



**FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA**

**ANÁLISIS DE LA FLUORESCENCIA Y SECUENCIAMIENTO DE LOS
TRANSGENES GFP Y RFP EN EL PEZ CEBRA (*Danio rerio*, Hamilton 1822)
PRESENTES EN LOS ACUARIOS DE LIMA METROPOLITANA**

Línea de investigación:

Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autor:

Fernández Flor, Darling Dirck

Asesora:

Gamero Collado, Betty Eliseni
ORCID: 0000-0002-6008-423X

Jurado:

Rodenas Seytuque, Pedro José
Blas Ramos, Walter Eduardo
Kostelac Roca, Juan Andrés

Lima - Perú

2024



ANÁLISIS DE LA FLUORESCENCIA Y SECUENCIAMIENTO DE LOS TRANSGENES GFP Y RFP EN EL PEZ CEBRA (Danio rerio, Hamilton 1822) PRESENTES EN LOS ACUARIOS DE LIMA METROPOLITANA

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

10%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	8%
2	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	4%
3	www.aulavirtualusmp.pe Fuente de Internet	2%
4	sisbib.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	www.testbiotech.org Fuente de Internet	1%
6	www.scielo.org.mx Fuente de Internet	<1%
7	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%

www.researchgate.net



**FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA**

**ANÁLISIS DE LA FLUORESCENCIA Y SECUENCIAMIENTO DE LOS
TRANSGENES GFP Y RFP EN EL PEZ CEBRA (*Danio rerio*, Hamilton 1822)
PRESENTES EN LOS ACUARIOS DE LIMA METROPOLITANA**

Línea de investigación:

Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autor:

Fernández Flor, Darling Dirck

Asesora:

Gamero Collado, Betty Eliseni

(ORCID: [0000-0002-6008-423X](https://orcid.org/0000-0002-6008-423X))

Jurado:

Rodenas Seytuque, Pedro José

Blas Ramos, Walter Eduardo

Kostelac Roca, Juan Andrés

Lima – Perú

2024

ÍNDICE

RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	3
1.2. Antecedentes.....	4
1.3. Objetivos.....	7
<i>1.3.1. Objetivo general.....</i>	<i>7</i>
<i>1.3.2. Objetivos específicos.....</i>	<i>7</i>
1.4. Justificación.....	7
1.5. Hipótesis.....	8
<i>1.5.1. Hipótesis nulas.....</i>	<i>8</i>
<i>1.5.2. Hipótesis alternativas.....</i>	<i>8</i>
II. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	9
<i>2.1.1. Genes de Fluorescencia.....</i>	<i>10</i>
<i>2.1.2. Peces transgénicos fluorescentes.....</i>	<i>10</i>
<i>2.1.3. Análisis de riesgos en peces ornamentales transgénicos.....</i>	<i>12</i>
III. MÉTODO.....	14
3.1. Tipo de investigación.....	14
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	14
<i>3.2.1. Ámbito temporal.....</i>	<i>14</i>
<i>3.2.2. Ámbito espacial.....</i>	<i>14</i>
3.3. Variables.....	15
<i>3.3.1. Variable independiente.....</i>	<i>15</i>
<i>3.3.2. Variable dependiente.....</i>	<i>15</i>
3.4. Población y muestra.....	15
<i>3.4.1. Población.....</i>	<i>15</i>
<i>3.4.2. Muestra.....</i>	<i>15</i>
3.5. Instrumentos.....	15
<i>3.5.1. Materiales de Bioseguridad.....</i>	<i>15</i>
<i>3.5.2. Material Biológico.....</i>	<i>15</i>
<i>3.5.3. Materiales de laboratorio.....</i>	<i>16</i>
<i>3.5.4. Reactivos.....</i>	<i>16</i>
<i>3.5.5. Equipos.....</i>	<i>16</i>

3.6. Procedimientos	17
3.6.1. Diseño de Primers	17
3.6.2. Técnica de recolección de datos	17
3.6.3. Toma de muestra de tejido.	17
3.6.4. Extracción de ADN de tejido mediante gSYNC DNA Extraction Kit – GENEaid. ...	18
3.6.5. Determinación de la calidad de ADN	19
3.6.6. Amplificación mediante PCR	19
3.6.7. Evaluación del tamaño del amplificado	20
3.6.8. Secuenciamiento	20
3.7. Análisis de datos	20
3.8. Consideraciones éticas	20
IV. RESULTADOS	22
4.1. Extracción de ADN, cuantificación y calidad de ADN	22
4.2. PCR punto final	23
4.3. Análisis del secuenciamiento método Sanger	25
4.4. Análisis Filogenético	32
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS	40
IX. ANEXOS	
Anexo A	
Anexo B	
Anexo C	
Anexo D	
Anexo E	
Anexo F	
Anexo G	
Anexo H	
Anexo I	
Anexo J	
Anexo K	
Anexo L	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Secuencias de Primers GFP y RFP	17
Tabla 2 Componentes principales para el PCR.....	19
Tabla 3 PCR convencional - Condiciones del ciclado.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Pez Cebra (<i>Danio rerio</i>).....	11
Figura 2 Comparación de la Fluorescencia del Pez Cebra (<i>Danio rerio</i>)	11
Figura 3 Gel de electroforesis al 1% de muestras de ADN genómico con el marcador de peso molecular de fago lambda digerido con Hind III.....	23
Figura 4 Gel de electroforesis al 2% para amplicones de RFP y GFP	24
Figura 5 Configuración de los parámetros para el ensamblaje.....	25
Figura 6 Identificación y corrección de conflictos de las bases en las lecturas pareadas.....	256
Figura 7 Parámetros para reensamblaje	26
Figura 8 Obtención de la secuencia consenso.	27
Figura 9 Análisis de similitud de las secuencias consenso obtenidas en el NCBI	28
Figura 10 Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de GFP identificados en el pez Cebra (<i>Danio rerio</i>).....	32
Figura 11 Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de GFP identificados en el pez Cebra transgénico de color verde (<i>Danio rerio</i>) versus secuencias de GFP reportadas en el Genbank para la anémona marina de color verde (<i>Discosoma</i> sp.).	33
Figura 12 Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de RFP identificados en el pez Cebra transgénico de color rojo (<i>Danio rerio</i>) versus secuencias de RFP reportadas en el Genbank para la anémona marina (<i>Anemonia majano</i>).	34

RESUMEN

La presente investigación identificó el origen de los transgenes de fluorescencia roja y verde producidos por los genes Red Fluorescent Protein (RFP) y Green Fluorescent Protein (GFP) respectivamente en el pez Cebra (*Danio rerio*) obtenidos de los acuarios de Lima Metropolitana donde es ampliamente comercializado como pez ornamental. Usando la información reportada en el Genbank se compararon las secuencias consenso obtenidas de ambos transgenes de fluorescencia los cuales coincidieron en alta homología con la especie de anémona de mar del género *Discosoma*. Además, ambos transgenes fueron introducidos al genoma del pez Cebra por ingeniería genética a través de la inserción de plásmidos comerciales que existen en las bases de datos moleculares. Un análisis bioinformático posterior de las secuencias amplificadas alineadas permitió establecer el flujo génico del transgén GFP a peces no transgénicos fluorescentes, también fue detectada su presencia en peces transgénicos fluorescentes de color rojo que dieron negativo para la fluorescencia verde ante luz UV.

Palabras clave: *Danio rerio*, flujo génico, GFP, transgénico, OGM, OVM, RFP

ABSTRACT

The present research identified the origin of the red and green fluorescence transgenes produced by the Red Fluorescent Protein (RFP) y Green Fluorescent Protein (GFP) genes respectively in zebrafish (*Danio rerio*) in the aquariums of Metropolitan Lima where it is widely commercialized as an ornamental fish. With the information reported in Genbank, we compared the consensus sequences obtained from both fluorescence transgenes, which coincided in high homology with the sea anemone species of the genus *Discosoma*. In addition, both transgenes were introduced into the zebrafish genome by genetic engineering through the insertion of commercial plasmids available in molecular databases. Subsequent bioinformatic analysis of the aligned amplified sequences established gene flow of the GFP transgene to non-transgenic fluorescent fish, and its presence was also detected in red fluorescent transgenic fish that were negative for green fluorescence under UV light.

Keywords: *Danio rerio*, gene flow, GFP, transgenic, GMO, LMO, RFP

I. INTRODUCCIÓN

Los experimentos iniciales para obtener peces ornamentales transgénicos a nivel laboratorio se realizaron a comienzos del siglo XXI. Se utilizó el método de inserción de genes que codifican para proteínas fluorescentes de color verde (GFP = Green Fluorescent Protein) y rojo (RFP = Red Fluorescent Protein) (Gong et al., 2001; Wan et al., 2002; Udvardia y Linney, 2003), con la finalidad de ser comercializados como el pez *Oryzias latipes* - “Medaka” (Tanaka et al., 2001) y *Danio rerio* - “pez Cebra” (Gong et al., 2003) considerándolos como mascotas de acuario.

El pez cebra, conocido científicamente como *Danio rerio* (Hamilton, 1822) de la familia Cyprinidae, es procedente de los ambientes acuáticos de la India que se distribuye por el río Ganges y Brahmaputra. Es una especie ictiológica muy llamativa por su coloración (Barroso et al., 2021) con una alta demanda comercial (mascota), lo que conlleva a que no se registre un control en su adquisición a pesar de ser considerado una especie importante para el desarrollo de la ciencia (Vargas-Vargas, 2017).

Esta especie está altamente desarrollada como organismo modelo para la ciencia, debido a que su crianza y reproducción presenta un bajo costo, por lo cual existen una amplia gama de protocolos sobre su desarrollo y uso en la transgénesis de las proteínas que este posee en su organismo (Vick et al., 2012), además de ello es utilizado ampliamente en el desarrollo de la genética y neurofisiología según Lieschke y Currie (citado en Blom et al., 2022).

Se identificaron los primeros peces ornamentales transgénicos fluorescentes a nivel laboratorio en el territorio peruano en el año 2000, para luego reproducirse en cautiverio lográndose ya para el año 2013 la primera identificación con la RFP de la anémona de mar, mediante análisis de ADN, siendo actualmente el pez Cebra una de las especies ornamentales de peces genéticamente modificados más comercializados (Scotto, 2016).

La inserción de material genético exógeno en genomas de animales para producir “organismos transgénicos”, es un método potente para implementar en programas de mejora genética, orientado al desarrollo, crecimiento, maduración y senescencia de los animales, sumado a ello, si se lograra una comprensión más profunda sobre los mecanismos de regulación genética, la técnica tendría una mejor posibilidad de aprovechamiento en la producción de alimentos y fibras (Rexroad, 2015; Meyer y Heinrich, 2010).

Actualmente, existe una incertidumbre en torno al impacto ambiental que genera la carencia de ciertos análisis de riesgos respecto a la reproducción e hibridación y principalmente la introducción (flujo génico) desmedida de este pez, con especies nativas relacionadas (Magalhães et al., 2023).

Los peces transgénicos pueden generar una serie de problemas ambientales si no son regulados y/o avalados por investigaciones. Un estudio realizado por Muir y Howard (1999), lo califican como un fenómeno denominado “ efecto del gen troyano”, en el cual observaron el crecimiento rápido de los peces transgénicos, sobre los peces nativos, presentando poca probabilidad de que las crías transgénicas alcanzaran el estadio adulto, ocasionando que las poblaciones se extingan rápidamente; lo que evidencia, que no es posible garantizar el 100% de esterilización en la población de estos especímenes (The center for food safety, 2021).

Por el contrario, si se tuviera un mejor conocimiento respecto a la utilización de dichos recursos genéticos directamente con fines transgénicos en otras especies, se ahorraría enormes esfuerzos en la utilización de la transgénica en peces ornamentales, convirtiéndolo en una práctica factible y de mayor beneficio económico (Scotto, 2018).

En los últimos años se ha generado docenas de líneas transgénicas derivadas del pez cebra utilizando diversos genes fluorescentes (Pan, et.al., 2008). Es así que, en 2016, se logró realizar el flujo génico de transgenes GFP y RFP a partir de linajes parentales de la descendencia F1 bajo ambientes controlados en peces cebra (Scotto y Chuan, 2018).

1.1. Descripción y formulación del problema

En nuestro país, se vienen introduciendo año a año diferentes especies de peces fluorescentes transgénicos (Scotto y Serna, 2012; Scotto, 2016; Scotto, 2018) mediante estudios moleculares en esta especie y otras especies ictícolas ornamentales (Scotto et al., 2020). Sin embargo, no se tiene estudios del cruzamiento o hibridación (Flujo génico) de esta especie fluorescente transgénica comercializada dentro del país (Scotto, 2010; Scotto, 2012; Scotto, 2016; Scotto, 2018). Por otro lado, la problemática principal en los peces ornamentales transgénicos recae cuando estos se liberan accidental o intencionalmente en el medio natural causando un impacto en el medio ambiente, el cual se tiene poco control puesto que no existe un análisis de riesgo a la fecha, según lo detalla Scotto et al. (2018).

Por lo expuesto, en el presente trabajo el objetivo fue el secuenciamiento de los transgenes (GFP y RFP) del pez ornamental Cebra (*Danio rerio*) colectados actualmente de acuarios de Lima Metropolitana y secuenciados para el análisis comparativo de sus secuencias nucleotídicas con las secuencias reportadas en los Bancos de Datos (Genbank, EML, etc.) para identificar su origen y obtener una explicación de su posible flujo génico e hibridación actual. Esta información aperturará futuras investigaciones que contribuyan y fomenten el control y vigilancia de este recurso hidrobiológico transgénico y posiblemente dando inicio al análisis de riesgo aún pendiente de este OVM o transgénico en territorio peruano.

1.2. Antecedentes

La piscicultura se remonta al Antiguo Egipto, Grecia, el Imperio Romano y, sobre todo a las civilizaciones orientales (Brunner, 2005). Sin embargo, los chinos son considerados los pioneros en criar peces con fines ornamentales, los registros datan de 1.000 d.C. (Ribeiro et al., 2010). Hoy en día, el acuarismo es una práctica con una gran acogida y potencial económico.

Entre los conjuntos de peces fluorescentes ornamentales más apreciados a nivel mundial se encuentran el pez Cebra (*Danio rerio*), estos peces se destacan por su belleza y brillante colorido encontrándose distribuidos por todo el mundo en los acuarios o “Pet shop” que los reproducen y venden. Diversos países asiáticos y USA han conseguido reproducir exitosamente diversas variedades o líneas genéticas estables de estos peces ornamentales transgénicos (Ministry of Foreign Affairs, Republic of China (Taiwan), 2015; Wan et al., 2002) debido al desarrollo de características distintivas, las que incluyen, desarrollo in vitro, alta fecundidad, embriones ópticamente transparentes y métodos eficientes de mutagénesis y cribado. En la actualidad, se venden muchas especies de peces ornamentales dulceacuícolas fluorescentes modificadas genéticamente a nivel mundial como el pez Cebra (Hamilton, 1822).

Según Prasher (1992) a partir de la medusa *Aequorea victoria* se logró la primera clonación de la proteína verde fluorescente (GFP), así como las mutaciones creadas en la secuencia de la proteína verde mejorada, las cuales han dado un número considerable de variantes, obteniendo una versión perfeccionada de la proteína verde fluorescente (EGFP), además, se han aislado otras proteínas fluorescentes de especies de anémonas de mar y medusas con el mismo potencial aplicativo. Cabe resaltar que como gen reportero aplicado en terapia génica garantiza la detección a través de vectores virales, utilizados en diversos modelos de origen animal.

Una particularidad de la GFP es que presenta picos de excitación y emisión, permitiendo captar y emitir el mayor espectro visible, asimismo es importante señalar que la estructura terciaria de esta proteína consta de 238 aminoácidos descifrados por Prasher et al. (1992) y sus colaboradores (Franco y Longart, 2009).

Además de ello la GFP fue motivo de estudio de Chalfie et al. (1994), quienes insertaron en células de *Escherichia coli* y *Caenorhabditis elegans*, un fragmento de ADN complementario a través de un vector de expresión, atribuyendo la cualidad de marcador genético al poder ser localizador en diversas proteínas en los organismos vivos.

Por otro lado, respecto a su clasificación, las variantes de la GFP se evidencian según las características referentes al cromóforo, las emisiones y sondas intracelulares, descrito por Zacharias, Sharnier y Miyawaki; según se detalla en el estudio realizado por Franco y Longart (2009).

Poco después, Franco y Longart (2009) desarrollaron un pez cebra fluorescente rojo mediante la introducción de un gen de un pólipo de coral y un pez cebra fluorescente amarillo-naranja a partir de un gen modificado de medusa. Los peces ornamentales transgénicos son la primera mascota transgénica comercializada.

La proteína fluorescente que confiere el color rojo RFP deriva de la especie de anemona *Discosoma sp.*, la cual se utiliza en distintas variantes, según lo describe Rehbein y Bogerd (2007) además de ello indica que la proteína RFP se empleó en la obtención de nuevas variantes de peces cebra de color rojo, verde, naranja, azul, morado y rosa (Scotto et al., 2018).

Chen (como se citó en Scotto, 2013), indica que se han desarrollado otros peces fluorescentes ornamentales, como el pez ángel rosa fluorescente (*Pterophyllum scalare*) presentado en 2012 por la Universidad Nacional Oceánica de Taiwán y el pez dorado cabeza

de león rosa (*Carassius auratus auratus*), desarrollado por el Instituto de Biología Celular y Organísmica de Taiwán (Chen et al., 2015).

En el año 1999, en Perú, se promulgó la Ley de Prevención de Riesgos Derivados del Uso de la Biotecnología (Ley 27104), siendo uno de sus objetivos generales la protección de la salud humana, el ambiente y la diversidad biológica, donde su reglamento vigente para todo el territorio peruano, establece normas generales aplicables a las actividades de investigación, producción, introducción, manipulación, transporte, almacenamiento, conservación, intercambio, comercialización, uso confinado y liberación con OVM (Organismos Vivos modificados), bajo condiciones controladas (Ley 27104, Diario Oficial El Peruano. Mayo de 1999).

El Proyecto de Ley N° 12033, planteado por el presidente Alejandro Toledo también llamado Ley de la promoción de la biotecnología moderna en el Perú y el Plan de biotecnología e Ingeniería Genética, la cual norma e impulsa la práctica del desarrollo e innovación biotecnológica y biotecnología moderna a través de la investigación científica, con la finalidad de acrecentar el progreso económico para mejorar la calidad de vida de la población, la competitividad, la salud y preservación del medio ambiente. En la actualidad, estas iniciativas de la ley están siendo adecuadas, actualizadas, pero lamentablemente en varias oportunidades se han encontrado afectadas por el quehacer político contribuyendo poco con este trascendental tema de nuestro país (Scotto, et al., 2018).

Actualmente, no obstante, la existencia de la Ley de la Moratoria en el Perú vigente hasta el 2035 (Ley 31111, 2021), no se conoce el potencial impacto ambiental frente a la desmedida liberación de estos peces transgénicos principalmente debido a la carencia de un análisis de riesgos del flujo génico. (Manzi, 2016).

1.3. Objetivos

1.3.1. *Objetivo general*

- Identificar y analizar molecularmente la secuencia nucleotídica de los transgenes GFP y RFP involucrados en proporcionar la fluorescencia de color verde y roja respectivamente de la especie ornamental pez Cebra (*Danio rerio*) en los acuarios de Lima Metropolitana.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Ensayar el uso de primers específicos reportados para identificar los transgenes GFP y RFP en la especie ictícola ornamental (*Danio rerio*).
- Secuenciar los transgenes GFP y RFP de la especie de ictícola ornamental (*Danio rerio*).
- Analizar y comparar la filogenia de las secuencias amplificadas de los transgenes GFP y RFP en la especie ictícola ornamental (*Danio rerio*) con otros transgenes de fluorescencia reportados en la literatura científica mundial.
- Determinar el posible origen biológico de los transgenes de GFP y de RFP introducidos en el genoma de los peces Cebra comercializados en territorio peruano.

1.4. Justificación

La acuicultura en Perú se da inicio como en diversos países de Latinoamérica a inicios del siglo pasado; sin embargo, esta práctica era desarrollada de manera empírica a pesar de que era una acuicultura de reclutamiento y mantenimiento de peces confinados, se consideraba como un avance tecnológico para la época.

Siendo la acuicultura de peces dulceacuícolas ornamentales en nuestro Perú es una alternativa de gran interés en aquellos peces que requieren realizar estudios de investigación, y determinar diversos factores relacionados principalmente a su desarrollo vital. Así mismo, se

busca proveer una condición de ingreso económico para el piscicultor principalmente en organismos dulce acuícolas de importancia económica.

Los genes de fluorescencia en peces ornamentales dulceacuícolas son los que van a codificar la expresión de una proteína presente en las especies de estudio. Cabe resaltar que este es uno de los genes de mayor aplicación biotecnológica en el mejoramiento genético, por lo cual la continuidad de estudios de investigación en especies de importancia comercial resulta beneficiosa por el consolidado de información que se obtiene durante un programa de mejora genética.

Por lo mencionado, en el actual estudio cuyo objetivo es conocer nuevas variantes lo que se realizó con el secuenciamiento de los transgenes de fluorescencia GFP y RFP.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis nulas

Las secuencias de los transgenes GFP y RFP en el pez Cebra (*Danio rerio*) es diferente a las secuencias de otros transgenes de fluorescencia reportados en la literatura científica mundial.

1.5.2. Hipótesis alternativas

Las secuencias de los transgenes GFP y RFP en el pez Cebra (*Danio rerio*) es igual o similar a las secuencias de otros transgenes de fluorescencia reportados en la literatura científica mundial.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

El pez Cebra es una especie pequeña de agua dulce de 3 – 5 cm, llamado científicamente *Danio rerio*, presenta un aspecto fusiforme con boca súpera, ojos centrales y dos pares de finas barbillas según lo detallan Vishwanath y Spence (como se citó en Valiña, 2020).

Es considerado un animal atractivo y se emplea como modelo por sus diferentes cualidades ya que posee una alta fecundidad con un desarrollo rápido en su ciclo vital, además de considerar que para su crianza y reproducción son económicos los insumos, infraestructura y reactivos según se detalla en Vargas-Vargas (2017).

Para la crianza de esta especie se requiere tener una población de 5 individuos por litro de agua en un pH de 6.8 – 7.5 con una temperatura constante de 23 a 30°C teniendo una red de iluminación con períodos de luz – oscuridad de 14 a 10 horas respectivamente. Este pequeño se alimenta una a dos veces al día con alimentos granulados o preparaciones comerciales, su alimentación varía en sus etapas temprana de vida ya que requiere consumir alimento vivo como artemia salina (Koerber et. al, 2009).

Esta especie presenta una reproducción continua, puesto que una hembra puede en cada puesta producir alrededor de 200 óvulos con una fecundación casi al 100%, cabe resaltar que se deben separar los óvulos y embriones de los adultos, ya que los peces se comen a su progenie. Usualmente los reproductores, machos y hembras, conviene mantenerse aislados y únicamente se ubican en un acuario único cuando la reproducción esté planificada (Allende et. al, 2011).

En los últimos años se ha acrecentado la cantidad de investigaciones publicadas en las cuales se utiliza al pez cebra como organismo modelo de investigación siendo el área de genética que lo incluye con mayor frecuencia. Actualmente el empleo del pez cebra como organismo de estudio se ha acrecentado en centros de investigación de EE. UU y Europa, en Latinoamérica es medianamente desconocido y solo ciertos centros de investigación en, Chile,

México, Brasil, Argentina, Colombia y Uruguay usan esta especie como modelo según se detalla en el estudio de Vargas-Vargas (2017).

2.1.1. Genes de Fluorescencia

Los transgenes Green Protein Fluorescent (GFP) y Red Protein Fluorescent (RFP) fueron utilizados principalmente como modelos para estudios biológicos y ambientales, coincidiendo con la apertura del siglo XXI, donde se inicia el desarrollo de los primeros peces ornamentales transgénicos (Scotto y Serna, 2013).

2.1.2. Peces transgénicos fluorescentes

Chung (como se citó en Scotto y Serna, 2013) menciona que la técnica empleada para la obtención de estos OVMs (Organismos vivos modificados) de origen hidrobiológico residió en la inserción de genes que producen proteínas de colores: rojo, azul, amarillo, verde entre otros, extraídos de diversas especies marinas como: medusa abisal (*Aequorea victoria*), anémona de mar (*Anemonia manjano*), etc.

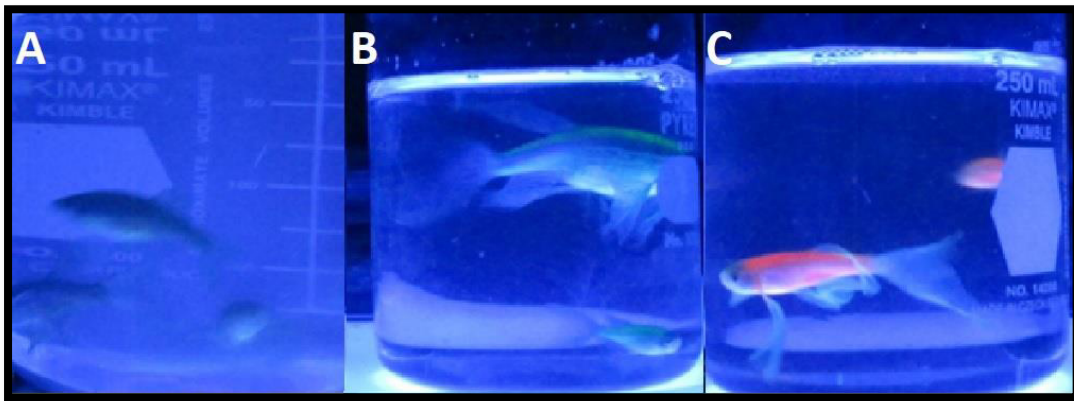
Por lo cual la fluorescencia en los peces transgénicos en el último periodo ha tomado una importancia relevante gracias a la vistosidad y variabilidad de colores que se manejan en el mercado como son el color rojo, amarillo, verde, rosado, anaranjado, morado, etc. (Scotto, 2018).

Cabe resaltar que según detalla Scotto (2016), en 2006 se identificó por primera vez el ingreso de peces cebras fluorescentes a nuestro territorio, para luego darse su reproducción e hibridación en aislamiento, lográndose en 2013 su identificación por primera vez de peces cebras con proteína roja fluorescente de la anémona de mar en nuestro país utilizando análisis de ADN (Scotto y Serna, 2013).

Actualmente, muchas de estas especies modificadas genéticamente se encuentran en comercio activo a nivel mundial, siendo las especies con mayor demanda el pez Cebra (*Danio rerio*); Barbo tigre (*Puntius tetrazona*); Pez ángel o escalar (*Pterophyllum scalare*); Neón chino (*Tanichthys albonubes*); Tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*); etc. (Scotto, 2016).

Figura 1

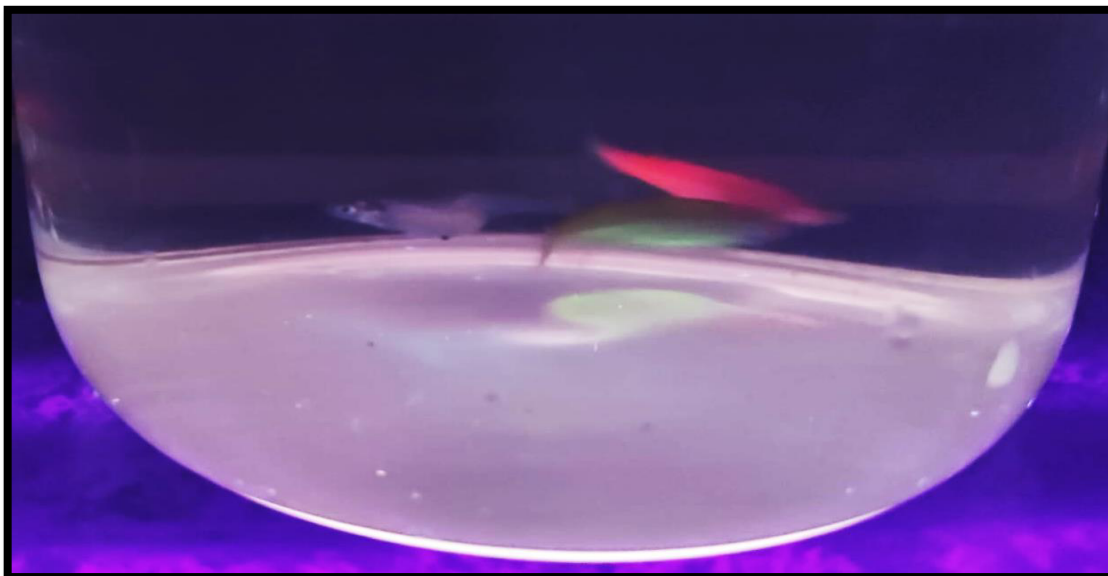
Pez Cebra (Danio rerio)



Nota. A. No transgénico sin fluorescencia. B. Transgénico fluorescente verde. C. Transgénico fluorescente rojo.

Figura 10

Comparación de la Fluorescencia del Pez Cebra (Danio rerio).



Nota. Izquierda: No transgénico sin fluorescencia. Centro e Inferior: Transgénico fluorescente verde. Derecha: Transgénico fluorescente rojo.

2.1.3. *Análisis de riesgos en peces ornamentales transgénicos*

El análisis de riesgo de peces transgénicos ornamentales es un aspecto crucial en la evaluación de la seguridad ambiental y ecológica de estas especies modificadas genéticamente. Según Van Eenennaam y Olin (2006) destaca la importancia de evaluar cuidadosamente los riesgos asociados con la liberación de los peces transgénicos accidentalmente en el entorno natural, así como la necesidad de estrategias de contención efectivas para prevenir impactos no deseados en las poblaciones nativas. Además, se hace hincapié en la evaluación de riesgos ecológicos únicos para cada combinación de transgén, especie y ecosistema receptor, subrayando la complejidad y la importancia de abordar estos aspectos en la toma de decisiones relacionadas con la biotecnología de peces ornamentales transgénicos, así como también Magalhães et al. (2020) manifiesta que *Danio rerio* como especie transgénica representa un peligro significativo para la biodiversidad y la salud pública, puesto que su liberación en ambientes naturales o artificiales podría tener consecuencias impredecibles y potencialmente dañinas.

Este análisis destaca la necesidad de implementar medidas efectivas para prevenir la introducción de especies transgénicas y no nativas en Brasil, al igual que Vandersteen et al. (2019) en su estudio “*Importance of Experimental Environmental Conditions in Estimating Risks and Associated Uncertainty of Transgenic Fish Prior to Entry into Nature*”, sugiere que para alevines de salmón coho transgénico pueden tener un impacto en el medio ambiente si se liberan en la naturaleza lo cuál debería involucrar a todos los actores de la cadena comercial de acuarios en la sostenibilidad de la biodiversidad y la acuática gestión responsable. Este enfoque integral proporciona una base sólida para la toma de decisiones en el campo y la investigación de la acuicultura y la biotecnología de peces ornamentales transgénicos. Estudios recientes, como el de Magalhães et al. (2022), en su publicación “*The fluorescent introduction has begun in the southern hemisphere: presence and life history strategies of the transgenic zebrafish*

Danio rerio (Cypriniformes: Danionidae) in Brazil” bajo sus resultados sugiere que se desarrollen programas de concientización para educar a las personas que trabajan con peces transgénicos.

Hoy en día en nuestro país, existe una preocupación creciente ante la carencia de un análisis de riesgos en contraste a Estados Unidos evidenciado en el estudio de Hill et al. (2014). Esta preocupación es especialmente pertinente debido a la introducción, reproducción e hibridación (flujo génico) desmedida por la modificación genética de estos peces en sus colores corporales debido a la acción de transgenes de invertebrados marinos (Ley N° 27104, 1999).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Esta investigación es de carácter exploratorio porque pretende investigar información específica de la especie en estudio. Asimismo, es una investigación cualitativa por que se enfocará en la obtención de información principalmente sobre los transgenes de fluorescencia GFP y RFP. De esta manera, por la manipulación de variables también es una investigación experimental porque se pretende analizar la secuencia nucleotídica de los genes de Fluorescencia GFP y RFP en la especie acuícola pez Cebra (*Danio rerio*). Además, esta investigación según su inferencia es hipotético – deductivo ya que los resultados obtenidos permitirán corroborar la observación y experimentación desarrollada de la hipótesis.

3.2. Ámbito temporal y espacial

3.2.1. *Ámbito temporal*

La evaluación el secuenciamiento de los genes GFP y RFP en pez Cebra (*Danio rerio*) se realizó entre los meses de enero y julio del 2023.

3.2.2. *Ámbito espacial*

El secuenciamiento de los genes GFP y RFP en pez Cebra (*Danio rerio*) fue evaluado y realizado en el Laboratorio de Mejora Genética y Reproducción Animal de la Escuela Profesional de Biología, perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la UNFV.

3.3. Variables

3.3.1. Variable independiente

Investigar la secuencia nucleotídica de los genes GFP y RFP en pez Cebra (*Danio rerio*) procedentes de diversos acuarios de la ciudad de Lima Metropolitana, Perú.

3.3.2. Variable dependiente

Analizar secuencias nucleotídicas del promotor de los genes GFP y RFP en pez Cebra (*Danio rerio*) procedentes de diversos acuarios de la ciudad de Lima Metropolitana, Perú.

3.4. Población y muestra

3.4.1. Población

Se utilizaron 15 muestras de tejido de las aletas caudales de especímenes en estadio adulto en pez Cebra (*Danio rerio*) provenientes de diferentes acuarios de la ciudad de Lima Metropolitana.

3.4.2. Muestra

Quince especímenes en etapa adulta del pez Cebra (*Danio rerio*).

3.5. Instrumentos

3.5.1. Materiales de Bioseguridad

- Cofia - R&G.
- Guardapolvo
- Mascarilla quirúrgica 3 pliegues - R&G.
- Guantes quirúrgicos talla L - R&G.

3.5.2. Material Biológico

- ✓ Muestras de adultos del pez Cebra (*Danio rerio*).

3.5.3. *Materiales de laboratorio*

- ✓ Tubo eppendorf de 0.2, 1.5, 2.0, ml
- ✓ Bisturí estéril N° 23 Surgical Blades.
- ✓ Tubo base cónica de 50 ml.

3.5.4. *Reactivos*

- ✓ Kid gSYNC DNA – extraction KIT- GENEaid.
- ✓ Buffer carga – Blue Juice Gel Loading (10x).
- ✓ Agarosa -Clever Scientific CSL- AG 500.
- ✓ Ladder Lambda HIND III – Thermo Scientific™
- ✓ Marcador Generuler DNA Ladder (100pb).
- ✓ Agua grado molecular BioRad de 500ml.
- ✓ Pcr 2X (i-STARMAX GH) – Master Mix – Intron
- ✓ Agente Intercalante ECO-READY to use (2 000x)
- ✓ Red Safe TM Nucleic Acid Staining.
- ✓ Etanol absoluto alisado Merck.

3.5.5. *Equipos*

- ✓ Cabina de Flujo Laminar
- ✓ Cámara Electroforética horizontal
- ✓ Incubadora
- ✓ Centrifuga - Eppendorf
- ✓ Vortex Mixer - WIZARD. Velp Scientific
- ✓ Termociclador punto final (Marca SimpliAmp. Life technologies)

3.6. Procedimientos

3.6.1. Diseño de Primers

Se diseñaron primers específicos para amplificar de las secuencias del GFP y RFP a través de la PCR (Reacción de Cadena de la Polimerasa) se utilizaron cebadores específicos ya reportados por diversos investigadores extraídos de la plataforma virtual Genbank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Los cebadores obtenidos bajo las condiciones y tamaño esperados, están detallados en la tabla 1, presentando una temperatura de anillamiento similares entre el par de cebadores. Para la amplificación de los transgenes de GFP y RFP mediante el PCR se utilizaron los siguientes primers o cebadores mostrados en el Tabla 1:

Tabla 1

Secuencias de Primers GFP y RFP

Primer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')
*GFP	TCGAGCTGGACGGCGACGT	GGTGCTCAGGTAGTGGTTGTC
**RFP	ACAACACCGTGAAGCTGAAGGTGACCAAG	GGTGTAGTCCTCGTTGTGGGAGGTGATGTC

Nota. Primers comerciales diseñados para los transgenes de GFP reportado por Bielikova et al. (2008) y RFP reportado por Rehbein y Bogerd (2007) que se utilizaron en la amplificación.

3.6.2. Técnica de recolección de datos

Durante el presente estudio se analizó muestras recolectados de diferentes acuarios de Lima Metropolitana. Se les extrajo el ADN a partir del tejido corporal para la identificación molecular de los transgenes GFP y RFP.

3.6.3. Toma de muestra de tejido.

Se tomó con una hoja de bisturí estéril una muestra de tejido muscular de los peces Cebra sacrificados acorde a las 3Rs para la extracción de ADN en un tubo de 2ml con buffer GT (kit de extracción: gSYNC DNA Extraction. Marca GENEaid). Las cuales fueron colectadas y conservadas en frío a -20°C para su procesamiento posterior

3.6.4. Extracción de ADN de tejido mediante gSYNC DNA Extraction Kit – GENEaid.

1. Se añadió 100 uL de muestra previamente homogenizada en un microtubo de 1,5 ml junto con 200 uL de buffer GT y 20 uL de Proteinasa K. A continuación se agitó la mezcla en el vortex para luego incubar los microtubos por 40 minutos a 60 °C manteniendo una continua agitación a 80 RPM.

2. Concluida la incubación se añadió 200ul de buffer GTB y se incubó nuevamente por 20 minutos a 60°C con una agitación constante de 80 RPM, finalizada la incubación se añadió 5 uL de solución Rnasa A (10mg/ml) y se agitó energicamente por 10 segundos dejandose en incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente.

3. Terminando la incubación, se agregaron 200 uL de etanol absoluto frío y se mixeó durante 10 segundos. Posteriormente la mezcla se transfirió a la columna GS evitando verter impurezas. Posteriormente, se llevó a centrifugación por 1 minuto a 14 000 RPM para posteriormente descartar el tubo colector.

4. Se colocó en un nuevo tubo colector y se añadieron 400 uL de buffer W1 para llevarlo a centrifugar por 30 segundos a 14 000 RPM. A continuación, el tubo colector fue reemplazado por otro nuevo, añadiéndole 600 uL de buffer de lavado para nuevamente centrifugar en las mismas condiciones. Posteriormente se reemplazó nuevamente el tubo colector y se centrifugó por 3 minutos a 14000 RPM dejando secar la columna GS durante 5 minutos aproximadamente.

5. Finalmente, la columna se transfirió a un microtubo de 1,5 mL y el ADN se diluyó con 60 uL de buffer de elución previamente calentado a 60 °C. Luego, se centrifugó por 30 segundos a 14000 RPM

3.6.5. *Determinación de la calidad de ADN*

Obtenido el ADN, se procedió a evaluar cualitativamente la calidad mediante un gel de agarosa al 1% de la marca Cleaver Scientific CSL-AG500, para esto se tomó 2 uL de buffer carga (Blue Juice Gel Loading 3X) añadiendo 1 uL del ADN. Utilizando como agente de tinción 10uL de RedSafe™ Nucleid Acid Staining. Las muestras fueron sometidas a electroforesis con las condiciones de 60 minutos a 90 voltios, por último, revelamos el gel usando el marcador peso molecular ThermoScientific™ Lambda DNA/HindIII Marker de para comprobar la integridad del ADN.

3.6.6. *Amplificación mediante PCR*

Para la amplificación de los transgenes de fluorescencia a través de la PCR (Tabla 2) se emplearon los cebadores o primers específicos previamente reportados por múltiples investigadores (Tabla 1).

Tabla 2

Componentes principales para el PCR.

Reactivo	Concentración Inicial	Concentración Final	Volumen x Muestra
2x PCR (i-STARMAX GH) Master Mix – iNTRON	2X	1X	5 µL
Agua PCR	-	-	2 µL
Primer F	10µM	0.5µM	1 µL
Primer R	10µM	0.5µM	1 µL
ADN			1 µL
Volumen Final			10 µL

3.6.7. Evaluación del tamaño del amplificado

La secuencia amplificada fue analizada en una corrida electroforética horizontal (50 min a 70V) en un gel de agarosa al 1 o 1,5 % mezclada con un colorante Syber (10 uL para 100ml de agarosa). Se tomó 2 uL del amplificado y se le adicionó 1 del agente intercalante Eco-Ready (20 000X) junto con un 1 uL de marcador de bajo peso molecular (100 pb). Este procedimiento permitió corroborar el tamaño del amplificado. El gel obtenido fue evaluado a través de un transluminador de geles y la imagen se digitalizó y analizó las bandas obtenidas para determinar la integridad del ADN amplificado.

3.6.8. Secuenciamiento

Las muestras tras ser purificadas se enviaron al extranjero junto con una solución de los primers. Los resultados de este secuenciamiento fueron remitidos vía correo electrónico para su posterior análisis *in silico*.

3.7. Análisis de datos

Las secuencias nucleotídicas de GFP y RFP fueron alineadas, editadas y se determinó la diversidad nucleotídica de estas mediante el software de análisis molecular Geneious ® 11.1.5 y el Software MEGA en sus versiones online gratuitas (Kumar et al., 2018).

3.8. Consideraciones éticas

En el presente trabajo los peces fueron sacrificados previa a la eutanasia por sedación con una solución eugenol/etanol (1:9). Con una dosis estándar de 60 mg/L de solución de eugenol/etanol se logró su inconciencia a los 5 minutos por la pérdida completa de los reflejos del animal y consciencia ocasionándose la muerte del animal en un periodo cercano a los 10 minutos (Llanos y Scotto, 2010; Millán-Ocampo et al., 2012).

La bioética es significativamente importante ya que abarca a todos los procesos y fases de la investigación, observándose desde la idea de investigación cuyo objetivo principal es proporcionar información que acreciente el bienestar de los animales, promueva el avance del

conocimiento y eleve la calidad de la investigación científica (Hoyos, 2000; Salazar et al., 2018; Pardo, 2005).

Respetándose los principios básicos, como evitar el innecesario sufrimiento de los animales, minimizar los riesgos del manipulador y promover la implementación de la regla de las 3Rs (Reemplazo, Refinamiento y Reducción) (OIE, 2019). Esto es aplicable en casos donde sea necesario sacrificar a los especímenes en condiciones controladas. Estas pautas han sido admitidas para la experimentación animal, con el motivo de minimizar el dolor durante los procedimientos experimentales realizados en peces (Manrique et al., 2018).

Además, es importante resaltar que las pruebas realizadas con estos peces están acordes con todos los protocolos establecidos en la Guía del cuidado y uso de especímenes de laboratorio (2017) la cual es avalada por la Asociación para el Empleo y Bienestar Animal en la Investigación y Docencia del Perú (ASOPEBAID, 2017).

IV. RESULTADOS

4.1. Extracción de ADN, cuantificación y calidad de ADN

La extracción de ADN se realizó en el laboratorio de Mejoramiento Genético y Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias biológicas de la UNFV, utilizando 15 especímenes adultos del pez Cebra (*Danio rerio*). Las condiciones para la amplificación por PCR están detalladas en la Tabla 3.

Tabla 3

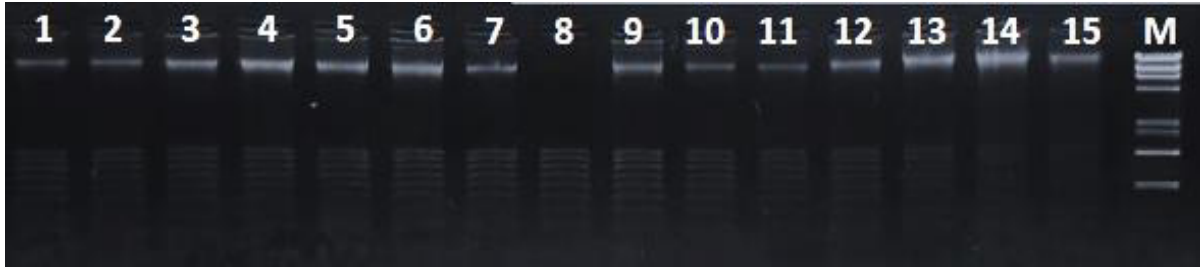
PCR convencional - Condiciones del ciclado.

Paso	Tiempo	Temperatura	Ciclos
Denaturacion Inicial	2.5 min.	95°C	1
Denaturacion	15 seg.	94°C	40
Alineamiento	35 seg.	62.2	40
Extensión	20 seg.	72°C	40
Extensión final	10 min	72°C	1
Conservación	∞	4°C	1

La calidad de ADN se determinó mediante el análisis cualitativo, ello se realizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1%, empleando el Ladder de peso molecular *fago Lambda DNA/HindIII* que determina tamaños de fragmentos que van de 564bp a 23,130bp con el fin de confirmar la presencia y medir el ADN extraído.

Figura 19

Gel de electroforesis al 1% de muestras de ADN genómico con el marcador de peso molecular de fago lambda digerido con Hind III.



Nota. Se visualiza una banda cerca de la banda de 23 130 bp que corresponde al ADN genómico purificado (M = Marcador Molecular). Muestras de pez Cebra transgénico rojo = 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 y 14. Muestras de pez Cebra transgénico verde = 3, 4, 7, 8, 11, 12 y 15.

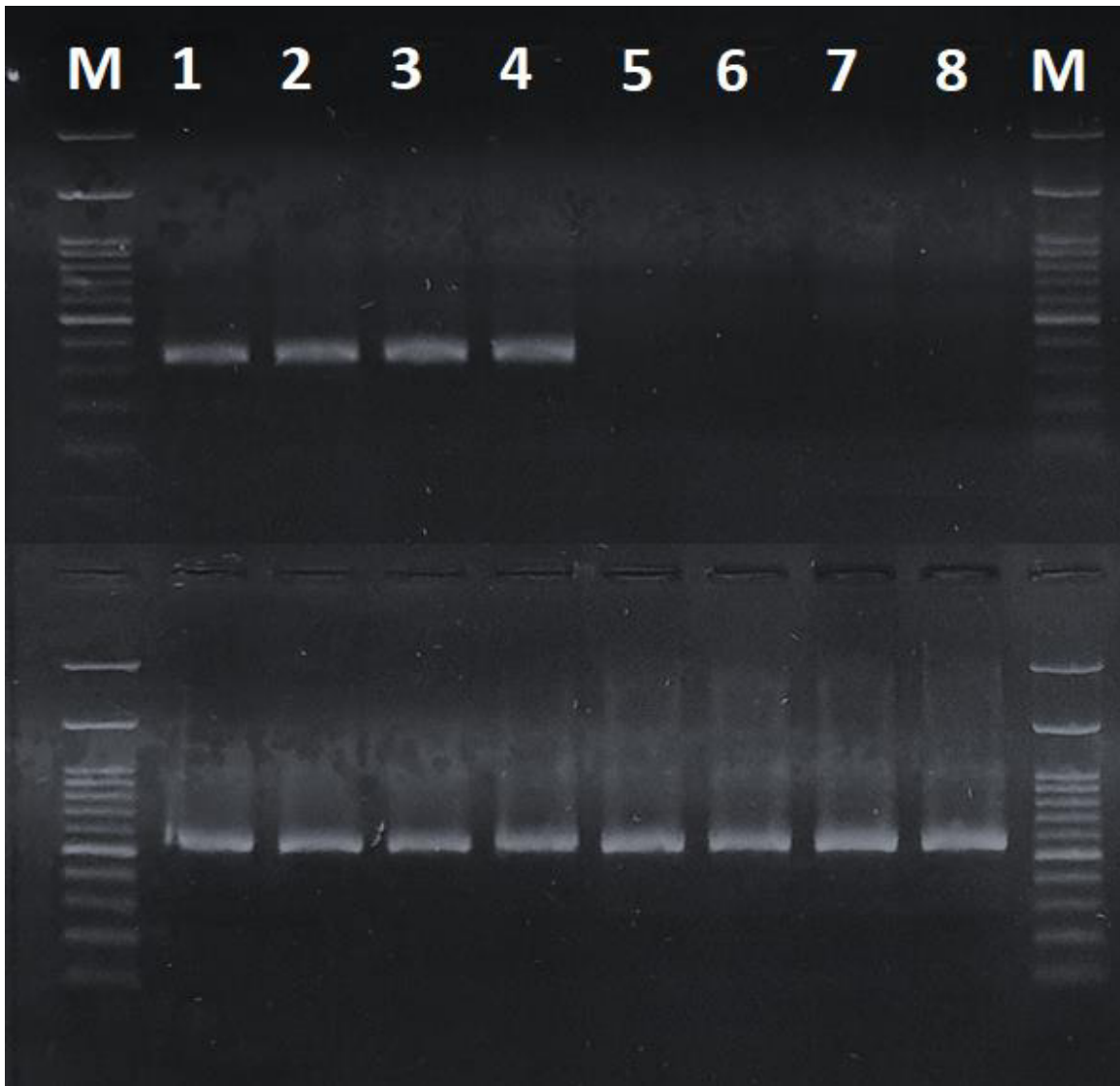
4.2. PCR punto final

Seguidamente, se realizó la amplificación de los genes de fluorescencia (GFP y RFP), mediante de una PCR punto final utilizándose el par de primers con las condiciones establecidas para la amplificación.

Finalmente se pudo observar la amplificación del amplicón de aproximadamente 550 pb para el gen de GFP y de 350 pb para el gen de la RFP.

Figura 28

Gel de electroforesis al 2% para amplicones de RFP y GFP.



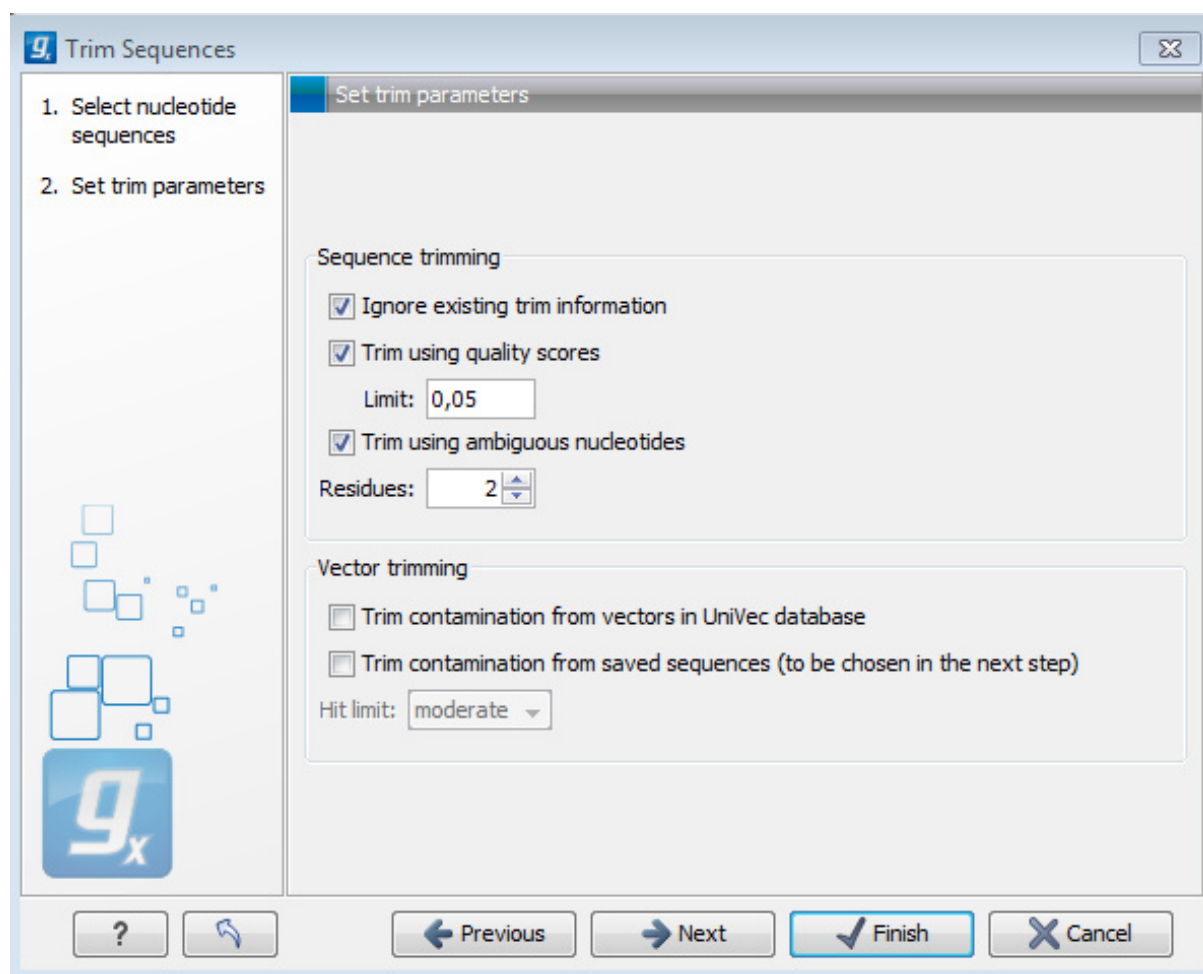
Nota. En el gel superior se visualiza un amplicón de aproximadamente 350 pb para las que corresponden al gen GFP. En el gel inferior se visualiza un amplicón de aproximadamente 550 pb para las que corresponden al gen RFP. Carril 1, 2, 3 y 4 = Pez Cebra transgénico de color rojo. Carriles 5, 6, 7 y 8 = Pez Cebra transgénico de color verde. M = Marcador Molecular de 100bp.

4.3. Análisis del secuenciamiento método Sanger

Para ensamblar las secuencias se utilizó el software CLC Genomics Workbench v3.6.5 (<https://digitalinsights.qiagen.com/products-overview/discovery-insights-portfolio/analysis-and-visualization/qiagen-clc-genomics-workbench/>) (Figura 5).

Figura 37

Configuración de los parámetros para el ensamblaje.



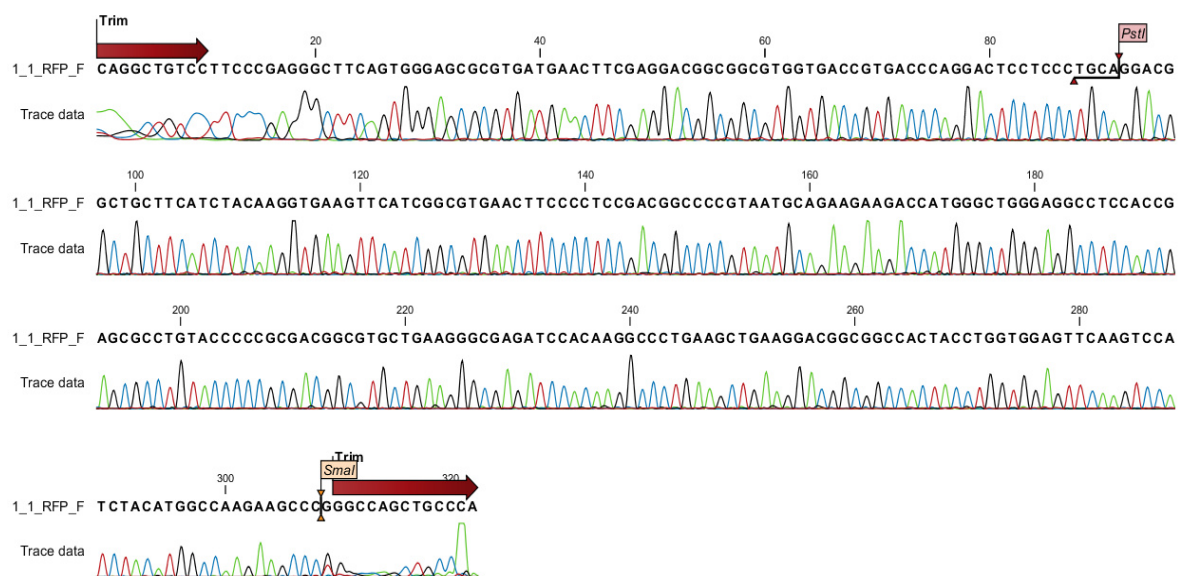
Nota. Control de calidad de la secuenciación con FastQC obtenido con la plataforma Illumina
Análisis con FastQC. (<https://sites.google.com/site/b22aggoabms1516/home/analisis-de-la-calidad-de-la-secuenciacion-de-un-archivo-de-secuencias-fastq-obtenido-con-la-plataforma-illumina>)

Una vez definidos los parámetros, se llevó a cabo el trimado (*recorte de secuencias que presenta una calidad baja*) de los extremos previo al ensamblaje. Posteriormente, se aplicó el solapamiento mínimo de 50 nucleótidos de longitud entre los segmentos Forward y Reverse de cada muestra.

Durante el ensamblaje identificamos zonas conflictos (“*Conflict*”), indicando variaciones la secuencia de referencia y una base nitrogenada entre las lecturas. Se denotó el recorte de calidad mediante una flecha roja (Figura 6).

Figura 46

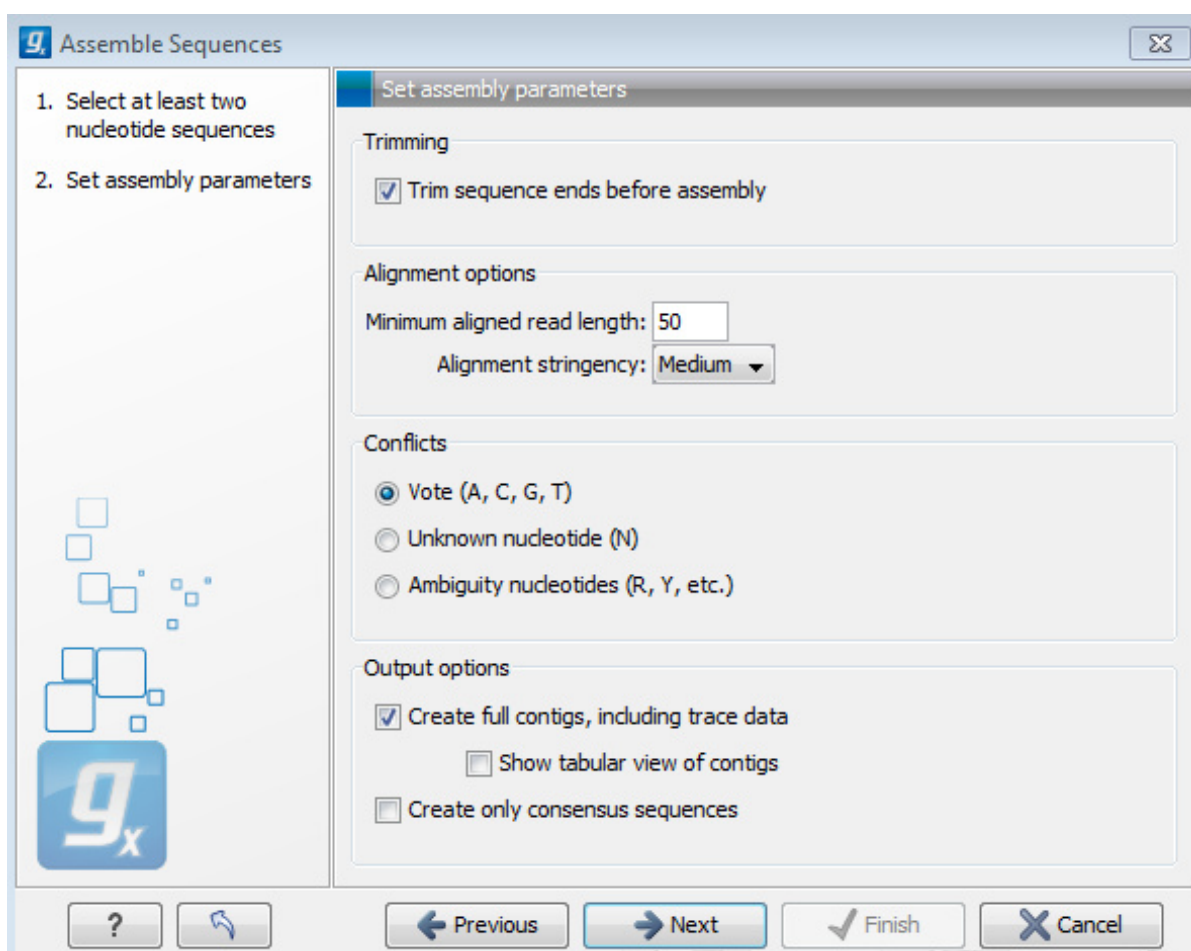
Identificación y corrección de conflictos de las bases en las lecturas pareadas.



El siguiente paso fue corregir dichos conflictos para determinar la base exacta en la secuencia Consenso (Consensus) con el fin de optimizar el análisis del ensamblaje con la referencia. Después de ensamblar las secuencias, se verificaron los conflictos (diferencias encontradas entre las lecturas Forward y Reverse) encontradas en la secuencia consenso. Estos conflictos surgieron por diferencias en las bases o por la presencia de un gap en el solapamiento de las lecturas. La corrección de estos conflictos se llevó a cabo revisando la calidad de las lecturas de Forward y Reverse y los picos de las mismas, para conseguir la correcta base nucleotídica (Figura 7).

Figura 55

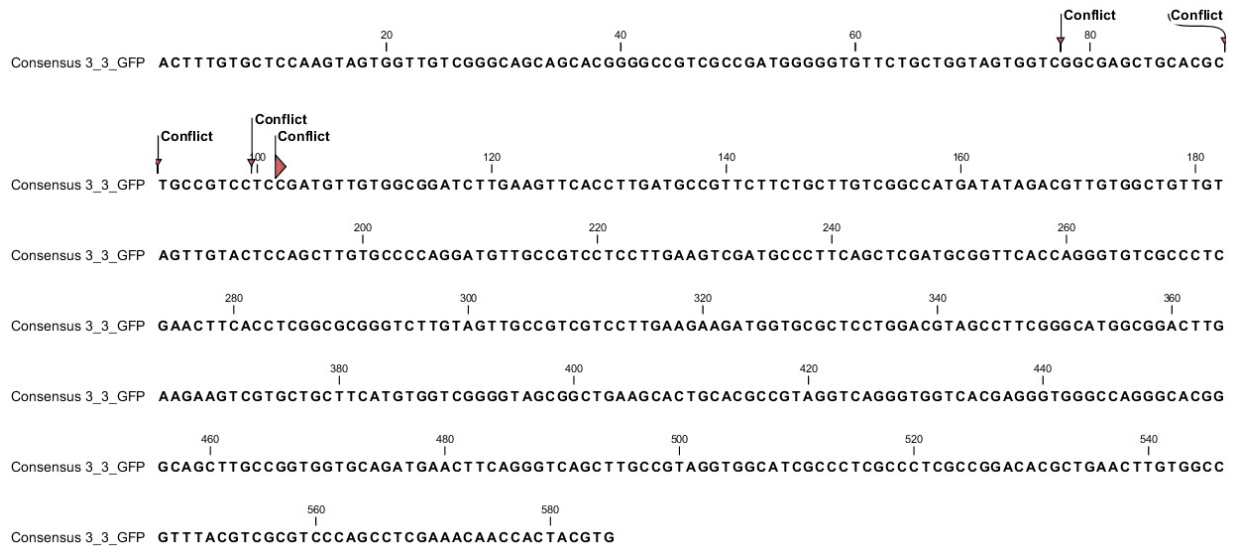
Parámetros para reensamblaje



Estos conflictos se corrigen comparando las lecturas de Forward y Reverse, a fin de obtener la base nucleotídica correcta a fin de obtener la base nucleotídica correcta (Figura 8).

Figura 64

Obtención de la secuencia consenso.



Resueltos los puntos de conflicto, se logró obtener la siguiente secuencia consenso final para el gen **GFP** en peces cebras transgénicos fluorescentes verdes (562 pb) fue:

5'-

AGATCTGGGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGGCCATC
 CTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGC
 GAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGC
 ACCACCGCAAGCTGCCCGTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACC
 TACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGAC
 TTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCT
 TCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCG
 ACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACG
 GCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACAGCCACAACGTCT
 ATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCC

**GCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGA
ACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGA
GCACCCAGTCCGCCCTG-3'.**

Y la secuencia consenso para la **RFP** en peces Cebras transgénicos fluorescentes rojos (337 pb) fue:

5'-

**CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCCTTCCCCGAGGGCTTC
AAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGGCGTGGTGACCGTGAC
CCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCTGCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATC
GGCGTGA ACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGC
TGGGAGGCCTCCACCGAGCGCCTGTACCCCGCGACGGCGTGCTGAAGGGC
GAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACCTGGTGGAG
TTCAAGTCCATCTACATGGCCAAGAAGCCCG-3'**

Después de obtener las secuencias consenso, se utilizó el programa informático BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) para analizar la similitud (Altschul et al., 1997; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) con las secuencias almacenadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) en su sitio web, con el propósito de obtener información sobre las secuencias ensambladas (Figura 8).

Figura 73

Análisis de similitud de las secuencias consenso obtenidas en el NCBI

The image shows the NCBI BLASTn suite interface. At the top, it displays the NIH logo and 'National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information'. Below this, it says 'BLAST® > blastn suite' and 'Standard Nucleotide BLAST'. The interface is divided into several sections:

- Enter Query Sequence:** This section contains a text area for entering accession numbers, GI(s), or FASTA sequence(s). A sample sequence is visible: 'CGAAGGTTGGCCAGCCACCGCCACGCTTGGCCGGTGGTCAGATGAAC TTCAAGGTCAGCTTGGCCGTAAGTGGCATGGCCCTGGCCCTGCCGGAC ACGCTGAACCTTGTGGCCGTTTACGTCGGTCCCGAGCTCGAAACAACCA CTACGTC'. There are also fields for 'Query subrange' (From and To) and an option to 'Or, upload file'.
- Choose Search Set:** This section allows users to select a database (Standard databases, rRNA/ITS databases, Genomic + transcript databases, Betacoronavirus), an organism (with a search field and 'Add organism' button), and various options to exclude or limit results (Models, Uncultured/environmental sample sequences, Sequences from type material, Entrez Query).
- Program Selection:** This section allows users to optimize for highly similar sequences (megablast), more dissimilar sequences (discontiguous megablast), or somewhat similar sequences (blastn).

At the bottom, there is a 'BLAST' button and a checkbox for 'Show results in a new window'.

Finalmente, se realizó el alineamiento de las secuencias consenso usando el BLASTn, con el objetivo de obtener las secuencias coincidentes más precisas (Anexos 5 y 6).

Los resultados del BLASTn conseguidos de las secuencias consensos del gen GFP analizadas en los peces Cebras transgénicos con fluorescencia verde mostraron una coincidencia con la secuencia nucleotídica del gen GFP del *Vector plasmídico de Clonación*

pMSCV-syn-Gephyrin. FingR-GFP (No. acceso: MZ522125.1), cuyos resultados obtenidos arrojaron una cobertura del 99% (Query cover) y una identidad del 99,64% (Per. Ident) en comparación con la secuencia nucleotídica reportada en el Genbank (Anexo 5). Por ende, la secuencia ensamblada presenta una homología alta con este vector comercial utilizado para obtener peces Cebras transgénicos fluorescentes de coloración verde.

Los resultados de BLASTn obtenidos de las secuencias consensos del gen RFP de todas las muestras analizadas de peces Cebras transgénicos con fluorescencia roja coincidió con la secuencia nucleotídica del *Vector plasmídico de clonación pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-gfp-frt-lox-DsRed-lox-mkate2* (No. acceso: MN623118.1). Los resultados obtenidos revelaron una cobertura superior al 99% (Query cover) y una identidad del 100% (Per. Ident) en comparación con la secuencia nucleotídica del *Vector plasmídico de clonación pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-gfp-frt-lox-DsRed-lox-mkate2* reportada en el Genbank (Anexo 6). Por lo tanto, la secuencia ensamblada muestra una alta homología con este vector comercial utilizado para obtener peces Cebras transgénicos fluorescentes de coloración roja.

Posteriormente, se realizó un blasteo de la secuencia consenso obtenida del gen GFP de los peces Cebras de color verde fluorescente con las secuencias de dos genes de GFP reportados en el GenBank para la anémona *Discosoma sp.* (No. de acceso en el GenBank: AY786536.1 y AY786537.1). Encontrándose una identidad entre 71 y 73% (Per. Ident) y una cobertura del 16% (Query cover) (Anexos 9 y 11).

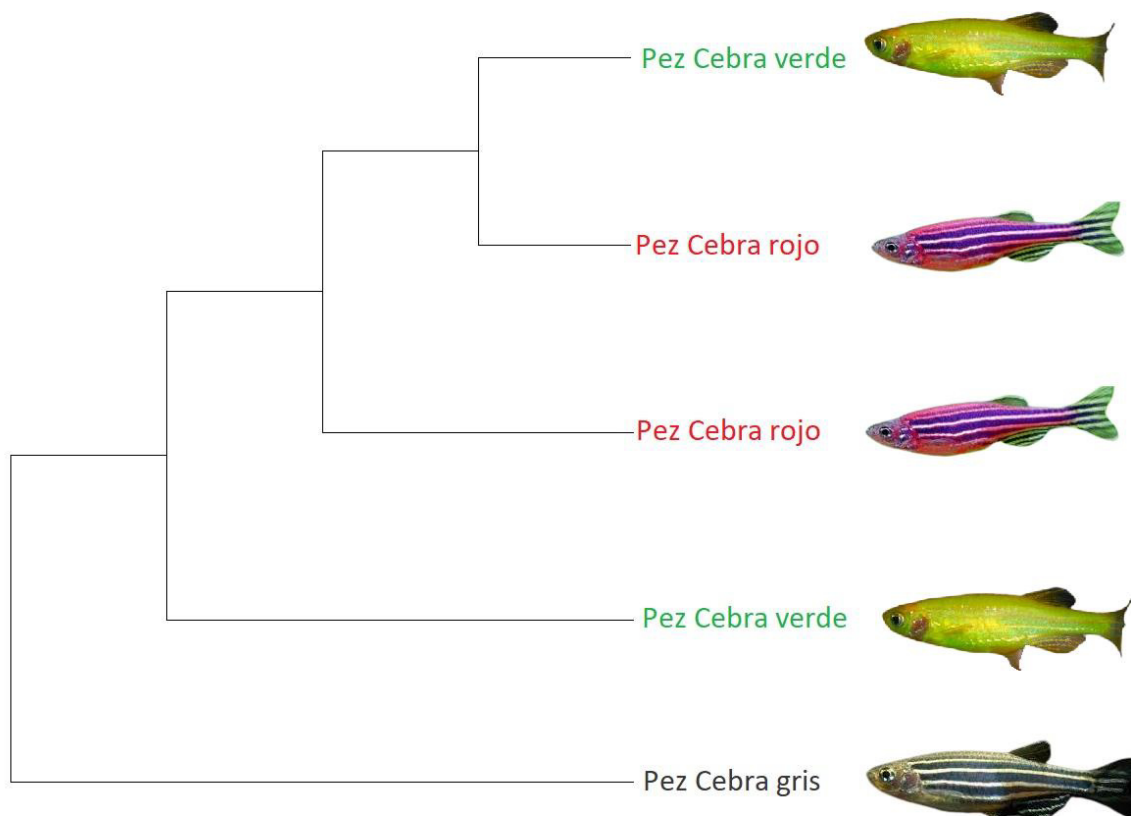
Asimismo, se realizó un blasteo de la secuencia consenso obtenida del gen RFP de los peces Cebras de color rojo fluorescente con las secuencias de tres genes de RFP reportados en el GenBank para la anémona *Discosoma sp.* (No. de acceso en el GenBank: AY786536.1, AY786537.1, AF168419.2). Encontrándose una cobertura del 100% (Query cover) y una identidad no menor del 89.61% (Per. Ident) (Anexos 10 y 12).

4.4. Análisis Filogenético

Con la información molecular obtenidas de las secuencias consensos tanto del RFP y GFP del pez Cebra, se analizó el alineamiento utilizando el programa Clustal X (Versión 2.1) (Larkin et al., 2007). Posteriormente, se construyó el árbol filogenético con el programa MEGA X (Kumar *et al.*, 2018) previamente eliminando los “Gaps”. Finalmente, las secuencias nucleotídicas alineadas de los genes RFP y GFP se compararon con otras secuencias nucleotídicas reportadas publicadas en el Genbank.

Figura 81

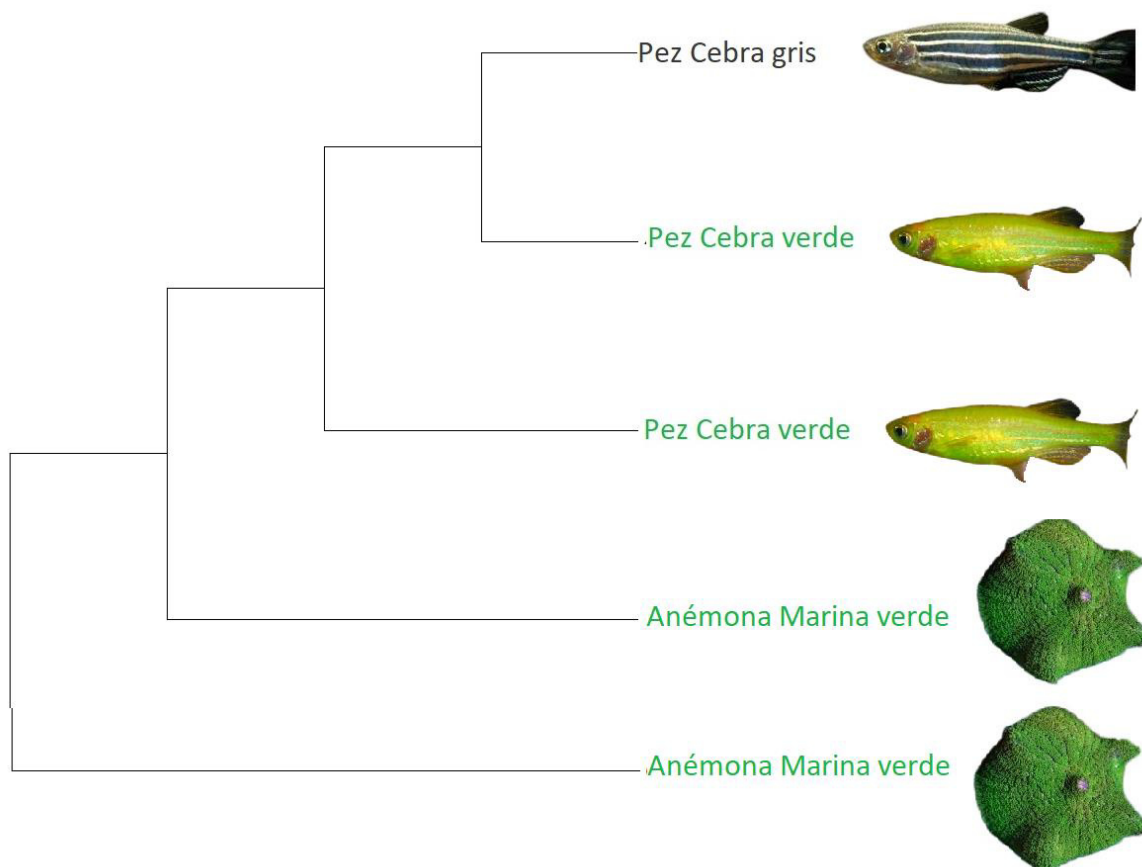
Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de GFP identificados en el pez Cebra (Danio rerio).



Nota. Se compararon cinco secuencias alineadas sin Gaps de la GFP de los peces Cebra analizados. Se analizaron 520 nucleótidos en total. La historia evolutiva se infirió utilizando el método Máxima Parsimonia. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (Kumar et al., 2018).

Figura 11

Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de GFP identificados en el pez Cebra transgénico de color verde (*Danio rerio*) versus secuencias de GFP reportadas en el Genbank para la anémona marina de color verde (*Discosoma sp.*).



Nota. Se compararon cinco secuencias alineadas sin Gaps de la GFP de dos peces Cebra de color verde y uno de color gris analizados versus dos secuencias reportadas en el Genbank para la anémona marina de color verde (*Discosoma sp.*) donde se analizaron 508 nucleótidos en total. La historia evolutiva se infirió utilizando el método Máxima Parsimonia. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (Kumar et al., 2018).

Figura 88

Árbol filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de RFP identificados en el pez Cebra transgénico de color rojo (Danio rerio) versus secuencias de RFP reportadas en el Genbank para la anémona marina (Anemonia majano).



Nota. Se compararon cinco secuencias alineadas sin Gaps de la RFP de dos peces Cebra de color rojo analizados versus tres secuencias reportadas en el Genbank para la anémona marina de color roja (Discosoma sp.) en la cual se analizaron 299 nucleótidos en total. La historia evolutiva se infirió utilizando el método Máxima Parsimonia. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA X (Kumar et al., 2018).

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

- 5.1. Al llevar a cabo el análisis cualitativo de la extracción mediante el gel de agarosa se constata la presencia de ADN de un alto peso molecular ya que se observó una banda de más de 20 000 bp. Este análisis resultó útil para identificar la ausencia de “smear” lo cual indicaría la presencia de ADN degradado lo que podría interferir en el proceso de la PCR (Figura 3).
- 5.2. Para el uso de los primers reportados de los genes GFP y RFP (Tabla 1) se indica que la temperatura a usar para el anillamiento o hibridación debe ser 5°C inferior a la temperatura de fusión más baja del par de cebadores empleados, la cual se obtuvo del programa virtual de ThermoFisher Scientific, Tm Calculator (<https://www.thermofisher.com>). Se tuvieron en cuenta las consideraciones de la cantidad de μM de los primers adicionados y del kit de amplificación en las condiciones de PCR (Innis y Gelfand, 1990). Como referencia, se utilizaron las secuencias de los transgenes RFP y GFP que ya han sido reportadas en la literatura científica (Rehbein y Bogerd, 2007; Bielikova et al., 2012).
- 5.3. La amplificación por PCR del gen de fluorescencia GFP resultó aproximadamente 560 pb, mientras que la del gen de fluorescencia RFP fue de alrededor de 350 pb (Figura 4). No obstante, para verificar que se tratan de las secuencias de interés se llevó a cabo la secuenciación Sanger para conseguir la secuencia completa de cada uno de los amplicones obtenidos con el par de cebadores utilizados en esta investigación.
- 5.4. Una vez obtenidas las secuencias consenso de ambos transgenes de fluorescencia para el pez Cebra se utilizaron diversos programas mencionados anteriormente para el análisis de similitud con el NCBI (National Center for Biotechnology Information).
- 5.5. Por otro lado, se encontró peces Cebra no transgénicos fluorescentes de color gris que dieron positivo a la GFP a pesar de que su fluorescencia de color verde fue negativa a la

luz UV, lo cual demuestra que existe cruzamiento y flujo génico (Scotto, C. y Chuan, R., 2018) de la GFP de peces transgénicos de color verde a peces Cebra no transgénicos.

- 5.6. Asimismo, los peces con fluorescencia de color rojo ante la luz UV dieron positivo para la GFP denotándose un cruzamiento descontrolado entre los peces Cebra transgénicos con fluorescencia de color verde y rojo (Figuras 10 y 11). Aunque no se sabría porque los peces que presentan ambos transgenes (GFP y RFP) solo muestran coloración fluorescente verde y no la coloración roja, este resultado también demuestra que existe cruzamiento y flujo génico (Scotto y Chuan, 2018) entre peces Cebra transgénicos de distintos colores.
- 5.7. El análisis in silico de los secuenciamientos de los amplicones de los genes GFP y RFP mostraron que son altamente conservados, con un porcentaje de similitud es aproximadamente del 99.64 % para la GFP y del 89.61% para la RFP en todos los secuenciamientos obtenidos, según los datos del NCBI. Lo cual también indica que existe diferentes vectores plasmídicos comerciales para la GFP y RFP que son utilizados para obtenerse peces Cebra transgénicos fluorescentes de coloración verde y de coloración roja.

VI. CONCLUSIONES

- 6.1. Se logró secuenciar e identificar con ayuda de los primers comerciales reportados de GFP y RFP que ambos transgenes en los peces cebras D. rerio de Lima Metropolitana se asocian a la capacidad de producir fluorescencia en colores verde y rojo respectivamente.
- 6.2. Se determinó que los primers comerciales reportados para ambos transgenes son específicos tanto para los peces fluorescentes de color rojo (RFP) y de color verde (GFP).
- 6.3. Se obtuvo la amplificación del transgén GFP de 562 pb y cuya secuencia fue:

5'-

AGATCTGGGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATC
 CTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGC
 GAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGC
 ACCACCGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACC
 TACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGAC
 TTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCT
 TCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCG
 ACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACG
 GCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACACTACAACAGCCACAACGTCT
 ATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAAGATCC
 GCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGA
 ACACCCCATCGGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGA
 GCACCCAGTCCGCCCTG-3'

6.4. Se obtuvo la amplificación del transgén RFP de 337 pb y cuya secuencia fue:

5'-

**CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCCTTCCCCGAGGGCTTC
AAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGTTGACCGTGAC
CCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCTGCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATC
GGCGTGAAGTTCCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGC
TGGGAGGCCTCCACCGAGCGCCTGTACCCCCGCGACGGCGTGCTGAAGGGC
GAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACCTGGTGGAG
TTCAAGTCCATCTACATGGCCAAGAAGCCCG-3'**

- 6.5. El secuenciamiento de los amplicones de GFP y RFP son altamente conservados con un porcentaje de similitud de está alrededor del 99.64 % para la GFP y del 89.61% para la RFP en todos los secuenciamientos obtenidos.
- 6.6. La secuencia consenso obtenidas de GFP del pez Cebra analizado coincidió con la secuencia nucleotídica de la GFP de la anémona marina de color verde (*Discosoma* sp.). De igual forma, las secuencias consensos obtenidas de la RFP del pez Cebra analizado coincidió con la secuencia nucleotídica de la RFP de la anémona marina roja (*Discosoma* sp.).
- 6.7. El análisis filogenético comparativo conseguido de las secuencias consenso del gen GFP identificados en el pez Cebra (*Danio rerio*) se concluyó que existe peces Cebra de color gris no transgénicos que no presentan fluorescencia alguna.
- 6.8. El análisis filogenético comparativo obtenido de las secuencias consenso del gen de RFP identificados en el pez Cebra (*Danio rerio*) determinó que existe peces Cebra de color rojo transgénicos que poseen GFP pero no presentan fluorescencia de color verde.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios similares en otros peces transgénicos comerciales en territorio peruano:

- 7.1. Al igual que en el estudio realizado en peces cebra, es importante identificar y secuenciar los transgenes presentes en otros peces transgénicos comerciales en Perú. Esto ayudará a comprender mejor el origen de los genes introducidos en los peces ornamentales comercializados en el Perú y el Mundo.
- 7.2. Realizar pruebas in silico y en el laboratorio para determinar la especificidad de los primers utilizados para amplificar los transgenes en los peces transgénicos.
- 7.3. Investigar el flujo génico mediante análisis de riesgos de los peces ornamentales no transgénicos versus los peces transgénicos fluorescentes, sobre todo de especies nativas similares. Esto ayudará a comprender cómo se propagan los transgenes en poblaciones de peces no transgénicos.
- 7.4. Realizar estudios de monitoreo ambiental en acuarios y otras áreas donde se encuentren peces transgénicos comerciales, esto permitirá evaluar posibles impactos ambientales y la presencia de transgenes en el entorno natural.
- 7.5. Divulgar en forma transparente los resultados de estos estudios para que la sociedad científica y el público en general estén informados sobre los posibles impactos negativos sobre la biodiversidad de los distintos peces transgénicos u OVMs hidrobiológicos.

VIII. REFERENCIAS

- Allende, M., Calcaterra, N., Vianna, M. y Zolessi, F. (2011). First meeting of the Latin American zebrafish network. *Zebrafish*, 8,31-33. URL: <https://www.scielo.org.mx/pdf/am/v29s1/2448-8771-am-29-00086.pdf>
- Altschul, S., Madden, T., Schäffer, A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., y Lipman, D. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 402-3389. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- Asociación para el empleo y bienestar animal en la investigación y docencia del Perú. (2017). <https://asopebaid.org.pe/>
- Azoo. (2017). <http://www.azoo.com.tw>
- Barroso, A., Guedes, M., y Martins, L. (2021). The fluorescent introduction has begun in the southern hemisphere: presence and life history strategies of the transgenic zebrafish *Danio rerio* (Cypriniformes: Danionidae) in Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 7, 345 – 348. https://doi.org/10.1044/2021_PERSP-20-00251
- Bielikova, M.; Bukovska, G.; Vavrova, S.; Timko, J.; Turna, J. (2012). *Identification of genetically modified zebrafish (Danio rerio) by PCR methods.* <http://gmoglobalconference.jrc.ec.europa.eu/Posters.htm>
- Blom, E., Coetzar, W., Schneider, S-R., y Grobler J.P. (2022). The Phylogenetic Position of Zebrafish (*Danio rerio*) from South African Pet Shops. *Research Square*, 1- 16. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07522-x>

Brunner, B. (2005) *The ocean at home: an illustrated history of the aquarium*. New York: Princeton University Press. 2005.

<https://archive.org/details/oceanathomeil00brun/page/6/mode/2up>

Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., y Prasher, D. C. (1994). Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science*, 263(5148), 802-805.

<https://doi.org/10.1126/science.8303295>

Chen J. (2015). Brillo rosado en el acuario. Noticias de Taiwán.

<https://noticias.nat.gov.tw/news.php?unit=95,105,115&post=87073>

Clustal X. <http://www.clustal.org>

Ferraz, J., Rodriguez, A., Pereira, A., Azevedo, D., Ribeiro, L., Lincoln, A., Orsi, M. (2019).

Aquarismo “Jumbo”: Representa um potencial para introdução de espécies no Brasil

Oecologia Australis, 23(3), 519-535. <https://doi.org/10.4257/oeco.2019.2303.11>

Franco, A., y Longart, M. (2009). Aplicaciones de la proteína verde fluorescente (GFP) en la biología celular y en la visualización del sistema nervioso. *Redalyc.org*.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179214945007>

GloFish. (2017). *Experience the Glo*. <http://www.glofish.com>

Gong, Z., Ju, B. y Wan, H. (2001). Green fluorescent protein (GFP) transgenic fish and their applications. *Genetica*, (111), 213-225. <https://doi.org/10.1023/a:1013796810782>

Gong, Z., Wan, H., LengTay, T., Wang, H., Chen, M., y Yan, T., (2003). Development of transgenic fish for ornamental and bioreactor by strong expression of fluorescent proteins in the skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308, 58–63. <https://www.redalyc.org/pdf/3576/357633701011.pdf>

- Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. (2017). Institute for Laboratory Animal Research Division on Earth and Life Studies. Front Matter. *In Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio: Octava Edición* (1st ed., pp. i–xiv). 198-199. <https://doi.org/10.2307/j.ctt20fw832.1>
- Hamilton, F. (1822). *An account of the fishes found in the River Ganges and its branches*. Archibald Constable and Company, Edinburg. 405 p. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.6897>
- Hill, J., Lawson, L., y Hardin, S. (2014). Assessment of the risks of transgenic fluorescent ornamental fishes to the United States using the Fish Invasiveness Screening Kit (FISK). *Transactions of the American Fisheries Society*, 143(3), 817-829. <https://doi.org/10.1080/00028487.2014.880741>
- Hoyos, J. (2000). Principios éticos de la investigación en seres humanos y en animales. *Medicina* (Buenos Aires), 60(2), 255-258. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2218-36202018000100305
- Innis, M. y Gelfand, D. (1990). Optimization of PCRs, in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. In Gelfand, D., Sninsky, J., Innis, M., y White, H. Academic Press (pp. 3–12). [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(91\)90165-5](https://doi.org/10.1016/0307-4412(91)90165-5)
- Koerber, A., y Kalishman, J. (2009). *Preparing for a Semiannual IACUC Inspection of a Satellite Zebrafish (Danio rerio) Facility*. PubMed Central (PMC). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2694697/>
- Kumar, S., Stecher, G., Li. M., Knyaz, C. y Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

Larkin, M., Blackshields, G., Brown, N., Chenna, R., McGettigan, P., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J., Gibson, T., Higgins, D. (2007) Clustal W and Clustal X Version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.

<http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>

Ley N° 27104. (12 de mayo de 1999). *Ley de prevención de riesgos derivados del uso de la biotecnología*. Diario Oficial El Peruano.

<https://www.gob.pe/institucion/minam/normas-legales/3603-27104>

Ley 31111 que modifica la Ley 29811. (09 de diciembre de 2011). *Ley que establece la moratoria al ingreso y producción de organismos vivos modificados al territorio nacional por un período de 15 años, a fin de establecer la moratoria hasta el 31 de diciembre de 2035*. Diario Oficial El Peruano, Año XXXVIII, N° 15812.

<https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ley-que-modifica-la-ley-29811-ley-que-establece-la-moratori-ley-n-31111-1917468-1/>

Llanos, C. y Scotto, C. (2010). Eugenol como anestésico para labores de manipulación de *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848) (Cyprinodontiformes: poeciliidae). *The Biologist*, 8, 179-188. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4004842>

Magalhães, A., De Brito, M., y Silva, L. (2022). The fluorescent introduction has begun in the Southern hemisphere: Presence and life-history strategies of the transgenic zebrafish *Danio rerio* (Cypriniformes: danionidae) in Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1-13. <https://doi.org/10.1080/01650521.2021.2024054>

Magalhães, A., Lima, D., Brito, M., y Orsi, M. (2020). Peixe ilegal ainda à venda no Brasil: o exemplo do “carismático” não-nativo paulistinha transgênico (*Danio rerio*) e os riscos de sua provável introdução. *ResearchGate*.

https://www.researchgate.net/publication/343167468_Peixe_ilegal_ainda_a_venda_no_Brasil_O_exemplo_do_carismatico_nao_nativo_paulistinha_transgenico_Danio_rerio_e_os_riscos_de_sua_provavel_introducao

Magalhães, A., Silvério Pires, M., Rebello dos Santos, V., Cozzuol, M., Scotto, C., Simões Vitule, J. y Mayer Pelicice, R. (2023). Presença do tetra transgênico *Gymnocorymbus ternetzi* no Brasil: uma ameaça genética aos congêneres nativos. Aceptado para publicação en el *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia*.

https://www.researchgate.net/publication/383910753_COMUNICACOES_PRESENCA_DO_TETRA_TRANSGENICO_Gymnocorymbus_ternetzi_NO_BRASIL_UMA_AMEACA_GENETICA_AOS_CONGENERES_NATIVOS_BSBI_n_143_-_dezembro_de_2023

Manrique, J., Ianaconne, J y Alvariño, L. (2018). *Toxic effect of lufenuron on six bioindicators of environmental quality efecto tóxico del lufenurón sobre seis bioindicadores de calidad ambiental*. <https://doi.org/10.24039/rtb2018162249>

Manzi, M. (2016). *¿Por qué producir peces transgénicos? Beneficios y riesgos*. (Tesis de Doctorado- Universidad de la República Montevideo). <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10385/1/FV-32140.pdf>

- Meyer, H., y Heinrich, A. (2010). European Network of Scientists for Social and Environmental Responsibility (ENSSER)- Transgenic Fish - How to Assess Contained Use Applications. *Environ Sci Eur* 22, 513–516. <https://doi.org/10.1007/s12302-010-0157-y>
- Millán-Ocampo, L., Torres-Cortés, A., Marín-Méndez, G. A., Ramírez-Duart, W., Vásquez-Piñeros, M., y Rondón-Barragán, I. (2012). Concentraciones anestésicas del eugenol en peces escalares (*Pterophyllum scalare*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(2), 171-181. <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i2.897>
- Muir, W., y Howard, R. (1999). Possible ecological risks of transgenic organism release when transgenes affect mating success: Sexual selection and the Trojan gene hypothesis. *Proceedings of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 96(24), 13853-13856. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.13853>
- Noticias de Taiwan República de China. (30 de junio del 2015). Peces fluorescentes obtenidos con ingeniería genética. Recuperado de: proteins in the skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308, 58–63. <https://noticias.nat.gov.tw/news.php?unit=95,106,115&post=87705>
- Organización Mundial de Sanidad Animal, (2019). *Utilización de animales en la investigación y educación*. http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/2010/es_chapitre_1.7.8.htm#article_1.7.8.
- Pan, X., Zhan, H., y Gong, Z. (2008). Ornamental Expression of Red Fluorescent Protein in Transgenic Founders of White Skirt Tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*). *Mar Biotechnol*, 10, 497–50. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9094-9>

- Pardo, C. (2005). Ética de la experimentación animal: directrices legales y éticas. *Revista Campus*, 25(29),15-26. <https://www.redalyc.org/pdf/875/87512622006.pdf>
- Prasher, D., Eckenrode, V., Ward, W., Prendergast, F., y Cormier, M. (1992). Primary structure of the Aequorea Victoria green-fluorescent protein. *Gene*, 111(2), 229-233. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(92\)90691-h](https://doi.org/10.1016/0378-1119(92)90691-h)
- Primer3Plus - Pick Primers. (s. f.). *Primer 3 Plus*. <https://www.primer3plus.com>
- Ribeiro, F. (2010). Policultivo de acará-bandeira e camarão marinho. Universidade Estadual Paulista-Centro de Aquicultura da Unesp-Campus de Jabotical, Doutorado em Aquicultura. Orientador: Dr. Batista K. Fernandes. Jaboticabal, SP. 95p. https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNSP_c99fb02ef9fbe1da2bff0eae835207ab
- Rehbein, H. y Bogerd, J. (2007). Identification of Genetically Modified Zebrafish (*Danio rerio*) by Protein- and DNA-Analysis. *J. Verbr. Lebensm.* 2, 122–125 (2007). <https://doi.org/10.1007/s00003-007-0179-6>
- Rexroad, J. (2015). Transgenic Farm Animals. Institute for Laboratory Animal. *Research News*, 36(1). 5 – 8. <https://doi.org/10.1093/ilar.36.1.5>
- Salazar, M., Icaza, M., y Alejo, O. (2018). La importancia de la ética en investigación. *Revista Universidad de Sociedad*, 10(1), 305-31. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/798>
- Scotto, C. (2016). Una casuística de peces transgénicos fluorescentes (*Danio rerio*) liberados en ambientes naturales peruanos con condiciones térmicas similares a su centro de Origen. *The Biologist*, 14 (1), 129-141. <https://doi.org/10.24039/rtb201614193>

- Scotto, C., y Serna, F. (2013). Primera identificación molecular del transgén de la proteína fluorescente roja (RFP) en peces Cebra (*Danio rerio*) transgénicos ornamentales introducidos en el Perú. *Scientia Agropecuaria*, 4, (3), 257- 264. [10.17268/sci.agropecu.2013.03.12](https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2013.03.12)
- Scotto, C., Chuan, G., y Pajares, G. (2018). Identificación de nuevos peces ornamentales fluorescentes transgénicos introducidos al territorio peruano: a casi una década de la moratoria de OVMs. *Campus V.XXIII* 25, 89 – 100. <https://doi.org/10.24265/campus.2018.v23n25.07>
- Scotto, C. y Chuan, R. (2018) Crossing and gene flow of the transgens of the red fluorescent proteins (RFP) and green (GFP) in the zebrafish (*Danio rerio*) transgenic introduced to Peru. *Scientia Agropecuaria*, 9(3), 417 – 421. [10.17268/sci.agropecu.2018.03.13](https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.03.13)
- Scotto, C., Chuan, R., Mesía, J., Igreda, L., Quiñones, M. y Arriola, C. (2020). Secuenciamiento de los genes de las proteínas verde y rojas fluorescentes del pez cebra transgénico (*Danio rerio*) introducido al Perú. Revista *Campus*. <https://www.usmp.edu.pe/campus/pdf/revista29/articulo1.pdf>
- Scotto, C. (2010). Peces transgénicos fluorescentes en el Perú: Bioseguridad y análisis de riesgos pendientes. *The Biologist*, 8(2), 235-243. <https://doi.org/10.24039/rtb201082514>
- Scotto, C. (2012). Artículo de Revisión: Reproducción e hibridación de transgénicos fluorescentes en cautiverio: un alcance prospectivo. Revista *Scientia Agropecuaria*, 2(01) 89 – 93. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2012.01.11>

- Scotto, C. (2018). Nota Científica: Reporte de una segunda introducción de peces ornamentales transgénicos fluorescentes al territorio peruano: Caso pez monjita (*Gymnocorymbus ternetzi*; Boulenger, 1895). *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 153-156. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.16>
- Tamura, K., Nei, M. y Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15258291/>
- Tanaka, M., Kinashita, M, Kobayashi, D. y Nagahama, Y. (2001). Establishment of Medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of green, fluorescent exclusive in germ cells: useful model to monitor germ cells in a live vertebrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 2544-2549. <https://doi.org/10.1073/pnas.041315498>
- The Center For Food Safety (CFS). (2021). Transgenic fish. Aquaculture Series. <https://www.centerforfoodsafety.org/search/transgenic+fish>
- Tm Calculator. (s. f.). Tm Calculator - Thermo Fisher. <https://www.thermofisher.com/pe/en/home/brands/thermo-scientific/molecular-biology/molecular-biology-learning-center/molecular-biology-resource-library/thermo-scientific-web-tools/tm-calculator.html>
- Udvardia, A. y Linney, E. (2003). Windows into development: historic, current, and future perspectives on transgenic zebrafish. *Developmental Biology*, 256, 1-17. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4004870>

Valiña, C. (2020). Revisión bibliográfica: El pez cebra (*Danio rerio*) como organismo modelo para el estudio del Síndrome Alcohólico Fetal. (Tesis de Pregrado – Universidad Da Coruña).

https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/27204/ValinaGerpe_Claudia_TFG_2020.pdf

Van Eenennaam, A., y Olin, P. (2006). Careful risk assessment needed to evaluate transgenic fish. *California Agriculture*, 60(3), 128-131. <https://doi.org/10.3733/ca.v060n03p126>

Vandersteen, W., Leggatt, R., Sundström, L., y Devlin, R. (2019). Importance of experimental environmental conditions in estimating risks and associated uncertainty of transgenic fish prior to entry into nature. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35826-1>

Vargas-Vargas., R. (2017). Pez cebra (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo alternativo para realizar investigación biomédica básica. *Anestesia en México*, 20 (Supl.1), 86- 89. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-87712017000400086&script=sci_arttext

Vector Plasmídico con GFP pCAG_GPHN.FingR-eGFP-CCR5TC (Plasmid #46296). <https://www.addgene.org/46296/>

Vector Plasmídico con RFP pLV-CMV-LoxP-DsRed-LoxP-eGFP (Plasmid #65726) <https://www.addgene.org/65726/>

Vick, B., Pollak A., Welsh, C., y Liang. (2012). Learning the Scientific Method Using GloFish. *Zebrafish*, 9(4), 226- 241. [10.1089/zeb.2012.0758](https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0758)

Wan, H., He, J., Ju, B., Yan, T., Lam, T., y Gong, Z. (2002). Generation of Two-color Transgenic Zebrafish Using the Green and Red Fluorescent Protein Reporter Genes GFP and RFP. *Marine Biotechnology*,4, 46-54. <https://doi.org/10.1007/s10126-001-0085-3>

IX. ANEXOS

Anexo A

Secuencia nucleotídica completa del Vector de Clonación pMSCV-syn-Gephyrin.FingR-GFP, complete sequence, reportado en el Genbank. Código de acceso al Genbank MN443913.1 (Longitud 7231 pb)

```
1 ctgaaagacc ccacctgtag gtttggcaag ctagcttaag taacgccatt ttgcaaggca
61 tggaaaatac ataactgaga atagagaagt tcagatcaag gttaggaaca gagagacagc
121 agaatatggg ccaaacagga tatctgtggt aagcagttcc tgccccggct cagggccaag
181 aacagatggg ccccagatgc ggtcccggcc tcagcagttt ctagagaacc atcagatggt
241 tccaggggtgc cccaaggacc tgaaaatgac cctgtgcctt atttgaacta accaatcagt
301 tcgcttctcg cttctgttgc cgcgcttctg ctccccgagc tcaataaaaag agcccacaac
361 ccctcactcg gcgcgccagt cctccgatag actgcgtcgc ccgggtaccg gtattcccaa
421 taaagcctct tgctgtttgc atccgaatcg tggactcgcg gatccttggg aggtctcct
481 cagattgatt gactgcccac ctccgggggtc tttcatttgg aggttccacc gagatttggg
541 gaccctgcc tagggaccac cgaccccccc gccgggaggt aagctggcca gcggtcgttt
601 cgtgtctgtc tctgtctttg tgctgtttg tgccggcatc taatgtttgc gcctgcgtct
661 gtactagtta gtaactagc tctgtatctg gcggaccctg ggtggaactg acgagttctg
721 aacaccggc cgcaaccctg ggagacgtcc cagggacttt gggggccgtt tttgtggccc
781 gacctgagga agggagtca tgtggaatcc gacccgtca ggatatgtgg tctgtgtagg
841 agacgagaac ctaaacagt tcccgcctcc gtctgaattt ttgctttcgg tttggaaccg
901 aagccgcgcg tctgtctgct tgcagcgtc cagcatcgtt ctgtgttgc tctgtctgac
961 tgtgtttctg tatttgtctg aaaattaggg ccagactggt accactcct taagtttgac
1021 cttaggtcac tggaaagatg tcgagcggat cgctcacaac cagtcggtag atgtcaagaa
1081 gagacgttgg gttaccttct gctctgcaga atggccaacc ttaacgtcg gatggccgcg
1141 agacggcacc tttaaccgag acctcatcac ccaggttaag atcaaggtct tttcacctgg
1201 cccgcattga caccagacc aggtccccta catcgtgacc tgggaagcct tggttttga
1261 cccccctccc tgggtcaagc cttttgtaca ccctaagcct ccgcctcctc ttccctccatc
1321 cgccccgtct ctcccccttg aacctcctcg ttcgaccccg cctcgatcct ccctttatcc
1381 agccctcact ctttctctag gcgcgggaat tagatcttct agactgcaga gggccctcgcg
1441 tatgagtgca agtgggtttt aggaccagga tgagggcggg tgggggtgcc tacctgacga
1501 ccgaccccga cccactggac aagcacccaa cccccattcc ccaaattgcg catcccctat
1561 cagagagggg gaggggaaac aggatgcggc gaggcgcgtg cgactgcca gcttcagcac
1621 cgcggacagt gccttcgccc ccgcctggcg gcgcgcgcca ccgcccctc agcactgaag
1681 gcgcgtgac gtcactcgc ggtccccgc aaactcccct tcccggccac cttggtcgcg
1741 tccgcgcgcg cgccggcca gccggaccgc accacgcgag gcgcgagata ggggggcacg
1801 ggcgcgacca tctgcgtgct ggcgcggcg actcagcgt gcctcagtct gcggtgggca
1861 gcggaggagt cgtgtcgtgc ctgagagcgc agtcgagAAC gcgtggtacc gagctcggat
1921 ccgcgcacc catgctcgaa gtcaaggaag catcaccaac cagcatccag atcagctggg
1981 gcaagtaca ggatcatggt cgctactacc gcatcaccta cgtgaaact ggtggcaata
2041 gccctgtcca ggaattcacc gtgcctggca gcaagtccac tgctaccatc agcagcctga
2101 aacctggtgt cgactatacc atcacgggtgt acgcccgtcac gatcgaccac tggaaactacc
2161 aggacccgat cccgatctcc atcaactacc gcaccggatc cgattacaag gatgacgacg
2221 ataagggtag cggctccagt agatctgggg tgagcaaggg cgaggagctg ttcaccgggg
2281 tgggtgccat cctggtcgag ctggacggcg acgtaaaccg ccacaagttc agcgtgtccg
2341 gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagttcatc tgcaccaccg
2401 gcaagctcga cgtgcctggt cccaccctcg tgaccaccct gacctaagcg gtgacgtgct
2461 tcagcgcgta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag
2521 gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag acccgcccg
2581 aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc atcgacttca
2641 aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc tggagtaca ctacaacagc cacaacgtct
2701 atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaaggtgaa cttcaagatc cgccacaaca
2761 tcgaggacgg cagcgtgcag ctgcggacc actaccagca gaacaccccc atcggcgacg
2821 gccccgtgct gctgcccgac aaccactacc tgagcaccca gtccgcctg agcaaagacc
```

2881 ccaacgagaa gcgcatcac atggctctgc tggagttcgt gaccgccgcc gggatcactc
2941 tcggcatgga cgagctgtac taaaagctta tcgataatca acctctggat tacaaaatth
3001 gtgaaagatt gactgggtatt cttactatag ttgctccttt tacgctatgt ggatacgtg
3061 ctttaatgcc tttgtatcat gctattgctt cccgtatggc tttcattttc tcctccttgt
3121 ataaatcctg gttgctgtct ctttatgagg agttgtggcc cgttgtcagg caacgtggcg
3181 tgggtgtgcac tgtgtttgc gacgcaaccc ccaactggtg gggcattgcc accactgtc
3241 agctcctttc cgggactttc gctttcccc tccctattgc cacggcggaa ctcatcgccg
3301 cctgccttgc ccgctgctgg acaggggctc ggctggtggg cactgacaat tccgtggtgt
3361 tgtcggggaa atcatcgtcc tttccttggc tgctcgcctg tgttgccacc tggattctgc
3421 gcgggacgtc cttctgtac gtcccttcgg ccctcaatcc agcggacctt cctccccg
3481 gctctgctgc ggctctgcgg cctcttcocg gtcttcgcct tcgcctcag acgagtcgga
3541 tctccctttg ggcaataaaa gattttatth agtctccaga aaaagggggg aatgaaagac
3601 cccactgtga ggtttggcaa gctagcttaa gtaacgccat tttgcaaggc atggaaaata
3661 cataactgag aatagagaag ttcagatcaa ggtaggaac agagagacag cagaatagg
3721 gccaaacagg atatctgtgg taagcagttc ctgccccggc tcagggccaa gaacagatgg
3781 tccccagatg cgggtcccgc ctcagcagtt tctagagaac catcagatgt tccaggggtg
3841 ccccaaggac ctgaaaatga ccctgtgcct tatttgaact aaccaatcag ttcgcttctc
3901 gcttctgttc gcgcttctt gctccccgag ctcaataaaa gagcccacaa cccctcactc
3961 ggcgcgccag tctccgata gactgcgtcg cccgggtacc cgtgtatcca ataaacctc
4021 ttgcagttgc atccgacttg tggctctcgt gttccttggg agggctctct ctgagtgatt
4081 gactaccctg cagcgggggt ctttcatggg taacagttt tgaagttgg agaacaacat
4141 tctgagggta ggagtcgaat attaagtaat cctgactcaa ttagccactg ttttgaatcc
4201 acatactcca atactcctga aatagttcat tatggacagc gcagaagagc tggggagaat
4261 taattcgtaa tcatggatc atgctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgc tcacaattcc
4321 acacaacata cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg ggtgccta at gagtgagcta
4381 actcacatta attgcttgc gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgcgtgcca
4441 gctgcattaa tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggg ttgctgattg ggcgctctc
4501 cgcttctcgc ctcactgact cgctgcgtc ggtcgttcgg ctgcggcgag cggatcagc
4561 tcaactcaag gcggaatac ggttatccac agaatacagg gataacagc gaaagaacat
4621 tggagcaaaa ggccagcaaa agccaggaac ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgtttt
4681 ccataggctc cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg
4741 aaaccgcaca ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tctgctcctc
4801 tctgtttccg accctgccc ttaccggata cctgtccgcc tttctccctt cgggaagcgt
4861 ggcgcttct catagctcac gctgtaggta tctcagttc gtgtaggtcg ttcgctcca
4921 gctgggctgt gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgcttat ccggtacta
4981 tctctttgag tccaaccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccaactgtaa
5041 caggattagc agagcgagg atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa
5101 ctacggctac actagaagga cagtatttgg tatctgcgt ctgctgaagc cagttacctt
5161 cggaaaaaga gttggtagct cttgatccgg caaacaacc accgctggta cgggtggtt
5221 ttttgtttgc aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaagga tctcaagaag atcctttgat
5281 cttttctacg gggctctgac ctcagtgga cgaaaactca cgttaagga ttttggatc
5341 gagattatca aaaaggatct tcacctagat ctttttaaat taaaaatgaa gttttaaate
5401 aatctaaagt atatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa tcagtgaggc
5461 acctatctca gcgatctgtc tatttctgtc atccatagtt gcctgactcc ccgctcgtgta
5521 gataactacg atacgggagg gcttaccatc tggcccagc gctgcaatga taccgcgaga
5581 cccacgtca ccggctccag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa gggccgagc
5641 cagaagtggc cctgcaactt tatccgcctc catccagctc ataatgtt gccgggagc
5701 tagagtaagt agttcgcag ttaatagttt gcgcaacggt gttgccattg ctacaggcat
5761 cgtggtgtca cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc tccggttccc aacgatcaag
5821 gcgagttaca tgatcccca tgttgtgcaa aaaagcgggt agctccttcg gtctccgat
5881 cgttgtcaga agtaagtgg ccgcaggtt atcactcatg gttatggcag cactgcataa
5941 ttctcttact gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa
6001 gtcattctga gaatagtgtg tgcggcgacc gagttgctct tgcccggcgt caatacggga
6061 taataccgcg ccacatagca gaactttaa agtgctcatc attggaaaac gttcttcggg
6121 gcgaaaactc tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcgatgtaac cactcgtgc
6181 acccaactga tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag caaaaacagg
6241 aaggcaaaat gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa tactcatact
6301 cttccttttt caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga cgggatacat
6361 atttgaatgt atttgaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc cccgaaaagt
6421 gccacctgac gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa ataggcgtat
6481 cacgaggccc tttcgtctcg cgcgtttcgg tgatgacggt gaaaacctct gacacatgca

6541 gctcccggag acggtcacag cttgtctgta agcggatgcc gggagcagac aagcccgtca
6601 gggcgcgtca gcgggtggtg gcgggtgtcg gggctggctt aactatgcgg catcagagca
6661 gattgtactg agagtgcacc atatgcggtg tgaaataccg cacagatgcg taaggagaaa
6721 ataccgcatc aggcgccatt cgccattcag gctgcgcaac tgttgggaag ggcgatcggg
6781 gcgggcctct tcgctattac gccagctggc gaaaggggga tgtgctgcaa ggcgattaag
6841 ttgggtaacg ccagggtttt cccagtcacg acgttgtaaa acgacggcgc aaggaatggg
6901 gcatgcaagg agatggcgcc caacagtccc ccggccacgg gcctgccac catacccacg
6961 ccgaaacaag cgctcatgag cccgaagtgg cgagcccgat cttccccatc ggtgatgtcg
7021 gcgatatagg cgccagcaac cgcacctgtg gcgcccgtga tgccggccac gatgcgtccg
7081 gcgtagaggc gattagtcca atttgttaaa gacaggatat cagtgggtcca ggctctagtt
7141 ttgactcaac aatatcacca gctgaagcct atagagtacg agccatagat aaaataaaag
7201 attttattta gtctccagaa aaagggggga a

Nota. Dirección: 5' → 3'

Anexo B

Identificación de parte de la secuencia nucleotídica del Vector de Clonación pMSCV-syn-Gephyrin.FingR-GFP reportado en el Genbank. Código de acceso al Genbank MN443913.1. (Longitud 562 pb).

```
CTGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATAC
ATAACTGAGAATAGAGAAGTTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGA
TATCTGTGGTAAGCAGTTCTTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCC
TCAGCAGTTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTTCCAGGGTGGCCCAAGGACCTGAAAATGACCCCTGTGCCTT
ATTTGAACTAACCAATCAGTTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCAATAAAAG
AGCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCTCCGATAGACTGCGTCGCCCCGGGTACCCGTATTTCCCAA
TAAAGCCTCTTGCTGTTTTGCATCCGAATCGTGACTCGCTGATCCTTGGGAGGGTCTCCTCAGATTGATT
GACTGCCACCTCGGGGTCTTTCATTTGGAGGTTCCACCAGATTTGGAGACCCCTGCCTAGGGACCAC
CGACCCCCCGCCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCGGTGCTTTCGTGTCTGTCTCTGTCTTTGTGCGTGTGTTG
TGCCGGCATCTAATGTTTTGCGCCTGCGTCTGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGT
GGTGGAACTGACGAGTTCTGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCAGGGACTTTGGGGGCCGTT
TTTGTGGCCCCGACCTGAGGAAGGGAGTCGATGTGGAATCCGACCCCGTCAGGATATGTGGTTCTGGTAGG
AGACGAGAACCTAAAACAGTTCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGAAACCGAAGCCGCGCG
TCTTGTCTGCTGCAGCGCTGCAGCATCGTTCTGTGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTG
AAAATTAGGGCCAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTCACTGGAAAAGATGTCGAGCGGAT
CGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCTTCTGCTCTGCAGAATGGCCAACC
TTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCAGACCTCATCACCCAGGTTAAGATCAAGGCTT
TTTCACTTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCTTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTTTTGA
CCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCTCCTCTTCCCTCCATGGCCCCGCTCT
CTCCCCCTTGAACCTCCTCGTTTCGACCCCGCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAG
GCGCCGGAATTAGATCTTCTAGACTGCAGAGGGCCCTGCGTATGAGTGCAAGTGGGTTTTAGGACCAGGA
TGAGGCGGGGTGGGGGTGCCTACCTGACGACCCGACCCCGACCCACTGGACAAGCACCCCAACCCCATTTCC
CCAAATTGCGCATCCCCTATCAGAGAGGGGGAGGGGAAAACAGGATGCGGCGAGGCGCGTGCGCACTGCCA
GCTTCAGCACCCGCGACAGTGCCTTTCGCCCCGCTGGCGGCGCGGCCACCCCGCCCTCAGCACTGAAG
GCGCGCTGACGTCACCTCGCCGGTCCCCGCAAACCTCCCTTCCCGCCACCTTGGTTCGCGTCCGCGCCGC
CGCCGGCCAGCCGGACCCGACCCACCGGAGGCGGAGATAGGGGGGCACGGGCGCGACCATCTGCGCTGC
GGCGCCGGCGACTCAGCGCTGCCTCAGTCTGCGGTGGGCAGCGGAGGAGTCGTGTCGTGCTGAGAGCGC
AGTCGAGAACCGGTGTTACCGAGCTCGGATCCGCCGCCACCATGCTCGAAGTCAAGGAAGCATCACCAAC
CAGCATCCAGATCAGCTGGGGCAAGTACAAGGTCATGGTTCGCTACTACCGCATCACCTACGGTAAAAC
GGTGGCAATAGCCCTGTCCAGGAATTCACCGTGCCTGGCAGCAAGTCCACTGCTACCATCAGCAGCCTGA
AACCTGGTGTGACTATAACCATCACGGTGTACCCGTCACGATCGACCACTGGAATACCAGGACCCGAT
CCCGATCTCCATCAACTACCGCACCGGATCCGATTACAAGGATGACGACGATAAGGGTAGCGGCTCCAGT
AGATCTGGGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCATCCTGGTTCGAGCTGGACGGCG
ACGTAACACGGCCACAAGTTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCC
GAAGTTCATCTGCACCACCGCAAGCTGCCCGTGCCTTGGCCACCCCTCGTGACCACCCCTGACCTACGGC
GTGACGTGCTTACGCGCTACCCCGACCACTGAAGCAGCAGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCAAG
GCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCCGCGCCGAGGTGAAGTT
CGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTG
GGGCACAAGCTGGAGTACAACATAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCA
TCAAGGTGAACTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACCTACCAGCA
GAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTG
AGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCTGCTGGAGTTCGTGACCCGCCCGGGATCACTC
TCGGCATGGACGAGCTGTACTAAAAGCTTATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATT
GACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCAT
GCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCAATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGG
AGTTGTGGCCGTTGTGAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCACTGGTTG
GGCATTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAA
CTCATCGCCGCTGCCTTGGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTGGGCACTGACAATTCGGTGGTGT
TGTCGGGAAATCATCGTCTTTTCTTGGCTGCTCGCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTC
CTTCTGCTACGTCCTTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGCCCTGCTGCCGGCTCTGCCG
CCTCTTCCCGCTCTTCGCTTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCAATAAAAAGATTTTATTT
AGTCTCCAGAAAAAGGGGGGAATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCAT
```

TTTGAAGGCATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAG
CAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCTTCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGG
TCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCSCCAAGGAC
CTGAAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTCT
GCTCCCCGAGCTCAATAAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGCGCGCCAGTCCCTCCGATAGACTGCGTCCG
CCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCCTTGGG
AGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTGAGCGGGGGTCTTTCATGGGTAAACAGTTTCTTGAAGTTGG
AGAACAACATTCTGAGGGTAGGAGTGAATATTAAGTAATCTGACTCAATTAGCCACTGTTTTGAATCC
ACATACTCCAATACTCCTGAAATAGTTTATTATGGACAGCGCAGAAGAGCTGGGGAGAATTAATTCGTAA
TCATGGTCATAGCTGTTTCTGTGAAATTGTTATCCGCTCACAATTCACACAACATACGAGCCGGAA
GCATAAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGTAACTACATTAATTGCGTTCGCTCAGCTGCC
CGTTTTCCAGTCGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCAATTAATGAATCGGCCAACGCGGGGAGAGCGGT
TTGCGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCCTCGCTCACTGACTCGCTGCGCTCGGTTCGTTCCGCTGCGGCGAG
CGGTATCAGCTCAAAAGGCGGTAAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACAT
GTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCGTTGCTGGCGTTTTTCCATAGGCTC
CGCCCCCTGACGAGCATCAAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAA
GATAACAGGCGTTTTCCCTGGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCTGTTCCGACCTGCCGCTTACCGGATA
CCTGTCCGCTTTCTCCCTTCGGGAAGCGTGGCGCTTCTCATAGCTCACGCTGTAGGTATCTCAGTTCCG
GTGTAGGTCGTTTCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCGTTTCAGCCGACCGCTGCGCCTTAT
CCGGTAACTATCGTCTTGGAGTCCAACCCGGTAAAGACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAA
CAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCTACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCTAACTACGGCTAC
ACTAGAAGGACAGTATTTGGTATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCT
CTTGATCCGGCAAACAAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACGCGCAG
AAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCTCAGTGGAAACGAAACTCA
CGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCTTTTAAATTAATAATGAA
GTTTTAAATCAATCTAAAGTATATATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGC
ACCTATCTCAGCGATCTGTCTATTTTCGTTTCATCCATAGTTGCTGACTCCCGTTCGTTAGATAACTACG
ATACGGGAGGGTACCATTGCCCCAGTGCATGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTCACCGGCTCCAG
ATTTATCAGCAATAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAAGTGGTCTGCAACTTTTATCCGCCTC
CATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTTCGCCAGTTAATAGTTTTCGCAACGTT
GTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTGGTATGGCTTCATTTCAGCTCCGGTTCC
AACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCTCCGAT
CGTTGTGAGAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAGCACTGCATAATTCCTTACT
GTCATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGAAGTCAACCAAGTCAATTCGAGAATAGTGTA
TGCGGCGACCGAGTTGCTCTTCCCGGCGTCAATACGGGATAATACCGGCCACATAGCAGAACTTTAAA
AGTGCTCATCATTGAAAACGTTCTTCCGGGCGAAAACCTCAAGGATCTTACCCTGTTGAGATCCAGT
TCGATGTAACCCACTCGTGCACCCAACTGATCTTCAGCATCTTTTACTTTTACCAGCGTTTCTGGGTGAG
CAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAATGTTGAATACTCATACT
CTTCTTTTTTCAATATTATTGAAGCATTATCAGGGTTATTGTTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGT
ATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGCCACCTGACGTCTAAGAAA
CCATTATTATCATGACATTAACCTATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTCGTTCTCGCGGTTTCGG
TGATGACGGTGAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACGGTACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCC
GGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGTCAGCGGGTGTGGCGGGTGTGCGGGCTGGCTTAACATGCGG
CATCAGAGCAGATTGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAAA
ATACCGCATCAGGCGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGATCGGTGCGGGCTCT
TCGCTATTACGCCAGTGGCGAAAAGGGGGATGTGCTGCAAGGCGATTAAAGTTGGGTAAACGCCAGGGTTTT
CCCAGTCACGACGTTGTAACACGACGGCGCAAGGAATGGTGCATGCAAGGAGATGGCGCCCAACAGTCCC
CCGGCCACGGGCTGCCACCATAACCCACGCCGAAAACAAGCGCTCATGAGCCCGAAGTGGCGAGCCCGAT
CTTCCCCATCGGTGATGTGCGGATATAGGCGCCAGCAACCGCACCTGTGGCGCCGGTGTGCGGCCAC
GATGCGTCCGGCTAGAGGCGATTAGTCCAATTTGTTAAAAGACAGGATATCAGTGGTCCAGGCTCTAGTT
TTGACTCAACAATATCACCAGCTGAAGCCTATAGAGTACGAGCCATAGATAAAAATAAAGATTTTATTTA
GTCTCCAGAAAAGGGGGAA

Nota. Dirección: 5' → 3'

Anexo C

Secuencia nucleotídica completa del Vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2 reportado en el Genbank. Código de acceso al Genbank MN623118.1. (Longitud 5795 pb).

```
1  ttcatgtgca gctccataag caaaagggga tgataagttt atcaccaccg actatattgca
61  acagtgccgt tgatcgtgct atgatcgact gatgtcatca gcggtggagt gcaatgtcat
121 gaggggaagcg gtgatcgccg aagtatcgac tcaactatca gaggtagtgt gcgatcatcga
181 ggcgccatctc gaaccgacgt tgctggccgt acatttgtag ggctccgcag tggatggcgg
241 cctgaagcca cacagtgata ttgatttgct ggttacgggtg accgtaaggc ttgatgaaac
301 aacgcggcga gctttgatca acgacctttt ggaaacttcg gcttccccctg gagagagcga
361 gattctccgc gctgtagaag tcaccattgt tgtgcacgac gacatcattc cgtggcggtta
421 tccagctaag cgcgaaactgc aatttggaga atggcagcgc aatgacattc ttgcaggtat
481 cttcgagcca gccacgatcg acattgatct ggctatcttg ctgacaaaag caagagaaca
541 tagcgttgcc ttggtaggtc cagcggcggg ggaactcttt gatccgggttc ctgaacagga
601 tctatttgag gcgctaaatg aaaccttaac gctatggaac tcgcgcgccg actgggctgg
661 cgatgagcga aatgtagtgc ttacgttgtc ccgcatttgg tacagcgcag taaccggcaa
721 aatcgcgcgg aaggatgtcg ctgccgactg ggcaatggag cgctgcccgg cccagtatca
781 gccgcgcata cttgaagcta gacaggctta tcttggacaa gaagaagatc gcttggcctc
841 gcgcgcagat cagttggaag aatttgtcca ctacgtgaaa ggcgagatca ccaaggtagt
901 cggcaaataa gatgccgctc gccagtcgat tggctgagct catgaagttc ctattccgaa
961 gttccgcgaa cgcgtaaagg atctagggtg agatcctttt tgataatctc atgaccaaaa
1021 tcccttaacg tgagttttcg ttccactgag cgtcagacc cgtagaaaag atcaaaggat
1081 cttcttgaga tccttttttt ctgcccgtaa tctgctgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc
1141 taccagcggg ggtttgtttg ccggatcaag agctaccaac tcttttccg aaggtaactg
1201 gcttcagcag agcgcagata ccaaatactg tccttctagt gtagccgtag ttaggccacc
1261 acttcaagaa ctctgtagca ccgcctacat acctcgcctc gtaatcctg ttaccagtgg
1321 ctgctgccag tggcgataag tcgtgtctta ccgggttggg ctcaagacga tagttaccgg
1381 ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa
1441 cgacctacac cgaactgaga tacctacagc gtgagctatg agaaagcgc acgcttcccg
1501 aaggagaaaa ggcgacagc tatccggtaa gcggcagggt cggaacagga gagcgcacga
1561 gggagcttcc agggggaaac gcctggatc tttatagtcc tgcgggttt cgccacctc
1621 gactgagcgc tcgatttttg tgatgctcgt caggggggcg gagcctatgc aaaaacgcca
1681 gcaacgcggc ctttttacgg ttctggcct tttgctgccc tttgctcac atgttcttc
1741 ctgcttctc ccctgattct gtggataaacc gtattaccgc ctttgagtga gctgataccg
1801 ctgcgcgcag ccgaacgacc gagcgcagcg agtcagttag cgaggaagcg gaagagcgc
1861 tgatgctgta ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgtcta gaggatctca
1921 tatgttgaca gctagctcag tcctaggtat aatgctagcg gatccgaagt tcctattctt
1981 caaatagtat aggaacttca taacttcgta taggatactt tatacgaagt tatgaattca
2041 ttaaagagga gaaaggtacc atgagcagc tgattaagga gaacatgcac atgaagctgt
2101 acatggaggg caccgtggac aaccatcact tcaagtgcac atccgagggc gaaggcaagc
2161 cctacgaggg caccagacc atgagaatca aggtggtcga gggcgccct ctccccttcg
2221 ccttcgacat cctggctact agcttctctc acggcagcaa gaccttcatc gaccacacc
2281 agggcatccc cgacttcttc aagcagtcct tcctgaggg cttcacatgg gagagagtca
2341 ccacatacga agacgggggc gtgctgaccg ctacccagga caccagcctc caggacggct
2401 gcctcatcta caacgtcaag atcagagggg tgaacttcac atccaacggc cctgtgatgc
2461 agaagaaaac actcggctgg gaggccttca ccgagacgct gtaccccgct gacggcggcc
2521 tgggaaggcag aaacgacatg gccctgaagc tcgtgggcgg gagcatctg atcgaaaca
2581 tcaagaccac atatagatcc aagaaaccg ctaagaacct caagatgctt ggcgtctact
2641 atgtggacta cagactggaa agaatcaagc aggccaacaa cgagacctac gtcgagcagc
2701 acaggtggc agtggccaga tactcgcgacc tccctagcaa actggggcac atgcctaatt
2761 aactcgagca ccaccaccac caccactgag atccggctgc taacaaagcc cgaaaggaag
2821 ctgagttggc tgctgccacc gctgagcaat aactagcata accccttggg gcctctaaac
2881 gggctcttgag gggttttttg ctgaaaggag gaactatata cggctgcaga agcttataac
2941 ttcgtatagg atactttata cgaagttag atatacaaga ggagaaagg accatgggtga
3001 gcaagggcga ggagctgttc accggggtgg tgccatcct ggtcagctg gacggcgacg
3061 taaacggcca caagttcagc gtgtccggcg agggcgaggc cgatgccacc tacggcaagc
```

3121 tgaccctgaa gttcatctgc accaccggca agctgcccgt gccctggccc accctcgtga
3181 ccaccctgac ctacggcgtg cagtgttca gccgctacc cgaccacatg aagcagcacg
3241 acttcttcaa gtccgccatg cccgaaggct acgtccagga gcgcaccatc ttcttcaagg
3301 acgacggcaa ctacaagacc cgcgccgagg tgaagttcga gggcgacacc ctggtgaacc
3361 gcatcgagct gaagggcatc gacttcaagg aggacggcaa catcctgggg cacaagctgg
3421 agtacaacta caacagccac aacgtctata tcatggccga caagcagaag aacggcatca
3481 aggtgaactt caagatccgc cacaacatcg aggacggcag cgtgcagctc gccgaccact
3541 accagcagaa cacccccac ggcgacggcc ccgtgctgct gcccgacaac cactacctga
3601 gcaccagtc cgccctgagc aaagaccca acgagaagcg cgatcacatg gtctgtggtg
3661 agttcgtgac cgccgccggg atcactctcg gcatggacga gctgtacaag taactcgagc
3721 accaccacca ccaccactga gatccggctg ctaacaaagc ccgaaaggaa cgtgagttgg
3781 ctgctgccac cgctgagcaa taactgcat aacccttgg ggctctaaa cgggtcttga
3841 ggggtttttt gctgaaagga ggaactatat ccggaagctt gaagtctcta ttcttcaaat
3901 agtataggaa cttcataact tcgtatagca tacattatac gaagttatga attcattaaa
3961 gaggagaaag gtaccatggt gcgctcctcc aagaacgtca tcaaggagtt catgcgcttc
4021 aagggtgcgc tggagggcac cgtgaacggc cacgagttcg agatcgaggg cgagggcgag
4081 ggccgcccct acgagggcca caacaccgtg aagctgaagg tgaccaaggg cggccccctg
4141 cccttgcctt gggacatcct gtccccccag ttccagtacg gctccaaggt gtacgtgaag
4201 caccocgccg acatccccga ctacaagaag ctgtccttcc ccgagggctt caagtgggag
4261 cgcgtgatga acttcgagga cggcggcgtg gtgaccgtga ccagagactc ctccctgcag
4321 gacggctgct tcatctacaa ggtgaagttc atcggcgtga acttcccctc cgacggcccc
4381 gtaatgcaga agaagaccat gggctgggag gcctccaccg agcgctgtga cccccgcgac
4441 ggcgtgctga agggcgagat ccacaaggcc ctgaaagctga aggacggcgg cactacctg
4501 gtggagttca agtccatcta catggccaag aagcccgtgc agctgcccgg ctactactac
4561 gtggactcca agctggacat cacctcccac aacgaggact acaccatcgt ggagcagtac
4621 gagcgcaccg agggccgcca ccacctgttc ctgtagctcg agcaccacca ccaccaccac
4681 tgagatccgg ctgctaacaa agcccgaag gaagctgagt tggctgctgc caccgctgag
4741 caataactag cataaccctt tggggcctct aaacgggtct tgaggggttt ttagtgaaa
4801 ggaggaacta tatccggctg cagaagctta taacttcgta tagcatacat tatacgaagt
4861 tatgatatac gtactgtcga cagaaaaaga ggagaaaggt accatgtcag aattaattaa
4921 agaaaatatg cacatgaaat tatatatgga aggtactgtc aacaatcatc atttcaaatg
4981 cacatccgaa ggtgaaggta aaccatatga aggcacacaa acaatgcgca tcaaagcagt
5041 tgaaggtgga cccctgccct ttgcgtttga cattctcgca acgagcttta tgtacgggtc
5101 taaaactttt atcaatcaca cccaaggcat tcctgacttt tttaaacagt ctttctctga
5161 aggctttacc tgggaacgtg taacaactta tgaagatggc ggtgtactta cagcaactca
5221 agatacgagt ttacaagatg gctgtctgat ttacaatgtt aaaatccgtg gcgtaaattt
5281 cccgagtaac ggacccgtaa tgcaaaaaaa aactcttggg tgggaagcat caacagaaac
5341 cttatatcct gcggacgggtg gcttagaagg acgcgcagac atggcactga aattagttgg
5401 aggcggcatc ttaatctgca acctgaaaac aacctatcgt tccaaaaaac ccgctaaaaa
5461 ccttaaaatg cctggagtat actatggtga tcgtcgctta gaacgtatta aagaagctga
5521 taaagaaacc tacgttgaac aacatgaagt agccgtagcc cgttattgtg accttccgtc
5581 gaaattagga catcgttgac tcgagcacca ccaccaccac cactgagatc cggctgctaa
5641 caaagcccga aaggaagctg agttggctgc tgccaccgct gagcaataac tagcataacc
5701 ccttggggcc tctaaacggg tcttgagggg ttttttgctg aaaggaggaa ctatatccgg
5761 aagcttagat ctgatctatt accctgttat cccta

Nota. Dirección: 5' → 3'

Anexo D

Identificación de parte de la secuencia nucleotídica del RFP del pez Cebra que es parte del vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate) reportado en el Genbank. Código de acceso al Genbank MN623118.1. (Longitud 337 pb).

```
TTCATGTGCAGCTCCATAAGCAAAAGGGGATGATAAGTTTATCACCACCGACTATTTGCAACAGTGCCGT
TGATCGTGCTATGATCGACTGATGTCATCAGCGGTGGAGTGCAATGTCATGAGGGAAGCGGTGATCGCCG
AAGTATCGACTCAACTATCAGAGGTAGTTGGCGTCATCGAGCGCCATCTCGAACCGACGTTGCTGGCCGT
ACATTTGTACGGCTCCGCAGTGGATGGCGGCCCTGAAGCCACACAGTGATATTGATTTGCTGGTTACGGTG
ACCGTAAGGCTTGATGAAACAACCGCGCGAGCTTTGATCAACGACCTTTTGGAAACTTCGGCTTCCCCTG
GAGAGAGCGAGATTCTCCGCGCTGTAGAAGTCACCATTGTTGTGCACGACGACATCATTCGGTGGCGTTA
TCCAGCTAAGCGCGAACTGCAATTTGGAGAATGGCAGCGCAATGACATTCTTGCAGGTATCTTCGAGCCA
GCCACGATCGACATTGATCTGGCTATCTTGGCTGACAAAAAGCAAGAGAACATAGCGTTGCCCTTGGTAGGTC
CAGCGGCGGAGGAACTCTTTGATCCGGTTCCCTGAACAGGATCTATTTGAGGCGCTAAAATGAAACCTTAAC
GCTATGGAACCTCGCCGCCCGACTGGGCTGGCGATGAGCGAAAATGTAGTGCTTACGTTGTCCCGCATTTGG
TACAGCGCAGTAACCGGCAAAATCGCGCCGAAGGATGTCGCTGCCGACTGGGCAATGGAGCGCTGCCGG
CCCAGTATCAGCCCCTCATACTTGAAGCTAGACAGGCTTATCTTGGACAAGAAGAAGATCGCTGGCCCTC
GCGCGCAGATCAGTTGGAAGAATTTGTCCACTACGTGAAAGGCGAGATCACCAAGGTAGTCGGCAAATAA
GATGCCGCTCGCAGTGGATTGGCTGAGCTCATGAAGTTCCTATTTCCGAAGTTCCGCGAACCGCTAAAGG
ATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAG
CGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTT
GCAAAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCG
AAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACC
ACTTCAAGAACTCTGTAGCACCCGCTACATACTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG
TGGCGATAAGTCGTGTCTTACC GGTTGGACTCAAGACGATAGTTACC GGATAAGGCGCAGCGGTCCGGC
TGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGC
GTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGT
CGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCTGTTATCTTTATAGTCTGTCCGGTTTT
CGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCA
GCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTTGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTTCTTTCTTGCCTTATC
CCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACC GCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACC
GAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCTGATGCGGTATTTTTCTCCTTACGCATCTGT
GCGGTATTTACACCGTCTAGAGGATCTCATATGTTGACAGCTAGCTCAGTCCTAGGTATAATGCTAGCG
GATCCGAAGTTCCTATTCTTCAAATAGTATAGGAACTTCATAACTTCGTATAGGATACTTTATACGAAGT
TATGAATTCATTAAAGAGGAGAAAGGTACCATGAGCGCATGATTAAGGAGAACATGCACATGAAGTGT
ACATGGAGGGCACCGTGGACAACCATCACTTCAAGTGCACATCCGAGGGCGAAGGCAAGCCCTACGAGGG
CACCCAGACCATGAGAATCAAGGTGGTTCGAGGGCGGCCCTCTCCCTTCGCCTTCGACATCCTGGCTACT
AGCTTCTCTACGGCAGCAAGACCTTCATCGACCACACCCAGGGCATCCCCGACTTCTTCAAGCAGTCTT
TCCCTGAGGGCTTACATGGGAGAGAGTACCACATACGAAGACGGGGCGTGCTGACCGCTACCCAGGA
CACAGCCTCCAGGACGGCTGCCTCATCTACAACGTCAAGATCAGAGGGGTGAACTTCACATCCAACGGC
CCTGTGATGCAGAAGAAAACACTCGGCTGGGAGGCCCTTACCAGACGCTGTACCCCGCTGACGGCGGCC
TGGAAGGCAGAAACGACATGGCCCTGAAGCTCGTGGGCGGGAGCCATCTGATCGCAAACATCAAGACCAC
ATATAGATCCAAGAAACCCGCTAAGAACCTCAAGATGCCTGGCGTCTACTATGTGGACTACAGACTGGAA
AGAATCAAGGAGGCCAACAACGAGACCTACGTCGAGCAGCACGAGGTGGCAGTGGCCAGATACTGCGACC
TCCCTAGCAAACCTGGGGCACAAGCTCAATTAACCTCGAGCACCACCACCACCACCCTGAGATCCGGCTGC
TAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAACCCCTTGGG
GCCTCTAAACGGGTCTTGGAGGGTTTTTTTTGCTGAAAAGGAGGAACTATATCCGGCTGCAGAAGCTTATAAC
TTCGTATAGGATACTTTATACGAAGTTATGATATCAAAAGAGGAGAAAGGTACCATGGTGAGCAAGGGCGA
GGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCATCCTGGTGCAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGC
GTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCA
AGCTGCCCGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCTGACCTACGGCGTGCAAGTTCAGCCGTACCC
CGACCACATGAAGCAGCAGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCCGACCATC
TTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACC
GCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGAGCGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACATA
CAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGC
CACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCCTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCC
CCGTGCTGCTGCCCCACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCG
```

CGATCACATGGTCTCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAG
TAACTCGAGCACCACCACCACCACCACCCTGAGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGG
CTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAAACCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGTTTTTTT
GCTGAAAGGAGGAAGTATATCCGGAAGCTTGAAGTTCTTCTCAAATAGTATAGGAACTTCATAACT
TCGTATAGCATAACATTATACGAAGTTATGAATTCATTAAGAGGAGAAAGGTACCATGGTGCCTCCTCC
AAGAACGTCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCGCATGGAGGGCACCCTGAACGGCCACGAGTTCG
AGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCCACAACACCGTGAAGCTGAAGGTGACCAAGGG
CGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCCAGTTCAGTACGGCTCCAAGGTGTACGTGAAG
CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGA
ACTTCGAGGACGGCGGGCTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCTTCATCTACAA
GGTGAAGTTCATCGGCGTGAAGTTCCTCCCTCCGACGGCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAG
GCCTCCACCGAGCGCTGTACCCCCGCGACGGCGTGCTGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGA
AGGACGGCGGGCCACTACCTGGTGGAGTTC AAGTCCATCTACATGGCCAAG AAGCCCTGCAGCTGCCCGG
CTACTACTACGTGGACTCCAAGCTGGACATCACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAGCAGTAC
GAGCGCACCGAGGGCCGCCACCACCTGTTCTGTAGCTCGAGCACCACCACCACCACCCTGAGATCCGG
CTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAAACCCT
TGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGTTTTTTTGGCTGAAAGGAGGAACTATATCCGGCTGCAGAAGCTTA
TAACTTCGTATAGCATAACATTATACGAAGTTATGATATCAGTACTGTGACAGAAAAAGAGGAGAAAGGT
ACCATGTCAGAATTAATTAAGAAAAATATGCACATGAAATTAATATATGGAAGGTACTGTCAACAATCATC
ATTTCAAATGCACATCCGAAGGTGAAGGTAAACCATATGAAGGCACACAAACAATGCGCATCAAAGCAGT
TGAAGGTGGACCCCTGCCCTTTGCGTTTTGACATTCCTCGCAACGAGCTTTATGTACGGGTCTAAAACTTTT
ATCAATCACACCCAAGGCATTCCTGACTTTTTTTAAACAGTCTTTTCTGAAGGCTTTACCTGGGAACGTG
TAACAACCTTATGAAGATGGCGGTGTACTTACAGCAACTCAAGATACGAGTTTACAAGATGGCTGTCTGAT
TTACAATGTTAAAATCCGTGGCGTAAATTTCCCGAGTAACGGACCCGTAATGCAAAAAAAACTCTTGGT
TGGGAAGCATCAACAGAAACCTTATATCCTGCGGACGGTGGCTTAGAAGGACGCGCAGACATGGCACTGA
AATTAGTTGGAGGCGGTCAATTAATCTGCAACCTGAAAAACAACCTATCGTTCCAAAAAACCCTAAAAA
CCTTAAAATGCCTGGAGTATACTATGTTGATCGCTGCTTAGAACGTATTAAGAAGCTGATAAAGAAACC
TACGTTGAACAACATGAAGTAGCCGTAGCCCGTATTGTTGACCTTCCGTCGAAATTAGGACATCGTTGAC
TCGAGCACCACCACCACCACCCTGAGATCCGGCTGCTAACAAAGCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGC
TGCCACCGCTGAGCAATAACTAGCATAAACCCTTGGGGCCTCTAAACGGGTCTTGAGGGTTTTTTTGGCTG
AAAGGAGGAAGTATATCCGGAAGCTTAGATCTGATCTATTACCTGTTATCCCTA

Nota. Dirección: 5' → 3'

Anexo E

Obtención de las secuencias nucleotídicas alineadas del GFP reportadas en el GenBank con la secuencia consenso de la GFP del pez Cebra (*Danio rerio*).

Job Title Consensus 1_3_GFP

RID [8FDF479W01N](#) Search expires on 05-21 23:38 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lcl|Query_36939

Description None

Molecule type dna

Query Length 566

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show ?

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1027	1027	99%	0.0	99.64%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1027	1027	99%	0.0	99.64%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1027	1027	99%	0.0	99.64%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1027	1027	99%	0.0	99.64%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1027	1027	99%	0.0	99.64%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1027 bits(556)	0.0	561/563(99%)	1/563(0%)	Plus/Minus

```

Query 1      GTGCTCCAAGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTGCGCCGATGGGGGTGTTCTCG 60
Sbjct 1111   GTGCT-CAGGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTGCGCCGATGGGGGTGTTCTCG 1053

Query 61     CTGGTAGTGGT CGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT 120
Sbjct 1052   CTGGTAGTGGT CGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT 993

Query 121    CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT 180
Sbjct 992    CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT 933

Query 181    GTACTCCAGCTTGTCGCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTCAGCTC 240
Sbjct 932    GTACTCCAGCTTGTCGCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTCAGCTC 873

Query 241    GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCCCTCGAAGTTACCTCGGCGCGGGTCTTGTAGTTGCC 300
Sbjct 872    GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCCCTCGAAGTTACCTCGGCGCGGGTCTTGTAGTTGCC 813

Query 301    GTCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAA 360
Sbjct 812    GTCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAA 753

Query 361    GAAGTCGTGCTGCTCATGTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGATAGGTCAG 420
Sbjct 752    GAAGTCGTGCTGCTCATGTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGATAGGTCAG 693

Query 421    GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGGCGGTGGTGCAGATGAAGTTGAG 480
Sbjct 692    GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGGCGGTGGTGCAGATGAAGTTGAG 633

Query 481    GGTGAGCTGCGGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAAGTTGTGGCC 540
Sbjct 632    GGTGAGCTGCGGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAAGTTGTGGCC 573

Query 541    GTTTACGTCGCCGTCAGCTCGA 563
Sbjct 572    GTTTACGTCGCCGTCAGCTCGA 550
  
```

Job Title **Consensus 1_4_GFP**

RID [8FDR4EE2013](#) Search expires on 05-21 23:42 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_16737

Description None

Molecule type dna

Query Length 567

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1009	1009	98%	0.0	99.46%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1009	1009	98%	0.0	99.46%	11849	OL670855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1009	1009	98%	0.0	99.46%	11882	OL670854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP1) gene, complete cds	Mus musculus	1009	1009	98%	0.0	99.46%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1009	1009	98%	0.0	99.46%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 557 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1009 bits(546)	0.0	554/557(99%)	3/557(0%)	Plus/Plus
Query 12	GGAC -GCGACGTA AACGGCCACAAGTTCA GCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCAC	70		
Sbjct 557	GGACGGCGACGTA AACGGCCACAAGTTCA GCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCAC	616		
Query 71	CTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTCA TCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCC	130		
Sbjct 617	CTACGGCAAGCTGACCCCTGAAGTTCA TCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGCCCTGGCC	676		
Query 131	CACCCCTCGTGACCCCTGACCTACGGCGTG CAGTGCTTACGCCGCTACCCCGACCCACAT	190		
Sbjct 677	CACCCCTCGTGACCCCTGACCTACGGCGTG CAGTGCTTACGCCGCTACCCCGACCCACAT	736		
Query 191	GAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCA TGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCAT	250		
Sbjct 737	GAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCA TGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCAT	796		
Query 251	CTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGAC CCGCGCCGAGGTGAAGTTGAGGGCGACAC	310		
Sbjct 797	CTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGAC CCGCGCCGAGGTGAAGTTGAGGGCGACAC	856		
Query 311	CCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCA TC GACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGG	370		
Sbjct 857	CCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCA TC GACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGG	916		
Query 371	GCACAAGCTGGAGTACAACCTACAACAGCC ACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAA	430		
Sbjct 917	GCACAAGCTGGAGTACAACCTACAACAGCC ACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAA	976		
Query 431	GAAAGGATCAAGGTGAACCTCAAGATCCG CCAACAACATCGAGGACGGCAGCGTGACGT	490		
Sbjct 977	GAAAGGATCAAGGTGAACCTCAAGATCCG CCAACAACATCGAGGACGGCAGCGTGACGT	1036		
Query 491	CGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCA TC GCGGACGGCCCGTGCTGCTGCCCGACAA	550		
Sbjct 1037	CGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCA TC GCGGACGGCCCGTGCTGCTGCCCGACAA	1096		
Query 551	CCACTACCTTGAAGCAC 567			
Sbjct 1097	CCACTACCT-GA-GCAC 1111			

Job Title **Consensus 1_5_GFP**

RID [8FDYF4GP013](#) Search expires on 05-21 23:46 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_49001

Description None

Molecule type dna

Query Length 565

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism *only top 20 will appear* exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all *10 sequences selected* [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1016	1016	99%	0.0	99.29%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1016	1016	99%	0.0	99.29%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1016	1016	99%	0.0	99.29%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1016	1016	99%	0.0	99.29%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP	1016	1016	99%	0.0	99.29%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP	1016	1016	99%	0.0	99.29%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP	1016	1016	99%	0.0	99.29%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-w2 GFP, complete s...	Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-w2 G...	1016	1016	99%	0.0	99.29%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 G...	1016	1016	99%	0.0	99.29%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 G...	1016	1016	99%	0.0	99.29%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1016 bits(550)	0.0	559/563(99%)	1/563(0%)	Plus/Plus
Query 3	TCGAGCTGGGAGGCGACGTAACGGCCACAAGTTCAAGTCCGCGTCCGGCGAGGGCGAGGGCG	62		
Sbjct 550	TCGAGCTGGGAGGCGACGTAACGGCCACAAGTTCAAGTCCGCGTCCGGCGAGGGCGAGGGCG	609		
Query 63	ATGCCACCTACGGCAAGCTGACCTGAAAGTTCACTGACACCACCGGCAAGCTGCCCGTGC	122		
Sbjct 610	ATGCCACCTACGGCAAGCTGACCTGAAAGTTCACTGACACCACCGGCAAGCTGCCCGTGC	669		
Query 123	CCTGGCCACCCCTCGTGACACCCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCG	182		
Sbjct 670	CCTGGCCACCCCTCGTGACACCCCTGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCG	729		
Query 183	ACCACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAAGGCTACGTCCAGGAGC	242		
Sbjct 730	ACCACATGAAGCAGCAGCACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAAGGCTACGTCCAGGAGC	789		
Query 243	GCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGG	302		
Sbjct 790	GCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGG	849		
Query 303	GGGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACA	362		
Sbjct 850	GGGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACA	909		
Query 363	TCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACACTACAAGCAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACA	422		
Sbjct 910	TCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACACTACAAGCAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACA	969		
Query 423	AGCAGAAGAAGCGCATCAAGGTGAACCTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCG	482		
Sbjct 970	AGCAGAAGAAGCGCATCAAGGTGAACCTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCG	1029		
Query 483	TGCAGCTCGCCGACCACTACAGCAGAACCCCATCGGCGACGGCCCGTGTCTGTGC	542		
Sbjct 1030	TGCAGCTCGCCGACCACTACAGCAGAACCCCATCGGCGACGGCCCGTGTCTGTGC	1089		
Query 543	CCGACAACCACTACTTTGGAGCAC 565			
Sbjct 1090	CCGACAACCACTACTTTGGAGCAC 1111			

Job Title **Consensus 1_6_GFP**

RID [8FE7192F013](#) Search expires on 05-21 23:50 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_3083

Description None

Molecule type dna

Query Length 571

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1026	1026	98%	0.0	99.47%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1026	1026	98%	0.0	99.47%	11849	OL670855.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1026	1026	98%	0.0	99.47%	11882	OL670854.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1026	1026	98%	0.0	99.47%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP	1026	1026	98%	0.0	99.47%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP	1026	1026	98%	0.0	99.47%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP	1026	1026	98%	0.0	99.47%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-w2 GFP, complete s...	Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-...	1026	1026	98%	0.0	99.47%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 G...	1026	1026	98%	0.0	99.47%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 GFP, complete seque...	Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 G...	1026	1026	98%	0.0	99.47%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1112 [GenBank](#) [Graphics](#) ▾ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1026 bits(555)	0.0	562/565(99%)	2/565(0%)	Plus/Minus
Query 2	GGTGCTCAAGTAGTGGTTGT	CGGGCAGCAGCAGGGGCCGT	CGCCGATGGGGTGTCT	61
Sbjct 1112	GGTGC-TCAGGTAGTGGTTGT	CGGGCAGCAGCAGGGGCCGT	CGCCGATGGGGTGTCT	1054
Query 62	GCTGGTAGTGGTCGGCAGCTG	CACGCTGCCGCTCCTGATGTT	GTCGGGATCTTGAAAGT	121
Sbjct 1053	GCTGGTAGTGGTCGGCAGCTG	CACGCTGCCGCTCCTGATGTT	GTCGGGATCTTGAAAGT	994
Query 122	TCACCTTGATGCCGTTCTTCT	GCTTGTCCGACATGATATAG	ACGTTGTGGCTTGTAGT	181
Sbjct 993	TCACCTTGATGCCGTTCTTCT	GCTTGTCCGACATGATATAG	ACGTTGTGGCTTGTAGT	934
Query 182	TGTACTCCAGCTTGTGCCCA	GAGATGTTGCCGCTCCTT	GAAAGTCGATGCCCTCAGCT	241
Sbjct 933	TGTACTCCAGCTTGTGCCCA	GAGATGTTGCCGCTCCTT	GAAAGTCGATGCCCTCAGCT	874
Query 242	CGATGCGGTTACCAAGGGT	GTGCGCCCTGAACTTCACT	CGGCGGGTCTTGTAGTTGC	301
Sbjct 873	CGATGCGGTTACCAAGGGT	GTGCGCCCTGAACTTCACT	CGGCGGGTCTTGTAGTTGC	814
Query 302	CGTCGTCCTTGAAGAAGAT	GGTGCGCTCTGGACGTAG	CCTTGGGCATGGCGACTGA	361
Sbjct 813	CGTCGTCCTTGAAGAAGAT	GGTGCGCTCTGGACGTAG	CCTTGGGCATGGCGACTGA	754
Query 362	AGAAGTCGTGCTTCAATGT	GTTGGTGGGGTAGCGGCT	GAAAGCACTGCACGCCGTAGGTC	421
Sbjct 753	AGAAGTCGTGCTTCAATGT	GTTGGTGGGGTAGCGGCT	GAAAGCACTGCACGCCGTAGGTC	694
Query 422	GGGTGGTCACGAGGGTGG	GCCAGGGCACGGCAGCTT	GCCGGTGGTGCAGTGA	481
Sbjct 693	GGGTGGTCACGAGGGTGG	GCCAGGGCACGGCAGCTT	GCCGGTGGTGCAGTGA	634
Query 482	GGGTCAGCTTGCCTGAGGT	GGCATCGCCCTCGCCCT	CGCCGACACGCTGAACTTGTGGC	541
Sbjct 633	GGGTCAGCTTGCCTGAGGT	GGCATCGCCCTCGCCCT	CGCCGACACGCTGAACTTGTGGC	574
Query 542	CGTTTACGTCGCCGTC	CCAGCTCGA		566
Sbjct 573	CGTTTACGTCGCCGTC	AGCTCGA		550

Job Title **Consensus_1_7_GFP**

RID [8FEDAG4C016](#) Search expires on 05-21 23:54 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_52399

Description None

Molecule type dna

Query Length 551

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1011	1011	100%	0.0	99.82%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1011	1011	100%	0.0	99.82%	11849	OL670855.1
<input checked="" type="checkbox"/> Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1011	1011	100%	0.0	99.82%	11882	OL670854.1
<input checked="" type="checkbox"/> Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1011	1011	100%	0.0	99.82%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete s...	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/> Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1011	1011	100%	0.0	99.82%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 562 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1011 bits(547)	0.0	550/551(99%)	1/551(0%)	Plus/Minus
Query 1	GTGCTCCAGGTAGTGGTTGTCTGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTG	60		
Sbjct 1111	GTGCT-CAGGTAGTGGTTGTCTGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTG	1053		
Query 61	CTGGTAGTGGTCGGCAGACTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT	120		
Sbjct 1052	CTGGTAGTGGTCGGCAGACTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT	993		
Query 121	CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTCTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT	180		
Sbjct 992	CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTCTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT	933		
Query 181	GTA CTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTC	240		
Sbjct 932	GTA CTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTC	873		
Query 241	GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTACCTCGGCGGGGCTTGTAGTTGCC	300		
Sbjct 872	GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTACCTCGGCGGGGCTTGTAGTTGCC	813		
Query 301	GTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGGCTCCTGGACGTAGCCTTGGGATGGCGGACTTGAA	360		
Sbjct 812	GTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGGCTCCTGGACGTAGCCTTGGGATGGCGGACTTGAA	753		
Query 361	GAAGTCGTGCTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAG	420		
Sbjct 752	GAAGTCGTGCTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAG	693		
Query 421	GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAG	480		
Sbjct 692	GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAG	633		
Query 481	GGTCAGCTTGCCGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTGTGGCC	540		
Sbjct 632	GGTCAGCTTGCCGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTGTGGCC	573		
Query 541	GTTTACGTCGC 551			
Sbjct 572	GTTTACGTCGC 562			

Job Title **Consensus 3_1_GFP**

RID [8FET5AYH01N](#) Search expires on 05-22 00:00 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_287375

Description None

Molecule type dna

Query Length 587

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1022	1022	95%	0.0	99.47%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1022	1022	95%	0.0	99.47%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1022	1022	95%	0.0	99.47%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1022	1022	95%	0.0	99.47%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0133_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0133_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	95%	0.0	99.47%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1022 bits(553)	0.0	560/563(99%)	1/563(0%)	Plus/Minus
Query 1	GTGCTCCAGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGC	60		
Sbjct 1111	GTGCTCAGGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGC	1052		
Query 61	TGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTC	120		
Sbjct 1051	TGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTC	992		
Query 121	ACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGCGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGATGTTG	180		
Sbjct 991	ACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGCGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGATGTTG	932		
Query 181	TACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTCG	240		
Sbjct 931	TACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTCG	872		
Query 241	ATGCGGTTACCAAGGGTGTGCCCCCGAATTACCTCGGCAGGGTCTTGTAGTTGCCG	300		
Sbjct 871	ATGCGGTTACCAAGGGTGTGCCCCCGAATTACCTCGGCAGGGTCTTGTAGTTGCCG	812		
Query 301	TCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAAG	360		
Sbjct 811	TCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAAG	752		
Query 361	AAGTCGTGCTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAGG	420		
Sbjct 751	AAGTCGTGCTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAGG	692		
Query 421	GTGGTCACGAGGGTGGCCAGGGCACGGGACGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAGG	480		
Sbjct 691	GTGGTCACGAGGGTGGCCAGGGCACGGGACGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAGG	632		
Query 481	GTCAGCTTGCCGTAGGTGGCATGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCCG	540		
Sbjct 631	GTCAGCTTGCCGTAGGTGGCATGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCCG	572		
Query 541	TTTACGTGCCGTCCTCCAGCTCGA	563		
Sbjct 571	TTTACGTGCCGTCCTCCAGCTCGA	550		

Job Title **Consensus 3_2_GFP**

RID [8FF0F6A301N](#) Search expires on 05-22 00:04 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID Icl|Query_343703

Description None

Molecule type dna

Query Length 563

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism *only top 20 will appear* exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all *10 sequences selected* [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1022	1022	99%	0.0	99.64%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1022	1022	99%	0.0	99.64%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1022	1022	99%	0.0	99.64%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1022	1022	99%	0.0	99.64%	8851	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete s...	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequ...	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete seque...	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1022	1022	99%	0.0	99.64%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 554 to 1112 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1027 bits(556)	0.0	559/560(99%)	1/560(0%)	Plus/Minus
Query 3	GGTGCCTCAGGTAAGTGGTTGTGCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTG	62		
Sbjct 1112	GGTGCCTCAGGTAAGTGGTTGTGCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTG	1053		
Query 63	CTGGTAGTGGTCGGCGAGCTGCACGCTGCCGCTCCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT	122		
Sbjct 1052	CTGGTAGTGGTCGGCGAGCTGCACGCTGCCGCTCCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTT	993		
Query 123	CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGCGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT	182		
Sbjct 992	CACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGCGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTT	933		
Query 183	GTAAGTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGCTCCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAAGCTC	242		
Sbjct 932	GTAAGTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGCTCCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAAGCTC	873		
Query 243	GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTCACTCGGCGCGGGTCTTGTAGTTGCC	302		
Sbjct 872	GATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTCACTCGGCGCGGGTCTTGTAGTTGCC	813		
Query 303	GTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTGGGCAATGGCGGACTTGAA	362		
Sbjct 812	GTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTGGGCAATGGCGGACTTGAA	753		
Query 363	GAAGTCGTGCTCTCATGTGGTTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAG	422		
Sbjct 752	GAAGTCGTGCTCTCATGTGGTTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAG	693		
Query 423	GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGCCTGGTGGTGCAGATGAACCTCAG	482		
Sbjct 692	GGTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGCAGCTTGCCTGGTGGTGCAGATGAACCTCAG	633		
Query 483	GGTCAGCTTGCCTGAGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCC	542		
Sbjct 632	GGTCAGCTTGCCTGAGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCC	573		
Query 543	GTTTACGTCGCCGTCAGC 562			
Sbjct 572	GTTTACGTCGCCGTCAGC 554			

Job Title **Consensus 3_3_GFP**

RID [8FF8E90N01N](#) Search expires on 05-22 00:08 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID Icl|Query_409751

Description None

Molecule type dna

Query Length 585

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1007	1007	96%	0.0	98.94%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1007	1007	96%	0.0	98.94%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1007	1007	96%	0.0	98.94%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1007	1007	96%	0.0	98.94%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP	1007	1007	96%	0.0	98.94%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1007 bits(545)	0.0	560/566(99%)	5/566(0%)	Plus/Minus
Query 6	GTGCTCCAAGTAGTGGTTGTCGGGACGACGACGGGCGCGCCGATGGGGGTGTTCTG	65		
Sbjct 1111	GTGCT-CAGGTAGTGGTTGTCGGGACGACGACGGGCGCGCCGATGGGGGTGTTCTG	1053		
Query 66	CTGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCTCCGATGTTGTGGCGGATCTGAAGT	125		
Sbjct 1052	CTGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCTCCGATGTTGTGGCGGATCTGAAGT	994		
Query 126	TCACCTTGATGCCGTTCTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGT	185		
Sbjct 993	TCACCTTGATGCCGTTCTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGT	934		
Query 186	TGTACTCCAGCTTGTGCCCAAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCT	245		
Sbjct 933	TGTACTCCAGCTTGTGCCCAAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCT	874		
Query 246	CGATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTACCTCGGCGGGTCTTGTAGTTGC	305		
Sbjct 873	CGATGCGGTTACCAAGGGTGTGCGCCCTCGAACTTACCTCGGCGGGTCTTGTAGTTGC	814		
Query 306	CGTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCTGGACGTAGCCTCGGGCATGGCGGACTTGA	365		
Sbjct 813	CGTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCTGGACGTAGCCTCGGGCATGGCGGACTTGA	754		
Query 366	AGAAGTCGTGCTGCTTCAATGTTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAAGTCA	425		
Sbjct 753	AGAAGTCGTGCTGCTTCAATGTTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAAGTCA	694		
Query 426	GGGTGGTACGAGGGTGGCCAGGGCACGGGACGCTTCCCGTGGTGCAGATGAAGTCA	485		
Sbjct 693	GGGTGGTACGAGGGTGGCCAGGGCACGGGACGCTTCCCGTGGTGCAGATGAAGTCA	634		
Query 486	GGGTGAGCTTGCCTAGGTTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAAGTGTGGC	545		
Sbjct 633	GGGTGAGCTTGCCTAGGTTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAAGTGTGGC	574		
Query 546	CGTTTACGTCGC-GTCCCAGCCTCGA 570			
Sbjct 573	CGTTTACGTCGCGCCGTC-AGC-TCGA 550			

Job Title **Consensus 3_4_GFP**

RID [8FFFTJ3101N](#) Search expires on 05-22 00:12 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID Icl|Query_277115

Description None

Molecule type dna

Query Length 582

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1029	1029	96%	0.0	99.65%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1029	1029	96%	0.0	99.65%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1029	1029	96%	0.0	99.65%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1029	1029	96%	0.0	99.65%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0138_DT-y1b-y1_in-w2_GFP	1029	1029	96%	0.0	99.65%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0131_tMCR_y1-w2b_in-w2_GFP	1029	1029	96%	0.0	99.65%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP, complete sequence	Cloning vector pV/MG0130_tMCR_w2-y1b_in-w2_GFP	1029	1029	96%	0.0	99.65%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-w2_GFP, complete s...	Cloning vector pV/MG0129_tMCR_w2-y1-w2b-y1b_in-...	1029	1029	96%	0.0	99.65%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_GFP, complete sequ...	Cloning vector pV/MG0128_tMCR_w2-y1-w2b_in-w2_G...	1029	1029	96%	0.0	99.65%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pV/MG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_GFP, complete sequ...	Cloning vector pV/MG0127_tMCR_w2-y1-y1b_in-w2_G...	1029	1029	96%	0.0	99.65%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 550 to 1112 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1029 bits(557)	0.0	562/564(99%)	1/564(0%)	Plus/Minus
Query 1	GGTGCCTCCAAGTAGTGGTGTGCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCT	60		
Sbjct 1112	GGTGCCT-CAGGTAGTGGTGTGCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCT	1054		
Query 61	GCTGGTAGTGGTGGCGGAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGT	120		
Sbjct 1053	GCTGGTAGTGGTGGCGGAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGT	994		
Query 121	TCACCTTGATGCCGTTCTCTGCTGTGCGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGT	180		
Sbjct 993	TCACCTTGATGCCGTTCTCTGCTGTGCGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGT	934		
Query 181	TGTAAGTCTGCTGTTGCGCCAGGATGTTGCCGTCCTCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCT	240		
Sbjct 933	TGTAAGTCTGCTGTTGCGCCAGGATGTTGCCGTCCTCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCT	874		
Query 241	CGATGCGGTTACACAGGGTGTGCGCCCTCGAAGTTCACCTCGGCGGGTCTTGTAGTTGC	300		
Sbjct 873	CGATGCGGTTACACAGGGTGTGCGCCCTCGAAGTTCACCTCGGCGGGTCTTGTAGTTGC	814		
Query 301	CGTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGA	360		
Sbjct 813	CGTCGTCCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGA	754		
Query 361	AGAAAGTCGTGCTGCTTCAATGTTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCGTAGGTCA	420		
Sbjct 753	AGAAAGTCGTGCTGCTTCAATGTTGGTGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCGTAGGTCA	694		
Query 421	GGGTGGTACAGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGACGCTTGGCGGTGGTGCAGATGAACTTCA	480		
Sbjct 693	GGGTGGTACAGAGGGTGGGCCAGGGCACGGGACGCTTGGCGGTGGTGCAGATGAACTTCA	634		
Query 481	GGGTACGCTTGGCGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACTTGTGGC	540		
Sbjct 633	GGGTACGCTTGGCGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACTTGTGGC	574		
Query 541	CGTTTACGTCGCCGTCAGCTCGA	564		
Sbjct 573	CGTTTACGTCGCCGTCAGCTCGA	550		

Job Title **Consensus 3_5_GFP**

RID [8FFKZP0301N](#) Search expires on 05-22 00:14 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_300001

Description None

Molecule type dna

Query Length 551

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds	synthetic construct	1018	1018	100%	0.0	100.00%	2512	MZ522125.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH84, complete sequence	Binary vector pZH84	1018	1018	100%	0.0	100.00%	11849	OL870855.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Binary vector pZH83, complete sequence	Binary vector pZH83	1018	1018	100%	0.0	100.00%	11882	OL870854.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Mus musculus transgenic EGFP (EGFP) gene, complete cds	Mus musculus	1018	1018	100%	0.0	100.00%	8651	OK586152.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0138 DT-y1b-y1 in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	8957	OL630776.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0131 tMCR y1-w2b in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	8468	OL630775.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0130 tMCR w2-y1b in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	8468	OL630774.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0129 tMCR w2-y1-w2b-y1b in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	9645	OL630773.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0128 tMCR w2-y1-w2b in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	9360	OL630772.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 GFP, complete sequence	Cloning vector pVMG0127 tMCR w2-y1-y1b in-w2 GFP	1018	1018	100%	0.0	100.00%	9360	OL630771.1

Synthetic construct eGFP-Neo fusion protein gene, complete cds

Sequence ID: [MZ522125.1](#) Length: 2512 Number of Matches: 1

Range 1: 561 to 1111 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1018 bits(551)	0.0	551/551(100%)	0/551(0%)	Plus/Minus
Query 1	GTGCTCAGGTAAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGC	60		
Sbjct 1111	GTGCTCAGGTAAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCACGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGC	1052		
Query 61	TGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTC	120		
Sbjct 1051	TGGTAGTGGTCGGCAGCTGCACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTC	992		
Query 121	ACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTTG	180		
Sbjct 991	ACCTTGATGCCGTTCTTCTGCTTGTGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTTG	932		
Query 181	TACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTCG	240		
Sbjct 931	TACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCCTTCAGCTCG	872		
Query 241	ATGCGGTTACACAGGGGTGTCGCCCTCGAACTTACCTCGGCAGGGGCTTGTAGTTGCCG	300		
Sbjct 871	ATGCGGTTACACAGGGGTGTCGCCCTCGAACTTACCTCGGCAGGGGCTTGTAGTTGCCG	812		
Query 301	TCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAAG	360		
Sbjct 811	TCGTCTTGAAGAAGATGGTGCCTCCTGGACGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAAG	752		
Query 361	AAGTCGTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAGG	420		
Sbjct 751	AAGTCGTGCTTTCATGTGGTCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAGG	692		
Query 421	GTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGACGGGACGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAGG	480		
Sbjct 691	GTGGTCACGAGGGTGGGCCAGGGACGGGACGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAACCTCAGG	632		
Query 481	GTCAGCTTCCCGTAGGTTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCCG	540		
Sbjct 631	GTCAGCTTCCCGTAGGTTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAACCTTGTGGCCG	572		
Query 541	TTTACGTCGCC	551		
Sbjct 571	TTTACGTCGCC	561		

Anexo F

Obtención de las secuencias nucleotídicas alineadas del RFP reportadas en el GenBank con la secuencia consenso de la GFP del pez Cebra (*Danio rerio*).

Job Title Consensus 1_1_RFP

RID [8FD6M7RM013](#) Search expires on 05-21 23:33 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID |c|Query_64489

Description None

Molecule type dna

Query Length 330

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ⓘ

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 10 ▾ ⓘ

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete...	Cloning vector pColE-FRT-lox227...	610	610	100%	4e-170	100.00%	5795	MN623118.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp-aTubCas9bTub-U63q4-DsRed-attB, complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp...	610	610	100%	4e-170	100.00%	12089	KY171963.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-aTubCas9bTub-U63q4-dsRed-attB, complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-aTubCa...	610	610	100%	4e-170	100.00%	11162	KY171962.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-RS2, complete sequence	Chloroplast transformation vector...	610	610	100%	4e-170	100.00%	7672	KY426960.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-MRS, complete sequence	Chloroplast transformation vector...	610	610	100%	4e-170	100.00%	7659	KY426959.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069D-rab11, complete sequence	Cloning vector 1069D-rab11	610	1126	100%	4e-170	100.00%	13313	MW540524.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069E-spo11, complete sequence	Cloning vector 1069E-spo11	610	1126	100%	4e-170	100.00%	14037	MW540523.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069C-rab5, complete sequence	Cloning vector 1069C-rab5	610	1126	100%	4e-170	100.00%	13315	MW540522.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069A-prosalpha2, complete sequence	Cloning vector 1069A-prosalpha2	610	1126	100%	4e-170	100.00%	13941	MW540521.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct transgenic, complete sequence	synthetic construct	610	610	100%	4e-170	100.00%	1936	KC733875.1

Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete sequence

Sequence ID: [MN623118.1](#) Length: 5795 Number of Matches: 1

Range 1: 4208 to 4537 [GenBank](#) [Graphics](#)

▾ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
610 bits(330)	4e-170	330/330(100%)	0/330(0%)	Plus/Plus
Query 1	CCGACATCCCAGACTACAAGAAGCTGTCCCTTCCCAGGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGA	60		
Sbjct 4208	CCGACATCCCAGACTACAAGAAGCTGTCCCTTCCCAGGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGA	4267		
Query 61	TGAAC TTCGAGGACGGCGGCTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCT	120		
Sbjct 4268	TGAAC TTCGAGGACGGCGGCTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGACGGCT	4327		
Query 121	GCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATCGGCGTGAACCTCCCTCCGACGGCCCGTAATGC	180		
Sbjct 4328	GCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATCGGCGTGAACCTCCCTCCGACGGCCCGTAATGC	4387		
Query 181	AGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCTCCACCGAGCGCTGTACCCCGCGACGGCGTGC	240		
Sbjct 4388	AGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCTCCACCGAGCGCTGTACCCCGCGACGGCGTGC	4447		
Query 241	TGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGCCACTACCTGGTGGAGT	300		
Sbjct 4448	TGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGCCACTACCTGGTGGAGT	4507		
Query 301	TCAAGTCCATCTACATGGCCAAGAAGCCCG	330		
Sbjct 4508	TCAAGTCCATCTACATGGCCAAGAAGCCCG	4537		

Job Title **Consensus_1_2_RFP**

RID [8FDBDS8V016](#) Search expires on 05-21 23:36 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_28581

Description None

Molecule type dna

Query Length 342

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show 10 ▾ [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2... complete sequence	Cloning vector pColE-FRT-lox2272...	632	632	100%	8e-177	100.00%	5795	MN623118.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp-aTubCas9bTub-U63q4-DsRed-attB... complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp...	632	632	100%	8e-177	100.00%	12089	KY171963.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-aTubCas9bTub-U63q4-dsRed-attB... complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-aTubCa...	632	632	100%	8e-177	100.00%	11162	KY171962.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-RS2... complete sequence	Chloroplast transformation vector ...	632	632	100%	8e-177	100.00%	7672	KY426960.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-MRS2... complete sequence	Chloroplast transformation vector ...	632	632	100%	8e-177	100.00%	7659	KY426959.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069D-rab11... complete sequence	Cloning vector 1069D-rab11	632	1171	100%	8e-177	100.00%	13313	MW540524.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069E-spo11... complete sequence	Cloning vector 1069E-spo11	632	1171	100%	8e-177	100.00%	14037	MW540523.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069C-rab5... complete sequence	Cloning vector 1069C-rab5	632	1171	100%	8e-177	100.00%	13315	MW540522.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069A-prosalpha2... complete sequence	Cloning vector 1069A-prosalpha2	632	1171	100%	8e-177	100.00%	13941	MW540521.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct transgenic... complete sequence	synthetic construct	632	632	100%	8e-177	100.00%	1936	KC733875.1

Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete sequence
 Sequence ID: [MN623118.1](#) Length: 5795 Number of Matches: 1

Range 1: 4196 to 4537 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
632 bits(342)	8e-177	342/342(100%)	0/342(0%)	Plus/Minus
Query 1		CGGGCTTCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCACACAGGTAGTGCCCGCCGTCCTTCA		60
Sbjct 4537		CGGGCTTCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCACACAGGTAGTGCCCGCCGTCCTTCA		4478
Query 61		GCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAAGCAGCCGTCGCGGGGGTACAGGCGCTCGG		120
Sbjct 4477		GCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAAGCAGCCGTCGCGGGGGTACAGGCGCTCGG		4418
Query 121		TGGAGGCCCTCCAGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCCGTCGGAGGGGAAGTTCA		180
Sbjct 4417		TGGAGGCCCTCCAGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCCGTCGGAGGGGAAGTTCA		4358
Query 181		CGCCGATGAACCTTACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGTCTGGGTCA		240
Sbjct 4357		CGCCGATGAACCTTACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGTCTGGGTCA		4298
Query 241		CGGTACACACGCCCGCTCCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGCCCTCGGGGA		300
Sbjct 4297		CGGTACACACGCCCGCTCCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGCCCTCGGGGA		4238
Query 301		AGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGCTTCA		342
Sbjct 4237		AGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGCTTCA		4196

Job Title Consensus 2_1_RFP
RID [8FEJ86EX01N](#) Search expires on 05-21 23:56 pm [Download All](#) ▾
Program BLASTN [Citation](#) ▾
Database nt [See details](#) ▾
Query ID Icl|Query_246333
Description None
Molecule type dna
Query Length 339
Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude
 Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)
Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Descriptions](#) [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2... complete...	Cloning vector pColE-FRT-lox227...	627	627	100%	4e-175	100.00%	5795	MN623118.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp-aTubCas9bTub-U63q4-DsRed-attB... complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp...	627	627	100%	4e-175	100.00%	12089	KY171963.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector pCRII-attB-aTubCas9bTub-U63q4-dsRed-attB... complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-aTubCa...	627	627	100%	4e-175	100.00%	11162	KY171962.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-RS2... complete sequence	Chloroplast transformation vector...	627	627	100%	4e-175	100.00%	7672	KY426960.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Chloroplast transformation vector pTCH-MRS... complete sequence	Chloroplast transformation vector...	627	627	100%	4e-175	100.00%	7659	KY426959.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069D-rab11... complete sequence	Cloning vector 1069D-rab11	627	1160	100%	4e-175	100.00%	13313	MW540524.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069E-spo11... complete sequence	Cloning vector 1069E-spo11	627	1160	100%	4e-175	100.00%	14037	MW540523.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069C-rab5... complete sequence	Cloning vector 1069C-rab5	627	1160	100%	4e-175	100.00%	13315	MW540522.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Cloning vector 1069A-prosalpha2... complete sequence	Cloning vector 1069A-prosalpha2	627	1160	100%	4e-175	100.00%	13941	MW540521.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Synthetic construct transgenic... complete sequence	synthetic construct	627	627	100%	4e-175	100.00%	1936	KC733875.1

Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete sequence

Sequence ID: [MN623118.1](#) Length: 5795 Number of Matches: 1

Range 1: 4199 to 4537 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
627 bits(339)	4e-175	339/339(100%)	0/339(0%)	Plus/Minus
Query 1	CGGGCTTCCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCCACCAAGGTAGTGGCCGCGCTCCTTCA			60
Sbjct 4537	CGGGCTTCCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCCACCAAGGTAGTGGCCGCGCTCCTTCA			4478
Query 61	GCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAGCACGCCGTCGCGGGGGTACAGGCCTCGG			120
Sbjct 4477	GCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAGCACGCCGTCGCGGGGGTACAGGCCTCGG			4418
Query 121	TGGAGGCCTCCACGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCGCTCGGAGGGGAAGTTCA			180
Sbjct 4417	TGGAGGCCTCCACGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCGCTCGGAGGGGAAGTTCA			4358
Query 181	CGCCGATGAACCTTACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGTCTGGGTCA			240
Sbjct 4357	CGCCGATGAACCTTACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGTCTGGGTCA			4298
Query 241	CGGTCACCACGCCGCGTCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGCCCTCGGGGA			300
Sbjct 4297	CGGTCACCACGCCGCGTCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGCCCTCGGGGA			4238
Query 301	AGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGCT			339
Sbjct 4237	AGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGCT			4199

Job Title **Consensus 2_2_RFP**

RID [8FEN7UTM013](#) Search expires on 05-21 23:58 pm [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lc|Query_55461

Description None

Molecule type dna

Query Length 347

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) ▾ [Select columns](#) ▾ Show [?](#)

select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc. Len	Accession
Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete sequence	Cloning vector pColE-FRT-lox2272-...	634	634	100%	2e-177	99.71%	5795	MN623118.1
Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp-aTubCas9bTub-U63q4-DsRed-attB, complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-Rcd1rp-a...	634	634	100%	2e-177	99.71%	12089	KY171963.1
Cloning vector pCRII-attB-aTubCas9bTub-U63q4-dsRed-attB, complete sequence	Cloning vector pCRII-attB-aTubCas...	634	634	100%	2e-177	99.71%	11162	KY171962.1
Chloroplast transformation vector pTCH-RS2, complete sequence	Chloroplast transformation vector p...	634	634	100%	2e-177	99.71%	7672	KY426960.1
Chloroplast transformation vector pTCH-MRS, complete sequence	Chloroplast transformation vector p...	634	634	100%	2e-177	99.71%	7659	KY426959.1
Cloning vector 1069D-rab11, complete sequence	Cloning vector 1069D-rab11	634	1169	100%	2e-177	99.71%	13313	MW540524.1
Cloning vector 1069E-spo11, complete sequence	Cloning vector 1069E-spo11	634	1169	100%	2e-177	99.71%	14037	MW540523.1
Cloning vector 1069C-rab5, complete sequence	Cloning vector 1069C-rab5	634	1169	100%	2e-177	99.71%	13315	MW540522.1
Cloning vector 1069A-prosalpha2, complete sequence	Cloning vector 1069A-prosalpha2	634	1169	100%	2e-177	99.71%	13941	MW540521.1
Synthetic construct transgenic, complete sequence	synthetic construct	634	634	100%	2e-177	99.71%	1936	KC733875.1

Cloning vector pColE-FRT-lox2272-BFP-lox2272-GFP-FRT-lox-DsRed-lox-mKate2, complete sequence

Sequence ID: [MN623118.1](#) Length: 5795 Number of Matches: 1

Range 1: 4200 to 4545 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
634 bits(343)	2e-177	346/347(99%)	1/347(0%)	Plus/Minus
Query 1	CAGCTGCCACGGGCTTCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCCACCAGGTAAGTGGCCGC	60		
Sbjct 4545	CAGCTG-CACGGGCTTCTTGGCCATGTAGATGGACTTGAACCTCCACCAGGTAAGTGGCCGC	4487		
Query 61	CGTCCCTCAGCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAGCACGCCGTCGCGGGGGTACA	120		
Sbjct 4486	CGTCCCTCAGCTTCAGGGCCTTGTGGATCTCGCCCTTCAGCACGCCGTCGCGGGGGTACA	4427		
Query 121	GGCGCTCGGTGGAGGCCCTCCAGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCCGTCGGAGG	180		
Sbjct 4426	GGCGCTCGGTGGAGGCCCTCCAGCCATGGTCTTCTTCTGCATTACGGGGCCGTCGGAGG	4367		
Query 181	GGAAAGTTCACGCCGATGAACTTCACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGT	240		
Sbjct 4366	GGAAAGTTCACGCCGATGAACTTCACCTTGTAGATGAAGCAGCCGTCCTGCAGGGAGGAGT	4307		
Query 241	CCTGGGTCACGGTCACACGCCGCCGTCCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGC	300		
Sbjct 4306	CCTGGGTCACGGTCACACGCCGCCGTCCTCGAAGTTCATCACGCGCTCCCACTTGAAGC	4247		
Query 301	CCTCGGGGAAGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGC	347		
Sbjct 4246	CCTCGGGGAAGGACAGCTTCTTGTAGTCGGGGATGTCGGCGGGGTGC	4200		

Anexo G

Obtención de las secuencias nucleotídicas de GFP similares al del pez Cebra analizado con otras especies marinas reportadas en el GenBank.

i Your search is limited to records that include: anthozoans (taxid:6101)

Job Title: Nucleotide Sequence
RID: [3UWAA048016](#) Search expires on 04-19 00:18 am [Download All](#) ▾
Program: BLASTN [?](#) [Citation](#) ▾
Database: nt [See details](#) ▾
Query ID: Icl|Query_39427
Description: None
Molecule type: dna
Query Length: 630
Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) [?](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ [?](#)

select all 2 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein raspberry mRNA, complete cds	Discosoma sp. LW-2004	58.1	58.1	16%	1e-05	73.64%	681	AY786536.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein plum mRNA, complete cds	Discosoma sp. LW-2004	54.5	54.5	16%	2e-04	71.56%	681	AY786537.1

Nota. Uso del BLASTn para el alineamiento.

Anexo H

Obtención de las secuencias nucleotídicas de RFP similares al del pez Cebra analizado con otras especies marinas reportadas en el GenBank.

i Your search is limited to records that include: anthozoans (taxid:6101)

Job Title: Nucleotide Sequence
 RID: [3UP80VS101N](#) Search expires on 04-18 22:34 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: lcl|Query_314645

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 337

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show

select all 0 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein raspberry mRNA, complete cds	Discosoma sp...	451	451	100%	3e-124	89.61%	681	AY786536.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein plum mRNA, complete cds	Discosoma sp...	446	446	100%	4e-123	89.32%	681	AY786537.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. fluorescent protein FP583 mRNA, complete cds	Discosoma sp...	294	294	99%	5e-77	79.40%	859	AF168419.2
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. RC-2004 enhanced red fluorescent protein R+ mRNA, complete cds	Discosoma sp...	285	285	99%	3e-74	78.81%	711	AY679107.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. JW-2002 orange fluorescent protein FP586 mRNA, complete cds	Discosoma sp...	285	285	99%	3e-74	78.81%	678	AF545828.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. RC-2004 red fluorescent protein gene, complete cds	Discosoma sp...	276	276	99%	1e-71	78.21%	5388	DQ301560.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. RC-2004 red fluorescent protein R1 mRNA, complete cds	Discosoma sp...	271	271	99%	2e-70	77.91%	921	AY679106.1
<input type="checkbox"/>	Discosoma sp. SSAL-2000 red fluorescent protein (FP593) mRNA, complete cds	Discosoma sp...	243	243	99%	9e-62	76.49%	876	AF272711.1

Nota. Uso del BLASTn para el alineamiento.

Anexo I

Alineamiento de la secuencia nucleotídica consenso del RFP del pez Cebra (Danio rerio) con dos secuencias de GFP reportadas en el GenBank de la anémona marina del género Discosoma.

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein raspberry mRNA, complete cds

Sequence ID: [AY786536.1](#) Length: 681 Number of Matches: 1

Range 1: 3 to 108 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
58.1 bits(63)	1e-05	81/110(74%)	8/110(7%)	Plus/Plus
Query 9	GGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGC-TGGACG	67		
Sbjct 3	GGTGAGCAAGGGCGAGGAGGTCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGT-GCGCATGGAGG	61		
Query 68	GCGACGTAACGGCCACAAGTTC---AGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGC	114		
Sbjct 62	GCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAG---GGCGAGGGCGAGGGC	108		

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein plum mRNA, complete cds

Sequence ID: [AY786537.1](#) Length: 681 Number of Matches: 1

Range 1: 3 to 108 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
54.5 bits(59)	2e-04	78/109(72%)	6/109(5%)	Plus/Plus
Query 9	GGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGACGG	68		
Sbjct 3	GGTGAGCAAGGGCGAGGAGGTCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGAGCACATGGAGGG	62		
Query 69	CGACGTAACGGCCACAAGTTC---AGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGC	114		
Sbjct 63	CTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAG---GGCGAGGGCGAGGGC	108		

Nota. Uso del BLASTn para el alineamiento.

Anexo J

Alineamiento de la secuencia nucleotídica consenso del RFP del pez Cebrá (Danio rerio) con tres secuencias de RFP reportadas en el GenBank de la anémona marina del género Discosoma.

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein raspberry mRNA, complete cds
Sequence ID: [AY786596.1](#) Length: 681 Number of Matches: 1

Range 1: 226 to 562 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
451 bits(499)	3e-124	302/337(90%)	0/337(0%)	Plus/Plus
Query 1	CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAG	68		
Sbjct 226	CACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAG	285		
Query 61	CGCGTGATGAAC TTCGAGBACGGC GBCGTGGT GACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAG	128		
Sbjct 285	CGCGTGATGAAC TTCGAGBACGGC GBCGTGGT GACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAG	345		
Query 121	GACGGCTGCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATCGGCGTGAAC TCCCTCCGACGGCCCC	188		
Sbjct 346	GACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGTTCGCGGACCAAC TCCCTCCGACGGCCCC	485		
Query 181	GTAATGCAGAAAGAACCATGGGCTGGGAGGCTCCACCCGAGCGCTGTACCCCGCGAC	248		
Sbjct 406	GTAATGCAGAAAGAACCATGGGCTGGGAGGCTCCTCCGAGCGATGTACCCCGAGBAC	465		
Query 241	GGCGTGTGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACTGT	308		
Sbjct 466	GGCGCCTTGAAGGGCGAGATGAAGATGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACTGC	525		
Query 301	GTGGAGTTCAGTCCATCTACATGGCCAAAGAAGCCG	337		
Sbjct 526	GCCGAGSTCAAGACCACCTACATGGCCAAAGAAGCCG	562		

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Discosoma sp. LW-2004 fluorescent protein plum mRNA, complete cds
Sequence ID: [AY786597.1](#) Length: 681 Number of Matches: 1

Range 1: 226 to 562 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
446 bits(494)	4e-123	301/337(89%)	0/337(0%)	Plus/Plus
Query 1	CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAG	68		
Sbjct 226	CACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAG	285		
Query 61	CGCGTGATGAAC TTCGAGBACGGC GBCGTGGT GACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAG	128		
Sbjct 285	CGCGTGATGAAC TTCGAGBACGGC GBCGTGGT GACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAG	345		
Query 121	GACGGCTGCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATCGGCGTGAAC TCCCTCCGACGGCCCC	188		
Sbjct 346	GACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGTTCGCGGACCAAC TCCCTCCGACGGCCCC	485		
Query 181	GTAATGCAGAAAGAACCATGGGCTGGGAGGCTCCACCCGAGCGCTGTACCCCGCGAC	248		
Sbjct 406	GTAATGCAGAAAGAACCATGGGCTGGGAGGCTCCTCCGAGCGATGTACCCCGAGBAC	465		
Query 241	GGCGTGTGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACTGT	308		
Sbjct 466	GGCGCCTTGAAGGGCGAGATGAAGATGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACTGC	525		
Query 301	GTGGAGTTCAGTCCATCTACATGGCCAAAGAAGCCG	337		
Sbjct 526	GCCGAGSTCAAGACCACCTACATGGCCAAAGAAGCCG	562		

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#)

Discosoma sp. fluorescent protein FP583 mRNA, complete cds
Sequence ID: [AF168419.2](#) Length: 859 Number of Matches: 1

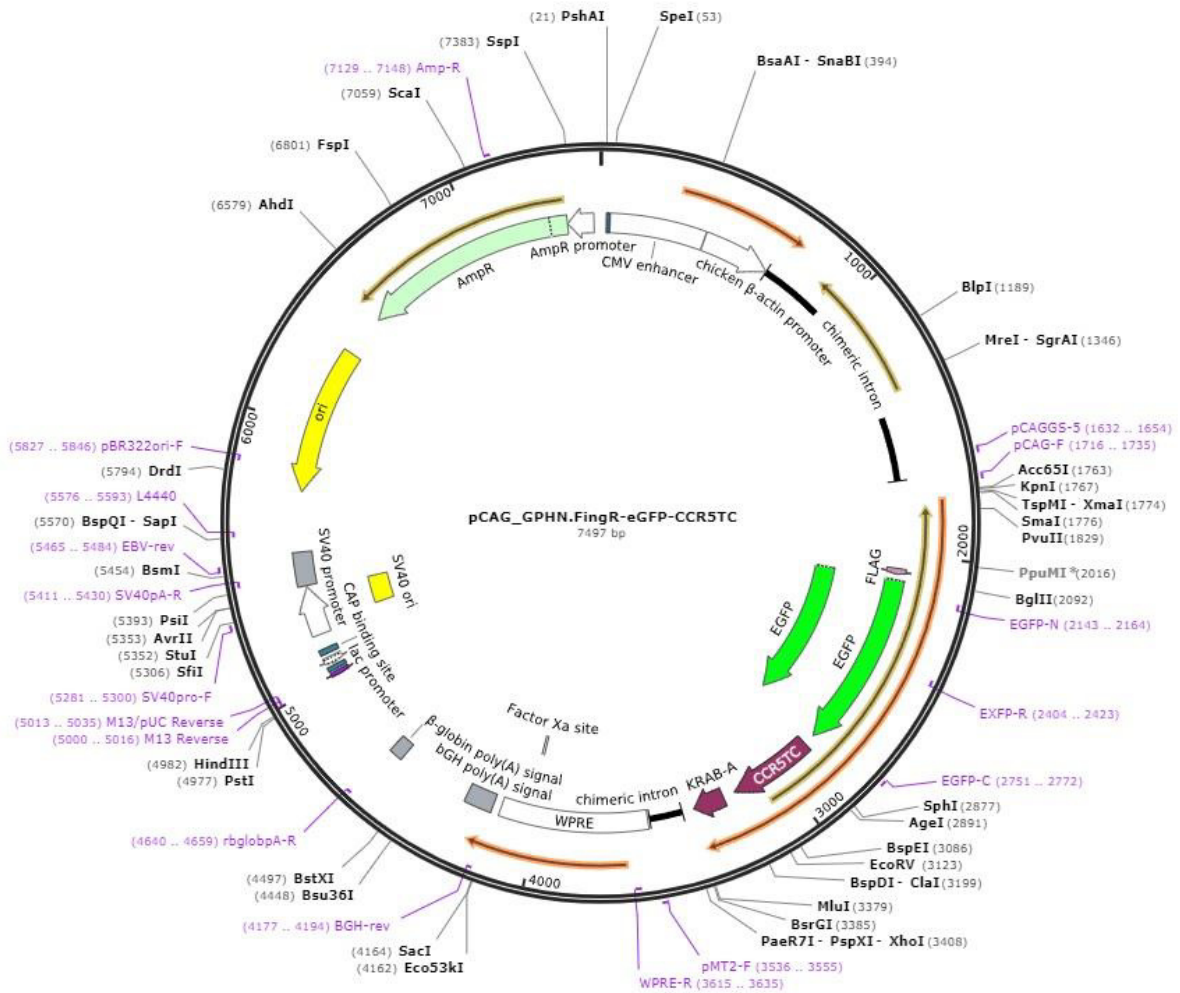
Range 1: 276 to 610 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
294 bits(325)	5e-77	266/335(79%)	0/335(0%)	Plus/Plus
Query 1	CACCCCGCCGACATCCCCGACTACAAGAAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAG	68		
Sbjct 276	CACCCCGCCGACATACCAGACTATAAAAAGCTGTCTTCTTGAAGGATTAATGGGAA	335		
Query 61	CGCGTGATGAAC TTCGAGBACGGC GBCGTGGT GACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAG	128		
Sbjct 336	AGGGTCATGAAC TTCGAGBACGGTGGCGTGGTACTGTAAACCCAGGATTCAGTTTGCAG	395		
Query 121	GACGGCTGCTTCATCTACAAGGTGAAGTTCATCGGCGTGAAC TCCCTCCGACGGCCCC	188		
Sbjct 396	GATGGCTGTTTCATCTACAAGGTCAAGTTCATTTGGCGTGAAC TCCCTCCGATGAGACT	455		
Query 181	GTAATGCAGAAAGAACCATGGGCTGGGAGGCTCCACCCGAGCGCTGTACCCCGCGAC	248		
Sbjct 456	GTATGCAGAAAGAACCAATGGGCTGGGAGGCTCAGCACTGAGCGTTTGTATCTCGTGTAT	515		
Query 241	GGCGTGTGAAGGGCGAGATCCACAAGGCCCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACTGT	308		
Sbjct 516	GGCGTGTGAAGGGAGAGATTCATAAGGCTCTGAAGCTGAAGGACGGTGGTTCATTTACTTA	575		

Nota. Uso del BLASTn para el alineamiento.

Anexo K

Vector Plasmídico con GFP (Resaltado de color verde) pCAG_GPHN.FingR-eGFP-CCR5TC (Plasmid #46296)



Anexo L

Vector Plasmídico con RFP (Resaltado de color rojo) pLV-CMV-LoxP-DsRed-LoxP-eGFP (Plasmid #65726)

