



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

FACULTAD DE BIOLOGÍA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Identificación de genes asociados a la síntesis de magnetita en
la tortuga negra *Chelonia agassizii*.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestra en Ciencias Biológicas

PRESENTA:

Biol. María Guadalupe Rodríguez Jiménez

Directora de Tesis: Dra. Alma Lilia Fuentes Farías

Co-director: Dr. Jesús Campos García

Morelia, Michoacán. Marzo del 2014



AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la dicha de tener una hermosa familia, a mis padres y hermanos por todo el apoyo incondicional durante todos estos años y por haber compartido conmigo momentos inolvidables.

A la Dra. Alma Lilia Fuentes Farías y al Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina por darme el espacio y la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo, por todo el apoyo brindado y el esfuerzo dedicado al proyecto durante todo este tiempo.

Al Dr. Jesús Campos García por recibirme en su Laboratorio de Biotecnología Microbiana en el IIQB, por las horas incansables de trabajo y esfuerzo dedicado al proyecto.

Al Dr. Alejandro Bravo Patiño y a la Dra. Esperanza Meléndez Herrera, por sus valiosos comentarios y sugerencias que sin duda enriquecieron de manera sustancial al trabajo.

A la M.C. Alma Laura Díaz Pérez, por el apoyo brindado, sus valiosas aportaciones y sugerencias durante la fase experimental.

Al Dr. Jesús Ramírez Santos, por las sugerencias y el apoyo técnico brindado durante el proyecto.

Al Dr. Irvin Jácome y al Dr. Víctor Meza por el apoyo brindado en la fase de expresión de genes en el trabajo.

A todos mis amigos, compañeros de laboratorio por su apoyo y compañía.

¡A TODOS MIL GRACIAS!

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	7
------------------------	---

LISTA DE TABLAS	10
-----------------------	----

CAPITULO I. AMPLIFICACIÓN Y EXPRESIÓN DE GENES HOMOLOGOS DE LA BACTERIA, <i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 EN LA TORTUGA NEGRA <i>Chelonia agassizii</i>	12
--	-----------

I. RESUMEN GENERAL	12
---------------------------------	-----------

II. SUMMARY	13
--------------------------	-----------

III. INTRODUCCIÓN GENERAL	14
--	-----------

3.1. Transducción de la información magnética ambiental.....	14
--	----

3.2. Síntesis de magnetita	20
----------------------------------	----

IV. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	25
--	-----------

V. OBJETIVOS	25
---------------------------	-----------

VI. MATERIALES Y METODOS	26
---------------------------------------	-----------

6.1. Colecta de muestras	26
--------------------------------	----

6.2. Selección <i>in silico</i> de los genes candidatos a amplificar por PCR.....	26
---	----

6.3. Diseño de oligonucleótidos degenerados.....	28
--	----

6.4. Amplificación de los fragmentos de ADN por PCR.....	29
--	----

6.5. Electroforesis en gel de agarosa	29
---	----

6.6. Aislamiento y purificación de los productos de PCR	29
6.7. Ligación de los fragmentos de PCR y transformación de células de <i>E. coli</i> (JM101)	29
6.8. Aislamiento de DNA plasmidico de bacterias	30
6.9. Secuenciación de los fragmentos de PCR	30
6.10. Análisis de las secuencias parciales obtenidas.....	30
6.11. Análisis de similitud de las diferentes secuencias proteicas homólogas a los genes <i>mam</i> de bacteria, en la tortuga negra <i>C. agassizii</i>	31
6.12. Colecta de muestras de diferentes tejidos tortuga negra	32
6.13. Extracción y cuantificación de RNA mensajero	32
6.14. Tratamiento de las muestras de RNAm con DNAsa I	32
6.15. Electroforesis en gel de agarosa	33
6.16. Ensayos de PCR en tiempo real cuantitativa (RT-qPCR).....	33
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
7.1. Amplificación de secuencias parciales en <i>C. agassizii</i>	36
A. Gen <i>mamB</i>	36
B. Gen <i>mamK</i>	40
C. Gen <i>mamN</i>	43
D. Gen <i>mamO</i>	47
E. Gen <i>mamA</i>	51
7.2. Análisis de similitud de genes <i>mam</i> de <i>M. magneticum</i> AMB-1, con el genoma de <i>C. agassizii</i>	55

A. Gen <i>mamB</i>	56
B. Gen <i>mamK</i>	57
C. Gen <i>mamN</i>	59
D. Gen <i>mamO</i>	60
E. Gen <i>mamH</i>	62
F. Gen <i>mamM</i>	63
G. Gen <i>mamA</i>	64
7.3. Expresión de genes por RT-qPCR	65
VIII. CONCLUSIONES	67
IX. PERSPECTIVAS	67
X. LITERATURA CITADA.....	68

IX. ANEXOS..... 72

ANEXO 1. *mamB*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* *AMB-1*..... 72

ANEXO 2. *mamB*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas*..... 74

ANEXO 3. *mamK*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* *AMB-1*..... 80

ANEXO 4. *mamK*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas*..... 86

ANEXO 5. *mamN*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* *AMB-1*..... 87

ANEXO 6. *mamN*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas*..... 89

ANEXO 7. *MamO*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* *AMB-1*..... 95

ANEXO 8. *MamO*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas*..... 96

ANEXO 9. *MamA*. Blastp de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas*..... 102

ANEXO 10. Secuencias empleadas para el análisis de similitud de cada uno de los 7 genes *mam* de *c. agassizii*..... 107

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquemas de las rutas recorridas por las crías de tortuga <i>Chelonia agassizii</i> de cada uno de los grupos experimentales	18
Figura 2. Diferentes áreas del cerebro responsivas a estímulos magnéticos mediante el uso de <i>c-fos</i>	19
Figura 3. Respuestas electrofisiológicas evocadas	19
Figura 4. Respuestas electromiográficas evocadas	20
Figura 5. Identificación de cristales de magnetita biogénica en <i>C. agassizii</i> ..	20
Figura 6. Amplificación de los fragmentos obtenidos por PCR para el gen <i>mamB</i> de <i>C. agassizii</i>	37
Figura 7. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a <i>mamB</i> en <i>C. agassizii</i>	38
Figura 8. Representación gráfica de la secuencia en aminoácidos para el homólogo a <i>mamB</i> en <i>C. agassizii</i>	38
Figura 9. Árbol de Neighbor-Joining para el gen <i>mamB</i> con diferentes especies de referencia	40
Figura 10. Amplificación de los fragmentos obtenidos por PCR para el gen <i>mamK</i> de <i>C. agassizii</i>	41
Figura 11. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a <i>mamK</i> en <i>C. agassizii</i>	41
Figura 12. Representación gráfica de la secuencia en aminoácidos para el homólogo a <i>mamK</i> en <i>C. agassizii</i>	42

Figura 13. Árbol de Neighbor-Joining para el gen <i>mamK</i> con diferentes especies de referencia	43
Figura 14. Amplificación de los fragmentos obtenidos por PCR para el gen <i>mamN</i> de <i>C. agassizii</i>	44
Figura 15. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a <i>mamN</i> en <i>C. agassizii</i>	45
Figura 16. Representación gráfica de la secuencia en aminoácidos para el homólogo a <i>mamN</i> en <i>C. agassizii</i>	45
Figura 17. Árbol de Neighbor-Joining para el gen <i>mamN</i> con diferentes especies de referencia	47
Figura 18. Amplificación de los fragmentos obtenidos por PCR para el gen <i>mamO</i> de <i>C. agassizii</i>	48
Figura 19. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a <i>mamO</i> en <i>C. agassizii</i>	49
Figura 20. Representación gráfica de la secuencia en aminoácidos para el homólogo a <i>mamO</i> en <i>C. agassizii</i>	50
Figura 21. Árbol de Neighbor-Joining para el gen <i>mamO</i> con diferentes especies de referencia	52
Figura 22. Amplificación de los fragmentos obtenidos por PCR para el gen <i>mamA</i> de <i>C. agassizii</i>	51
Figura 23. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a <i>mamA</i> en <i>C. agassizii</i>	52
Figura 24. Representación gráfica de la secuencia en aminoácidos para el homólogo a <i>mamA</i> en <i>C. agassizii</i>	52

Figura 25. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamB</i>	57
Figura 26. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamK</i>	58
Figura 27. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamN</i>	60
Figura 28. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamO</i>	61
Figura 29. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamH</i>	62
Figura 30. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamM</i>	63
Figura 31. Árbol de Neighbor-Joining para <i>mamA</i>	64
Figura 32. Representación de los ciclos de amplificación para el gen <i>Lumican</i> .	79
Figura 33. Representación de los ciclos de amplificación para el gen <i>mamA</i> .	79

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Genes de la R5 de la IMA en <i>M. magneticum</i> AMB-1	24
Tabla 2. Especies magnetoceptivas en base a las cuales se diseñaron los oligonucleótidos degenerados.....	28
Tabla 3. Oligonucleótidos y sondas diseñados para los ensayos de RT-qPCR en tiempo real.....	34
Tabla 4. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamB</i> de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas	36
Tabla 5. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamB</i> de <i>C. agassizii</i>	39
Tabla 6. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamK</i> de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas	40
Tabla 7. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamK</i> de <i>C. agassizii</i>	42
Tabla 8. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamN</i> de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas	44
Tabla 9. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamN</i> de <i>C. agassizii</i>	46
Tabla 10. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamO</i> de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas	47
Tabla 11. Matriz de identidad (%) para el gen <i>mamO</i> de <i>C. agassizii</i>	50
Tabla 12. Secuencias parciales amplificadas en <i>C. agassizii</i>	53
Tabla 13. Ciclo de amplificación de los diferentes genes	65

CAPITULO I. AMPLIFICACIÓN Y EXPRESION DE GENES HOMOLOGOS DE LA BACTERIA, *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 EN LA TORTUGA NEGRA *Chelonia agassizii*.

María Guadalupe Rodríguez Jiménez¹, Jesús Ramírez Santos⁴, Esperanza Meléndez Herrera³, Gabriel Gutiérrez Ospina⁴, Jesús Campos García², Alma Lilia Fuentes Farías³.

¹Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Ciudad universitaria, Ave. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del rio C.P. 58040, Morelia, Michoacán, México. E-mail: rodolita_123@hotmail.com.

²Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio B-3, Ciudad universitaria, Ave. Francisco J. Mujica s/n Col. Felicitas del rio C.P. 58040, Morelia, Michoacán, México. E-mail: jcampos_garcia70@yahoo.com.

³Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. San Juanito Itzicuaró s/n. Col. Nueva Esperanza, C.P. 58337. Morelia, Michoacán, México. E-mail: ozul74@gmail.com, almafuentes70@hotmail.com.

⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, Distrito Federal, E-mail: ramirezs@biomedicas.unam.mx, gabo@biomedicas.unam.mx.

I. RESUMEN GENERAL

Las tortugas marinas poseen la capacidad de percibir la intensidad y la inclinación del campo magnético terrestre. Las bases neurofisiológicas que subyacen a esta habilidad siguen siendo desconocidas. Esta situación es particularmente cierta con relación al mecanismo de transducción de la información magnética, área de investigación que está llena de especulaciones. Sin embargo, estudios previos llevados a cabo tanto en tortugas marinas como en peces y aves, sugieren que la transducción de la información magnética ambiental relativa a la intensidad del campo magnético pudiese ser llevada a cabo por partículas de magnetita de dominio simple o superparamagnéticas. En concordancia con esta posibilidad, trabajos conductuales y funcionales previos llevados a cabo en el laboratorio apoyan que crías de la tortuga negra *Chelonia (C) agassizii* responden a cambios en la intensidad del campo magnético ambiental. También se ha mostrado la

presencia de material ferromagnético en el ojo de crías de esta especie de tortuga, y han extraído cristales de magnetita superparamagnética y de dominio simple a partir de muestras de ojo. Debido a que la presencia de dichos cristales en el interior del ojo no puede ser atribuida a contaminación, es posible que esta sea sintetizada localmente. Para empezar a evaluar esta posibilidad, en el presente trabajo se intentó identificar genes que pudiesen estar involucrados en el proceso de síntesis de la magnetita. Para ello, se llevaron a cabo análisis *in silico* de los 18 genes *mam* involucrados en la síntesis de magnetita en la bacteria *M. magneticum* AMB-1. Mediante ensayos de PCR se amplificaron 5 secuencias parciales correspondientes a la tortuga negra *C. agassizii* de los genes homólogos a *mamB* (38 aa), el cual fue identificado como homólogo a un transportador 5 de Zinc, con un porcentaje de identidad del 100%; *mamK* (53 aa) fue identificado como un homólogo a Beta-actina con un porcentaje de identidad del 88%; *mamN* (70 aa) fue identificado como homólogo a un intercambiador 8 de sodio/hidrógeno, con un porcentaje de identidad del 75%; *mamO* (160 aa) se identificó como un homólogo a una serina-proteasa HTRA1, con un porcentaje de identidad del 100%; *mamA* (17 aa) presenta múltiples descripciones con porcentajes de identidad del 47 al 100%. En el ensayo preliminar de expresión de genes, se observó la expresión del gen constitutivo Lumican en ojo y músculo con ciclos de amplificación de 33.18 y 30, respectivamente. Por otra parte, la expresión del gen *mamA* mostró ciclos de amplificación de 33.96 y 37.08 para muestras obtenidas de ojo y músculo. La amplificación de genes homólogos de *M. magneticum* AMB-1 en el genoma *C. agassizii* y la expresión del gene *mamA* sugiere la presencia de genes involucrados en la síntesis de magnetita en tortuga negra.

Palabras clave: Genes *mam*, *Chelonia agassizii*, Magnetotransducción

II. SUMMARY

Sea turtles have the ability to perceive the intensity and inclination of the Earth's magnetic field. The neurophysiological basis underlying this ability remain desconocidas. Esta situación is particularly true in relation to the transduction mechanism of magnetic information, research area that is full of speculation. However, previous studies conducted both sea turtles as in fish and birds, suggest that transduction of the environmental magnetic information on the intensity of the magnetic field could be carried out by magnetite particles or superparamagnetic single domain. Consistent with this possibility, and functional conductales previous work conducted in the laboratory to support young black turtle *Chelonia (C) agassizii* respond to changes in the intensity of environmental magnético field . We have also shown the presence of ferromagnetic material in the eye of young of this species of turtle, and have extracted superparamagnetic magnetite crystals and single domain samples from eye. Because the presence of such crystals inside the eye can not be attributed to contamination, this may be synthesized locally. To begin to evaluate this possibility , in this study we attempted to identify genes that may be involved in the synthesis of magenetita . For this, they took just in silico mam 18 genes involved in the synthesis of magnetite *M. magneticum* AMB -1 bacterium analysis . PCR assays using 5 partial sequences corresponding to the black turtle *C. agassizi* of homologous genes to *mamB* (38 aa) , which was identified as homologous to a conveyor 5 Zinc , with a percentage of 100% identity were amplified ; *mamK* (53 aa) was identified as a homologue to beta -actin with a percentage identity of 88% ; *mamN* (70 aa) was identified as a homologue to a exchanger 8 sodium / hydrogen , with a percentage identity of 75% ; *mamO* (160 aa) was identified as a homologue to a serine protease HTRA1 , with a percentage of 100% identity ; *mamA* (17 aa) has multiple descriptions percent identities from 47 to 100 % . In the preliminary test of gene expression is constitutive expression Lumican eye and muscle gene amplification cycles 33.18 and 30, respectively was observed. Moreover, gene expression of breast amplification cycles showed 33.96 and 37.08 for samples obtained from eye and muscle. Amplification of gene homologues *M. magneticum* AMB- 1 genome *C. agassizii* and breast gene expression suggests the presence of genes involved in the synthesis of magnetite black turtle .

Keywords: *mam* genes, *Cheonia agassizii*, Magneto-transduction.

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

III. INTRODUCCIÓN GENERAL

Una extensa serie de estudios conductuales sugiere que diversas especies animales, entre las que destacan las tortugas marinas (revisado en Lohmann y Lohmann, 2006), perciben la inclinación y/o la intensidad del campo magnético terrestre. De acuerdo con ello, se ha mostrado que la colocación de imanes en tortugas hembras adultas y en crías de ambos sexos conduce a la desorientación de su navegación acuática o terrestre (Irwin y Lohmann, 2002; Luschi *et al.*, 2007; Fuentes-Farías *et al.*, 2008). También se ha documentado que la exposición de crías de tortugas marinas a campos magnéticos pulsátiles conduce a la desorientación de su nado en ausencia de señales visuales que pudiesen guiar su navegación (Irwin y Lohmann, 2003). Estas observaciones apoyan el concepto de que en las tortugas marinas en verdad existe un sentido magnetoceptivo. Desafortunadamente, nuestro conocimiento sobre el sustrato neurofisiológico que subyace a la magnetocepción en las distintas especies animales estudiadas, incluyendo a las tortugas marinas, es considerablemente limitado.

En general, el proceso perceptual de estímulos sensoriales requiere de al menos tres fases que involucran la adquisición, el procesamiento y la interpretación de la información sensorial que corresponda (revisado en Goldstein, 2011). La primera etapa, llevada a cabo por receptores especializados, consiste en “extraer” y transducir la información fisicoquímica contenida en el estímulo, para codificarla en señales electroquímicas que el sistema nervioso pueda “entender” y con las que pueda “trabajar”. La segunda etapa, que consiste en el filtrado, clasificación, selección, recodificación e integración de la información, es llevada a cabo de manera jerárquica y secuencial en distintos nodos o relevos sinápticos a lo largo de una vía neural específica. Generalmente, en esta vía, cada nodo contiene ensambles de neuronas y elementos vasculares y gliales que al interactuar transforman las cualidades de la información que reciben “refinándolas” antes de pasarla al siguiente relevo de forma más depurada. Finalmente, durante la tercera etapa, las operaciones de los ensambles neuronales de mayor jerarquía permiten categorizar, interpretar y darle un significado a la información recibida, lo que a su vez permite al organismo tomar decisiones y proceder de acuerdo a ellas. Teniendo esto en mente, si uno pretende entender la morfo-fisiología de la

magnetocepción en cualquier vertebrado, y en particular en la tortuga marina, deberá avocarse a identificar cada una de las fases del proceso magnetoceptivo y a caracterizar los elementos celulares involucrados en él. En este trabajo, enfocamos nuestro esfuerzo a tratar de complementar hallazgos que sugieren que la transducción de los estímulos magnéticos ambientales, particularmente en lo referente a la intensidad del campo magnético, es dependiente de magnetita.

3.1. Transducción de la información magnética ambiental.

Como se comentó previamente, la primera fase del proceso perceptual requiere de la transducción del estímulo físico en un lenguaje “neural” por parte de un receptor. Para el caso de la magnetocepción, estudios realizados en algunas especies de mamíferos, aves y peces, pero sobre todo elucubraciones teóricas, han conducido al desarrollo de varios modelos hipotéticos de recepción y transducción de las señales magnéticas ambientales en los vertebrados. De dichos modelos, uno de los más favorecidos, la mecano-magneto transducción, postula que mecano-receptores especializados denominados magneto-receptores, transducirían la información sobre la intensidad del campo magnético ambiental (Edmons, 1996; Kirschvink y Gould, 1981; Solov'yov y Walter, 2007; Winklhofer y Kirschvink, 2010; Wiltshko y Wiltshko, 2013). En la versión más aceptada y simple de esta concepción, es la generación de fuerzas de torque producidas por la rotación de los cristales de dominio simple y/o de cadenas de cristales superparamagnéticos de magnetita biogénica, lo que se conjetura abriría los canales iónicos membranales del magneto-mecanoreceptor, condición necesaria para generar el potencial excitador en la membrana del mismo y la codificación de la información transducida en potenciales electroquímicos (e.g., Davila *et al.*, 2003; Winklhofer y Kirschvink, 2010). Se cree que los cristales de magnetita estarían ubicados en el interior del citoplasma, adyacentes a la membrana de la célula (revisado en Cadiou y McNoughton, 2010). Presumiblemente, las fuerzas de torsión se transmitirían a las subunidades de los canales iónicos membranales a través de tensores proteicos tirados durante la rotación de los cristales de magnetita al ser expuestos a cambios en la intensidad del campo magnético terrestre (CMT) conforme el organismo se desplaza en su ambiente (para leer sobre variantes del mecanismo Edmonds, 1996; Cadiou y McNoughton, 2010). Sin embargo, los cristales de magnetita también podrían

dispersarse en la matriz extracelular. Allí, las fuerzas de torque se ejercerían sobre la propia matriz y/o sobre la superficie de las células receptoras deformándolas y activándolas (e.g., Sonnier y Marino, 2001; Solov'yov y Walter, 2007), en un proceso que podría involucrar la apertura de canales iónicos y la activación de cascadas de segundos mensajeros en respuesta al estrés impuesto sobre el citoesqueleto (e.g., Wang *et al.*, 1993; Binhi y Chernavskii, 2004).

No obstante la aceptación del (los) modelo(s) de mecano-magnetotransducción, existen algunos problemas inherentes a ellos. Por ejemplo, aunque mucho se sabe de este proceso en bacterias (deposición extracelular de magnetita: Chaudhuri *et al.*, 2001; Ding *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 1998; deposición intracelular de magnetita en magnetosomas: revisado en Komeili, 2011), hongos (Barhde *et al.*, 2006), abejas (Hsu y Li, 1993; Yuan y Pei, 2011) y quitones (Mizota y Maeda, 1986; Kirshvink y Lowenstam, 1991; Shaw *et al.*, 2009), aún ignoramos todo al respecto del proceso de síntesis de magnetita en vertebrados incluyendo a las tortugas marinas. Adicionalmente, los llamados a la existencia de mecano-magnetoreceptores conteniendo cristales magnéticos al menos en aves (e.g., Falkenberg *et al.*, 2010), el modelo animal mejor estudiado, ha sido fundacionalmente cuestionado en publicaciones recientes (Treiber *et al.*, 2013). No obstante ello, las alteraciones en la orientación que resultan de la aplicación de protocolos de campos pulsados en pichones (e.g., Wiltschko *et al.*, 2002), topos (e.g., Kimchi y Terkel, 2001), truchas (e.g., Walker *et al.*, 1996) y tortugas marinas (Irwin y Lhomann, 2005), así como la presencia o la inferencia de la existencia de cristales de magnetita en estructuras cefálicas de estos organismos (Pichón: dermis de la base del pico, e.g., Fleissner *et al.*, 2007; Trucha: submucosa olfatoria; revisado en Walker *et al.*, 2006; Tortugas marinas: etmoides: Coles, 1999; Meninges: Perry *et al.*, 1981, 1985; Cabeza total: Kirshvink, 1980; Fuentes-Farías, 2008), mantienen viva la posibilidad de que en las tortugas marinas, la transducción del atributo intensidad de los estímulos magnéticos ambientales se lleva a cabo por cristales de magnetita. En concordancia con ello, en nuestro laboratorio hemos mostrado **1**) que la colocación de imanes de distinta intensidad en crías de *C. agassizii* modifica su rumbo de desplazamiento sobre la playa en su camino hacia el mar (Figura 1; Fuentes-Farías *et al.*, 2010), **2**) la presencia de grupos neuronales resposivos a cambios en la intensidad del campo

magnético en relevos sinpáticos considerados parte de la vía visual (Figura 2), **3**) cambios en la actividad electrocorticográfica y electromiográfica asociados con la aplicación de estímulos magnéticos de distinta intensidad en el ojo (Figura 3 y 4), **4**) la presencia de material ferromagnético en el ojo mediante imagenología por resonancia magnética nuclear (Figura 4), y **5**) la existencia de cristales de magnetita superparamagnético y de dominio simple en extractos de ojo de crías de la tortuga marina *C. agassizii* (Figura 5). De esta forma, es posible que las tortugas marinas utilicen la mecano-magnetotransducción para percibir la intensidad del campo magnético ambiental. Con esto en mente, en el presente trabajo procuramos la identificación de genes que pudieran estar involucrados en la síntesis de magnetita en el genoma de la tortuga *C. agassizii*, y cuya expresión fuese específica en el ojo. Para ello utilizamos una estrategia de identificación basada en la búsqueda de genes homólogos a aquellos que están involucrados en este proceso en la bacteria *Magnetospirillum magneticum* (AMB-1) un organismo que contiene un grupo de genes conocido como la isla del magnetosoma, cuya función se asocia tanto con el transporte, nucleación y maduración de los cristales de hierro, como con la formación de los organelos (i.e., magnetosoma) que contienen a dichos cristales. A continuación exponemos información que permitirá al lector tener algunos antecedentes sobre este fenómeno que le facilitarán la comprensión del marco conceptual que sustenta este proyecto.

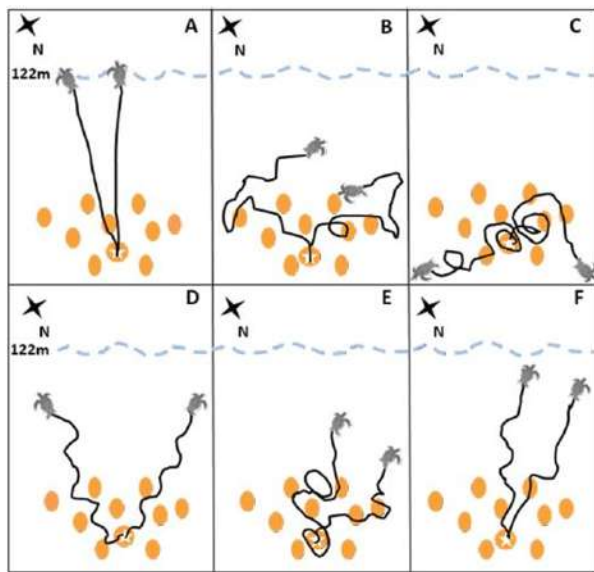


Figura 1. Esquemas de las rutas recorridas por las crías de tortuga *Chelonia agassizii* de cada uno de los grupos experimentales. (A) Las crías de grupo control se orientación en dirección sur-sureste predominantemente, casi en línea recta desde el nido de partida hasta la zona de rompiente; **(B)** Las crías estimuladas visualmente, se dirigieron a diferentes puntos

cardinales, altamente influenciadas por la posición del experimentador; **(C)** La crías privadas visualmente, se desorientaron en su totalidad, estas se desplazaron en direcciones opuestas al mar, noreste y noroeste; **D)** En cuanto al grupo de crías sometidas a privación del olfato, estas, se movieron de manera titubeante a lo largo de vectores orientados hacia el este, oeste y suroeste, en un ángulo mucho más amplio que el trazado por los vectores de las crías del grupo control; **(E)** Las crías sometidas a distorsiones del campo magnético a través de la colocación de imanes de 350mT mostraron franca desorientación, ninguna de las crías del este grupo pudo concluir la prueba satisfactoriamente. Los vectores de desplazamiento mostraron direcciones muy variadas, hacia el este, sur, noreste y oeste; **(F)** Finalmente las crías a las que se les colocaron imanes 85mT, apuntaron también en diferentes direcciones cardinales, este, sur, noreste y suroeste aunque 8 de las 15 en este caso lograron concluir la prueba satisfactoriamente.

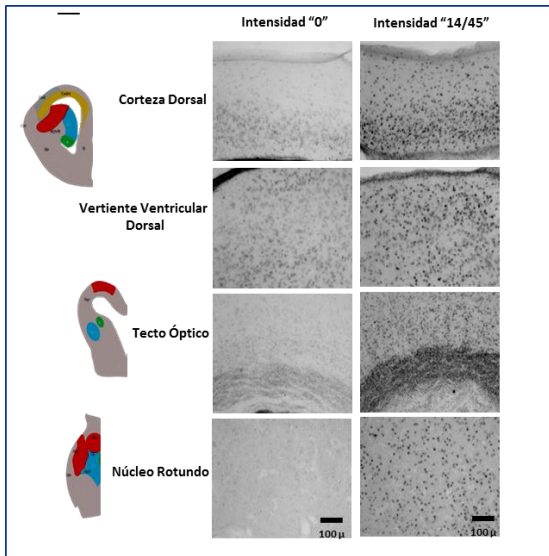


Figura 2. Areas del cerebro respondivas a estímulos magnéticos mediante el uso de *c-fos* como marcador de activación neuronal en intensidad 0,14 y 45 μT .

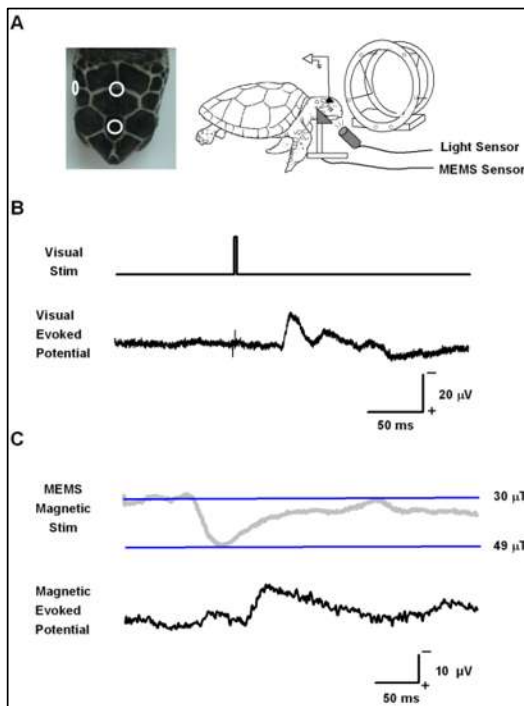


Figura 3. Respuestas electrofisiológicas evocadas. A)

Los círculos blancos indican la posición de los electrodos. Los dos círculos negros muestran la bobina de Helmholtz. Se compone de dos bobinas circulares coaxiales, cada uno de 252 vueltas y un radio de 5 cm. Un sistema microelectromecánicos (MEMS) se empleó sensor de flujo magnético para detectar la densidad de flujo magnético real producida por la bobina de Helmholtz en el ojo de la tortuga. B) EEG potencial evocado provocado por flases de luz de 10 ms. C) EEG potencial evocado por pulsos de 100 ms de estimulación magnética. El perfil del estímulo magnético se ilustra en la línea superior. Las líneas horizontales indican que la densidad de flujo magnético cambió de 30 a 40 μT para este ejemplo. En ambos casos, se promediaron las respuestas a los 100 estímulos.

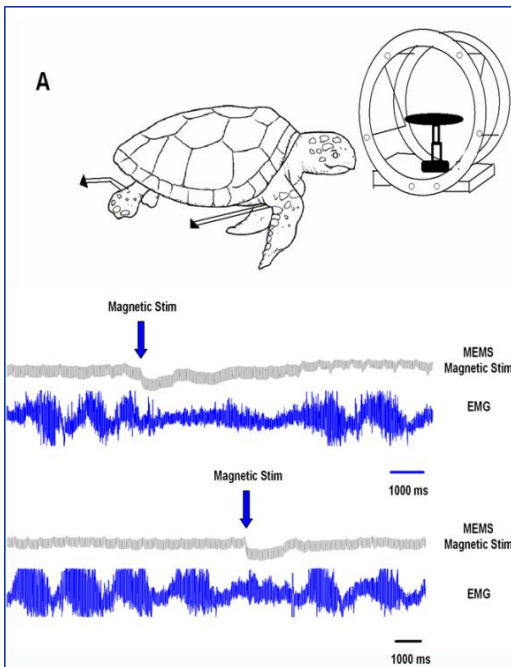


Figura 4. Respuestas electromiograficas evocadas. Registro electromiográfico (EMG) (marcas azules) y pulsos magnéticos (marcas grises) 30-49 μT aplicados en el ojo de la tortuga, en dos momentos diferentes. El EMG se registró en los músculos flexores de la extremidad posterior de la tortuga. La intensidad del impulso magnético fue suficiente para producir un desplazamiento de fase significativo ($p < 0,05$; prueba de la t de Student) en el ritmo del aparato locomotor.

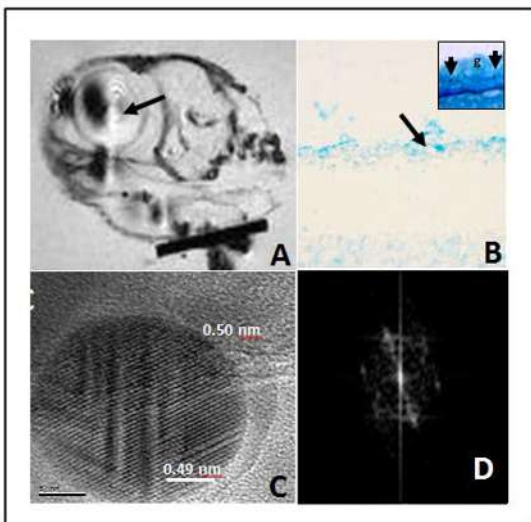


Figura 5. Identificación de cristales de magnetita biogénica en *C. agassizii*. **A.** Resonancia magnética nuclear que ilustra una sección óptica sagital de la cabeza de una cría de tortuga marina *C. agassizii*. La flecha indica el origen del artefacto magnético que se observa en la zona superior del ojo. **B.** Fotomicrografía que muestra una sección del ojo de una cría de tortuga *C. agassizii*, histoquímicamente teñida para la detección de material férrico (flecha en B y en inserto). Estos depósitos se ubicaron en la capa de neuronas ganglionares en la retina (flecha). **C.** Micrografía electrónica de transmisión que muestra la nanoestructura de un cristal de magnetita superparamagnética aislada del ojo de crías de la tortuga *C. agassizii*. (Escala= 5nm). **D.** Patrón cristalográfico obtenido por difracción de rayos X de la magnetita superparamagnética aislada del ojo de crías de la tortuga *C. agassizii*.

histoquímicamente teñida para la detección de material férrico (flecha en B y en inserto). Estos depósitos se ubicaron en la capa de neuronas ganglionares en la retina (flecha). **C.** Micrografía electrónica de transmisión que muestra la nanoestructura de un cristal de magnetita superparamagnética aislada del ojo de crías de la tortuga *C. agassizii*. (Escala= 5nm). **D.** Patrón cristalográfico obtenido por difracción de rayos X de la magnetita superparamagnética aislada del ojo de crías de la tortuga *C. agassizii*.

3.2. Síntesis de magnetita.

La biomineralización es el proceso por el cual los organismos vivos producen minerales (Walcott *et al.*, 1979). Es un fenómeno generalizado y puede ocurrir en diferentes organismos desde unicelulares hasta multicelulares (Clark y Evans, 1997; Kirschvink *et al.*, 2001). En términos generales existen dos tipos de biomineralización. En la conocida como mineralización biológicamente inducida (MBI), los minerales formados generalmente nuclean y crecen extracelularmente como consecuencia de la actividad metabólica del organismo. En contraste en la mineralización biológicamente controlada (MBC), los minerales se depositan dentro de la célula y el organismo posee el control sobre la nucleación, crecimiento de los minerales, composición, forma, tamaño y la localización intracelular (Bazylinski y Frankel , 2000). Para el caso de la magnetita, los cristales nanométricos pueden ser de dominio múltiple si su diámetro excede los 120nm, de dominio simple (DS) si éste se encuentra en un rango de 30 a 120nm o super-paramagnéticos (SPM) si son de tamaño menor a 30 nm. Las morfologías cristalinas más comunes son cubo-octaedros equidimensionales, prismas alargados hexa-octaédricos y formas de punta de flecha (Mann *et al.*, 1987, Thornhill *et al.*, 1994, Bazylinski *et al.*, 1995). En estudios de microscopía electrónica de alta resolución, las combinaciones planares más frecuentes son para el cubo (100), el dodecaedro (110) y el octaedro (111) (Mann *et al.*, 1984).

Aunque diversos organismos pueden sintetizar magnetita, son las denominadas las bacterias magnetotáticas Gram-negativas (BMT) (Schleifer *et al.*, 1991, Spring *et al.*, 1993), los organismos mejor estudiados para entender los procesos de MBC. Estos organismos son capaces de producir nanocristales magnéticos de óxido de Fe (magnetita, Fe_3O_4) o sulfuro de Fe (greigita, Fe_3S_4) de distintas geometrías (Moisescu *et al.*, 2014). En las diferentes especies de BMT, los minerales magnéticos se forman como cristales de dominio simple contenidos en organelos especializados denominados magnetosomas, estos magnetosomas. Estos forman una especie de cadenas que actúan como una aguja de brújula, permitiendo la orientación pasiva de la bacteria con relación a las líneas del CMT (Blackmore, 1975). En las bacterias magnetotáticas, la síntesis de magnetosomas es un proceso altamente controlado a nivel genético (Komeili, 2012) en el que pueden influir factores bioquímicos y ambientales (Moisescu *et al.*, 2014).

La síntesis de magnetita ha sido demostrada en diferentes especies de BMT del genero *Magnetospirillum* (e.g., *M. magneticum*: Matsunaga *et al.*, 2005; *M. gryphiswaldense*: Lohbe *et al.*, 2011; *M. magnetotacticum*: Bertani *et al.*, 2001; *Magnetococcus marinus*: Schübbe *et al.*, 2009; *Magnetovibrio blakemorei*: Jogler *et al.*, 2009). En estas bacterias, los genes necesarios para la biomineralización son denominados *mam* y MMS. Estos genes están organizados en operones dentro de una región altamente conservada denominada la isla del magnetosoma (IMA). Se ha reportado que estos genes homólogos entre las BMT se encuentran organizados de manera similar dentro de sus genomas. Por ejemplo, en *M. magneticum* AMB-1, el proceso de biomineralización está controlado genéticamente por los genes *mamHIEJKLMNOPAQRBSTUV*. Este grupo de genes se localiza en la región 5 (R5) de la isla del magnetosoma (AMI) (Tabla 1) (Quinlan *et al.*, 2011; Murat *et al.*, 2010; Komeili., 2012). En *Magnetospirillum gryphiswaldense*, la IMA está constituida por los operones *mms6*, *mamGFDC*, *mamXY* y *mamAB*, este último se compone por 17 genes homólogos a los genes *mam* de AMB-1, siendo este operon esencial para la síntesis del magnetosoma (Murat *et al.*, 2010, LohBe *et al.*, 2011). En el genoma de la BMT *Deltaproteobacteria* se propone que además de los genes *mam*, existe un conjunto conservado de genes denominado genes *mad*. Dichos genes son específicos de las *deltaproteobacterias*, aunque algunos también están presentes en la magnetobacteria *Candidatus bavaricum* del phylum nitrospirae, pero ausentes en *alphaproteobacterias* (Lefèvre *et al.*, 2013).

El proceso de síntesis de magnetita en las BMT, es controlado por los diferentes genes *mam HIEJKLMNOPAQRBSTUV* dependiendo de la especie en cuestión, sin embargo los genes *mam AEIKMOPQB*, están presentes en diferentes especies de BMT, por lo que se considera que son altamente conservados y esenciales para dicho proceso (Murat *et al.*, 2010, LohBe *et al.*, 2011, Lefèvre *et al.*, 2013). Adicionalmente, se ha reportado que la estructura terciaria de la proteína MamP posee una estructura plegable conocida como magnetocromo, a la que se le atribuye la capacidad de oxidar el hierro desde el estado de Fe^{2+} a estado Fe^{3+} (Siponen *et al.*, 2013), por lo que esta proteína podría dirigir la síntesis de magnetita sin necesidad de la intervención de otro gen en particular.

Aunque algunos intentos se han hecho para identificar genes involucrados en la síntesis de magnetita en organismos ajenos a bacterias (e.g., *Apis mellifera*; Hsu y Chan., 2011), aún no contamos con evidencia que apoya la existencia de genes homólogos a los expresados por bacterias en vertebrados. Sin embargo, la posibilidad de que estos pudiesen estar presentes en eucariotes se apoya con el hecho de que la expresión heteróloga de *mamA* induce la producción de biomagnetita en líneas celulares eucariotas (Zurkiya et.al., 2008).

Tabla 1. Genes de la region 5 de AML en *M. magneticum* AMB-1.

Nombre	Descripción	Función
<i>mamI</i> <i>mamL</i>	Proteína hipotética	Formación de la membrana del magnetosoma.
<i>mamQ</i>	Familia conservada, no caracterizada en términos generales, tipificada por la proteína LemA de <i>Listeria monocytogenes</i> (D'Orazio, et al., 2003)	
<i>mamE</i>	Miembro de la familia HtrA/DegP de serina-proteasas, tiene una tríada catalítica conservada de residuos de serina, histidina y aspartato.	Determinante de localización, proporciona un punto de referencia para el reclutamiento de otras proteínas, biomineralización, transporte de hierro, nucleación y maduración de la magnetita, y/o establecimiento del entorno químico adecuado para la síntesis de magnetita en el magnetosoma.
<i>mamJ</i>	Proteína periplásmica TonB.	Formación de la cadena del magnetosoma.
<i>mamK</i>	Miembro de la familia de las proteínas homologas de la actina	Proporciona el andamiaje estructural para la organización de la cadena del magnetosoma.
<i>mamM</i>	Miembro de la familia de transportadores de CDF, que puede indicar un posible papel en la absorción de hierro	Biomineralización, transporte de hierro, nucleación de la magnetita, y/o establecimiento del entorno químico adecuado para la cristalización de la magnetita en el magnetosoma.
<i>mamN</i>	Homologo con anti-portadores Na ⁺ /H ⁺ , su actividad puede resultar en un aumento del pH dentro del magnetosoma.	
<i>mamO</i>	Peoteína de la familia Serina-proteasa HtrA, pueden activar o inhibir ciertas enzimas de biomineralización.	
<i>mamP</i>	Proteína hipotética	Participan en el número de cristales producidos por célula
<i>mamA</i>	Proteína que contiene repeticiones TPR.	Participa en el espaciado y la organización de los magnetosomas, interacción de algunas proteínas con la membrana magnetosoma-magnetosoma, participan en el número de cristales producidos por célula.
<i>mamR</i> <i>mamS</i> <i>mamT</i>	Proteínas Hipotéticas.	Tamaño y morfología del cristal
<i>mamB</i>	Miembro facilitador de la difusión de cationes (CDF), proteínas que participan en el transporte de zinc, hierro y cadmio en diversos organismos.	Formación de la membrana del magnetosoma, actúa como un punto de referencia para que se construyan los magnetosomas alrededor de un transportador crucial.
<i>mamU</i>	De la familia de esfingosina-quinasa	Función desconocida por el momento
<i>mamV</i>	Sin registro en el NCBI	
<i>mamH</i>	Facilitador de la superfamilia de permeasas.	

IV. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

El genoma de la tortuga negra *Chelonia agassizii* contiene genes homólogos a los de la bacteria *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 que participan en la síntesis de magnetita, cuya expresión sea exclusiva del ojo.

V. OBJETIVOS

GENERAL

Demostrar la expresión de genes involucrados en la síntesis de magnetita en el ojo de la tortuga negra *Chelonia agassizii*.

PARTICULARES

1. Amplificar secuencias parciales de genes homólogos de la bacteria, *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 en la tortuga negra *Chelonia agassizii*.
2. Determinar la expresión de genes relacionados con la síntesis de magnetita en diferentes tejidos (ojo y musculo) de la tortuga negra *Chelonia agassizii*.

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1. Colecta de muestras.

El ADN de la bacteria magnetotáctica (*M. magneticum* AMB-1) fue donado por el laboratorio del Dr. Arash Komeili de la Universidad de Berkeley California, mientras que el ADN de la tortuga negra (*C. agassizii*) se extrajo de un individuo colectado en la playa de Colola, en el estado de Michoacán, con el permiso de colecta para material biológico proporcionado por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SGPA/DGVS/414-04, 14340-04, 5896-05, 5170-07 y 4011/08).

El proceso de extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante del kit comercial DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN). Las muestras de bacteria y tortuga se almacenaron a -70°C para conservar la integridad del ADN.

6.2. Selección *in silico* de los genes candidatos a amplificar por PCR.

Con el propósito de determinar la existencia de genes homólogos de la bacteria *Magnetospirillum magneticum* AMB-1, en la tortuga negra *Chelonia agassizii* se realizó un análisis *in silico* de los 18 genes involucrados en la síntesis de magnetita en la bacteria *M. magneticum* AMB-1, encontrando que los genes más conservados fueron *mamB*, *mamK*, *mamN*, *mamM*, *mamH*, y *mamO*, para los cuales se diseñaron oligonucleótidos degenerados en base al gen de interés de la bacteria y diferentes especies magnetoceptivas. Para la amplificación la secuencia parcial del gen *mamA*, se diseñaron oligonucleótidos específicos para *C. agassizii*. Se amplificaron 5 secuencias parciales correspondientes a la tortuga negra *C. agassizii* de los genes homólogos a *mamB* (38 aa), el cual fue identificado como homólogo a un transportador 5 de Zinc, con un porcentaje de identidad del 100%; *mamK* (53 aa) fue identificado como un homólogo a Beta-actina con un porcentaje de identidad del 88%; *mamN* (70 aa) fue identificado como homólogo a un intercambiador 8 de sodio/hidrógeno, con un porcentaje de identidad del 75%; *mamO* (160 aa) se identificó como un homólogo a una serina-proteasa HTRA1, con un porcentaje de identidad del 100%; *mamA* (17 aa) presenta multiples descripciones con porcentajes de identidad del 47 al 100%. La

amplificación de estos genes homólogos en el genoma *C. agassizii* sugiere la presencia de genes involucrados en la síntesis de magnetita en tortuga negra.

Las secuencias proteicas de los genes *mamH* (No. acceso en el NCBI, YP_420324.1), *mamE* (YP_420326.1), *mamJ* (YP_420327.1), *mamK* (YP_420328), *mamL* (YP_420329.1), *mamM* (YP_420330.1), *mamN* (YP_420331), *mamO* (YP_420332), *mamP* (YP_420333.1), *mamA* (YP_420334.1), *mamQ* (YP_420368.1), *mamR* (YP_420336), *mamB* (YP_420341), *mamS* (YP_420338), *mamT* (YP_420339), *mamU* (YP_420340.1) correspondientes a la región 5 (R5) de la isla del magnetosoma en la bacteria *M. magneticum* AMB-1, fueron obtenidas de la base de datos del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Dichas secuencias fueron utilizadas como sondas para la búsqueda de secuencias proteicas homologas en diferentes especies magnetoceptivas (abeja, mariposa, ballena, paloma, quitón, rata topo, salmón y trucha arcoíris).

El análisis se realizó en la base de datos del NCBI, en la herramienta blastp, utilizando la base de datos de proteínas no redundantes (Non-redundant protein sequences nr), así mismo se restringió la búsqueda al tipo de organismos deseados: abeja (*Apis mellifera* Taxid: 7460), mariposa (*Danaus plexipus* Taxid:13037), ballena (*Eschrichtius robustus* Taxid: 9764), paloma (*Columba livia* Taxid: 8932), quitón (*Acanthochitona fascicularis* Taxid: 55704), rata topo (*Cryptomys anelli* Taxid: 261002), Salmón (*Salmo salar* Taxid: 8030) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus myskiss* Taxid:8022).

Una vez generados los resultados del blastp, fueron descargados y analizados en el programa Epos Blast Viewer, en donde se identificaron los dominios conservados, la descripción, tamaño de la secuencia, % máximo de identidad y % cubierto en el alineamiento, en base a estos parámetros se seleccionaron las secuencias proteicas más conservadas, posteriormente dichas secuencias fueron alineadas en Clustalw2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>).

6.3. Diseño de oligonucleótidos degenerados.

Se diseñaron oligonucleótidos degenerados para los genes *mamB*, *mamH*, *mamK*, *mamM*, *mamN*, y *mamO* debido, al grado de conservación observado en el alineamiento de nucleótidos del gen de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 empleado como templado y las secuencias homologas de diferentes especies magnetoceptivas en cuestión. Ver tabla 2.

Tabla 2. Especies con base en las cuales se diseñaron los oligonucleótidos degenerados.

Gen	Especie y No. Acceso en el NCBI		
<i>mamB</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Danaus plexippus</i>	AGBW01008935.1	
	<i>Apis mellifera</i>	XM_003250636.1	
<i>mamH</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Danaus plexippus</i>	AGBW01004618.1	
	<i>Danaus plexippus</i>	AGBW01000960.1	
<i>mamK</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Salmo salar</i>	BT058845.1	
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NM_001124235.1	
<i>mamM</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Salmo salar</i>	NM_001139905.1	
	<i>Danaus plexippus</i>	AGBW01006452.1	
<i>mamN</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Eschrichtius robustus</i>	NC_005270.1	
	<i>Columba livia</i>	NC_013978.1	
<i>mamO</i>	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1	NC_007626.1	Con formato: Inglés (Estados Unid
	<i>Salmo salar</i>	NM_001141717.1	
	<i>Apis mellifera</i>	XM_624351.3	

6.4. Amplificación de los fragmentos de ADN por PCR.

Para la amplificación de los fragmentos de ADN por PCR se tomaron en cuenta las instrucciones proporcionadas por el fabricante de la enzima Platinum® Pfx DNA Polymerase (Invitrogen) y 10 mM dNTP Mix, PCR Grade (Invitrogen). La reacción se llevó a cabo en 25 µl como se describe a continuación: 1 µl de 10X solución Enhancer, 5 µl de 10x pfx Buffer de amplificación (1x), 0.75 µl de 10 Mm mezcla de dNTPs (0.3 mM), 0.5 µl de 50mM MgSO₄ (1 mM), 7.6 µl de Agua destilada estéril, 0.2 µl de (2.5 U/µl) Platinum pfx DNA polimerasa (1 U/µl), 3 µl de Oligonucleótido sentido (10 pmol), 3 µl de Oligonucleótido antisentido (10 pmol), 4 µl de DNA (40 ng/µl), bajo las siguientes condiciones: Inicio de desnaturalización (94°C, 2 min), desnaturalización (94°C, 45 seg), alineamiento (94°C, 40 seg) y extensión (64°C, 1 min) este proceso se repitió por 35 ciclos de amplificación.

6.5. Electroforesis en gel de agarosa.

Los productos amplificados por PCR fueron visualizados en un gel de agarosa grado molecular (BIORAD) al 1.2%, en Buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM y EDTA 1 mM) teñido con Bromuro de etidio, el marcador de peso molecular fue de 100 pb (Invitrogen). Las muestras se corrieron en una cámara de electroforesis (BIORAD) en a una fuente de poder (Power Pac Basic, BIORAD 300V) a 100 V por 30 minutos. Finalmente, la imagen de las muestras de DNA en el gel de agarosa fue observada en el transiluminador (Fisher Scientific).

6.6. Aislamiento y purificación de los productos de PCR.

Se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante del kit comercial QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN).

6.7. Ligación de los fragmentos de PCR y transformación de células de *E. coli* (JM101).

Ambos procedimientos se realizaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante del Plásmido pJet1.2/blunt cloning vector (Thermo Scientific CloneJET PCR Cloning Kit).

6.8. Aislamiento de DNA plasmídico de bacterias.

El aislamiento de DNA plasmídico de bacterias se llevó a cabo por el método de lisis alcalina de acuerdo a Biroboim y Doly (1979).

6.9. Secuenciación de las construcciones.

Todas las construcciones fueron verificadas por secuenciación utilizando los oligonucleótidos correspondientes al plásmido pJET1.2/Blunt (forward sequencing primer, 23-mer5'-CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC-3', reverse sequencing primer, 24-mer5'-AAGAACATCGATTTTCCATGGCAG-3'. Para lo cual, se solicitaron los servicios de secuenciación de la UNAM, México.

6.10. Análisis de las secuencias parciales obtenidas por secuenciación.

La secuencia parcial obtenida por secuenciación, fue sometida a un análisis comparativo en la base de datos del NCBI, en la herramienta blastp/n, utilizando la base de datos de proteínas no redundantes (Non-redundant protein sequences nr), así mismo se restringió la búsqueda por separado al tipo de organismos deseados, que fue el genoma de la bacteria *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 (*taxid: 342108*) y el genoma de la tortuga negra *Chelonia mydas* (*taxid: 8469*), de cada uno de los resultados del análisis, se analizaron los dominios conservados, la descripción y tamaño de la secuencia, así como el % de máxima identidad. Se realizó un alineamiento con el software clustalw de la secuencia parcial obtenida para tortuga negra y del gen *mam* de interés de la bacteria, generando una matriz de % identidad en clustalw. Finalmente, se construyeron arboles filogenéticos con el modelo de Neighbor Joining usando un bootstrap (1000 replicas), para las cuales se utilizaron las secuencias proteicas usadas para el diseño de oligonucleótidos degenerados, y las secuencias proteicas con las que se identificó la secuencia parcial en *C. agassizii*. En el análisis se emplearon parámetros estándares determinados por el programa clustalw.

6.11. Análisis de similitud de las diferentes secuencias proteicas homólogas a los genes *mam* de bacteria en la tortuga negra *C. agassizii*.

Las secuencias proteicas de los 18 genes *mam*, *MamH* (No. acceso en el NCBI, YP_420324.1), *MamE* (YP_420326.1), *MamJ* (YP_420327.1), *MamK* (YP_420328), *MamL* (YP_420329.1), *MamM* (YP_420330.1), *MamN* (YP_420331), *MamO* (YP_420332), *MamP* (YP_420333.1), *MamA* (YP_420334.1), *MamQ* (YP_420368.1), *MamR* (YP_420336), *MamB* (YP_420341), *MamS* (YP_420338), *MamT* (YP_420339), *MamU* (YP_420340.1) correspondientes a la región 5 (R5) de la isla del magnetosoma (IMA) en la bacteria *Magnetospirillum magneticum* AMB-1, fueron obtenidas de la base de datos del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y utilizadas como sondas para la búsqueda de secuencias proteicas homólogas en el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*).

El análisis se realizó en la base de datos del NCBI, en la herramienta blastp, utilizando la base de datos de proteínas no redundantes (Non-redundant protein sequences nr), así mismo se restringió la búsqueda al genoma de la tortuga negra *C. mydas* (*taxid: 8469*), de la misma manera se realizó la búsqueda de proteínas homólogas a la secuencia parcial obtenida para *C. agassizii*.

Una vez obtenidos los resultados del blastp, fueron descargados y analizados en el programa Epos Blast Viewer, en donde se identificaron los dominios conservados, % cubierto en el alineamiento, % máximo de identidad, la descripción y tamaño de la secuencia.

Las secuencias proteicas obtenidas en cada uno de los análisis fueron alineadas usando el software ClustalW bajo los parámetros determinados por el programa, posteriormente fueron elaborados los árboles filogenéticos utilizando el método de Neighbor Joining con un bootstrap de 1000 repeticiones.

6.12. Colecta de muestras de diferentes tejidos de tortuga negra.

Se tomaron muestras de diferentes tejidos (ojo y musculo) de 1 tortuga negra (*C. agassizii*) de 3 meses de edad, las muestras fueron almacenadas a -70°C hasta su procesamiento (Permiso SEMARNAT No.SGPA/DGVS/04011/012).

6.13. Extracción y cuantificación de RNA mensajero

Para la extracción de RNAm, se utilizó el kit de extracción de RNAm (RNAeasy mini kit, QIAGEN).

La lisis celular se llevó a cabo mediante el rompimiento mecánico de tejido utilizando perlas magnéticas (Roche) con la adición de β -mercaptoetanol como agente reductor e isotiocianato de guanidina como agente desnaturizante en el lisador MagNA Lyser (Roche).

El procesamiento de las muestras de RNA se realizó en el gabinete de bioseguridad clase II Tipo A2 (Thermo Scientific). La cuantificación de las muestras se realizó en el espectrofotómetro (SmartSpec Plus Bio-Rad) tomando en cuenta la relación de absorbancia $\lambda=260$ nm y $\lambda=280$ nm para evaluar la presencia de ácidos nucleicos y proteínas.

6.14. Tratamiento de las muestras de RNAm con DNAsa I.

Para el tratamiento con DNAsa I (Invitrogen), se empleó 1 μ g total de RNA, el cual fue tratado con 1 μ l (1 U) de DNAsa I, 1 μ l de buffer de reacción de DNAsa I (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 20 mM MgCL₂, 500 mM KCl). La muestra se incubó a 37°C durante 2 horas. Posteriormente a la muestra de RNA se le adiciono 1 μ l de EDTA 25 mM (DNasa stop) para inactivar la DNAsa I, y se incubó a 65°C por 10 minutos en un incubador para microtubos de 2 ml (Eppendorf Thermomixer).

6.15. Electroforesis en gel de agarosa.

La cámara, el molde para gel y el peine fueron lavados con la solución degradadora de ribonucleasas RNase Zap (Ambion), posteriormente se lavaron con agua destilada estéril. El gel se preparó al 2%, utilizando agarosa grado molecular (BIORAD), buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM y EDTA (1 mM) y 3 µl de bromuro de etidio. Se empleó el marcador de peso molecular de 1 kb DNA Ladder (Invitrogen). Las muestras se corrieron en una cámara de electroforesis (BIORAD) con una fuente de poder (Power Pac Basic, BIORAD 300 V) a 90 V por 30 minutos. Finalmente la imagen del gel de agarosa con las muestras de RNA separado en el gel fue capturada con el foto documentador (Gel Doc XR + Imager, BIORAD).

6.16. Ensayos de PCR en tiempo real cuantitativa (RT-qPCR).

Para el análisis de expresión de genes en diferentes tejidos (ojo y musculo) de tortuga negra se recurrió al método de hidrólisis de la sonda, que utiliza la actividad 5' de la DNA polimerasa. Para asegurar la especificidad de todas las detecciones, los oligonucleótidos y sondas fueron diseñados a través de la herramienta bioinformática disponible en la página de Biosearch (<https://www.biosearchtech.com>), se accedió al microsito de RealTimeDesign™ Software Access (DUAL-LABELED PROBES), en donde automáticamente el programa arrojó las secuencias de las sondas y oligonucleótidos a utilizar para cada uno de los genes en estudio. Las sondas y oligonucleótidos fueron analizados *in silico* para confirmar la formación de hibridaciones inespecíficas.

La RT-qPCR se realizó en el sistema LightCycler480II (Roche Molecular Diagnostics), usando el kit SuperScriptIII Platinum One-step RT-qPCR (Invitrogen). Cada 25 µl de volumen de reacción contenía 5 µl de RNA templado (100 ng), 0.5 µl de mezcla de enzimas, 12.5 µl de mezcla de reacción 2X, 0.5 µl de oligonucleótido sentido 10 µM, 0.5 µl de oligonucleótido antisentido 10 µM, 0.5 µl de sonda de hidrolisis 5 µM, y 5.5 µl de agua libre de nucleasas, la mezcla fue preparada en el gabinete para PCR (UVP). Los oligonucleótidos y sondas utilizados se muestran en la tabla 3.

La reacción de RT-qPCR, se inició por la adición de la transcriptasa reversa (50°C, 30 min), el inicio de la desnaturalización (95°C 5 min) seguido por 45 ciclos de amplificación a 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos. Las señales de fluorescencia fueron capturadas en cada ciclo de amplificación a 60°C. Las curvas de amplificación fueron analizadas a longitudes de onda de absorción de 530 nm. En cada experimento se incluyó el gen de expresión constitutiva como controles positivos y agua como control negativo.

Tabla 3. Oligonucleótidos y sondas diseñados para los ensayos de RT-qPCR en tiempo real.

	Gen	Oligo	Secuencia 5' a 3'	Tamaño	% GC	Tm	Amplicon
1	B1	Forward Primer	TGGAGGCTGTCACTCACAT	19	53	65.4	67
		Reverse Primer	GGCCATGACTGTGTCCATGT	20	50	66.2	
		Probe	TCACAGCCATTACACCCATGGTCA	24	50	69.4	
2	B2	Forward Primer	AACAGGCAACCCTTACTATGACA	23	43	66.9	96
		Reverse Primer	GCTTCCGTGTTGGTGTAGATG	21	52	65.5	
		Probe	CCTGGGATCTCTAGGTGTGGGAAGTC	26	58	70.4	
3	B3	Forward Primer	GGCTTCGACATCTCAGGACACT	22	55	67.6	71
		Reverse Primer	ACAGCCATCTCCTCCACAATCATC	24	50	66	
		Probe	CCTTCCTCCTAACATACTGTGCC	24	54	68.3	
4	O1	Forward Primer	GGTTGCCATTGGAAGTCCATT	21	48	65.9	92
		Reverse Primer	TCGAAGCCCTAATTCTTTCTC	23	48	66.7	
		Probe	CACTCCAAAACACAGTGACTACAGGGA	27	48	69.5	
5	O2	Forward Primer	GTGCGCCAAGGTGAGTTTG	19	58	66.4	88
		Reverse Primer	GCTGGGCAGAGCTGAAGAAG	20	60	66.5	
		Probe	TTGTGGCTATGGGCAGCCCTTT	22	55	70.1	
6	O3	Forward Primer	CCTGCATTACATCTGCACCAACTAC	25	48	67	94
		Reverse Primer	CTCGAAGTGCGCCTTGTCT	20	55	66.2	
		Probe	AACAGTGTCTGCCGCCGCTTCC	22	64	70.1	
7	N1	Forward Primer	AACCTGCCTGTGAAACCACTA	21	48	67	85
		Reverse Primer	TTGCAGATGCTCCGATCAATG	21	48	66.2	
		Probe	TTTCATTGGCCATGGGTGCTTGTC	24	50	70.7	
8	N2	Forward Primer	GGCTTCCAATGGCAGTAATTCAG	23	48	66.5	90
		Reverse Primer	TGCTCCAAGGCTTTGTTTAGTTC	23	43	65.9	
		Probe	TGAACCCTGTGCTCAGAATAAGTCAGA	27	44	69.1	
9	N3	Forward Primer	GCTCCAGGACAACAGATATTGAG	24	50	67.5	88
		Reverse Primer	AGAGCAGCGGGTTACAGA	18	50	65.5	
		Probe	CCTCTTGCTGGCTGTGATGGCGT	23	61	70.2	

10	A1	Forward Primer	TGCTGGAGCAGTCAGAGACT	20	55	66.6	116
		Reverse Primer	CGACAGCTTCTGCGTGTGG	20	55	66.7	
		Probe	AGGAATTGATCCGAACTACAGCAAAGC	27	44	69.3	
11	A2	Forward Primer	CGAGCTGTGGTCTGTCTTCAG	21	57	66.6	99
		Reverse Primer	GCAGCTGAGCATTGGTAGTGAG	22	55	66.7	
		Probe	TGGGTGATACTTTTGTGCATTTCAAGA	28	39	68.4	
12	M1	Forward Primer	GGATGGCACAGAGCAGAA	18	44	65.4	73
		Reverse Primer	ACGCCAGTCACCACCCAAA	19	58	66.7	
		Probe	TCTGGGTGCTTTGATGTGCGATGC	23	52	69.9	
13	ACTI N	Forward Primer	GCGTGGCTACTCCTTCGT	18	61	66	68
		Reverse Primer	AGCACAGCTTCTCCTTGATGTC	22	50	66.9	
		Probe	ACCACAGCTGAGCGCGAGATCG	22	64	70.8	
14	LUMI CAN	Forward Primer	GCGTTTGGATGGAATAATCTCAC	24	42	66	74
		Reverse Primer	CAGCAGCTACACGAAGACAGT	21	52	66.5	
		Probe	CGAGCTGACCTGCCACAGGAAA	22	59	70.2	
15	K1	Forward Primer	GCGCCTCAGTCAGTAACAC	19	58	66	94
		Reverse Primer	TCATGGGAGGACATGGAGAAGA	22	50	66.9	
		Probe	TGGCCTTTCGCTGGCTTCAT	21	57	69.3	
16	K2B	Forward Primer	ATTGCGGGACGGGACATCA	19	58	66.2	75
		Reverse Primer	CGCAGAGTGGTTAAAGGCGTAA	22	50	67.5	
		Probe	CCCCTACCTCATCAAGCTCCTG	23	61	69.4	
17	K3	Forward Primer	TCAACGCCTTCCAGAATGTC	20	50	66.5	76
		Reverse Primer	CAGTGCCGGTGGACTACAAAG	21	57	66.6	
		Probe	ATCAGCCGCCTGGCCTACAATGAG	24	58	70.2	
18	H1	Forward Primer	CATCCAGAGCACAACCAGAATC	22	50	66.5	71
		Reverse Primer	TTGCGCCTCTAGCAGAACT	19	53	66.2	
		Probe	TAGACGCTCTCCCGTCGACTCTG	23	61	70.1	
19	H2	Forward Primer	TGGGACACCAGCCCTATG	18	61	66.2	60
		Reverse Primer	GGAAGGCCAGGGACATGAAG	20	60	67.2	
		Probe	TCCAGCTGCTCTGTGGCTTCCT	22	59	70.2	
20	H3	Forward Primer	ACCGTGCTTCCTCCTCTTG	19	58	66.3	84
		Reverse Primer	GCCTTGTCATTCTGCTTCTGA	21	48	65.5	
		Probe	TCTGTTACTGGTGTCTGCCTGAGTC	25	52	70.1	

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Amplificación de secuencias parciales en *C. agassizii*.

En la tortuga negra *C. agassizii*, se lograron amplificar 4 secuencias parciales de genes homólogos a los de la bacteria *M. magneticum* AMB-1, las cuales presentan diferente número de aminoácidos, descripción y % de identidad, para la identificación de dichas secuencias se realizaron los siguientes análisis: 1. Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid*: 342108). 2. Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid*: 8469). 3. Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1.

A. Gen *mamB*

El gen *mamB*, en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 codifica para una proteína conformada por 333 aa, se describe como un transportador de cationes de Co/Zn/Cd, que participa en la formación de la membrana del magnetosoma, actuando como un punto de referencia para que se construyan los magnetosomas alrededor de un transportador crucial (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012). En la tortuga negra *C. agassizii* se amplificó una secuencia parcial homóloga para *mamB* de 38 aa, la cual se obtuvo con los oligonucleótidos degenerados: mamB-Fw1 5' CYTAYGGCTAYGBCARRGYW 3' y mamB-RV2 5' CAGRMRTGYGGHTCYTSCMG 3', diseñados en base al alineamiento de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (No. acceso en el NCBI, NC_007626.1) con las especies magnetoceptivas *Danaus plexippus* (AGBW01008935.1) y *Apis mellifera* (XM_003250636.1), el alineamiento realizado para el diseño de oligonucleótidos degenerados, mostró una matriz de identidad con porcentajes muy bajos entre la secuencia proteínica de bacteria con respecto a la secuencia de Mariposa (16.35 %) y abeja (15.90 %); (tabla 4).

Tabla 4. Matriz de identidad (%) para el gen *mamB* de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas.

		1	2	3
1	B.AGBW01008935.1. Mariposa	100.00	67.06	16.35
2	B.XM_003250636.1. Abeja	67.06	100.00	15.90
3	B.NC_007626.1. Bacteria	16.35	15.90	100.00

El ensayo de PCR, reveló la presencia de productos de amplificación de diferentes tamaños como se observa en la figura 7.

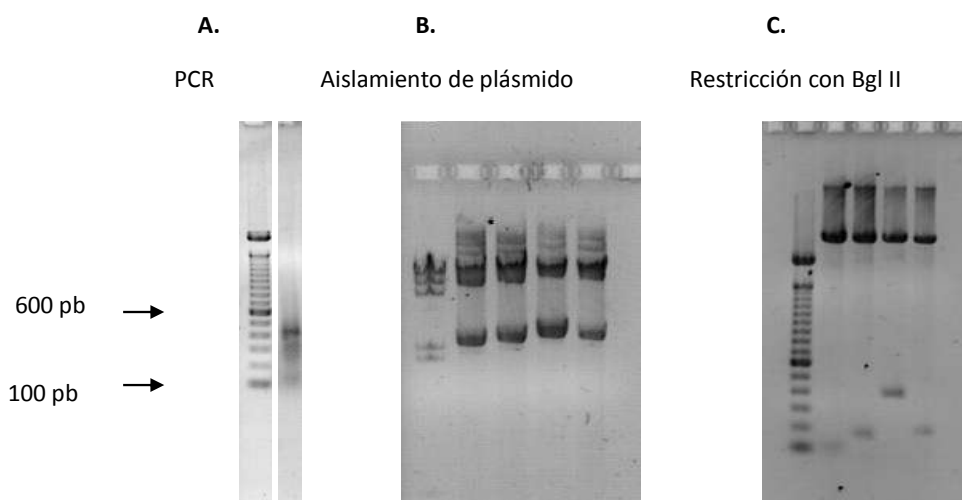


Figura. 6. Amplificación de las construcciones obtenidas por PCR para el gen *mamB* de *C. agassizii*. **A.** Producto de amplificación de PCR de aproximadamente 400 pb. **B.** Muestras que contienen el plásmido (pJet1.2/Blunt) en el cual se clonó el producto de PCR. **C.** Muestras que contienen el inserto clonado en diferentes clonas en las cuales se observan insertos de 100, 200 y 400 pb, aproximadamente.

Secuencia de nucleótidos que conforman el fragmento de ADN obtenido por PCR conformado por 114 pb, el cual es correspondiente al gen homólogo a *mamB* en la tortuga negra *C. agassizii*.

```

      10      20      30      40      50      60
GACTTTCGGA TGCTCGAGTT TTCAGCAAG ATCTTATGGC TATGGCAGGG TTGGATTGGG
      70      80      90     100     110     120
ACCAACTTCT TACAATGTAG TTGACACTAC TTGGACCGGG AAGAACCGCA CGTC|

```

Figura 7. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a *mamB* en *C. agassizii*.

Arreglo en aminoácidos (aa) que conforman la secuencia parcial obtenida para el gen homólogo a *mamB* en la tortuga negra *C. agassizii*, conformada por 38 aa.

```

      10      20      30      40
DFRMLEFFSK ILWLWQGWIG TNFLQCSSHY LDREEPHV|

```

Figura 8. Representación gráfica de la secuencia de aminoácidos codificados en el fragmento de ADN obtenido por PCR que corresponde al gen *mamB* en *C. agassizii*.

La secuencia proteica obtenida para el gen homólogo a *mamB* en *C. agassizii* fue sometida a un análisis tipo blastp con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid: 342108*), obteniendo múltiples descripciones (ver. Anexo 1), así como con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*), en donde fue identificada una proteína homóloga a transportadores (tipo 5), presentando un porcentaje de identidad del 100% (ver. Anexo 2). Una vez identificada la secuencia para *C. agassizii*, se realizó un alineamiento y un agrupamiento por similitud respectivamente, de la secuencia parcial obtenida de *C. agassizii* con las especies magnetoceptivas en base a las cuales fue amplificada. En la tabla de

similitud podemos observar que los porcentajes de identidad de tortuga con respecto a las diferentes especies magnetoceptivas son menores al 50% donde: la secuencia de tortuga con la secuencia de mariposa, abeja y bacteria presentan porcentajes de identidad del 46.82%, 42.78% y 15.34% respectivamente (tabla4), esto puede ser atribuido a la forma en que cada especie regula la función de sus genes, por lo tanto unos serán más similares entre sí que otros.

Tabla 5. Matriz de identidad (%) para el gen *mamB* de *C. agassizii*.

		1	2	3	4
1	B.EHJ67100.1. Mariposa	100.00	67.06	46.82	16.77
2	B.XP_003250684.1. Abeja	67.06	100.00	42.78	15.53
3	B.EMP36535.1. Tortuga	46.82	42.78	100.00	15.34
4	B.YP_420341.1. Bacteria	16.77	15.53	15.34	100.00

Para el análisis de similitud, se construyó un árbol filogenético elaborado con el algoritmo de Neighbor Joining, el cual está soportado con un bootstrap de 1000 repeticiones. La robustez del árbol indicada en la base de la ramificación es de 100% lo que sugiere que de 1000 reareglos generados por la matriz de datos, el 100% de las veces la especie A fue similar a la especie B, las cuales fueron agrupadas en el mismo clado, así mismo el 0.1 es una representación de la escala que indica las diferencias entre una secuencia y otra, a mayor largo de la rama mayor será la diferencia.

En el árbol de similitud podemos observar que en el clado más externo se encuentra la bacteria *M. magneticum*. En el segundo clado principal tenemos por un lado a la tortuga *C. agassizii*, una rama y un clado que incluye a las especies magnetoceptivas de referencia, mariposa y abeja, por lo tanto la menor diferencia ocurre entre la mariposa y la abeja y la mayor diferencia con respecto al resto de las especies será en la bacteria. En base a los resultados obtenidos se concluye que la secuencia identificada para tortuga negra es más similar a la secuencia de Mariposa soportado por un 46.82 % de identidad, así mismo se puede observar que la rama de la Mariposa presenta menor longitud con respecto a la tortuga que el resto de las especies.

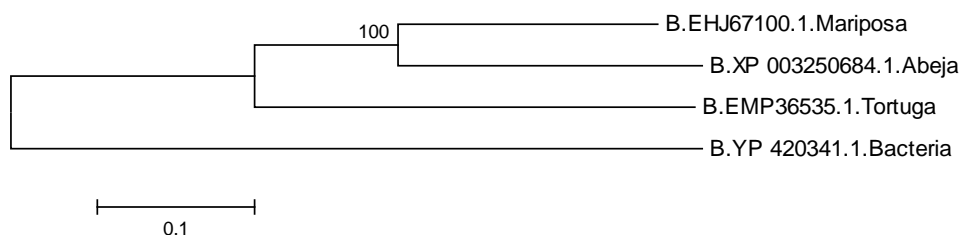


Figura 9. Árbol de Neighbor-Joining para el gen *mamB* con diferentes especies de referencia

B. Gen *mamK*

El gen *mamK* en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 codifica para una proteína conformada por 347 aa, se describe como un dominio ATPasa similar a actina, que proporciona el andamiaje estructural para la organización de la cadena del magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012). En la tortuga negra *C. agassizii* se amplificó una secuencia parcial homóloga para *mamK* de 53 aa, la cual se obtuvo con los oligonucleótidos degenerados: mamK-Fw1 5'TSMRSTAYCCSMTSSAGVACGGC 3' y mamK-Rv1 5' GTMTSAAMCAYMWYCTSRRYSATCTT 3', diseñados en base al alineamiento de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (No. acceso en el NCBI, YP_420328.1) con las especies magnetoceptivas *Salmo salar* (ACN10558.1) y *Oncorhynchus mykiss* (NP_001117707.1), el alineamiento realizado para el diseño de oligonucleótidos degenerados, mostró una matriz de identidad con porcentajes menores al 20%, entre la secuencia proteínica de bacteria con respecto a diferentes especies magnetoceptivas usadas (tabla 6).

Tabla 6. Matriz de identidad (%) para el gen *mamK* de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas.

		1	2	3
1	K.AC10558.1. Salmon	100.00	47.20	16.76
2	K.NP_001117707.1. Trucha	47.20	100.00	17.56
3	K.YP_420328.1. Bacteria	16.76	17.56	100.00

El ensayo de PCR, reveló la presencia del producto de amplificación de aproximadamente 200 pb, como se observa en la figura 11.

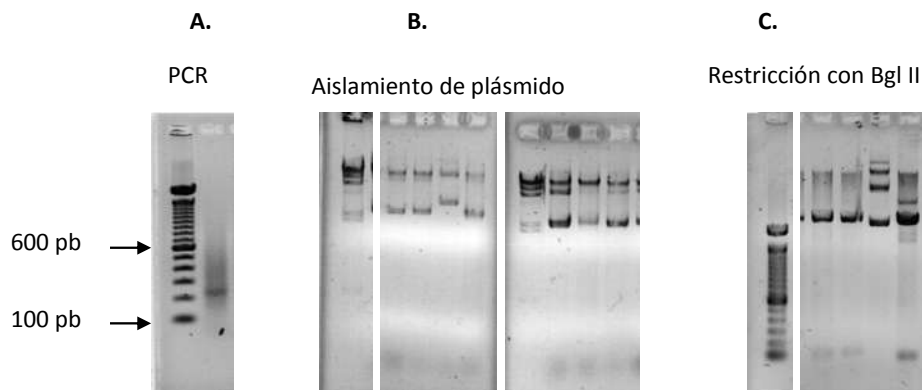


Figura 10. Amplificación de las construcciones obtenidas por PCR para el gen *mamK*. **A.** Producto de amplificación de PCR de aproximadamente 200 pb. **B.** Muestras que contienen el plásmido (pJet1.2/Blunt) en el cual se clonó el producto de PCR. **C.** Muestras que contienen el inserto clonado en diferentes clonas en las cuales se observan insertos de aproximadamente 200 pb.

Secuencia de nucleótidos que conforman el fragmento de ADN obtenido por PCR conformado por 160 pb, el cual es correspondiente al gen homólogo a *mamK* en la tortuga negra *C. agassizii*.

```

      10      20      30      40      50      60
CTCCTTCGGA TGGCTCGAGT TTTTCAGCAA GATGTCCTCAA ACATCTTCTG GCGGATCTTG
      70      80      90     100     110     120
TACCAAAGCC AGTGCCGGGC GGTGTTGCGG TGATGTAGAC CTAGAACAGT GCAGTGAGCG
      130     140     150     160
GTGCCGTTCT GGATGGGGTA GATGGCCGAG GAGGTGGTTC |
  
```

Figura 11. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a *mamK* en *C. agassizii*.

Arreglo en aminoácidos (aa) que conforman la secuencia parcial obtenida para el gen homólogo a *mamK* en la tortuga negra *C. agassizii*, conformada por 53 aa.

10
20
30
40
50

LLRMARVFQQ
DVSNIFWAIL
YQSQCRAVLR
CRPRTVQAVP
FWMGMAEEVV

Figura 12. Representación gráfica de la secuencia de aminoácidos codificados en el fragmento de ADN obtenido por PCR que corresponde al gen *mamK* en *C. agassizii*.

La secuencia proteica obtenida para el gen homólogo a *mamK* en *C. agassizii* fue sometida a un análisis tipo blastp con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid: 342108*), obteniendo múltiples descripciones (ver. Anexo 3), así como con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*), en donde fue identificada una proteína homóloga a Beta-actina, presentando un porcentaje de identidad del 88% (ver. Anexo 4). Una vez identificada la secuencia para *C. agassizii*, se realizó un alineamiento y un agrupamiento por similitud respectivamente, de la secuencia parcial obtenida de *C. agassizii* con las especies magnetoceptivas en base a las cuales fue obtenida. En la tabla de similitud podemos observar que los porcentajes de identidad de tortuga con respecto a las diferentes especies magnetoceptivas son los siguientes: la secuencia de tortuga con la secuencia de trucha, salmón y bacteria presentan porcentajes de identidad del 100%, 53.70% y 18.87% respectivamente (tabla 7).

Tabla 7. Matriz de identidad (%) para el gen *mamK* de *C. agassizii*.

		1	2	3	4
1	K.NP_001117707.1.Trucha	100.00	100.00	46.93	16.37
2	K.AAR84184.1.Tortuga	100.00	100.00	53.70	18.87
3	K.ACN10558.1.Salmon	46.93	53.70	100.00	16.18
4	K.YP_420328.1.Bacteria	16.37	18.87	16.18	100.00

En el análisis de similitud, podemos observar la división del árbol en 2 grandes clados, en el clado más externo a la bacteria *M. magneticum*. En el segundo clado

principal tenemos por un lado al salmón en una rama y un clado interno que incluye a la trucha y a la secuencia de tortuga identificada, por lo tanto la menor diferencia ocurre entre la trucha y la tortuga, mientras que la mayor diferencia con respecto al resto de las especies será en la bacteria. En base a los resultados obtenidos se concluye que la secuencia identificada para tortuga negra es idéntica a la secuencia de trucha soportado por un 100 % de identidad, lo que sugiere que ambas proteínas desempeñan la misma función en ambas especies, esta alta identidad es de esperarse ya que se trata de la proteína Beta actina, la cual tiene funciones estructurales en diferentes organismos.

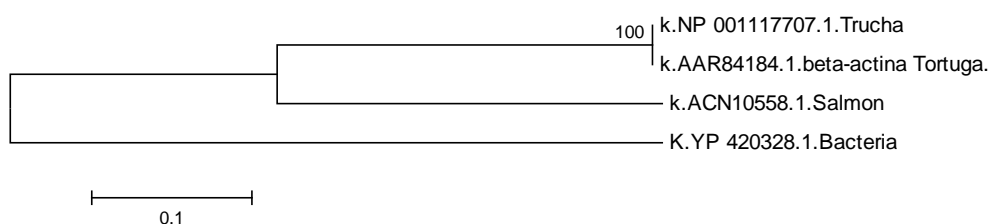


Figura. 13. Árbol de Neighbor-Joining para el gen *mamK* con diferentes especies de referencia.

C. Gen *mamN*

El gen *mamN*, en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 codifica para una proteína conformada por 437 aa, se describe como un anti portador NhaD Na⁺/H⁺, relacionado con arsenite permeasa, participa en la biomineralización, transporte de hierro, nucleación de la magnetita, y/o establecimiento del entorno químico adecuado para la síntesis de magnetita en el magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012). En la tortuga negra *C. agassizii* se amplificó una secuencia parcial homóloga para *mamN* de 70 aa, la cual se obtuvo con los oligonucleótidos degenerados *mamN*-Fw1 5´ THGGWGRTGAYCRRRAWCYAYMA 3´ y *mamN*-Rv1 5´ RGAHG SVGGDRSSRGY CAGRAG 3´, diseñados en base al alineamiento de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (No. acceso en el NCBI, NC_007626.1) con las especies magnetoceptivas ballena, *Eschrichtius robustus* (NC_005270.1) y paloma, *Columba livia* (NC_013978.1), el alineamiento realizado para el diseño de oligonucleótidos degenerados, mostró una matriz de identidad

con diferentes porcentajes entre la secuencia proteínica de bacteria con respecto a diferentes especies magnetoceptivas usadas, donde la secuencia de bacteria con la secuencia de ballena y paloma tienen un porcentaje de identidad del 13.95 y 14.42 respectivamente (tabla 8).

Tabla 8. Matriz de identidad (%) para el gen *mamN* de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas.

		1	2	3
1	N.NP_944635.1. Ballena	100.00	88.16	13.95
2	N.YP_003540710.1. Paloma	88.16	100.00	14.42
3	N.YP_420331.1. Bacteria	13.95	14.42	100.00

El ensayo de PCR, reveló la presencia de productos de amplificación de diferentes tamaños como se observa en la figura 15.

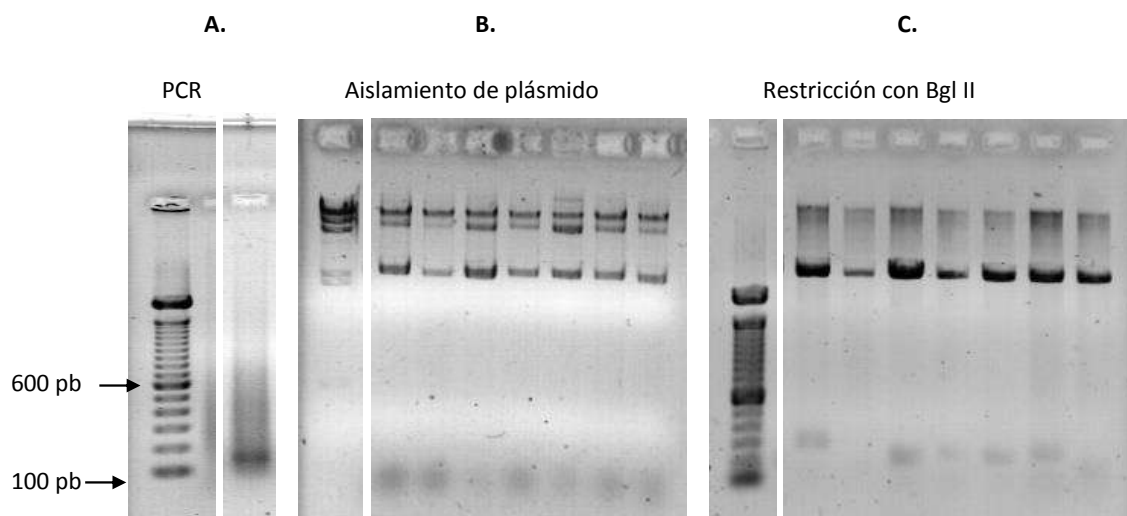


Figura 14. Amplificación de las construcciones obtenidas por PCR para el gen *mamN*. **A.** Producto de amplificación de PCR de aproximadamente 150 pb. **B.** Muestras que contienen el plásmido (pJet1.2/Blunt) en el cual se clonó el producto de PCR. **C.** Muestras que contienen el inserto clonado en diferentes clonas en las cuales se observan insertos desde 150 a 300 pb aproximadamente.

Secuencia de nucleótidos que conforman el fragmento de ADN obtenido por PCR conformado por 210 pb, el cual es correspondiente al gen homólogo a *mamN* en la tortuga negra *C. agassizii*.

```

      10      20      30      40      50      60
CTCCTTCCGG GGTGGCTCGA GTTTTTCAGC AAGATTCAAC CATATTCTGG GCGATCTTGA
      70      80      90     100     110     120
CGTGCCCCGT GGATGGGGAG TGGTGCCGAC TGGTCAATGG CACCGGAGGG TCGCCGTGTA
      130     140     150     160     170     180
CCGATGCCGC AGTGCTGGGT ACCGGTTCAA AGCTGCGTGC TGGAGTCAGG GTCAGCGCCG
      190     200     210
ACTCCATCAA GATCGTCCAG GAGATGGT|

```

Figura 15. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a *mamN* en *C. agassizii*.

Arreglo en aminoácidos (aa) que conforman la secuencia parcial obtenida para el gen homólogo a *mamN* en la tortuga negra *C. agassizii*, conformada por 70 aa.

```

      10      20      30      40      50      60
SFRGGSSFSR RFNHILGDL D VPRGWGVVPT GQWHRRVAVY RCRSAGYRFK AACWSQGQRR
      70
LHQDRP G D G

```

Figura 16. Representación gráfica de la secuencia de aminoácidos codificados en el fragmento de ADN obtenido por PCR que corresponde al gen *mamN* en *C. agassizii*.

La secuencia proteica obtenida para el gen homólogo a *mamN* en *C. agassizii*, fue sometida a un blastp con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid*: 342108), obteniendo múltiples descripciones (ver. Anexo 5), así como con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid*: 8469) en donde fue identificada una proteína homóloga a intercambiadores de Sodio/Hidrógeno (tipo 8), presentando

un porcentaje de identidad del 75% (ver. Anexo 6). Una vez identificada la secuencia para *C. agassizii*, se realizó un alineamiento y un agrupamiento por similitud respectivamente, de la secuencia parcial obtenida de *C. agassizii* con las especies magnetoceptivas en base a las cuales fue obtenida. En la tabla de similitud podemos observar que los porcentajes de identidad de tortuga con respecto a las diferentes especies magnetoceptivas son menores del 15% donde: la secuencia de tortuga con la secuencia de ballena, paloma y tortuga presentan porcentajes de identidad del 12.20%, 11.58% y 9.01% respectivamente (tabla9), este valor tan bajo de identidad entre tortuga y diferentes especies magnetoceptivas nos indica que posiblemente en este gen los dominios requeridos para su función son poco conservados entre las diferentes especies analizadas.

Tabla 9. Matriz de identidad (%) para el gen *mamN* de *C. agassizii*.

		1	2	3	4
1	N.NP_944635.1.Ballena	100.00	88.16	13.95	12.20
2	N.YP_003540710.1.Paloma	88.16	100.00	14.42	11.58
3	N.YP_420331.1.Bacteria	13.95	14.42	100.00	9.01
4	N.EMP35755.1.Tortuga	12.20	11.58	9.01	100.00

En el análisis de similitud, podemos observar en el clado más externo a la secuencia de tortuga. En el segundo clado principal tenemos por un lado a la bacteria en una rama y un clado que incluye a las especies magnetoceptivas de referencia, ballena gris y paloma, por lo tanto la menor diferencia ocurre entre ballena gris y la paloma y la mayor diferencia con respecto al resto de las especies será en la tortuga. En base a los resultados obtenidos se observa que la secuencia identificada para tortuga negra es muy diferente al resto de las especies magnetoceptivas, por lo que la función de la proteína *mamN*, pudiese no estar relacionada entre estas especies.

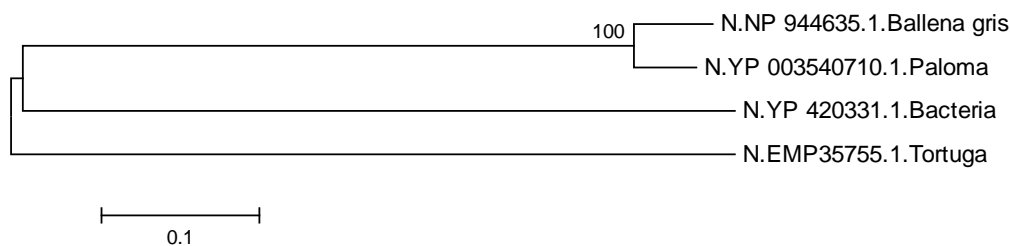


Figura 17. Árbol de Neighbor-Joining para el gen *mamN* con diferentes especies de referencia.

D. Gen *mamO*

El gen *mamO*, en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 codifica para una proteína conformada por 637 aa, se describe como un dominio serina proteasa similar a la tripsina, que participa en la en la biomineralización, transporte de hierro, nucleación de la magnetita, y/o establecimiento del entorno químico adecuado para la síntesis de magnetita en la magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012). En la tortuga negra *C. agassizii* se amplificó una secuencia parcial homologa para *mamO* de 160 aa, la cual se obtuvo con los oligonucleótidos degenerados: mamO-Fw1 5' CCYVCKADAATRGY G A M G R C D G C T 3' y mamO-Rv1 5' G G H C C R S Y W G A R T W Y C C A 3', diseñados en base al alineamiento nucleotídico de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (No. acceso en el NCBI, NC_007626.1) con las especies magnetoceptivas *Salmo salar* (NM_001141717.1) y *Apis mellifera* (XM_624351.3), el alineamiento realizado para el diseño de oligonucleótidos degenerados, mostró una matriz de identidad con porcentajes similares, entre la secuencia proteínica de bacteria con respecto a diferentes especies magnetoceptivas usadas, 13.62% para salmón y 13.88% para abeja (tabla 10).

Tabla 10. Matriz de identidad (%) para el gen *mamO* de bacteria con diferentes especies magnetoceptivas.

		1	2	3
1	mamO.NP_001135189.1.Salmo	100.00	42.27	13.62
2	mamO.XP_624354.1.Apis	42.27	100.00	13.88
3	mamO.YP_420332.1.M.magneticum	13.62	13.88	100.00

El ensayo de PCR, reveló la presencia de productos de amplificación de diferentes tamaños como se observa en la figura 19.

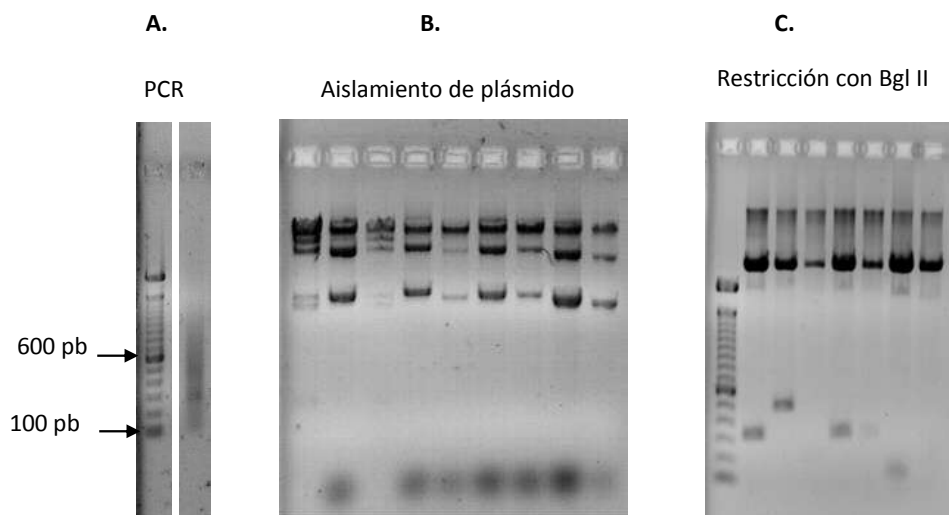


Figura 18. Amplificación de las construcciones obtenidas por PCR para el gen mamO. **A.** Producto de amplificación de PCR de aproximadamente 300 pb. **B.** Muestras que contienen el plásmido (pJet1.2/Blunt) en el cual se clono el producto de PCR. **C.** Muestras que contienen el inserto clonado en diferentes clonas en las cuales se observan insertos de 100, 300 y 500 pb aproximadamente.

Secuencia de nucleótidos que conforman el fragmento de ADN obtenido por PCR conformado por 480 pb, el cual es correspondiente al gen homólogo a *mamO* en la tortuga negra *C. agassizii*.

```

      10      20      30      40      50      60
GACTTCAGAG GCTCGAGTTT TTCAGCAAGA TGCCAGCAG AGTCCCACC CAGTAATCTG
      70      80      90     100     110     120
AAAAAAGTTA CACCCCCAC TTGGTACCTC TAAGAGCCAG TACTTCTCCT CTCACAAGCA
     130     140     150     160     170     180
CTAAGTACAT GTATAGAAGA GAAAACTTTG AATAAAAAGG GAAAGGAACC TGGCATTACT
     190     200     210     220     230     240
TGGGAAAAACA CCACAAGCAT GATTGAAAA CATCAGACCA TGAATAAAAC ACCCACCCCA
     250     260     270     280     290     300
AAGTACATTG GCAGCATCCG TTTCCCTCAG CTCTCACCTT GCAGTGTGAC AGTCCGACAA
     310     320     330     340     350     360
ACAAATGTCC CTTTAAACACA CCAGTCCTCT CTCCCTCCAC CGCACCCAC TCACAGTTGT
     370     380     390     400     410     420
CCTTGGTAAG TGAAAACCCA GTGTTGGAG GTGTGTTGC GTGAGTTAAC |TCCCACCC
     430     440     450     460     470     480
GGGGGAGCG GTGGGGCAG AACTGAGCAG TGATTCAGCC GCCGTCGCCA TTTTAGTAGG

```

Figura 19. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a *mamO* en *C. agassizii*.

Arreglo en aminoácidos (aa) que conforman la secuencia parcial obtenida para el gen homólogo a *mamO* en la tortuga negra *C. agassizii*, conformada por 160 aa.

```

      10      20      30      40      50      60
DFRGSSFSAR CPAEFPPSNL KKVTIPTWYL SEPVLLLSQA LSTCIEEKT L NKRKKEPGIT
      70      80      90     100     110     120
WENTTSMISK HQTMNKTP TP KYIGSIRFLS LSPCSVTVRQ TNVPLTHQSS LPPPHPTHSC
     130     140     150     160
PWSVKTQCLE VCLRELTSH P GSGGGRTEQ SFSRRRHFSR |

```

Figura 20. Representación gráfica de la secuencia de aminoácidos codificados en el fragmento de ADN obtenido por PCR que corresponde al gen *mamO* en *C. agassizii*.

La secuencia proteica obtenida para el gen homólogo a *mamO* en *C. agassizii* fue sometida a un análisis tipo blastp con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid: 342108*), obteniendo múltiples descripciones (ver. Anexo 7), así como con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*), en donde fue identificada una proteína homóloga a Serina proteasa HTRA1, con un 100% de identidad (ver. Anexo 8). Una vez identificada la secuencia para *C. agassizii*, se realizó un alineamiento y un agrupamiento por similitud respectivamente, de la secuencia parcial obtenida de *C. agassizii* con las especies magnetoceptivas en base a las cuales fue obtenida. En la tabla de similitud podemos observar que los porcentajes de identidad de tortuga con respecto a las diferentes especies magnetoceptivas son los siguientes: la secuencia de tortuga con la secuencia de salmon, abeja y bacteria presentan porcentajes de identidad del 71.70%, 43.21% y 11.86% respectivamente (tabla11), estos porcentajes de identidad nos hacen suponer que la proteína *mamO*, pudiese presentar funciones similares entre diferentes especies.

Tabla 11. Matriz de identidad (%) para el gen *mamO* de *C. agassizii*.

		1	2	3	4
1	O.EMP31670.1.Tortuga	100.00	71.70	43.21	11.86
2	O.NP_001135189.1.Salmon	71.70	100.00	40.10	13.41
3	O.XP_624354.1.Abeja	43.21	40.10	100.00	12.94
4	O.YP_420332.1.Bacteria	11.86	13.41	12.94	100.00

En el análisis de similitud podemos observar en el clado más externo a la bacteria *M. magneticum*. En el segundo clado principal tenemos por un lado a la abeja en una rama y un clado interno que incluye al salmón y a la tortuga, por lo tanto la menor diferencia ocurre entre el salmón y la tortuga, mientras que la mayor diferencia con respecto al resto de las especies será en la bacteria. En base a los resultados obtenidos se concluye que la secuencia identificada para tortuga negra es mas similar a la secuencia de salmón soportado por un porcentaje de identidad de 71.70.

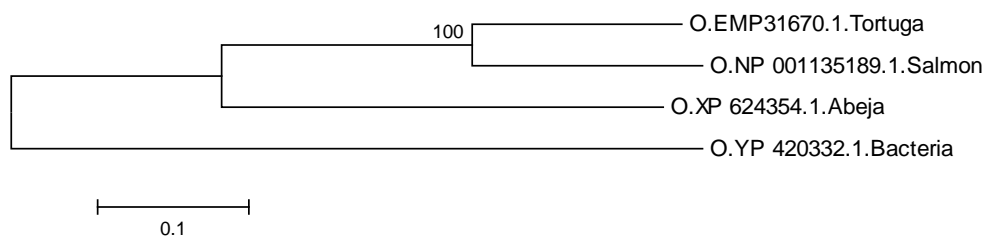
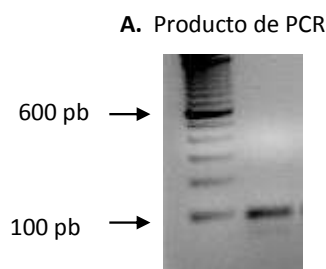


Figura 21. Árbol de Neighbor-Joining para el gen *mamO* con diferentes especies de referencia.

E. Gen *mamA*

El gen *mamA* en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 codifica para una proteína conformada por 221 aa, se describe como una proteína que contiene repeticiones TRP (Tetratricopeptido), dicha proteína está participa en el espaciado y la organización de los magnetosomas, interacción de algunas proteínas con la membrana magnetosoma-magnetosoma, participan en el número de cristales producidos por célula (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012). En la tortuga negra *C. agassizii* se amplificó una secuencia parcial homologa para *mamA* de 17 aa, la cual se obtuvo con los oligonucleótidos específicos para *C. agassizii*: A2-Fw1 5' CGAGCTGTGGTCTGTCTTCAG 3' y A2-Rv1 5' GCAGCTGAGCATTGGTAGTGAG 3'. El ensayo de PCR, reveló la presencia del producto de amplificación de aproximadamente 100 pb, como se observa en la figura 23.



Figra 22. Amplificación de las construcciones obtenidas por PCR para el gen *mamA*. A. Producto de amplificación de PCR de aproximadamente 100 pb.

Secuencia de nucleótidos que conforman el fragmento de ADN obtenido por PCR conformado por 54 pb, el cual es correspondiente al gen homólogo a *mamA* en la tortuga negra *C. agassizii*.

```
      10      20      30      40      50      60
TGCTGATTTC AGATACAATG CAGCACTAAA GTCCTACTACC AATGCTCAGC TAGC|
```

Figura 23. Representación gráfica de la secuencia nucleotídica para el homólogo a *mamA* en *C. agassizii*.

Arreglo en aminoácidos (aa) que conforman la secuencia parcial obtenida para el gen homólogo a *mamA* en la tortuga negra *C. agassizii*, conformada por 17 aa.

```
      10      20
CFQIQCSITKA HYQCSAS|
```

Figura 24. Representación gráfica de la secuencia de aminoácidos codificados en el fragmento de ADN obtenido por PCR que corresponde al gen *mamA* en *C. agassizii*.

La secuencia proteica obtenida para el gen homólogo a *mamA* en *C. agassizii* fue amplificada en con oligonucleótidos específicos, diseñados en base al genoma de la tortuga negra *C. mydas* (*taxid: 8469*), en donde corresponde a múltiples descripciones (ver. Anexo 9). Para esta secuencia parcial obtenida no se realizaron análisis de similitud con respecto a otras especies ya que no existen, fue amplificada directamente del genoma de tortuga negra.

Finalmente las 5 secuencias parciales obtenidas en *C. agassizii* fueron concentradas para mejor visibilidad de los datos. Ver tabla 11. Dónde:

S-GB: Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid: 342108*).

S-GT: Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *Ch. mydas* (*taxid: 8469*).

S-G: Comparación de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el gen mam de la bacteria *M. magneticum* AMB-1.

Tabla 12. Secuencias parciales amplificadas en *C. agassizii*.

<i>C. agassizii</i>				<i>M. magneticum</i> <i>AMB-1</i>	% de identidad		
Nombre	No. de aminoácidos	Descripción S-GB	Descripción S-GT	Descripción ST-G	S-GB	S-GT	ST-G
<i>MamB</i>	38	Múltiples descripciones	Transportador de Zinc	Transportador de cationes Co/Zn/Cd	29-66	100	42.11
<i>MamK</i>	53		Beta-actina	ATPase similar a Actina	26-75	88	20
<i>MamN</i>	70		Intercambiador de sodio/hidrogeno	Anti portador Na ⁺ /H ⁺ y NhaD relacionado con arsenita permeasa	34-66	75	24.64
<i>MamO</i>	160		Serina proteasa HTRA1	Serina proteasa	30-35	100	20.62
<i>MamA</i>	17		Múltiples descripciones				

La amplificación de las secuencias parciales de genes homólogos de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (AMB-1) en tortuga *C. agassizii*, por un lado nos confirma la existencia de genes homólogos que pudiesen poseer dominios conservados a lo largo de la escala filogenética, esto permitiría llevar a cabo el proceso de biomineralización de la magnetita en organismos capaces de sensar el campo magnético terrestre, por otro lado la sola presencia no garantiza su participación en la síntesis de magnetita, debido a que fueron amplificados con oligonucleótidos degenerados que pudieron haber reconocido una región inespecífica, que no

necesariamente es la del gen en cuestión, para comprobar su participación se requiere de ensayos adicionales como pérdida de función in vitro del gen de interés. En *M. magneticum* AMB-1, *mamK*, es un gen homólogo a beta-actina, el cual proporciona el andamiaje estructural para la organización de la cadena del magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012), en la tortuga negra no se ha reportado la existencia de magnetosomas como tal, el cristal magnético se encuentra rodeado únicamente por una matriz orgánica (Meléndez-Herrera et al., 2014 en preparación), sin embargo el alto porcentaje de identidad mostrado nos sugiere que posiblemente en tortuga, tiene una función similar a la desempeñada en bacteria, la proteína *MamB* es un transportador de Zinc, Hierro y cadmio, en la bacteria participa en la formación de la membrana del magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012), en donde al igual que *MamK* se desconoce la posible función en tortuga, el papel de *MamN* y *MamO* en la bacteria es directamente en la biomineralización, transporte de hierro, nucleación de la magnetita, y/o establecimiento del entorno químico adecuado para la cristalización de la magnetita en el magnetosoma (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012), por lo que estos genes presentan una función más relacionada con lo descrito en la tortuga negra, en bacterias *mamA* participa en el espaciado y la organización de los magnetosomas, interacción de algunas proteínas con la membrana magnetosoma-magnetosoma, participan en el número de cristales producidos por célula (Quinlan et al., 2011; Murat et al., 2010; Komeili., 2012), en tortuga pudiera actuar en el número de cristales producidos por célula, de alguna forma este gen es prometedor ya que en un ensayo preliminar de RT-qPCR se confirmó su expresión a nivel de transcrito.

7.2. Análisis de similitud de genes *mam* de *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de *C. agassizii*.

El análisis de similitud se llevó a cabo con los 18 genes de la región 5 de la IMA de *M. magneticum* AMB-1, obteniendo 7 de ellos como los más conservados, dichos genes fueron sometidos al análisis de similitud con 2 finalidades: 1) identificar la relación con la secuencia parcial obtenida en la tortuga negra *C. agassizii*, 2) seleccionar secuencias proteicas de *C. mydas* con mayor porcentaje de similitud a la especie de referencia que fue *M. magneticum* AMB-1, y a partir de ellas, diseñar oligonucleótidos específicos para el ensayo de RT-qPCR.

Para este análisis se consideraron las diferentes especies magnetoceptivas de referencia para la secuenciación, el resultado del análisis tipo blast de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*) y el resultado del blast del gen *mam* de referencia en la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*). Ver anexo 9.

Para cada uno de los genes se realizó un análisis de Bootstrap con 1000 réplicas utilizando el algoritmo de Neighbor-Joining para corroborar la robustez de la agrupación por similitud, en la mayoría de los casos para el diseño de oligonucleótidos específicos para RT-qPCR, fueron elegidas las secuencias de las ramas cuyos valores de bootstrap fueron mayor o igual a 50%, lo que significa que de los 1000 reareglos generados por la matriz de datos, el 50% de las veces la secuencia A fue similar a la secuencia B, dichas secuencias se agrupan en el mismo clado, los valores de bootstrap menores a 50% reflejan una agrupación incierta de las secuencias en las ramas del árbol de similitud, la longitud de las ramas indica las diferencias entre una secuencia con respecto a otra, esto puede ser representado de manera arbitraria por el 0.2 localizado en la base del árbol. Figuras, 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31.

A. Gen *mamB*.

El análisis de similitud para el gen *mamB* se compone por secuencias homólogas de diferentes especies, la tortuga verde o negra (*C. mydas*), abeja (*Apis mellifera*), mariposa (*Danaus plexippus*) y la bacteria magnetotáctica de referencia *M. magneticum* AMB-1. La identificación y selección de secuencias se realizó de la siguiente manera: en primer lugar se localizaron dentro del árbol las ramas que corresponden a las especies de referencia, bacteria (*M. magneticum* AMB-1), Mariposa (*D. plexippus*) y abeja (*A. mellifera*), las cuales están soportadas con porcentajes de bootstrap de 39 y 99 respectivamente, posteriormente se localizó y se seleccionó la secuencia homóloga a *mamB*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en la tortuga negra *C. agassizii* (Zn transportador 5), el cual esta formando un clado con las secuencias de mariposa y abeja, lo que significa que es más similar a ambas especies, que al resto de las secuencias, finalmente se seleccionaron las 2 secuencias más cercanas a la bacteria donde el Zn transportador 9 y la proteína 2 transmembranal presentaron mayor porcentaje de similitud de acuerdo al arreglo de las ramas observado. Ver figura 25.

1. Especies magnetoceptivas de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 3. Blastp de la secuencia del fragmento de ADN obtenido por PCR a partir de *C. agassizii* contra el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 4. Secuencia homóloga a *mamB*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en *C. agassizii*.
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.

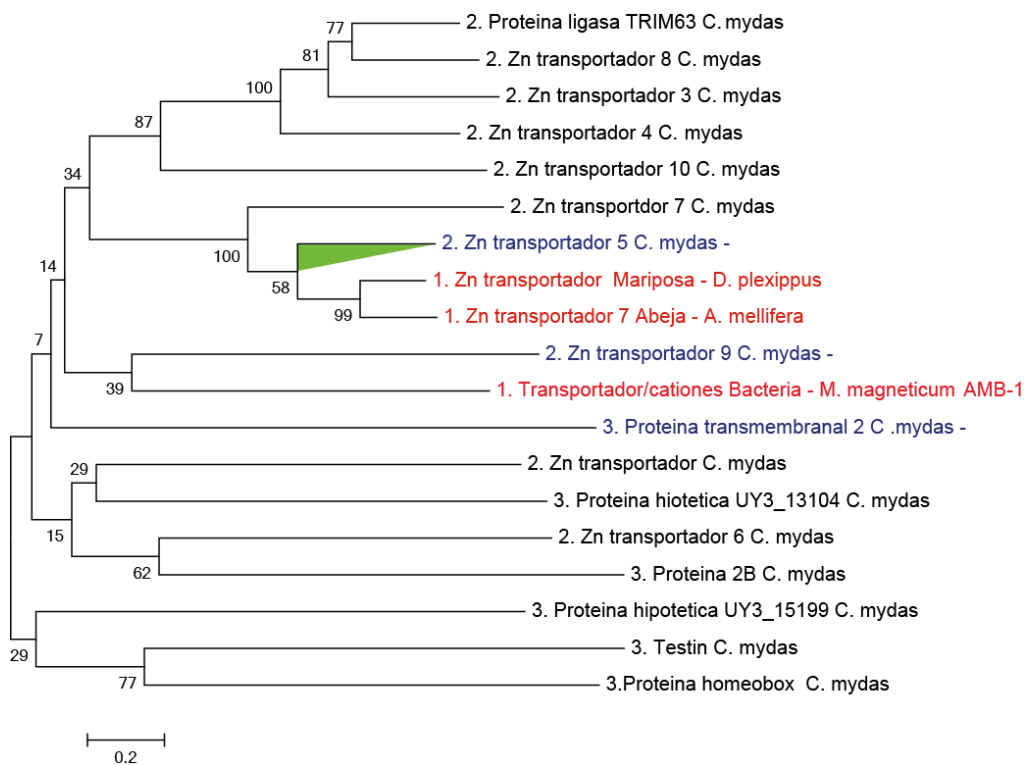


Figura 25. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamB*. Las especies de referencia se muestran en rojo, las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul y la secuencia con la cual se identificó el gen homólogo a *mamB* en *C. agassizii* se señala en verde.

B. Gen *mamK*.

El análisis de similitud para el gen *mamK* se compone por secuencias homólogas de diferentes especies, la tortuga verde o negra (*C. mydas*), salmón (*Salmo salar*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y la bacteria magnetotáctica *M. magneticum* AMB-1. La identificación y selección de secuencias se realizó de la siguiente manera: en primer lugar se localizaron dentro del árbol las ramas que corresponden a las especies de referencia, bacteria (*M. magneticum* AMB-1), salmón (*S. salar*), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), las cuales están soportadas con porcentajes de bootstrap de 91, 54 y 100 respectivamente, posteriormente se localizó y se seleccionó la secuencia homóloga a *mamK*, con la

cual se identificó la secuencia parcial amplificada en la tortuga negra *C. agassizii* (Actina citoplasmica 2), el cual está formando un clado con la trucha arcoíris, lo que significa que ambas secuencias son muy similares, finalmente se seleccionaron las secuencias más cercanas a la bacteria y al salmón donde, Actina 3 y actina relacionada con la proteína 2B presentaron mayor porcentaje de similitud de acuerdo al arreglo de las ramas observado, soportado por 99 y 100 % de bootstrap respectivamente. Ver figura 26.

1. Especies magnetoceptivas de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 3. Blastp de la secuencia del fragmento de ADN obtenido por PCR a partir de *C. agassizii* contra el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 4. Secuencia homóloga a *mamB*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en *C. agassizii*.
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.

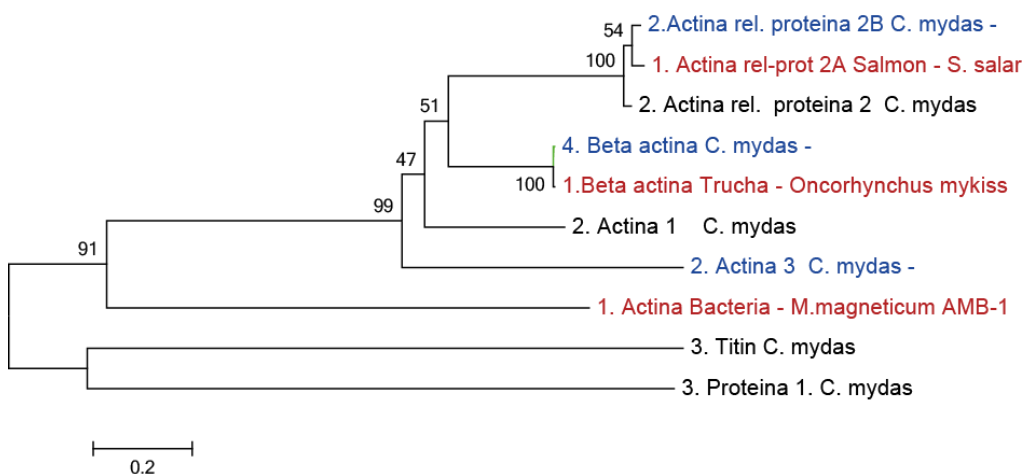


Figura 26. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamK*. Las especies de referencia se muestran en rojo, las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul y la secuencia con la cual se identificó el gen homólogo a *mamK* en *C. agassizii* se señala en verde.

C. Gen *mamN*.

El análisis de similitud para el gen *mamN* se compone por secuencias homólogas de diferentes especies, la tortuga verde o negra (*C. mydas*), ballena gris (*Eschrichtius robustus*), paloma (*Columba livia*) y la bacteria magnetotáctica *M. magneticum* AMB-1. La identificación y selección de secuencias se realizó de la siguiente manera: en primer lugar se localizaron dentro del árbol las ramas que corresponden a las especies de referencia, bacteria (*M. magneticum* AMB-1), ballena gris (*E. robustus*) y paloma (*C. livia*), las cuales están soportadas con porcentajes de bootstrap de 62 y 100 respectivamente, posteriormente se localizó la secuencia homóloga a *mamN*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en la tortuga negra *C. agassizii* (intercambiador de Na⁺/H⁺), el cual está formando un clado con ubiquitina hidrolasa carboxilo terminal, dicho clado se encuentra distante de las especies de referencia por lo que no fue considerado para selección de secuencias para el diseño de oligonucleótidos, finalmente se seleccionaron las secuencias proteína P la cual es muy similar a la bacteria, el factor 2 y la proteína UY3 son los más cercanos a las especies de referencia (paloma y ballena), lo que significa que son más similar a ambas especies de acuerdo al arreglo de las ramas observado. La rama intermedia correspondiente a la proteína c12 fue descartada ya que no cumplía con los parámetros requeridos (% identidad, tamaño y % cuerto de la secuencia) para ser considerada. Ver figura 27.

1. Especies magnetoceptivas de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 3. Blastp de la secuencia del fragmento de ADN obtenido por PCR a partir de *C. agassizii* contra el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 4. Secuencia homóloga a *mamB*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en *C. agassizii*.
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.



Figura 27. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamN*. Las especies de referencia se muestran en rojo, las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul y la secuencia con la cual se identificó el gen homólogo a *mamN* en *C. agassizii* se señala en verde.

Con formato: Español (México)
 Con formato: Español (México)

D. Gen *mamO*.

El análisis de similitud para el gen *mamO* se compone por secuencias homólogas de diferentes especies, la tortuga verde o negra (*C. mydas*), abeja (*Apis mellifera*), salmón (*Salmo salar*) y la bacteria magnetotáctica de referencia *M. magneticum* AMB-1. La identificación y selección de secuencias se realizó de la siguiente manera: en primer lugar se localizaron dentro del árbol las ramas que corresponden a las especies de referencia, bacteria (*M. magneticum* AMB-1), abeja (*A. mellifera*), salmón (*S. salar*), las cuales están soportadas con porcentajes de bootstrap de 37, 27 y 100 respectivamente, posteriormente se localizó y se seleccionó la secuencia homóloga a *mamO*, con la cual se identificó

la secuencia parcial amplificada en la tortuga negra *C. agassizii* (Serina proteasa HTR1), el cual está formando un clado con el salmón, lo que significa que es más similar a esta especie, que al resto de las secuencias, finalmente se seleccionaron las secuencias más cercanas a abeja (serin proteasa HTR2) y a la bacteria (proteína Rho) que presentaron mayor porcentaje de similitud de acuerdo al arreglo de las ramas observado. Ver figura 28.

1. Especies magnetoceptivas de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 3. Blastp de la secuencia del fragmento de ADN obtenido por PCR a partir de *C. agassizii* contra el genoma de la tortuga *C. mydas* (*taxid: 8469*).
 4. Secuencia homóloga a *mamB*, con la cual se identificó la secuencia parcial amplificada en *C. agassizii*.
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.

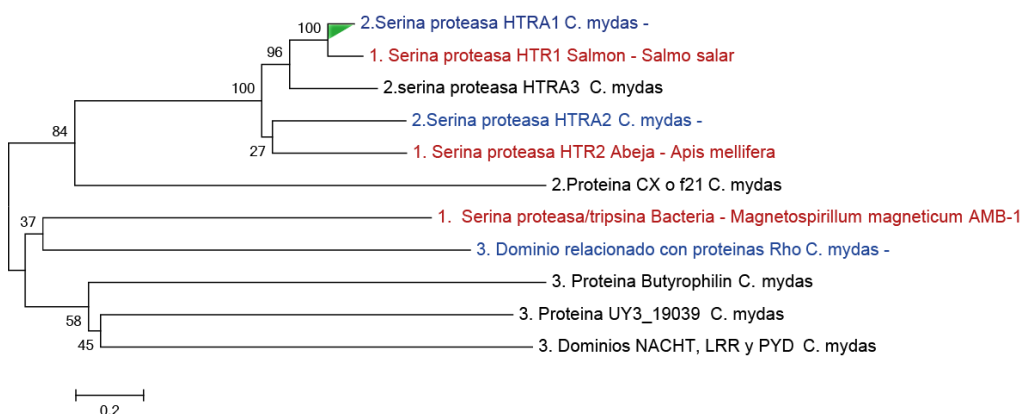


Figura 28. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamO*. Las especies de referencia se muestran en rojo, las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul y la secuencia con la cual se identificó el gen homólogo a *mamO* en *C. agassizii* se señala en verde.

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

E. Gen *mamH*.

El análisis de similitud para el gene *mamH* se compone por secuencias homólogas de la tortuga verde o negra (*C. mydas*) y la bacteria magnetotáctica de referencia *M. magneticum* AMB-1. Para seleccionar las secuencias para el diseño de oligonucleótidos, se localizo dentro del árbol la rama que corresponde a la especie de referencia (*M. magneticum* AMB-1, soportada por 53% de bootstrap, posteriormente se localizaron las 2 secuencias más cercanas a la bacteria donde el clado que incluye al transportador vesicular amino y transportador de solutos, soportado por 82% de bootstrap, presentaron mayor porcentaje de similitud con respecto a la bacteria de acuerdo al arreglo de las ramas observado. Ver figura 29.

1. Especie magnetoceptiva de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (taxid: 8469).
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.



Figura 29. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamH*. La especie de referencia se muestra en rojo y las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul.

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

F. Gen *mamM*.

El análisis de similitud para el gene *mamM* se compone por secuencias homólogas de la tortuga verde o negra (*C. mydas*) y la bacteria magnetotáctica de referencia *M. magneticum* AMB-1. Para seleccionar las secuencias para el diseño de oligonucleótidos, se localizó dentro del árbol la rama que corresponde a la especie de referencia (*M. magneticum* AMB-1, soportada por 64% de bootstrap. En este caso en particular solo se seleccionó una secuencia para el diseño de oligonucleótidos para RT-qPCR, el criterio de selección siempre fue la secuencia más cercana a la especie de referencia, sin embargo este gen es homólogo a *mamB*, por lo que comparten secuencias entre si, reduciendo la posibilidad de seleccionar la secuencia más cercana a la especie de referencia, en este caso se seleccionó el transportador 8 ya que fue el mas cercano a la bacteria después de las secuencias compartidas por *mamB*, este clado esta soportado por 100% de bootstrap. Ver figura 30.

1. Especie magnetoceptiva de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (*taxid: 8469*).
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.

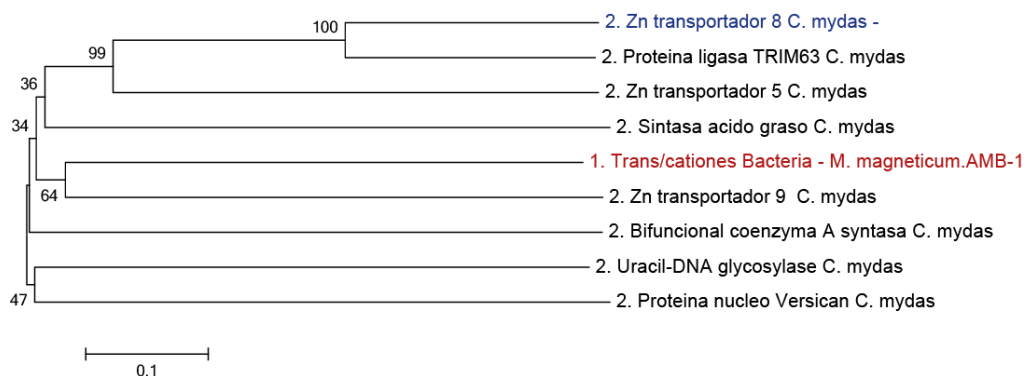


Figura 30. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamM*. La especie de referencia se muestra en rojo, la secuencia seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestra en azul.

Con formato: Español (México)

G. Gen *mamA*.

El análisis de similitud para el gene *mamA* se compone por secuencias homólogas de la tortuga verde o negra (*C. mydas*) y la bacteria magnetotáctica de referencia *M. magneticum* AMB-1. Para seleccionar las secuencias para el diseño de oligonucleótidos, se localizó dentro del árbol la rama que corresponde a la especie de referencia (*M. magneticum* AMB-1, soportada por 72% de bootstrap, posteriormente se localizaron las 2 secuencias más cercanas a la bacteria TRP proteína 6 y TRP proteína alfa soportado por 72 y 93 % de bootstrap, presentaron mayor porcentaje de similitud con respecto a la bacteria de acuerdo al arreglo de las ramas observado. Ver figura. 31.

1. Especie magnetoceptiva de referencia.
 2. Blastp del gen *mam* de la bacteria *M. magneticum* AMB-1 con el genoma de la *C. mydas* (taxid: 8469).
- Secuencias seleccionadas para el diseño oligonucleótidos para RT-qPCR.

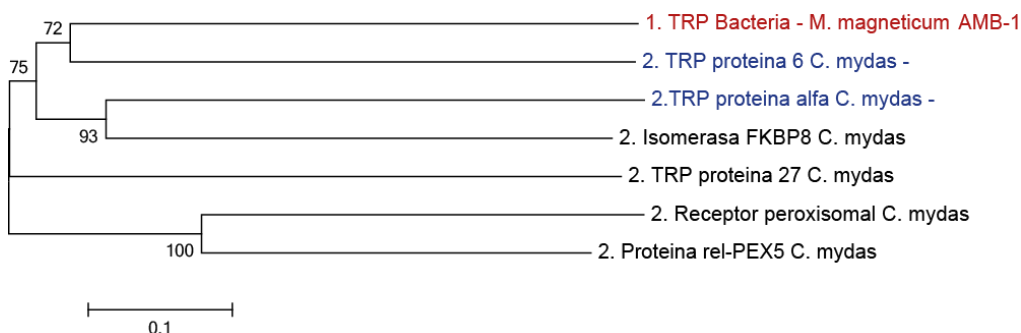


Figura 31. Árbol filogenético tipo Neighbor-Joining para las secuencias de proteínas homólogas a *mamA*. La especie de referencia se muestra en rojo y las secuencias seleccionadas para el diseño de oligonucleótidos se muestran en azul.

Con formato: Español (México)

Con formato: Español (México)

Las representaciones gráficas de las matrices pareadas de las secuencias de aminoácidos de los diferentes genes, obtenidas mediante el método de Neighbor-Joining, en la mayoría de los clados de las 1000 repeticiones realizadas en todos los análisis, la bacteria siempre se ubicó en los clados internos a excepción de

mamO, mientras que las especies magnetoceptivas de referencia variaron su ubicación en el centro y los extremos, se seleccionaron las secuencias que presentaban valores de bootstrap mayor o igual a 50%, a excepción de mamB, K y O que en algunos casos presentaron valores menores a 50%, este valor nos indica que tan confiable es el agrupamiento del clado en cuestión. Este análisis es el primer trabajo en cuestiones de agrupación por similitud de genes asociados a la síntesis de magnetita en diferentes especies capaces de sentir el campo magnético terrestre, por lo que se espera que sea la base para análisis similares en otras especies.

7.2. Expresión de genes mam de *C. agassizii* por RT-qPCR.

El análisis preliminar de expresión se realizó para uno de los 20 genes de *C. agassizii*, en este caso se realizó para el gen *mamA*, a partir de una muestra de RNAm aislado de ojo y musculo de una tortuga de 3 meses de edad. Los resultados muestran expresión en ambos tejidos para el gen constitutivo Lumican, empleado como control positivo y *mamA* (Tabla 9).

Tabla 13. Ciclo de amplificación de los genes analizados.

Nombre	Ct	
	Ojo	Musculo
Lumican	33.18	30
<i>mamA</i>	33.96	37.08

La expresión de Lumican en ojo y musculo de una tortuga de 3 meses de edad se observó en ambos tejidos, se puede apreciar que en musculo presenta ciclo de amplificación temprano en relación al ciclo de amplificación en ojo, ambos ciclos de amplificación deberían ser muy similares debido a que Lumican está involucrado en la regulación de la organización de fibrillas de colágeno y el crecimiento circunferencial, córnea transparencia y la migración de las células epiteliales y la reparación de tejidos en el cuerpo del animal. Por otra parte, la

expresión del gen *mamA* en el ojo de *C. agassizii* presenta ciclo de amplificación temprano en relación al ciclo de amplificación en musculo lo que sugiere una expresión preferencial en el ojo de la tortuga negra.

Cabe mencionar que estos resultados son preliminares para poder calcular las eficiencias de amplificación de cada uno de los genes en los tejidos mencionados, para poder constatar que en la expresión de *mamA* es diferencial y específica de ojo.

Gen Lumican.

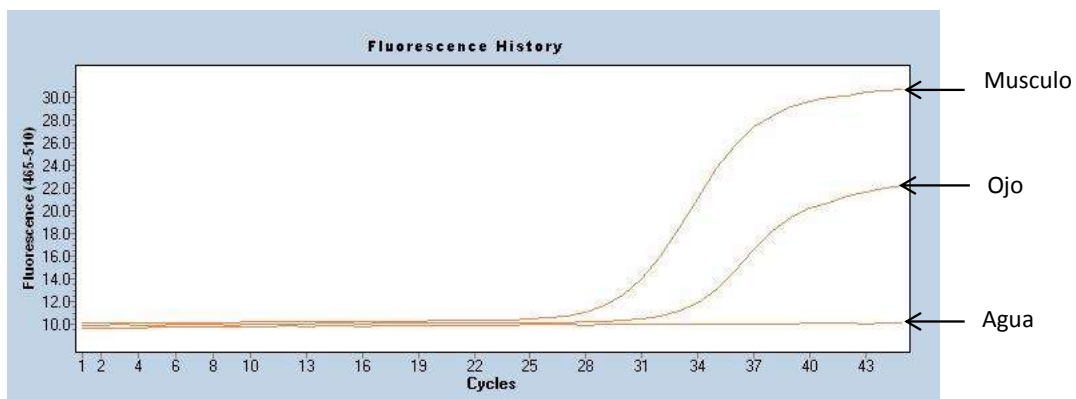


Figura 32. Representación de los ciclos de amplificación para el gene Lumican en *C. agassizii*.

Gen *mamA*.

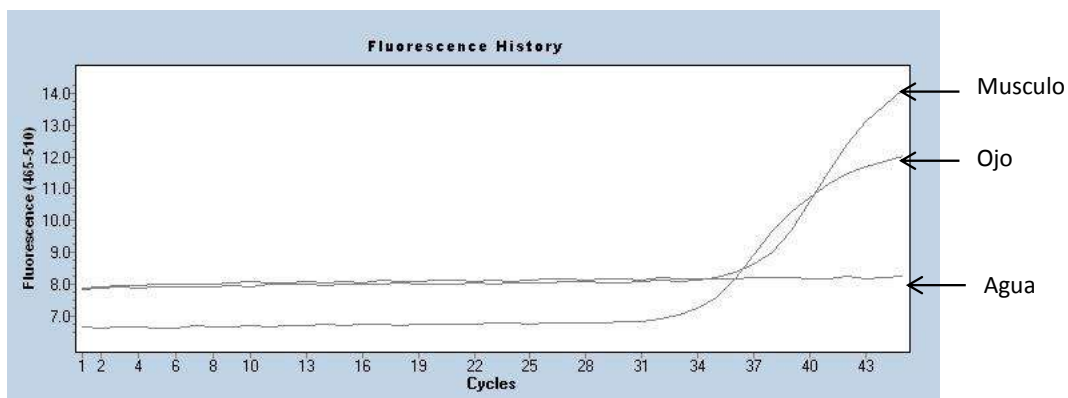


Figura 33. Representación de los Ciclos de amplificación para el gene *mamA* en *C. agassizii*.

VIII. CONCLUSIONES

- Se diseñaron y se probaron oligonucleótidos específicos de los genes *mam* de *C. agassizii* para análisis de expresión por RT-qPCR.
- El gene *mamA* de *C. agassizii* se expresó tanto en ojo como en musculo siendo incrementada su expresión en ojo

IX. PERSPECTIVAS

El presente trabajo revela una serie de estudios preliminares, los cuales serán las bases para futuras investigaciones. El análisis de expresión de dichos genes en ojo de tortuga negra y la localización inmunohistoquímica empleando anticuerpos de reconocimiento para las proteínas *mam* relacionadas con la biomneralización.

X. LITERATURA CITADA

Bay J and Walker M. 2010. LENSscience Senior Biology Seminar Series, Magnetic Sense. National research centre for growth and development. University of Auckland New Zealand.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Blakemore R. P. 1975. Magnetotactic Bacteria. Science 190:377-379.

Coles, W.C. 1999. Aspects of the biology of sea turtles in the mid Atlantic bight. Doctor of Philosophy Dissertation, Faculty of the School of Marine Science. The College of William and Mary, Virginia USA.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Cuiríz-Ríos Z. 2010. Ubicación de sitios con presencia de magnetita en elementos cefálicos de *Chelonia agassizii*, mediante imágenes por resonancia de alta resolución. 2010. Bachelor of Science Dissertation, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán México.

Diebel C.E., Proksch R., Greenk C. R., Neilson P., Walker M., 2000. Magnetite defines a vertebrate magnetoreceptor. Nature. Vol. 406.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Eder S., Cadioub H., Muhamad A., McNaughtonb P., Kirschvinkc J. L. and Winklhofer M. 2012. Magnetic characterization of isolated candidate vertebrate magnetoreceptor cells. pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1205653109.

Falkenberg G, Fleissner G, Schuchardt K, Kuehbacher M, Thalau P, et al. 2010. Avian Magnetoreception: Elaborate Iron Mineral Containing Dendrites in the Upper Beak Seem to Be a Common Feature of Birds. PLoS ONE 5(2): e9231. doi:10.1371/journal.pone.0009231

Fleissner G., Stahl B., Thalau P., Falkenberg G., Fleissner G. 2007. A novel concept of Fe-mineral-based magnetoreception: histological and physicochemical data from the upper beak of homing pigeons. Naturwissenschaften 94:631–642.

Fuentes F. A. L. 2008. Magnetorecepcion en *Chelonia agassizii*. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 130 pp.

Fuentes-Farías A.L., Gutiérrez-Ospina G., Meléndez-Herrera E., Camarena-Ramírez V., Ochoa-Tovar G., Mendoza-Torreblanca J., Martínez-Méndez R., Urrutia-Fucugauchi J., Báez-Saldaña A. y García Zepeda M.L. 2011

Marine turtle hatchlings use multiple sensory cues to orient their crawling towards the sea: Biological and Conservation Policy Implications. a, *Adv. Biosci. Biotech.* 1(2) 47-51.

Fuentes-Farías A.L., Gutiérrez-Ospina G., Meléndez-Herrera E., Camarena-Ramírez V., Ochoa-Tovar G., Mendoza-Torreblanca J., Martínez-Méndez R., Urrutia-Fucugauchi J., Báez-Saldaña A. y García Zepeda M.L. 2011 Marine turtle hatchlings use multiple sensory cues to orient their crawling towards the sea: Biological and Conservation Policy Implications. a, *Adv. Biosci. Biotech.* 1(2) 47-51.

Con formato: Español (México)

González-Cárdenas L. F. 2010. Localización inmunohistoquímica de *c-fos* en grupos de neuronas responsivas a estímulos magnéticos en la tortuga marina *Lepidochelys olivácea*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán México. 41 pp.

Hidalgo-Tobón, S.S., Bencsik, M. & Bowtell, R. 2011. Reducing peripheral nerve stimulation due to gradient switching using an additional uniform field coil. *Magn. Reson. Med.* 66, 1498-1509

Hsu C. Y, Chan Y-P. 2011. Identification and Localization of Proteins Associated with Biomineralization in the Iron Deposition Vesicles of Honeybees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE* 6(4): e19088. doi:10.1371/journal.pone.0019088

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Kirschvink J. L., Walker M., y Diebel C.E. 2001. Magnetite based magnetoreception. *Curr. Opin. Neurobiol.* (11): 462-467.

Kramer G. 1953, Wird die Sonnenhöhe bei der Heimfindeorientierung verwertet? *J Ornith* 94: 201-219

Liedvogel, M. Kiminori M., Henbest K., Scheilcher E., Simon T., Timmel C.R., Hore P.J. Mouritsen H. 2007. Chemical magnetoreception: bird cryptochrome 1a is excited by blue light and forms long-lived radical-pairs. *PLoS One* 2, e1106.

Lohmann K. J. and C. M. F. Lohmann 1994. Acquisition of magnetic directional preference in hatchling Loggerhead sea turtles. *J. Exp. Biol.* 190: 1–8.

Lohmann K. J., and C. M. F. Lohmann 1996. Orientation and open-sea navigation in sea turtles. *Journal of Experimental Biology.* 199: 73-81.

Luschi P., S. Benhamou, C. Girard, S. Ciccione, D. Roos, J. Sudre, and S. Benvenuti. 2007, Marine Turtles Use Geomagnetic Cues during Open-Sea Homing. *Current Biology* 17: 126–133. DOI 10.1016/j.cub.2006.11.062.

Meléndez-Herrera E., Arenas-Alatorre J., Hidalgo-Tobón S. S., Manjarrez E., Contreras-García I. J., Cuiríz-Ríos Z., Herrera-May A. L., Phillips-Farfán B., Trejo-Valdiviezo I., Rodríguez A. O., Urrutia-Fucugauchi J., Solís S., Kraft J., Gutiérrez-Ospina G., Fuentes-Farías A. L. 2014. Magnetoperception in marine turtles: Looking beyond behavior. En preparacion.

Mouritsen H., Janssen-Bienhold U., Liedvogel M., Feenders G., Stalleicken J., Dirks P and Weiler R. 2004. Cryptochromes and neuronal-activity markers colocalize in the retina of migratory birds during magnetic orientation. *PNAS*.14294–14299. Vol. 101. No. 39.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Español (México)

Murat D., Quinlan A., Valic H., Komeili A. 2010. Comprehensive genetic dissection of the magnetosome gene island reveals the step-wise assembly of a prokaryotic organelle. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 5593–5598

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Perry, A., Bauer, G. B. & Dizon, A. E. 1985. Magnetoreception and biomineralization of magnetite in amphibians and reptiles. In *Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms: A New Biomagnetism* (ed. J. L. Kirschvink, D. S. Jones & B. J. MacFadden), pp. 439-453. New York, London: Plenum Press.

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Quinlan A., Murat D., Vali H., Komeili A. 2011. The HtrA/DegP family protease MamE is a bifunctional protein with roles in magnetosome protein localization and magnetite biomineralization. *Mol Microbiol* 80: 1075-1087

Ritz, T., S. Adem, and K. Schulten. 2000. Model for Photoreceptor-Based Magnetoreception in Birds *Biophys. J.* 78, 707–718.

Timmel, C. R. and Henbest, K. B. 2004. Study of spin chemistry in weak magnetic fields. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 362: 2573–2589.

Walker, M.M., T.E. Dennis, and J. L. Kirschvink 2002, the magnetic sense and its use in long-distance navigation by animals. *Curr. Opin. Neurobiol.* 12:735-744.

Wegner R. E., Begall S and Burda H. 2006. Magnetic compass in the cornea: local anaesthesia impairs orientation in a mammal. *The Journal of Experimental Biology* 209, 4747-4750.

Wiltschko R., Gehring D., Denzau S., Güntürkün O., Wiltschko W. 2010.

Con formato: Inglés (Estados Unid

Interaction of magnetite-based receptors in the beak with the visual system underlying 'fixed direction' responses in birds. *Frontiers in Zoology*, 7:24

Wiltschko R., Stapput K., Bischof H-J and Wiltschko W. 2007. Light-dependent magnetoreception in birds: increasing intensity of monochromatic light changes the nature of the response. *Frontiers in Zoology* 2007, 4:5.

Zapka, M. Heyers D, Hein CM, Engels S, Schneider NL, Hans J, Weiler S, Dreyer D, Kishkinev D, Wild JM, Mouritsen H. 2009. Visual but not trigeminal mediation of magnetic compass information in a migratory bird. *Nature* 461, 1274-7.

XI. ANEXOS

Anexo 1. *mamB*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid:342108*).

No. acceso	Descripción	aminoácidos	% cubierto	% identidad
YP_423229	hypothetical protein amb3866 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705486 ref WP_011386220.1 membrane protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947806 dbj BAE52670.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	684	47	47
YP_421303	hypothetical protein amb1940 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 83311817 ref YP_422081.1 hypothetical protein amb2718 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703609 ref WP_011384343.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945880 dbj BAE50744.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 82946658 dbj BAE51522.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	91	55	34
YP_419510	tRNA and rRNA cytosine-C5-methylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499701860 ref WP_011382594.1 MFS transporter [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944087 dbj BAE48951.1 tRNA and rRNA cytosine-C5-methylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	431	18	57
YP_422147	NADH dehydrogenase subunit D [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704428 ref WP_011385162.1 NADH dehydrogenase subunit D	392	39	46

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

	[Magnetospirillum magneticum] >gi 123541539 sp Q2W317.1 NUOD_M AGMM RecName: Full=NADH-quinone oxidoreductase subunit D; AltName: Full=NADH dehydrogenase I subunit D; AltName: Full=NDH-1 subunit D >gi 82946724 dbj BAE51588.1 NADH:ubiquinone oxidoreductase 49 kD subunit 7 [Magnetospirillum magneticum AMB-1]			
YP_421656	Signal transduction histidine kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703957 ref WP_011384691.1 histidine kinase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946233 dbj BAE51097.1 Signal transduction histidine kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	1196	31	50
YP_419377	ammonia permease [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499701728 ref WP_011382462.1 ammonia channel protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82943954 dbj BAE48818.1 Ammonia permease [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	449	23	66
YP_422496	elongation factor G [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704766 ref WP_011385500.1 elongation factor G [Magnetospirillum magneticum] >gi 119368739 sp Q2W218.1 EFG_MAGMM RecName: Full=Elongation factor G; Short=EF-G >gi 82947073 dbj BAE51937.1 Translation elongation factor [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	694	39	46
YP_419892	glycosyltransferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702238 ref WP_011382972.1 glycosyl transferase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944469 dbj BAE49333.1 4-	520	71	29

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	amino-4-deoxy-L-arabinose transferase and related glycosyltransferase of PMT family [Magnetospirillum magneticum AMB-1]			
--	---	--	--	--

Anexo 2. *mamB*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (taxid: 8469).

No. acceso	Descripción	aminoácidos	% cubierto	% identidad
EMP36535	Zinc transporter 5 [<i>Chelonia mydas</i>]	677	18	100
EMP33600	hypothetical protein UY3_09311, partial [<i>Chelonia mydas</i>]	442	59	62
EMP29191	Plectin [<i>Chelonia mydas</i>]	4263	35	75
EMP32092	Palmitoyltransferase ZDHHC9 [<i>Chelonia mydas</i>]	409	16	100
EMP32224	Sorbin and SH3 domain-containing protein 2 [<i>Chelonia mydas</i>]	1860	29	100
EMP29829	Ancient ubiquitous protein 1 [<i>Chelonia mydas</i>]	434	37	100
EMP26120	Putative E3 ubiquitin-protein ligase HERC1 [<i>Chelonia mydas</i>]	3262	27	100
EMP34462	Laminin subunit gamma-1, partial [<i>Chelonia mydas</i>]	1552	27	80
EMP33233	Kinesin-like protein KIF3B [<i>Chelonia mydas</i>]	2216	27	100
EMP30329	Cation-independent mannose-6-phosphate receptor [<i>Chelonia mydas</i>]	2323	51	71
EMP36965	Keratin, type II cytoskeletal 8 [<i>Chelonia mydas</i>]	472	32	71
EMP33051	Equilibrative nucleoside transporter 4 [<i>Chelonia mydas</i>]	693	24	71
EMP29526	Contactin-associated protein-like 4 [<i>Chelonia mydas</i>]	988	29	80

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP29416	Deleted in lung and esophageal cancer protein 1 [Chelonia mydas]	1533	16	100
EMP24164	ATP-binding cassette sub-family A member 7 [Chelonia mydas]	2049	43	71
EMP26366	Titin, partial [Chelonia mydas]	34967	32	100
EMP37361	Homeobox protein GBX-2 [Chelonia mydas]	247	21	87
EMP40483	Keratin, type I cytoskeletal 42 [Chelonia mydas]	456	24	100
EMP32055	Mothers against decapentaplegic like protein 4 [Chelonia mydas]	494	21	77
EMP36517	Peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1, partial [Chelonia mydas]	573	43	44
EMP27777	Vinexin [Chelonia mydas]	651	29	63
EMP28632	PAS domain-containing serine/threonine-protein kinase [Chelonia mydas]	939	24	75
EMP39595	Cytosolic phospholipase A2 epsilon [Chelonia mydas]	1852	29	38
EMP41306	Putative G-protein coupled receptor 33 [Chelonia mydas]	472	16	100
EMP35637	Deoxyribonuclease gamma [Chelonia mydas]	766	32	100
EMP25120	Multifunctional protein ADE2 [Chelonia mydas]	895	27	100
EMP28360	hypothetical protein UY3_14542 [Chelonia mydas]	105	16	100
EMP35266	Urotensin-2 [Chelonia mydas]	126	21	75
EMP40075	hypothetical protein UY3_02706 [Chelonia mydas]	348	29	100

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP28018	▲ Forkhead box protein O1 [Chelonia mydas]	401	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP29845	▲ Nucleoporin-like protein 2 [Chelonia mydas]	414	29	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP29502	▲ hypothetical protein UY3_13390 [Chelonia mydas]	469	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP32185	Mitochondrial inner membrane protein, partial [Chelonia mydas]	732	21	83	
EMP35722	▲ PH-interacting protein, partial [Chelonia mydas]	1768	27	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP26119	Putative E3 ubiquitin-protein ligase HERC1 [Chelonia mydas]	2002	35	75	
EMP32952	▲ hypothetical protein UY3_09906 [Chelonia mydas]	2449	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25828	▲ FERM domain-containing protein 8 [Chelonia mydas]	68	21	75	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP35862	▲ hypothetical protein UY3_06966 [Chelonia mydas]	147	13	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP42072	▲ Rho guanine nucleotide exchange factor 5 [Chelonia mydas]	220	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP27591	▲ GATS-like protein 3 [Chelonia mydas]	288	16	83	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP27213	Cathepsin B [Chelonia mydas]	340	48	85	
EMP36969	▲ Keratin, type II cuticular Hb4 [Chelonia mydas]	425	18	87	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP37277	▲ hypothetical protein UY3_05514 [Chelonia mydas]	458	48	42	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP24241	▲ Ankyrin repeat domain-containing protein 24 [Chelonia mydas]	557	21	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP33930	▲ Nuclear receptor subfamily 4 group A member 3 [Chelonia mydas]	611	29	54	Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP28872	SH2B adapter protein 2, partial [Chelonia mydas]	668	18	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP36372	Protocadherin Fat 4 [Chelonia mydas]	2857	18	100	
EMP29801	Transcription factor 24 [Chelonia mydas]	136	27	60	
EMP42491	hypothetical protein UY3_00243 [Chelonia mydas]	222	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP29988	hypothetical protein UY3_12882 [Chelonia mydas]	237	16	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25526	Neurexin-3-alpha [Chelonia mydas]	318	16	100	
EMP31117	Connective tissue growth factor, partial [Chelonia mydas]	322	21	71	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP33156	RNA binding protein fox-1 like protein 2 [Chelonia mydas]	382	37	45	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP27605	Eomesodermin like protein [Chelonia mydas]	409	24	70	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP32009	Immune-responsive gene 1 protein like protein [Chelonia mydas]	431	18	85	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25544	Zinc finger and SCAN domain-containing protein 2 [Chelonia mydas]	527	21	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP40189	Arf-GAP with dual PH domain-containing protein 2 [Chelonia mydas]	687	13	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP36894	Mesothelin-like protein, partial [Chelonia mydas]	771	18	77	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP24111	Cartilage intermediate layer protein 2 [Chelonia mydas]	969	27	50	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP35601	Zinc finger X-linked protein ZXDB [Chelonia mydas]	994	29	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP36968	Keratin, type II cytoskeletal 75	1049	29	100	Con formato: Inglés (Estados Unid

	[Chelonia mydas]			
EMP31100	Regulator of chromosome condensation [Chelonia mydas]	1351	18	85
EMP24364	E3 ubiquitin-protein ligase HECW2 [Chelonia mydas]	1478	18	87
EMP37483	Protein ELYS [Chelonia mydas]	2984	21	85
EMP34624	Neurogenic locus notch like protein 1 [Chelonia mydas]	3791	18	100
EMP34486	Torsin-1A-interacting protein 1 [Chelonia mydas] >gi 465976885 gb EMP34487.1 Torsin-1A-interacting protein 1 [Chelonia mydas]	211	24	80
EMP28141	Palmitoyltransferase ZDHHC13 [Chelonia mydas]	215	24	100
EMP35462	Homeobox protein CDX-4 [Chelonia mydas]	265	29	63
EMP34488	Torsin-1A-interacting protein 2 [Chelonia mydas]	283	24	66
EMP32454	Myeloid-associated differentiation marker-like protein 2 [Chelonia mydas]	302	18	71
EMP33611	Olfactory receptor 10A4 [Chelonia mydas]	322	29	47
EMP32204	Sec1 family domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	403	18	100
EMP34978	Eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 1, partial [Chelonia mydas]	424	24	100
EMP33050	WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 2 [Chelonia mydas]	428	13	100
EMP36151	Piwi-like protein 4 [Chelonia mydas]	453	18	85

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP31132	Alpha-1,6-mannosyl-glycoprotein 2-beta-N-acetylglucosaminyltransferase [Chelonia mydas]	467	18	100
EMP24105	Hyaluronan and proteoglycan link protein 4 [Chelonia mydas]	493	13	100
EMP25208	Heparan-alpha-glucosaminide N-acetyltransferase [Chelonia mydas]	517	29	63
EMP24122	Occludin [Chelonia mydas]	527	32	85
EMP33677	GRAM domain-containing protein 1C [Chelonia mydas]	629	18	77
EMP39872	Cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 2 [Chelonia mydas]	751	40	83
EMP25622	Enhancer of filamentation 1, partial [Chelonia mydas]	831	13	100
EMP31306	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC3 [Chelonia mydas]	861	18	80
EMP27528	Sorting nexin-19 [Chelonia mydas]	908	16	83
EMP24810	X-linked retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein 1 [Chelonia mydas]	1064	13	100
EMP38109	Adenylate kinase isoenzyme 5 [Chelonia mydas]	1239	21	75
EMP35884	Arf-GAP with Rho-GAP domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 2 [Chelonia mydas]	1354	16	100
EMP27746	Iron-responsive element-binding protein 2, partial [Chelonia mydas]	1360	27	75
EMP33398	B-cell CLL/lymphoma 9-like protein [Chelonia mydas]	1453	27	77

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP33741	Histone deacetylase 5 [Chelonia mydas]	1499	35	100
EMP38574	hypothetical protein UY3_04218 [Chelonia mydas]	4878	27	100
EMP34576	Multivesicular body subunit 12B [Chelonia mydas]	136	18	71
EMP36899	Heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 6 [Chelonia mydas]	203	18	54
EMP23724	Syntaxin-8 [Chelonia mydas]	207	13	100
EMP41563	Homeobox protein Hox-A5, partial [Chelonia mydas]	270	32	100
EMP24349	UPF0565 protein C2orf69 [Chelonia mydas]	272	35	53
EMP27053	Beta-microseminoprotein [Chelonia mydas]	298	16	100
EMP33307	Forkhead box protein L2 [Chelonia mydas]	301	37	50
EMP36143	Mastermind-like protein 2 [Chelonia mydas]	319	16	83

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Anexo 3. mamK. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (taxid:342108).

No. acceso	Descripción	aminoácidos	% cubierto	% identidad
YP_420299	hypothetical protein amb0936 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702640 ref WP_011383374.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944876 dbj BAE49740.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	137	50	40
YP_420835	hypothetical protein amb1472 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703148 ref WP_011383882.1	317	24	50

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945412 dbj BAE50276.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_423804	chaperone protein DnaJ [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499706051 ref WP_011386785.1 molecular chaperone DnaJ [Magnetospirillum magneticum] >gi 123540317 sp Q2VYT0.1 DNAJ_MAGSA RecName: Full=Chaperone protein DnaJ >gi 82948381 dbj BAE53245.1 DnaJ-class molecular chaperone with C-terminal Zn finger domain [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	383	22	63	
YP_419627	hypothetical protein amb0264 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499701977 ref WP_011382711.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944204 dbj BAE49068.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	180	68	35	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_423761	soluble lytic murein transglycosylase and related regulatory protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499706009 ref WP_011386743.1 murein transglycosylase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948338 dbj BAE53202.1 Soluble lytic murein transglycosylase and related regulatory protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	609	72	36	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420592	hypothetical protein amb1229 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702907 ref WP_011383641.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945169 dbj BAE50033.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	303	57	20	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_421720	SPY protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704019 ref WP_011384753.1 SPY protein [Magnetospirillum magneticum]	798	66	34	Con formato: Inglés (Estados Unidos)

	>gi 82946297 dbj BAE51161.1 SPY protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_421158	arylsulfatase regulator [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703466 ref WP_011384200.1 radical SAM protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945735 dbj BAE50599.1 Arylsulfatase regulator [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	459	38	36	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_422279	peptide ABC transporter ATPase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704559 ref WP_011385293.1 ABC transporter ATP-binding protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946856 dbj BAE51720.1 ABC-type antimicrobial peptide transport system, ATPase component [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	225	28	50	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420589	adenylate cyclase 1 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702904 ref WP_011383638.1 adenylate cyclase 1 [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945166 dbj BAE50030.1 Adenylate cyclase 1 [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	713	22	63	
YP_423179	hypothetical protein amb3816 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705436 ref WP_011386170.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947756 dbj BAE52620.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	457	32	37	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420183	hypothetical protein amb0820 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702529 ref WP_011383263.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944760 dbj BAE49624.1 Hypothetical protein Rv2567/MT2643 [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	819	38	36	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420860	hypothetical protein amb1497	190	40	35	Con formato: Inglés (Estados Unidos)

	[Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703173 ref WP_011383907.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945437 dbj BAE50301.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_421250	hypothetical protein amb1887 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703558 ref WP_011384292.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945827 dbj BAE50691.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	91	48	32	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_423436	transcription elongation factor NusA [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705690 ref WP_011386424.1 transcription elongation factor NusA [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948013 dbj BAE52877.1 Transcription elongation factor [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	503	48	37	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_423748	DMT family permease [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705996 ref WP_011386730.1 multidrug DMT transporter permease [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948325 dbj BAE53189.1 Permease of the drug/metabolite transporter superfamily [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	297	86	26	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_423914	Protoheme ferro-lyase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499706161 ref WP_011386895.1 ferrochelatase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948491 dbj BAE53355.1 Protoheme ferro-lyase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	337	26	46	
YP_423571	hypothetical protein amb4208 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705823 ref WP_011386557.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948148 dbj BAE53012.1	453	52	30	Con formato: Inglés (Estados Unid

	Uncharacterized conserved protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_423920	hypothetical protein amb4557 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499706167 ref WP_011386901.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82948497 dbj BAE53361.1 Highly conserved protein containing a thioredoxin domain [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	671	46	39	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_422705	histidinol dehydrogenase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704968 ref WP_011385702.1 histidinol dehydrogenase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947282 dbj BAE52146.1 Histidinol dehydrogenase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	433	54	37	
YP_422603	hypothetical protein amb3240 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704871 ref WP_011385605.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947180 dbj BAE52044.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	101	48	32	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_422299	ATPase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704579 ref WP_011385313.1 ATPase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946876 dbj BAE51740.1 Predicted ATPase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	1979	46	26	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_419945	hypothetical protein amb0582 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702291 ref WP_011383025.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944522 dbj BAE49386.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	260	24	50	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_420678	enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702991 ref WP_011383725.1 enoyl-	259	32	44	

	CoA hydratase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945255 dbj BAE50119.1 Enoyl-CoA hydratase/carnithine racemase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_423168	putative pseudouridine synthase in lpd 3'region [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705425 ref WP_011386159.1 pseudouridine synthase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947745 dbj BAE52609.1 Hypothetical pseudouridine synthase in lpd 3'region [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	229	38	36	
YP_420148	phosphoenolpyruvate carboxykinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702494 ref WP_011383228.1 phosphoenolpyruvate carboxykinase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944725 dbj BAE49589.1 Phosphoenolpyruvate carboxykinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	617	22	63	
YP_419597	3-polyprenyl-4-hydroxybenzoate decarboxylase and related decarboxylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499701947 ref WP_011382681.1 3-polyprenyl-4-hydroxybenzoate decarboxylase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944174 dbj BAE49038.1 3-polyprenyl-4-hydroxybenzoate decarboxylase and related decarboxylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	504	30	40	
YP_420088	superfamily I DNA/RNA helicase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702434 ref WP_011383168.1 DNA helicase II [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944665 dbj BAE49529.1 Superfamily I DNA and RNA helicase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	864	50	32	Con formato: Inglés (Estados Unid
YP_420500	AraC-type DNA-binding domain-containing protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702816 ref WP_011383550.1 AraC-type DNA-binding domain-containing protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945077 dbj BAE49941.1 AraC-type	321	38	36	Con formato: Inglés (Estados Unid

	DNA-binding domain-containing protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]				
YP_422218	hypothetical protein amb2855 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704498 ref WP_011385232.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946795 dbj BAE51659.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	43	14	71	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420071	O-linked N-acetylglucosamine transferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702417 ref WP_011383151.1 O-linked N-acetylglucosamine transferase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944648 dbj BAE49512.1 Predicted O-linked N-acetylglucosamine transferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	758	50	32	
YP_423287	Mg ²⁺ /Co ²⁺ transporter [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705544 ref WP_011386278.1 membrane protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947864 dbj BAE52728.1 Putative Mg ²⁺ and Co ²⁺ transporter CorB [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	430	30	40	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420362	hypothetical protein amb0999 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702691 ref WP_011383425.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944939 dbj BAE49803.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	82	24	58	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_421340	ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport systems [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703646 ref WP_011384380.1 ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport systems [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945917 dbj BAE50781.1 ABC-type dipeptide/oligopeptide/nickel transport systems [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	207	56	36	Con formato: Inglés (Estados Unidos)

YP_421170	cation transport ATPase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703478 ref WP_011384212.1 cation transport ATPase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945747 dbj BAE50611.1 Cation transport ATPase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	735	16	62	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_421374	ABC-type sulfate transport system [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703680 ref WP_011384414.1 sulfate/thiosulfate transporter permease subunit [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945951 dbj BAE50815.1 ABC-type sulfate transport system [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	279	56	27	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420818	flavonol 3-sulfotransferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703131 ref WP_011383865.1 flavonol 3-sulfotransferase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945395 dbj BAE50259.1 Flavonol 3-sulfotransferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	280	52	30	
YP_420063	hypothetical protein amb0700 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702409 ref WP_011383143.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944640 dbj BAE49504.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	109	16	75	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
YP_420786	hypothetical protein amb1423 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703099 ref WP_011383833.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945363 dbj BAE50227.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	72	20	50	Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Anexo 4. *mamK*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (taxid: 8469).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
GU085695	Chelonia mydas anonymous locus TB01 genomic sequence	666	8	100
AY373753	Chelonia mydas beta-actin gene, partial cds	1078	10	88

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Anexo 5. mamN. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (taxid:342108).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
YP_420857	retron-type reverse transcriptase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703170 ref WP_011383904.1 reverse transcriptase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945434 dbj BAE50298.1 Retron-type reverse transcriptase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	470	47	36
YP_423798	4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499706045 ref WP_011386779.1 4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol kinase [Magnetospirillum magneticum] >gi 97053180 sp Q2VYT6.1 ISPE_MAGMM RecName: Full=4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase; Short=CMK; AltName: Full=4-(cytidine-5'-diphospho)-2-C-methyl-D-erythritol kinase >gi 82948375 dbj BAE53239.1 4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol 2-phosphate synthase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	285	24	52
YP_423099	cAMP-binding protein - catabolite gene activator and regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499705358 ref WP_011386092.1 cAMP-binding protein - catabolite gene activator and regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase [Magnetospirillum	232	40	34

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	magneticum] >gi 82947676 dbj BAE52540.1 cAMP-binding protein - catabolite gene activator and regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]			
YP_421684	dihydrolipoamide dehydrogenase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499703984 ref WP_011384718.1 dihydrolipoamide dehydrogenase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 82946261 dbj BAE51125.1 Pyruvate/2-oxoglutarate dehydrogenase complex, dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) component, and related enzyme [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	462	24	41
YP_420471	arginine/lysine/ornithine decarboxylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702787 ref WP_011383521.1 amino acid decarboxylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 82945048 dbj BAE49912.1 Arginine/lysine/ornithine decarboxylase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	783	18	46
YP_419884	glutamate synthase [NADPH] large chain precursor [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702230 ref WP_011382964.1 glutamate synthase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 82944461 dbj BAE49325.1 Glutamate synthase [NADPH] large chain precursor [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	1507	17	66
YP_422534	Pirin-related protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704802 ref WP_011385536.1 nuclease PIN [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 82947111 dbj BAE51975.1 Pirin-related protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	274	13	66
YP_422670	Pirin-related protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704934 ref WP_011385668.1	274	13	66

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

	nuclease PIN [Magnetospirillum magneticum] >gi 82947247 dbj BAE52111.1 Pirin-related protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]			
YP_422315	NifX protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704595 ref WP_011385329.1 NifX protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946892 dbj BAE51756.1 NifX protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	128	24	41
YP_420647	lysine 2,3-aminomutase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702962 ref WP_011383696.1 lysine 2,3-aminomutase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945224 dbj BAE50088.1 Lysine 2,3-aminomutase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	344	44	38
YP_419966	phosphatidylserine synthase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702312 ref WP_011383046.1 CDP-diacylglycerol--serine O-phosphatidyltransferase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944543 dbj BAE49407.1 Phosphatidylserine synthase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	264	18	53

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Anexo 6. *mamN*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (taxid: 8469).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
EMP30674	hypothetical protein UY3_12191 [Chelonia mydas]	210	31	68
EMP38585	Immunoglobulin superfamily member 1 [Chelonia mydas]	210	18	71
EMP24552	Lamin-B receptor [Chelonia mydas]	482	21	80

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

EMP36992	Putative methyltransferase NSUN6, partial [Chelonia mydas]	437	23	57
EMP41168	hypothetical protein UY3_01587 [Chelonia mydas]	243	18	69
EMP29876	G/T mismatch-specific thymine DNA glycosylase, partial [Chelonia mydas]	392	18	40
EMP36345	Amyloid beta A4 precursor protein-binding family B member 3 [Chelonia mydas]	491	23	50
EMP35361	Proto-oncogene DBL [Chelonia mydas]	1073	15	100
EMP26848	Putative cation-transporting ATPase 13A2 [Chelonia mydas]	1535	14	75
EMP24110	YjeF N-terminal domain-containing protein 3, partial [Chelonia mydas]	119	13	77
EMP29552	Amyloid beta A4 precursor protein-binding family B member 2, partial [Chelonia mydas]	154	31	37
EMP32084	Brain mitochondrial carrier protein 1 [Chelonia mydas]	285	20	57
EMP25649	Acyl-coenzyme A thioesterase 9 [Chelonia mydas]	365	17	66
EMP29624	tRNA pseudouridine synthase 3 [Chelonia mydas]	491	18	100
EMP37317	Protein CLEC16A [Chelonia mydas]	1088	13	100
EMP24048	DNA ligase 1 [Chelonia mydas]	1122	11	75
EMP24656	hypothetical protein UY3_18280 [Chelonia mydas]	219	15	80
EMP35755	Sodium/hydrogen exchanger 8 [Chelonia mydas]	590	14	75
EMP33848	Retinoic acid receptor alpha [Chelonia mydas]	230	11	100
EMP25713	hypothetical protein UY3_17216	305	17	80

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

		[Chelonia mydas]			
EMP38502		▲ Dapper like protein 2 [Chelonia mydas]	686	15	100
EMP29380		▲ Signal transducer and activator of transcription 6 [Chelonia mydas]	698	14	80
EMP26470		▲ hypothetical protein UY3_16457 [Chelonia mydas]	1078	34	100
EMP29979		▲ Protein turtle like protein A [Chelonia mydas]	1475	26	66
EMP38434		▲ Transcription factor SOX-14 [Chelonia mydas]	240	10	85
EMP39390		▲ Neuropeptide-like protein C4orf48 like protein [Chelonia mydas]	271	10	77
EMP36471		▲ Transcription factor SOX-2 [Chelonia mydas]	315	10	85
EMP34834		▲ Protein THEMIS, partial [Chelonia mydas]	506	11	75
EMP40179		Centrosomal protein of 95 kDa [Chelonia mydas]	738	10	100
EMP42042		▲ hypothetical protein UY3_00696 [Chelonia mydas]	763	23	100
EMP28414		Transmembrane protein 39B, partial [Chelonia mydas]	779	11	100
EMP27941		Extracellular matrix protein 1 [Chelonia mydas]	1139	11	75
EMP38804		▲ Interferon-induced very large GTPase 1 [Chelonia mydas]	1716	17	100
EMP38574		▲ hypothetical protein UY3_04218 [Chelonia mydas]	4878	14	100
EMP36317		▲ hypothetical protein UY3_06532 [Chelonia mydas]	316	13	60
EMP27834		▲ Ras and Rab interactor 3 [Chelonia mydas]	390	18	44

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP31730	hypothetical protein UY3_11146 [Chelonia mydas]	397	10	85
EMP30245	hypothetical protein UY3_12665 [Chelonia mydas]	495	14	60
EMP31323	Apolipoprotein A-I-binding protein [Chelonia mydas]	703	26	100
EMP31681	SEC23-interacting protein [Chelonia mydas]	758	8	100
EMP31385	Breast cancer anti-estrogen resistance protein 1 [Chelonia mydas]	862	23	100
EMP25771	Sodium/calcium exchanger 1 [Chelonia mydas]	886	13	80
EMP37635	Run domain Beclin-1 interacting and cystein-rich containing protein [Chelonia mydas]	954	17	100
EMP24522	ALK tyrosine kinase receptor, partial [Chelonia mydas]	1174	20	80
EMP36546	Inactive tyrosine-protein kinase 7 [Chelonia mydas]	1498	13	100
EMP42611	hypothetical protein UY3_00076, partial [Chelonia mydas]	2690	15	72
EMP37985	Immunoglobulin superfamily member 10 [Chelonia mydas]	2719	14	100
EMP29136	Fibrillin-1, partial [Chelonia mydas]	2812	13	100
EMP33091	MAPK-interacting and spindle-stabilizing protein-like protein, partial [Chelonia mydas]	240	15	61
EMP37386	Extracellular superoxide dismutase [Cu-Zn] [Chelonia mydas]	245	26	55
EMP36020	60S ribosomal protein L4 [Chelonia mydas]	283	7	100
EMP31740	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase [Chelonia mydas]	390	14	75

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP38019	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A like protein, partial [Chelonia mydas]	465	10	100
EMP30493	Zinc metalloproteinase-disintegrin VLAIP-A [Chelonia mydas]	687	20	64
EMP31131	DNA polymerase epsilon subunit 2 [Chelonia mydas]	745	15	66
EMP40766	Glutamate receptor delta-1 subunit, partial [Chelonia mydas]	750	18	44
EMP39093	Metabotropic glutamate receptor 1 [Chelonia mydas]	840	11	100
EMP31009	Spermatogenesis-associated serine-rich protein 2 [Chelonia mydas]	882	11	80
EMP27992	Thrombospondin-3 [Chelonia mydas]	967	13	75
EMP28897	DNA ligase 3 [Chelonia mydas]	997	10	100
EMP36968	Keratin, type II cytoskeletal 75 [Chelonia mydas]	1049	10	100
EMP42632	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 5-phosphatase 1, partial [Chelonia mydas]	1182	14	100
EMP33949	Methyl-CpG-binding domain protein 5 [Chelonia mydas]	1719	13	80
EMP28083	UPF0606 protein C11orf41 [Chelonia mydas]	1974	27	41
EMP24394	hypothetical protein UY3_18632 [Chelonia mydas]	123	15	52
EMP33097	hypothetical protein UY3_09757 [Chelonia mydas]	204	10	71
EMP42063	hypothetical protein UY3_00653 [Chelonia mydas]	271	15	100
EMP27713	hypothetical protein UY3_15188 [Chelonia mydas]	437	13	80
EMP41017	Cryptochrome-1 [Chelonia mydas]	530	17	83
EMP40309	Frizzled-10 [Chelonia mydas]	585	8	100

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP26738	G2/M phase-specific E3 ubiquitin-protein ligase [Chelonia mydas]	609	11	72
EMP38782	Cytosolic phospholipase A2, partial [Chelonia mydas]	711	18	61
EMP26837	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 7 [Chelonia mydas]	763	18	80
EMP26547	Glutamate [NMDA] receptor subunit zeta-1 [Chelonia mydas]	811	11	100
EMP26871	Exocyst complex component 3-like protein [Chelonia mydas]	860	24	100
EMP25892	hypothetical protein UY3_17026 [Chelonia mydas]	960	33	66
EMP38646	N-acetyl-beta-glucosaminyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylgalactosaminyltransferase 1, partial [Chelonia mydas]	1011	17	100
EMP39145	Phosphorylase b kinase regulatory subunit alpha, skeletal muscle isoform [Chelonia mydas]	1303	8	100
EMP30579	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP] [Chelonia mydas]	1892	18	100
EMP26150	Tudor domain-containing protein 6 [Chelonia mydas]	2132	10	100
EMP28003	GON-4-like protein [Chelonia mydas]	2314	10	87
EMP39798	Obscurin [Chelonia mydas]	7577	15	100
EMP39283	hypothetical protein UY3_03524 [Chelonia mydas]	118	8	83
EMP39419	hypothetical protein UY3_03360 [Chelonia mydas]	139	14	100
EMP27794	Putative protein C21orf63 like protein [Chelonia mydas]	155	20	50
EMP36274	60S ribosomal protein L13 [Chelonia mydas]	211	8	83

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP26589	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 H [Chelonia mydas]	217	11	77
EMP37253	Transmembrane protein 56 [Chelonia mydas]	229	21	60
EMP42523	hypothetical protein UY3_00207 [Chelonia mydas]	253	20	46
EMP33821	Transcription factor CP2-like protein 1 [Chelonia mydas]	343	14	42
EMP24239	SH2 domain-containing adapter protein D [Chelonia mydas]	385	15	61
EMP31285	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member E [Chelonia mydas]	390	13	100
EMP41367	Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 9 [Chelonia mydas]	407	14	72
EMP28970	Alpha-globin transcription factor CP2, partial [Chelonia mydas]	408	14	42
EMP32040	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase [Chelonia mydas]	435	15	63
EMP32840	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 5 [Chelonia mydas]	441	11	75
EMP36962	SPRY domain-containing protein 3 [Chelonia mydas]	452	17	75
EMP40864	RWD domain-containing protein 4 [Chelonia mydas]	474	20	100
EMP38283	Vitamin D 25-hydroxylase [Chelonia mydas]	492	20	45

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Anexo 7. *mamO*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con la bacteria *M. magneticum* AMB-1 (*taxid:342108*).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
------------	-------------	-------------	------------	-------------

YP_420449	hypothetical protein amb1086 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702765 ref WP_011383499.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum] >gi 82945026 dbj BAE49890.1 hypothetical protein [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	281	26	34
YP_422203	polyphosphate kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499704483 ref WP_011385217.1 polyphosphate kinase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82946780 dbj BAE51644.1 Polyphosphate kinase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	735	21	30
YP_420057	hypothetical protein amb0694 [Magnetospirillum magneticum AMB-1] >gi 499702403 ref WP_011383137.1 aminotransferase [Magnetospirillum magneticum] >gi 82944634 dbj BAE49498.1 Aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase [Magnetospirillum magneticum AMB-1]	424	12	35

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Anexo 8. MamO. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (taxid: 8469).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
EMP36090	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7 [Chelonia mydas]	597	8	100
EMP31670	Serine protease HTRA1	371	7	100

Con formato: Inglés (Estados Unid

	[Chelonia mydas]			
EMP38878	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 1, partial [Chelonia mydas]	1131	8	100
EMP31307	E3 SUMO-protein ligase PIAS3 [Chelonia mydas]	1614	6	100
EMP38401	Zinc finger matrin-type protein 3 [Chelonia mydas]	424	16	60
EMP28074	Estrogen receptor beta [Chelonia mydas]	483	10	100
EMP33538	Mucin-16 [Chelonia mydas]	1212	10	100
EMP32484	Nicotinate phosphoribosyltransferase [Chelonia mydas]	1281	10	100
EMP34429	hypothetical protein UY3_08404 [Chelonia mydas]	154	8	71
EMP33919	hypothetical protein UY3_08930 [Chelonia mydas]	357	12	80
EMP34137	RING finger protein 10 [Chelonia mydas]	749	8	100
EMP36209	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 18, partial [Chelonia mydas]	1169	6	100
EMP31380	WD repeat-containing protein 59 [Chelonia mydas]	1141	6	100
EMP40086	Kinesin-like protein KIF14 [Chelonia mydas]	1543	16	83
EMP25760	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 2 [Chelonia mydas]	396	8	52
EMP32100	NHS-like protein 2 [Chelonia mydas]	850	20	100
EMP30878	GEM-interacting protein [Chelonia mydas]	1125	16	100

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP42588	Thyroid adenoma-associated protein like protein [Chelonia mydas]	1618	7	100
EMP28692	hypothetical protein UY3_14205 [Chelonia mydas]	171	10	63
EMP34848	hypothetical protein UY3_07985 [Chelonia mydas]	263	8	83
EMP31726	NADH-cytochrome b5 reductase 3 [Chelonia mydas]	298	10	42
EMP39456	hypothetical protein UY3_03333 [Chelonia mydas]	616	13	100
EMP25354	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 3 [Chelonia mydas]	1050	9	100
EMP35131	Neural cell adhesion molecule 1, partial [Chelonia mydas]	1094	13	100
EMP24104	Neurocan core protein [Chelonia mydas]	1559	16	100
EMP24553	Dynein heavy chain 6, axonemal [Chelonia mydas]	3786	9	100
EMP36680	hypothetical protein UY3_06172 [Chelonia mydas]	180	5	66
EMP36791	POU domain, class 6, transcription factor 2 [Chelonia mydas]	254	10	100
EMP37886	Cell surface A33 antigen [Chelonia mydas]	289	19	100
EMP27722	hypothetical protein UY3_15197 [Chelonia mydas]	366	5	88
EMP39144	Bone morphogenetic protein 15 [Chelonia mydas]	400	8	100
EMP32818	Zinc transporter ZIP8 [Chelonia mydas]	496	6	100
EMP28669	Butyrophilin-like protein 1	509	14	44

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	[Chelonia mydas]			
EMP25339	Platelet-activating factor acetylhydrolase 2, cytoplasmic [Chelonia mydas]	522	8	66
EMP30918	ADP-ribosylation factor-binding protein GGA3, partial [Chelonia mydas]	709	7	72
EMP36545	Kinesin light chain 4 [Chelonia mydas]	866	9	80
EMP37334	DNA repair endonuclease XPF [Chelonia mydas]	959	7	100
EMP35486	StAR-related lipid transfer protein 13, partial [Chelonia mydas]	1063	11	100
EMP35410	THO complex subunit 2, partial [Chelonia mydas]	1491	16	100
EMP31445	Down syndrome cell adhesion molecule, partial [Chelonia mydas]	1840	6	100
EMP23972	Stabilin-2 [Chelonia mydas]	2002	7	100
EMP26660	DNA polymerase delta subunit 4 [Chelonia mydas]	128	7	80
EMP41806	Butyrophilin subfamily 1 member A1 [Chelonia mydas]	292	7	100
EMP30642	Neuronal pentraxin-2 [Chelonia mydas]	443	10	83
EMP39179	Testis-expressed sequence 11 protein [Chelonia mydas]	530	7	75
EMP25685	Gamma-taxilin [Chelonia mydas]	646	6	100
EMP42484	Olfactory receptor 52N4 [Chelonia mydas]	684	7	100
EMP40179	Centrosomal protein of 95 kDa [Chelonia mydas]	738	9	54
EMP37789	Serine/threonine-protein kinase	1001	6	100

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	TAO1 [Chelonia mydas]			
EMP34739	PHD and RING finger domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	1396	10	100
EMP40653	Putative protein C18orf63 [Chelonia mydas]	296	8	80
EMP34859	Zinc finger and SCAN domain-containing protein 20 [Chelonia mydas]	325	10	100
EMP31574	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5 [Chelonia mydas]	337	12	38
EMP25857	Syntaxin-5 [Chelonia mydas]	339	8	100
EMP37744	Rab effector Noc2 [Chelonia mydas]	347	7	100
EMP28093	Wilms tumor protein like protein B [Chelonia mydas]	353	10	100
EMP32405	Coiled-coil domain-containing protein 42 like protein [Chelonia mydas]	381	6	45
EMP32434	CDP-diacylglycerol--glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase [Chelonia mydas]	446	8	100
EMP30249	Bifunctional ATP-dependent dihydroxyacetone kinase/FAD-AMP lyase (cyclizing) [Chelonia mydas]	608	4	100
EMP40228	Microcephalin [Chelonia mydas]	723	5	100
EMP34748	Alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase A, partial [Chelonia mydas]	736	5	100
EMP27867	Alpha-tubulin N-acetyltransferase [Chelonia mydas]	834	6	100
EMP30855	Prolargin [Chelonia mydas]	1005	10	83

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP26875	Enhancer of mRNA-decapping protein 4 [Chelonia mydas]	1460	8	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP36079	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 [Chelonia mydas]	1941	8	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP34474	Voltage-dependent R-type calcium channel subunit alpha-1E [Chelonia mydas]	1979	15	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP37320	hypothetical protein UY3_05455 [Chelonia mydas]	2166	9	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP36699	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit [Chelonia mydas]	4085	14	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP26078	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 [Chelonia mydas]	143	6	47	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25718	hypothetical protein UY3_17199 [Chelonia mydas]	234	8	62	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP24033	hypothetical protein UY3_18904 [Chelonia mydas]	312	13	44	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP35417	hypothetical protein UY3_07380 [Chelonia mydas]	346	12	63	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP35224	Apoptosis-enhancing nuclease [Chelonia mydas]	418	8	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP37120	Tectonic-1 [Chelonia mydas]	572	8	100	
EMP31086	Synaptotagmin-like protein 1 [Chelonia mydas]	660	11	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP30362	hypothetical protein UY3_12515 [Chelonia mydas]	683	12	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP32379	UDP-N-acetylglucosamine/UDP-glucose/GDP-mannose transporter [Chelonia mydas]	731	7	66	
EMP27997	Potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 4 [Chelonia mydas]	877	11	100	Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP41255	▲ Nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 3 [Chelonia mydas]	1008	15	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25670	▲ Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15, partial [Chelonia mydas]	1043	10	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP42563	▲ RNA-binding protein 6, partial [Chelonia mydas]	1114	10	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP31449	▲ Interferon-induced GTP-binding protein Mx1, partial [Chelonia mydas]	1328	11	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP30169	▲ hypothetical protein UY3_12681 [Chelonia mydas]	1344	7	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP26255	▲ Collagen alpha-2(V) chain, partial [Chelonia mydas]	1439	5	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP24127	▲ hypothetical protein UY3_18764 [Chelonia mydas]	126	5	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP38288	Triosephosphate isomerase [Chelonia mydas]	149	8	58	
EMP36748	▲ hypothetical protein UY3_06069 [Chelonia mydas]	158	6	50	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP25502	▲ KRR1 small subunit processome component like protein [Chelonia mydas]	159	5	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP41012	▲ hypothetical protein UY3_01829 [Chelonia mydas]	172	8	55	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP32629	▲ Ig kappa chain V-III region HAH, partial [Chelonia mydas]	175	16	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP34430	▲ hypothetical protein UY3_08405 [Chelonia mydas]	177	6	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP35728	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit beta, partial [Chelonia mydas]	232	6	57	
EMP25873	▲ hypothetical protein UY3_17046 [Chelonia mydas]	252	7	100	Con formato: Inglés (Estados Unid

EMP23974	hypothetical protein UY3_18917 [Chelonia mydas]	273	14	80	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP33866	Hyaluronidase-1 [Chelonia mydas]	304	7	80	
EMP37768	hypothetical protein UY3_05051 [Chelonia mydas]	322	6	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP27023	Serologically defined colon cancer antigen 3 like protein [Chelonia mydas]	384	5	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP32399	Alpha-1-antiproteinase [Chelonia mydas]	431	6	83	
EMP29739	DnaJ like protein subfamily C member 3, partial [Chelonia mydas]	466	5	100	Con formato: Inglés (Estados Unid
EMP41197	Acetylcholine receptor subunit gamma [Chelonia mydas]	494	4	100	Con formato: Inglés (Estados Unid

Anexo 9. *mamA*. BlastP de la secuencia obtenida para *C. agassizii* con el genoma de la tortuga *C. mydas* (taxid: 8469).

No. acceso	Descripción	Nucleótidos	% cubierto	% identidad
EMP33955	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 20 [Chelonia mydas]	771	29	100
EMP34748	Alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase A, partial [Chelonia mydas]	736	23	100
EMP30629	Arf-GAP with dual PH domain-containing protein 1, partial [Chelonia mydas]	357	64	100
EMP30784	Atrial natriuretic peptide receptor 1 [Chelonia mydas]	745	58	100
EMP26385	Autophagy-related protein 13 [Chelonia mydas]	548	35	100
EMP25273	BAH and coiled-coil domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	1347	52	66
EMP31504	BCL-6 corepressor, partial	1732	41	80

	[Chelonia mydas]			
EMP28068	BTB/POZ domain-containing protein 6 [Chelonia mydas]	486	35	83
EMP28458	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit gamma [Chelonia mydas]	684	29	80
EMP27768	Chordin-like protein 2 [Chelonia mydas]	415	35	83
EMP23956	Complement C1s subcomponent [Chelonia mydas]	745	35	100
EMP42226	Cytoplasmic tRNA 2-thiolation protein 1 [Chelonia mydas]	538	29	80
EMP27061	Cytosolic endo-beta-N-acetylglucosaminidase, partial [Chelonia mydas]	689	35	66
EMP35996	DENN domain-containing protein 2C [Chelonia mydas]	1205	94	56
EMP41385	DEP domain-containing protein 1B [Chelonia mydas]	919	100	75
EMP38055	DNA polymerase zeta catalytic subunit [Chelonia mydas]	2900	47	100
EMP42185	Dedicator of cytokinesis protein 1 [Chelonia mydas]	892	64	63
EMP29834	Dedicator of cytokinesis protein 2 [Chelonia mydas]	969	64	63
EMP30497	Dedicator of cytokinesis protein 5 [Chelonia mydas]	1810	64	63
EMP31112	Discoidin, CUB and LCCL domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	788	29	100
EMP33877	Dynein heavy chain 1, axonemal [Chelonia mydas]	3949	29	80
EMP34266	Epiplakin [Chelonia mydas]	2908	23	100
EMP32049	Fibrillin-2 [Chelonia mydas]	2876	41	100
EMP32178	Fibroblast growth factor receptor-like 1 [Chelonia mydas]	339	23	100
EMP36860	G patch domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	1485	100	47
EMP40338	G protein-coupled receptor kinase 7 [Chelonia mydas]	761	41	71
EMP38539	Glutamine-rich protein 1 [Chelonia mydas]	605	35	66
EMP38793	Hemicentin-1 [Chelonia mydas]	2512	41	71
EMP35478	Hephaestin [Chelonia mydas]	1124	70	83
EMP40520	Histone-lysine N-methyltransferase EZH1 [Chelonia mydas]	789	58	60
EMP36183	Histone-lysine N-methyltransferase EZH2 [Chelonia mydas]	787	58	60

	[Chelonia mydas]			
EMP34785	Immunoglobulin superfamily member 3 [Chelonia mydas]	769	64	54
EMP40177	Importin subunit alpha-2 [Chelonia mydas]	529	41	85
EMP36961	Insulin-like growth factor-binding protein 6 [Chelonia mydas]	137	88	53
EMP38348	Integrin beta-5 [Chelonia mydas]	984	29	100
EMP34737	Interferon regulatory factor 3 [Chelonia mydas]	444	29	100
EMP38804	Interferon-induced very large GTPase 1 [Chelonia mydas]	1716	35	83
EMP27514	Intestinal-type alkaline phosphatase [Chelonia mydas]	433	47	62
EMP35292	Krev interaction trapped protein 1, partial [Chelonia mydas]	717	29	80
EMP24216	Lysine-specific demethylase 4B [Chelonia mydas]	1200	88	53
EMP42381	Major histocompatibility complex class I-related gene protein [Chelonia mydas]	276	35	83
EMP37646	Mannan-binding lectin serine protease 1 [Chelonia mydas]	928	29	80
EMP41528	Mannan-binding lectin serine protease 2 [Chelonia mydas]	728	147	100
EMP29578	Microtubule-associated protein 4 [Chelonia mydas]	2837	70	100
EMP24065	Myosin-Ixb [Chelonia mydas]	2575	47	100
EMP26237	Myosin-lb [Chelonia mydas]	864	70	50
EMP33533	Myosin-lf [Chelonia mydas]	1569	29	100
EMP28603	Myosin-VIIa [Chelonia mydas]	2132	52	55
EMP29858	NF-kappa-B inhibitor delta [Chelonia mydas]	391	35	83
EMP28273	NFX1-type zinc finger-containing protein 1 [Chelonia mydas]	1823	23	100
EMP30843	Neurofascin, partial [Chelonia mydas]	1314	88	100
EMP39012	Neuronal cell adhesion molecule [Chelonia mydas]	831	35	83
EMP37009	OTU domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	232	35	83
EMP34983	PHD finger protein 3 [Chelonia mydas]	2094	41	71
EMP36791	POU domain, class 6, transcription factor 2 [Chelonia mydas]	254	35	83
EMP38719	Potassium voltage-gated channel subfamily H member 7, partial [Chelonia mydas]	1039	23	100

EMP29061	Protein CEPU-1 [Chelonia mydas]	182	76	80
EMP26671	Protein EFR3 like protein A [Chelonia mydas]	601	47	100
EMP32576	Protein Jade-3 [Chelonia mydas]	1446	35	83
EMP29979	Protein turtle like protein A [Chelonia mydas]	1475	41	100
EMP34098	Putative G-protein coupled receptor 128 [Chelonia mydas]	1275	35	100
EMP39387	Putative histone-lysine N-methyltransferase NSD2 [Chelonia mydas]	1367	58	70
EMP30773	Putative protein C9orf84, partial [Chelonia mydas]	912	47	83
EMP27314	RING finger protein B [Chelonia mydas]	574	29	80
EMP32002	Ras-related GTP-binding protein A [Chelonia mydas]	308	23	100
EMP33475	Regulator of differentiation 1, partial [Chelonia mydas]	1600	23	100
EMP41278	Retinoblastoma-like protein 2 [Chelonia mydas]	850	29	80
EMP31150	Rho-associated protein kinase 1 [Chelonia mydas]	1749	47	75
EMP40430	Rho-related BTB domain-containing protein 1 [Chelonia mydas]	692	35	83
EMP26076	Serine/threonine-protein phosphatase 4 regulatory subunit 3B [Chelonia mydas]	800	58	60
EMP36126	Sodium channel protein type 5 subunit alpha [Chelonia mydas]	118	64	63
EMP39733	Sodium- and chloride-dependent GABA transporter 3 [Chelonia mydas]	271	35	83
EMP34224	Sonic hedgehog protein [Chelonia mydas]	235	47	71
EMP25815	Sorting nexin-15 [Chelonia mydas]	696	29	100
EMP27798	Sperm-associated antigen 16 protein, partial [Chelonia mydas]	272	70	100
EMP40573	Storkhead-box protein 1 [Chelonia mydas]	830	76	53
EMP31956	Sushi repeat-containing protein SRPX2 [Chelonia mydas]	462	29	100
EMP38798	TRMT1-like protein [Chelonia mydas]	788	70	66
EMP29055	Thymocyte nuclear protein 1 [Chelonia mydas]	175	29	100

EMP35585	Transmembrane and coiled-coil domains protein 1 [Chelonia mydas]	478	29	100
EMP37230	Transportin-2 [Chelonia mydas]	928	29	100
EMP36928	Trinucleotide repeat-containing gene 6A protein [Chelonia mydas]	1784	35	100
EMP40194	U3 small nucleolar RNA-associated protein 6 like protein [Chelonia mydas]	596	29	80
EMP31527	UPF0505 protein C16orf62 [Chelonia mydas]	1788	35	100
EMP33075	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 22-A [Chelonia mydas]	529	29	100
EMP42101	Zinc finger and BTB domain-containing protein 40 [Chelonia mydas]	1178	88	85
EMP28424	Zinc finger and BTB domain-containing protein 8B [Chelonia mydas]	479	58	70
EMP25351	Zinc finger protein 91 [Chelonia mydas]	1083	23	100
EMP40649	hypothetical protein UY3_02124 [Chelonia mydas]	1612	47	100
EMP38977	hypothetical protein UY3_03810 [Chelonia mydas]	854	100	47
EMP38574	hypothetical protein UY3_04218 [Chelonia mydas]	4878	35	83
EMP37904	hypothetical protein UY3_04886 [Chelonia mydas]	1089	88	60
EMP36999	hypothetical protein UY3_05804 [Chelonia mydas]	92	64	63
EMP35547	hypothetical protein UY3_07262 [Chelonia mydas]	101	29	80
EMP34783	hypothetical protein UY3_08058 [Chelonia mydas]	352	52	77
EMP33630	hypothetical protein UY3_09161 [Chelonia mydas]	2176	29	100
EMP33003	hypothetical protein UY3_09849 [Chelonia mydas]	234	64	63
EMP27792	hypothetical protein UY3_15113 [Chelonia mydas]	115	23	100
EMP26018	hypothetical protein UY3_16904 [Chelonia mydas]	184	64	54
EMP39035	von Willebrand factor A domain-containing protein 2 [Chelonia mydas]	624	29	100

Anexo 10. Secuencias empleadas para el análisis de similitud de cada uno de los 7 genes *mam* de *C. agassizii*.

Gen	Número de acceso	Numero de aminoácidos	Descripción (<i>Chelonia mydas</i>)	% de identidad
<i>mamB</i>	EMP25337	725	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM63	17
	EMP29143	504	Zinc transporter 4	17
	EMP36535	677	Zinc transporter 5	13
	EMP29708	275	Zinc transporter 8	18
	EMP37912	366	Zinc transporter 3	16
	EMP31173	320	Zinc transporter 10	12
	EMP26721	448	Zinc transporter 9, partial	13
	EMP37444	474	Zinc transporter 1	14
	EMP37481	384	Zinc transporter 6	10
	EMP33196	266	Zinc transporter 7	15
	EMP28717	226	Fat storage-inducing transmembrane protein 2	31
	EMP29735	233	hypothetical protein UY3_13104, partial	36
	EMP33458	823	SH3 and PX domain-containing protein 2B	40
	EMP27695	309	hypothetical protein UY3_15199	40
	EMP25605	434	Testin	29
	EMP35766	1123	Activity-dependent neuroprotector	38

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

			homeobox protein	
<i>mamK</i>	EMP32918	475	Actin-related protein 2	21
	EMP42566	394	Actin-3	22
	EMP39239	394	Actin-related protein 2-B	20
	EMP25944	377	Actin-1	19
	EMP25271	375	Actin, cytoplasmic 2	21
	EMP26366	34967	Titin, partial	30
	EMP31587	183	FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1	31
<i>mamN</i>	EMP32569	731	P protein, partial	26
	EMP42314	304	Peroxisome biogenesis factor 2, partial	24
	EMP31914	508	Sodium-coupled neutral amino acid transporter 2	48
	EMP38772	2426	Telomere-associated protein RIF1	35
	EMP24208	749	Scaffold attachment factor B1	51
	EMP24318	857	Neuropilin-2, partial	28
	EMP37650	402	Lipoma-preferred partner like protein	40
	EMP34791	1292	B-cell CLL/lymphoma 9 protein, partial	47
	EMP24359	1339	Splicing factor 3B subunit 1	37
	EMP41035	656	hypothetical protein UY3_01729	32
	EMP39511	928	Dynamin-2	50
	EMP28301	775	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase	50
	EMP34863	1413	Splicing factor 3A subunit 3	40
	EMP37715	1003	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 32	45
	EMP36335	196	Putative protein C12orf29 like protein	27
	EMP28793	743	Ras-interacting protein 1, partial	36
	EMP35544	838	E3 ubiquitin ligase RNF4, partial	35

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

Con formato: Inglés (Estados Unid

	EMP39944	1408	Coiled-coil and C2 domain-containing protein 2A	52	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
mamO	EMP29828	312	Serin protease HTRA2	25	
	EMP31670	371	Serin protease HTRA1	27	
	EMP38881	589	Putative serine protease HTRA3	27	
	EMP40027	309	Putative protein CXorf21 like protein	23	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
	EMP23903	431	hypothetical protein UY3_19039	31	
	EMP24872	517	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 1, partial	23	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
	EMP42421	637	Rho-related BTB domain-containing protein 1	41	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
	EMP28669	509	Butyrophilin-like protein 1	30	
mamH	EMP31700	457	Synaptic vesicular amine transporter	20	
	EMP33272	499	Major facilitator superfamily domain-containing protein 2A	34	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
	EMP30328	555	Solute carrier family 22 member 2	42	
	EMP34835	406	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase kappa	23	Con formato: Inglés (Estados Unidos)
	EMP28674	496	Sialin	23	
mamM	EMP29708	275	Zinc transporter 8	29	
	EMP26721	448	Zinc transporter 9	28	
	EMP25337	725	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM63	24	
	EMP37160	336	Uracil-DNA glycosylase	48	
	EMP36535	677	Zinc transporter 5	20	
	EMP40513	943	Bifunctional coenzyme A synthase	24	
	EMP32461	2497	Fatty acid synthase	25	
	EMP29546	3682	Versican core protein	32	
mamA	EMP24138	232	Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein alpha, partial	22	Con formato: Inglés (Estados Unidos)

	EMP30732	485	Tetratricopeptide repeat protein 6	27
	EMP23960	707	Peroxisomal targeting signal 1 receptor	27
	EMP36477	600	PEX5-related protein, partial	24
	EMP24085	444	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP8	30
	EMP24454	481	Tetratricopeptide repeat protein 27	22