTC; TGG; TAT y TAC; TAA y TAG.
<i>Scolopendra subspinipes dehaani</i>	<i>mRNA for PPO2 (prophenoloxidase 2 gene)</i>		A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W, y	GCT, GCA, GCG y GCC; TGC y TGT; GAT y GAC; GAA y GAG; TTT y TTC; GGA, GGT, GGG y GGC; CAT y CAC; ATT, ATA y ATC; AAA y AAG; TTG, TTA, CTA, CTT, CTG y CTC; ATG; y codones de paro AAT y AAC; CCT, CCA, CCG y CCC; CAA y CAG; AGA, CGA, CGT, AGG, CGC y AGG; AGT, TCT, TCA, TCG, TCC y AGC; ACT, ACA, ACG y ACC; GTT, GTG, GTA y GTC; TGG; TAT; TAA, TGA y TAG.
<i>Scolopendra subspinipes dehaani</i>	<i>mRNA for PPO1 (prophenoloxidase 1 gene)</i>		A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W, y	GCT, GCA, GCG y GCC; TGT y GAC; GAA y GAG; TTC y TTT; GGA, GGT, GGC y GGG; CAT y CAC; ATT, ATA y ATC; AAA y AAG; TTG, CTG, TTA, CTT y CTC; ATG; AAT y AAC; y codones de paro AGA, AGG, CGT, CGA, CGG y CGC; AGC, AGT, TCT, TCA, TCC Y TCG; ACT, ACA, ACC y ACG; GTT, GTA, GTC y GTG; TGG; TAT y TAC; TAA.
<i>Scolopendra subspinipes japonica</i>	<i>TEP4 mRNA for thioester-containing protein 4, complete cds</i>		A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y, W, y	GCC, GCA, GCT y GCG; TGT y TGC; GAC y GAT; GAA y GAG; TTT y TTC; GGA, GGT, GGC y GGG; CAT y CAC; ATT, ATC y ATA; AAA y AAG; TTA, CTT, TTG, CTC, CTA y CTG; ATG; y codones de paro AAT y AAC; CCA, CCC, CCG y CCT; CAA y CAG; AGA, AGG, CGG, CGA, CGC y CGT; AGT, TCA, TCC, AGC, TCT y TCG; ACC, ACA, ACT y ACG; GTT, GTC, GTG y GTA; TGG; TGA, TAA y TAG.
<i>Scolopendra cingulata</i>	<i>voucher ZFMK-MYR-01593</i>	<i>cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial</i>	A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, y	GCA y GCT; TGC; GAT y GAC; GAA; TTT y TTC; GGA y GGC; CAC; ATA, ATC y ATT; AAA; TTA, CTA, CTT y CTC; AAT y AAC; CCT, CCA y CCC; CAA; AGA, CGA y CGC; TCA, TCC y codones de paro TCT; ACA, ACC y ACT; GTA, GTT y GTG; TAT; TGA.

Scolopendra	C, F, G, H, I, TGT; TTT y TTC; GGG; CAT y CAC; ATT, ATC
multidens voucher	K, L, M, N, P, y ATA; AAG y AAA; CCT, CTC, CTG y TTG;
IZ-131459 cytochrome c oxidase subunit I	>KF676540.1 Q, R, S, T, Y, ATG; AAT y AAC; CTT, CCC, CCG y CCA; CAA
(COI) gene, partial cds; mitochondrial	W, y codones de paro y CAG; AGG, AGA, CGT, CGC y CGG; AGC, AGT, TCC, TCT, TCA y TCG; ACT, ACC, ACA y ACG; TGG; TAC y TAT; TGA, TAA y TAG
Digitipes sp. 7 JJ-2012 isolate	>JX531841.1 A, D, E, F, G, GCT, GCA, GCC; GAT y GAC; GAA y GAG; TTC H, I, K, L, M, y TTT; GGA, GGT, GGC y GGG; CAT; ATA, ATT
CES08911 cytochrome oxidase subunit I	N, P, Q, R, S, y ATC; AAA; TTA, CTA, CTT y TTG; ATG; AAT
(COI) gene, partial cds; mitochondrial	T, V, Y, W, y AAC; CCA, CCC y CCT; CAG y CAA; AGA, codones de paro CGA y CGG; TCA, TCT y TCC; ACA, ACT y ACC; GTA, GTT, GTC y GTG; TGG; TAT; TGA.
Asanada socotrana	A, C, D, E, F, GTC, GCA, GCG Y GCC; TGT; GAT; GAG y GAA;
cytochrome oxidase subunit I (COI)	G, H, I, K, L, TTT; GGT, GGG, GGA y GGC; CAC; ATA y ATT;
gene, partial cds; mitochondrial	>HQ402541.1 ; M, N, P, Q, R, AAA y AAG; TTA, CTA, CTT, CTG y TTG; ATG; S, T, V, Y, W, AAT y AAC; CCT, CCA, CCG y CCC; CAG y y codones de paro CAA; AGA, CGT, AGG, CGA y CGG; TCT, TCA, AGT y AGC; ACT, ACA, ACG y ACC; GTT, GTA, GTG y GTC; TGG; TAT; TGA y TAA.
Cormocephalus monteithi bio-material DNA100274	>HM453309.1 A, C, D, F, G, GCT y GCC; TGT y TGC; GAT; TTT Y TTC; H, I, K, L, M, GGG, GGA y GGC; CAT y CAC; ATT, ATC y
cytochrome oxidase subunit I (COI)	N, P, Q, R, S, ATA; AAA y AAG; CTT, CTC, CTG y CTC, TTG; T, V, Y, W, y ATG; AAT y AAC; CCC, CCT y CCA; CAA y codones de paro CAG; AGG, AGA CGC y CGG; AGC, TCT, AGT, TCC, TCG y TCA; ACT, ACA, ACC y ACG; GTC; TGG; TAT y TAC; TAA, TGA y TAG
Scolopendra polymorpha voucher	A, C, D, E, F, GCC y GCA; TGC y TGT; GAT; GAA; TTT; GGA
SpoCHILO gelsolin mRNA, partial cds	>GQ887646.1 G, H, I, K, L, y GGG; CAT; ATT y ATA; AAA; TTG y TTA; M, N, P, Q, R, ATG; AAT y AAC; CCA y CCT; CAA y CAG; S, T, V, Y, y CGA, AGA, CGT y AGG; TCA y AGT; ACA, ACT codones de paro y ACC; GTT, GTA y GTG; TGG; TAT y TAC.

- * En negritas se observan los codones con mayor uso de frecuencia y los siguientes codones marcados en letras normales son los codones presentes en cada especie.
- * El uso de codones va de mayor frecuencia a menor frecuencia y van ordenados conforme al acomodo de los aminoácidos como se observa en la Tabla.
- * Se divide con (;) cada aminoácido mientras que las (,) y las (y) son referencia de codones presentes en sus secuencias.

Tabla 3. Uso preferencial de codones

AMINOÁCIDOS	USO PREFERENCIAL DE CODONES
Ala	GCA GCT GCC
Cys	TGT TGC
Asp	GAT
Glu	GAA
Phe	TTT TTC
Gly	GGA GGC
His	CAT CAC
Ile	ATT
Lys	AAA
Leu	TTA
Met	ATG
Asn	AAT

- En verde con letras roja se observa el uso preferencial de codones en ambas Tablas
- En amarillo con letras azules se observa a los únicos codones que presentan un solo codón como es Trp = triptófano y Met = metionina.

	DE CODONES
Pro	CCA CCT CCC
Gln	CAA
Arg	AGA CGA
	AGT TCA TCT
Ser	TCC
	ACA ACT ACC
Thr	GTA GTT
Val	TGG
Trp	TAT TAC
Tyr	TAG
end	TAA

11.4. ANEXO D

Tabla 4. Datos generales por especie y aminoácidos de la que se partió para hacer el estudio bioestadístico.

	CODON	>J491263.1	KR705647.1	>KF676538.1	>KK525646.1	>KP04731.1	>KR705672.1	>KR705665.1	>KF676530.1	>KF676509.1	>JK531873.1	>AB672685.1	>N004025.1	>N004022.1	>N004020.1	>XK525615.1	>LT841323.1	>LT841322.1	>LC009036.1	>KJ812087.1	>KF676540.1	>JX531841.1	>HQ402541.1	>HM453309.1	>GQ887646.1
AA	GCG	0.23	0.04	0	0	0	0.05	0	0	0	0.05	0	0	0.25	0	0.26	0	0.19	0.09	0.12	0	0	0.11	0	
	GCA	0.32	0.63	0	0	0.74	0.61	0.43	0.5	0.5	0.39	0	0	0.25	0	0.26	0	0.32	0.81	0	0.28	0.37	0	0.19	
	GCT	0.23	0.21	0	0	0.21	0.2	0.3	0	0.3	0.39	0	0	0.25	0	0.39	0.43	0.21	0.19	0	0.41	0.42	0.5	0.37	
Ala	GCC	0.22	0.13	1	1	0.05	0.15	0.25	0.5	0	0.33	0.39	0	0.5	0.25	1	0.16	0.29	0.35	0	0	0.29	0.31	0.5	
	TGT	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0.05	0.28	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	TGC	0.06	1	0	0	0	0	0	0	0	0.71	0.47	0	0	0.5	0	0	0.55	0	0	0	0	0	0.07	
Cys	GAT	0.02	0.63	0	0	0.79	0.4	0.86	1	0	0.43	0.2	0.28	0.89	0.88	0.67	0.78	0.73	0.5	0.47	0.71	0	0.75	1	0.82
Asp	GAC	0.39	0.57	0	0.22	0.57	0.14	0	0	0.57	0.8	0.71	0.13	0.19	0.33	0.22	0.27	0.6	0.53	0.29	0	0.23	0	0	0.38
	GAG	0.37	0	0	0.47	0	0	0	0	0	0	0	0.43	0.49	0.5	0.56	0.17	0.2	0.13	0	0	0.38	0.5	0	0.25
Glu	GAA	0.63	1	0	0.53	1	1	1	0	0	1	1	0.57	0.53	0.9	0.48	0.83	0.8	0.87	1	0	0.67	0.5	0	0.75
	TTC	0.57	0.67	0.77	0.63	0.5	0.58	0.55	0.81	0.6	0.64	0.75	0.69	0.71	0.85	0.51	0.39	0.62	0.5	0.5	0.49	1	0.77	0.69	
Phe	TTC	0.29	0.38	0.38	0.3	0.42	0.48	0.4	0.5	0.5	0.59	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.57	
	TGG	0.57	0.23	0.5	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	
	TGA	0.22	0.65	0.33	1	0.58	0.63	0.68	0.33	0.33	0.71	0.65	0	0.25	0.5	0.43	0.45	0.45	0.45	0.81	0	0.69	0.59	0.33	0.45
Gly	GTC	0.17	0.16	0.33	0	0.37	0.22	0.11	0.17	0	0.07	0.25	0.33	0.5	0.5	0.5	0.21	0.25	0	0	0.18	0.41	0	0.18	
	GCC	0.19	0.06	0	0	0	0.15	0.11	0.33	0.75	0.14	0	0	0.25	0	0.13	0.21	0.2	0.19	0	0.06	0.06	0.33	0.09	
	CAT	0.42	0.17	0.67	0.69	0.5	0.5	0.71	0.67	0.75	0.69	0.69	0.47	0.79	0.67	0.6	0.54	0	0.92	1	0	0.7	0.75	0	
His	CAC	0.58	0.83	0.33	0.31	0.5	0.5	0.29	0.2	0.5	0.33	0.25	0.31	0.33	0.53	0.29	0.33	0.4	0.46	1	0.08	1	0.3	0.25	
	ATA	0.2	0.37	0.15	0.2	0.44	0.41	0.2	0.44	0.3	0.5	0.57	0.43	0.4	0.32	0.3	0.2	0.39	0.32	0.5	0.53	0.24	0.3		
	ATT	0.48	0.28	0.62	0.5	0.5	0.41	0.3	0.41	0.3	0.13	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0	
Ile	TTC	0.29	0.3	0.3	0.24	0.24	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0	
	AAG	0.64	0	0.7	0	0	0	0	0	0	0.4	0.5	0	0	0	0	0	0.25	0.14	0.2	0	0.6	0.44	0.17	
Lys	AAA	0.36	1	0.3	1	1	1	1	1	1	0.5	0.5	1	0	1	1	1	0.75	0.86	0.8	1	1	0.5	0.56	0.88
	TTC	0.2	0.05	0.2	0.25	0	0	0	0.36	0.17	0	0	0.16	0.18	0.21	0.19	0.26	0.16	0	0.09	0.09	0.1	0.36	0	
	CTG	0.16	0.05	0.2	0.06	0.09	0.09	0	0	0	0	0	0.2	0.2	0.13	0.16	0.11	0.22	0.03	0	0.09	0.09	0.13	0.07	
	CTA	0.13	0.32	0	0.19	0.21	0.29	0.17	0	0.11	0	0.26	0.21	0.08	0	0.17	0.16	0.15	0.09	0.09	0.39	0.24	0.17	0.07	
	CTT	0.24	0.05	0	0.18	0.15	0.18	0.06	0.22	0	0.05	0.25	0.23	0	0.08	0.18	0.13	0.2	0.25	0.09	0.17	0.2	0.13	0	
Leu	TTC	0.2	0.05	0	0.19	0	0	0	0	0	0.35	0.22	0	0	0.12	0.15	0.12	0.12	0.12	0	0.12	0.12	0.12	0	
	Met	ATG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	ATAT	0.39	0.67	0.7	0.33	0.8	0.7	0.82	0.76	0.83	0.89	0.56	0.5	0.67	0	0.25	0.8	0.62	0.54	0.55	0.72	0.86	0.94	0.76	0.7
Asn	AAC	0.61	0.33	0.3	0.67	0.2	0.3	0.18	0.24	0.17	0.11	0.44	0.5	0.39	1	0.75	0.2	0.38	0.46	0.45	0.28	0.14	0.06	0.24	0.3
	CCG	0.25	0	0.18	0.29	0	0	0	0	0.08	0	0.67	0.67	0.33	0	0.09	0.18	0.14	0.17	0	0	0	0	0	
	CCA	0.24	0.5	0.18	0.29	0.64	0.62	0.18	0.17	0.25	0.5	0.17	0.17	0.67	0	0.31	0.32	0.38	0.42	0.38	0.23	0.5	0.46	0.3	
	CCT	0.2	0.25	0.06	0.14	0.14	0.06	0.06	0.75	0.33	0.37	0.33	0.25	0.25	0	0.5	0.46	0.14	0.43	0.5	0.46	0.46	0.3	0.3	
Pro	TCC	0.19	0.05	0.24	0.21	0.12	0.06	0.65	0.5	0.5	0.17	0.17	0.05	0.21	0	0.09	0.09	0.21	0.2	0.21	0.4	0.44	0.24	0.24	
	Gin	CAG	0.23	0	0	0.67	0	0	0	0	0	0.62	0.67	0.67	0.53	0.29	0.44	0.25	0.25	0.2	0.2	0.2	0.2	0.25	0.25
	CAA	0.28	0.8	1	0.33	1	1	1	1	1	1	0.39	0.38	0.33	0.42	0.71	0.56	0.75	1	0.8	0.15	0.5	0.25	0.2	
	AGG	0.21	0	0.53	0	0	0	0	0.68	0.59	0	0	0	0	0	0.11	0.14	0.27	0.46	0	0.13	0.52	0.11		
	AGA	0.14	0.58	0	0.39	0.55	0.44	0.27	0.27	0.43	0	0	0	0.25	0	0.54	0.52	0.55	0.56	0.29	0.57	0.53	0.24	0.33	
	CGG	0.26	0.17	0.11	0	0	0	0	0.04	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0.06	0.1	0.12	0.06	0.06	0	0	
	CGA	0.18	0.17	0	0	0.01	0.45	0.37	0.05	0.29	0.19	0	0	0	0	0.14	0.12	0.16	0.11	0.06	0.2	0.09	0	0.44	
	CGT	0.31	0	0	0.06	0.17	0.15	0.13	0.23	0.03	0.19	0.27	0.08	0.17	0	0.13	0.05	0.19	0.12	0.07	0.11	0	0.13	0	
Arg	TGT	0.15	0.26	0.06	0.06	0.13	0.05	0.22	0.25	0.19	0.17	0	0	0.25	0	0.21	0.25	0.2	0.15	0.11	0.13	0.15	0.06	0	
	TGC	0.22	0.09	0.42	0	0	0.03	0.34	0.05	0.05	0.05	0.05	0	0.17	0	0	0.03	0.32	0.17	0	0.54	0	0.06	0.31	0.13
	TGG	0.19	0	0.09	0.09	0	0	0	0.07	0.07	0	0	0.09	0.09	0	0	0.25	0.11	0.25	0	0.04	0	0	0.06	
	TCA	0.2	0.71	0.09	0.48	0.46	0.56	0.51	0.16	0.08	0.27	0.33	0.67	0.67	0.5	0.5	0.15	0.08	0.19	0.43	0.07	0.63	0.25	0.08	
	TCT	0.09	0.09	0.15	0.26	0.15	0.19	0.4	0.19	0.16	0.09	0.25	0	0	0.14	0.17	0.19	0.13	0.17	0.07	0.25	0.5	0.29	0.06	
Ser	TTC	0.18	0.09	0.06	0.17	0.15	0.13	0.23	0.03	0.19	0.15	0.27	0.08	0.17	0	0.13	0.05	0.05	0.19	0.19	0.11	0	0.13		
	AGG	0.24	0.06	0.3	0.22	0.06	0	0.2	0	0.22	0.11	0.25	0.2	0.25	0	0.11	0.13	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.15	0	
	AGC	0.23	0.23	0.13	0.13	0.06	0	0.29	0.1	0.2	0.1	0.2	0.54	0.54	0	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
	AGT	0.22	0.34	0.44	0	0.23	0.25	0.53	0.2	0.26	0.17	0.25	0.64	0.56	0	0	0.47	0.28	0.26	0.18	0.44	0.3	0.26	0.17	
	ACC	0.31	0.12	0.31	0.44	0	0.13	0.18	0.47	0.28	0.42														

Número de clona	Nombre y de plásmido	Fragmentos	Tamaño aproximado y sitios de corte de enzimas en fragmentos clonados	Secuencia obtenidas
1	P1	2	1000pb	<p>>180129-034_I18_p1-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1320</p> <p>CCGAAACTCTGATGGCTCGAGTTTTCAGCAGATAACCGCTGATGAATGCTATCCGAATTCACTGG TCGGACGCATCGCGCATCTGGCGTACGATCAGAGTACGTTCACCTGTGCCATTTCAGCAGTGC CAGCCAGAGTTTGAGATCAGCTTCACTCAGCAGTGCCTGAATTTCGTCAGCAGTGC ATTGATCCAGATCGCTGCTTCCAGCTGCTGACTTTAGCGCGAATTTCAGCAGTGC CTAGCAGTTCGCGTCCGGCAGTCTACCTCCAGAATAGTCAGCTCACAGTACGTTCAATGTTGC GCAAGCAGCCTCGCGTTCTAACGAACAGCAGCGCGCCAGCACGCCAGCACGGTAACGAC CGATACGGTGAACGTAAGACTCAGAATCATCGGATATCGTAGTTAACTACCAAGCTGATACGCTCAA CGTCCAGGCCACGGCTGCAACGTCGGTCGAATCAGGATGTCAGCAGCACATTTCAAGCGTCTCCA GTGCTGTTGGCGCAGGCCGGTGGTATGTCAGCTTACGGCTCAGGGCGCTGTTAGCGCTCAA GAGCTTCAGCAGCTCGCGTTCTAACGAACAGCAGCGCCAGCACGCCAGCACGGTAACGAC CTTCCAGGAAACTGACCTAGTGTCTGTTTGCAGTACCTCCAGAAGCTCAGTACGTTCTGCTGATG CAGGACGGTAGTCAGCTGGACTGAATGCGCACTTCCTGCGGCTTTCTAAAGCGCGGTAATGC GACGAATCGCTCCGGCATGGTTCAGAGAACAGAGCCTGATGACCTTCGGGATCTGCCATAA TGGTTCAACGCTCTCGATGAAGCCCATGCGCAGCTTCTGTCAGCTTATCGCAGAACAGCAGCTCA GTTTAGAGGGTCCAGAGTGCACGGTTCAAGGTTAGCTCAGAGTATCTCTAGAAGATCTCTACA ATATTCTCAGCTGGCCAGGGAAATCTGAAGGTTCTCTTATTCTCTCAAGAATTTCGGGGGTA TATTTAAAACCTTTATTAAAGAACATGGTAACACCCTCTCCAGGAAACCTTGTAGGTGGGG GGGGTTTTCTTGGGAAACCAACTCTCCCTGAAAAAATCGAGCAGCTAAATATTCTCAATAAGTGT TCTCCTGGACACACTTTTATTGGGTTTTTTTAAACAAGGGTTAAAGCCAACCTTCC CGGGAAAAT</p> <p>>180129-034_K18_p1-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1300</p> <p>CCCGTTCATTGAGAGATCTCTAGATGATACTGCTGGACCCCTGAAACGTTGCACTTGGACCTCTC TAAACTGAGCGGTGCTGTTCTGGATGAAGCTGACGAAAGTCTGCGCATGGCTTATCGAAGAGCTTG AACCATTTGGCGCAGATCCCGGAAGGTATCAGACCGCTCTGCTCTGCAACATGCCGAAGGCGAT TCGTCGCAATTACCGCGCTTTATGAAAGAGCCTGAGGAAGTGCCTGATTAGCTCAGCGTACTACCC TCCTGACATCAGCAGAGCTACTGGACTGTCTGGGTTATGCGCAAAACGAAGACTGGTACGTTCTC GGAAGCGGAAGATTGGTATGGCGGATTATCTGGTCTGACAAAAACCGCACTTGGGAAGTGGCTGA AGCTTCTGGCTAACGGCTAACACGGCCGGCTGAACGGTGCATGAACAGGCCGCTGCCGAACA GACACTGGAAACGCTAACAGGTCGCTGGACATCTGATTGGCAGCTGGTACGGCTGGGCT GGACGTTGAGCGTATCAGCTGGTAGTTAACTACGATATCCCGATGGATTCTGAGTCTTACGTTACCC TATCGCTGCTAACGGCTGTTGGGCTGCTGGCCGCGCTGCTGTTGGTAGAAGCCTGGAGGCTG TCTGCTGCTAACATGGACTACTTAAGCTGACTATTCGGGAAGTGAAGAATGGCAACGCAACT GCTAGGCAACCGCGTCTGGAAAATCCGGCTAACAGCAGCTGGAAAGCAGCAGTCTGGA TCAATACCGCACTGTCAGCAAATTCAAGCGACTGCTGAAGGTTGAAGAGCTGGATCTGAAACTCT GGCTGCGGCACTGCTAAAATGGCACAGGGTTGAACGTACTCTGATCTGTAACGCCAGTGCGCGATGCG TCCGAAACGTTGAATTCCGGATGACCTTCAGGGCTGTTCTGCTGAAACACTGAGCCATCCGG AAGATTGGCGGGCGCTCCCTATAGTGGAGTGTATTACGCCGAAGGGATATGGGTCTTCAAGGG CAAGTGGTAAAGCGGTTGAATTCTCTTCTGATGAAAACAAACATGGAAATGGGAACTTGGCT CCCAAGTAAAATAAGAGATAATAACCGAAAACCTCTCCGGTTTGTAGAATTGGAGTT TCCACCCATTAAAAAAATGTGTTTAAACCTACTCCCCACGCCGGGAGGCCCTCCA</p> <p>>180327-020_I20_p2-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1270</p> <p>TCCCGAACTTCGAATGGCTCGAGTTTCCAGCAGATTGGAACGTTCAACAATACACATAAAA AAGCCATTTCACTTGCAAGGTTATGATGAAGAAGTCGATTCTCGCTGTCTTGTAGTCGGCTC TCCACAGGGGCTCCAGCTATGGCGCTACCCGGAGCGGTACGTAACCGAACGATACCACTACGCA CCGTTCTCATGGCAAAAGATGCTAAAGGGTATTGGGTTCTGGATATCGATCTGTAACGAGATGTC AAACGGATGCAAGGTGAAGATCTGGGTTGCCAGTGTACTTGGCCTGATCCCTACTGAAACGG AAAAAAATCGACGCTATTTCCTGCTTCCATTACCGATAACGTCAGCAGGAGATTGCTGATAA TATCTTCTAGAAGATCTCTAACATATTCTCAGTCGCATGGAAAATCGATGTTCTCTTATTCTC TCAAGATTCTCAGGCTGATATTAAACACTTATTTAAAGAAGTCTAACCCCTCATCAGGAAAC GATTGTTAGGTTGGCTGGGGTTCTTGGCAATCTGCACCTCTGATGGAAAATACGGAGCTAAATTTCA ATATGTTCTCTTCTGACCAACTTATTCTGCTTATTGGGAAACAGGGTTGAGCAGCAAGGCTT TCAGGGAAAATGAGCACAGGGAAATTTTATTAAAAAATTTAAAATTTGAAAGAAAAGTTCAAGGG GTTAAGAGCCATCCCTTGGCTTGGCAAGGTTCTCTGAGGATTCTTAAACAAAAAGAAC GTTCTGTTGGAAACACTGTTATTAAAGGTTAAAACCCCTCTGGTGTAGGAAATTATTATCTCC GGCTTCATAAAATTCCCAACCCATTATTCAGGCCAAAGGGAGGCTAAAGGGTGGAAAAGGCC CTGGGGGGTGGCGTAAATGGAGCTGGAGGCTAACCTCCACATTAAAATTGGCTTGGCGGCTTCA ACTGGCCCAAATTGGCTTCTCCAGTTCGGGGAAAACCTTGGTCTGGCCGGCTGGCATT TAAATGGAATTCCGGACAAAACAGCCGAGGGAGGAAGAAGGCCGATATTGCGGTAATTG GGAGAGGCTCTTACCGACCTTCTTCCACAAATGACAACGGAGATTACGAACTGGGGAGGAATTG GGTAGCAGCGTTACGGGAACCTGGCAGG</p> <p>>180327-020_K20_p2-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1102</p> <p>GCCGTAAATTGAGAGATCTCTAGACGATATTATCCAAAGCAATTCTCCCTGCTGACGTTTATCG TAATGGAAAGCAGCAAAATAATGCGCTGATTCTGGCTTCTGCTGATGGGGATCAGCGCTCAAGT CAACTGGCAACCCAGGTACATTCTACCTGCTCATGGCTTACCTGTCAGCTGGTACGTTACG CAACAAAATCACCTTCTAGCTTCTGATGAGAACGGCTGCTGGAGAGGCCAGTAACAAAGACAGCG ACTTCCGGTAGCCGCTAGCTGGAAAGCCGCTGTTGGAGAGGCCAGTAACAAAGACAGCG ACTTCTCATACATAACCTCTAGTGGAAAATGCTTCTGGTATTGTTGAGCTGGTCAACT TTGCTGAAAATCTGAGGCAATTGGGAAGACTGGGGGGCTCTCCCTATAGTGGAGCTGTT GATGGGATATGGTGTGAGGCAAGTGTAAAGGAGTGGATTCTACATGATGATGAAACAAATG</p>
2	P2	N/D		

				AATGGAACCTGCTCCAAGTAAAAAATAGAGATAATCCGAAA ACTCATCGAGTAGTAAGATTAGAGATA ATACAACAATAAAAAAATGGTTAGAACCTACTCACAGCGTGATGCTACTAATTGGCAATTTCAG ATGAAGTATCATCAAGAATTAAATGAAGAACCTCAGAGCTTCTGATAACGCCATTTCAGGTTAAATTTGCAAAA TAATATAATTGGCTGCAAGGGCGGCCTCGTATAACGCCATTTCAGGTTAAATGGCAATTTCAGGTTAAATTTGCAAAA TGTTTCTTAGACGTCAGTGCACGTGCGGAAATGTGCGGGAACCCCTATTGTTATTGCA AAATACATTCAAAATATGTATCCGCTCATGAGACATAACCCGATAATGCTTAAATAATTGAAA GGAGAGTATGAGTATTCAACATTGCACTGTCAGTGTGCGCCGTTACCCCTTTGCGCATTTGCCCTCGG TTTTGCTCACCCAGAACCGCTGGTAAAGTAAAGAATGCTGGATGAATCCAGTGGGGGGCACGA
3	P3	3	400pb+ 1000pb= 1400	>180129_034_M18_p3-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1313 CCCCGAATTGGATGGCTCGAGTTTCTAGCAGATTCTTCTAGAAGATCTCTTACATATTCTCAGCT GCCATGGAAAATCAGATGTTCTTCTTCTCAAGATTTCAAGGCTGTTGATATTAAACTTATATA AGAATCATGCTAACACCCATCATCAGGAACCGTTAGGTGCGCTGGGTTCTTGGCAATCGACTCTA TGAAAATCAGAGCTAAATATTCAATATGTTCTTGTGACCAACTTATTCTGATTTTTGAACGA GGTTAGAGCAAGCTCAGGAAACTGAGACAGGAATTAAATTTAAATTTGAAGAAGATTC GGGTTAATAGCATCATTGCTTGTGCAAGTCTCTCAGCATTCACAAAAGACGCTCTTGTAC ATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGTTGAAATTATTCCGCTCATATAACACATTACTATGAA TCCCCTAATGATTGGTAAAGTCAATTAGTTAGGTGATACATTTGTTGAACTACATCTGATATGAA TTGCGAAAAATCAATAATCAGACAAAGATGTGCGACTCGATATTTCACAGACTCTTACCAA TCTGCCCCGAACTTACCTAAACAGCTCAACGCTTACGGTGTGCGCACGCTTACGGTGT AAAACCTCTACTTACCGCAACTTGGCGTAACTGCCAACAAAGCGAGAACAAACATAATC CGAATCGACCGATTGTTAGGTAACTGTCACCTCCAAAAGGGACTCGCTGATAACGGTTGCGACT AGCTTATCTGTTGGCAATACGATGCCATTGTAATTGTTGACTGTTGATATTGTTGAGCAAAA CGACTTATGGTATTGCGAGCTCAGTCAGTACAGGCTGTTCTGTTACTCTTATGAGAAAGCTTC CCGCTTTCAGAGCAATGTTCAAGAAAGCTCATGACCAATTCTGAGCCACCTTGGCGAGCATCTACCG AGTAACACCACCCGCTATTGTCAGTGTGTTGAAATTGCGATGGGAAAATCGTTGAA AAACTGGGTTGGAACTGGGTTAATCCAGTAAAAGAAAAGTCCATATTGCGGAACTTGGGGAGCG AAAATGGGAAACCTATCCCCACCTTCTGTGATAGGTCTTCTATTCCCTCaaaaaaATTGGG TTATAAAAAGGCCGACTCAAAAGCAATCCCATTCTGCGCCAATTCTTGGTAAATCCCCCT CA
				>180129_034_018_p3-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1255 GCGGTGATTGAGATCTTCTAGATGATCTGCTAAA ACTCGAGGCATCCGGAGATCTGGCGGCC GCTCTCCCTATAGTGAGTCGATTACGGGATGGATGTTCAAGGCAACAGTGTAAAGCAGTGT ATTATTACTATGATAAAACAAATGAGACCTCTCAGGTTAAAGTAAAGATAATACCG AAAACCTCATCGAGTAGAAGTAGAGATAACAAATAAAAAAAATGTTAGAACCTACTACAGC GTGATGCTACTAATTGGACAATTTCAGATGAAGTATCATCTAAGAATTAAATGAGAACACTTC GAGCTTTGTTAAAATTGGAAAATAATATAATTGGCTGAGGGCGCTCGTATAACGCC TATTGTTAGGTTAATGTCATGATAATGTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTGGGAAATG TGGCGGAAACCCCTATTGTTATTCTCAATATTGAAATGAGATGAGTATTCAACATTCCGTTGCGCTTA TCCCTTTTGCGGATTGCTCTGTTCTGTCACCCAGAACGCTGGTAAAGTAAAGAT CTGAAGATCACTGGGTCACGGAGTGGGTTACATCGAATGGATCTCAACAGCGTAAAGCTTGGAGA GTTTCGCCCCGAAAGACGACTGGTGGCGCATACATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGT CCCGTATTGAGCCGGCAAGAGCACTGGTGGCGCATACATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGT ACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAATTGCACTGCTGCCATAA CCATGAGTATAACACTGGGCCACTTCTGACAAACGATCGGAGGACCGAAGGAGTAAACCGCTT TTTGACAAACAGCGAACCTGAGACACCGATGGCTGAGCAATGGCAACACGTTGGCGCAAACATT TACCCAAACAGCGAACCTGAGACACCGATGGCTGAGCAATGGCAACACGTTGGCGCAAACATT AACTGGGCAAAATAATTACTCTAACCTTCCGGAAACAATTAAATAAAACTGGGATGAAGGGAAA AAATTCCAGGAA
4	P4	4	Menos de 200pb+400pb +1000pb=150 0pb	>180129_034_A20_p4-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1255 TGCAGGAAATTCTGATGGCTCGAGTTTCTAGCAAGATTCTTCTAGAAGATCTCTTACATATTCTCA GCTGCCTATGGAAAATCATGATGTTCTTCTTCTCAAGATTTCAAGGCTGTTGATATTAAACTTATA TTAAGAACTATGCTAACACCCATCATCAGGAACCGTTAGGTGCGCTGGGTTCTTGGCAATCGACTC TCATGAAAATCAGAGCTAAATATTCAATATGTTCTTGTGACCAACTTATTCTGATTTTTGAA CGAGGTTAGAGCAAGCTCAGGAAACTGAGACAGGAATTAAATTTAAAGGAAAGT TCAGGGTTAATAGCATCTTCTGTTGCAAGTCTCTCAGCATCTTAACAAAAGACGCTCTT GACATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGTTGAAATTATCCGCTCATATAACACATTACTGAT GAATCCCTAATGATTGGTAAAGTCAATTAGTTAGGTAACTGCTGAGGGAAACCCGAGCTGAATGAAGCC CAATTCTGCCCCGAACTTACCTAAACAGACTCAACAGCTTACCGTTGGCTTGCCACGCTTACTTAC TGTTAAACCTCTACTTACCGCAACTGGCGTAACCTGCCAACAAAGCGAGAACAAACATAACATC AAACGATCGACCGATTGTTAGGTAACTGTCACCTCCACAAAGGGACTCGCTGATAACGGTGGCAT GCTAGTTTACTGTTGGCAATACGATGCCATTGTAATTGTTGACTGTTGATATTGTTGAGCAA AAACGACTTATGTTAGGCTGAGCTCAGTCAGTACACGGCTGTTACTCTTATGAGAAAGCG TTCCCGCTTCAAGCAATGTTCAAGAAAGCTCATGACCAATTCTAGCCGACCTTGGCGAGCATCTA CCGAGTAACACCAACCCGCTATTGTCAGTGTGTTGAGCAATTGCGATGGGAAAATCGTTG AGAAAATGGGGTTGGTACTGGGTTAAATCAAAATAAAAGGAAAAGGTTAAATGCGAACCTT GGAGCGGGAAAATTGGGAAACCTTCCGCCACCTTCTGGAATGTTCTTCTATTCCCTC AAACATTAAAGGCC

				>180129_034_C20_p4-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1	1258
				GGGGTGCATTGTCAGAGCTTCTAGATGATCTGCTGAAACTCGGCCATCCGGAAGATCTGGCGCC GCTCTCCCTAAGTGAGCTTCTAGATGATCTGCTGAAACTCGGCCATCCGGAAGATCTGGCGCC ATTTTATTCACTATGATGAAAAAAACAAATGAATGGAACCTGCTCCAAGTTAAAATAGAGATAATACCG AAAACCTCATCGAGTAGTAAGGATTAGAGATAATACAACAAATAAAATGGTTAGAACCTTACTCACAGC GTGATGCTACTAATTGGGACAAATTCCAGATGAAGTATCTAAGAATTAAATGAGAACAGACTTCA GAGCTTTGTTAAAATATTGGCAAAATAATAATTCCGCTGAGGGCGCCCTGCTGATACGCC TATTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTCTTAGACGTCAGGTGCACTTTCGGGGAAATG TGCGCGAACCCCTATTGTTTCTAAATACATTCAAATATGTCGCTCATGAGAACAAAC CTCTGATAAAATGCTCAATAATATTGAAAGAGAGTATGAGTATCTAACATTCGCTGCGCCCTTA TTCCCTTTGCGCATTTCCTCTGCTCACCAGAACGCTGGTGAAGATAAAAGATG CTGAAGATCAGTTGGGTGACGGAGTGGTTACATGAACTGGATCTAACAGCGTAAAGATCTTGA GTTTCGCCCCGAGAACGTTTCAATGAGACGACTTTAAAGGTTCTGCTATGGCGCGTATTAT CCCGTATTGACGCCGGAGGCAAGGCAACTCGCTGCCGACACTACATTCTCAGAACGTTGAGT ACTCACAGTCACGAAAAGCATCTACGGATGGCATGACAGAAAGATAATGCACTGCTGCCATAA CATGAGTAAACACTCGGCCAACCTACTCTGAAACAGATGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTT TTTGCAACACATGGGGGATCATGAACTCCCCCTGATGTTGGAAACCGGAACTGAATGGAAGC CTACCAAAACGAAACAAACGTGGACACCCCCATGCCGTAACATGGCAACAAACGTTGCGCAA TATTAATGGGCAAAACTACTTATCTAGCTTCCCGGGAAACATTAAAACGGGATGGG GGGGGGATAAAAGT	
5		digestión	No se sabe	>180327_020_M20_-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1	436
				GGCGAAGATTGAATGAGGTCTCTATAAGATATTCAAGCAATCTCTGCTGACGTTTATGGTAATG GAAAGCGAGAAGAGGGAGGGGAGTTTTCGTTTCACTGAGGGGATCAGCGCTCAAAGTCACTGGC AACCCAGGTACATTCACCTGCTACCTGCTTACCTGCTTACCGAGATGATATCAAAGGAAACAAA ATCACCTTACATCTTCTGATGAGAACGGTGTAGGTGATCTGGTACCTACCGTCTCCGG TAACGCCATAGCTGGAAGGCCGTGAGAGACCGACTAACTAAGACTGAGCGAGAATCCACTT CATTATAACCTCAAAATGTTTTTTATGTTGTTGATTGTTGGACATTCAATCTGCTTGA AAAGCGCAAGATATCGATAGGA	
				>180327_020_020_-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1	549
				CGGGCGAACACAGGGATGTTGGAGCTTACGGGCTGCACCTCCAGTTGACGGGGGGAAAAGGC TTTCGAAACGCCGGAAAGAAATTGTTCTGACGGCTAGCTCCCTTCTTGGCGGCCCTTACA TTTCAGGGCATCTGTAAGGTCGCGTACCAACTCAAGACCCGAGACATGCCATACGCCAAACACC TATCGGAGATTGTTGCTATGAAAATGTTGACCAAAGAGACGGGAAATCTAAGTACGTAATAATT TGTGTTGTTGAAAGCCACCCGAACTCTTACAAAAGCCCTTACACACCCTTGGCTTCTTAGTTG CTTTATAACTTGCCTATCTACCGGAGAACAGACCCCTCACAGAACACCAGTGAACGAGCATCA CACGGCTATTTCAGTGGTAAGAATCCGGCTCTTCTTATTTCTAAACTGAGCTTGGCAG AACACGCCATTGAAAAGAAAAGTAACAAAAGAACAAAAACAAAAACAAAAACAAATTTC	
6	P6	Digestión parcial	No se sabe	>180129_034_E20_p6-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1	1188
				ACCCAAAGGGGGGGAAAGGTGTTGTTTAACTGTTGAAGGGGAAATGGTAAAGGGGTATGTTG TCCGTTTCAAAAAAATAGTTAGGATGTTCCAGGGGAAAGTCTTGGGGTCTGGAAGAATAGGAAG CCTGGCGAAGTAGATTAATGTCATCTCAAGGAGTCTGCGCTACGTGACATGTCAGCTCC GACAACGACGAGCTGTCAGGTTGCTTAAAGGCCGCCCTCAGACTGCGCAGAACGCC ATGCTGAAGGTTACTCGGGTGGCCCTGGCTTGGCTTGGGAATCTTACCTACAGTCGATATGACGG CTCCTGGCGACCTTCGACCAATGAACTCCCTACTACATGACTTGTCTGTCACGGGGCTTA TCTTGGGAGTGTGCGTACGATGACTGTCGTGTCGCTGACGACTCTCCATGCG ACGGCAAGCTCTACACGGTACTCGGGGACGGAACCTCTTCAACTAACACTTGGCAG GCCTTATTCCGGAGGTACCCCTCCAGGGATGACTCTAAAGGACAGATCCCTCAAGTGGCAG TTACTTAAGCTCAACCTGAATGACGGTACGACTAACACTTCACTGCGACACCACTACGTGCCAGGG ACGCTGAGCTACTCGGTCCCACATTGGCCACATCTTGGAAATTAGGACACACCTTAGTACT ACAGTATCGACGCCAGGGAGACGCCACTAGGCCGGCACTTCACACGGGTGGACAGCTGTAC CAGTGGCCAATCATAGTCTAGTAACTAGGACAAAAGGATCATCGAAGCAGTGGCTATCTGTTG TCTGCTGTTGACGGTATCTCTTCAAGTACGTCATGCTCACGGTCTGGCTTCTTGGCTTA TCTGCTGCGATACAATTCTGATTGAGGAAATAGTGTGAAACAAAATGCGGGGGACGACTTATG GAAAGCATGTGCTACGTTCCCTGAAATAGTATGGGAGGACTCCCCCTTCTGTGCTGAG CGAATTGTTACAGAGATGTCACGAGAACACAGAGCTGGTGAAGGGAGTGGGATCCATG TAAGCTTGCAGG	
				>180129_034_G20_p6-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1	1390
				CCCTCAATTGAGATCTCTAGAGATGGACATTTCAGATGAAAGTATCATCTAAGAATTAAA TGAAGAAGACTTCAGGTTTGTAAAAATTATTGCAAAATAATATAATTGCGCTGAGGGGGGG CCTCGTGTACGCCCTTATTAGGTTAGTCTGATGAAATAATGTTCTAGACGTCAGGGAC TTTCGGGGAAATGCGCAGGCCCTTATTGTTTCTTAAATACATTGAACTATGTCGCT CATGAGACAATAACCTGATAAAATGCTTAAATATTGAAAAGGAGAGTATGAGTATTCAACATT CCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTGCGGCTTGGCTCTGTTGCTCACCCAGAACGCTGG GAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTGGGTGACAGAGTGGTACATGCAACTGGGATCTCAACAGCG TAAGATCCTGGAGGTTGCGCCCGAAGAAGCTTCAATGAGTGGACTTTAAAGGTTCTGCTATG TGGCGGGTATTACCGTATTGCGCAGGCCAGGAGCAACTCGGTGCGCCCATACATTCTCAG TGACTGGTTGAGTACTCACAGAAAGCATCTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAATTG CAGTGTGCCATAACCATGAGTGAACACTCGGGCAACTTACTCTGACAACGATCGGAGGAC GGAGCTAACCGCTTTTGACACATGGGGGATCATGTAACCTCGCTGAGTGGGAC TGAATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGAACACGAGTGGCTGACATGGCAACAAAGCTGCG AACTATTAACTGGCAACTACTTACTCTAGCTCCCGCAACAAATTAAAGACTGGATGGAGGCG AAGTTGCAAGGACCACTCTGCGCTGGCCCTCCGGCTGGCTGGGTTATTGGCTGAAA CCGGTGAACGTTGGGTCTCCCGGATCTTGGCAGCACTTGGGCCCCAAAGGGTAAGCCCT TATCGGAAATTATCTACACCAACGGGGGACATCGGGCAACATTGGGATGAAACCAAA AATTCCCTGAGAATAAGGGGGCCCAACTGGATTAAAGACATTGTTGAAA TTTCCCCACTAATAACCTTTAAATTGTTTAAAAACTCCCCTTTTTATTTTAAAAA AGAGGTTCTCGGGGGAAAATACTCTTTGGAAAAATCTCCCTGGAAACAAAAACCCCT AAAAGGGGG	

7	P7	Digestión parcial	No se sabe con exactitud	>180129_034_I20_p7-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 GCCGTATTCGATGGCTCGAGTTTCAGCAAGATCTTCTAGAAAGATCTCTACAAATTCTCAGCTG CCATGGAAAATCGATGTTCTTCTTCTCAAGATTTCTAGGCTGATATTAAACATTATAA GAACATGCTAACCCACCTCATCAGGAACCGTTGAGGTGGCGTGGGTTCTTGCACATCGACTCAT GAAAACATCGAGCTAAATTCATGTTCTTCTGAGCAACTTATTCTGCAATTCTTGAAACGAG GTTTAGAGCAAGCTTCTAGGAAACTGAGACAGGAATTATAAAATTTGAAGAAAGTTCAG GGTTAATAGCATCATTCTGCTTCAAGTCTCTAGCATCTAACAAAAGACGCTCTTGTACA TGTTAAAGTTAACCTCTGTGTAATTATTATCGCTCATATAATTCCACACATTATAACGAGCGGA AGCATAAAAGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGGACTACTCACATTAAATTGCTTGGCTCACTG CCAATTGCTTCTCAGTGGGAAACCTGCTGCGACTGCTTAAATGAAATCGGCAACGCGGGGAGA GGCGTTTGCCTATGGGGCTCTTCCGCTACTGACTGCTCGCTCGGTCTGGCT CGCGAGCGGTACAGCTACTAACAGGCGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGATAACGAGGA AAGAACATGTGAGCAAAGGCGAACAGGCGAACCGTAAAAAGGCCGTTGGCTGGCTTTTC CATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAACATGCGCTCAAGTCAAGTAAACCCGACA GGACTATAAAAGATCACGGCTTCCCCCTGGAAGGCTCCGCTCTCTGACCTGCG CTTACCGGATACCTGTCCGCCCTTCTCCCTGGAAAGCGTGGCGCTTCTCATAGCTCACGCTG TATCTCAGTTGGTAGGTGCTGCTCAAGCTGGCTGTGTCACAAACAGGCTGGTAAAGTAAAG ATGCTGAAGATCAGTTGGGTGACAGGTTACATCGAACACTGATCTCAACAGCGTAAAGTGT AGAGTTTGCCTGGGAAAGCCTTCAATGAGTAAAGTGGTTAGACGACTTAAAGTTCTGCTATGCG ATACCGGATTTGAGCAGGCTTCAATGAGTAAAGTGGTTAGACGACTTAAAGTTCTGCTATGCG AGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAATTATGAGTGT TAACCATGAGTAAACACTCGGCCACTTACTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCG CTTTTGACACACATGGGGGATCATGTAACTGCCCTGATGTTGGGAACCGGAAACCTGAATGGA AGGCGCTACCCAAACGAGAACGGGACCCCCGATGCCGTTGAGCAATGGAACAAACAGTTGCAA CTATTAAACGTGGCGAAATACTTTAATTAACTTCCCCTGGGAAACATTATAAAACCGGAAATGG AGCGGGATAAAAATTGCGGGAAACACTT	1274
8	P8	6	300+400+100 0+1000+ 1500=3200pb	>180129_034_M20_p8-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 CCGGATAATTGGATGGCTCGAGTTTCAGCAAGATGGAAACGCTCCAAACATACAGGTTGACGG AAATTGATAAACCGCTATAACGGTATCTCAACAGATGGGATGACGGCGATCAGACGCCAG GGCGCTCGTAACCGACTACTACCCAACAGCTGATTAACGGCTTGGCGGTACCGATTTATGCTGAAA GGTGAAACCGACGAGCTGGCGCAGCTGTCGCGCAACACGCGTGGTGTGAGGCGACTATCGATGTT AACGGCTGGCGCGAACGAGCTGGCGCAACAGGAGTTGCTGATAATATCTCTAGAAGACT CCTACAATATTCTCAGTCTGGCATGGAAATCTGATGTTCTTCTCTCAAGATTCTCAGGCTGT ATATAAAACTTATAAGAACATGCTAACACCTCATCAGGAACGGTTGAGGTGGCTGGGTTT CTTGGCAATCGACTCTCATGAAAACACTACGAGCTAAATATTCAATATGTTCTCTGACCAACTTATC TGCAATTGTTGGAAAGGTTAGAGCTTACGGAAAGCTCAGGAAACTGAGAGCAGGAATTTTAAATAA AATTGGAAGAAAGTTCAGGGTAAATAGCATCCATTGTTGCAAGTCTCTCAGCATTAACA AAAGCTCTTGGACATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGAAATTATTCCGCTCATATAACC ACACATTATCAGACCGGAAAGCATAAAGTGTAAAGCCGGAGTGTCAACCGAGTGTGTCAC CATTGGCTTGGTGACTGCTATTGCTGCCATTGTCAGCGCTGCGACAACGCTTAACTGAA TCAGACAATCGCGGAAGTAGATGCTGTTACGATGTCGTTGACGTTCTCCACTACTGAA TACACTGACGCTAGGATGTTACGGCTGGAGTGTGAGTAAAGCTGACTGAAAGACGTAATAT CGGTAAGTCAACTGAATCGTGGAGCATGACCGCCGGAAATGAAATGTTGAACCTAAAGGCCAAC CAAATGGCCCGAAAGGTTAAAGAAAAGCCCCCGCTTCTCTCGCAAGGTATTTACCTAAGGGTCC CCCCCGCTTGGGAGGAAACAGACCTTATAATTACCGGCTCAAAATCAAGAGCGCGTGTGGA AACTCGGGAGCGGGAGGCTTTAAACATCCCTGGGGCGTTTCCCCCACCTGAAAAGGGTT CTTCCGAAAGGA	1324
				>180129_034_O20_p8-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 CCGGTGAATTGAGAGATCTCTAGAAAGATATTCAAGCAATCTCTGTCGGTCACAGGCTGCTTC GCCGCAGCGCTTAACATCGATAGTCGCTCACGCCACAGCGTGGCGACAGTGCCTGCCAG TCGTCGGTTTCACTCAGCATAAATCGGATCCGGCAACCGCGTAAATCAGCTGGGGTAGTGGC TGGTAGCGAGCGCTGGCGACTGATGCTGGCGCTACCCCATCTGTTGAGGATACGGTTAGCG CTGTTTACAATTGCGCTAACCTGTTAGTGGGGACGTTCAATCTGCTGAAAACACTCGAGCCATC CGGAAGATCTGGCGGCCCTCTCTTACTGTTAGTGGCTTACCGGCGATGGGATAGGTTGTTGAGG AAGTGTAAAGCAGTTGATTTCACATGATGAAAACAACTGAAATGGGAACCTGCTCAAGTTAA AAATAGAGATAATACCGAAAATCTCATGAGTAAAGGTTAGAGATAATACAACAAATAAAAGGTT TAGAACTTACTCACAGCGTGTGCTACTAATTGGGACAATTTCAGGATGAAAGTATCATCTAAGAATT AAATGAAGAAAGACTTCAGAGCTTTGTTAAAGGTTATTTGCAAAATAATATACTCGCTCGAGGG CGGCCTCGTGTACGCCATTGGGGAAACCCCTTGGGTTTCTTCTTCAATACCTAACATGAT GCTCATGAGACAATAACCTGATTAATGCTTAAATATTGAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACA TTCCGTTGCGCTTATTCCCTTTGGCGCATTTGCTTCTGTTGCTCACCCAGAAACGCT GGTGAAGAAAGTAAAGATGCTGAAGTCACTGGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACATGGCTCAACAG CGTAAGATCCTGAAAGTTTCCCGGAAAGAACGTTTCAATGATGAAACACTTTAAAGTTCTGG CTATGTTGGCGGGGTTATCCCGTATTGACCCGGGAAACAAACAAATTGGGTGCGCATAAAC	1207

				CTAATTCACAAAGGACTGGTTGAAAGAAC
9	P9	----	-----	-----
10	P10	Digestión parcial	El fragmentó que presentó es de 1500pb	>180129-034_A22_p10-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1145 CCCGTACTCTGATGGCTCGAGTTTCAGCAGATTCTTAGAAGATCTCTACAATATTCTCAGCTG CCATGGAAATCGATTTCTCTTATTCTCAAGATTTCAGGCTGTATATTAAACCTTATTTAA GAACATGCTAACACCTCATCAGGAACCGTTAGGTGGCGTGGTTCTGGCAATCGACTCTCAT GAAAACATCGAGCTAAATATTCAATGTCTCTTGACCAACTTATTCTGCAATTCTTGAACGAG GTTAGAGCAACCTCAGGAAACTGAGACAGGAATTATTAAATTTGAAGAAAGTTCAG GGTTAATAGCATCCATTCTTGCTGAAGTCTCAGCATTCTAACAAAAGACGCTCTTGA TGTTAAAGTTAACCTCTGTGAAATTATTACCGCTCATATCCACACATTACGAGCGGA AGCATAAAAGTGAAGCCTGGGGTCATGTAGGTAGGCTAACATCATTAAATTGCGTGGCTCACTG CCAATTGCTTCCAGTCGGGAAACCTGCTGCAGTCATTAAATGAAATCGGCAACGGCGGGGAGA GGCGTTTGCCTTGGCGCTTCCCGCTACTGCTGAGTACGGTTATCCACAGAATCAGGGATAACGCA CGGCAGCGGTATCGCTACTAACAGCGGTAAACGGTTATCCACAGAATCAGGGATAACGCA AAGAACATGTGAGCAAAGGCCAGCAAAGGCCAGGAACCGTAAAGGCCGCGTGGCTGGCTTTTC CATAGGCTCCGCCCTGCAGCAGCATCACAAAATCAGCCTCAAGTCAGAGGTGGCAACCCGACA GGATAAAAGATAACGGCTTCCCCTGGAAAGCTCCCTGCTGCGCTCTCGACCCGCT CTTACCGGATACCTGTCGCCCTCCCGGAAGCGTGGCTTCTCATAGCTCACGCTGAGG TATCTAGTTCGGTAGGTCGTTGCTGCTCAAGCTGGCTGTGTCAGCAACCCCCGCTCAGCCGAC CGCTGCCCTATCGGTAACTATCGTGGCTAACAC >180129-034_C22_p10-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1167 CCCGTATTGAGGATCTCTAGAAGATCTGGCTGAAACACTCGAGCCATCGGAAGATCTGGCGC CGCTCTCCCTATAGTGTGCTTACGCGGATGGATATGGTCTCAGGACAGTGTAAAGCAGTT GATTTTATTCACTATGTAAGAAAAAAATGAATGGAACCTGTCTCAAGTTAAAATAGAGATAATACC GAAAACATCGAGTAAAGTAGAGATAACAAATAAAAATGGTTAGAACTACAG CGTATGCTACTAATGGGACAATTCTCAGTAAAGTATCATTAAGAATTAAAGAAGACTTC AGAGCTTTGTTAAAATATTGGGAAATAATATAATTGGCTCAGGGCCCTGTGATAACG CTATTGTTAGGTTATGTGATAATAATGGTTCTAGCAGTCAGGTGGCACCTTCTGGGAAAT GTGCGGGAACCCCTATTGTTATTGTTCTAAATACATTCAAATATGTTACCGCTCATGACAAATAA CCCTGATAATGCTTCAATAATGAAAAGAGAGTATGGTGTAGTATTCACACATTCCGCTGGCCCT ATTCCCTTTTGCGGCTTGGCTCTGGCTTCTGCTACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAAAGAT GCTGAAGATCAGTGGGTGCAAGTGGGTCATCGACTGGATCTCACAGCGGAAGATCTTGGAG AGTTTGCCTGGGAAGAACGTTTCAATGATGAGCACTTTAAAGTTCTGATGTGGCGCGTATT TCCCGTATTGACGCCGGCAAGGCAACGCAACTCGGCTGCCATACATTCAGAATGACTTTGGTAG TACTCAGCTCACAGAAAAGCATTCAGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCGTGTGCCCC ACCATGAGTATAACACTCGGCCAACCTACTCTGACACAGATCGGAGGACCAAGGAGCTAACCGCT TTTGACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCCTGATCGTGGGAAACCGGAACGTAATGAAGCC CTACCAACAGAACAAAGCGTGAACACCCGAATGCTGTAACATGGGAACAAACGTTGGCCA 11 P11 digestión No se sabe >180323-037_I05_p11-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1311 CTCGACAATTGGTAGGCTCTGCTATAGCATAATATCGCTCAAGAAGATCTGGACCGAATCACT GGGGGATGAAAAGGGGGGTTGACTCTTATTCTCCAGGGACAGGCTGTATATTAAACCTTATATAA ACAACACTGCTAACCCCTCAGGAAACCGCTGGGGTGGCGGGGTTCTGCTAACACTCTCA AGAACACACTAACCCCTCGATACTGATGATTCCCTTATGACTTTTATCAATCTCGGAGTTGGTACAT ACCCATCTGGTATGATCTGGTCTTCCCAATGCTTACACATTCTCACACATTGAGAAACTCG CTATTGCTGACTCTTTTATTGGGCCCATCATATAACTCTAGCGACTGGGGCCCTCTTGG CTTGCCACGCTTACGGACTCTGCTCATGCTCTGACTGGTCTGGCTGGCTGGTCTGGGGA ATATGTCACGGACCCATTATTGATCTGGTGTGATGTTCTCATCTCCACCCCTCAGAGACT CGCTCCAGAGATAGGCTGCTATCATGAGATCGGGAAATAGCCATTGACTCTGCTGACTGGT CTGATATCCCTGAGCTTGACGGCTTGCTACCGTGTATCTCTCACCACTACACGGTGTCTGGTA CTCTATGCTGAAATCTCTGCTGCAAGAGCAGTGTGATCAAGCGGATGACCAATTCTGAGCAGAT CTCTGCGGAGTCTCCAGGAAACCCCTCTCAATGGTCACTGGCTGGCTGGCTGGCG CGATCTGGCGGCTCTGGCTCTGGTAGGTCAGTGGAGGAAAGTCCATATGCTCACCTAGGG CGGATAATTGCAACCTAGTCAGCATAATGTCATGCTGCTGGTAGCTGCAATACTATAAGCTTCA TGCTGACTTAAACCATGACTGACACAGTCGCACTGACTACTCAGTCGATAGACGACAGAACGA GCCCTACCGCTGATTGTTGACCAAGCGGCAACAGTAACCTCTGCGGCTGGGAACCTGGATGT AAGGATCCATACCGGGAAATGCGACACCCGAAACAACTGCTTAGTTCTAGGTTCTGAGGATG TAAAGGAAATATTACCGAAGATAATACTCTCTGGCTGGGACACATTACAGGCTGGGAA GTCAGAGCATGAAGATTGAGGGACAACTCCCTGGGAGCTGCTACCAACTCACCATATGGCATG >180323-037_K05_p11-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1099 CCCCAGAGAATCTGGAAAGGGGATCTTCAAGAAGATTCTGCTGAATACTCGAGCCATCGGATGAT CTGGCGGCCCTCCCTTAAAGGGATGAGTCGTTACGCGGATGGATATGGTGTCTGATGACAAAGTGT CAAGCAGTTGATTATTCTCTGATGAACTAACAGTGAATGGAACCTGCTCCAAGTTAAAATAGA CATAAACCGAAAACATCGAGTAGTAAGATTAGAGATAACACAAATAAAAATGGTTAGAATCT TACTCACCGCTGATGCTACGAAATTGGGACTATTCTCAGATGAAGTATCTCTAAAGAATTAAAGTGA GAAGACTTCAGAGCTTTGTTAAAGGAAATTCTGGGAAACATATCTGGCTGCAAGGGCGGCC CTGATAGGCTTATTGTTATGGTTATGTCATGATAATAATGGTTCTAGGCTGAGCTGGCACTTT GGGGGAAATGCGCGGAACCCCTATTGTTATTCTCATATAACGTTCAATATGTTGATTCAGCT AGACAATAACCTGAGCAATGCTCAATAATGAAAGGAAACAGTATGAGTATTCAACATTACGGT GTGCGCCCTTATTCCCTTTGCGGGATTTCGCTTCTGCTTCTGCTACCCATAACGGCTGGTAA GTAAAAGATGCTGAAGATCAGTGGGTGCAAGGTTACATGCAACTGGATCTCAATATGGTAAG ATCTTGAATAATTCTGCCACCGAACACGTTTCAATGATGAGCACTTGTGAGGCTCGCTAAGTGG GCGCGGTATTATCCGATGGACGCCGGTTAGGAGCAACTCGTGTGCGGCATACACTATTCTCATAA TGACTGGGATGACTCTCCAGATAAGCATCTACGGATGGTGGCCGACTAAGAATAATT ATGTAAGGTGCTGCCCTAAACCATGACTGGACACTGCGGGGGCCACCTTCTGACTTCGATCGGA GGGACCGAAGGGAACTTACCGCTTGGCAAGCATGGGGGAATCATTAAATTCTTCTG 12 P12 Digestión No se sabe >180323-037_M05_p12-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1293 ACATTGAGGGAGGTCGAATCGAGGCTGAGTTTCACTGAGCAAGATCTTCTAGAAGATCTCCTAC

				ATATTCTCAGCTGCATGGAAATCGATGTTCTTCTTCTCAAGATTTCAAGCTGTTATTA AACTTATAAGAAACTATGCTAACCACTCATCGGAACCGTTGAGGTGGCTGGTTCTGGC AATCGACTCTCATAAAACAGCTAACATTCATGTTCTTGACCAACTTATCTCAT TTTTTGAAACGAGGTTAGAGCAAGCTCAGGAAACTGAGACAGGAATTTTAAATTAAATT TGAAGAAAGTTCAGGGTTAATAGCATCCATTTCGTTGCAAGTCTCAGCATTCAACAAAAGA CGTCTCTTGCATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGTGAATTATTCGCTCATATTCCACACA TTATACGAGCGGAAGCATAAAGTAAAGCTGGGGTGCTAATGAGTGAAGCTAACCATATTG CGTGCCTACTGCCATTGCTCAGGAAACCTGTCGATTAATGAGTCAAGTCAGGGT GGCAGAACCGACAGGACTATAAAGATACCAAGGGTTCCTCCCTGAGAAGCTCCCTGCGCTCTCG TTCGGACCTCGCCCTACCGGATACCTGCTCCCTCTCCCTGGAGCGTGGGCTTCTCAT GTCACGCTGAGGTATCATTAATGGGGTAGGTGCTGCTCAAGCTGGGCTGTGTTGAG ACCCCCCGTTCAGCCGAACCGCTGGGGCTTATCCGGAAACAAATCCGCTGGAGTCCAACCCC GTAAGAACCGAATTATTCGCCCTGGGGCGCAACACCTGGTTAACAGGATTATTCACAAA GGTATGTTGGGGGGGCTCAAAGATTTAAAAAGGGGGGG >180323_037_005_p12_pJET1_2R.ab1 1393 CCGGCAATCTGAGGAGATCTCTAGAAGATCTCTGAAAGAAACTCTGAGCCATCCGGAAAGTCTGGCG GGCGCTCCCTATAGTGTAGCTGATTACGGGGATGGATATGGTTCAGGCACAGTGTAAAGCAG TTGATTTTACTATGATGAAAAAAACATGAATGGAAACCTGCTCCAAGTAAAATAGAGATAATA CGAAAACATCGAGTAGTAAAGGATAACAAACAAATTTAAAGTGGTAAACTACTAC AGCGTGTACTAAATGGGACAATTTCAGATGAAGTATCATCAAGAATTAAAGAAGAGACT TCAGAGCTTTGAAAATTATGGCAAAATATAATTCGCGTGCAGGGGGGGCTGATAC GCCTATTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTCTAGACGTCAGGGCACTTGGGGAA ATGTCGGGAACCCATTGTTATTTCTAATACATTAAATGATCCGCTCATGAGAACAT ACCCCTGATAATGCTCAATAATTGAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTCCGCTGCCC TTATCGCTTTGCGCATTTGCTCTTGTGCTCACCAGAAACGCTGGAAAGTAAAG ATGCTGAAGATCAGTTGGGTGACAGGTGGTTACATGAACTGGATCTAACAGCGTAAAGATCTT AGAGTTTCGCCCCGAAAGAACGTTTCAATGATGAGCACTTTAAAGTTCTGATGTGGCGGTAT TATCCGTATTGCGGGCAAGACGACTCGGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGT AGTACTCAGGTCACAGAAAAGCATTCACGGATGGCATGAGAATTATGAGTCTGCCA TAACCATGATAACACTGGGCCACTTACTCTGACAGATGGGAGACGAAAGGAGTAAACCG CTTTTGCAACATGGGGGATTATGTAACTCGCCCTGATTGGGCTGGGCCCTCCGGCGGGGGGG GAAACCACTTCCAAACGACGAAGCGTGGACCCCGAAGGCCGTAACAAATGGGACAAAGTGG CCAAACAAATTAAATGGGGGAAACATTTGGGAGGACCTTTGGGCTGGGCCCTCCGGCGGGGGGG GAGGGGGGGAAAAAAATTGGGAGGACCTTTGGGCTGGGCCCTCCGGCGGGGGGG TATTTGGGAAAAAAACTGGGGAGCGAGGGGGAGAGGGGGGCTCTCGGGTTATTTTTAA CTGGGGGCCAG 13 ----- ----- ----- ----- 14 P14 digestión No se sabe >180323_037_A07_p14-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1051 CCGGTGGGGCTTGCCTGGACTCTAGTAGGAGCAAAATGGAACGTTCAAGCTCACAGTATAAG GCAGCCATTCCACTTGGGGTTATGATGATAATTGCGTCTGGCTTGTACTCCGCTC TCCACAGCAGCTCCAGCTATGGCCACTACCGGAGACGCTGGTAGGTAACGGAAACGGATACCCATCGCA CCGTCGATGTAAGATGCTAAAGGTGATTGGCTTGTGATATGATCTGGTAAACGATGTC ACACGGATGCGGGTAAATGACTCTGGGCTGGCATGAGCAGAAATTGAGTCTGCCA AAATAATGACCCATTTCGCTTCCATTACCGATCACGTCATCAGGAGATTGCTCGAA TAGCTTCTAGAAAATTCGACACTGCTCAGCTGCCGGAATCTATGTTCTCTTATTCTC TCGGATTTCTGGCGTATTTAAACTATGGTAAAGACTATGCTAACCCACCTCATCAAGAACCGGAGA GTGGGTGGCTTGTATGTTGAAACTCCATGAACTTGGCTAAATTTAATGTT ACTTGACACGACTATTCTGATTTTGCAAGGATGTTGATCAGCCTCTCGAAACTGACAGG AATTATCTAATTTCACTTGAAAGACTTCCAGCTGATAGCAATCCATTGGCTTAA AGTCTTCAGCAGCTAAACTAAGGGCTATTTGGATATAAAGGCTAAACCCCGTGTGA CGTTTCTTCACTTAGGTTCACTTTTACACCTGGACAAACACTGTATGTCAGGGTGC AATGACCGAATATCTGTTAATGCACTAGCCCTGTCACTCGCTTCTACTGCAACGGTGC TGCAGCTATCAAATTATCCGCCCTATTCATAGTTGATGGATTATCGGGCTTTTCCCTG TTCATAGTGGGTGCT >180323_037_C07_p14-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1229 CCCCGAAGAGGGGGAGACCTCGAGAAACATCTTACCGCCTCCAGCTGACGTTATCGGGAG GGAATGCCACTAGCGGGATCGCCTTTTCCCTCCGGAGGGGATACCGGCCACCTCCATTG GCAACCCCTCACCCCTCCGATCCGGTGGGATTCGCGCCGATATCGAGATCACGCTCCAA ACCACCTTAAAGTCTTGTGATTGGCGCTAGGGTATCGGTTACTACCGCTCCGG TGGCGCCGAATGCTGGGGCTGGAGAGACGACTAATAACAGATGTAACAGAACGACTT CCTACTCTACCCCTTTGAAAATGGCTTATTGTTGATCGTGGAAACGCTCGCTTGT GTAACCTGTTCCATCCAGAAGATTGGCTGCCGCTCATATAGGGAGTCGTTACGCCGACGGAT ATGGTGGCTGCAACAGTGTAACTCCCTTAATTTCCTACTACCATAACAGAACAGAGTATGGA CCAGCTCTAGTTGCAAAGACACTACCGAACACTGTCGAGTAGTAAACATTAGATCTACTTCA CTAAGAAAATGCTATATAATTACTAACGACGTGCTACAAAGTGTGACAATCTTCCACATGA ATCATCTAAAATAAAATGAAGAACACTCCAGCTTGTAAATTGTCACAGGATATGTT AGGCTGCAAGCGCTGCCCGCAGACGGCATTTAGGTTAATGTCGAGAGTGCAGGGTCTCTC ACGCAGGGTGGCTTTGGGGTACGTCGGGGAAACATCTATGTTATGTTGACACGTT AATGTTATCGGCTCATGAGCGCTAGCCCTGATCCACTGCTCATATAACTGCA TGACTAGTCAAACGTGTCGGTCACTTGTGCTTGTGCTACGTTTACGACCTGCTATTCTG CCCCAAAACGGATAGCGTAAGCACACAATCTGTAAGAGTCATGCGTGCACAGACATGGATA ATGCGGATGTCGATAGCTAAACTCTGCAATTATGCTCCGCAAAAGTTTCCAGCAGAC ACTATGACTGATTGCTACTCGGGCTGGCGTAACTCCCATAGTGTGACTCCG -----
--	--	--	--	--

15	P15	digestión	No se sabe	>180323-037_E07_p15-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1327 ATGAAAACCTCCGGATGGCTCGAGTTTCAGCAAGATATCTTCTAGAAGATTCTCCCTACAATATCTCAGCTGCATGGAAATCGATTTCTCTTCTCAAGATTTCAGGCTGTATTAACATTATTAAGAAACTATGCTAACCACTCATCAGGAACCGTTGTAGGGCGTGGGTTCTGGCAACTGACTCTCATGAAACAACTACGAGCTAAATATTCAAATATGTTCTTGACCAACTTTATCTGCAATTGTTTTAGAACGAGGTTAGAGCAAGCTTCAAGGAAACTGAGACAGGAATTATTAAAAATTAAATTTGAAGAAAGTTCAAGGGTTAATAGCATCATTGGCTTCAAGGCTCAGCATCTTAACAAAAGACGCTCTTTGACATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGTAATTATTATCCGCTATAATTCCACACATTATA CGAGCCGGAAAGCATAAAGTGAAGCCCTGAGAGATCCCCATAATTCCCAAAGCGTAAACATGTG TGAAATAATTTGAGCTAGTAGGGTTGCAGGCCAGTAAGTCTCCCTGTTATTGTGTAAGCGAAATGCCAAACTCTCCATAGCGAACACTTGGCTGACTGTGTTGGGTGTCGAATTCAACAGGTTAGAGCTAGTCTGAGACAGGCTTCTGCGCTGAGCGAGATT TATACAATAGAAAATTGGCATGAGAATTGGATTGCTTTTATTAGCCCTTATAACCTAAAAGCTTTAGAGTGAACGGGGTTGGTGAATAGAGCTGCTGAGCGAGATT TCTGGCAAATTGGGAATGTTCTCTTATCCACCTTAAACAGAAACACAGCTTCTCAACGGGATTTTACACCAGGGGCTTAAAGCCACATTCTGGAAATAAGAAAAGGGGGGGGGTGGTTAACCGCAAAAGACCCCC
16	P16	digestión	No se sabe	>180323-037_E07_p16-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1355 ACAGGAACCTCCGATGGCTCGAGTTTCAGCAAGATATCTTCTAGAAGATTCTCCCTACAATATTCTA GCTGCCATGGAAATCGATGTTCTCTTCTTATCTCTCAAGATTTCAGGCTGTATTAACATTATA TTAAAGGAATCTGCAACCCACTCATCAGGAACCTGTTAGGTGCTGGGTTCTTGCACATCGACTTCATGAAATACCTCAATGTTTATCAAATCATTAAGGT AGATACACATCTTGTATGATCAAATGTTCCGCAAAATCAATAATCAGACACAAATGTGCGA ACTCGATATTACACGACTCTTACCAATTCTGCCCGAATTACACTAAACGACTCAACAGCTT AACGTTGGCTTGGCACCTTACTGACTGAAACACTTCACTTACCGAACCTGGCGAACCTGCC AACCAAAGCGAACACAAACATAACATCAAACGATCGCCGATGACGTTAGGAAATATGCACTGGCCAT AACCATGAGTGAACACTGCCAACACTTACTTGTGACAAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGC TTATGGCAACACATGGGGGATCTGTAATCGCCCTTGATGTTGGAAACGGGAGCTGAATGAAGC CATAACAAACGACGAGCGTGACACACGATGCCGCTAGCAATGGCAACACGTTGCCAAACTATT TAACGGCGAAATACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAAACACTGGATTGAGCGGATAAA AATTTCAGGAACACTTTGGGCTCGGGCTCCGGGGCCCTGGTTATTGGCGAAATACTGGGATAACCGGAGGTTCTCGGGACTACCTGGCAACCTCTGGGCAAAAGGTAACCC
				>180323-037_K07_p16-pJET1_2R_ab1 1296 GCGCTCATGGTAGAGATCTTCTAGATGATCTGCTGAAACACTCGAGCCATCCGGAAAGATCTGGCGC CGCCTCTCCCTATAGTGAAGCTTACCGCCGGATGATGGTTCTCAGGCCAGTGTAAAGCGAT TGATTTTATTCACTATGATGAAAAAAACAATGAATGGAACCTGCTCCAAGTTAAACATAGAGATAATAC CGAAAACCTCATCGAGTAGAATTAGAGATAAACAAACAAAAAAATGTTAGAACTACTCACA GCGTGTGACTACTAATTGGGACAATTTCAGATGAGTATCATCTAGAAGATTAAATGAAGAAGACCTT CAGAGCTTTGTTAAAAAATTGGCAAAATAATATAATCTGGCTCAGGGCGGCTCGTGTACG CCTATTGTTAGGTTATGTCTGATGATAATAATGTTCTAGACGCTCAGGTTGGCAGCTTGGGGAAA TGTCGCGGGAACCCCTATTGTTATTGTTCTAAACACATTCAAAATATGATATCCGCTCATGAGACAATA ACCCTGATAAAATGCTTCAAAATATTGAAAAGGAAGAGATGAGTATTCAACATTCCGTTGCGCT TATCCCTTTTGGCATTTGCCCTCTGTTCTGACCCAGAACGCTGGTGAAGTAAAAGA TGCTGAAGATCAGTGGGTGACGGAGTGGGTTACATCGAACACTGGATCTCACAGCGGAAGATCTTGA GAGTTTCGCCCCGAAGAACGTTCAATGATGAGACACTTTAAAGTTCTGCTATGGCGCGGTATT ATCCCGTATTGAGCGGGCAAGAGCAACTCGCCGCGCATACATTCTGAGATGACTTGGTGAAGTAAAAGA GTACTCAGGCTACAGGAAAGCATCTTACGGATGGCATGACGTAAGAGAATTATGAGCTGCTGCCAT ACCATGAGTGAACACTGCCAACCTGGGCTACGCCCTAATCGAAAAAAACTCAAACGGTTTGTACAGC CGGCCAACTCCCCCGGAGGCTTACCCAAAAGGTTGGCTTGC

				TTTTTGACAAACATGGGGGATCATGAACTGCCCTGATGTTGGGAACGGAGCTGAATGAAGC CCTTCAAACGAACAGCGTGGACACCACCAATGCCGTAGCATGGGAACAAACGTTGCCAACCA ATTAAATGGGAAAATAATTATCTTAACCTCCGGCACAAATTATAAGACTGGATGGAAGGG GGAAAAAATTGTCGGAACACCTTGGTGCAGGGCCTCCGGGGGT
17	P17	Digestión parcial	No se sabe con exactitud	>180129_034_E22_p17_pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1161 CGGCAAAGGAATTGGGGATGGCTCGAGTTTCAAGATTCTTAGAAGATCTCTACAATATTCT CAGCTGCCATGGAAAATCGATGTTCTTATTCTCAAGATTCTAGGCTGTATATTAAAATTCTA TATTAAGAACTATGCTAACACCCTCATCAGGAACCGTTAGGGCTGGGTTCTTGGCAATCGAC TCTCATGAAAATCTAGAGCTAAATATTCAATATTGTCCTTGCACCAACTTATTCTGCATTTTTG AACGAGGTTAGAGCAGCTTCAGGAAACTGAGACAGGAATTTTAAATTAAATTGAAGAAA GTTAGGGTTAATAGCATCCTTGGTCAAGTCTCAGGCTGTATCTAACAAAGACGTCCT TTGACATGTTAAAGTTAAACCTCTGTGTGAATTATTATCCGCTCATAAATTCAACACATTAGCA GCCGAAGCATAAAGTAAAGCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACATTAAATTGCGTTGCG TCACTGCCAATTGCTTCCAGTGGGAAACCTGCTGGCTGGAGCTGCTTAATGAATCGGAAACGCG GGGAGAGGGCGTTTGCCTGGGCTTCCCGCTCGCTACTGACTGCTGCGCTGGCT CGGCTGCGGAGCGGTATCGCTACTCAAAGCGGTAACTGGTTACCGGTTACACAGAATCAGGG GCAGGAAAGAACATGTGAGCAGAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAGGCCGCGTGTGGG TTTTCCATAGGCTCCGCCCTGACGAGCATCAAAAAATGACGCTCAAGTCAGGTTGCGAAC CCGACAGGACTATAAGATACCGCGTCTCCCTGGAGCTCTCTGCGCTCTCTGCT CTGCGCTTACCGGATACCTGTCCTTCTCCCTGGAGCTGGGCTTCTCATAGCTCAGC TGTAGGTATCTCAGTCGGTGTAGGGTGTGGCTCAAGCTGGGCTGTGTCACGAAACCCCGTTCAG CCGAACGGCTGCCCTATCGGAAACTATCGCTGGAGTCAAG
				>180129_034_G22_p17_pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1165 CGGGTTGAATTGTTAGGAGATCTCTAGAAGAAGATCTGCTGAAACACTCGAGCCATCGGAAAGATCTGC GGCCGCTCCCTCATAGTGTGTTAGCGGATGGATATGGTTAGGCTAGGACAAAGTGTAAAGCA GTTGATTTTATTCACTATGATGAAAAAACAAATGAATGAAACCTGCTCAAGTTAAAATAGAGATAAT ACCGAAAATCTAGAGTAGTAGGATAATAACAAATAAAAATGGTTAGAATTACTA CAGCGTATGCTACTAATTGGGACAACTTCCAGATGAGATCTACTAAGAATTAAATGAAGAAC TTCAGAGCTTTGTTAAAATATTGGGAAAAAATAATTGCGCTGAGGGGCCCTGTGATA CGCCTATTTTATTAGGTTAATGTCATGATAATAATGTTCTAGGCTAGGTGCGACTTTGCGGGA AATGTGCGCGAACCCCTATTGTTATTGTTCTTAAACATTCAATATGTTAGGCTCATGAGACAA TAACCCGTATAAATGCTTAAATAATTGAAAAGGAAGGATGAGTATTCAACATTCCGTTGCG CTTATTCCCTTTGGGCAATTGCTTCTGTTGCTCAGGAAACGCTGGTGAAGAATTAAA GATGCTGAAGATCAGTGGGTGCAAGAGGGTTACATGCAACTGAGCTCAACAGCGGTAAGATCCT GAGAGTTTGCCTGGAGAACGTTTCAATGATGAGCACTTTAAAGTTCTGCTATGTCGCGGTA TTATCCGATTAGCAGCCGGGAAGAGCAACTGGTGTGGCATACACTATTCTCAGAATGACTGGTT GAGTACTCAGGCTACAGAAAAGCATCTACGGATGGCATGACAGAAGAATTATGCACTGTC ATAACCATGAGTATAACACTGCCAACCTACTCTGACAAACGATCGGGAGGACCGAAAGGCTA ACCGTTTTTGACAAACATGGAGGGCATGTAACCTGCCCTGATGTTGGGAACCCGAAGCTGA ATGAAGCCCTTACCAAACGAACGAGGGTGGACACCAACAGAATGCCCTGGTAGCAATGGGCAAC
18	P18	digestión	No sabe	>180327_020_A22_p18_pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 1031 TACCCCGAAAATACGTGAAAGGCTGTTGGCAGATTCTTCAACAGATCTCTACAATATTCT TCAGCTGCCATGGATAATCGATGTTCTTCTTATTCTCGGATTTCAGGCTGTATATTAAAATTCTA TATTAAGAACTATGCTAACACCCTGTCAGGAACCGTTAGGGGAGTGGGTTCTTGGCTATCGAC TCTCATGAAACAGCAGAGCTAAATATTCAATTGTTCTCTTGCACCAATTATTCTGCTTTTTTG AACGAGGTTAGAGCAGCTCCGGAAACTGGGACAGGAATTGTTAAAATTTATGTTGAGAAA GTTCCCGATAATCATCATTGCTTGTGCTTCCACATCGTCCAAGACGTCACTTT GAAAAGATGAAGGGGGAGTCCTACTGTCAGATATTGAGCTCATATAATGAGCTTCAGGCTACGC AGATGCCGACATGAAAACAGTCGGTGCAAGCCCCATAAACTCTCGAACAATTGCGAGGATTCTG GACGATGCCATGGCATTAAACCTTCCCTGCTCTTACAGCAACCAATGGCGTGTAGAG CCCTCATTAATGAGTACGGCTGACCGCTGCTTGTGAGGATTATCAGTGGACCTACTCTGA ATGCTGGGTCGACTACCGCATACCTCATGGCTGACCTCCAGGATGCTCGTCTTGGAGTATA TTTCGTCAGAGATGGACTCTGCTGGAGTCTCTGAGAGTCGAACTATAACTTGATAATGACATTG CACTGTTGCTAGCTGAAAGATCCGTAATATGCCACGACCGCTCATCGCATCCGATCATGCT GCTCTTCCGACTACAACTCATGGCATGGGGTGTAGAGACTGTCAGGACTGATCTGATCAAAGAA CAAGCGATCATGCTCACTAACATGGCAGCAAAAGTACTGGCGCTTGTAAACAAATATG >180327_020_C22_p18_pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 1043 CCCGGAAACATGAACACTGACATCTTGGCGATCGCTGCTGAAATCTCGAGAACCCGGAGGATCTGGGG GGCGGCTCCCTATAGTGAAGACGGATTGGCGACGGACCCGGCTCAGCCACGTTATGTTGATG ATCGGACCAACGCTGACCATGCTTCAAAAGATTGGCTCCGATCCCAGGAAAATAGATAAAACT AAGGATCATCAGGTTGGTATTCTTATACCTCCTAAATAATGTTTAGATCTACTTATTCC GTTGCTACTCATGACACTGTGTTCCGGATCTCTCAACTTCGAATTATGAAAGATTCTCCAG CATTTTTTAGTTTGTGTCGCATCCCTCTCTCTGGTGGAGGAATTATCTCGAAAACCCCTA TTTATGGGAATTTCAGAAAATATTGGTACCGTAGATTTGGTGGCACTTTCGCGGCGTGTTC CGAAGTACGATCATTCTCATACTCTTGAATAGACCTTTTACCATCTTGAAGATATTCTCTG CCTCTCTCATGCTTGGAGGTTGACTCTGGAGGTTGACTCTGGTGTGAAACATGCTCTAAATCATTT GGTAGGTTGGCTGTTGGCAGACAGAAGGCCGGTGTGTTGAACCATGCTCTAAATCATTT GTGCGCCTCAGTGGGTAACCTCATAGCGGATCCTCATCGGGGATGCGATCTCTGAAATATGCTT ACTTCAACGCGGATATCGAGATGAGCTTGAACCTGAAGCTACGGAGGCGAGTTTTTATCATGAC AGTGGCTGGTTACACCTCATGACCCGCTTGAATTCTCCTACCCCGACCTTACCTCCGCT CAGGCCACCTCATCCGACTACAAAGCTCTGCGATAGGGAGCTAAGAACCTGGATCTGACTTGGAG TCTAACAGAGAAGAATAGATTTCTTATTAAACCTCATGGCAGCAAAGGTTCCATCCCTT TAACAAAT
19	P19	digestión	No se sabe	>180323_037_A09_p19_pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 702 GGCCAATAACGGGGGGAGGTGCACTCTAGAGGATCCCAAGATTGAATGTTCCAGCCACTGACTGAA TATGCACTGGAGAAAAGCCGTATATGTTGAAAGCTGAAGGCGAGAATACCAACTTCTCATCTCAGAAAT GCATCTGCACTGCACTCATATTCTCTGCTCCACACACTAACAAAGACATGATATGATTG ACATTGGCTCAAACCCCATCTCTGCAATTACAAACCTTCAACAAATCACCAGCTGATTCT

				CTACTGTATGCATCCATCAGAAATTAAAGGGGGACATGTTGCTTAAATCCGCTGTTTCCCCTCC CCTCTGAACCGAACAGTCACAGTGCCCCATACGGACAAAATCCGGATTGTCAGGACCCGCTCC AGCTCCCTATGCATGACCCAAACAGAATTGTTGAGAAAATGTTGACTACCGCATAGCCTTCACC TGACGGCCATACAGCTGGTTACGGACTACCTCAATACCGTAGAAATCCGTGCTGACACGTTGAAT CAGCTGGAGTAATTCCATGGAGACCTGACCTGGGATATCACTGGTATTGCGAAACCTCCATTCT GCTAATAATCAGTCATTTGCCAGAACCGGGTCACTCTGGTACACCAAACCTAAACACGGCAGAAC TCTGGACCCCTA
				>180323-037_C09_p19-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 851 CCCGCAGAAAGGGGGAAAGTCAAGCTGGAGGAGCTTGTGAAATGTTCCAACCCTGACTGAAATAC GCTGGAGAAAAAAAGAGAAGTGAAGTGAAGTGGGAGAACCCGGTTATCGCTCAGAAATGCACTGCA GCCTGGTCATCCTCATTCTGGCCGCCGACCCACTAGCAAGATGTTATGATTTAACCTTGGCT CCAAACCCCATCTCTGATTTCTACTGAAACCTTCAACAACTCACAGCTGATCTTCTATCTGATG CATCCAATGGATTATAACAAGTGGGAAATTGGGTTACTCCCCCGTCCCCCCCACCTCGAGCTT AAGAACGTCACACATACCTGACTGGTACAGTCTGAATGAAAGAACCTGCTCTGGTAAAGAA AGACCCGGACACTACCCGTTCTGACATCTCCGCTAGCTTACCTTCCGATGGGACAAGAGAT TGACTACTGACTACTGCTGGTTAACATGTTGTTCAACTGATCAATTGGGTAATTCTTG AATACCGCGAAGAATAGCATAAAGAATTAGGTCACTCCATTCTGAATCATCAGCAGCACAGGGCTTG AGTCTCTCGTCACTACACATCACCCGAGACGATAGTACTCTACGATCAATACGCTGAAAGTAGTTG CCTATTGCTGGAAATAATTCTGGCATAACTGTCGCGTGTGCGACTACTGACACGTCAGTCTGG CACAGTCCGGGTTCTGGAGCCTGGAAAGATCATTTACTTGTGAATTGGAAGCGCTAACTCGATTCT ATTGAAAACCTCAACTGAGTCA
20	P20	digestión	No se sabe	>180323-037_E09_p20-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 944 CCAACTGGAGATATGGAGGAGGCTCATCTGGAGGAGCTTCACTGGAGCTTCACTGGAGCTTCAAGGTTGAGC GCTGCAGCAAAGAGGAAAGTGAAGTGAAGTGGGAAAAGGAGGATGATGTTATCTGCTGTCATCTGCA GCCTGGTCATCCTTGTGCGCCCTGTGCTTCACTGGAGCTTCAAGGCTGAGTTGTTATGACTCTTAGGCT GACGAAAATCGCTGCGTTGACCGAAAGTGGCCAATTACGCAAGTGCATCTCATAACCGTAGG ATCTTGTGATTGGGCTGTGGAACCTTGTGTTCACTCTCTCTCTCCCCCTCTGAGGCTGAAT TCGTTTGTGCAAAGGATGGTACAACACCCGCTTGGATGAAACATTGAGCTTGCACGGGATGAATG ACCCCAACAAAGGCTGTCGCCCCCTCTCTGAGCTGGCTGAGCTACATCGGGTGGAGA TGATCCTCACTGAAAGAATTGCTGGGATGCTGTTGCTGCAACTGTCGCGAAACTGGTAAATTG TGAGGCTGGCTGGTAGCATTAAATTGTTGAGGAAAGCCGATAACCCGCTAATCCGAGGTGATATT CAACTGCGGGGACTCTGTTGAGTACCTGGTACAGTCCCTGGTACTTCGAGTCTGGTACTTCG GCTGAGCTACGGTAGGGAGGAGTACTATTGCTAAACTCTGCTGAGTCTGGTACTTCG CCGTAAAGTCGGCATAGTCAGTTGCTGAGGAGATCTCAATACTCGGAGAGAATCGCTG ACTGGACACCCGAGAGAAAACCAAGTAGTCTTCTGCTCAGGGTGTGCTATGGTATAGCTGTT GATAGTAGCCAAGGGCAGGGACACTGAGTGTAGGATATGTGA
				>180323-037_G09_p20-pJET1_2R.ab1 731 ACCAAGGTATGGGAAGGAGCTCTCATCGATGATTCCCTATTCTGAGGCTGGCTCCCTATGAAGGCTCC ACGCTCTCGAAAATTATTCTTCTTACGAGGATGAAAATTGGAGGCTGGGCTACAGCATTGAC CAGAAGTGTGGTCTCCACCAGCAGAGCTGCGCTCACAGGCCAGATTGCTTATGACAACACTCTCAG AACGTAaaaaATTACCCGATTATCTGAAGAGAGCAACAGCTCAGCTGACTCTGAAACCGTGTG GCCCTATTGATGGGGGGCTGTGGAAGGAGGTTAAATGACCTCCCTTGAACAAACACTCGAGGCTGAT CTCGTATGTCAAAATTGGATTCTCTGCGTGTGAGAGAAGGCCCCACAACCGAGCTATGGT CCGAACCTCTAGTGGTCTCGCGATGCTCTGAGCTCATCGCTACCCGCTGGACTGGCTGG GCATGAGAATTAGTGGCTAATTCTGAAGCAGCCAGCGCGAAGGGGATCAGTTGTTG GAGCCTCACTAACCGTTAAAGAGCAACGCTTCTGGTTTAACTACATCAGTCAAGTGGCAGTTA CGAGTAGAATGGGATATGGAGGATGAGCAGGTTGAGTGTAGGGATTTCGGAGAACAGTGGG AAGAATTCCGGCAGGGGGATGTTATTGGGATGTTGCG
21	P21	digestión	No se sabe	>180323-037_I09_p21-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1 948 CACGGTTTATAGGAAATTGCTCTCATCAGCTTACGGTATTCTGGTACAACCTATCGAGTTGGCC AGGCAGGAAAAAAACAAAGCTTAAAGTGGAGAAGGAGAACAGGCTCAACTAAGACTCAACCTT GGATCAGCAGCTGCTGCCCTCCATTGCAACCGCGATCGGCTCCAGCGAGTTATGTTATGCTGGCC TCTCTGCTGCCAAGGCTTCTGAGATTATGCCATGTTAAATATATCCAGCTGCTATTCTAA CCGATCCGGTGAAATCGATCGGGCTTGCCTGAAAAGACGCTTAAATCATTGATCCACTAC GGGCTACTCTCGTATTAGGCTTAGATTTCGAGGAGCGGGGGAGATGGCTCCGAGCTG ATAGATGATCTACACCGAGTGTGTTCTGCAAGCTCATTATGCTCCTACGTTACGCCGGTGGGAGA ACAAGTAGAAAATCAAAGAACATGCTCCCTAACCTAAAGCCGCTACCAATTGCTAAATCTGGC ATTGTTAGGCTCTCAGATACAGGAATCTTAGGTTAGAGAAGCAACCTTATGACCTAAATCAACATG CCTGCGAGAACAGTGGTAAAGTTTACTACACCTGCAAGGATGAGCGTGGAGTATTATTCTGG GCAATACGATGAGTAAATTCCAGCTGGGAAATACTTCTGGCTAAATCGCTGCTACTCTGGAA GGACTGGCATCCCTCTGGGATGCTCAAGGTTAACCCCGAGGGACTTTACTCGGGTAGTC TCGCTTACGGCTGGTAGAAAAAGAAAATGAGGATCTCCGATACGAATGTTCCAAAGGGCT ACTAATTAGCCAGTGGCTCAGCACAGGTGTGAGAGATGTTAAAGGGA
				>180323-037_K09_p21-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1 914 CAAAGAGATGAAAGGGAGTGGCTCTCATCAGCTTACGGTATTCTGGTACAACCTATGAAAGTGGTCTT GGCGACTCTAAATAGTGTGTTGCTGAGCTTGGCTTAAAGGAGGATCAGGCTGAAACTTCTGGT GGGAACCGTGGAAACTCCACATGAGAAACTATGCGCTTGTGCGTGGTCACTGAGTATTGCT CAGATGTTAACTTTCTATTGTTGCTGAGTGAAGACCGGCTGGTCACTGAGTATTCTGGT GGCCGAATCGCTGGCCCTGTGAGGAGATTGTTAACTGAGTGTGTTGGAAAACATTCTGGCT ACTCTGCTATCTTCACTGGCTTCTGAGTCAACTGAGACAGAACACTCCGCACTAGCGTATG AAGAATCAATCGAGAGTGTGTTCTGAGTCAACTGAGACAGAACACTCCGCACTAGCGTATG AGCCAAACATCAGTGAATCCCTGAAATTCTCTGAGATACCGAGAATGAGAATGAGAACCAGCT CTAGGCTGGTAGGACAAATACCGGGACTAGTGGCGGGAGTACATTGATTATACATCAGGAGCAT AATGCGAACTGTTTACTACCGGGTTATGCTACACAGTGGAGGAGCTGACTGCTGAGCT CCGAATATTACGATTGAGCAGAACACTCCCGCTGTGTAATAATTGACAAATAGTTCTAC ATTCTGCGAGTCAGCCTCTCGCTCCGGTATGTTAGTCAAACACCTGAGAGGAACGTTCCCTCG CTCTGGTCTCTATCTGGCAAGCGTGTGAGAAAATCAAGTGTGTTGACGAATTTCGATGTG

GGCTTCATGAGAAAT						
22	P22	Digestión parcial	Se observa un fragmento de 400pb	>180129_034_I22_p22-pJET1_2F_pJET1_2F.ab1	1202	
				GGCATATTCTGATGGCTCGAGTTTCAGCAGATAATTACAGCAATCTCTGGGCGCGATAGATCTGCTGTTACTGACGATTTCCGCGTTCGCTACTGGATGATAGCCAACATTCCGGTGAGTCGCTGTGGTATTACCAAGCGGTATCGGCTCGTATTGGCATGGTGAGTGGCTGAAGAACACGAGGTGTGATTGCTGCTAACCCGGAAACACGCTGGTGGACGAGCTGGTGTGGTAACTCTGGGTATCCCTGGCTCTTCATCATTGCTATTCTGGGCTCGCAACATTACGCAGCGGTGCTGGTTTATCTGTGGTGACGACGCTGCTGGCTGGATGTACTTCTAGAAGATCTCTACAAATATTCTCAGCTGCATGGAAAATCATGATGTTCTTCTTTTATTCTCTCAAGATTTCAAGGCTGTATATAAAACTTATATAAGAAGACTATGCTAACCCACCTCATCAGGAACCGTTGAGGGCGTGGTTCTGGCAATCGACTCTCATGAAAACACTACGAGCTAAATTACAATATGTTCTCTGACCTTTTGAGCAGGTTTAGAGCAGCTCAGGAAACTGAGACAGGAATTATAAAATTAAAGTTGAAGAAGAGTTCAAGGTTTAATAGCATCATTGTTGCTTCAGATTCTTAACAAAAGACGTCTTTGACATGTTAAAGTTAACCTCTGTGTAATTATTCGCTCATAAATTCCACACATTATAACGAGCCGAAGCATAAAAGTGTAAAGCCTGGGCTGCTTAATGAGTACACTCACGCTGCTGGCTCACTGCCAATTGCTTCCACGCTGGAAACCTGTGTCAGCTGGCTCACTAACGCGGGAAAGGCGTTGGCTATTGGGGCTCTTCCGCTCTCGTCACTGACTCGCTCGCTCGTGTGGCTGGCGGAGCGGTATCAGCTCAC TCAAAGGCGGTAAACCGTTACACGTTACACAAATCAGGGGATAACGAGGAAAAACATGGGACCAAAGGCCACAAAAGGCGGAGGACCGTAAAGGGCCCTTCTGGGTTTTCCATAGGGTCCGCC CCGAGAAAACATCCCCAAAATCAAAG		
				>180129_034_K22_p22-pJET1_2R_pJET1_2R.ab1	1165	
				GGCGTGAATTGAGATCTTCTAGATGATTACAATCCAGCCCAGCGCGTGTGACCGATAGAAACAGCACCGCTGCGTAATGTTGCGGAGGCCAGAATAGCAATGAGAAGGCCAGGATACCGAACAGTACGCTGTGAGACTCAGATTACCGATGCTCAGGTTACAGCTACGGCTGACAATCACACCTGCGTTTTTCAGCCCCATCATGCAATGAAACAGACGGTACCCAGTGGTAATACCCACACGAGACTAACCGGAATGTTGGCTATCATCCAGTAGCGAACCGGGAAATCGTAGTAAACAGCAGATCTACGCGCCAGGAGATTGCTGATAATCTGCTAAAACCTGAGGATCAGGCTACCGGAATCTGGCAGGATCTGGCGCCGCTCCCTATAGTGAGTCTGATTACGCGGATGGATATGGTCTAGGCACAAAGTGTAAAGCAGTTGATTTTACTATGAGTAAAAAAACATGAATGGAACCTGCTCAAGTTAAAGAGATAACCGAAAACATCGAGTAGTAGAAGATTAGAGATAACAAACAATAAAAGTGGTTAGAACTTACTCACAGCGTGTGACTAAATGGGACAATTTCAGATGAAGTATCATCTAAGAATTAAATGAAGAAGACTTCAGAGCTTGTAAAAATTATTTGGCAAAATAATAATAATTCCGCTGCAAGGGGGCGGCCTCGTGATACGCTTATTTTATAGGTTAAATGTCATGATAATAATGGTTCTAGAGTCAGGTGGCACTTTCCGGGAAATGTGGCGGAAACCCCTATTGTTTATTCTAAATACATTAAATGATCGCTCATGAGACAATAACCCGTATAATGTTCAATAAATTGAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTCCGCTGTCGCCCTTATCCCTTTTGCAGCATTTGCCCTTACATGAAATGGGATCTAACAGCGGGTAAAATCCTGAGAATTTCGCCCCAAACACAGTTCCAATGAGAACACTTTAAAGTCTGCTATGTGGGGCGCGATATATCC		

Tabla 6. Secuencias por ORFs

Plásmidos con inserto de cDNA de <i>Scolopendra viridis Say</i>	Sentidos Forward (F) y Reverse (R)	Marcos de lectura abiertos ORFs numeró	Secuencias de ORFs por alineamiento	Número de nucleótidos (nt) y aminoácidos (aa)	Número de secuencia en NCBI.	ORF y su identidad.
P2	F	9	>1c1 ORF9 MSKETSFVKNAEELAKQMDAINRELS SKFKFLIKFLSQFPEACKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRLLPKPTPP TTVPDEVVSIVLNISFNQOPENLERIK	405nt/134aa	0194.1	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I;Short=R.Eco47I; AltName: Full=Endonuclease

	EEHRSMAENIVGDLERYYQAISC		Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I	
		<u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI	
1	>lcl ORF1 MKKSILALSLLVGLSTAASSYALPET VRNGTDTTYAPFSSKDAKGDFVGFDID LGNEMCRMQVKCTWVASDFDALIPSL KAKKIDAIISLSTITDKRQQEIA	315nt/104aa	P09551.3	RecName: Full=Lysine/arginine /ornithine-binding periplasmic protein; Short=LAO-binding protein; Flags: Precursor
10	>lcl ORF10 MESDEIIASIFFAFSEGISASKSLATQ VHFTCIRLHISLPRSIKPTKPLASF DENGA	180nt/59aa	P23837.1	RecName: Full=Sensor protein PhoQ; AltName: Full=Sensor histidine protein kinase/phosphatase PhoQ
7	>lcl ORF7 MNRPTTRGKGGFAVLGRSFRFLPSLDS PATRVVSAAGERESAYPKGG	144nt/47aa	-----	-----
8	>lcl ORF8 MFFQKGPPKKARKPLKKGGFWGVFSL RGSPPPRKKTQKNSNAPNLK	144nt/47aa	-----	-----
6	>lcl ORF6 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWGFSWQSTLMKTT	141nt/46aa	<u>A0JMR6.1</u> <u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb- like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
				RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransfера ^{sse} ; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.
2	>lcl ORF2 MENRCSSFILSRFGCILKLILRTMLT TSSGTVVGGVFLGNRLS	138nt/45aa	-----	----- -
11	>lcl ORF11 MRTVRRWYRFYYVPSPVAPHSWKPLWR DRLTKTERESTSSYITLK	138nt/45aa	034966.1	RecName: Full=High- affinity zinc uptake system binding- protein ZnuA; Flags: Precursor
4	>lcl ORF4 MRRYRRRYVTEPIPPTHRSHRKMLKVI LLALISISVTRCANGCR	135nt/44aa	-----	-----
5	>lcl ORF5 MYEEVDSRSRVSRLHSGFQLCGATG	93nt/30aa	varias	varias

DGT					
3	>lcl ORF3 MTELTHINCVALTANCFSRENLSQL H	87nt/28aa	varias	varias	
R	11 >lcl ORF11 MKKSILALSLLVGLSTAASSYALPET VRNGTDTYAPFSSKDAGDFVGFID LGNECKRMQVKCTWASDFDALIPSL KAKKIDAIISLSSITHKRQQGGLLDNI V	330nt/109aa	varias	varias	
3	>lcl ORF3 MSIQHFPCRPLFPFFAAFCCLSCFLPP KTGESKKKTEKSIGWPPIGVTQMGSS PQPQKNPWEVFCPPQKVFPMMKKPLF	240nt/79aa	Q80ZF8.2	RecName: Full=Adhesion G protein-coupled receptor B3; AltName: Full=Brain- specific angiogenesis inhibitor 3; Flags: Precursor	
1	>lcl ORF1 MESDEIIASIFFAFSEGISASKSLATQ VHFTCIRLHISLPRSIKPTKSPLASF DENGA	180nt/ 59aa	phoQ	PhoQ	
2	>lcl ORF2 MAFLCCVLLERSNLAEKLEPGSRSGGR SPYSESIILRRMDMVFRHKC	141nt/46aa	-----	-----	
4	>lcl ORF4 MRTVRRWYRFYYVPSPVAPHSWKPLWR DRLTKTTERESTSSYITLK	138nt/45aa	034966.1	RecName: Full=High- affinity zinc uptake system binding- protein ZnuA; Flags: Precursor	
8	>lcl ORF8 MRYRYRRYVTEPIPPTHRSHRKMLKVI LLALISISVTRCANGCR	135nt/44aa	-----	-----	
5	>lcl ORF5 MMKKTMMGTCALKIEIIPKTHRVVRL EIIQQ	99nt/32aa	057428.2	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs	
9	>lcl ORF9 MLNTHTPPFFNIIESIYQGYCLMSGYI FECI	96nt/31aa	-----	-----	
10	>lcl ORF10 MYEEVDSRSVFSRSLHSGFQLCGATG DGT	93nt/30aa	varias	varias	
7	>lcl ORF7 MARVFQDDWNVPTIHNIKKPFSLEGYV	84nt/27aa	varias	varias	
6	>lcl ORF6 MPQKRGIRGDTENVEYSYSSFFQYY	78nt/25aa	Varias	varias	
P3	F	2 >lcl ORF2 MCEDLILHDSDLYQFCPELHLKRLNSLT LACHALLDKTLTTELGRNLPTKART KHNIKRIDRLLGNRHLKERLAVYRWH ASFICSGNTMPIVLVDWSDIREQKRLM VLRASVALHGRSVTLYEKAFPLSEQCS KKAHDQFLADLASILPSNTTPLIVSDA GL	465nt/164 aa	-----	-----
9	>lcl ORF9 MSKETSFKVNAELAKQKMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRLPRKPTPP TTVPDEVVSIVLNISFNQOPENLERIK EEHFRFSMAAENIVGDLLERIC	390nt/129 aa	0194.1 P09796.1	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I	
				RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease	

					SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
1	>lcl ORF1 MARVFQOILSRRSPTIFSAAMENRCSS FILSRFGCILKLLRMLTTSGGTVV GGVGFLGNRLS	198nt/65aa	-----	-----	
4	>lcl ORF4 MLALSVRAIRCPLYLLTGLIFVSKNDL WYCELQSHYTIVLLLFRMRKRSRFQSNV QRKLMTNF	189nt/62aa	-----	-	
3	>lcl ORF3 MNPLMILVKIIKKLRLWIHILSYDQMVS KINNQTRCANSIFYTTLFTNSAPNYT	165nt/54aa	-----	-----	
7	>lcl ORF7 MGLLLSPPFYNPKIFWRGIGRPIQERW GIGFPFFRSQVPQYGTFFYWN	150nt/49aa	<u>Q54FV1.2</u>	RecName: Full=GATA zinc finger domain- containing protein 24	
			<u>Q5L2C2.1</u>	RecName: Full=Glycine oxidase; Short=GO; Short=GOX; AltName: Full=GOXK	
6	>lcl ORF6 MIKWFREKSIIRQQDVRTRYFTRLSP ILPRITLKTTQLNVGLPRIT	147nt/48aa	-----	-----	
5	>lcl ORF5 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTS	141nt/46aa	<u>A0JMR6.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb- like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1	
			<u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransfера ^r e; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.	
8	>lcl ORF8 MLCFVLALVGRLRPSSVRVRVLQSSNA WQANVKLLSRFKCNSGQNW	141nt/46aa	<u>Q23270.1</u>	RecName: Full=tRNA (guanine(26)-N(2))- dimethyltransferase; AltName: Full=tRNA 2,2- dimethylguanosine-26 methyltransferase; AltName: Full=tRNA(guanine- 26,N(2)-N(2)) methyltransferase; AltName: Full=tRNA(m(2,2)G26) dimethyltransferase	
10	>lcl ORF10 MELFLFTGINPVNPVPVFSTDFFPHFK AQHH	96nt/31aa	<u>Q6LXF3.1</u>	RecName: Full=Uncharacterized metallohydrolase <u>P44052.1</u>	MMP1398

					RecName: Full=Uncharacterized protein HI_0787
					RecName: Full=Putative neurobeachin homolog; AltName: Full=Suppressor enhancer of lin-12
	11	>lcl ORF11 MCIHLNLMIIFTKIIIRGFISIMCGIMSG	84nt/27aa	varias	Otras.
R	4	>lcl ORF4 MSIQHFRVALIPFFAACCLPVFAHPET LVVKVDAEDQLGARVGVIYELDLNSGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRHYSQNDLVEYSPVTE KHLDGMTVRELCSAAITMSDNTAANL LLTTIGGPKELETAFLHNMGGSNCNSPLI VGKPELNEALPKRRT	534nt/177aa	varias	Beta- lactamasa
	5	>lcl ORF5 MLCKKAVSSFGPPIVVRSKLAAVLSM VMAALHNSLTVMPSVRCFSVTGEYSTK SF	171nt/56aa	-----	-
	6	>lcl ORF6 MRRPSCSCPASIRDNTAPHSLKVL IGKRSSGRKLSRILPLLRSSSM	150nt/49aa	-----	-----
	7	>lcl ORF7 MIPPCCAKKRLAPSVLRLSEVWPQC YHSWLWQHCIIILLSCHP	138nt/45aa	09MZ34.1	RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6
	2	>lcl ORF2 MLKISWHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----	-----
	1	>lcl ORF1 MMKKTMMNGTCSKLKIEIIPKTHRVR EIIQQ	99nt/32aa	057428.2	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs
	3	>lcl ORF3 MKPYPNDERDTTMPGSNGQQWRKLFN WAK	93nt/ 30aa	Varios	Otras
	8	>lcl ORF8 MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	84nt/27aa	05R4S2.1 Q8BWP8.1 05EA01.2 varias	RecName: Full=Beta- 1,4- glucuronyltransferas e 1; AltName: Full=I-beta-1,3-N- acetylglucosaminyltr ansferase; Short=iGnT; AltName: Full=N- acetyllactosaminide beta-1,3-N- acetylglucosaminyltr ansferase; AltName: Full=Poly-N- acetyllactosamine extension enzyme; AltName... RecName: Full=Beta- 1,4- glucuronyltransferas e 1; AltName: Full=I-beta-1,3-N- acetylglucosaminyltr ansferase; Short=iGnT; AltName: Full=N- acetyllactosaminide

					beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase; AltName: Full=Poly-N-acetyllactosamine extension enzyme; AltName... RecName: Full=Beta-1,4-glucuronidyltransferase 1; AltName: Full=I-beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase; Short=iGnT; AltName: Full=N-acetyllactosaminide beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase; AltName: Full=Poly-N-acetyllactosamine extension enzyme; AltName... Otros.
P4	F	2	>lcl ORF2	495nt/164nt	-----
			MCELDILHDSLYQFCPELHLKRLNSLT LACHALLDKTLLTTELGRNLPTKART KHNIKRIDRLLGNRHLKERLAVYRWH ASFICSGNTMPIVLVWDSDIREQKRLM VLRASVALHGRSVTLYEKAFPLSEQCS KKAHQFLADLASILPSNTTPLIVSDA GL		
10		>lcl ORF10	417nt/138aa	<u>0194.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
		MSKETSFVKNAEELAKQKMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRLPRKPTPP TTVPDEVVSIVLNISFNQOPENLERIK EEHRFSMAAENIVGDLLERILLKNSSH QKFP		<u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
7		>lcl ORF7	216nt/71aa	-----	-----
		MFFGGNRKNKISKERWRKRFPNFSRSQG SAILDLFLFILLTQYQPQFSQRIFSH GTLKPSITDNERCGVTR			
4		>lcl ORF4	189nt/62aa	-----	-----
		MLALSVRAIRCPLYLTLGLIFVSKNDL WYCELQSHTYTVVLLFMRKRSRFQSNV QRKLMTNF			
3		>lcl ORF3	165nt/62aa	-----	-----
		MNPLMLVLKIIKKLWRWIHILSYDQMVR KINNQTRCANSIFYTTLFTNSAPNYT			
6		>lcl ORF6	147nt/48aa	-----	-----
		MIKWFWREKSIIRQQDVRTRYFTRLSP ILPRITLKTTQQLNVGLPRIT			
5		>lcl ORF5	141nt/46aa	<u>A0JMR6.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
		MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTT		<u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Genome

					polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransfere se; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.	
9	>lcl ORF9	141nt/46aa	<u>023270.1</u>	RecName: Full=tRNA (guanine(26)-N(2))- dimethyltransferase; AltName: Full=tRNA 2,2- dimethylguanosine-26 methyltransferase; AltName: Full=tRNA(guanine- 26,N(2)-N(2)) methyltransferase; AltName: Full=tRNA(m(2,2)G26) dimethyltransferase		
1	>lcl ORF1	138nt/45aa	-----	-----		
8	MECRCSSFILSRFSGCILKLLRLTMLT TSSGGTVGGVGFGLGNRLS	84nt/27aa	varios	otros		
R	4	>lcl ORF4	615nt/204aa	Superfami lia de transpept idasas		
	MSIQHFRVALIPFFAAFLCPVFAHPET LVVKVDAEDQLGARVGYIELDLNSGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLDGMTVRELCASAATMSDNTAANL LLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNCNSPLI VGKPELNGSPTQTQNKRGPQCPVTMGN KRLRQIFWKWAKLLYL					
5	>lcl ORF5	171nt/56aa	-----	-----		
	MLCKKAVSSFGGPIVVRSKLAAVLSLM VMAALHNSLTVMPSVRCSVTGEYSTK SF					
6	>lcl ORF6	150nt/49aa	-----	-----		
	MRRPSCSCPASIRDNTAPHSRTLKVLI IGKRSSGRKLSRILPLLRSSSM					
7	>lcl ORF7	138nt/56aa	<u>09MZ34.1</u>	RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6		
	MIPPCCAKKRLAPSVLRSLSEVSWPQC YHSWLWQHCIIILLSCHP					
2	>lcl ORF2	102nt/33aa	-----	-----		
	MLKISWVHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ					
1	>lcl ORF1	99nt/32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs		
	MMKKTMNGTCSKLKIEIIIPKTHRIVRL EIIQQ					
8	>lcl ORF8	84nt/27aa	varios	Proteínas de dedo de zinc		
3	MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	78nt/25aa	varios	otros		
P5	F	7	>lcl ORF7	417nt/138aa	<u>0194.1</u>	RecName: Full=Type-2

	MSKETSFVANAEELAKQKRDAINPKLF SKFKFLIKFLYQFPEACSKPRSKKMQN KVQEEEHIVYLGRSFLESRLPRKRTPH TTVLDEVSVIVLNISFNILPENLGGVD EEPAPPSAENLPSCRERINFRRASIM RTHK	<u>P09796_1</u>	restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47I; I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
			RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
2	>lcl ORF2 MIGEALLKLILSRQLGKFSAEGGAGSS STPPRFSGSILKLILRMLTSSRTVV CGVRFLGNRLSRKLRPKYTICSS	234nt/77aa ----- -	-----
1	>lcl ORF1 MRPCRAPVFPSFEARINSLFCHADGMR LINISSQRREQQGNIPASSERYQFSLS GPAKK	180nt/59aa ----- --	-----
4	>lcl ORF4 MSPPSLKSLCVGMEAWVYEQLACRSSN THTHSIDIYPRECRMKKPSETKTSAYGI RHKP	177nt/58aa ----- P0CM89.1	RecName: Full=Endoribonucleas e YSH1; AltName: Full=mRNA 3'-end-processing protein YSH1.
8	>lcl ORF8 MYGVLSNRRIHDRNYMGPERPVAVDCFM MGIRCSISLFCGAREGKLIPL	14 7nt/48aa ----- Q47WG3.1	RecName: Full=Carbamoyl- phosphate synthase large chain; AltName: Full=Carbamoyl- phosphate synthetase ammonia chain. ACCESSION Q834E2
		Q38997.2	RecName: Full=3- isopropylmalate dehydrogenase; AltName: Full=3-IPM-DH; AltName: Full=Beta- IPM dehydrogenase; Short=IMDH.
			RecName: Full=CASP- like protein 2U2; Short=O1CASPL2U2.
			RecName: Full=SNF1- related protein kinase catalytic subunit alpha KIN10; Short=AKIN10; AltName: Full=AKIN alpha-2; Short=AKINalpha2.
3	>lcl ORF3 MISERSDLLVRLWLMPNSVSGRFSLGW FLHSAFAWINITMCMGVR	138nt/45aa ----- -	-----
5	>lcl ORF5 MFNITFLRGQRKGKIDTALNSLVCYLAA HDVGLRC	105nt/34aa ----- --	-----
6	>lcl ORF6 MTREELLVVATLEADTLFTHGYAWGKI	84nt/27aa varios	varios
9	>lcl ORF9 MKNPPLPQPQRICRAVEKGSTSEEPLOQ	84nt/27aa varios	varios
R	R 9 >lcl ORF9	153nt/50aa -----	-----

		MKSFLGNALSKWFPVKRSIFSAHQSES KKMEEFGKRLGWFVSLTPIVFE	-	-----
1		>lc1 ORF1 MIKCCRQKSIIITQNNGRTRFFTRLSP NQPLIMLKQTHQLNVGLPHLT	147nt/48aa	Q9LXW7.2
				RecName: Full=Endoribonucleas e Dicer homolog 3; AltName: Full=Dicer-like protein 3; Short=AtDCL3.
8		>lc1 ORF8 MWCSLECSQGLLEIVHEISLNIALKS RSFSHKAYQNDRVVRLKIAIP	147nt/48aa	065456.1
			065457.1	RecName: Full=Probable pectate lyase 16; Flags: Precursor.
				RecName: Full=Putative pectate lyase 17; Flags: Precursor.
4		>lc1 ORF4 MLTISDRAIRCPLYLLTGLKSASENGL WYCDLQSHYTIVLVRFMRK	141nt/46aa	-----
7		>lc1 ORF7 MLCYIILSAVVRLRPSSIRVRLQSSKV WQANVKLMSLLKHN	126nt/41aa	-----
2		>lc1 ORF2 MPIVLADWTEIRERERERMLVRLSSVALH GRSGTLYEKMISI	123nt/40aa	-----
6		>lc1 ORF6 MLIGFOFSVPRSAYCTFPPTRLNQYEP SFSTDLYHVTI	117nt/38aa	-----
5		>lc1 ORF5 MNWSSHSNTIGVKRLTKNQPSLLPNS IFLLSL	102nt/33aa	-----
3		>lc1 ORF3 MLSPKINNHHTKWANSLFYTTLFTKSA PNYA	96nt/31aa	2539.1
				RecName: Full=mRNA export factor ICP27 homolog.
10		>lc1 ORF10 MAAENIVGDLLEERYCATYRPPEICG	76nt/27aa	varias
P6	F	4	>lc1 ORF4 MSRLRQRRVQDLRCLRRPPLRHANR HAEGYFGWPAPALREILTSRICTAPGD LFDQCKLPLLHDVFCHRLGLIGVRDVF TMTVVSSVTDSSMQDGKLLYNVICGT ELPLH	342nt/113aa
				B6EKL2.1
				Q3JAW6.1
				RecName: Full=Protein-L- isoaspartate O- methyltransferase; AltName: Full=L- isoaspartyl protein carboxyl methyltransferase; AltName: Full=Protein L- isoaspartyl methyltransferase; AltName: Full=Protein-beta- aspartate methyltransferase; Short=PIMT RecName: Full=Protein-L- isoaspartate O- methyltransferase 2; AltName: Full=L- isoaspartyl protein carboxyl methyltransferase 2; AltName: Full=Protein L- isoaspartyl methyltransferase 2; AltName: Full=Protein-beta- aspartate methyltransferase 2; Short=PIMT 2
3		>lc1 ORF3 MNKMRGDDSMESMCITFPLRIVWEGLP	171nt/56aa	-----

		LSLVHERIVIQRCLTKDHTSSREGSGD PC			
2	>lcl ORF2	168nt/55aa	<u>09U6Y8.1</u>	RecName: Full=Red fluorescent protein drF83; Short=DsRed	
	MLKVTGGPLPFAWKSLSLPVAYVRLPAT SSTNVNFPYMTLSVTEGLSWEVCVTCS R				
5	>lcl ORF5	138nt/45aa	<u>05E9J9.1</u>	RecName: Full=STE20- related kinase adapter protein alpHa; Short=STRAD alpHa; AltName: <u>08T062.1</u>	
	MHKGKGESLPYYSKGKRYAHAFHRVPP PHFVHHYFPQSMNCIETE			Full=STE20-related adapter protein	
				RecName: Full=Neprilysin-4	
6	>lcl ORF6	96nt/31aa	-----	-----	
	MWPMWPGPSSASLARRWCRKCSRHRHSG				
1	>lcl ORF1	87nt/28aa	varios	Superfamilia de TRAPPC-Trs85	
	MVILKEFVHVVTCHDSNDNDEFKICGA				
7	>lcl ORF7	78nt/25aa	varios	otros	
	MEESSVTDDTTIVNTSRTPKISPR				
R	2	>lcl ORF2	483nt/160aa	varias	betalactamasas
	MSIQHFRVALIPFFAAFLCPVFVFAHPET LVVKVDAEDQLGARVGVIELDLNSGKI LESFRPEERFPMNSTFKVLLCGAVLRS IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLDGMTVRELCSSAATMSDNTAANL LLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNCNSP				
7	>lcl ORF7	171nt/56aa	-----	-----	
	MLCKKAVSSFGPPIVVRSKLAALSLM VMAALHNSLTVMPSVRCSVTGEYSTK SF				
4	>lcl ORF4	156nt/56aa	Varias	Transpeptidasas	
	MPVAMATTLRKLLTGELLTLASRQQLI DWMEADKVGPLLRSALPAGWVIG				
8	>lcl ORF8	150nt/49aa	-----	-----	
	MRRPSCSCPASIRDNTAPHSRSLKVL IGKRSSGRKLSRILPLLRSSSM				
9	>lcl ORF9	138nt/45aa	<u>09MZ34.1</u>	RcName: Full=Sodium- and chloride- dependent taurine transporter; AltName: Solute carrier family 6 member 6	
	MIPPCCAKKRLAPSVLRLSEVSWPQC YHSWLWQHCCIILLLSCHP				
3	>lcl ORF3	102nt/33aa	-----	-----	
	MLKISWHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFO				
5	>lcl ORF5	102nt/33aa	<u>09SNB1.1</u>	RecName: Full=UDP- glycosyltransferase 76E11	
	MSLIQLGPPYSQGNLFLFWFHPISCPD LPVWCR				
1	>lcl ORF1	93nt/30aa	<u>0194.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I	
	MDNFPDEVSSKNLNEEDFRAFKNYLA KII		<u>P09796.1</u>		
				RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI	

	6	>lc1 ORF6 MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	84nt/27aa	varios	Proteína de dedos de zinc
P7	F	5 >lc1 ORF5 MSKETSFVKAELAKQMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRLPRKPTPP TTVPDEVSVLNLISFNIQPENLERIK EEHRSMSAAENIVGDLLERSC	390nt/129aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I;Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
					RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
	4	>lc1 ORF4 MSELTHINCVALTANCFPVGKPVVPAAMLNRPTRGERRAYWALFRFLAH	153nt/50aa	-----	-----
	2	>lc1 ORF2 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIRNRCRWRGFSWQSTLMKTTSSGGTVGGVGFGLGNRLS	141nt/46	<u>A0JMR6.1</u> <u>091TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
	3	>lc1 ORF3 MENRCSSFILSRFGCILKLILRTMLTTSSGTVVGGVGFGLGNRLS	138nt/45aa	-----	RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransferase; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.
	6	>lc1 ORF6 MRKRHASRREKGQQVSGKRQGRNRRAH EGASRGKRLVSL	120nt/39aa	<u>Q90WN5.1</u>	RecName: Full=REST corepressor 1; AltName: Full=Protein CoREST; Short=xCoREST
	1	>lc1 ORF1 MARVFSKIFLEDLLQYSQPKIDVLLFQSQDFQAVY	114nt/37aa	<u>Q5JI16.1</u>	RecName: Full=Ornithine carbamoyltransferase ; Short=OTCase
	7	>lc1 ORF7 MLVRGAEPMEKRQQRGLFTVPGLLLAFCSHVLSCVIP	114nt/37aa	-----	-----
R	5	>lc1 ORF5 MSIQHFVALIPFFAAFCLPVAHPETLVVKVDAEDQLGARGVYIELDLNSGKI LESFRPEERFPMNSTFKVLLCGAVLRSIDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTDGMVRELCSAAITMSDNTAANLLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNSPLIVGKPEPEWKPYPNDERGHPDAR	555nt/184aa	varios	Superfamilia transpeptidasas

		4	>lc1 ORF4 MEALPKRRTWTPRCPVAMATNVANCYLT TWNTLILTPGNNYIKPGMGGGIKIC RETL	174nt/57aa	-----	-----
		7	>lc1 ORF7 MLCKKAVSSFGPPIVVRSKLAAVLSLM VMAALHNSLTVMPSVRCFSVTGEYSTK SF	171nt/56aa	-----	-----
		8	>lc1 ORF8 MRRPSCSCPASIRDNTAPHSRALKVLI IGKRSSGRKLSRLPLRSSSM	150nt/49aa	-----	-----
		9	>lc1 ORF9 MIPPCCAKKRLAPSLVRLSLEVSWPQC YHSWLWQHICILLLSCHP	138nt/45aa	<u>09MZ34.1</u>	RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6
		3	>lc1 ORF3 MPGSNGNKRLRKLFNVAKYFNFNFPRE QLYKTGNRDRDKNLPGNT	135nt/44aa	<u>D3UX49.1</u>	RecName: Full=3',5'- cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase CpdA; Short=3',5'- cyclic AMP pHospHodiesterase; Short=cAMP pHospHodiesterase
		2	>lc1 ORF2 MLKISWHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----	-----
		1	>lc1 ORF1 MMKKTMMGTC SKLKIEIIPKTHR VRL EIIQQ	99nt/32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs
		6	>lc1 ORF6 MLNTHTLPFSILLKHL SG LLSHERIHI	84nt/27aa	varios	Proteína de dedo de zinc
P8	F	8	>lc1 ORF8 MSKETSFVKNAEELAKQMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVQEEHIEYLARSFHESRLPRKPTPP TTVPDEVSVI VLNISFN IQPENLERIK EEHRFSMAAE NIVGDLLERYYYQAISCS VTGCF AASALT SIVAS RTTR CATSAA SSVSPFSIKS VPATPLISCWVVSWLR SAWAY	585nt/194aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
		1	>lc1 ORF1 MARVFQQDWNVPTIQVDGKFDNSRYNG ILNQMGMTADQYA QALRNQLTQQLIN GVAGTDFMLKG ETD LALVAQQRVVR EATIDVNALAA KQPVTEQEIA	309nt/102aa	varias	Rotamasas
		5	>lc1 ORF5 MKMLNLKGPTKMAPKWLKSPRLPRKV FYLRGP PRLGRKQ TL NFTGSKIKSAV WKTRGAGGL	192nt/63aa	-----	-----
		7	>lc1 ORF7 MQLSRQAVRMGRNEQSPQRNECEQNHS VSTPGFTLYASGSYNVWNYERIIISHR RFKL	177nt/58aa	<u>P14639.1</u>	RecName: Full=Serum albumin; Flags: Precursor
		6	>lc1 ORF6	141nt/46aa	<u>A0JMR6.1</u>	RecName:

		MFFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTs		<u>091TW9.1</u>	Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb- like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1	
					RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransfера ^{sse} ; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.	
	2	>lcl ORF2 MENRCCSFILSRFSGCILKLIILRTMLT TSSGTVVGGVGLGNRLS	138nt/45aa	-----	-----	
	4	>lcl ORF4 MREVDAVSRIALIISVLHLLNTLTLGS LRLELTRY	108nt/35aa	-----	-----	
	3	>lcl ORF3 MVKKKPPPSSQGILPKGSPPPWEETDL I	87nt/28aa	varias	otros	
R	5	>lcl ORF5 MARVFQODWNVPVTIQVDGKFDNSRYNG ILNQMGMTADQYAQALRNQLTQQLIN GVAGTDFMLKGGETDELAALVAQQRVVR EATIDVNALAAKQPVTEQEIA	309nt/102aa	varias	Superfamilia de Rotamasa	
	1	>lcl ORF1 MSIQHFRVALIPFFAACFLPVFAHPET LVVKVDAEDQLGARVGYIELDLN SGKILESPRPEERFPMMNTF	213nt/70aa	varias	Superfamilia de transpeptidasas	
	3	>lcl ORF3 MLKISWHEWVTSNWISTAVRSLKVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----	-----	
	2	>lcl ORF2 MMKKTMNGTC SKLKIEIIPKTHR VRL EIIQQ	99nt/32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs	
	4	>lcl ORF4 MLNTHTLPFSILLKHLGSSL SHERIHI	84nt/27aa	Varias	Proteínas de dedos de zinc	
P10	F	5	>lcl ORF5 MSKETSFVKAEEELAKQKMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESR LPRKPTPP TTVPDEWVSIVLNISFN IQOPENLERIK EEHRFSMAAENIVGDLLERIC	390nt/129aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI

4	>lc1 ORF4 MSELTHINCVALTANCFPVGKPVVPAALMNRPTRGERRFAYWALFRFLAH	153nt/50aa	-----	-----	
2	>lc1 ORF2 MFFFYSLKIFRFLYIKTYIKNYANHLIRNRCRWRGFSWQSTLMKTTS	141nt/46aa	A0JMR6.1 <u>091TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1 RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransferase; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.	
3	>lc1 ORF3 MENRCSSFILSRFSGCILKLIIRTMLTTSSGTVVGGVGLGNRLS	138nt/45aa	-----	-----	
6	>lc1 ORF6 MRKRHASRREKGQQVSGKRQGRNRRAH EGASRGKRLVSL	120nt/39aa	<u>090WN5.1</u>	RecName: Full=REST corepressor 1; AltName: Full=Protein CoREST; Short=xCoREST	
1	>lc1 ORF1 MARVFSSRFFLEDLLQYSQLPKIDVLLFSQDFQAVY	114nt/37aa	<u>05JI16.1</u>	RecName: Full=Ornithine carbamoyltransferase ; Short=OTCase	
7	>lc1 ORF7 MLVRGAEPMEKRQQRLFTVPGLLAFCSHVLSCVIP	114nt/37aa	----- ---	-----	
R	1	>lc1 ORF1 MSIQHFRVALIPFFAAFLCLPVAHPETLVVKVDAEDOLQARGVYIELDLNSGKI LESFRPEERFPMSTFKVLLCGAVLSDAGQEOLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTDGMVTRELCSAAITMSDNTAAANLLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNSPLIVGKPELNEALPNEQA	534nt/177aa	Varias	Familia de transpeptidasas
5	>lc1 ORF5 MLCKKAVSSFGPPIVVRSKLAAVLSLVMALHNSLTVMPSVRCSVTGEYSTKSF	171nt/56aa	-----	-----	
6	>lc1 ORF6 MRRPSCSCPASIRDNTAPHSRTLKVLIIGKRSSGRKLSRILPPLLRSSSM	150nt/49aa	-----	-----	
7	>lc1 ORF7 MIPCCAKKRLAPSVLRSLSEVSPQC YHSQLWQHCIIILLSCHP	138nt/45aa	<u>Q9MZ34.1</u>	RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6	
3	>lc1 ORF3 MLKISWVHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----	-----	
2	>lc1 ORF2 MMKKTMMGTC SKLKIEIIIPKTHR VRL EIIQQ	99nt//32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName:	

					Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs	
		4	>lcl ORF4 MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	84nt/27aa	varios	Proteínas de dedos de zinc
P11	F	6	>lcl ORF6 MWSWVASSRGSCAESSCSDFARCNVR GRRPRRKLLIFGNIFLHHLVSNRTKTV VRVSHFLVWLTSRFPTRRGVTVA WSTNQRVGSFCRLST	291nt/96aa	----- --	----- -----
		4	>lcl ORF4 MEKGGSTLILPEDRPLYIKTYINNCANP LTRNRGWRGFSCQSTLKNTTTSILMI PLMTFNLRSFGTYPGDMICFLPNA LSSHII	261nt/86aa	F4HSQ2.1	RecName: Full=Subtilisin-like protease SBT5.1; AltName: Full=Subtilase subfamily 5 member 1; Short=AtSBT5.1; Flags: Precursor.
		2	>lcl ORF2 MRSGKVDPPLTLTGTLISLSLHGFGYLY LLTHYTVLVLYAENLLAARAVFIKAD DQFRADPASILPRNNLL	216nt/71aa	-----	----- -----
		3	>lcl ORF3 MLKIFSLQEQQCSSKRMTNFQILRAFS PGTTFNGQCFCWLSATWRDLLPIWLLL VGRVSGKSICSPRIG	210nt/69aa	Q16363.4	RecName: Full=Laminin subunit alpha-4; AltName: Full=Laminin-14 subunit alpha; AltName: Full=Laminin-8 subunit alpha; AltName: Full=Laminin-9 subunit alpha; Flags: Precursor.
		5	>lcl ORF5 MKLAIILTLFLFGPHHILQPTGRPLA CHALRDCHALTGFVLGRWLFSGKARN PLFESFD	186nt/61aa	Q66J90.1 otras	RecName: Full=Histone-lysine N-methyltransferase SETD1B; AltName: Full=SET domain-containing protein 1B.
		10	>lcl ORF10 MDPYIQVPHASSRSYCCRLVNESAGRL VLSSSIDVSSLTATVSVMV	141nt/46aa	-----	----- -----
		12	>lcl ORF12 MCEDNAFGRKHOIISPDGYVPKLRLI KVIRGIISIEVVVFRLVD	138nt/45aa	-----	----- -----
		1	>lcl ORF1 MLSLVSYLAGGCFGRGNVHGTHYLNSI DMFSSPPPPTRSQR	129nt/42aa	A3LW29.2	RecName: Full=Chromosome segregation in meiosis protein 3.
		11	>lcl ORF11 MRTYQSKDSNNGFRAHFPENSHRPSTK PVRA	96nt/31aa	-----	----- -----
		7	>lcl ORF7 MDFPDTRPTRSQIGNRSRHVAESQKH	84nt/27aa	varias	varias
		8	>lcl ORF8 MLAGSARNWSSALMNTALAARRFSA	78nt/25aa	varias	varias
		9	>lcl ORF9 MIAAYLWERVSGGGDDENISIERFK	78nt/25aa	varias	varias
R		6	>lcl ORF6 MRRHELLLTRRPYGIIPRPLSGTSKVL IIGKRCCSVRLFKDLTDIEIOFDVTHS CTQLIFSIFYFHQLWVSKNRKAKSRK KGNKGDTVMNLNTHTVPFSILLKHCSGL LSHERIHI	351nt/116aa	----- ---	----- ---
		4	>lcl ORF4 MDAGLGTATRVAAYTILIMTWDDYSPVP DKHLDGPPSKNNYVGAALNHDTLRG	252nt/83aa	Q8TBY9.2	RecName: Full=Cilia- and flagella-associated protein

			PTFLLTSDRRDRRELTRFFGQAWGESL NFS		251; Short=CFAP251; AltName: Full=WD repeat-containing protein 66.
		3	>lcl ORF3 MLKISWHEWVTSNWISIVRSLNFR TEQRFPMMSTFEVPLSGRGIIPYGRRV RSNSCRRIHYSNDLG	213nt/70aa	Superfamilia de transpeptidadoras
		2	>lcl ORF2 MIIRLPFPKGVSIRTPDGYGVHAOFKQ LILFLSMNQTVNGTCSKLKIDIPKTH RVRVLEIIQQ	195nt/64aa	Q9JK83.2 RecName: Full=Partitioning defective 6 homolog beta; Short=PAR-6 beta; Short=PAR-6B.
		5	>lcl ORF5 MNTISIRRNTTHSFKGEPDPDGSSI QQ	90nt/29aa	varias
		1	>lcl ORF1 MSIQHYRVALIPFFAGFCLPVFAHP	78nt/25aa	Súper familia de transpeptidadoras
		7	>lcl ORF7 MLIWDWGVVIPSHYENSVCGDTSCS	78nt/25aa	P41245.2 Q9URU6.1 otras RecName: Full=Matrix metalloproteinase-9; Short=MMP-9; AltName: Full=92 kDa gelatinase; AltName: Full=92 kDa type IV collagenase; AltName: Full=Gelatinase B; Short=GELB; Flags: Precursor.
					RecName: Full=Glucan 1,3-beta-glucosidase 1; AltName: Full=Exo-1,3-beta-glucanase; Flags: Precursor.
					otras
P12	F	4	>lcl ORF4 MSKETSFVKNAEELAKQKMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVQQEEHIEYLGS	204nt/67aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u> RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
					RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
		3	>lcl ORF3 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWGRFSWQSTLMKTTSLNIQYVPL DQLYSAFFLNEV	201nt/66aa	A0JMR6.1 RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
		2	>lcl ORF2 MSELTHINCVALTANCFPVGKPVVPA LMNRPTRGERRFAYWALFRFLAH	153nt/50aa	----- ----- -----

	1	>lcl ORF1 MENRCSSFILSRFSGCILKLLRLTMLT TSSGTVVGGVGLGNRLS	138nt/45aa	----- -- -----	----- ----- -----
	5	>lcl ORF5 MRKRHASRREKGQQVSGKRQGRNRRAH EGASRGKRLVSL	120nt/39aa	Q90WN5.1	RecName: Full=REST corepressor 1; AltName: Full=Protein CoREST; Short=xCoREST.
	6	>lcl ORF6 MLVRGAEPMEKRQQRGLFTVPGLLLAF CSHVLSCVIP	114nt/37aa	-----	----- -----
	7	>lcl ORF7 MAAENIVGDLLERYLAEKLEPPNSTSL N	84nt/27aa	Varias Sito de asignació n para SinI y EcoRI	varias
R	5	>lcl ORF5 MSIQHFRVALIPFFAACFLPVFAHPET LVVKVDAEDQLGARVGYIELDLSNGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTDMTVERLCSAAITMDNTAANL LLTTIGGPKELTAAFAKHGGIHVTRP	486nt/161aa	Súper familia de transpept idasas	varias
	3	>lcl ORF3 MGTKVWPNNLNNGGKNFFLIFPRKNYKN GGEGGEKNGFGHLFWVRAPPRAAGGVYF GEKNWGERGERGVSSGYFFKKLGGR	237nt/78aa	Q5RHD1.2	RecName: Full=Lysine-specific demethylase 7A; Short=DrKDM7a; AltName: Full=JmjC domain-containing histone demethylation protein 1D-A.
	7	>lcl ORF7 MRRPSCPASIRDNTAPHSRTLKVLI IGKRSSGRKLRSRILPLLRSSSM	150nt/49aa	----- -	----- -----
	2	>lcl ORF2 MLKISWVHEWVTSNWIATAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	----- --	----- -----
	1	>lcl ORF1 MMKKTMGTC SKLKIEIIPKTHR VVRL EIIQQ	99nt/32aa	057428.2	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs.
	6	>lcl ORF6 MVMAALHNSLTVMPSVRCFSVTGEYST KSF	93nt/30aa	Q70EL4.2	RecName: Full=Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 43; AltName: Full=Deubiquitinatin g enzyme 43; AltName: Full=Ubiquitin thioesterase 43; AltName: Full=Ubiquitin- specific-processing protease 43.
	4	>lcl ORF4 MKPFPKRRSVDHPKAGKQWGQKCGQT	84nt/27aa	varias	varias
	8	>lcl ORF8 MLNTHTLPFSILLKHLGSSLHSERIHI	84nt/27aa	Dedos de zinc	Dedos de zinc
P14	F	7	>lcl ORF7 MRTVRRWYRFRLPSPVPHSWKLLWR DGVTKPERESNYSYITLKWKWL PYTCE LGFHFATY	192nt/63aa ---	----- -----
	9	>lcl ORF9 MESDEIIGSIYVFVNEGISAPTSLATQ VHFTCIRVHMSLPRSISKPTKSPLASY DANGA	180nt/59aa	Q810B9.2	RecName: Full=SLIT and NTRK-like protein 3; Flags: Precursor.

		4	>lcl ORF4 MFFFYSLGFSGRILKLMRLTMLTSSR TESGWRLYACKSTLMEALKY	147nt/48aa	P40798.2	RecName: Full=Protein shuttle craft.
		1	>lcl ORF1 MNNSILALALLRLSTAASSYAAALPET VGNQGTDTYAPAFAS	126nt/41aa	SBP_bac_3 superfamilia	Sitios de unión periplasmática
		5	>lcl ORF5 MRVDLQAYKRHPLSVLDEVVSVLNIS FNIRPENPRE	114nt/37aa	Q82NR8.1	RecName: Full=Exo- beta-D- glucosaminidase; Flags: Precursor.
		6	>lcl ORF6 MRGSARQRHWQPRYISPASVCTCRYRD RYQSQQNHL	111nt/36aa	----- ----	----- -----
		8	>lcl ORF8 MQNSRGQVKIPIIFSSKFHESGFTSIQ TPPTLGS	105nt/34aa	----- ----	----- -----
		2	>lcl ORF2 MCTRMQVKCTWASDVGALIPSLTK	81nt/26aa	SBP_bac_3 superfamilia	varios
		3	>lcl ORF3 MTELYLLIALGPLSLAFLLQTGRAAI	81nt/26aa	varios	varios
R		1	>>lcl ORF1 MPLAGSSIFFPSREGITAPPPLATLLP FSASVWDLAGDIEINASQTTFNVFRGF GRLGGIGSVTYRLRWRRNAGGLCGED	246nt/81aa	069873.1	RecName: Full=Bifunctional uridylyltransferase/ uridylyl-removing enzyme; Short=UTase/UR; AltName: Full=Bifunctional [protein-PII] modification enzyme; AltName: Full=Bifunctional nitrogen sensor protein; Includes: RecName: Full= [Protein-PII] uridylyltransferase; Short=PII uridylyltransferase; Short=UTase; Includes: RecName: Full= [Protein-PII]- UMP uridylyl- removing enzyme; Short=UR.
		9	>lcl ORF9 MVVRKIKGINTCARPPYPSGVIRLPIW SAAAKSSGWNELLSKSEAFQRTT	156nt/51aa	----- ---	----- -----
		6	>lcl ORF6 MERGSQIFWMERVTQQERSVPTIHNIK KPKSKEGRVGRSRFQICNY	141nt/46aa	----- -	----- -----
		3	>lcl ORF3 MLEGCVERPTNNYRSENDFFLYPLLK MAFLCCVSLERFALAE	132nt/43aa	bacterias	descarboxilasa
		5	>lcl ORF5 MRAQTWIHYNADVRYAKILANYAPAKK FFQQTQL	105nt/34aa	Q66621.1	RecName: Full=Gene 18 protein.
		7	>lcl ORF7 MDDPASGIPCPINVSWRVPDKMSRSP SLFG	93nt/30aa	----- -	----- -----
		2	>lcl ORF2 MRMSDTLKYSRIMLPQKSFSRPSYD	81nt/26aa	varias	varias
		4	>lcl ORF4 MLQSVTIFPHELSSKNMKKTSQLML	81nt/26aa	varias	varias
		10	>lcl ORF10 MLLLDECSCVECLKTRSWFHTLFLLW	81nt/26aa	varias	varias
		8	>lcl ORF8 MGVTRRARVRISHSWVCWKNNFFAGA	78nt/25aa	varios	varios
P15	F	6	>lcl ORF6 MSKETSFVKNAEELAKQKMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRPLPRKPTPP TTVPDDEVSVLVLNISFNIQOPENLERIK	396nt/131aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I;Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease

	EEHRSMAENIVGRNLLGKISC		Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I	
			RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI	
5	>lcl ORF5 MQIEETFRDLKSPAYGLGLRHRSRTSSS ERFDIMLLIALMLQLTCWLAGVHAQKQ GWDKHFQANTVRNRNVLSTVRLGMEVL RHSGYTITREDLLVAATLLAQNLFTHG YALGKL	345nt/114aa	Q9NR09.2	RecName: Full=Baculoviral IAP repeat-containing protein 6; AltName: Full=BIR repeat- containing ubiquitin- conjugating enzyme; Short=BRUCE; AltName: Full=RING- type E3 ubiquitin transferase BIRC6; AltName: Full=Ubiquitin- conjugating BIR domain enzyme apollon; Short=APOLLON.
3	>lcl ORF3 MARVFQQDIFPPIFLPTIFSAAMENRC SSFILSRFSGICILKLIIRTMLTTSGGT VVGGVGFLGNRLS	204nt/67aa	varias	GTP- binding protein RhoE
7	>lcl ORF7 MVALKGPLGINPVEKAVFVSGLRWDKE KHSQFARPWERKNWKPQTITMCSF	162nt/67aa	P80324.1	RecName: Full=D- amino-acid oxidase; Short=DAAO; Short=DAMOX;
2	>lcl ORF2 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTs	141nt/46aa	A0JMR6.1 <u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb- like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
				RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransfера ^s e; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.
1	>lcl ORF1 MKTSGWLEFFSKISFLEDSSLQYSQLP WKIDVLLLFQDFQAVY	135nt/44aa	----- ---	----- -----
8	>lcl ORF8 MPNFYCINLALKAEKISARHGLIVTTR HLKSTQRQRSHGF	126nt/41aa	----- ---	----- -----
10	>lcl ORF10	123nt/40aa	-----	-----

		MVTLWGNYEGISQGFTLYASGSYNVN YERIIISHRRFKL	---	-----
4		>lc1 ORF4 MPKRTVESTFRFLTVLAWKCLSQPCF	81nt/26aa	varios
9		>lc1 ORF9 MLRNKVGTSRSLTQSEIETYQQFA	81nt/26aa	varios
R	1	>lc1 ORF1 MSIQHFRVALIPFFAACLCPVFIAHPET LVVKVDAEDQLGARVGYIELDLNSGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTDGMTRRELCSAAITMSDNTAANL LLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNCNSPLI VGKRELNEAI PNDERDT TMPGSNGQQR LRKLFNWKYFTLAFTPATINKTGLKAD KISRNTFGARAFRGAWVIGGGKIEWPGN VGFSGTFATLGAKR	774nt/257aa	betalacta masas
	6	>lc1 ORF6 MASFSSRFPTIKGELHDPPMLCKKAVS SFGPPIVVRSKLAAVLSLMVMAA LHNSLTVMPSVRSVTGEYSTKSF	228nt/75aa	-----
	7	>lc1 ORF7 MRRPSCSCPASIRDNTAPHSRTLKVLI IGKRSSGRKLSRLPLLRSSSM	150nt/49aa	-----
	8	>lc1 ORF8 MIPPCCAKKRLAPSVRLSLSEVWPQC YHSWLWQHClIILLSCHP	138nt/45aa	Q9MZ34.1 RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6.
	3	>lc1 ORF3 MLKISWVHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----
	4	>lc1 ORF4 MKPYQTTSVTPRCVAMGNVCANYLT GRNTLL	102nt/33aa	Q7VLE9.1 RecName: Full=GMP synthase [glutamine- hydrolyzing]; AltName: Full=GMP synthetase; AltName: Full=Glutamine amidotransferase. ACCESSION Q7VLE9
	2	>lc1 ORF2 MMKMTMNGTC SKLKIEIIPKTHR VRL EIIQQ	99nt/32aa	057428.2 RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs.
	5	>lc1 ORF5 MLNTHTLPFSILLKHL SGLLSHERIHI	84nt/27aa	Dedos de zinc
P16	F	>lc1 ORF3 MC ELDI LHD SLYQFCPELHLKRLNSLT LACH AL LDCK TLT LTEL GRNL PT KART KHNIK R IDR LLG NRHL KER LA VYWH ASFICSGNTMPIVLVDWSDI REQKRLM VLRASVALHGRSVTLYEKAFPLSEQCS KKAHDOFLADLASILPSNTTPLIVSDA GFKVPWYKSVEKL G WYWL SRV RGK VQY ADLGAENWKPISNLHD MSSSHSKTLGY KRLTKSNPISQCILLYKSRSKGRKNHR SKRNHCDHPSPKN	771nt/256aa	-----
	1	>lc1 ORF1 MARVFQQDIFP RRSPTIFSAAMENRCS SFILSRFSGCILK LIRMLTSSGT VGGVGFLGNRLS	201nt/66aa	-----
	6	>lc1 ORF6 MLALSVRAIRCP LYLLTGLISVSKNGL WYCELQSHYT VVLLFMRKRSRFQSNV QRKLMTNF	189nt/62aa	-----

2	>lcl ORF2 MIKWFRQKSIIRQQNVRTRYFTRLSLP ILPRITLKTQQLNVGLPRLT	147nt/48aa	-----	-----	
4	>lcl ORF4 MFFFYSLKIFRFLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTS	141nt/46aa	A0JMR6.1 <u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1	
				RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransferase; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.	
7	>lcl ORF7 MLCFVLALVGRLLRPSSVRVRLQSSKA WQANVKLLSRFKCNSGQNW	141nt/46aa	P48597.1	RecName: Full=Eukaryotic translation initiation factor 4E; Short=eIF-4E; Short=eIF4E; AltName: Full=eIF-4F 25 kDa subunit; AltName: Full=mRNA cap-binding protein.	
5	>lcl ORF5 MVS PKINNQTTKCANSIFYTTLFTNSA PNYT	96nt/31aa	-----	-----	
R	1	>lcl ORF1 MSIQHFRVALIPFFAACFLPVFAHPET LVKVKDAEDQLGARVGVIYELDLNSGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTDMGTVERLCSAAITMSDNTAANL LLTTIGGPKELTAFLHNMGGSNCNSPLI VGEPELNEALPNEQRGHHQCPVANGTN VCPNQLNGRNRLNLSTFPGTNL	633nt/210aa	Beta lactamases	Familia transpeptidasas
6	>lcl ORF6 MLPGIGGVHAVRLEGGLHSAPVPQRSRA SYMIPPCCAKRLAPSVLRSLEVSWP QCYHSWLWQHCIILLLSCHP	225nt/74aa	Q9MZ34.1	RecName: Full=Sodium- and chloride-dependent taurine transporter; AltName: Full=Solute carrier family 6 member 6.	
4	>lcl ORF4 MLCKKAVSSFGPPIVVRSKLAAVLSM VMAALHNSLTVMPSVRCSVTGEYSTK SF	171nt/56aa	-----	-----	
5	>lcl ORF5 MRRPSCSCPASIRDNTAPHRTKLVLI IGKRSSGRKLSRILPLLRSSSM	150nt/49aa	-----	-----	
3	>lcl ORF3 MLKISWHEWVTSNWISTAVRSLRVFA PKNVFQ	102nt/33aa	-----	-----	
2	>lcl ORF2 MMKKTMNGTC SKLKIEIIPKTHR VRL EIIQQ	99nt/32aa	057428.2	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related	

						sequence; Short=xHAS-rs.
		7	>lcl ORF7 MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	84nt/27aa	Dedos de zinc	Dedos de zinc
P17	F	6	>lcl ORF6 MSKETSFVKNAEELAKQMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVGQEEHIEYLARSFHESRPLPKPTPP TTVPDEVSIVLNLISFNQOPENLERIK EEHRFSMAAENIVGDLLERILLKTRAI PNSFA	420nt/139aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
						RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
		2	>lcl ORF2 MARVFSKILSRSPPTIFSAAMENRCSS FILSRFGCILKLLRTMLTSSGTVV GGVGFLGNRLS	198nt/65aa	-----	-----
		3	>lcl ORF3 MSELTHINCVALTANCFPVGKPVVPAA LMNRPTRGERRFAYWALFRFLAH	153nt/50aa	-----	-----
		1	>lcl ORF1 MFYYSLKIFRRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTTS	141nt/46aa	<u>A0JMR6.1</u> <u>Q91TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
						RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransferase; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.
		4	>lcl ORF4 MRKRHASRREKGQVSGKRQGRNRRAH EGASRGKRLVSL	120nt/39aa	<u>Q90WN5.1</u>	RecName: Full=REST corepressor 1; AltName: Full=Protein CoREST; Short=xCoREST
		5	>lcl ORF5 MLVRGAEPMEKRQRQGLFTVPGLLLAF CSHVLCVIP	114nt/37aa	-----	-----
R	1	>lcl ORF1 MSIQHFRVALIPFFAAFCLPVFAHPET LVVKVDAEDQLGARGVGYIELDLNSGKI LESFRPEERFPMMSTFKVLLCGAVLSR IDAGQEQLGRRIHYSQNDLVEYSPVTE KHLTGDMTVRELCSAAITMSDNTAGQL TSDNDREDRKELTAFFAQHGGIM	477nt/158aa	Varios	Superfamilia transpeptidasas	
		5	>lcl ORF5 MIPPCCAKKAVSSFRSSRSLSEVSWPA	186nt/61aa	-----	-----

		VLSLMVMAALHNSLTVMPSVRCSVTG EYSTKSF			
		6 >lc1 ORF6 MRRPSCSCPASIRDNTAPHSR TLKVLI IGKRSSGRKLSRILPLLRSSSM	150nt/49aa	-----	-----
		3 >lc1 ORF3 MLKISWHEWVTSN WISTAVRSLRVFA PKN VEQ	102nt/33aa	-----	-----
		2 >lc1 ORF2 MMKKTMGTC SKL KIEII P KTH RVRL EII QQ	99nt/32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs
		4 >lc1 ORF4 MLNTHTLPFS ILLKHL SG LLSHERI HI	84nt/27aa	Varios	Proteínas de dedos de zinc
P18	F	7 >lc1 ORF7 MMR RSS MNPR NC SKE FMGS A PDC F SCR HL RSL KLI M S C Q YLN SET PPF IL SKV TSL ER LMW NG QSK KWM Y PGT FL KH	240nt/79aa	Q9LPZ3.3	RecName: Full=G-type lectin S-receptor- like serine/threonine- protein kinase At1g11410; Flags: Precursor.
		1 >lc1 ORF1 MKGGVSLFRY WQLIIMSFR LRCR HEK QSGADPINSF EQLRGFM DDRMR ILK LP LSCLL RQPM ALVE PSL M STVC	228nt/75aa	Q81RQ4.1	RecName: Full=3- dehydrosikimate dehydratase; Short=3-DHS dehydratase; Short=DHSase; AltName: Full=Petrobactin biosynthesis protein AsbF.
		10 >lc1 ORF10 MLCGCDET VRGI YYRIF QLAT VQCHY Q SYSSTLKG LPAES ISGR KYTC SRAS IL EWS AMRY AVS RTQ HSE	213nt/70aa	-----	-----
		9 >lc1 ORF9 MLKSEHPGM VSHEVC GES DPA F RVG SL IIS TTRA AVS RP VSL M RAL PA PL VV	159nt/52aa	---	-----
		6 >lc1 ORF6 MIA CSL IRIS PEIS LSS PMHE VVV GRA AC YADAM RR C VAY IT GS FS	141nt/46aa	-----	-----
		3 >lc1 ORF3 MFF FYSL GFSG CILK LIL RTML TTSS G TV VGG VGF GLY RLS	126nt/41aa	-----	-----
		5 >lc1 ORF5 MHR GAETD LRT DP DQ RT SDHAC SL QM Q PK LL AL R	105nt/34aa	Q8XY P9. Q91G49.1	RecName: Full=tRNA 5-methylaminomethyl- 2-thiouridine biosynthesis bifunctional protein MnmC; Short=tRNA mnm(5)s(2)U biosynthesis bifunctional protein; Includes: RecName: Full=tRNA (mnm(5)s(2)U34)- methyltransferase; Includes: RecName: Full=FAD-dependent cmnm(5)s(2)U34 oxidoreductase.
					RecName: Full=Uncharacterized protein 050L.
		2 >lc1 ORF2 MADHSRMLA LEHVY FRPE MD SAG SPL R VEL	93nt/30aa	varias	varias
		4 >lc1 ORF4 MFE ESSRIIH PFF ALSV PHQS FQR RH F	84nt/27aa	varias	varias

	8	>lcl ORF8 MAAEINVGGSVRKNLKTRAFTLFSG	78nt/25aa	varias	varias
R	1	>lcl ORF1 MHAGIWLRLVPECQTAEILLSSESCEIS VENKINSADERDKPRIGPRCTRLLTPVI LTSITNTIFSYSSLNRQHYKISRVCACH NVTRARCCSTR	282nt/93	----- ---	----- -----
	10	>lcl ORF10 MILRITESPPFDTRVHVTIFQHALDLQ SLFSVSKDRKAKNHQAAANSGYANKWNS KHGPFPVFLTHSQRHCLRSGYRWSYTR NIFRKVFI	270nt/89aa	----- ---	----- -----
	11	>lcl ORF11 MSPKTDNKPYKTTKILTKEENRGRPN SEVIRIKKIMQPKVKSLRSIHKKYQV PEICNILPTPFRNEEAINPFFYDV	240nt/79aa	----- ---	----- -----
	8	>lcl ORF8 MTSLFGRPLFSSVFVRILVVLYGLSV LGDMCAASYMTFLNMFLV	141nt/46aa	----- ---	----- -----
	4	>lcl ORF4 MPLTMQRQEYWKRAMFTVPLIRVTRVS LVVFCLPVFAHTKKTLCI	138nt/45aa	Beta lactamasa s	betalactamasas
	13	>lcl ORF13 MLVRMTGVSRVQRGPIRGLSRSSAEFI LFSTDISHDSEDNRISAV	138nt/45aa	Q08AF3.1	RecName: Full=Schlafen family member 5.
	3	>lcl ORF3 MNMTSKTFNFNLHYFFDTDDFTVRTAP IFFFCFC	102nt/33aa	P62291.1	RecName: Full=Abnormal spindle-like microcephaly- associated protein homolog.
	6	>lcl ORF6 MLSAQLLPERISKNWNGRRMHLCAILY YCGS	93nt/30aa	Q23243.2	RecName: Full=Protein morc-1.
	9	>lcl ORF9 MVTCTRVSGGSVILRIMRDICREQD KFG	93nt/30	varios	varios
	7	>lcl ORF7 MGYLEEYLASYSTPRLAGCPRWGST	84nt/27aa	varios	varios
	2	>lcl ORF2 MMKKTKKGNGWSRFPRLTLLITPPD	81nt/26aa	varios	varios
	5	>lcl ORF5 MLEYGYYPSVKRRFCYPQNARYL	81nt/26aa	varios	varios
	12	>lcl ORF12 MRVRCLGNLDQDPLPFFVFFIIDSN	78nt/25aa	varios	varios
	14	>lcl ORF14 MELYKEHIQKGHIHACRAHVVPQNGQ	78nt/25aa	varios	varios
P19	F	4	>lcl ORF4 MGIVDVVGFRGEKAAGLKATCPTFNI LMDAYSRRMLQVIVEKVLVEMQEMGLE PNVKSYTCLSVVGRQKNMSDMAADAF LRMKKVGIRPTSHTYTAFLHAYSGW NHSILGIL	351nt/116aa	pentattri copeptido PPR_2 super familia
	1	>lcl ORF1 MSLIFFCLPYTLTRHVYDLTGFGSNPIS CISTKTFSITISCILLYASIRILKVG HVAFNPAAFPSPPLKPTTSTMPIRDKIP DCQDPRSSLCMTQNLCKLCLTTA	324nt/107aa	----- ---	----- -----
	3	>lcl ORF3 MHDPNTELFEKMFYRIAFHLTAIQLV TDYLNTRRNPCYHVESAGVISMETST WDITGYLRLNPF	204nt/67aa	----- ---	----- -----
	2	>lcl ORF2 MHGEKPVYWKWDYEQLSSSEMHQP CHSYSSASHTH	117nt/38aa	Q96EN8.2 P41255.1 P14284.1	RecName: Full=Molybdenum cofactor sulfurase; Short=MCS; Short=MOS; Short=MoCo sulfurase; Short=hMCS; AltName: Full=Molybdenum cofactor sulfurtransferase. RecName: Full=Lysine--tRNA

					ligase; AltName: Full=Lysyl-tRNA synthetase; Short=LysRS.
					RecName: Full=DNA polymerase zeta catalytic subunit; AltName: Full=Protein reversionless 3.
5		>lcl ORF5 MHIQSVAGTIQSGSSRVDLPPFIG	75nt/24aa	Q5RBF2.1 B8NYW9.1	RecName: Full=E3 ubiquitin-protein ligase NEDD4-like; AltName: Full=HECT-type E3 ubiquitin transferase NED4L. varias
R	2	>lcl ORF2 MQLVIVEKVSSEMQEMGLEPKVKSYT LASGSGGRRMGLTRLQMF	141nt/46aa	Q9FGR7.1	RecName: Full=Cytochrome P450 monooxygenase AFLA_114810; Flags: Precursor. varias
1		>lcl ORF1 MHPMDYNKWEIWVYSPRSPPTFELKNV HHTLTGTVPECKEPAPAW	138nt/45aa	P26535.1	RecName: Full=Major capsid protein L1.
4		>lcl ORF4 MKPVSSHFTYFFFFSSVFSQWLGTQS RLLQT	99nt/32aa	-----	RecName: Full=Glucose-1- phosphate adenylyltransferase; AltName: Full=ADP-glucose pyrophosphorylase; Short=ADPGlc PPase; AltName: Full=ADP-glucose synthase.
3		>lcl ORF3 MVDVLKLEGGGGAGGVNPNFPLVIIHW MHTV	96nt/31aa	Q02659.1 A5MZ55.1	RecName: Full=Putative uncharacterized protein YPL025C. RecName: Full=UDP-N- acetylglucosamine-- N-acetylmuramyl- (pentapeptide) pyrophosphoryl- undecaprenol N- acetylglucosamine transferase; AltName: Full=Undecaprenyl- PP-MurNAc- pentapeptide- UDPGlcNAc GlcNAc transferase.
P20	F	3	>lcl ORF3	159nt/52aa	Q9BSJ1.2
					RecName:

	MLSAVHLQLGHSCRPCAPRASCYVDL LLGSTKIAVCCTESAQITQAASSYR			Full=Tripartite motif-containing protein 51; AltName: Full=SPRY domain-containing protein 5.
4	>lcl ORF4 MQIVLPVVLTVRQPSCSQVPSALPCQG YCNHSDPAVEYAPTD	129nt/42aa	Q8N158.1	RecName: Full=Glypican-2; Contains: RecName: Full=Secreted glypican-2; Flags: Precursor.
7	>lcl ORF7 MFIASGCCTMLWQLKRIQAQRGGERRR SETRGSTGPIKDR	123nt/40aa	Q04734.1	RecName: Full=pH-response regulator protein pali/RIM9; AltName: Full=Regulator of IME2 protein 9.
5	>lcl ORF5 MRLTHNMLPRLPSLNKLPSFGTVYEQQ HPTANSY	105nt/34aa	Q8Y4A9.1	RecName: Full=Release factor glutamine methyltransferase; Short=RF MTase; AltName: Full=N5-glutamine methyltransferase PrmC; AltName: Full=Protein-(glutamine-N5) MTase PrmC; AltName: Full=Protein-glutamine N-methyltransferase PrmC
1	>lcl ORF1 MEIWRSHLEEPSARFSSQVCSAAKG VSQ	93nt/30aa	varias	varias
6	>lcl ORF6 MRSSQRYRTVTMPTLRAVVTRLRQELCK	87nt/28aa	varias	varias
2	>lcl ORF2 MYVICCASAAWSFLSPLCSTSSQLCL	81nt/26aa	varias	varias
R	1 >lcl ORF1 MKVPTLSENILLHYRMKIGAWATALHK QKCGASTAERRFTSQISL	138nt/45aa	----- ---	----- -----
	3 >lcl ORF3 MDFPSAVWREGPTTDVYWEPLVVPAD VFVAHRLPRTTCGRCMRI	138nt/45aa	----- ---	----- -----
	2 >lcl ORF2 MTELSDGFFRSKTVEKNNSRPGCYWDVA	84nt/27aa	A4IID1.1 varias	RecName: Full=Alpha-1,3-mannosyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylglucosaminyltransferase A; AltName: Full=N-glycosyl-oligosaccharide-glycoprotein N-acetylglucosaminyltransferase IVa; Short=GlcNAc-T IVa; Short=GnT-IVa; Short=N-acetylglucosaminyltransferase IVa; AltName: Full=UDP-N-acetylglucosamine:alpha-1,3-D-mannoside beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase IVa.

					vairas
P21	F	5	>lcl ORF5 MIKPSFQASPDRTGIGLEMQLDILKH IRHNLRKWPWRAREADINITRSRTDRGA NGGDQAADPRLSLSDLAFRPTSLT	237nt/78aa	----- -----
		3	>lcl ORF3 MIYTRSVFCQAHYSSYVTPVGEQSRKS KTMSLTILSPSPIAEILAFVGFSDTGI LVVEKQPY	189nt/62aa	----- -----
		4	>lcl ORF4 MPRGECQSFQSEQRFSRKVIPVSWEFT SSYCPINHRSILAGVV	135nt/44aa	----- -----
		1	>lcl ORF1 MFMSASLARQGFRLCRMCFNISSCIS KPIPVRNSGLA	117nt/38aa	Q76I76.1 RecName: Full=Protein phosphatase Slingshot homolog 2; AltName: Full=SSH-like protein 2; Short=SSH-2L; Short=hSSH-2L.
		6	>lcl ORF6 MSLAENTSGVDHLYSSSGAISPAPRK SKR	93nt/30aa	varias varias
		2	>lcl ORF2 MPAQHQVCKVLYYTCKDRAMIYYRAIR	84nt/27aa	Varias varias
R		1	> ORF1 MRPARSSYVVTVPVRRIARPCLRRLIND YSFGKHFGLLSYLFNWLFDHTEQNTPH	168nt/55aa	Q62IJ8.1 RecName: Full=Potassium- transporting ATPase KdpC subunit; AltName: Full=ATP phosphohydrolase [potassium- transporting] C chain; AltName: Full=Potassium- binding and translocating subunit C; AltName: Full=Potassium- translocating ATPase C chain. Q2SZS2.1 RecName: Full=Potassium- transporting ATPase KdpC subunit; AltName: Full=ATP phosphohydrolase [potassium-tchain; AltNameFull=Potassi m-binding and translocating subunit C; AltName: Full=Potassium- translocating ATPase C chain.
		6	>lcl ORF6 MFSKTVIINQSPQTGPSDSAHRSNVA GPRSRSHRATIEKIKRSERLSSR	150nt/49aa	----- -----
		3	>lcl ORF3 MITVLENISAYSRIFSTGFFMIILNRT LRTSRMKESIQKSLPLSL	141nt/46aa	----- -----
		2	>lcl ORF2 MRTVFYYRGYATQWRQLTAWTYPRILR LYEDFPGLCE	114nt/37aa	----- -----
		5	>lcl ORF5 MMKLFVQNIHTSRGSLRTIVIFGDRS MQSAASTV	108nt/35aa	----- -----
		4	>lcl ORF4 MRMEPATRLVQGQIPGTSRGVSLLIIHH EA	90nt/29aa	varias varias
		7	>lcl ORF7	78nt/25aa	varias varias

P22	F	9	MNILDPLHACPDPREPERRGTFLSGF >lcl ORF9 MSKETSFVKAELAKQMDAINPELS SKFKFLIKFLSQFPEACSKPRSKKMQN KVQEEHIEYLARSFHESRPLPKPTPP TTVPDEVVSIVLNISFNQOPENLERIK EEHRFSMAAENIVGDLLERLQSSPAAS SPR	417nt/138aa	<u>0194.1</u> <u>P09796.1</u>	RecName: Full=Type-2 restriction enzyme Eco47I; Short=R.Eco47 I; AltName: Full=Endonuclease Eco47I; AltName: Full=Type II restriction enzyme Eco47I
						RecName: Full=Type-2 restriction enzyme SinI; Short=R.SinI; AltName: Full=Endonuclease SinI; AltName: Full=Type II restriction enzyme SinI
1			>lcl ORF1 MIANIPVSLRVGITSGIGLFIGMMGLK NAGVIVANPETLVSIGNLTSHSVLLGI LGFFIIAILASRNIAAVLVSIVVTTL LGWIVIFLEDLLQYSQLPWKIDVLLLF SQDFQAVY	351nt/116aa	varios	HCO3_cotransp superfamilia
8			>lcl ORF8 MFLQGGGTWLWKKAQKRRPFLRFCAFWW PFGPHVSCVIPLILWITVLPPLSELI PLAAAERPSAASQ	204nt/67aa	<u>002748.1</u> <u>Q4A5E2.1</u>	RecName: Full=Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator; Short=ARNT protein; AltName: Full=Dioxin receptor, nuclear translocator; AltName: Full=Hypoxia- inducible factor 1- beta; Short=HIF-1- beta; Short=HIF1- beta
						RecName: Full=Tyrosine--tRNA ligase; AltName: Full=Tyrosyl-tRNA synthetase; Short=TyrRS
3			>lcl ORF3 MARVFSRYQQSPGRDRSAVTDDPRS LLDDSOHSGESACGYYQRYRSVWHHDG AEKRRCDCR	192nt/63aa	<u>Q0ANX4.1</u>	RecName: Full=Pantothenate synthetase; Short=PS; AltName: Full=Pantoate--beta- alanine ligase; AltName: Full=Pantoate- activating enzyme
						RecName: Full=1,4- beta-D-glucan cellobiohydrolase CEL6B; AltName: Full=Beta- glucan cellobiohydrol ase CEL6B; AltName: Full=Exocellobiohydr olase CEL6B; AltName: Full=Exoglucanase CEL6B; Flags: Precursor
5			>lcl ORF5	153nt/50aa	-----	-----

		MSELTHINCVALTANCFPVGKPVVPA LMNRPTRGERRFAYWALFRFLAH			
2		>lcl ORF2 MFFFYSLKIFRLYIKTYIKNYANHLIR NRCRWRGFSWQSTLMKTTs	141nt/46aa	A0JMR6.1 <u>091TW9.1</u>	RecName: Full=Histone H2A deubiquitinase MYSM1; Short=2A-DUB; AltName: Full=Myb-like, SWIRM and MPN domain-containing protein 1
					RecName: Full=Genome polyprotein; Includes: RecName: Full=RNA-directed RNA polymerase; Includes: RecName: Full=Helicase; Includes: RecName: Full=Methyltransferase; Contains: RecName: Full=RNA replication protein; Contains: RecName: Full=Capsid protein CP1; Short=CP1; AltName: Full=Coat protein.
4		>lcl ORF4 MENRCSSFILSRFSGCILKLLRMLT TSSGTVVGGVGFGLGNRLS	138nt/45aa	-----	-----
7		>lcl ORF7 MLTSVSGLATITPAFFSPIMPMNRP LVIPTTRRLTGMLAIQ	132nt/43aa	088658.2 <u>Q13946.2</u> <u>059808.1</u> <u>099502.2</u>	RecName: Full=Kinesin-like protein KIF1B RecName: Full=High affinity cAMP-specific 3',5'-cyclic pHospHodiesterase 7A; AltName: Full=HCP1; AltName: Full=TM22 RecName: Full=Probable betaine aldehyde dehydrogenase; Short=BADH; AltName: Full=Meiotic expression up-regulated protein 8 RecName: Full=Eyes absent homolog 1
6		>lcl ORF6 MEKSPEKAAFFTVPGPLLVAFWSTCF RYPPDFVDNRITAFE	129nt/42aa	-----	-----
R	5	>lcl ORF5 MARVFQODIISNLGAIDLRLTIFRV RYWMIANIPVSLSRGITSGIGLFIGMM GLKNAGVIVANPETLVSIGNLTSHSVL LGILGFFIIAILASRNIAAVLVSIVV TTLLGWIVII	357nt/118aa	varios	HCO3_cotransp superfamilia
4		>lcl ORF4 MSIQHFRVALIPFFAAFCLPVFAHPET LVKVKDAEDQLGAPSGLHRNGISTAGK ILENFRPQKTFNSNEEHFLKFCYVGARY I	246nt/81aa	bacterias	betalactamasas
3		>lcl ORF3 MLTSVSGLATITPAFFSPIMPMNRP LVIPTTRRLTGMLAIQ	132nt/43aa	088658.2 <u>Q13946.2</u> <u>059808.1</u>	RecName: Full=Kinesin-like protein KIF1B RecName: Full=High affinity cAMP-specific 3',5'-cyclic pHospHodiesterase 7A; AltName:

					Full=HCP1; AltName: Full=TM22 <u>099502.2</u> RecName: Full=Probable betaine aldehyde dehydrogenase; Short=BADH; AltName: Full=Meiotic expression up- regulated protein 8 RecName: Full=Eyes absent homolog 1
2	>lcl ORF2 MLKISWVHQVGVIEMGSQQRVKSLRIF APKKRFPMRNTF	120nt/39aa	-----	-----	
1	>lcl ORF1 MMKKTMNGTCSKLKIEIIPKTHRVRRL EIIQQ	99nt/32aa	<u>057428.2</u>	RecName: Full=Hyaluronan synthase-related protein; AltName: Full=Hyaluronan synthase-related sequence; Short=xHAS-rs	
6	>lcl ORF6 MLNTHTLPFSILLKHLGGLLSHERIHI	84nt/27aa	Varios	Proteínas de dedos de zinc	

Tabla 6. Porcentaje e identidad que comparte la secuencia de 25 aminoácidos del NH₂-terminal con las clonas que presentaron plásmido con inserto.

Secuencia de las clonas	Sentido Forward o Reverse	Identidad de secuencias con el extremo NH ₂ -terminal	Puntaje total	% de identidad
P6	Reverse	Reverse	11.2	75%

		1092 YPFG 1081		
		Y FG		
		22 YXFG 25		
		extremo NH ₂ -terminal		
		Forward		
		1182 VAPRGDKFV 1156		
P7	Forward	+AP GD V	15.8	56%
		7 IAPNGDAVV 15		
		extremo NH ₂ -terminal		
		Reverse		
		830 AHLAELQKCSSLENNVRCENY 768		
P11	Reverse	AHL+ + NY	10.4	24%
		2 AHLSVIAPNGDAVVXTSTINY 22		
		extremo NH ₂ -terminal		
		Forward		
	Forward	193 SHLRFSAPS 167	12.7	44%
P22		+HL AP+		
		2 AHLSVIAPN 10		
	Reverse	Extremo NH ₂ -terminal	12.7	44%

- * La secuencia pertenece que se muestra arriba en el cuadro tres representa a los nucleótidos del plásmido con inserto de *Scolopendra viridis* Say y la identidad que presentan con la secuencia del Extremo NH₂-terminal de 25aminoácidos es la que está debajo de la secuencia en amarillo.
- * En amarillo se muestran los sitios que comparten identidad con las secuencias de las clonas con plásmido con inserto y el extremo NH₂-terminal.



Universidad Autónoma del Estado de
Morelos
Centro de Investigación en Biotecnología



Cuernavaca, Morelos a 05/ENE/2019

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. María del Carmen Gutiérrez Villafuerte (Tutor principal)

Dr. Fernando Martínez Morales (Co Tutor)

Dra. María del Refugio Trejo Hernández

Dra. María Eugenia Núñez Valdez

Dra. María del Rayo Sánchez Carbente

Tesis: "Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

Alumno que la presenta a revisión: **GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO**

Programa: MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. MARIA DEL CARMEN GUTIERREZ VILLAFUERTE



Universidad Autónoma del Estado de
Morelos
Centro de Investigación en Biotecnología



Cuernavaca, Morelos a 05/Enero/2019

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. María del Carmen Gutiérrez Villafuerte (Tutor principal)

Dr. Fernando Martínez Morales (Co Tutor)

Dra. María del Refugio Trejo Hernández

Dra. María Eugenia Núñez Valdez

Dra. María del Rayo Sánchez Carbente

Tesis: "Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

Alumno que la presenta a revisión: **GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO**

Programa: MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. FERNANDO MARTINEZ MORALES



Universidad Autónoma del Estado de
Morelos
Centro de Investigación en Biotecnología



Cuernavaca, Morelos a 16/Enero/2019

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. María del Carmen Gutiérrez Villafuerte (Tutor principal)
Dr. Fernando Martínez Morales (Co Tutor)
Dra. María del Refugio Trejo Hernández
Dra. María Eugenia Núñez Valdez
Dra. María del Rayo Sánchez Carbente

Tesis: "Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

Alumno que la presenta a revisión: **GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO**

Programa: MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. MARIA DEL REFUGIO TREJO HERNANDEZ



Universidad Autónoma del Estado de
Morelos
Centro de Investigación en Biotecnología



Cuernavaca, Morelos a 05 / Febrero / 2019

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. María del Carmen Gutiérrez Villafuerte (Tutor principal)
Dr. Fernando Martínez Morales (Co Tutor)
Dra. María del Refugio Trejo Hernández
Dra. María Eugenia Núñez Valdez
Dra. María del Rayo Sánchez Carbente

Tesis: "Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

Alumno que la presenta a revisión: **GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO**

Programa: MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. MARIA EUGENIA NUÑEZ VALDEZ



Universidad Autónoma del Estado de
Morelos
Centro de Investigación en Biotecnología



Cuernavaca, Morelos a 18/FEB/2019

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dra. María del Carmen Gutiérrez Villafuerte (Tutor principal)
Dr. Fernando Martínez Morales (Co Tutor)
Dra. María del Refugio Trejo Hernández
Dra. María Eugenia Núñez Valdez
Dra. María del Rayo Sánchez Carbente

Tesis: "Elucidación del extremo NH₂-terminal de la hialuronidasa de 56 kDa para la identificación del gen en *Scolopendra viridis* Say (SvS)

Alumno que la presenta a revisión: **GIOVANNA PATRICIA OLIVOS TREJO**

Programa: MAESTRIA EN BIOTECNOLOGIA

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE



DRA. MARIA DEL RAYO SANCHEZ CARBENTE