



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas**

**Caracterización de la respuesta transcripcional a  
glucosa y al gen *glk* en *Streptomyces coelicolor*.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Doctora en Ciencias

PRESENTA:

**Alba Icxiah Romero Rodríguez**

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Sergio Sánchez Esquivel

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL

Dr. Luis Mendoza Sierra

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Dr. Daniel Segura González

Instituto de Biotecnología, UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

Dra. Romina Maria de la Paz Rodríguez Sanoja	Presidente
Dr. Dimitris Georgellis	Vocal
Dr. Armando Mejía Álvarez	Vocal
Dr. Luis Servín González	Vocal
Dra. Rosa María Gutiérrez Rios	Secretaria

Esta tesis fue desarrollada bajo la asesoría del Dr. Sergio Sánchez Esquivel, en el Laboratorio de Microbiología Industrial del Departamento de Biología Molecular y Biotecnología en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

## FINANCIAMIENTO

- Este trabajo fue financiado por los proyectos PAPIIT IN201413 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM y CONACYT CB-219686.
- Durante la realización de esta tesis fui beneficiada por una beca de doctorado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

## AGRADECIMIENTOS

- Al Programa de Apoyo a los Estudios del Posgrado (PAEP) por el apoyo obtenido para la asistencia a cursos y congresos durante la realización de esta tesis.
- Al Dr. Ernesto Pérez, Investigador del Instituto de Biotecnología, por el apoyo brindado en la elaboración de las redes de interacción a partir de los datos de microarreglos.
- A la Bióloga Yolanda Hornelas Orozco, Técnica Académica Titular C del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por su apoyo para la obtención de microfotografías realizadas con el microscopio electrónico de barrido.
- Al Dr. Luis Servín González, Investigador Titular "C" del Instituto de Investigaciones Biomédicas, por el apoyo brindado con diversas cepas, plásmidos y cósmidos, que fueron utilizados durante la realización de éste trabajo. Asimismo, agradezco la asesoría técnica y académica que me brindó.

- Al Dr. Sergio Sánchez Esquivel por su tutoría y apoyo invaluable durante la realización de este proyecto.
- A la Dra. Romina Rodríguez Sanoja por su tiempo, asesoría y pertinentes comentarios y sugerencias durante la realización y escritura de esta tesis.
- A la Dra. Beatriz Ruíz Villafán por su apoyo constante, asesoría y valiosas sugerencias.
- A la M en C. Diana Ivonne Rocha Mendoza por las invaluables discusiones y sugerencias.
- A la Q.F.B. Ivonne Robledo por su entusiasmo y arduo trabajo.
- A la Q.F.B. Monserrat Manzo por su constante interés, dedicación y esfuerzo.

*Para mis papás, con cariño y gratitud.*

*Con afecto para mi familia:*

*Con la que nací*

*Y, la que he encontrado en el camino.*

*Felicidad no es hacer lo que uno quiere sino querer lo que uno hace.*

*Jean Paul Sartre*

## Tabla de contenido

Resumen.....	1
Introducción .....	3
I. Marco teórico.....	1
1. Características del género Streptomyces.....	1
2. Ciclo de vida .....	3
3. Importancia del género Streptomyces.....	9
4. Cepa modelo Streptomyces coelicolor .....	11
5. Regulación Catabólica por Carbono .....	12
a. Represión catabólica por carbono en bacterias Gram-positivas con alto contenido G+C....	13
6. Generalidades de las glucosas cinasas .....	17
a. Funciones como proteína regulador .....	20
II. Justificación .....	22
III. Objetivos .....	23
Objetivo General .....	23
Objetivos particulares .....	23
IV. Materiales y Métodos .....	24
1. Cepas bacterianas y plásmidos .....	24
2. Medios y condiciones de crecimiento.....	24
3. Actividad de glucosa cinasa.....	25
4. Construcción del mutante glk nula en S. coelicolor .....	25
5. Clonación del gen glkzm y su transformación en Streptomyces coelicolor nula en el gen glk	26
6. Extracción y purificación de RNA y análisis de microarreglos.....	27
7. RT-qPCR.....	28
8. Determinación de antibióticos.....	29
9. Evaluación morfológica .....	30
V. Resultados y discusión .....	31
1. Obtención de la mutante glk nula en Streptomyces coelicolor .....	31
2. Subclonación y transformación del gen glk de Z. mobilis en la cepa glk nula de S. coelicolor	32



3.	Complementación y caracterización de la cepa mutante nula en el gen <i>glk</i> con el gen que codifica la glucosa cinasa de <i>Z. mobilis</i> .	34
4.	Análisis del transcriptoma	36
i.	Procesos metabólicos y catálisis	39
ii.	Mecanismo de RCC operon- específico	45
a.	Exclusión del inductor.	47
b.	Prevención de la inducción.	47
c.	Efecto sobre permeasas para fuentes de carbono	49
iii.	Utilización de agar como una fuente de carbono alterna	52
iv.	Papel de <i>scGlk</i> sobre la regulación catabólica de carbono	56
5.	Efecto de la glucosa sobre la formación de metabolitos secundarios.	61
6.	Efecto de la glucosa y <i>Glk</i> sobre la diferenciación morfológica	69
7.	RCC y reguladores de transcripción	73
8.	Validación por RT-qPCR de los genes expresados diferencialmente en la comparación <i>Glc/Agar</i> realizada por microarreglos	78
9.	Aproximación a una red de interacción	79
10.	Construcción de una base de datos para predecir posibles sitios de unión de los reguladores	84
11.	Distribución de los posibles reguladores transcripcionales en el genoma de <i>S. coelicolor</i> .	88
VI.	Conclusiones	92
VII.	Perspectivas	93
VIII.	Referencias	94
	Apéndice I: Productos generados durante la realización de esta tesis	105
	Apéndice II: Plásmidos y cepas empleados	110
	Apéndice III: Oligonucleótidos empleados	111
	Apéndice IV: Métodos y Medios de cultivo	112
a.	Medios de cultivo	112
b.	Metodologías	116
Extracción de DNA plasmídico		116
Extracción de DNA genómico		119
Actividad de ATP- <i>Glk</i>		119
Producción de células de <i>E. coli</i> electrocompetentes		120

Electro-Transformación .....	121
Obtención de preparaciones densas de esporas.....	121
Pregerminado de esporas.....	121
Protocolo para rompimiento celular de Streptomyces por sonicación .....	121
Protocolo para el tratamiento de muestras para su observación en el microscopio electrónico de barrido. ....	122
Protocolo para la síntesis de cDNA.....	122
Protocolo para la amplificación de DNA en tiempo real.....	123
Procedimiento para la cuantificación relativa.....	124
Apéndice V: Procedimientos bioinformáticos.....	125
Genes ortólogos para la búsqueda de secuencias consenso.....	125
Apéndice VI: Genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.....	125
Apéndice VII: Genes expresados diferencialmente en la comparación ScoM145/ScoZm.....	163

Figura 1. Ciclo de vida de <i>S. coelicolor</i> .	6
Figura 2. Colonias de <i>S. coelicolor</i> silvestre y su comparación con una mutante <i>bld</i> .	6
Figura 4. Modelo de la formación de la hifa aérea en <i>S. coelicolor</i> .	9
Figura 4. Clasificación de las glucosas cinasas y proteínas ROK.	18
Figura 5. Cladograma basado en la secuencia de aminoácidos de glucosa cinasas bacterianas.	20
Figura 6. Efecto de la glucosa en diferentes fondos genómicos de <i>Streptomyces coelicolor</i> sobre la transcripción del gen de la agarasa <i>A dagA</i> .	21
Figura 8. Análisis genotípico y fenotípico de las posibles mutantes.	32
Figura 9. Subclonación del gen <i>glkzm</i> a partir del plásmido <i>pIJ2442</i> en el vector <i>pIJ702</i> .	33
Figura 10. Actividad cuantitativa y cualitativa de glucosa cinasa.	35
Figura 11. Resumen del número de genes expresados diferencialmente en las comparaciones entre las cepas y las fuentes de carbono.	38
Figura 12. Clasificación de los genes expresados diferencialmente.	39
Figura 13. Representación esquemática de las vías del metabolismo central de carbono en <i>S. coelicolor</i> .	47
Figura 14. Genes selectos que codifican para sistemas de transporte y sus perfiles de expresión.	51
Figura 14. Efecto de la glucosa en la transcripción de genes involucrados en la degradación de agar.	56
Figura 15. Resumen del número de genes expresados diferencialmente entre las comparaciones.	58
Figura 17. Efecto de la glucosa sobre la transcripción de los genes del cluster para la producción de actinorrodina.	64
Figura 18. Efecto de la glucosa sobre la transcripción de genes del cluster para la producción de undecilprodigiosina.	67
Figura 19. En la parte superior, genes y sus posibles productos involucrados en la síntesis de Cpk (adaptado de Gómez-Escribano et al., 2012). A la derecha, expresión transcriptómica de los genes del cluster para la síntesis de Cpk. Los resultados se muestran en $\log_2$ , así un número positivo indica mayor expresión en tanto, uno negativo indica menor expresión.	68
Figura 20. Micrografías electrónicas de barrio de las cepas <i>ScoM145</i> y <i>ScoZm</i> cultivadas en medio MS.	73
Figura 21. Modelo de los efectos de la glucosa y <i>Glk</i> sobre el metabolismo de <i>S. coelicolor</i> .	77
Figura 22. Perfil de transcripción relativo para los genes blanco.	79
Figura 23. Predicción de una red de interacción de los genes expresados diferencialmente en la comparación <i>Glc/Agar</i> .	81
Figura 24. Subred de interacción A de los genes expresados diferencialmente en la comparación <i>Glc/Agar</i> .	82
Figura 25. Subred de interacción A de los genes expresados diferencialmente en la comparación <i>Glc/Agar</i> .	83
Figura 26. Subred de interacción H de los genes expresados diferencialmente en la comparación <i>Glc/Agar</i> .	84

Tabla 1. Genes involucrados en la diferenciación morfológica de <i>S. coelicolor</i> .	7
Tabla 2. Metabolitos secundarios representativos producidos por el género <i>Streptomyces</i> utilizados comercialmente	11
Tabla 3 Comparación de los parámetros de crecimiento de las cepas ScoM145, ScoZm y Sco702.	36
Tabla 4 Genes codificantes para enzimas necesarias para la utilización de fuentes de carbono alternas.	48
Tabla 5. Reguladores transcripcionales expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.	59
Tabla 6. Genes diferencialmente expresados exclusivos de la comparación ScoM145/ScoZm	60
Tabla 7 Producción de actinorrodina y undecilprodigiosina	62
Tabla 8. Resumen de los resultados del análisis bioinformático de los genes con cambios de expresión negativos en la comparación ScoM145/ScoZm	86
Tabla 9. Resumen de los resultados del análisis bioinformático de los genes con cambios de expresión positivos en la comparación ScoM145/ScoZm	86
Tabla 10. Características de los reguladores transcripcionales con un cambio negativo de expresión en la comparación Glc/Agar.	89
Tabla 11. Características de los reguladores transcripcionales con un cambio positivo de expresión en la comparación Glc/Agar.	90
Tabla 12. Características de los reguladores transcripcionales con un cambio positivo de expresión en la comparación ScoM145/ScoZm.	91

## Resumen

Las bacterias del género *Streptomyces* son una de las principales fuentes de metabolitos bioactivos, p. ej., antibióticos, antitumorales, etc., cuya producción se ve afectada por distintos factores y mecanismos regulatorios, entre ellos la utilización de la fuente de carbono. A pesar de todos los estudios llevados a cabo, los mecanismos regulatorios mediados por glucosa y otras fuentes preferenciales se desconocen. Hasta el momento, la mayoría de los estudios parecen sugerir que la enzima glucosa cinasa, además de su papel dentro de la glucólisis, podría tener un papel como proteína reguladora.

En este trabajo, se emplearon microarreglos del genoma completo de *Streptomyces coelicolor*, a fin de comparar los perfiles de transcripción de la cepa silvestre en presencia y ausencia de glucosa, en conjunto con una fuente de carbono no represora (agar). Adicionalmente, debido a la posible participación de la enzima Glk en la regulación por carbono, mediante la generación de una mutante nula en el gen que codifica la enzima glucosa cinasa Glk y, su complementación heteróloga con una glucosa cinasa no relacionada, se comparó el perfil transcriptómico de dicha mutante (ScoZm) y de la cepa silvestre (ScoM145) en presencia de glucosa.

Para la primera comparación, presencia de glucosa, se observó un cambio positivo en la expresión de 261 genes mientras que 384 mostraron cambios transcripcionales negativos. En tanto en la segunda comparación, ausencia de la enzima Glk nativa, se identificaron 85 genes regulados positivamente y, 49 genes regulados negativamente.

Del total de los 134 genes encontrados en la comparación ScoM145/ScoZm, 91 de ellos se encuentran incluidos en el análisis del efecto de la glucosa.

Los genes regulados positivamente por glucosa codifican enzimas para vías de metabolismo primario, principalmente glucólisis y pentosas fosfato. En tanto, los genes regulados negativamente, en la generalidad, forman parte de unidades transcripcionales independientes u operones necesarios para el catabolismo de fuentes de carbono, así como en la formación de metabolitos secundarios.

Se observó que los genes codificantes para proteínas de metabolismo secundario y primario son dependientes de glucosa, pero independientes de la enzima Glk, con excepción del *cluster* para la producción del policétido Cpk. Mientras que los genes que integran el *cluster cpk* son regulados positivamente en presencia de glucosa y la enzima Glk, los antibióticos actinorrodina y undecilprodigiosina son regulados negativamente, en glucosa y de manera independiente a Glk.

Con el presente estudio podemos afirmar que, a nivel transcripcional, tanto la glucosa como la enzima Glk de *S. coelicolor*, son necesarias para la regulación negativa sobre los genes necesarios para la utilización de agar como fuente de carbono.

Asimismo, tanto la presencia de glucosa como la ausencia del gen *glk* tienen efecto sobre la expresión de diferentes reguladores transcripcionales, cuya posible participación en el fenómeno de regulación por carbono no ha sido descrito.

## Introducción

Los estreptomicetos son un grupo de bacterias aisladas principalmente de los suelos. En el ambiente, estos microorganismos son importantes en el ciclo del carbono al metabolizar compuestos complejos, por ejemplo, quitina y lignina, mediante una variada gama de enzimas hidrolíticas extracelulares (xilanasas, amilasas, celulasas, lipasas), que permiten la disponibilidad de esqueletos carbonados más sencillos para microorganismos incapaces de utilizar sustratos complejos (Hodgson, 2000).

Más allá de su importancia en el reciclaje del carbono en el ambiente, estas bacterias se encuentran entre los principales productores de antibióticos utilizados comercialmente (Watve *et al.*, 2001; Bibb, 2005); de los cuales los más usados son la *estreptomicina* (producida por *Streptomyces griseus*), la *tetraciclina* (producida por *Streptomyces rimosus*) y el *cloramfenicol* (producida por *Streptomyces venezuelae*). Además de la producción de antibióticos, estas bacterias producen una gran gama de metabolitos bioactivos empleados en diversos campos (agricultura, veterinaria, etc).

Para muchos estreptomicetos, la glucosa es una fuente de carbono preferencial que ejerce regulación, tanto de la utilización sobre fuentes de carbono alternas (represión catabólica por carbono) como regulación sobre la producción de metabolitos bioactivos de diferente naturaleza (Ruiz *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2010). Pese a los efectos regulatorios de la glucosa, se sabe muy poco del

mecanismo a través del cual, ejerce tal regulación. A nivel transcripcional, en *S. lividans* la glucosa inhibe la producción del antibiótico actinorrodina al reprimir la expresión del gen *afsR2* que codifica para un regulador global involucrado en la estimulación del metabolismo secundario (Kim *et al.*, 2001). Sin embargo, ni el mecanismo de represión catabólica por carbono ni de regulación negativa sobre la síntesis de metabolitos secundarios han sido esclarecidos. No obstante el limitado conocimiento que se tiene sobre este fenómeno regulatorio, diversos estudios apuntan a un papel regulador de la proteína glucosa cinasa, codificada en el gen *sco2126* (Angell *et al.*, 1992; Angel *et al.*, 1994; van Wezel *et al.*, 2007)

A pesar de su posible participación dual (cinasa y reguladora), a la fecha no han podido ser separada la actividad catalítica de la posible función como proteína reguladora. La secuencia de la Glk no presenta dominios de unión a DNA, de tal suerte que sus efectos regulatorios no podrían deberse a una interacción directa con el DNA; sino podrían ser resultados de sus interacciones. Algunas de ellas podrían ser tipo proteína-proteína y, a la fecha, la única posible interacción, verificada indirectamente, es con el transportador de glucosa GlcP (van Wezel *et al.*, 2007).

Un modelo comúnmente utilizado para evaluar el efecto regulatorio de la glucosa y de la glucosa cinasa es el efecto sobre la degradación de agar (Angell *et al.*, 1992; Angel *et al.*, 1994); particularmente el efecto sobre la transcripción y actividad de la enzima agarolítica DagA. Pese a que es un modelo ampliamente utilizado, el conocimiento del mismo es muy limitado.



Con el fin de describir los efectos transcripcionales de la glucosa en *Streptomyces coelicolor* y en su cepa derivada nula en el gen codificante para la enzima Glk, se realizó un estudio transcriptómico comparando condiciones de represión (presencia de glucosa en el medio) y condiciones no represoras (agar como fuente de carbono). Como condición no represora se eligió al agar ya que es un modelo clásico de estudio y, sin embargo se tiene un conocimiento muy limitado del mismo que se amplía en el presente estudio.

## I. Marco teórico

### 1. Características del género *Streptomyces*

El orden de los Actinomicetos está formado por bacterias Gram-positivas, neutrófilas, aerobias facultativas, mesófilas, con genomas ricos en guanina y citosina (60-70%), (Hopwood, 2006).

El género *Streptomyces* (del latín *streptos* “curvo”, “torcido”; *myces* “hongo”) pertenece al filo Actinobacteria y es uno de los géneros más numerosos y estudiados. Al momento, se han descrito más de 500 especies y subespecies (<http://www.bacterio.net/streptomycesb.html>).

Morfológicamente, se caracterizan por poseer una estructura similar a la de los hongos filamentosos; sin embargo, los filamentos de los actinomicetos consisten en células procariontes con diámetros mucho menores que aquellos de los hongos. Además de las características morfológicas, comparten con los hongos un ciclo de vida similar, y son por lo regular, saprófitos de suelos. Tales similitudes parecen ser el resultado de adaptaciones a nichos ecológicos semejantes, pero los mecanismos parecen tener orígenes evolutivos distintos (Flardh and Buttner, 2009; Challis, 2003).

Además de constituir alrededor del 10% de la microbiota de los suelos, también se han aislado de ambientes acuáticos y, de asociaciones simbióticas o parasitarias con plantas y animales (Schrey and Tarkka, 2008).

En términos nutricionales, físicos y biológicos, el suelo conforma uno de los ambientes más complejos y variables. Por esta razón, los organismos habitantes han desarrollado una serie de ciclos biológicos complejos, producción de enzimas extracelulares y metabolitos bioactivos los cuales, optimizan su supervivencia (Bentley *et al.*, 2002; Hopwood, 2006).

A nivel genético y a diferencia de la mayoría de las bacterias, el cromosoma de los estreptomicetos es lineal. Posee una región central que se encuentra altamente conservada, flanqueada por dos brazos sujetos a una intensa variación. Los genes localizados en la región central resultan esenciales para la vida de la bacteria, poseen el mismo orden y dirección en el genoma de diferentes especies de *Streptomyces* (Paradkar, 2003; Ikeda *et al.*, 2003). Los genes localizados en los brazos no son esenciales, como aquellos para la producción de metabolitos secundarios y exo-enzimas hidrolíticas.

Las regiones terminales del cromosoma son secuencias invertidas repetidas (TIR) o regiones teloméricas. Las regiones TIR, son variables en secuencia y tamaño. En estas secuencias, se encuentran proteínas unidas covalentemente, que mantienen estable al cromosoma lineal (Ikeda *et al.*, 2003). En la región central del cromosoma se localiza el origen de replicación (*oriC*), esto indica que el proceso de replicación es bidireccional hacia la región telomérica (Huang *et al.*, 1998; Hopwood, 2006). Algunas bacterias de este grupo, también poseen plásmidos de un tamaño variable (de 9 Kb hasta 350 Kb) que les confieren ventajas tales, como la producción de antibióticos, resistencia a metales pesados y degradación de xenobióticos.

## 2. Ciclo de vida

Como se ha mencionado, los *Streptomyces* se encuentran entre los principales habitantes de los suelos y al ser inmóviles, dependen de la formación de esporas unigenómicas para su reproducción. La esporulación generalmente va acompañada de la producción de metabolitos bioactivos; muchos de estos compuestos son antibióticos cuya función podría inhibir a otros organismos en el suelo, así permiten a los *Streptomyces* culminar su ciclo de vida y garantizar la formación de esporas que puedan ser movilizadas hacia áreas nuevas ricas en materia orgánica (revisado en Yagüe *et al.*, 2013)

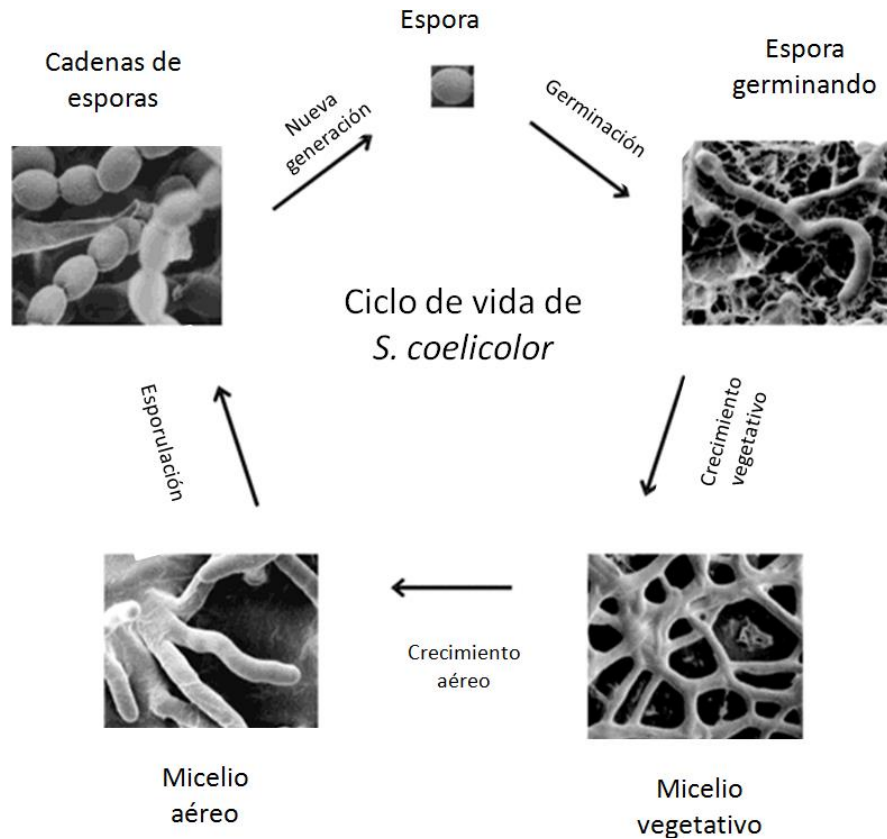
El ciclo de vida de los *Streptomyces* es complejo y puede ser dividido en tres etapas: crecimiento vegetativo, formación de hifas aéreas y la diferenciación de esas hifas en cadenas de esporas (Fig. 1). El ciclo comienza cuando una spora germina en un medio con nutrientes y condiciones adecuadas, dando lugar al crecimiento de tubos germinales. La energía para esta fase inicial se obtiene de la degradación del disacárido trehalosa, componente mayoritario de la spora (Ensing, 1978). El crecimiento del tubo germinativo da lugar a hifas que crecen por extensión apical y se ramifican, dando lugar al denominado micelio vegetativo. En respuesta a la escasez de nutrientes y otras señales moleculares, se inicia tanto la producción de metabolitos secundarios como la diferenciación morfológica. El micelio aéreo se diferencia del micelio vegetativo por poseer una capa externa muy hidrofóbica. En tal punto, se activan vías de señalización que permiten a las hifas aéreas romper la tensión superficial y escapar del ambiente acuoso del micelio vegetativo y crecer aéreamente, nutriéndose de la lisis del micelio vegetativo. Posteriormente, las hifas aéreas comienzan a enroscarse y septarse para dar lugar, a la formación de

cadena de esporas. Este proceso se acompaña de una segregación ordenada de cromosomas, cuyo resultado final arroja esporas con un solo cromosoma (Hopwood, 2006; Claessen *et al.*, 2006; Chater, 2006; Paradkar *et al.*, 2003).

Los extensos estudios referentes al estudio de la diferenciación morfológica en *Streptomyces* condujeron al descubrimiento de dos grandes clases de mutantes del desarrollo morfológico. El primer grupo lo constituyen los mutantes denominados *bld* (del inglés *bald*, "calvo"), debido a la ausencia de formación de micelio aéreo las colonias aparecen como lisas o calvas (Fig.2). El otro grupo de mutantes lo constituyen aquellas mutaciones que dan un fenotipo *white* (del inglés blanco) caracterizado por la ausencia del pigmento gris en las esporas.

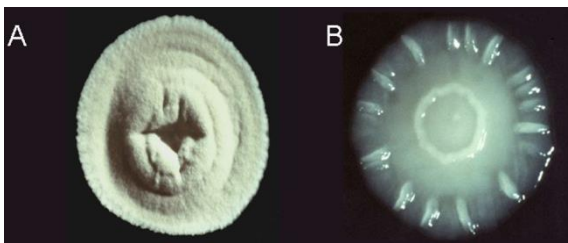
En la tabla1 se resumen algunos de los genes y sus productos involucrados en la diferenciación morfológica en *S. coelicolor*. Así, la formación de estructuras aéreas en los estreptomicetos involucra una compleja cascada de señalización cuyo total de participantes se desconoce. La cascada *bld* tiene un papel primordial en la formación de las estructuras aéreas mediante el procesamiento de señales ambientales e intracelulares. La formación del micelio aéreo en mutantes *bld* puede ser restablecida mediante el crecimiento cercano de una mutante *bld* con una cepa silvestre de *S. coelicolor*. Este fenómeno se conoce como complementación extracelular, y se cree es resultado de la difusión de una proteína hidrofóbica pequeña, llamada SapB, desde la colonia de la cepa silvestre hacia la colonia de la cepa mutante. Con excepción de *bldM* y *bldN*, todas las mutantes *bld* son incapaces de producir y secretar SapB. De forma adicional, cuando SapB purificado se agrega exógenamente a cualquier mutante *bld*, emergen las hifas aéreas. SapB es capaz

de reducir la tensión superficial del agua, facilitando la erección de la hifa aérea. Por regla general, la complementación extracelular entre mutantes *bld* sigue la siguiente jerarquía *bldK*, (*bldA*, *bldH*), *bldG*, *bldC*, *bldD*; donde cada mutante es capaz de restablecer la formación de micelio aéreo de todas las mutantes a su izquierda, pero no a su derecha. Como resultado de la cascada de genes *bld*, se activa el *cluster ram* que codifica para el precursor SapB, para la enzima encargada de su modificación post-traducciona y, para la maquinaria de secreción. La cascada *bld* también conduce a la activación de los genes *chpE* y *chpH*, que también codifican proteínas de superficie (chaplina). Tanto SapB como las chaplinas son capaces de reducir la tensión superficial del agua, esto contribuye a la iniciación del crecimiento aéreo. SapB se produce únicamente en medio rico, en tanto la producción de chaplinas es independiente del medio de cultivo.



**Figura 1. Ciclo de vida de *S. coelicolor*.**

Cuando una espora encuentra un medio apropiado germina, dando lugar a la formación de un micelio vegetativo. Una vez que los nutrientes en el medio se han agotado, comienza a emerger el micelio aéreo a expensas de la lisis del micelio vegetativo. Las hifas del micelio aéreo comienzan a enrollarse y septarse para dar lugar a cadenas de esporas (adaptado de Flardh and Buttner, 2009).



**Figura 2. Colonias de *S. coelicolor* silvestre y su comparación con una mutante *bld*.**

A. Colonia silvestre de *S. coelicolor*, se aprecia la formación de micelio aéreo. B. Colonia de una mutante incapaz de formar micelio aéreo. Adaptado de [http://spider.science.strach.ac.uk/sipbs/staff/Paul\\_Hoskisson.html](http://spider.science.strach.ac.uk/sipbs/staff/Paul_Hoskisson.html).

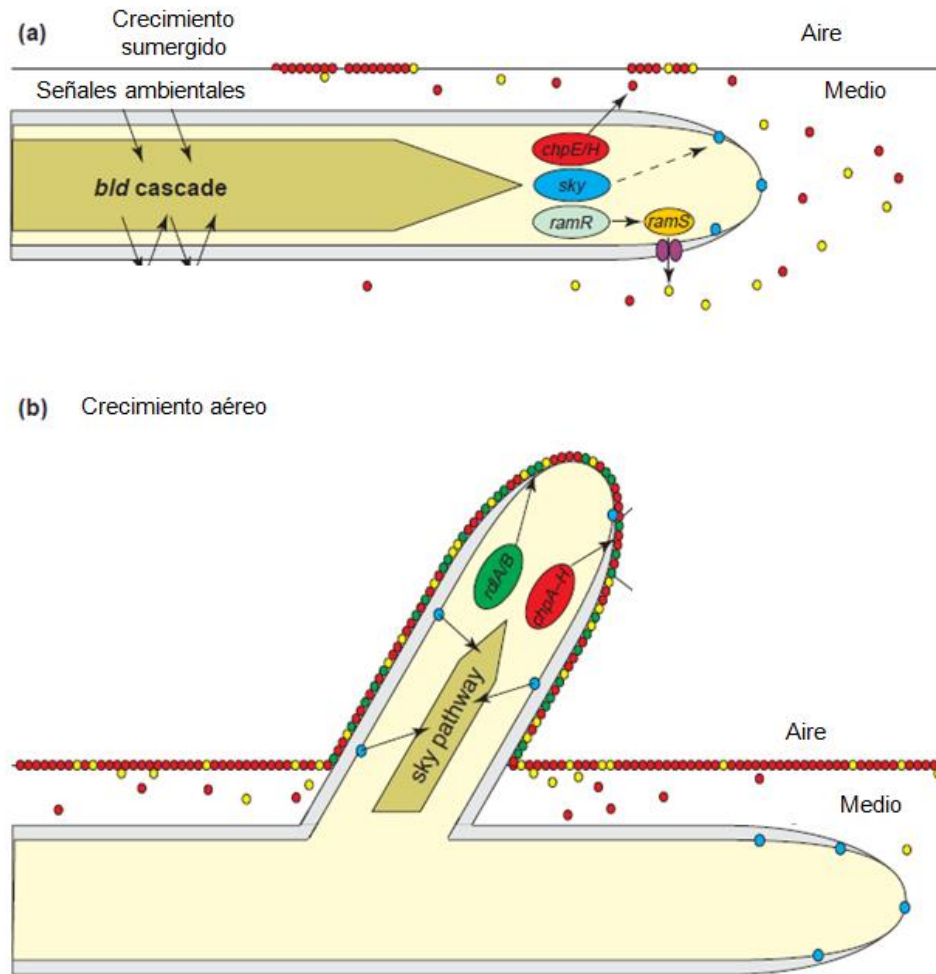
**Tabla 1.** Genes involucrados en la diferenciación morfológica de *S. coelicolor*.

Producto	Función conocida/probable	Gen	Producto	Función conocida/probable	Gen
<b>BldA</b>	tRNA Leu anticodon TAA	<i>sco24</i>	WhiB	Proteína reguladora de la esporulación	<i>sco3034</i>
<b>BldB</b>	Regulador	<i>sco5723</i>	WhiJ	Desconocido	<i>sco4543</i>
<b>BldC</b>	Regulador MerR-like	<i>sco4091</i>	WhiD	Regulador	<i>sco4767</i>
<b>BldD</b>	Proteína pequeña de unión a DNA	<i>sco1489</i>	WhiG	RNA polimerasa factor sigma	<i>sco5621</i>
<b>BldG</b>	Posible Factor anti-anti sigma	<i>sco3549</i>	WhiI	Probable regulador de sistema de dos componentes	<i>sco6029</i>
<b>BldH</b>	AdpA homologo conteniendo un codon TTA	<i>sco2792</i>	WhiA	Desconocido	<i>sco1950</i>
<b>BldKA-E</b>	Permeasa de oligopeptido	<i>sco5112-sco5116</i>	WhiH	Factor de transcripción	<i>sco5819</i>
<b>BldM</b>	Regulador de respuesta	<i>sco4768</i>	CatB	Catalasa regulada dependiente del desarrollo	<i>sco0666</i>
<b>BldN</b>	Factor sigma de función extracitoplásmica	<i>sco3323</i>	SigB	Factor sigma RNA polimerasa ( $\sigma_B$ ) controlando la expresión de <i>catB</i>	<i>sco0600</i>
<b>ChpA-H</b>	Familia	<i>sco1674</i> <i>chpC</i> <i>sco1675</i> <i>chpH</i> <i>sco1800</i> <i>chpE</i> <i>sco2699</i> <i>chpG</i> <i>sco2705</i> <i>chpF</i> <i>sco2716</i> <i>chpA</i> <i>sco2717</i> <i>chpD</i>	RsuA	Factor Anti-sigma	<i>sco2953</i>



		<i>sco7257</i> <i>chpB</i>			
<b>RamCSABR</b>	<i>cluster</i> involucrado en la síntesis, modificación y transporte del precursor de SapB RamS.	<i>sco6681</i> – <i>sco6685</i>	SigU	Factor sigma RNA polimerasa	<i>sco2954</i>
<b>RdIA</b>	Proteína de secreción	<i>sco2718</i>			
<b>RdIB</b>		<i>sco2719</i>			

Se ha propuesto la existencia de una cascada regulatoria adicional, a la cascada Bld denominada Sky (Claessen *et al.*, 2006). En la figura 3 se resumen las cascadas propuestas de señalización Bld y Sky quienes dan origen a la formación de las hifas aéreas.



**Figura 3. Modelo de la formación de la hifa aérea en *S. coelicolor*.**

Las señales ambientales y extracelulares convergen en la activación de la cascada Bld, induciendo la formación de RamR, ChpE y ChpH (círculos rojos), y componentes de la vía sky, como un sensor de crecimiento aéreo (círculos azules). RamR activa la síntesis de RamS, el cual es convertido a SapB (círculos amarillos). Este péptido morfógeno es secretado por el transportador RamAB (óvalos púrpuras) y, junto con ChpE y ChpH, inicia el crecimiento aéreo, ambos disminuye la tensión superficial. b) Se ha propuesto que en este momento la vía de señalización sky toma el control del desarrollo morfológico. Esta vía incluiría, a un sensor de crecimiento aéreo (círculos azules). Como resultado, los genes para rodlinas y chaplinas, y probablemente, otros desconocidos, son activados. Las rodlinas (círculos verdes) y las chaplinas (círculos rojos) se ensamblan en forma de una cubierta en la superficie de la hifa aérea. Adaptado de Claessen *et al.*, 2006.

### 3. Importancia del género *Streptomyces*

En el ambiente, estos microorganismos son importantes en el ciclo del carbono al metabolizar compuestos complejos, por ejemplo quitina y lignina, mediante una variada gama de enzimas hidrolíticas extracelulares (xilanasas, amilasas, celulasas, lipasas), permiten la disponibilidad de esqueletos carbonados más sencillos para microorganismos incapaces de utilizar sustratos complejos (Hodgson, 2000). La producción de enzimas hidrolíticas ha sido empleada en procesos de biorremediación (Schütze *et al.*, 2014), en muestras de suelo, *Streptomyces* sp. MC1 es capaz de reducir hasta un 94%, la concentración de cromo hexavalente (Polti *et al.*, 2009).

Una de las características que grandemente ha contribuido al interés en el estudio de este grupo de bacterias, deviene en su capacidad para producir compuestos bioactivos, como el caso de metabolitos secundarios con importantes aplicaciones socioeconómicas en la medicina humana y veterinaria como agentes antibacteriales, antitumorales y antifúngicos. Los miembros del género *Streptomyces* se encuentran entre los principales productores de antibióticos utilizados comercialmente (Watve *et al.*, 2001; Bibb, 2005), de los cuales los más usados son la *estreptomicina* (producida por *Streptomyces griseus*), la *tetraciclina* (producida por *Streptomyces rimosus*) y el *cloramfenicol* (producida por *Streptomyces venezuelae*). En la tabla 2 se señalan compuestos producidos y utilizados industrialmente por algunos miembros del género *Streptomyces*.

**Tabla 2.** Metabolitos secundarios representativos producidos por el género *Streptomyces* utilizados comercialmente

Microorganismo	Tipo de metabolito	Ejemplo
<i>Streptomyces griseus</i>	Antibiótico	Estreptomina
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Antibiótico	Cloramfenicol
<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Herbicida	Bialafos
<i>Streptomyces tsukabiensis</i>	Inmunosupresor	FK506
<i>Streptomyces achromogenes</i> var. <i>streptozoticus</i>	Inhibidor de $\beta$ -lactamasas	Ácido clavulánico
<i>Streptomyces avermitilis</i>	Antiparasitario	Avermectina

Adicionalmente, muchos compuestos bioactivos producidos por miembros de este género son importantes en la agricultura por su actividad estimulante del crecimiento, antiparasitaria y herbicida.

Por otra parte, varios genes de enzimas del metabolismo secundario se comienzan a emplear para la formación de *cluster* artificiales para la biosíntesis de nuevos compuestos, en la llamada biosíntesis combinatoria. Otra posibilidad que actualmente se plantea, es el uso de miembros del género *Streptomyces* como *reactores* o *bolsas enzimáticas* para la producción de compuestos complejos que difícilmente pueden ser obtenidos en bacterias como *Escherichia coli*, dado que estos microorganismos naturalmente presentan varios sistemas de exportación y sistemas enzimáticos complejos.

#### 4. Cepa modelo *Streptomyces coelicolor*

Inicialmente, *Streptomyces coelicolor* se adoptó como cepamodelo para el estudio de los estreptomicetos, principalmente, por su capacidad para producir dos

antibióticos pigmentados: actinorrodina (Act) y undecilprodigiosina (Red) (Liu *et al.*, 2013) que podían servir como marcadores genéticos. Junto con *S. griseus* y *S. avermitilis* es el estreptomiceto mejor caracterizado a nivel bioquímico, fisiológico y genético.

La secuenciación del cromosoma de *Streptomyces coelicolor* A3, evidenció la presencia de un solo cromosoma lineal, de 8.66 Mbps con un 72.1% de contenido GC, con alrededor de 7769 genes y 56 pseudogenes (Bentley *et al.*, 2002). *S. coelicolor* contiene alrededor de 965 proteínas que funcionen posiblemente como reguladores, y que representan cerca del 12.3% del total de cromosoma (*Ibíd.*) Los análisis bioinformáticos han predicho la existencia de 29 cluster para la síntesis de metabolitos secundarios.

## 5. Regulación Catabólica por Carbono

La capacidad metabólica y los mecanismos regulatorios que controlan la utilización de la fuente de carbono en las bacterias impactan directamente la capacidad de adaptación y supervivencia, en ambientes con alta fluctuación de nutrientes. Los estreptomicetos poseen una gran capacidad metabólica para la utilización de diversas fuentes de carbono. Aunque, algunas fuentes pueden ser co-metabolizadas (Kim *et al.*, 2009), en general, las bacterias tienen extensos sistemas regulatorios que aseguran la utilización jerárquica, en términos de rendimiento energético, de las fuentes de carbono. De tal suerte, que la fuente proveedora de un mayor rendimiento energético y fácilmente metabolizable, resulta utilizada preferencialmente sobre otras menos favorables. Este mecanismo regulatorio se

denomina como regulación catabólica por carbono (RCC) (Bruckner, 2002). Alrededor del 5-10%, de todos los genes bacterianos están sujetos a este fenómeno y conforma uno de los fenómenos regulatorios más importantes. Es primordial para la competencia entre microorganismos en sus nichos ecológicos, así la elección de la fuente de carbono que promueve el crecimiento acelerado conlleva un arma en la competencia y supervivencia de los mismos.

En términos generales, la fuente preferida de carbono es la glucosa. Sin embargo, la adaptación a nichos ecológicos especiales puede resultar en la elección de prácticamente cualquier carbohidrato como fuente preferencial (Bruckner, 2002).

A pesar de que, las consecuencias fisiológicas de la RCC son las mismas, los mecanismos implicados en dicho proceso son diversos en diferentes géneros bacterianos. El sistema de transporte PTS (*phosphoenopyruvate phosphotransferase system*) tiene un papel preponderante en la regulación por carbono en muchas bacterias (Wolfgang, 2002; Deutscher, 2006).

#### a. Represión catabólica por carbono en bacterias Gram-positivas con alto contenido G+C.

En comparación, con los mecanismos de RCC en bacterias Gram-negativas y bacterias Gram-positivas con bajos contenidos de G+C, en las bacterias del género *Streptomyces* y de bacterias Gram-positivas con alto contenido G+C, se sabe relativamente, poco de este fenómeno (Titgemeyer and Hillen, 2002; Wang *et al.*, 2002). Se ha encontrado un sistema PTS en bacterias de este género para el

transporte de D-fructosa y N-acetilglucosamina (GlcNac) (Nothaft *et al.*, 2003; Parche *et al.*, 2000)

El regulón GlcNac está controlado por el factor transcripcional DasR (Hillerich and Westpheling, 2006) y se ha observado que la NacGlc evita el progreso más allá del estado vegetativo y anula la producción de metabolitos secundarios. Tal efecto, no se presenta en una mutante en el transportador GlcNac.

Las mutaciones en los genes de este sistema (*ptsH*, *ptsI* y *crr*) conducen a fenotipos mutantes probablemente, a consecuencia del arresto de la diferenciación morfológica (Nothaft *et al.*, 2003; Rigali *et al.*, 2006). No obstante, el papel del sistema PTS en la diferenciación morfológica, la eliminación del gen *ptsH* no tiene repercusiones en la represión ejercida por la glucosa sobre actividades enzimáticas como el glicerol cinasa, la agarasa o la galactocinasa. La evidencia hasta el momento, indica que el sistema PTS no tiene un papel preponderante, a diferencia de otros organismos, en la regulación por carbono. El mecanismo de RCC en *Streptomyces coelicolor* parece diferir considerablemente al de las bacterias modelo *E. coli* y *B. subtilis* y, la evidencia parece sugerir un papel importante de la enzima glucosa cinasa Glk (codificada por el gen *sco2126*).

En un estudio previo, se seleccionaron mutantes de *S. coelicolor* resistentes al análogo no metabolizable de la glucosa, 2-desoxiglucosa (DOG). Dichas mutantes (*Dog<sup>R</sup>*) presentaron sensibilidad disminuida a represión catabólica por diversas fuentes de carbono y pérdida total o parcial de la actividad de Glk (Kwakman and Postma, 1994). A pesar de su incapacidad para utilizar la glucosa, las mutantes no mostraron deficiencias en el transporte de la misma (Hodgson, 1982). La ausencia

de represión por glucosa en estas mutantes, se correlacionó con la pérdida de la actividad de una glucosa cinasa ATP-dependiente. Para corroborar lo anterior, las mutantes Dog<sup>R</sup> de *S. coelicolor*, incapaces de crecer en glucosa, fueron complementadas con un fragmento BclI de DNA de 2.9 kb de *S. coelicolor*, el cual fue restauró la actividad de Glk y la sensibilidad a represión por glucosa (Ikeda, *et al.*, 1984). Al analizar la secuencia de nucleótidos del fragmento BclI de 2.9 kb, se determinó la presencia de tres marcos de lectura abiertos, *sco2126* y *sco2127* completos, y uno incompleto *sco2128* (Angell *et al.*, 1992). El *sco2126* (*glkA*) codifica para la enzima glucosa cinasa (Glk), la cual posee un tamaño aproximado de 33.1 kDa. Por su parte *sco2127*, posiblemente codifica para una proteína de 20.1 kDa, cuya función no se ha determinado.

Posteriormente, las mutantes Dog<sup>R</sup> fueron complementadas con el gen *glk* de *Zymomonas mobilis*, y se restauró la actividad catalítica, pero no la sensibilidad a represión catabólica por carbono, contrariamente a lo que sucede cuando son complementadas con su propio gen *glk*. En este estudio, se sugirió un papel dual de la enzima Glk, uno catalítico y otro regulatorio (Angell *et al.*, 1994).

De manera similar, cuando el gen *glk* de *S. coelicolor* se introdujo en una mutante Dog<sup>R</sup> de *S. lividans*, la sensibilidad a Dog y la represión en la producción de quitinasa se recupera casi, completamente (Saito, *et al.*, 1998). Adicionalmente, mutantes Dog<sup>R</sup> de *S. coelicolor* mostraron insensibilidad a RCC, incluso en fuentes de carbono no metabolizables vía Glk, por lo tanto, apoyaron el papel regulatorio de dicha enzima. Además, en *S. coelicolor* ha sido demostrada la expresión constitutiva



de la proteína mediante ensayos de actividad y *western-blot* (Kwakman and Postma 1994; Mahr *et al.*, 2000; van Wezel *et al.*, 2007).

De qué manera, la enzima Glk ejerce funciones catalíticas y como regulador continúa siendo un misterio. Estudios *in silico*, agruparon a la Glk en la familia ROK (del inglés Repressor, Open Reading Frames, Kinase), la cual incluye cinasas de azúcares y factores transcripcionales. No obstante, la secuencia de aminoácidos no posee dominios obvios de unión a DNA, por esto se ha sugerido que la actividad reguladora de la enzima subyace en su capacidad potencial para interactuar con factores transcripcionales (Angell *et al.*, 1992). Adicionalmente, estudios de *western-blot* demuestran que la proteína se produce de forma constitutiva en cultivos líquidos de *S. coelicolor*, cuando se emplea glucosa o manitol como fuentes de carbono, pero la actividad cinasa varía enormemente de acuerdo a la fuente de carbono y la fase de crecimiento: cultivos en fase exponencial crecidos en glucosa tienen una mayor actividad de Glk, en tanto que los cultivos con glicerol no presentan actividad aunque por *western-blot* se verificó su expresión. La actividad cinasa de Glk se ha correlacionado con la abundancia de una isoforma de menor tamaño de Glk, así sugiere que la actividad podría ser el resultado de un procesamiento proteolítico u otra modificación post-traducciona y tal modificación, podría estar relacionada con su capacidad para interactuar con factores transcripcionales, desconocidos hasta la fecha (van Wezel *et al.*, 2007).

Se ha que sugerido una posible unión entre Glk y GlcP (transportador de glucosa), la cual, podría mediar el transporte eficiente de glucosa, así como su concomitante fosforilación, en tanto, la fracción citoplásmica de GIK podría responder a niveles

celulares de glucosa, ATP o a algún otro metabolito, hasta ahora no identificado (van Wezel *et al.*, 2007).

## 6. Generalidades de las glucosas cinasas

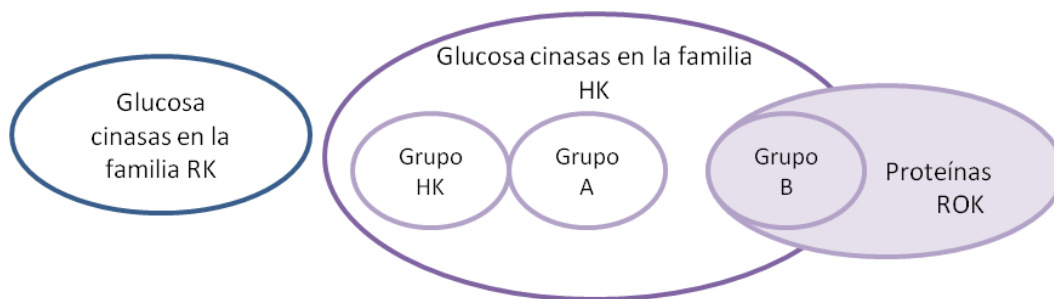
Las glucocinasas (GKs) son enzimas intracelulares responsables de la fosforilación de la glucosa a glucosa-6-fosfato con alta especificidad por glucosa, a través de donadores de grupos fosforilo (a saber, ATP, ADP y polifosfato inorgánico [poly (P)]). En los eucariontes la fosforilación de la glucosa es llevada a cabo predominantemente por cinasas dependientes de ATP con amplia afinidad por hexosas. Las glucocinasas y hexocinasas, se clasifican de acuerdo, a su estructura primaria en dos familias no-homólogas: hexocinasas (HK) y ribocinasas (RK) (Kawai *et al.*, 2005).

La familia RK consiste en glucocinasas de euriarchaeota y eucariontes (mamíferos), y una enzima bifuncional GK/fosfofructocinasa, encontrada en archaeas. Las GKs en esta familia se caracterizan por la homología de sus estructuras primarias y terciarias. Los miembros de la familia HK se caracterizan por unos cuantos motivos conservados.

Las Gks en la familia HK se subclasifican en tres pequeños grupos, HK, A y B (Fig.4). La estructura primaria en el mismo subgrupo se encuentra conservada, sin embargo, a excepción de unos cuantos motivos conservados, las estructuras primarias fuera de cada subgrupo no se encuentran conservadas. Los miembros de la familia HK corresponden a las enzimas encontradas en eucariontes, los

ejemplos más estudiados son las isoenzimas HK I-HK IV de humano. El grupo A consiste básicamente de GKs, encontradas en bacterias gram-negativas, cianobacterias y algunos protistas. En el grupo B, incluye hexocinasa encontradas en crenarcheotas (*Aeropyrum pernix*) y GKs de bacterias gram-positivas.

Las estructuras primarias en este grupo son homólogas a aquellas proteínas denominadas ROK, inicialmente definidas como un grupo de proteínas como represoras, marcos de lectura abiertos y cinasas, cuyas estructuras primarias se encuentran altamente, conservadas. Por tanto, las proteínas ROK incluyen glucosas cinasas en el grupo B, pero no aquéllas en los grupos HK o A (Fig. 4).



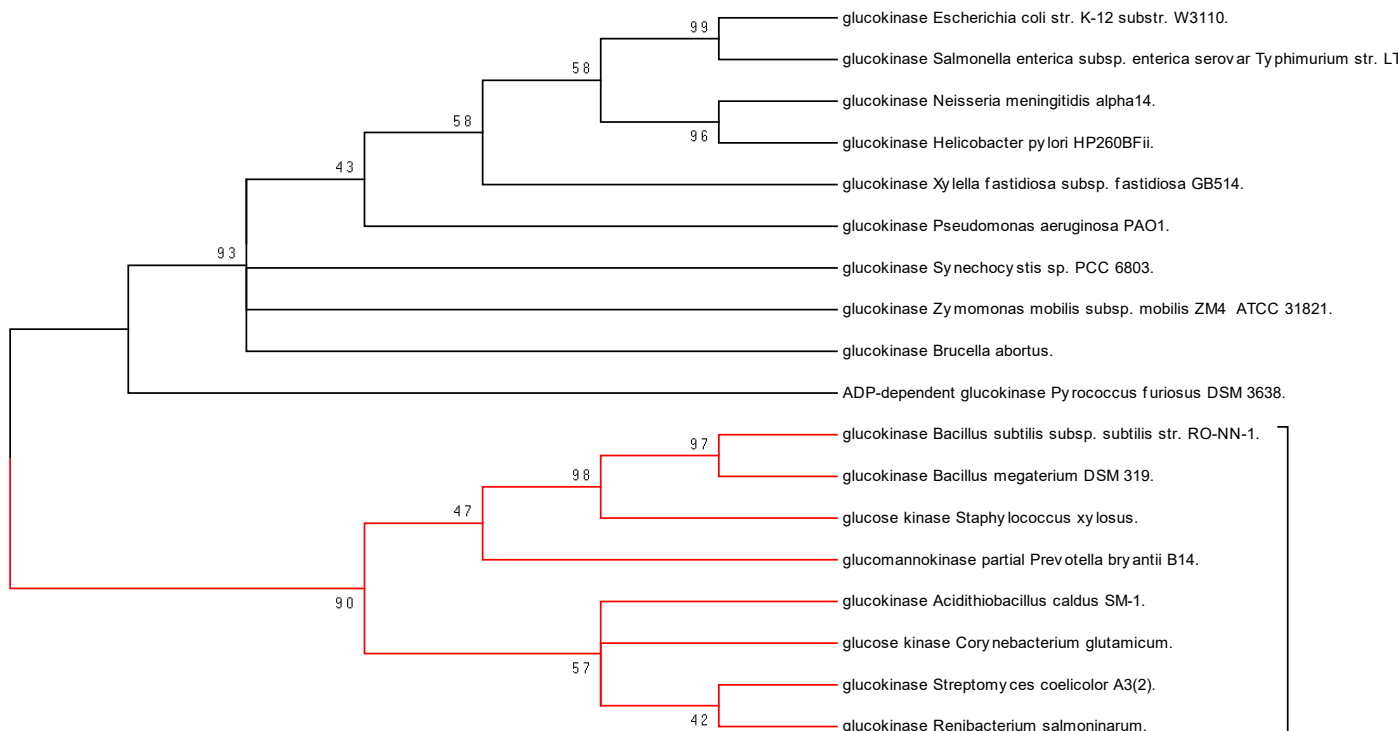
**Figura 4. Clasificación de las glucosas cinasas y proteínas ROK.**

Las glucosa cinasas se han clasificado en dos familias no-homólogas: HK y RK. Las proteínas en la familia HK son subclasificadas en tres grupos, HK, A y B. Las proteínas ROK incluyen a las glucosas cinasas del grupo B y proteínas con otras funciones (modificado de Kawai *et al.*, 2005).

De manera particular, las glucosa cinasas microbianas pueden ser divididas en tres familias distintas con base a su estructura primaria (Lunin *et al.* 2004): i) GKs de archea (ribocinasas), ii) ATP-GKs sin el motivo ROK (familia HK, subgrupo A) iii) ATP-GKs pertenecientes a la familia ROK (*repressors, open reading frame of unknown function, and sugar kinases*).

El grupo III, de las glucosas cinasas (PFAM: PF00480) consisten de glucosa cinasas dependientes de ATP pertenecientes a archeas o bacterias (predominantemente

Gram positivas) que poseen un motivo ROK. Los miembros de la familia ROK pueden ser identificados por dos firmas en su secuencia (conocidas como cajas ROK), ubicadas en la región central de la proteína. Las firmas consisten de 28 residuos de aminoácidos con un motivo conservado ExCH y 14 residuos que forman un motivo de unión a zinc (CXCGXXGCXE). Adicionalmente, contienen un motivo de unión a ATP (en el caso de las cinasas) o un dominio de unión a DNA del tipo hélice-vuelta-hélice (en el caso de los represores) en el N-terminal. Los miembros de la familia ROK han sido localizados en muchas especies y constituyen la familia más prolífica de GKs. En la actualidad, cerca de 5,000 proteínas pertenecientes a la familia ROK han sido identificadas, en mayor medida en procariontes, pero miembros de esta familia se han encontrado en todos los reinos de la vida. A pesar del vasto número de secuencias, sólo la glucosa cinasa de *Streptomyces griseus* (SgGlc) ha sido cristalizada y constituye la primera de este grupo.



**Figura 5. Cladograma basado en la secuencia de aminoácidos de glucosa cinasas bacterianas.**

Las enzimas previamente asociadas con funciones reguladoras forman un clado independiente (rojo) de aquéllas no reguladoras (Modificado de Fields and Russel, 2002).

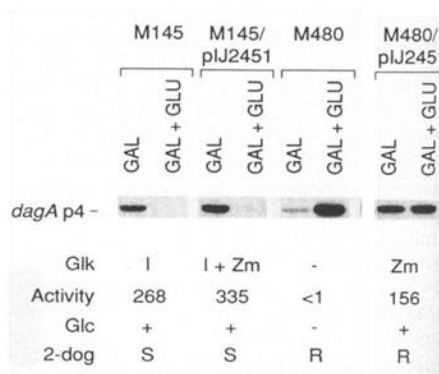
**a. Funciones como proteína regulador**

Ha sido propuesto que, además del papel catalítico de las enzimas GKs, éstas podrían funcionar como moléculas reguladoras, principalmente aquellas pertenecientes a la familia ROK. La función como regulador de estas enzimas ha sido asociada en mayor medida al mecanismo de represión catabólica por carbono.

Los estudios para comprender la regulación por carbono, particularmente por glucosa, dependen del aislamiento de mutantes espontáneas resistentes al análogo no-metabolizable de la glucosa, 2-desoxiglucosa (Hodgson *et al.*, 1982; Segura *et al.*, 1996). Aunque, algunas de estas mutaciones podrían afectar al gen *glk*, el efecto completo del tratamiento mutagénico es desconocido. Por tanto, es importante “aislar” el efecto de Glk en la respuesta reguladora a glucosa.

Algunas de las mutantes Dog<sup>R</sup> carecían de actividad de glucosa cinasa y esta observación fue correlacionada con la pérdida de la regulación, por carbono sobre la transcripción del gen *dagA* codificante para la enzima agarasa A (Fig.6). Otra observación interesante, fue que la complementación con una glucosa cinasa heteróloga de *Zymomonas mobilis*, condujo a la restauración del crecimiento en glucosa, pero no de la regulación por carbono (Fig.6). No obstante, a la fecha no han podido ser separadas las actividades catalíticas de la posible función como proteína reguladora. La enzima Glk, de acuerdo a su estructura primaria, pertenece a la familia III (Lunin *et al.*, 2004). Los miembros de esta familia tienen la firma ROK

y se encuentra formada por represores, marcos de lectura abiertos y cinasas. Sin embargo, a diferencia de los represores miembros de esta familia, las cinasas carecen de dominios de unión a DNA, de tal suerte que los efectos regulatorios de Glk no podrían deberse a una interacción directa con el DNA y sus efectos podrían ser resultado de una interacción proteína-proteína. A la fecha, la única posible interacción, verificada indirectamente, es con el transportador de glucosa GlcP (van Wezel *et al.*, 2007). Luego, el modelo clásico para evaluar el efecto regulatorio de la glucosa, es el efecto sobre la utilización de agar (transcripción y actividad de la enzima agarolítica DagA) del cual, se tiene un conocimiento muy limitado.



**Figura 6. Efecto de la glucosa en diferentes fondos genómicos de *Streptomyces coelicolor* sobre la transcripción del gen de la agarasa A *dagA*.**

El flujo glucolítico, es decir, la actividad de cinasa no es suficiente para restaurar la RCC. M145 cepa protótrofa silvestre de *S. coelicolor*; M480 cepa mutante resistente a 2-desoxiglucosa; plásmido pIJ2451 plásmido de bajo número de copias con el gen de *Z. mobilis* (Angel *et al.*, 1994)

## II. Justificación

La regulación por la fuente de carbono en los microorganismos es un fenómeno importante para la competencia con otros organismos y, para su supervivencia en el ambiente. En *Streptomyces coelicolor*, este mecanismo parece impactar no sólo la utilización secuencial de las fuentes de carbono sino, además, de manera directa o indirecta, la producción de metabolitos secundarios y la diferenciación morfológica. Pese, a los estudios realizados, el mecanismo regulatorio completo se desconoce y aunque parece depender, al menos en parte, de la enzima glucocinasa (Glk). La comparación de las respuestas transcripcionales de *S. coelicolor* en una fuente de carbono represora (glucosa) y una fuente de carbono no represora (agar), nos permitirá reconocer los genes sujetos a regulación positiva y negativa por glucosa. Adicionalmente, las respuestas transcripcionales de la cepa silvestre y una cepa *glk* nula en condiciones represoras, contribuirá al conocimiento de los efectos negativos o positivos que dependen de la enzima Glk.

### III. Objetivos

#### Objetivo General

- Analizar la respuesta transcripcional del efecto de la glucosa y la posible participación del gen *glk*, en el modelo de represión catabólica por carbono sobre la utilización de agar en *Streptomyces coelicolor*.

#### Objetivos particulares

- Obtener una mutante nula en el gen *glk* y su complementación con un gen heterólogo
- Analizar la respuesta transcripcional a una fuente de carbono represora (glucosa), frente a una fuente no represora en la cepa silvestre de *Streptomyces coelicolor* M145
- Análisis de la respuesta transcripcional a una fuente de carbono represora (glucosa) frente a una fuente no represora en una mutante *glk* nula de *S. coelicolor*.
- Propuesta de vía de regulación mediada por glucosa en *S. coelicolor*



## IV. Materiales y Métodos

### 1. Cepas bacterianas y plásmidos

Todas las cepas de *Streptomyces* se almacenaron como suspensiones densas de esporas en 20% (v/v) de glicerol a - 20 ° C. Se usó *E. coli* DH5- $\alpha$  para los procedimientos de clonación de rutina, mientras que *E. coli* ET12567/pUZ 28002 (Kieser *et al.*, 2000), se utilizó para obtener el ADN no metilado y para conjugaciones intergenéricas. Las cepas bacterianas y plásmidos utilizados en este trabajo se enumeran en el Apéndice I.

Para las cepas de *Streptomyces* con el plásmido pIJ702 y/o pUNAMZm, se utilizó tioestreptón a una concentración final de 10  $\mu$ g/ml.

### 2. Medios y condiciones de crecimiento

Las cepas de *E. coli* se cultivaron en medio Luria-Bertani bajo los procedimientos de rutina (Sambrook *et al.*, 2001). Todos los medios y técnicas de rutina *Streptomyces* se describen en el *Manual de técnicas de laboratorio para Streptomyces* (*Ibíd.*).

Para la extracción de RNA para transcriptoma, las suspensiones de esporas se lavaron una vez con agua destilada, se resuspendieron en 20 ml, de medio 2X YT y se incubaron a 30 ° C de 8-10 h a 30 °C, en matraces de 250-ml a 250 rpm. Las esporas pre-germinadas fueron recuperadas por centrifugación y lavadas con medio NMMP sin fuente de carbono. Se utilizaron para inocular 50 ml de medio NMMP

suplementado, ya sea con 1% (w / v) de agar o 0.5% de glucosa y 0.5% de agar, como fuentes de carbono para obtener una DO inicial de 0.05 a 490 nm. El agar utilizado como fuente de carbono fue parcialmente, hidrolizado como se describió con anterioridad (Servín-González *et al.*, 1994).

Para la determinación de la actividad cuantitativa de Glk se utilizó el medio TSB, en tanto para la actividad cualitativa se empleó medio BPG. La formulación completa de todos los medios de cultivo empleados se encuentra en el Apéndice II

### 3. Actividad de glucosa cinasa

La actividad cualitativa de Glk se observó en medio BPG con el indicador de pH púrpura de bromocresol, mediante un cambio en el color de las colonias de púrpura a amarillo. La actividad cuantitativa de la enzima Glk se midió espectrofotométricamente, en una reacción acoplada a la reducción de NADP ( $\epsilon = 6,22 \text{ cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ ), con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Ruiz-Villafán *etal.*, 2014).

### 4. Construcción del mutante *glk* nula en *S. coelicolor*

El gen *glk* (*sco2126*) de *S. coelicolor* M145 (*ScoM145*) fue sustituido por el casete de resistencia a apramicina *aac(3)IV*, utilizando el procedimiento de PCR-targetting. (Gust *et al.*, 2004). Para este propósito, se dispuso del cósmido StC6E10 (gentilmente proporcionado por el Dr. Luis Servín) que posee el gen *glk* y todos los plásmidos descritos en el citado protocolo. Después del proceso de recombinación, las posibles mutantes *glk* nulas se verificaron mediante PCR. Las colonias resultantes fueron analizadas por secuenciación para confirmar el reemplazo.

Adicionalmente, se determinó la actividad de Glk (Ruiz-Villafán *et al.*, 2014). Los oligonucleótidos utilizados para la generación de la mutante y su confirmación, se enlistan en el apéndice III

### 5. Clonación del gen *glkzm* y su transformación en *Streptomyces coelicolor* nula en el gen *glk*

Para la complementación heteróloga, el plásmido pIJ2442 (John Innes Centre, Reino Unido) fue digerido con las enzimas *Pst*I y *Sac*I para generar un fragmento de 1,7 Kb donde se encuentra el gen *glk* de *Z. mobilis* (*glkzm*). El plásmido pIJ702 fue digerido con las enzimas mencionadas. Posteriormente, los fragmentos se purificaron con el sistema de limpieza para productos de PCR Wizard® SV Gel and PCR Clean-UP System, de acuerdo a las indicaciones del fabricante y se verificaron en un gel de agarosa al 0.75%. Ambos fragmentos se ligaron con la enzima DNA Ligasa T4 (Promega) en proporciones (inserto: vector) 1:1 y 1:2, durante toda la noche a temperatura ambiente (20°C). La ligación se precipitó con NaCl y etanol. El fragmento *zmg*lk subclonado en el plásmido pIJ702 produjo el plásmido pUNAMZm. Mediante el uso de la técnica de transformación de protoplastos, (Kieser *et al.*, 2000), los plásmidos pIJ702 y pUNAMZm se introdujeron a la mutante *glk* nula, generando, las cepas Sco702 (con un plásmido vacío) y la cepa ScoZm (con la *zmg*lk insertada), respectivamente.

## 6. Extracción y purificación de RNA y análisis de microarreglos

Las cepas de *S. coelicolor* utilizadas para la extracción de RNA se cultivaron como se mencionó previamente. Los cultivos se incubaron a 250 rpm y 30 ° C, hasta que se alcanzó la fase de crecimiento exponencial (12h para *S. coelicolor* y 16h para *ScoZm*). Una vez transcurrido el tiempo de incubación, el micelio se separó mediante filtración, por ello se empleó papel filtro Whatman 4. Con el fin de evitar la transcripción durante del proceso de extracción, los micelios filtrados fueron estabilizados con el reactivo RNAprotect de Qiagen, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La integridad del RNA se verificó mediante el equipo Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) y en gel de agarosa. La pureza del RNA se consideró suficiente con una relación entre las absorbancias 260/280 de entre 1.8 y 2.0. Se prepararon cuatro réplicas biológicas independientes para cada condición. La ausencia de DNA fue verificada mediante PCR, en ausencia de enzima transcriptasa reversa. La preparación del cDNA para los microarreglos, así como su procesamiento se llevó a cabo en la Universidad de Surrey, conforme a los protocolos previamente, publicados. (Lewis *et al.* 2010; y [http://www.surrey.ac.uk/fhms/microarrays/Downloads/Protocols/Strep\\_hyb\\_protocol\\_1005.pdf](http://www.surrey.ac.uk/fhms/microarrays/Downloads/Protocols/Strep_hyb_protocol_1005.pdf)). El RNA fue marcado empleando los fluoróforos Cy3-dCTP y Cy5-dCTP. Para disminuir el riesgo derivado de la incorporación de la marca, se efectuó la técnica de *dye-swap*. Los microarreglos empleados (104K x-60mer) consisten de una matriz sólida, con el genoma completo de *S. coelicolor* por duplicado (Agilent Technologies).

Los datos normalizados fueron procesados estadísticamente para detectar los genes expresados diferencialmente, mediante el análisis de Rank Products (Breitling *et al.*, 2004).

El diseño del microarreglos y los resultados fueron almacenados y están disponibles en la base de datos ArrayExpress ([www.ebi.ac.uk/arrayexpress](http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress)) [E-MTAB-3602, E-MTAB-3603].

## 7. RT-qPCR

Para confirmar los resultados obtenidos por microarreglos, se procedió a efectuar un análisis RT-PCR cuantitativo. Las muestras de RNA fueron extraídas y tratadas de igual manera que aquellas empleadas para el análisis de microarreglos. Se sintetizó cDNA por medio de la enzima Superscript® III transcriptasa reversa (Invitrogen), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Cada reacción contenía 1 mg de RNA, hexámeros al azar y los cDNA resultantes se utilizaron como molde para los ensayos de RT-qPCR. La composición detallada de cada reacción, así como las condiciones de síntesis se describen en el apéndice V.

Una vez sintetizado el CDNA, se llevaron a cabo las reacciones de amplificación en tiempo real. Cada reacción de qPCR se realizó en un volumen de reacción de 10 µl con 1 µl de cDNA diluido, a una concentración final de 0.5 mM. Asimismo, se empleó un protocolo de amplificación de tres pasos, en el equipo Real Time PCR System StepOne (Life Technologies, EE.UU.), y el kit MaximaR SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (Life Technologies, USA). La composición detallada de cada reacción, así como las condiciones de síntesis se describen en el apéndice V.

Después de 40 ciclos de amplificación, la calidad de los productos de PCR se evaluó mediante el análisis de la curva de disociación. Las reacciones se realizaron por triplicado y se promediaron los valores de Ct. Las curvas de calibración se operaron para evaluar la eficiencia de los oligonucleótidos para los genes blanco. Los oligonucleótidos fueron diseñados a través de la herramienta PrimerQuest IDT. Las secuencias de nucleótidos de estos cebadores se muestran en el apéndice III. La técnica de cuantificación utilizada para analizar los datos fue propuesta por Pfaffl (2001).

Para buscar genes de referencia adecuados se probaron: el gen codificante para el factor sigma HrdB (Salerno *et al.*, 2013), el gen codificante para la cadena beta de la DNA polimerasa III DnaN, el gen codificante para una subunidad de la DNA girasa GyrA, el gen codificante para la recombinasa RecA y el gen para la subunidad alfa de la RNA polimerasa RpoA (Huang *et al.*, 2013). Para seleccionar los genes de referencia más estables se utilizó el programa BestKeeper (Pfaffl *et al.*, 2004). Para aumentar la robustez, los datos se normalizaron con los genes de referencia *rpoA*, *gyrA* y *recA*.

## 8. Determinación de antibióticos

La actinorrodina total (Act) se determinó espectrofotométricamente, a 640 nm a partir de los sobrenadantes de micelio tratado con KOH 3N en proporción 1.1. La concentración se calculó mediante la Ley de Lambert-Beer, empleando el coeficiente de extinción molar de 25 320 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Bystrykh *et al.*, 1996).

La undecilprodigiosina (Red) se determinó espectrofotométricamente a 530 nm, después del tratamiento con metanol ácido de una muestra de micelio seco. La concentración se calculó utilizando un coeficiente de extinción de  $100 \text{ M}^{-1} \text{ 500 cm}^{-1}$ , según lo informado por Strauch *et al.* (1991).

## 9. Evaluación morfológica

Para observar el efecto de la glucosa sobre la morfología colonial  $10\mu\text{l}$ , de una suspensión de esporas pre-germinadas fueron inoculados en una placa que contenía medio NMMP con o sin 0,5% de glucosa. Las placas se incubaron a  $29^{\circ}\text{C}$  y se observó, el desarrollo de la colonia secundado por un microscopio estereoscópico 40X-.

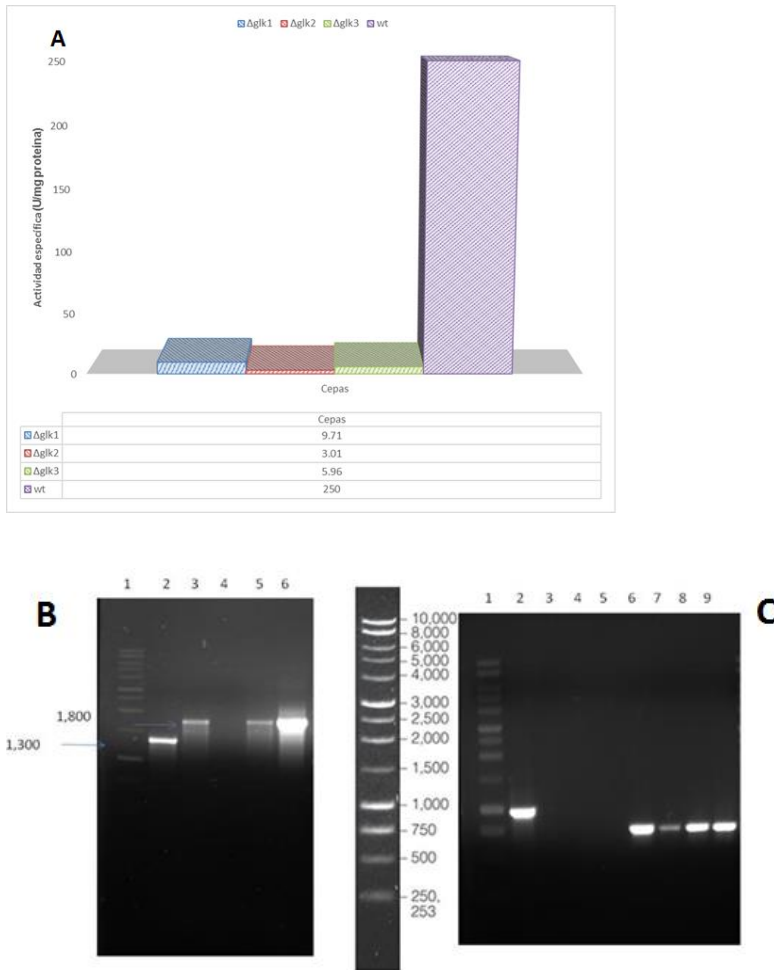
Para observar el efecto de la glucosa cinasa sobre la diferenciación morfológica, se tomaron muestras de colonias esporuladas en medio MS y fueron observadas a través de microscopio electrónico. (Ver apéndice V para la descripción del método).

## V. Resultados y discusión

### 1. Obtención de la mutante *glk* nula en *Streptomyces coelicolor*

Con el fin de estudiar el efecto de la enzima Glk, el gen *glk* (*sco2126*) fue intercambiado por un casete de resistencia a apramicina, mediante la técnica de PCR-targetting. A partir de la cepa protótrofa *S. coelicolor* M145 se generó a la cepa *ScoΔglk*, en la cual se ha intercambiado el gen *glk* por el marcador de resistencia al antibiótico apramicina (Fig. 7A). Se realizaron pruebas genotípicas y fenotípicas de las posibles mutantes. La actividad de Glk de 3 colonias incapaces de crecer en glucosa (posibles mutantes) resultó menor al 10% de la actividad encontrada en la cepa silvestre (Fig. 7C). Este resultado sugería el intercambio del gen *glk* por el casete de interrupción lo que se corroboró mediante la amplificación de la región flanqueante del gen *glk* y/o el casete de resistencia a apramicina (Fig. 7A). Adicionalmente, se amplificó en específico al gen *glk* con los oligonucleótidos reportados por Mahr *et al.* (2000) (Fig. 7B), cuya especificidad para la amplificación de *glk* ha sido reportada por nuestro grupo y el anteriormente citado. Los fragmentos generados se verificaron por secuenciación.





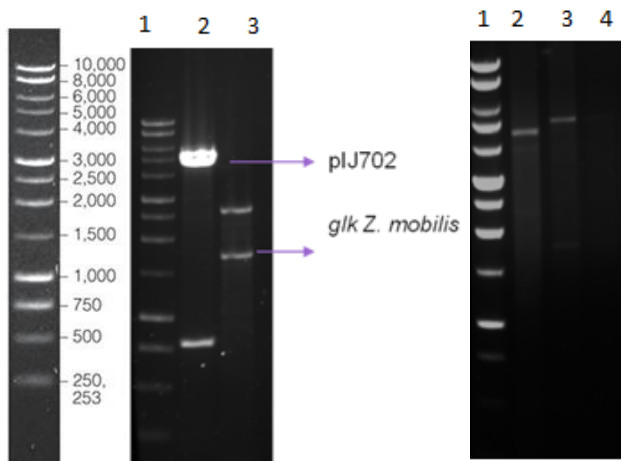
**Figura 7. Análisis genotípico y fenotípico de las posibles mutantes.**

**Panel A.** Gráfica de actividad de glucosa cinasa de la cepa silvestre y las posibles mutantes 1, 2 y 3. **Panel B.** Amplificación de DNA genómico utilizando como cebadores los oligonucleótidos *gk*-out. Carril 1 marcador de tamaño GenRuler™ ThermoFisher. Carril 2 Amplicón a partir del DNA de la cepa silvestre. Carriles 3, 5 y 6 amplificaciones a partir del DNA de las cepas mutantes 1, 2 y 3. **Panel C.** Amplificación del gen *gk* con cebadores específicos (*gk* Mahr). Carril 1 marcador de tamaño GenRuler™ ThermoFisher. Carril 2 Amplicón a partir del DNA de la cepa silvestre. Carriles 3, 4 y 5 amplificaciones del DNA de las cepas mutantes 1, 2 y 3. Carril 6 amplificación del control positivo RNA ribosomal 16S de la cepa silvestre. En carriles 7, 8 y 9 amplificación del control positivo RNA ribosomal 16S cepas mutantes 1, 2 y 3. A modo informativo se ha insertado la imagen de referencia del marcador de tamaño GenRuler™.

## 2. Subclonación y transformación del gen *gk* de *Z. mobilis* en la cepa *gk* nula de *S. coelicolor*

Los plásmidos pIJ2442 y pIJ702 se cortaron con las enzimas de restricción *Pst*I y *Sac*I (Fig. 8). Los fragmentos obtenidos, correspondientes al plásmido linealizado

y al gen *glkzm*, se ligaron de acuerdo a lo descrito en la metodología. El DNA genrado después de la reacción de ligación, se introdujo en una de las cepas mutantes mediante transformación de protoplastos. Las colonias obtenidas se resembraron dos veces en medio de selección y posteriormente se extrajo el plásmido. Como se observa en la Fig. 8, se produjo la ligación del fragmento que contiene el gen *glkzm* de *Z. mobilis* en el plásmido pIJ702, lo cual generó el plásmido pUNAMZm.



**Figura 8. Subclonación del gen *glkzm* a partir del plásmido pIJ2442 en el vector pIJ702.**

A la izquierda plásmidos pIJ702 y pIJ2442 digeridos con las enzimas *Pst*I y *Sac*I. Carril 1 marcador de tamaño GenRuler™ThermoFisher. Carril 2 Linealización del vector pIJ702 con las enzimas *Pst*I y *Sac*I. Carril 3 Digestión del plásmido pIJ2442, se observa la liberación del gen *glk* de *Z. mobilis* (1,700 pb). Los fragmentos resultantes de la restricción se ligaron para dar lugar al plásmido pUNAMZm. A la derecha, Carril 1 marcador de tamaño GenRuler™ThermoFisher. Carriles 2, 3,4 digestión del plásmido extraído de las transformantes A, D y E con las enzimas *Pst*I y *Sac*I. Carril 3 correspondiente a la transformante D, se observa la liberación del fragmento de 1,700 pb que corresponde al gen *glk* de *Z. mobilis*. A modo informativo se ha insertado la imagen de referencia del marcador de tamaño GenRuler™.

Los plásmidos pIJ702 y pUNAMZm se transformaron de manera independiente, en la mutante *glk* nula de *S. coelicolor*, dando lugar a las cepas *Sco*702 (con el plásmido pIJ702) y *Sco*Zm (plásmido pUNAMZm).

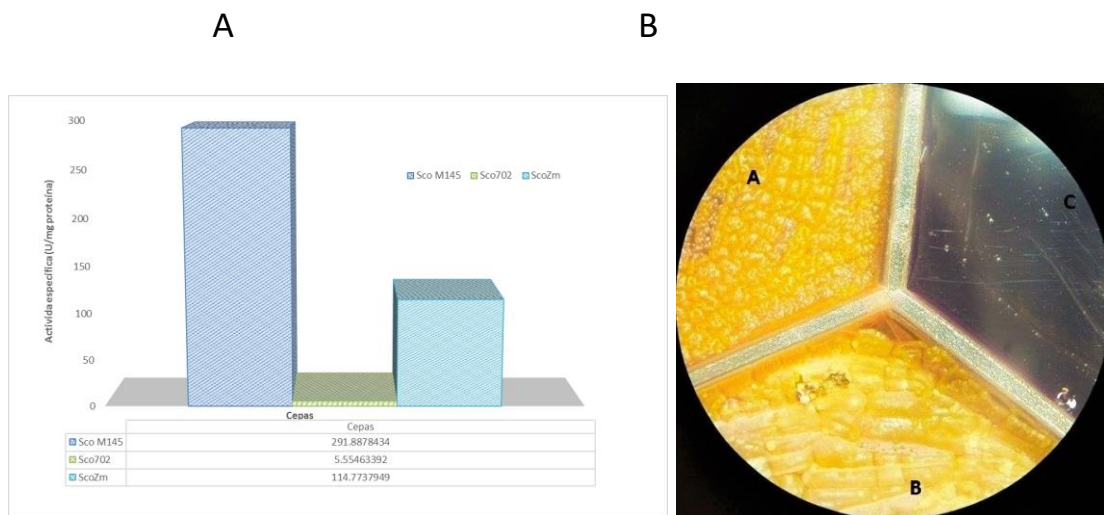
### 3. Complementación y caracterización de la cepa mutante nula en el gen *glk* con el gen que codifica la glucosa cinasa de *Z. mobilis*.

Las cepas transformadas con los plásmidos pIJ702 y pUNAMZm, así como la cepa parental, fueron analizadas para determinar la actividad de glucosa cinasa, el crecimiento en glucosa como única fuente de carbono y los parámetros cinéticos.

En la figura 9 se presenta la actividad cuantitativa y cualitativa de glucosa cinasa en las cepas ScoM145, ScoZm y Sco702. La actividad específica de glucosa cinasa (Fig. 9A) alcanzada mediante la inserción del plásmido pUNAMZm en la cepa *glk* nula, corresponde aproximadamente al 40% de aquella actividad observada en la cepa silvestre. Mientras que la inserción del plásmido pIJ702 no mostró un efecto positivo sobre la actividad de glucosa cinasa, siendo la poca actividad observada similar a las de las mutantes *glk* nulas sin plásmido (Fig. 7A y Fig. 9A).

Para corroborar que la actividad observada *in vitro* podía sostener el crecimiento de la cepa ScoZm en un medio con glucosa como única fuente de carbono, las cepas fueron crecidas en medio mínimo MM y, se determinó cualitativamente el crecimiento. Tanto la cepa ScoM145, como la cepa ScoZm fueron capaces de crecer en las mencionadas condiciones, en tanto la cepa Sco702 no fue capaz de hacerlo. Adicionalmente, se analizó de forma cualitativa la actividad de Glk mediante la siembra de las diferentes cepas en el medio BPG-agar. En la figura 9 se observa que las cepas capaces de utilizar la glucosa como fuente de carbono (ScoM145 y ScoZm), viran el pH del indicador del medio, de un tono púrpura hacia un color amarillo intenso; en tanto, la cepa Sco702 fue incapaz de crecer en dicho medio (Figura 9B). Estos resultados demostraron cualitativamente, la capacidad reportada

de la enzima Glk de *Z. mobilis* para restablecer la capacidad de utilización de la glucosa (Angell *et al.*, 1994).



**Figura 9. Actividad cuantitativa y cualitativa de glucosa cinasa.**

**A.** Gráfica de actividad de glucosa cinasa de las cepas ScoM145, Sco702 y ScoZm. **B.** Visualización cualitativa de la actividad de Glk en medio BPG después de 48h de incubación. Cepas: A ScoM145, B ScoZm y C Sco702

Para extender la caracterización del efecto del reemplazo génico, se determinaron la utilización de glucosa y la velocidad específica de crecimiento de las cepas

*ScoM145*, *ScoZm* y *Sco702*. Se observó la enzima *zmGik* restablece la utilización de glucosa, a una velocidad específica de crecimiento similar, a saber,  $\mu = 0.085 \text{ h}^{-1}$  para *ScoM145* y  $\mu = 0.09 \text{ h}^{-1}$  para *ScoZm*, mientras que para la cepa sin *Gik*, *Sco702*, la velocidad de crecimiento fue de  $\mu = 0.04 \text{ h}^{-1}$ . Sin embargo, la velocidad específica de consumo de glucosa es menor en las cepas *ScoZm* y *Sco702*, comparadas con la cepa parental *ScoM145* (Tabla 3).

**Tabla 3 Comparación de los parámetros de crecimiento de las cepas *ScoM145*, *ScoZm* y *Sco702*.**

	<i>ScoM145</i>	<i>ScoZm</i>	<i>Sco702</i>
Velocidad específica de crecimiento <sup>a</sup>	0.085 h <sup>-1</sup>	0.09h <sup>-1</sup>	0.04 h <sup>-1</sup>
Velocidad específica de consumo de glucosa <sup>b</sup>	0.226 mmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> peso seco	0.183 mmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> peso seco	0.062 mmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> peso seco
Biomasa máxima <sup>c</sup>	3.9 mg/mL	3.8 mg/mL	2.05 mg/mL

<sup>a</sup> La velocidad específica de crecimiento fue determinada en medio NMMP con 0.5% de glucosa y 0.5% de agar. Los datos utilizados para el cálculo corresponden a la fase exponencial de crecimiento.

<sup>b</sup> Determinada en medio NMMP con 0.5% de glucosa y 0.5% de agar. Los datos utilizados para el cálculo corresponden a las 8, 10, 12, 16,24 y 36 h de crecimiento.

<sup>c</sup> Determinada en medio NMMP con 0.5% de glucosa y 0.5% de agar a las 36 h de crecimiento.

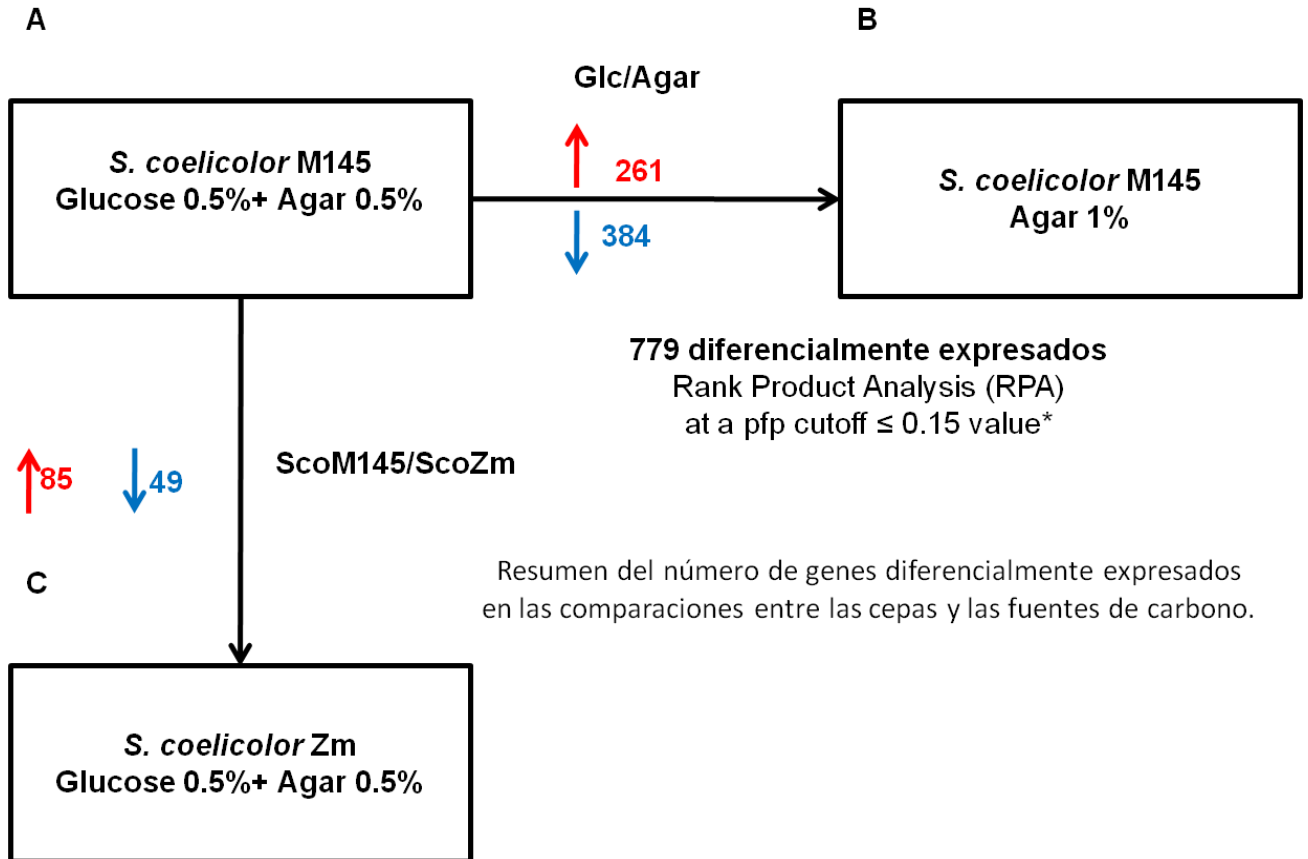
#### 4. Análisis del transcriptoma

Se realizaron extracciones de RNA de las cepas *ScoM145* y *ScoZm* en la fase exponencial de crecimiento, en condiciones represoras y no represoras. En un primer experimento de microarreglos, se comparó el efecto de la fuente de carbono en la cepa silvestre M145. Se compararon 4 réplicas biológicas de muestras de RNA, provenientes de cultivos en condiciones represoras (0.5% glucosa +0.5% agar) contra 4 réplicas biológicas de cultivos crecidos en condiciones no-represoras

(1% agar). De manera abreviada, esta comparación se denominará Glc/Agar a lo largo del texto. Por otra parte, 4 réplicas biológicas de la cepa silvestre *S. coelicolor* M145 en condiciones represoras sirvieron de contraste con 4 réplicas biológicas de la cepa mutante *ScoZm*, dando lugar a la comparación *ScoM145/ScoZm*.

Los genes expresados diferencialmente fueron obtenidos mediante la comparación de los datos promedio de expresión con el método de *Rank Products* (RPA). Éste es un algoritmo matemático que permite la obtención de un valor de confianza estadístico, *pdf* (*probability of false positive*) diseñado para el análisis de microarreglos con menos de 10 réplicas. Consiste de un procedimiento matemático basado en una serie de medias geométricas y permutaciones se obtiene una lista de genes ordenados, de acuerdo a su valor de confianza estadístico. Adicionalmente, este método ha probado ser una herramienta poderosa para la identificación de cambios de expresión biológicamente significativos. Así, los genes con un valor  $\approx 0$ , son los resultados más confiables y a su vez, tienen la mayor probabilidad de relevancia biológica (Breitling *et al.* 2004). El valor de corte empleado para identificar genes expresados diferencialmente fue un valor *pdf* inferior o igual a 0.15, esto equivale a una tasa de falsos positivos de aproximadamente 15%. Este valor de corte ha sido ya empleado en el análisis de microarreglos de *Streptomyces* (Bucca *et al.*, 2009). El análisis resultó en la identificación de 261 regulados positivamente por glucosa y 384 con menor expresión en la comparación Glc/Agar. En tanto, en la comparación *ScoM145/ScoZm* se encontraron 85 genes que fueron regulados positivamente y

49 genes regulados negativamente. En total, 779 genes fueron expresados diferencialmente, en ambas comparaciones (Figura 10)

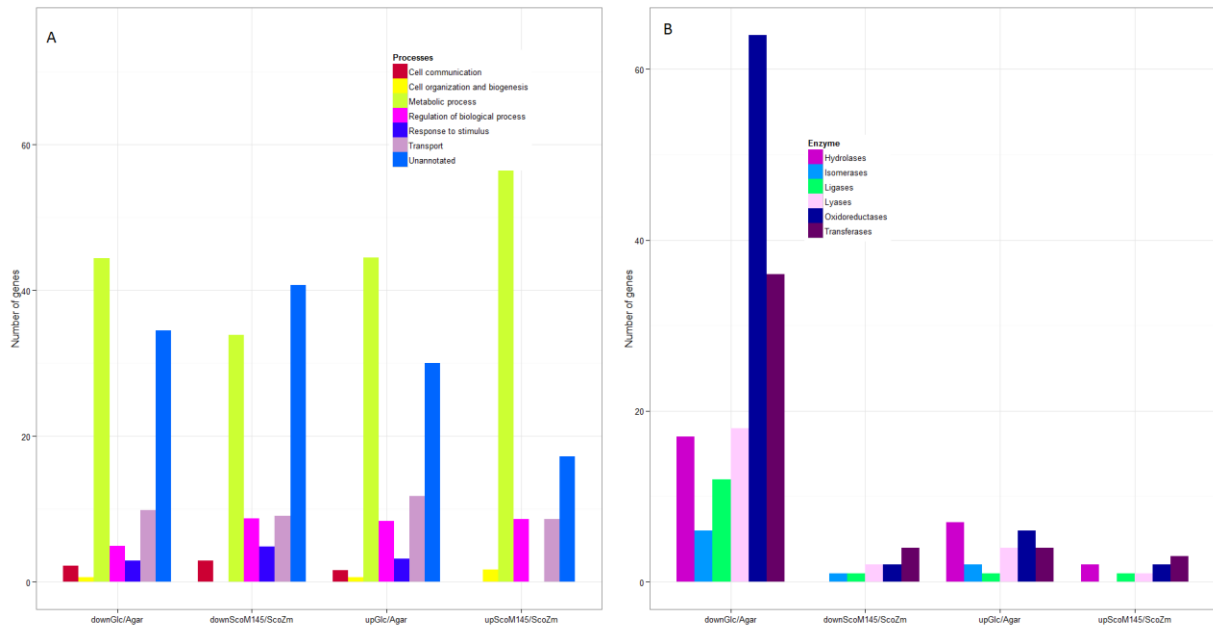


**Figura 10. Resumen del número de genes expresados diferencialmente en las comparaciones entre las cepas y las fuentes de carbono.**

Las flechas pequeñas orientadas hacia arriba indican el número de genes regulados positiva (rojo) o hacia abajo, negativamente (azul), en cada comparación. A) ScoM145 en condiciones represoras; B) ScoM145 en condiciones no represoras y C) ScoZm en condiciones represoras.

La lista generada de genes expresados diferencialmente, fue analizada en el software Protein Center (Thermo®), con la finalidad de hacer una agrupación general de los genes expresados diferencialmente en base a su término ontológico

(GO) de función biológica (GO-BP). Como se observa en la figura 11 A, la mitad de los genes anotados se agrupan dentro de término ontológico “procesos metabólicos”, el cual comprende reacciones y vías anabólicas y catabólicas. Dado que este fue agrupamiento fue el más numeroso, los genes codificantes para enzimas comprendidos dentro de este grupo fueron subclasificados. Como se observa (Fig. 11 B), los principales productos de expresión de los genes agrupado en el GO procesos metabólicos, en la comparación Glc/Agar corresponden a oxidoreductasas, hidrolasas y transferasas; mientras que en la comparación ScoM145/ScoZm los genes codificantes para oxidoreductasas y transferasas son los mayoritarios.



**Figura 11. Clasificación de los genes expresados diferencialmente.**

**Panel A.** Clasificación basada en el término GO “Procesos Biológicos” de los genes expresados diferencialmente en las comparaciones Glc/Agar y ScoM145/ScoZm. **Panel B** subclasificación de los genes diferencialmente expresados de acuerdo al tipo de enzima que codifican.

### i. Procesos metabólicos y catálisis



a. **Glucólisis.** Como se mencionó, la glucosa se transporta en su mayoría al interior de la célula por el transportador GlcP, y se ha propuesto que, se requiere de la unión en la membrana con Glk (van Wezel *et al.*, 2007), para un eficiente transporte y fosforilación. De acuerdo a esta hipótesis, la glucosa sería transportada y fosforilada en un solo paso. En la comparación Glc/Agar, los genes *glcP1* (*sco5578*) y *glcP2* (*sco7153*) presentaron una expresión  $\approx 20$  veces mayor en glucosa respecto a las muestras en agar; del total de genes expresados diferencialmente, éstos ocupan el lugar (rank) número 1 y 2 (Apéndice VI). El gen *sco5578* codifica el principal transportador de glucosa en *S. coelicolor* (van Wezel *et al* 2005) mientras que el gen *sco7153* es una posible duplicación del primero (van Wezel *et al* 2005). En contraste, en la comparación M145/*ScoZm* no se detectaron cambios en la expresión de los genes codificantes para los transportadores, ello implica que la regulación transcripcional de GlcP es dependiente de la presencia de glucosa, pero independiente de Glk.

Respecto a la expresión del gen *sco2126* (*glk*) reportes previos han demostrado una expresión constitutiva de la proteína Glk (Mahr *et al.*, 2001; van Wezel *et al.*, 2007). De acuerdo con estos antecedentes, no se observó expresión diferencial del gen *glk* en la comparación Glc/Agar. El cambio observado, en la comparación de *ScoM145/ScoZm* en el gen *sco2126* es resultado del reemplazo cromosomal. Adicionalmente, en el genoma de *S. coelicolor* se encuentran codificadas 3 glucocinasas (*sco0063*, posible glucocinasa; *sco2126*, glucocinasa; *sco5059*, glucocinasa dependiente de polifosfato); no obstante, en las condiciones estudiadas, no se detectaron cambios transcripcionales en ninguna de ellas.

Una vez que la glucosa ha sido fosforilada (Glc6P), puede entrar en las diferentes vías catabólicas de carbono, glucólisis y pentosas fosfato.

La glucólisis o la vía de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) se compone de diez reacciones donde la glucosa se degrada a piruvato. En el presente estudio, los genes que codifican para las enzimas de ocho de los diez pasos enzimáticos fueron regulados por la glucosa (Figura 12). Esta expresión diferencial no se observó en la comparación de *ScoM145/ScoZm*, es decir, la transcripción de la mayoría de genes codificantes para enzimas glucolíticas resultó mayor en presencia de glucosa (en comparación con agar). La transcripción de esos genes no se vio afectada por la ausencia de *glk* (*sco2126*), confirmando que el reemplazo con la enzima glucosa cinasa de *Z. mobilis* reestablece el flujo glucolítico. En detalle, dos de las tres isoformas de los genes de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (*sco7511* y *sco1947*) mostraron un efecto positivo por la glucosa, mientras que *sco7040* (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) fue regulado de manera negativa. El gen *sco4979* que codifica la enzima fosfoenolpiruvato carboxicinasa también fue regulado negativamente por glucosa ( $\log_2 = -2.61$ ) (Figura 12). Los genes con mayores cambios codificaron una isoforma de la piruvato cinasa 2 (Pyk2) (*sco5423*;  $\log_2 = 2.5$ ) y la fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEPCK) (*sco4979*;  $\log_2 = -2.061$ ), altamente regulados de manera positiva y negativamente (Figura 15). Los amplios cambios en la expresión de estos genes reflejan su importancia como puntos de regulación para las vías de glucólisis / gluconeogénesis. Se sabe que las enzimas de rutas metabólicas involucradas en la catálisis de pasos irreversibles son sitios potenciales para los controles regulatorios. La enzima Pyk2 cataliza la transferencia

de fosfato desde el fosfoenolpiruvato al ADP, generando piruvato y ATP. Esta reacción tiene una gran variación de energía libre negativa y representa el tercer paso irreversible de la glucólisis. En cambio, el fuerte efecto negativo de la glucosa sobre el gen codificante para la enzima PEPCK, involucrada en la conversión de oxalacetato a fosfoenolpiruvato puede reflejar el estricto control ejercido por este carbohidrato, ya que esta enzima cataliza el paso limitante de la gluconeogénesis y es el primer paso irreversible hacia esa vía en todos los organismos (Delbaere *et al.*, 2003; Lule *et al.*, 2012).

b. **Ciclo de los ácidos tricarboxílicos.** El ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) es la vía final común, de las moléculas empleadas para la obtención de energía. Generalmente, las moléculas entran al TCA como acetil-CoA y abandonan el ciclo en forma de CO<sub>2</sub>. En la comparación Glc/Agar, se indujo el complejo succinato deshidrogenasa putativa codificada por *sco0922-sco0924*. Sin embargo, la expresión de otros genes codificantes para enzimas del TCA se mantuvieron sin cambios; esto sugiere que el ciclo TCA puede ser regulado principalmente por los intermediarios metabólicos, en lugar de a nivel transcripcional. (Fig. 12). Adicionalmente, estudios proteómicos también han apuntado que las enzimas del TCA no están reguladas a nivel de la expresión de proteínas (Gubbens *et al.*, 2012), soportando la idea de la regulación a nivel de intermediarios metabólicos.

c. **Vía de las pentosas fosfato.** Esta vía, también conocida como la vía del fosfogluconato monofosfato, consiste en una vía metabólica para la degradación de fuentes de carbono, como la glucosa, dando lugar a la formación de poder

reductor en forma de NADPH y carbohidratos C5 (Fig. 12). La ribulosa-5-fosfato es un importante precursor para la síntesis de ATP, CoA, NAD<sup>+</sup>, FAD<sup>+</sup> y ADN. En *S. coelicolor*, hay dos grupos principales que codifican enzimas implicadas en la ruta de la pentosa fosfato (PPP). En el primer grupo, formado por los genes *sco1935-sco1942*, ni la presencia de glucosa ni la ausencia del gen *glk* afectaron sus niveles de expresión relativos. Interesantemente, en estudios de proteómica y transcriptómica (Jayapal, 2008) se determinó que el par transaldolasa y transcetolasa SCO1935/1936 es más abundante respecto al par SCO6662/6663 y, además hacia la fase estacionaria el par SCO6662/6663 disminuye su expresión relativa en tanto, el par SCO1935/1936 no mostró cambios dinámicos en su expresión. El segundo *cluster*, constituido por los genes *sco6658-sco6663* (que codifican una 6-fosfogluconato deshidrogenasa, una isomerasa de glucosa-6-fosfato, una proteína hipotética, una glucosa-6-fosfato 1-deshidrogenasa, una transaldolasa y una transcetolasa B, respectivamente) fue totalmente, estimulado por la glucosa (Fig. 12). De éstos, el cambio más notable observado se observó en el gen *sco6662*, que codifica una transaldolasa con un  $\log_2 = 2.11$  (Fig. 12). Se ha propuesto que, este grupo puede estar implicado en el suministro de NADPH para la producción de metabolitos secundarios (Challis y Hopwood, 2003; Gubbens *et al.*, 2012).

En concordancia con la capacidad reportada de la enzima Glkzm para restablecer el flujo glucolítico (Angel *et al.*, 1994), no se observaron cambios en los datos transcripcionales de la glucólisis, PPP, ciclo de Krebs o gluconeogénesis en la comparación *ScoM145/ScoZm*.

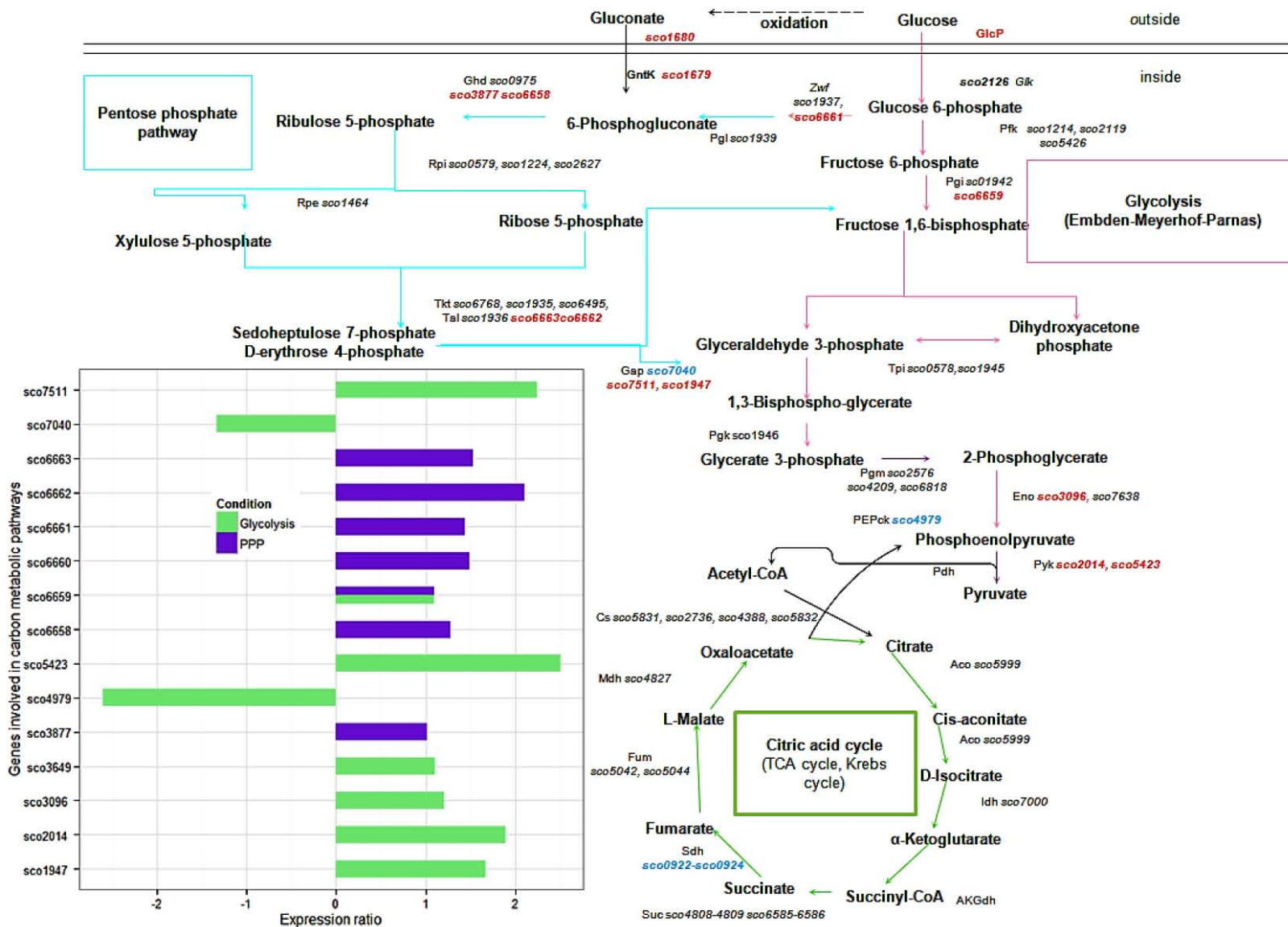
En resumen, en términos del metabolismo central de carbono los genes que codifican enzimas de las vías de glucólisis y la PPP mostraron una mayor expresión en glucosa respecto a agar. Los genes que codifican enzimas en el ciclo TCA prácticamente no cambiaron, mientras que los genes para gluconeogénesis fueron afectados negativamente por la glucosa. En este sentido, fue observada una muy buena correlación entre nuestros y los datos de proteómica reportados por Gubbens *et al.* (2012).

Adicionalmente, la enzima gluconocinasa (GntK) codificada por el gene *sco1679* también fue afectada positivamente por la glucosa en la comparación Glc/Agar, mientras que no se detectaron cambios en la comparación ScoM145/ScoZm. El cambio transcripcional observado para la GntK (*sco1679*  $\log_2 = 1.98$ ), se correlacionó bien con una regulación positiva por glucosa del gen *sco1680* ( $\log_2 = 1.99$ ), que codifica un transportador de gluconato (Fig. 12). En *Streptomyces lividans*, el consumo de gluconato como única fuente de carbono ha sido reportado por Avignone-Rossa *et al.* (2001). Sin embargo, hasta donde sabemos, no hay estudios sobre la regulación de los genes catabólicos de gluconato en *S. coelicolor*. En varios géneros de bacterias tales como *Pseudomonas*, *Gluconobacter*, *Acetobacter*, y varios hongos, el gluconato se produce a partir de la glucosa, mediante una reacción sencilla de deshidrogenación catalizada por una oxidasa de glucosa (Ramachandran *et al.*, 2006). En general, el crecimiento bacteriano en gluconato requiere dos enzimas específicas: una permeasa de gluconato (GntP) para la incorporación de gluconato extracelular y una cinasa de gluconato (GntK), que fosforila al gluconato para producir 6-fosfogluconato (Letek *et al.*, 2006.) En

*Streptomyces*, el gluconato podría ser metabolizado mediante la vía PPP para generar poder reductor, necesario para la biosíntesis de metabolitos secundarios (Avignone-Rossa *et al.*, 2001).

## **ii. Mecanismo de RCC operon- específico**

En muchas bacterias, la RCC puede llevarse a cabo mediante mecanismos operon-específicos: a) exclusión del inductor, es decir, la prevención de la internalización de fuentes de carbono no preferenciales con esto se evita la inducción de sus operones catabólicos, y b) la prevención de la inducción, es decir, el control sobre la actividad de los factores de transcripción operon-específicos (Görke and Stülke, 2008).



**Figura 12. Representación esquemática de las vías del metabolismo central de carbono en *S. coelicolor*.**

En rojo se muestran los genes con mayor expresión y en azul los genes con menor expresión en la comparación Glc/Agar. La gráfica muestra los perfiles de expresión en  $\log_2$  de los genes que codifican enzimas involucradas en la glucólisis y aquellas involucradas en la vía de pentosas fosfato (PPP) en la comparación Glc/Agar. Los resultados se muestran en  $\log_2$ , por tanto, un número positivo indica regulación positiva, uno negativo indica regulación negativa.

**a. Exclusión del inductor.**

Aproximadamente, el 10% de los genes con expresión diferencial en cada comparación están involucrados en funciones de transporte (Fig. 13). La presencia de glucosa en el medio de cultivo (Glc/Agar) ejerció un efecto negativo sobre el gen codificante para el transportador de maltosa MalGF (*sco2229-sco2230*); el operon putativo *sco3482-sco3484* (que codifica una permeasa de azúcar, una proteína de transporte de membrana integral, y una proteína de unión de azúcar) fueron regulados negativamente por glucosa (Fig. 13). Cabe mencionar que se detectaron sólo un número limitado de genes transportadores de carbohidratos en este estudio, probablemente, debido a la falta de inductores específicos en el sistema.

**b. Prevención de la inducción.**

Ha sido demostrado que la glucosa reprime a la glicerol cinasa (GlpK) (Kwakman and Postma, 1994), influyendo negativamente en la transcripción del operon inducible por glicerol *glpCABX* (Hindle and Smith, 1994). Este operon comprende genes codificantes para un transportador putativo de glicerol, una glicerol cinasa, una glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, y un gen de función desconocida. En la comparación Glc/Agar, la glicerol cinasa codificada por *sco1660* ( $\log_2 = -0.98$ ) tuvo una menor expresión en presencia de glucosa, mientras que el gen codificante para el represor del operon de glicerol *gyIR* tuvo niveles de expresión inversos a los de la enzima ( $\log_2 = 1.1$ ), es decir una mayor expresión en presencia de glucosa. Está



represión transcripcional de *glpK* y la regulación positiva de *GylR* apoya los hallazgos de Hindle and Smith (1994), la cual propone que la represión sobre la utilización del glicerol mediada por glucosa se debe a un mecanismo operon específico, en lugar del efecto de un regulador pleiotrópico. Cuando las cepas *ScoM145* y *ScoZm* fueron comparadas no se detectaron cambios transcripcionales en este operon, lo que sugiere una expresión independiente de *Glk* de *glpK* y de *gylR*.

Aunado a esto, dentro de los genes expresados diferencialmente, se encontraron genes codificantes para enzimas relacionadas con la utilización de fuentes de carbono alternas regulados negativamente, por la presencia de glucosa y sin cambios en la comparación *ScoM145/ScoZm*, como se observa en la tabla 4.

**Tabla 4 Genes codificantes para enzimas necesarias para la utilización de fuentes de carbono alternas.**

Gen	Glc/Agar	ScoM145/Scozm
<a href="#">sco1378</a>	Glicina deshidrogenasa	S/C
<a href="#">sco3471</a>	DagA agarasa extracelular	S/C
<a href="#">sco3474</a>	Cinasa de carbohidrato	S/C
<a href="#">sco3479</a>	Beta-galactosidasa	S/C
<a href="#">sco4089</a>	Valina deshidrogenasa	S/C
<a href="#">sco5443</a>	Alfa amilasa	S/C

<a href="#">sco7131</a>	Lipasa	S/C
<a href="#">sco1660</a>	Glicerol cinasa	S/C
<a href="#">sco1658</a>	Represor del operon de glicerol	S/C

El color azul indica regulación negativa, el color rojo regulación positiva y sin cambios de expresión relativos es abreviado como S/C.

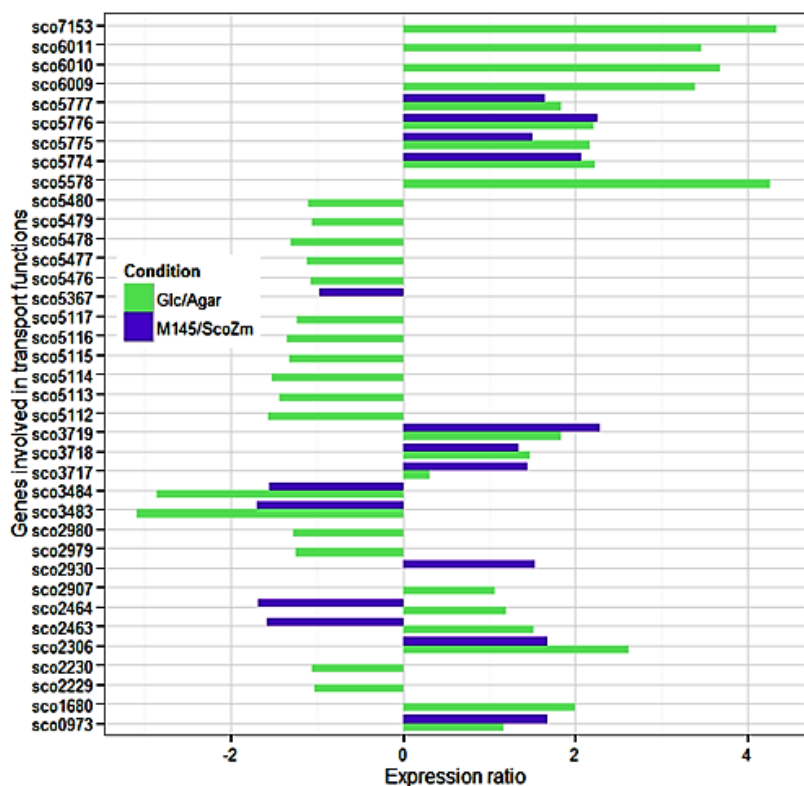
### c. Efecto sobre permeasas para fuentes de carbono

Los genes codificantes para el transportador de xilosa (*sco6009-sco6011*), mostraron una regulación positiva de 10 veces en la comparación Glc/Agar, solamente después del transportador GlcP. Esta inesperada regulación del transportador de xilosa también fue acompañada por cambios en su regulador transcripcional *rok7B7* ( $\log_2 = 2.14$ ) (Apéndice VI). Recientemente, se ha demostrado que la proteína Rok7B7 en *S. coelicolor* también está involucrada en la RCC (Świątek *et al.* 2013), pero su función en este fenómeno no es clara.

Los genes implicados en la incorporación de glutamato (*sco5774-77*), que codifican las proteínas GluD, GluC, GluB y GluA, mostraron una mayor expresión (aproximadamente 16 veces) en presencia de glucosa (Fig. 13). Con relación a esto, no fue sorprendente encontrar que la glucosa no ejerce un efecto negativo sobre el transportador de glutamato, ya que este aminoácido es una fuente de carbono preferencial, incluso por encima de la glucosa (van Wezel *et al.*, 2005). Además, en la comparación *ScoM145/ScoZm*, los genes codificantes para el transportador GluABCD tuvieron una mayor expresión en la cepa *ScoZm* en relación a la cepa *ScoM145*, esto sugiere una dependencia con la enzima Glk. Sin embargo, no está claro por qué y cómo la glucosa conduce a un cambio de expresión positivo en el

gen para la permeasa de glutamato y cómo este efecto podría ser dependiente de Glk. Adicionalmente, esto podría ser resultado de los cambios de la transcripción en el represor de arginina, que se discutirán más adelante

En consideración, muchos mecanismos de regulación operon-específicos requieren la presencia de sus inductores específicos, elegimos un modelo comunmente utilizado en *S. coelicolor* para evaluar el efecto de la glucosa y Glk, en la regulación por carbono.



Gene/Operon	Known or predicted function	Gene/Operon	Known or predicted function
<i>sco5578-sco7153</i>	GlcP Glucose permease	<i>sco5112-sco5117</i>	BldkABCDEF Putative ABC transport system
<i>sco1680</i>	Gluconate permease	<i>sco0973</i>	Probable integral membrane protein
<i>sco5774-sco5777</i>	GluDCBA glutamate permease	<i>sco2907</i>	Possible PTS transmembrane component
<i>sco6009-sco6011</i>	Xylose transporter	<i>sco2229-sco2230</i>	malGF putative maltose permease
<i>sco2463-sco2464</i>	ABC transporter	<i>sco2306</i>	Probable ABC transporter integral membrane protein
<i>sco3717-sco3719</i>	Cation transporter	<i>sco2979-sco2980</i>	Possible integral membrane transport protein
<i>sco3483-sco3484</i>	Sugar permease	<i>sco0476-sco0478</i>	Probable oligopeptide transport system B

**Figura13. Genes selectos que codifican para sistemas de transporte y sus perfiles de expresión.**

Las barras verdes corresponden a la comparación Glc/Agar y reflejan el efecto de la glucosa, en tanto las barras purpura son el resultado de la comparación ScoM145/ScoZm y muestran el efecto

de Glk. Los resultados se muestran en  $\log_2$ , por tanto, un número positivo indica regulación positiva, en tanto uno negativo indica regulación negativa. La tabla muestra los productos de los genes regulados. Los genes que mostraron el mismo patrón de expresión en las comparaciones Glc/Agar y ScoM145/ScoZm se muestran en negritas; en tanto aquellos que mostraron un patrón de expresión opuesto entre las comparaciones se muestran subrayados.

### iii. Utilización de agar como una fuente de carbono alterna.

La utilización de agar es una de las pruebas más utilizadas para evaluar la RCC en *Streptomyces coelicolor*.

El agar es un polisacárido presente en la pared celular de algunas algas rojas y está formado por polisacáridos complejos. En primer lugar, este polímero consiste de agarosa (G-LA) y agarpectina. La agarosa está formada por cadenas lineales de residuos alternantes de 3-O- $\beta$ -D-galactopiranososa y 3,6-anhidro- $\alpha$ -L-galactosa 4-O-(LA). La agarpectina, incluye ésteres de sulfato, ésteres metílicos de piruvato, aunque su estructura exacta no se conoce (Temuujin *et al.*, 2011, 2012).

La Figura 14 presenta un esquema de los genes y operones posiblemente implicados en la degradación del agar (Caspi *et al.* 2014). La hidrólisis completa del agar produce azúcares monoméricos tales como D-galactosa (Gal), LA, y L-galactosa-6-sulfato (Figura 14) (Chi *et al.* 2012). Aunque, como se ha mencionado previamente, la vía agarolítica se utiliza como modelo para observar la RCC en *S. coelicolor*, no ha sido estudiada con amplitud. La primera enzima descrita en esta vía fue la  $\beta$ -agarasa (DagA, codificada por sco3471), enzima tipo endo que degrada el agar en neoagarotetraosa y neoagarohexaosa. La transcripción de sco3471 es controlada por cuatro diferentes promotores y es inducida por agar, pero reprimida por la glucosa (Servin-Gonzalez *et al.* 1994; Ángel *et al.* 1994). Recientemente, una segunda agarasa (DagB), codificada por sco3487, ha sido descrita. Esta enzima es

una  $\beta$  agarasa de tipo exo- y endo que degrada agarosa, neoagarotetraosa y neoagarohexaosa en neoagarobiosa (Temuujin *et al.* 2012). En la vía agarolítica propuesta por Chi *et al.* (2012), para la degradación de agar, DagA y DagB pueden, en forma cooperativa y extracelular, hidrolizar la agarosa en neoagarobiosa. A continuación, la neoagarobiosa puede ser internalizada hacia la célula por un transportador desconocido y una vez, dentro de la célula, una glucósido hidrolasa citosólica (codificada por *sco3481*) hidroliza la neoagarobiosa en Gal y LA (Temuujin *et al.*, 2011; Chi *et al.*, 2012). La figura 14 resume la vía agarolítica reconstruida propuesta por Chi *et al.* (2012).

Los genes que codifican las agarasas DagA y DagB (*sco3471* y *sco3487*, respectivamente), mostraron una menor expresión en presencia de glucosa en la comparación Glc/Agar. Este efecto se observó en una región genómica extensa; ésta comprendía los genes *sco3471-sco3487*, excepto por *sco3485* que codifican para un regulador transcripcional de la familia LacI (Figura 14). Esta región está formada por nueve posibles unidades transcripcionales (18 genes en 9 operones), aunque la función de sólo tres de ellos ha sido descrita (*dagA*, *dagB*, y *sco3481*). Los intentos anteriores para encontrar al regulador transcripcional de DagA no han sido exitosos (Servín-González *et al.*, 1994). En nuestras condiciones, no se detectaron cambios en el único gen que codifica un regulador transcripcional putativo (*sco3485*) presente en este grupo de genes posiblemente involucrados en la degradación de agar. Las funciones de este posible regulador son desconocidas, pero al parecer no está regulado transcripcionalmente por la glucosa, o bien, los cambios son muy discretos y no son estadísticamente significativos de tal forma que

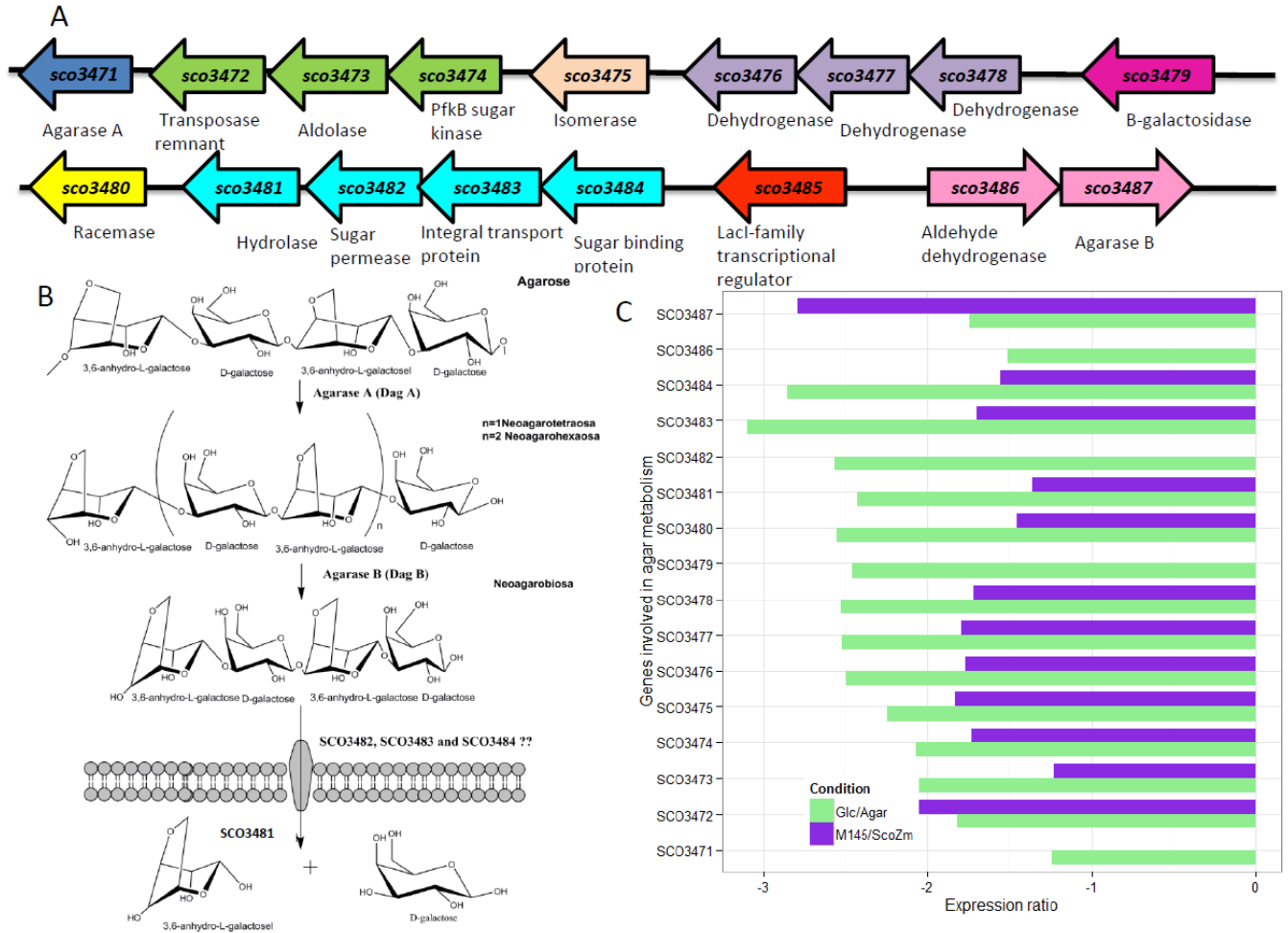
no fueron percibidos en este estudio. Sin embargo, este regulador y los genes que se encuentran divergentes asemejan la misma organización génica de algunos operones necesarios para la utilización de fuentes de carbono, como lo es el operon para la utilización de lactosa en *E. coli* (Ishihama *et al.*, 2016; Bertram *et al.*, 2002)

En la comparación de ScoM145/ScoZm, los genes del *cluster* de genes agarolíticos mostraron una menor expresión en la cepa ScoM145 comparada con la cepa ScoZm (Figura 17), en particular la de los genes *sco3487* (*dagB*) (Figura 14) lo que implica, como se informó con anterioridad, un efecto represivo dependiente de Glk *per se*. Es difícil establecer el mecanismo por el cual, la proteína scGlk en sí, misma podría ejercer una función reguladora. Como se ha mencionado antes, en el metabolismo central de carbono (glucólisis), y por lo tanto los metabolitos producidos, son similares entre las cepas M145 y ScoZm. Por lo tanto, la represión, al menos para el metabolismo de agar, no es dependiente del flujo glucolítico, según lo propuesto (Angel *et al.*, 1994), pero depende de la expresión de la Glk y sus posibles interacciones.

Retomando la vía agarolítica, en este estudio se encontró un transportador tipo ABC (codificado por *sco3482-sco84*) posiblemente asociado con la incorporación de lactosa, galactosa o neoagarobiosa. Respecto a su posible participación en el transporte de lactosa, anteriormente en un estudio *in silico*, Bertram *et al.*, 2006 describieron que los productos de expresión de los genes *sco7408-sco7410* podrían ser el transportador de lactosa en *S. coelicolor*. Adicionalmente en este mismo estudio, se predijo al gen *sco3139* como el transportador de galactosa. Tomando en consideración las predicciones realizadas por Bertram *et al.*, 2006, se considera que

el producto de expresión de los genes *sco3482-sco84* sería más probable que se encuentre relacionado con el transporte de neoagarobiosa. Este operon forma parte de la región cromosómica quizá asociada en el metabolismo del agar. Los productos codificados en los genes *sco3482* y *sco3483* tienen siete dominios transmembrana (TMS) por lo tanto, se prevé que sean proteínas de membrana. Por otro lado, el producto de expresión SCO3484 no tiene ninguna TM predicha y, se prevé que sea la proteína de unión de azúcar (<http://www.membranetransport.org>) mientras que los productos de expresión de los genes *sco3482* y *sco3483* podrían ser el transportador asociado con la internalización de la neoagarabiosa. En cuanto a la utilización de agar, este es el primer informe que describe los genes y los cambios transcriptómicos de un *cluster* implicado, en la degradación de agar y, es posible que el producto de expresión de *sco3482-84* sea el transportador de neoagarobiosa propuesto por Chi *et al* 2012 (Figura 14).





**Figura 14. Efecto de la glucosa en la transcripción de genes involucrados en la degradación de agar.**

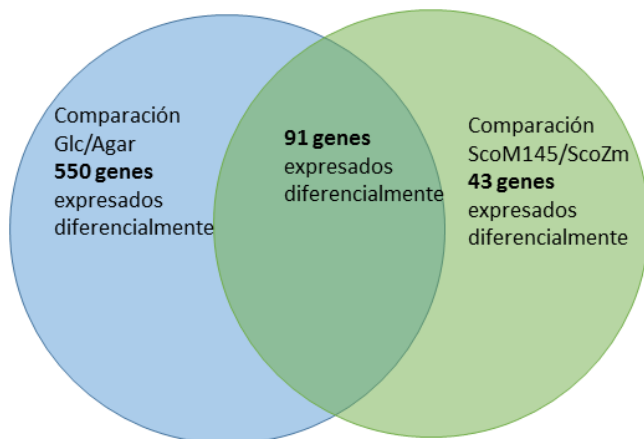
**A.** Contexto genómico de un grupo de genes posiblemente, involucrados en la degradación de agar. **B.** Propuesta mecanística de la degradación del agar. **C.** Perfil de expresión. La comparación Glc/Agar refleja el efecto de la glucosa (barras verdes) y la comparación *ScoM145/ScoZm* muestra la dependencia de Glk (barras púrpuras). La comparación entre estas condiciones se indica como la proporción de Glc/Agar y *ScoM145/ScoZm*. Los resultados se muestran en log<sub>2</sub>, así un número positivo indica mayor expresión en tanto, uno negativo indica menor expresión.

#### iv. Papel de *scGlk* sobre la regulación catabólica de carbono

Como se mencionó, la respuesta transcripcional global a la glucosa incluye 645 genes expresados diferencialmente, mientras que en la respuesta a Glk (*ScoM145/ScoZm*) se identificaron 134 genes expresados diferencialmente. Del

total de los genes expresados diferencialmente, en la comparación ScoM145/ScoZm, 91 fueron incluidos en la comparación Glc / Agar (esta información se resume en la Fig. 15). Por tanto, sólo 43 de un total de 779 genes, se vieron afectados en específico por Glk, lo que sugiere una función reguladora limitada en RCC cuando se compara la respuesta transcripcional global ejercida por la glucosa. Esto contrasta con los reportes anteriores los cuales, proponen un papel pleiotrópico y principal de Glk en RCC (Angell *et al* 1992; 1994, Kwakman y Postma, 1994; Mahr *et al*, 2000; Van Wezel *et al* 2007).

Por otra parte, como también ha sido propuesto anteriormente (Mahr *et al.*, 2000; van Wezel *et al.*, 2007), los genes regulados por Glk requerirían la participación de otras proteínas, dado que esta enzima carece de motivos de unión a DNA. Además de los reguladores de operon-específicos, la presencia de otros reguladores pleiotrópicos o generales tales como el Rok7B7 descrito recientemente (Świątek *et al.* 2013), pueden ser importantes en la comprensión de la RCC en *Streptomyces* y también en el establecimiento del efecto Glk. Como se muestra en la tabla 5, al menos 20 reguladores de la transcripción se expresaron diferencialmente, en la comparación Glc / Agar. En este sentido, sólo se ha identificado a GlcP como una posible proteína de unión a scGlc y, mediante la técnica de resonancia de superficie se ha propuesto que Glk se puede unir a otras proteínas que no han sido caracterizadas (van Wezel *et al.*, 2007; Mahr *et al.*, 2000).



**Figura 15. Resumen del número de genes expresados diferencialmente entre las comparaciones.**

La respuesta a Glk (ScoM145/ScoZm) se identificaron 134 genes expresados diferencialmente. Del total de los genes expresados de manera diferencial en la comparación ScoM145/ScoZm, 91 fueron incluidos en la comparación Glc / Agar.

Muchos genes expresados diferencialmente son compartidos entre las dos comparaciones. Estos genes compartidos están involucrados en funciones de transporte (*sco2306*, *sco2463-2464*, *sco3717*, *sco3719*, *sco5774-5777*) y en el metabolismo de agar (*sco3471-sco3485*, *sco3486-3487*). Con respecto a las funciones de transporte, se incluyen los transportadores ABC (*sco2306*, *sco2463-2464*), transportadores de cationes como *sco3717-sco3719*, transportadores de aminoácidos como la permeasa de glutamato (*sco5774-sco5777*) y también el transportador posiblemente, asociado con la internalización de la neoagarabiosa (*sco3483 -sco3484*). Los genes que codifican el transportador ABC (*sco2463-sco2464*) fueron estimuladas por la glucosa en la cepa silvestre, pero reprimidos en la segunda comparación. Como se mencionó anteriormente, los genes implicados en el metabolismo de agar fueron afectados negativamente por glucosa y también por Glk.

Aparte de las rutas metabólicas primarias y sistemas de transporte, también se observaron cambios en la transcripción del *cluster* para el metabolito secundario coelimidina (Cpk); esto se describirá más adelante.

En torno a los genes que se encuentran exclusivamente en la comparación ScoM145/ScoZm (Tabla 6), como ya se indicó, el gen que codifica el regulador versátil ArgR (*sco1576*) tuvo una menor expresión en la cepa ScoM145, en comparación con ScoZm (Apéndice VII). Es muy interesante notar que la ausencia de scGlc (*sco2126*) conduce a una mayor transcripción del gen que codifica el regulador ArgR en la cepa ScoZm, con relación a ScoM145. Igualmente, los genes que codifican enzimas para la ruta de biosíntesis de arginina mostraron una mayor expresión en ScoZm en comparación con ScoM145 (Tabla 6 y Apéndice VII).

**Tabla 5. Reguladores transcripcionales expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.**

Menor expresión Glc/Agar		Mayor expresiónGlc/Agar	
Gene	Family or putative function	Gene	Family or putative function
<i>sco1541</i>	Regulator	<i>sco0140</i>	MerR family transcriptional regulator
<i>sco1699</i>	Transcriptional regulator	<i>sco2489</i>	TetR family transcriptional regulator
<i>sco2209</i>	Transcriptional regulator	<i>sco2935</i>	Transcriptional regulator
<i>sco3134</i>	Two-component system response regulator	<i>sco3361</i>	Transcriptional regulator AsnC
<i>sco3933</i>	Regulatory protein	<i>sco3423</i>	Regulator
<i>sco3986</i>	GntR family transcriptional regulator	<i>sco3810</i>	GntR family transcriptional regulator
<i>sco4122</i>	MarR family transcriptional regulator	<i>sco3943</i>	Transcriptional regulator
<i>sco4412</i>	Regulatory protein	<i>sco4020</i>	Two component system response regulator
<i>sco4677</i>	Regulatory protein	<i>sco4158</i>	LacI-family regulatory protein
<i>sco4920</i>	DeoR family transcriptional regulator	<i>sco4640</i>	TetR family transcriptional regulator
<i>sco5785</i>	Two-component system response regulator	<i>sco4850</i>	TetR family transcriptional regulator
<i>sco5811</i>	Transcriptional regulator	<i>sco5413</i>	MarR-transcriptional regulator
<i>sco5819</i>	Sporulation transcription factor	<i>sco5552</i>	Regulator
<i>sco6162</i>	Two-component system response regulator	<i>sco5982</i>	Regulator
<i>sco6992</i>	Regulatory protein	<i>sco7424</i>	MarR family transcriptional regulator

<i>sco7727</i>	MarR family regulatory protein	<i>sco1658</i>	Glycerol operon regulatory protein GylR
<i>sco2954</i>	RNA polymerase sigma factor SigU ( $\sigma^U$ )	<i>sco2950</i>	Nucleoid associated protein hupA
<i>sco2953</i>	Anti-sigma factor RsuA	<i>sco4159</i>	Regulatory protein GlnR
<i>sco5819</i>	Sporulation transcription factor, WhiH	<i>sco4762</i>	Chaperone GroLE1
<i>sco3323</i>	RNA polymerase sigma factor BldN	<i>sco6008</i>	Regulatory protein Rok7B7

**Tabla 6. Genes diferencialmente expresados exclusivos de la comparación ScoM145/ScoZm**

	Nombre del gen	Función
<i>sco0016</i>		Hypothetical protein
<i>sco0138</i>		Short chain dehydrogenase
<i>sco0555</i>		Membrane-bound oxidoreductase
<i>sco0556</i>		Hypothetical protein
<i>sco1570</i>	<i>argH</i>	Argininosuccinate lyase
<i>sco1576</i>	<i>argR</i>	Arginine repressor
<i>sco1577</i>	<i>argD</i>	Acetonitrile aminotransferase
<i>sco1578</i>	<i>argB</i>	Acetylglutamate kinase
<i>sco1579</i>	<i>argJ</i>	Putative glutamate N-acetyltransferase
<i>sco1580</i>	<i>argC</i>	N-Acetyl-gamma-glutamyl-phosphate uctase
<i>sco1815</i>	<i>fabG</i>	Probable 3-oxacyl-(acyl-carrier-protein) reductase
<i>sco2126</i>	<i>glk</i>	Glucokinase
<i>sco2296</i>		Integral membrane protein
<i>sco2513</i>		Hypothetical protein
<i>sco2930</i>		Putative permease membrane component
<i>sco2986</i>		Hypothetical protein
<i>sco3138</i>	<i>galT</i>	Galactose-1-phosphate
<i>sco3411</i>		Possible membrane protein
<i>sco3413</i>		Transcriptional regulator
<i>sco3985</i>		Hypothetical protein
<i>sco4173</i>		Hypothetical protein
<i>sco4174</i>		Integral membrane protein
<i>sco4175</i>		Hypothetical protein
<i>sco4317</i>		Hypothetical protein
<i>sco4903</i>		Hypothetical protein

<i>sco4950</i>		Nitrate Reductase gamma chain NarI3
<i>sco5025</i>		Transcriptional regulator
<i>sco5026</i>		Hypothetical protein
<i>sco5367</i>		ATP synthase A chain [EC:3.6.3.14]
<i>sco5536</i>		Hypothetical protein
<i>sco5839</i>		Hypothetical protein
<i>sco5976</i>	<i>arcB</i>	Ornithine carbamoyltransferase [EC:2.1.3.3]
<i>sco6266</i>		ScbA protein
<i>sco6268</i>		Histidine kinase
<i>sco6288</i>		Regulatory protein
<i>sco7036</i>	<i>argG</i>	Argininosuccinate synthase [EC:6.3.4.5]
<i>sco7262</i>		Hypothetical protein
<i>sco7530</i>		Regulatory protein
<i>sco7586</i>		Oxidoreductase
<i>sco7587</i>		Integral membrane protein
<i>sco7698</i>		MerR-family transcriptional regulator

## 5. Efecto de la glucosa sobre la formación de metabolitos secundarios.

El efecto de la interrupción del gen *g/k* sobre la producción de metabolitos secundarios fue evaluado en medio R5 con glucosa en la fase estacionaria de crecimiento. En la tabla 7 se muestran los rendimientos obtenidos para la producción de actinorrodina y undecilprodigiosina a las 120 h de crecimiento. Tanto la cepa ScoZm como la cepa Sco702 tienen una menor producción del antibiótico undecilprodigiosina, respecto a la cepa silvestre. En cambio, en la producción de actinorrodina el rendimiento entre las cepas ScoZm y ScoM145 fue muy similar.

**Tabla 7 Producción de actinorrodina y undecilprodigosina**

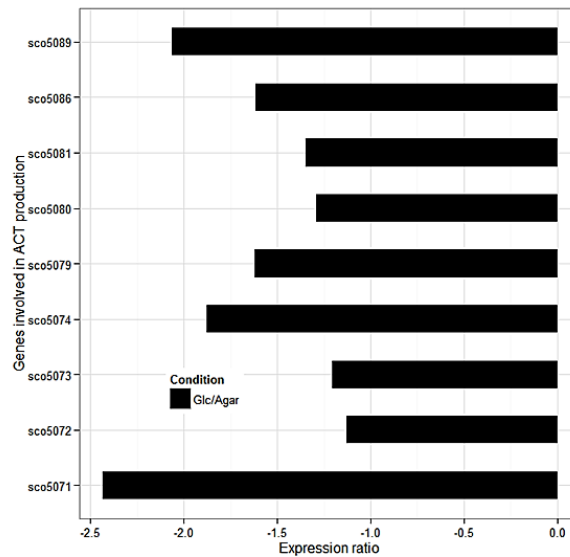
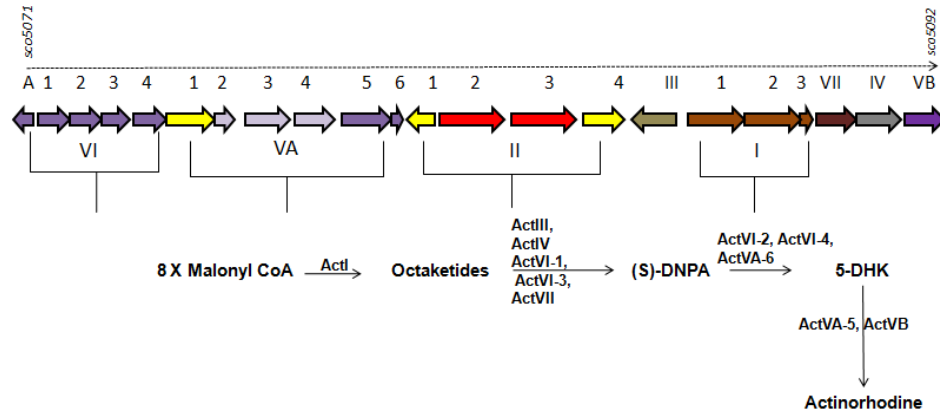
Cepa	Producción de undecilprodigosina μM/mg peso seco	Producción de actinorrodina μM/ mg peso seco
<b>Sco M145</b>	<b>4.287</b>	<b>1.446</b>
<b>Sco Zm</b>	<b>1.337</b>	<b>1.739</b>
<b>Sco702</b>	<b>0.367</b>	<b>0.046</b>

Respecto a los resultados obtenidos en el análisis de microarreglos, como se muestra en la Fig. 16 la transcripción de nueve genes que forman parte del *cluster* para la biosíntesis de actinorrodina mostraron una menor expresión en presencia de glucosa. De éstos, los efectos más notorios fueron aquellos en el gen *sco5089* que codifica para la primera enzima de la vía responsable de la condensación de la acetil-CoA y de 8x de malonil-CoA. Este efecto negativo, mayor en los genes que codifican para las enzimas implicadas en las primeras etapas o pasos comprometidos hacia el metabolismo secundario, demuestran que el efecto y control de la glucosa sobre la biosíntesis de metabolitos secundarios se lleva a cabo, en las fases iniciales del metabolismo secundario, principalmente. Otros genes cuyos niveles de expresión fueron afectados por la presencia de glucosa fueron el *sco5071*, este gen codifica para la proteína ActVI-ORFA, cuya función exacta no ha sido determinada (Taguchi *et al.* 2007), y el gen *sco5074*, codifica una deshidratasa putativa implicada en la modificación del intermediario s-DNPA. Interesantemente, entre los genes con menor expresión en presencia de glucosa se encuentran aquellos participantes en la primera y última etapa de formación de la actinorrodina.

A nivel transcripcional, como se observa en la figura 16, 16 genes que codifican para enzimas implicadas en la producción del antibiótico tuvieron una menor expresión en presencia de glucosa. El mayor efecto negativo fue observado en el gen *sco5889*, que codifica una proteína acarreadora de acilo, implicada en la formación del intermediario carbaldehído (Fig. 16). Otro gen con menor expresión en glucosa fue el *sco5885*, cuyo producto de expresión está también implicado en la formación del intermediario carbaldehído.

Prácticamente, todos los genes de la vía de formación de undecilprodigiocina fueron afectados negativamente por la glucosa. El gen *sco5897*, que codifica para una oxidasa implicada en la conversión de undecilprodigiocina a estreptorrubina B (Fig. 16), también mostró menores niveles de expresión en presencia de glucosa.





**Figura 16. Efecto de la glucosa sobre la transcripción de los genes del *cluster* para la producción de actinorrodina.**

En la parte superior, se muestra el *cluster* y la vía biosintética para la producción de actinorrodina. La gráfica en la parte inferior, indica los valores relativos de expresión en condiciones represivas.

Los efectos negativos ejercidos por la glucosa en la diferenciación y la producción de metabolitos secundarios han sido previamente reportados (Gubbens *et al.*, 2012). Sin embargo, en nuestras condiciones experimentales, con relación al agar, el *cluster cpk* demostró mayores niveles de expresión en glucosa.

En la comparación Glc/Agar, la glucosa ejerce un efecto positivo sobre los niveles de expresión de los genes *sco6272-sco6279* (sintasas de policétidos en su mayoría) y en los genes *sco6282-sco6285* (que codifican una deshidrogenasa, una descarboxilasa y dos proteínas hipotéticas) (Fig. 18). De los genes propuestos en la síntesis de Cpk, el único que mostró menores niveles de expresión en ScoM145, con relación a ScoZm, fue el *sco6266*, que codifica una sintasa de butenolido (Fig. 18).

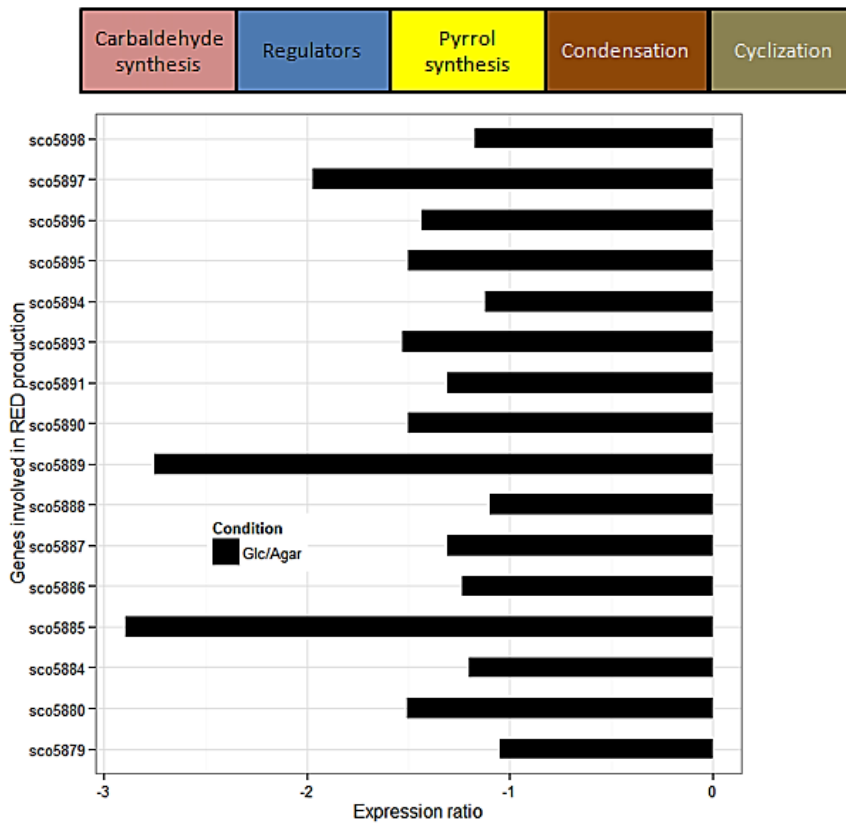
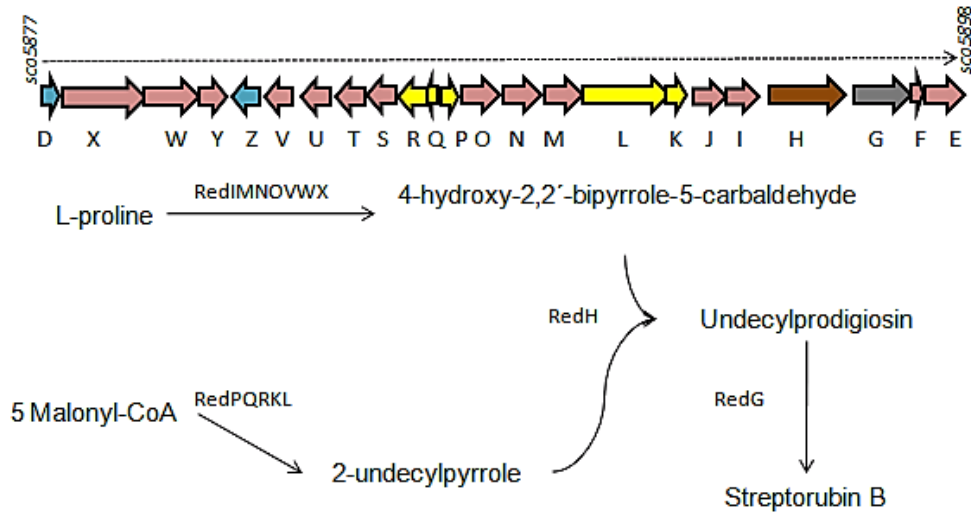
Además, en la comparación ScoM145/ScoZm, *sco6268* (que codifica una histidina cinasa probable) y *sco6288* (que codifica un activador transcripcional tipo SARP), también mostraron una mayor expresión en la cepa ScoM145, respecto de la mutante ScoZm y este efecto no se observó en la comparación Glc / Agar. Aunque Pawlick *et al.* (2010), indicaron con anterioridad que la glucosa ejerce un efecto negativo sobre la síntesis de Cpk, en nuestras condiciones experimentales este carbohidrato ejerce una regulación positiva (mayores niveles de expresión) sobre dicho *cluster*. Curiosamente, en la ausencia de Glk se observó una expresión menor de los genes del *cluster cpk* en ScoZm, comparado con ScoM145.

En el modelo propuesto por Gubbens *et al* 2012, la síntesis de Cpk es activada en presencia de glucosa + manitol y reprimida por la combinación glucosa + fructosa. En nuestro estudio, la presencia de glucosa+ agar tiene un efecto positivo sobre los genes necesarios para la síntesis del antibiótico Cpk y, además este efecto está relacionado con la presencia del gen *glk* de *S. coelicolor*. Esto parece apoyar la hipótesis de Gubbens *et al.* (2012) de que la influencia de Glk en el metabolismo secundario probablemente, implica un complejo mecanismo de regulación

dependiente también de las señales nutricionales. Sería interesante comparar a la cepa ScoZm en glucosa + fructosa o cualquier otra combinación de fuente de carbono para evaluar su efecto sobre la expresión del *cluster cpk*.

La menor producción de actinorrodina y de undecilprodigiosina en presencia de glucosa es el resultado de menores niveles de expresión de las principales enzimas biosintéticas, como ha sido mencionado, pero también de los reguladores de las vías específicos. Los reguladores transcripcionales AbsA2 (*sco3226*, McKenzi *et al.* 2007), DasR (*sco5231*, Rigali *et al.* 2008) y AtrA4 (*sco4118*, uGuru *et al.* 2005), regulan al activador específico de actinorrodina, ActII-orf4, pero en este estudio ninguno de ellos se expresó diferencialmente. Es posible que la regulación transcripcional en las condiciones probadas requiera de otros reguladores transcripcionales que no han sido caracterizados. Podría ser posible que los cambios transcripcionales observados sean resultados de los producidos en el regulador Rok7b7 (*sco6008*) que mostró mayores niveles de expresión en la presencia de glucosa ( $\log_2 = 2.14$ ). En una mutante en el regulador Rok7b7, se observó retardo en la formación de micelio aéreo y una producción prematura de undecilprodigiosina y retraso en la producción de actinorrodina en medio R5 (Swiatek *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2009). Además de afectar la producción de antibióticos, el regulador Rok7B7 ha sido propuesto como un regulador pleiotrópico (Swiatek *et al.*, 2013).

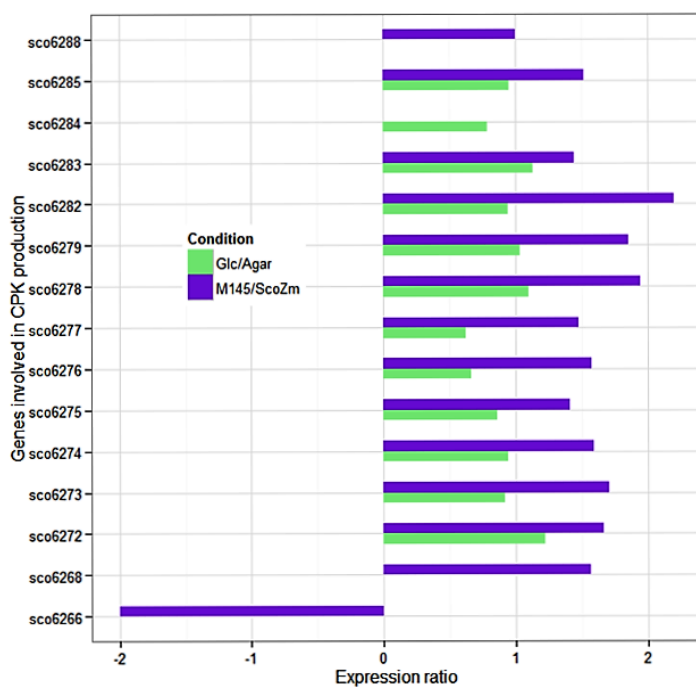
En cuanto a RedD (activador directo del *cluster* de undecil prodigiosina (Wang *et al.* 2014), se ha determinado que Rok7B7 puede unirse a ese promotor, esto influye negativamente, en la producción de undecilprodigiosina (Park *et al.*, 2009).



**Figura 17. Efecto de la glucosa sobre la transcripción de genes del *cluster* para la producción de undecilprodigiosina.**

En la parte superior, se muestra el *cluster* y la vía biosintética para la producción de undecilprodigiosina. La gráfica en la parte inferior, indica los valores relativos de expresión.

Gene	Product	Predicted/Proposed function	Gene	Product	Predicted/Proposed function
sco6265	ScbR	Butyrolactone-responsive repressor protein	sco6277	CpkE	Isomerase? ( $\alpha$ , $\beta$ -hydrolase fold)
<a href="#">sco6266</a>	ScbA	Butenolide synthase involved in SCB1 biosynthesis	sco6278	CpkF	Transmembrane efflux protein
sco6267	ScbB	Reductase involved in SCB1 biosynthesis	sco6279	CpkG	Pyridoxal-dependent (GLUTAMATO) aminotransferase
sco6268	CpkM	Two-component system histidine kinase	sco6280	CpkO	SARP-family transcriptional activator
sco6269	CpkP $\beta$	$\alpha$ -Ketoacid-dependent ferredoxin reductase $\beta$ -subunit	sco6281	CpkH	Secreted flavin-dependent epoxidase/dehydrogenase
sco6270	CpkP $\alpha$	$\alpha$ -Ketoacid-dependent ferredoxin reductase $\alpha$ -subunit	sco6282	CpkI	Nicotinamide-dependent dehydrogenase
sco6271	AccA1	Acyl-CoA carboxylase $\alpha$ -subunit	sco6283	CpkJ	NmrA-family protein (unknown function)
sco6272	ScF	Secreted flavin-dependent epoxidase/dehydrogenase	sco6284	CpkK	Acyl-CoA decarboxylase
sco6273	CpkC	Polyketide synthase modules 3 and 4	sco6285	CpkL	Hypothetical protein (unknown function)
sco6274	CpkB	polyketide synthase loading module	sco6286	ScbR2	Butyrolactone-responsive repressor protein
sco6275	CpkA	Polyketide putative type I polyketide synthase	sco6287	ScoT	Type II thioesterase
sco6276	CpkD	secreted flavin-dependent epoxidase/dehydrogenase	sco6288	CpkN	SARP-family transcriptional activator



**Figura 18.** En la parte superior, genes y sus posibles productos involucrados en la síntesis de Cpk (adaptado de Gómez-Escribano *et al.*, 2012). A la derecha, expresión transcriptómica de los genes del *cluster* para la síntesis de Cpk. Los resultados se muestran en log<sub>2</sub>, así un número positivo indica mayor expresión en tanto, uno negativo indica menor expresión.

## 6. Efecto de la glucosa y Glk sobre la diferenciación morfológica

Como ya se mencionó, la diferenciación morfológica de *S. coelicolor* es un fenómeno complejo donde intervienen un gran número de señales y proteínas. Brevemente, el ciclo de vida comienza cuando una espora germina para producir ramas del micelio vegetativo y luego, bajo las señales ambientales específicas, da lugar al desarrollo de hifas aéreas. Por último, las hifas aéreas se someten a un proceso de división celular específica, que resulta en la formación de esporas maduras con pigmento gris (Hull *et al.*, 2012). Este es uno de los fenómenos más estudiados en *S. coelicolor* y dichos estudios han demostrado un proceso tan complejo que requiere la participación de muchas proteínas y reguladores transcripcionales. El conocimiento de la diferenciación morfológica ha sido llevado a cabo principalmente, por el estudio de mutantes con problemas en el desarrollo o en la maduración de sus esporas. Las mutantes afectadas en la producción de micelio aéreo, permitieron el descubrimiento de muchos de los genes requeridos en la diferenciación morfológica y erección de las hifas aéreas. Los genes implicados en la formación del micelio aéreo y sus cascadas de señalización se nombran *bld*. Principalmente, los genes *bld* están involucrados en la formación de estructuras aéreas y en la producción de un péptido pequeño denominado SAPB. El péptido SAPB reduce la tensión superficial del agua y permite a las hifas penetrar la interfase aire-agua para erigirse en el aire (Tillotson *et al.*, 1998, Claessen *et al.*, 2003). Además de los genes *bld*, las proteínas chaplinas y rodlinas son necesarias para formar micelio aéreo y esporas (Claessen *et al.*, 2003). Las chaplinas están

involucradas en la formación de esporas, y los genes para ocho de ellas, ChpA-ChpH, se distribuyen a lo largo del núcleo del cromosoma de *S. coelicolor*.

Los genes *chpB-chpC*, *chpH*, *chpA* y *chpD* son adyacentes a los genes codificantes para las rodlinas *rdIA* y *rdIB*.

Por último, los mutantes en los genes que producen hifas aéreas normales, pero son incapaces de completar su desarrollo para producir cadenas de esporas maduras. En este tipo de mutantes se identificaron los genes *white*, involucrados en la maduración de las esporas con su característico pigmento gris (Flärdh y Buttner 2.009). Si bien, algunos estudios han sugerido el efecto negativo o arresto de la diferenciación morfológica en presencia de glucosa, no se conoce cuáles son los mecanismos o blancos para producir dicho efecto. En nuestro estudio, observamos el efecto negativo de la glucosa sobre la transcripción del sistema BldK (*sco5112-sco5117*), que codifica para una permeasa responsable de la importación de un péptido de señalización para la diferenciación morfológica (figura 14). Otro sistema transportador de oligopeptido codificado por los genes *sco5476-sco5489*, implicado en la unión y el transporte de un oligopéptido también fue, regulado negativamente por glucosa. Los productos de expresión de estos genes son requeridos para la esporulación normal de *S. coelicolor* (Shin *et al.*, 2007).

Genes adicionales involucrados en la formación de micelio aéreo tales como *rsuA* (*sco2953*), factor sigma vegetativo SigU (*sco2954*) y el factor sigma BldN (*sco3323*) (Bibb *et al.*, 2000), de igual forma mostraron menores niveles de expresión en presencia de glucosa (Apéndice VI). También los genes *sco2717* (*chpD*), *sco2718* (*rdIA*) y *sco2719* (*rdIB*) mostraron cambios de expresión negativos en glucosa a las

12 h de fermentación (Apéndice VI). Asimismo, la glucosa ejerció un efecto negativo sobre la expresión del gen *sco5819* que codifica para el regulador transcripcional WhiH (Apéndice VI).

Otros genes involucrados en la diferenciación morfológica, tales como, *citA*, *catB*, *ramCSABR*, *relA* y *amfC* (Tabla 1) no mostraron expresión diferencial entre las condiciones represoras y no represoras.

Otros dos genes que codifican factores de transcripción con menor expresión en presencia de glucosa, también involucrados en la diferenciación morfológica son *whiH* (*sco5819*), *bldN* (*sco3323*) (Figura 6). WhiH se requiere para la esporulación y la septación ordenada, y también funciona como un autorepresor (Persson *et al.*, 2013). El factor sigma BldN activa la expresión de chaplinas y rodlinas (confirmado por nuestra transcriptoma) y la expresión de BldM (Willey *et al.*, 1991). Los genes blanco de BldN, sin duda, están involucrados en las cascadas de señalización que resultan en la formación de micelio aéreo.

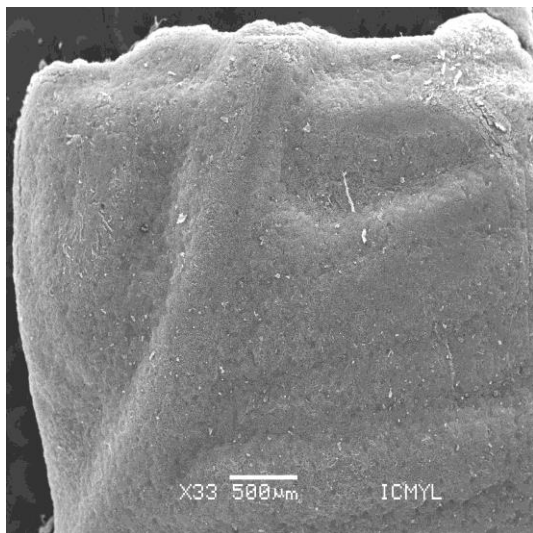
Adicionalmente, la glucosa podría arrestar la diferenciación morfológica mediante el bloqueo de los primeros pasos en la cascada de señalización, a través de la reducción en la expresión del sistema de transporte BldK.

En placas Petri se observó que las colonias crecidas en medio sin glucosa se encontraron totalmente esporuladas desde las 72 h en tanto que las colonias en condiciones represoras, requirieron más de 96 h para hacerlo. Adicionalmente, con la finalidad de evaluar el efecto de la eliminación del gen *g/k* en la diferenciación morfológica, se sembraron a las cepas ScoZm y ScoM145 en medio de esporulación MS durante 10 días, luego se tomaron muestras que fueron evaluadas en el

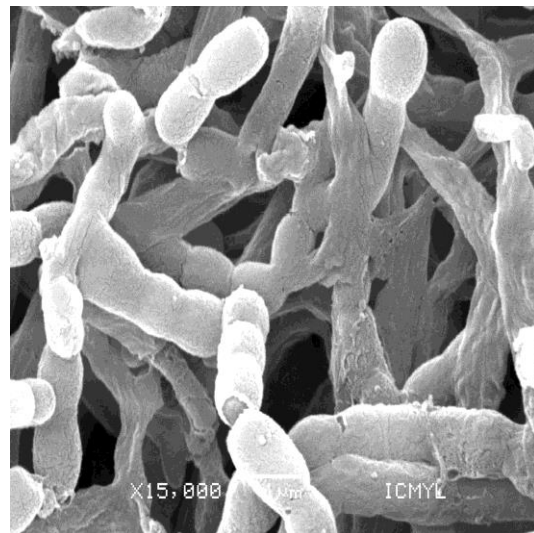
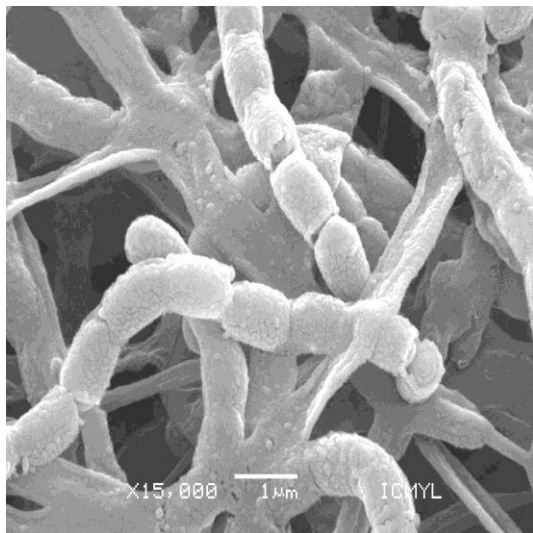
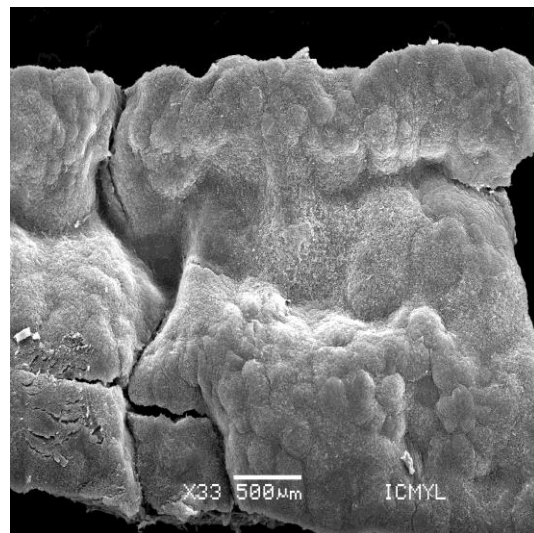


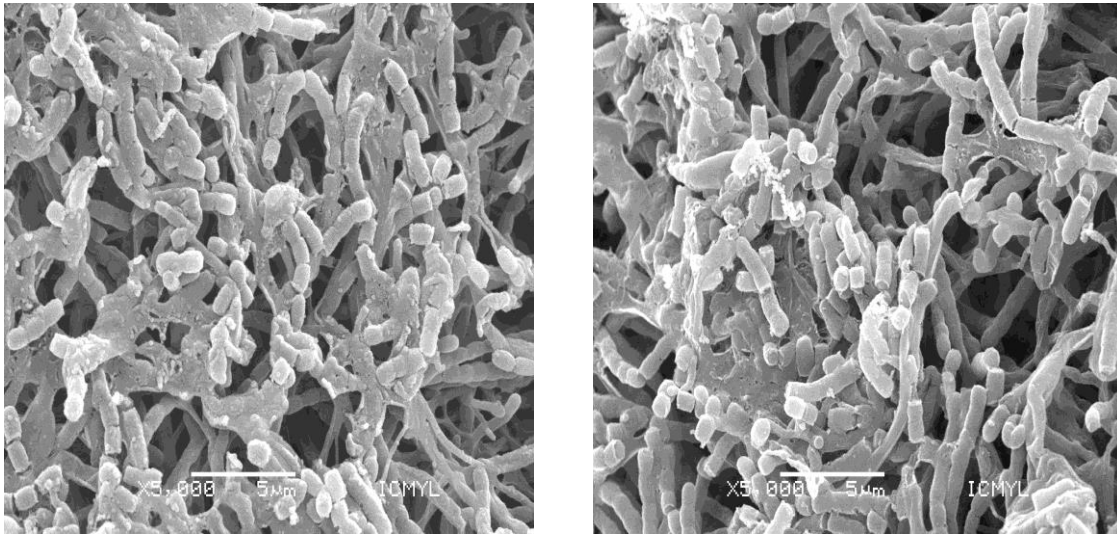
microscopio electrónico. En las micrográficas (Fig. 19) no se observan cambios significativos en las hifas o esporas entre las cepas ScoM145 y ScoZm, solamente se observó la formación de pliegues en las colonias de las cepas ScoZm. Sin embargo, ni las estructuras vistas al microscopio electrónico ni los perfiles de microarreglos parecen sugerir un efecto de la enzima Glk sobre la morfología.

ScoM145



ScoZm





**Figura19.** Micrografías electrónicas de barrido de las cepas ScoM145 y ScoZm cultivadas en medio MS.

## 7. RCC y reguladores de transcripción

Las células procariotas pueden adaptarse y responder a las condiciones ambientales, por medio de la modificación de su patrón de expresión génica, por tanto resulta prioritario el conocimiento de las redes de regulación transcripcional para la comprensión de los mecanismos involucrados en la regulación por carbono. En los organismos modelo, *E. coli* y *B. subtilis*, los mecanismos de regulación por carbono globales y operón específicos son coordinados por reguladores transcripcionales. En nuestro estudio, alrededor del 15% de todos los genes expresados diferencialmente, en las comparaciones Glc / Agar y ScoM145/ScoZm, se encontraron dentro del término ontológico GO de regulación de procesos metabólicos y respuesta a estímulos. De los genes con cambios transcripcionales positivos en presencia de glucosa correspondientes a posibles reguladores transcripcionales, éstos se agrupan en las familias MerR, LacI, TetR, GntR, MarR y

AsnC, así como los factores sigma. Por otro lado, los factores transcripcionales regulados negativamente por glucosa se agrupan en las familias GntR, MarR, y las familias DeoR, así como factores sigma y factores anti-sigma (Tabla 1). Los reguladores transcripcionales con funciones conocidas incluyen: el factor sigma de RNA polimerasa SigU ( $\sigma$ U), el factor anti-sigma RsuA, el regulador de la esporulación WhiH, así como el factor sigma de RNA polimerasa BldN. De los reguladores con cambios de expresión positivos y función conocida, se encuentran los que codifican para: el regulador GlnR, el represor GylR, y la proteína reguladora Rok7B7.

Los factores de transcripción regulados positivamente por la glucosa se pueden dividir en tres grupos: a) reguladores pleiotrópicos; b) reguladores de operones específicos y c) proteínas asociadas a DNA.

Respecto a los reguladores pleiotrópicos, el regulador GlnR es el principal regulador de nitrógeno (Tiffert *et al.*, 2008), pero de igual forma está implicado en diferentes procesos metabólicos tales como el metabolismo del carbono, la síntesis de enzimas catabólicas (ppc, zwf, sucB, tktA1 etc.) y el metabolismo secundario (Tiffert *et al.* 2011).

El regulador Rok7B7 (*sco6008*) parece ser el represor del operon para la utilización de xilosa, no obstante, se ha relacionado con cambios en el metabolismo secundario y en la diferenciación morfológica (Świątek *et al.*, 2013).

En cuanto a genes que codifican a reguladores de operones específicos, el único identificado fue gylR (que codifica el represor del operon de utilización de glicerol). La transcripción de éste fue regulada positivamente por glucosa, y de acuerdo con

esta regulación, el gen codificante para la glicerol cinasa mostró cambios transcripcionales negativos.

Con respecto a los genes que codifican proteínas asociadas a ADN, la expresión del gen para la proteína HupA mostró niveles de expresión mayores en presencia de glucosa. La proteína HupA es una proteína encontrada en el micelio vegetativo de cultivos líquidos (Salerno *et al.*, 2009) y participa en la expresión génica, en la protección del ADN (recombinación o reparación) y estructuración del nucleóide. Además, la transcripción del gen codificante para la chaperonina GroEL1 también tuvo cambios transcripcionales positivos por la glucosa. Se sabe que la transcripción de este gen se activa por choque térmico (Duchene *et al.*, 1994).

Un regulador interesante con una función desconocida es el que se encuentra codificado en el gen *sco6162*, un probable miembro de la familia LuxR (miembro de un sistema de dos componentes). Este gen mostró niveles de expresión menores en presencia de glucosa de más de 20 veces y esta regulación también fue observada en el gen que codifica para su cinasa asociada (*sco6163*). Interesantemente, el gen divergente a este posible sistema de dos componentes, el gen *sco6164* (que codifica una proteína hipotética), exhibió la mayor regulación negativa por glucosa ( $\log_2 = -5.26$ ).

En el caso de la comparación *ScoM145/ScoZm*, los cuatro genes que codifican proteínas reguladoras afectados positivamente por glucosa pertenecen a las familias GntR (*sco3264*, *sco3986*), LuxR (*sco4261*) y un activador de la transcripción (*sco6288*) (Apéndice VII). Los dos reguladores pertenecientes a la familia GntR, *sco3264*, y *sco3986*, tuvieron grandes cambios positivos en su expresión ( $\log_2 = 2.5$

y 3.77, respectivamente) en presencia de glucosa. Cabe destacar, que ninguno de estos factores de transcripción han sido descritos.

La predicción *in silico* de los posibles genes objetivos de *sco3264*, ha revelado un gran conjunto de genes blanco implicados en el metabolismo primario y secundario. De hecho, en una mutante *S. coelicolor*  $\Delta$ *sco3264* construida en nuestro laboratorio, se observó una producción prematura y de alto nivel de metabolitos secundarios (aprox. 5 veces) (Manzo *et al.*, resultados no publicados).

Por otro lado, el grupo de reguladores con cambios de expresión negativa en ScoM145/ScoZm, el regulador ArgR (*sco1576*), merecen una atención especial (Tabla 6 y Apéndice VII). En un estudio reciente de transcriptómica y proteómica entre *S. coelicolor* M145 y su mutante nula en el gen que codifica para ArgR, se demostró que este regulador puede tener múltiples funciones (Pérez-Redondo *et al.*, 2012). Más allá de su papel regulador en el metabolismo de la arginina, ArgR regula a diferentes factores de transcripción de familias tales como DeoR, AraC y GntR y, a su vez, influyen en la producción de metabolitos secundarios, la morfología y la síntesis de proteasas y peptidasas (*Ibíd.*). Las funciones versátiles de este regulador y su mayor expresión (3 veces) en la ausencia de scGlc sugieren una compleja red de regulación, donde es prioritario modelar y establecer las posibles jerarquías de regulación.

Finalmente, para tratar de ilustrar los posibles efectos, dependientes e independientes de glucosa y de Glc, en la figura 20 se resumen los cambios más relevantes observados y se especula acerca del posible control de los mismos.

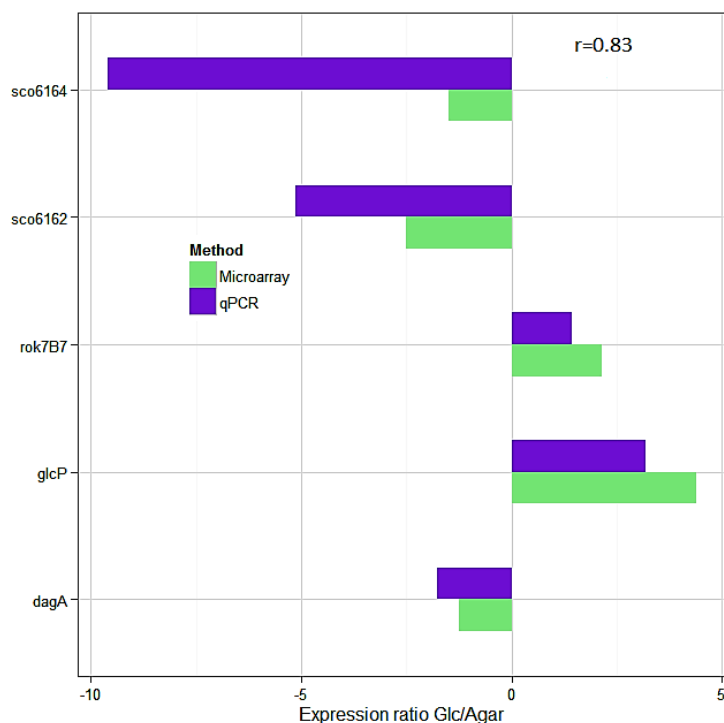


## 8. Validación por RT-qPCR de los genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar realizada por microarreglos

Los datos de microarreglos fueron validados mediante la técnica de RT-qPCR evaluando la transcripción, tanto de genes regulados positivamente en la comparación Glc/Agar (*rok7b7* y *glcP*) como de aquellos regulados negativamente (*dagA*, *sco6162* y *sco6164*, *act1ORF2*).

Una vez establecidos los genes de referencia, se analizó la correlación entre los datos obtenidos por microarreglos y por la técnica de qPCR, con esto se obtuvo un coeficiente de correlación  $r=0.83$ .

Adicionalmente, se determinó la expresión de los genes, previamente mencionados, una vez que la glucosa se hubiera consumido totalmente, a las 24 y 48 h, no observándose diferencias significativas en la expresión de los mismos.



**Figura 21. Perfil de transcripción relativo para los genes blanco.**

Los resultados se muestran en  $\log_2$ , así un número positivo indica mayor expresión, en tanto uno negativo indica menor expresión.

## 9. Aproximación a una red de interacción

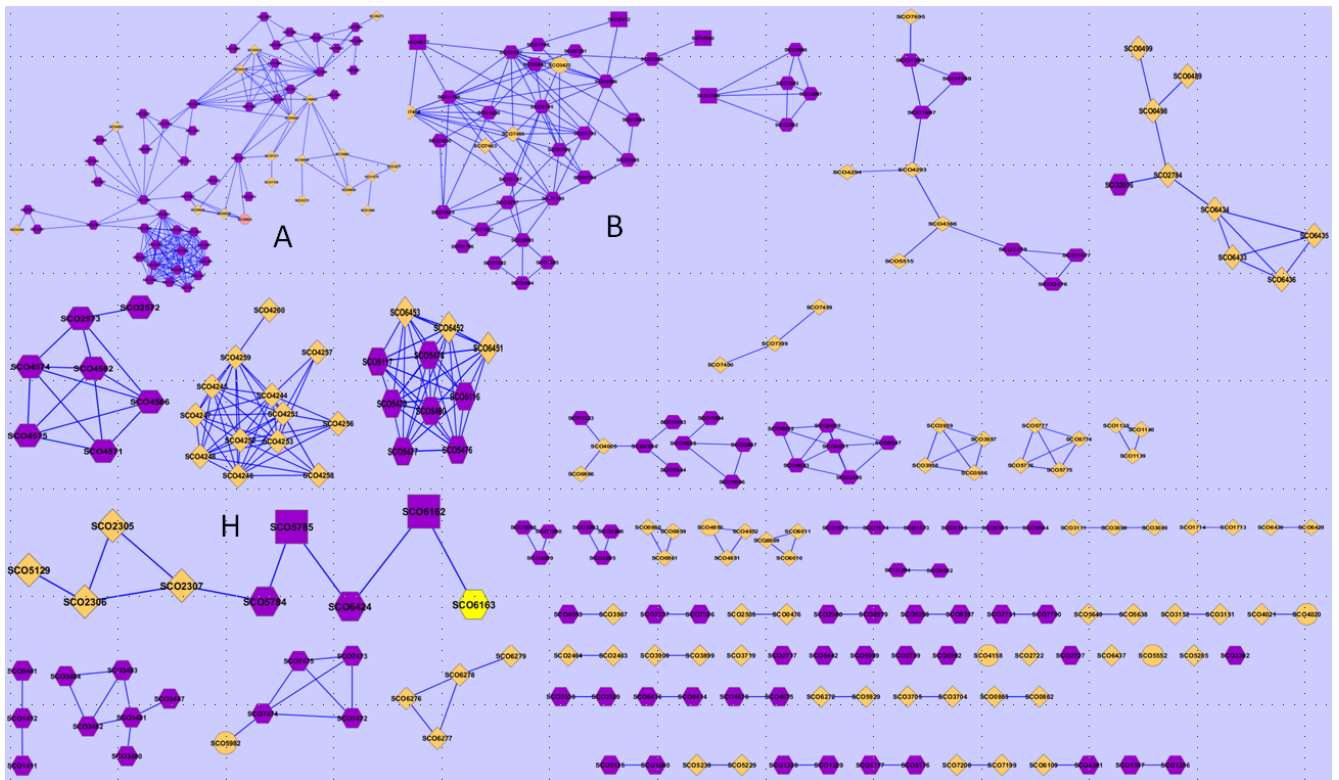
Si bien se han descrito los efectos de la glucosa y su posible dependencia con Glk, existen muchos genes expresados diferencialmente, a los que es complejo relacionar directa o indirectamente con la regulación por carbono. Para tratar de establecer posibles blancos de estudios y, con el fin de establecer las posibles interacciones y su posible regulación, se realizó un acercamiento a una red de regulación, de la siguiente manera:

- i. Los datos de genes expresados diferencialmente fueron analizados utilizando el sistema STRING ([string-db.org](http://string-db.org)). Este sistema considera interacciones funcionales entre las proteínas que se le ingresen, tanto directas (físicas) como indirectas



(funcionales), utiliza el contexto genómico, datos masivos, datos de co-expresión y datos derivados de la literatura. Se utilizó un nivel de confianza de 0.4 y se pidieron no más de 10 interacciones. Estas son condiciones por *default* de la prueba. Con este análisis, se construyó una primera red de interacciones y se mapearon los genes expresados

- ii. Paralelamente, la misma base de genes expresados diferencialmente fue empleada en la base de datos Colombos ([colombos.net](http://colombos.net)). Esta base de datos contiene información asociada a cientos de microarreglos normalizados.
- iii. Finalmente, ambas redes se unieron y se realizó una red común, por ello se empleó el algoritmo MCL, para identificar las relaciones entre los genes. Con el enfoque descrito, se identificaron 15 sub-redes con más de 3 elementos (Fig.22). De estas redes generadas, las más interesantes fueron la red A por ser la red con un mayor número de elementos y las redes B y H porque en ellas, logramos identificar reguladores transcripcionales. Sin embargo, como se aprecia en la figura 23, la red generada se encuentra muy pobremente conectada. Esto en parte puede ser producto del escaso conocimiento que se tiene de las interacciones y reguladores en *S. coelicolor*, pero también de la estrategia empleada.

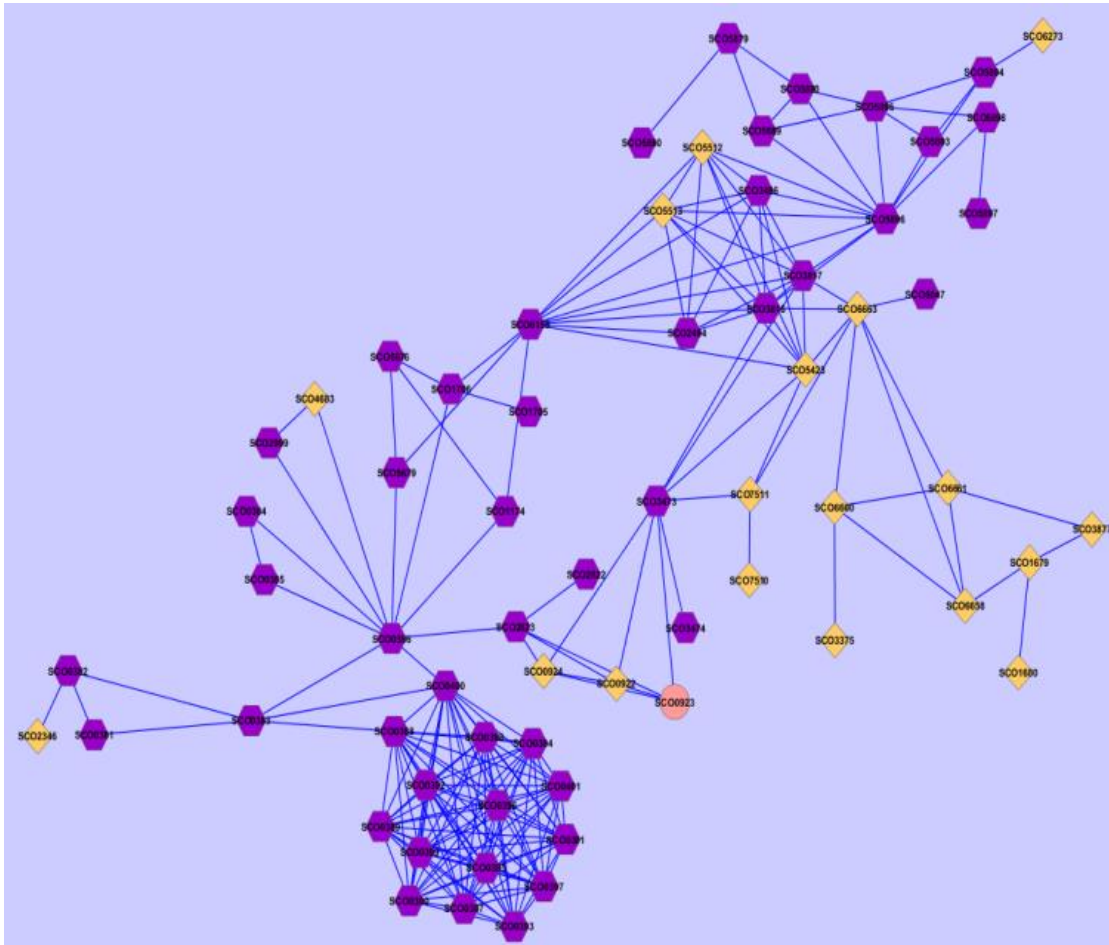


**Figura 22. Predicción de una red de interacción de los genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.**

Acercamiento a una red de interacción empleando los datos de microarreglos expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar mediante los programas String y Colombos.

a) **Red A.**

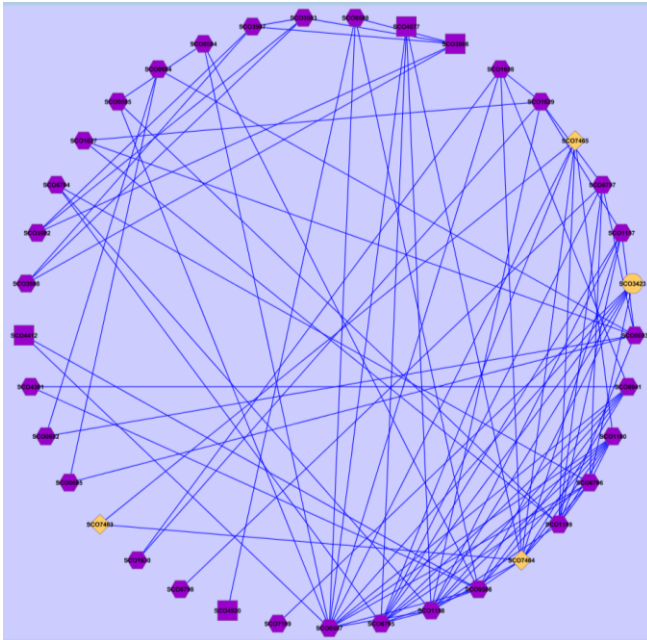
En esta red se encuentran principalmente, enzimas con funciones de oxidoreductasas, transferasas, deshidrogenasas, etc., muchas de ellas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos, o bien, en el metabolismo secundario.



**Figura 23. Subred de interacción A de los genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.** En color morado se encuentran los genes regulados negativamente por glucosa y en amarillo los genes regulados positivamente. La imagen muestra las posibles interacciones y conectividades entre los miembros de la red. A la derecha, se enuncian los genes de acuerdo a su posible participación en el metabolismo primario y/o secundario.

### *b) Red B*

La red B (Fig. 21 y 24) fue la segunda red con mayor número de miembros y en ésta se encontraron genes codificantes para reguladores transcripcionales. Los miembros de esta red están anotados como proteínas involucradas en la comunicación celular o proteínas de unión a DNA. En esta red, se encontraron 5 factores transcripcionales; sin embargo, no podemos establecer conclusiones de la misma, ya que de sus posibles blancos solamente se encuentra anotada una cinasa sensora, mientras el resto son proteínas hipotéticas (PH).



	Interacciones	Gen	Producto/Función	Interacciones	
sco3986 GntR-family transcriptional regulator	5	sco0588	sensor kinase	4	
		sco3982	PH	3	
		sco3983		4	
		sco3986		5	
		sco3987		4	
sco3988		3			
sco4920 DeoR-family transcriptional regulator	1	sco0588	sensor kinase	4	
sco4412 regulatory protein	2	sco0586	PH	10	
		sco0587		13	
sco4677 regulatory protein	4	sco0587	PH	13	
		sco1158		11	
		sco6795		11	
		sco7464		10	
				4	
sco3423 regulator	6	sco6796	PH	8	
		sco0586		10	
		sco1158		11	
		sco6795		11	
		sco0587		13	

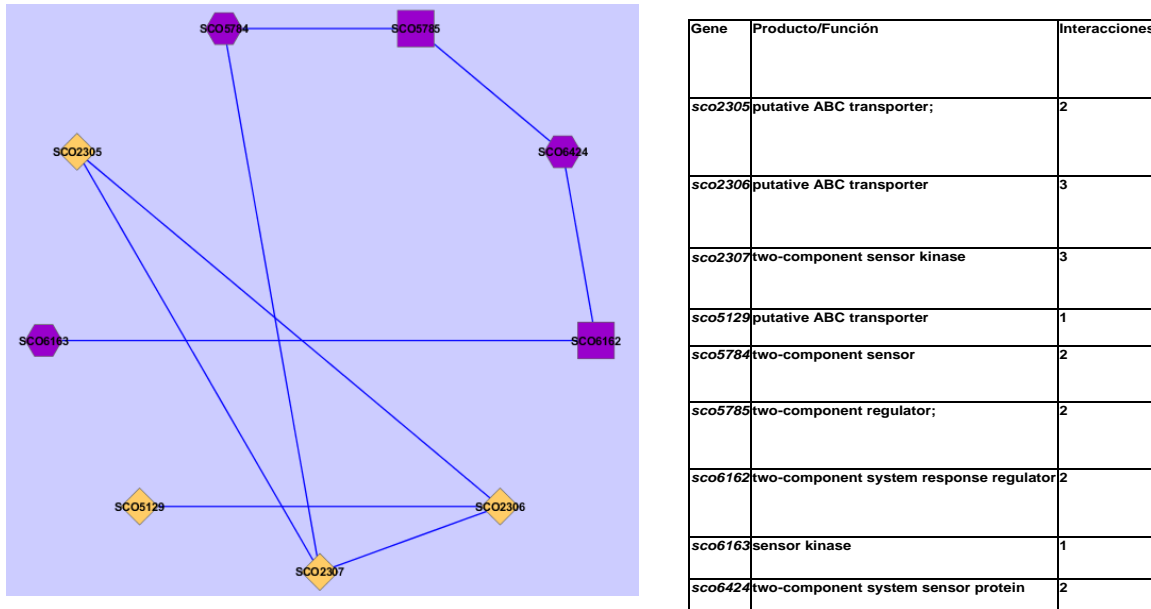
**Figura 24. Subred de interacción A de los genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.**

En color morado se encuentran los genes regulados negativamente por glucosa y en amarillo los genes regulados positivamente. La imagen muestra las posibles interacciones y conectividades entre los miembros de la red. A la derecha, se anotan los reguladores transcripcionales y sus posibles blancos. Los números indican el grado de conectividad entre los elementos de la red.

**c) Red H**

Respecto a la red H (Fig. 26), en ésta red encuentran agrupados genes con funciones de transporte, unión a DNA o comunicación celular. En este caso, se encontraron a los genes *sco5785* y *sco6162* que codifican para reguladores de respuesta de un sistema de dos componentes.

Si bien, el enfoque utilizado para la construcción de la red de regulación ha permitido vislumbrar algunos posibles reguladores transcripcionales de interés, se requiere afinar la estrategia para obtener una mayor información y una mejor aproximación.



**Figura 25. Subred de interacción H de los genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar.**

En color morado se encuentran los genes regulados negativamente por glucosa y en amarillo los genes regulados positivamente. La imagen muestra las posibles interacciones y conectividades entre los miembros de la red. A la derecha, se anotan los reguladores transcripcionales y sus posibles blancos. Los números indican el grado de conectividad entre los elementos de la red.

### 10. Construcción de una base de datos para predecir posibles sitios de unión de los reguladores

En primer lugar, se construyó una base de datos con las secuencias consenso de los reguladores transcripcionales expresados diferencialmente y considerando 10 de sus ortólogos. Los ortólogos fueron seleccionados mediante las mejores puntuaciones, para ello se utilizó un programa de blast-bidireccional en la enciclopedia de Genes y Genomas de Kioto (KEGG). Posteriormente, se obtuvieron las regiones comprendidas entre -400 a +50 de cada factor de transcripción y de sus 10 ortólogos respectivos (Apéndice VI). Una vez construida esta base, se utilizó para alimentar al programa MEME (Timothy *et al.*, 1994), para la predicción de

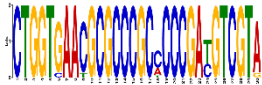
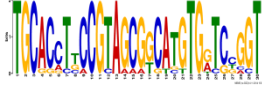
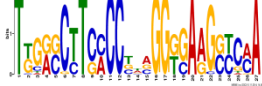

secuencias consenso (predicción de firma de ese grupo de genes). La búsqueda se limitó a motivos con una longitud máxima de 30 nucleótidos, ya que en el género *Streptomyces* los sitios de unión de los factores transcripcionales en promedio tienen ese tamaño (Studholme *et al.*, 2004). Se solicitó al programa que nos arrojase máximo tres motivos de secuencias conservadas palindrómicas y tres motivos de secuencias no palindrómicas.

Posteriormente, se construyó una base con las secuencias -400 +50 de los genes expresados diferencialmente y, en esta base se compara contra las secuencias arrojadas por el programa MEME mediante el programa MAST. Se consideraron alineamientos significativos sólo aquellos con un valor esperado de e (e-value) menor a 10 y un valor de p posicional menor a 0.0001. De esta búsqueda, se encontraron dos grupos de posibles genes blanco para cada factor de transcripción correspondientes al motivo palindrómico y al no palindrómico. Finalmente, se eligió la firma que presentara el menor e-value, con un mayor número de ortólogos y poseedora de un mayor número de genes blanco.

Para corroborar la certeza de la predicción, se hizo una búsqueda bibliográfica para verificar que los genes blanco predichos concordaban con lo reportado, principalmente se consideraron los genes blanco del represor de arginina, ArgR (Pérez-Redondo *et al.*, 2012) al ser un regulador transcripcional conocido con blancos bien caracterizados. La predicción realizada para los blancos de ArgR arrojó a los genes: *sco1576*, *sco1578*, *sco1579* (parte del cluster *argCJBDR*), *sco5676* (*gabT*), *sco5776* (*gluB*) y *sco5976* (*arcB*), que son blancos previamente reportados, dando certeza a la predicción realizada.





Los resultados obtenidos se resumen en las tablas 8 y 9.

**Tabla 8.** Resumen de los resultados del análisis bioinformático de los genes con cambios de expresión negativos en la comparación *ScoM145/ScoZm*

Gen	Anotación	Fold change	Firma	Match genes total	Match genes metabolismo carbono
<i>sco1576</i>	Arginine repressor	2.39	 E-value: 5.0 e-086	81 genes	13 genes
<i>sco5025</i>	Putative MerR – Family regulator	9.97	 E-value: 2.2 e-065	38 genes	2 genes
<i>sco7530</i>	Putative MerR – Family regulator	2.85	 E-value: 1.9 e-037	25 genes	2 genes
<i>sco7698</i>	Putative MerR – Family regulator	5.72	 E-value: 1.1 e-033	36 genes	3 genes

**Tabla 9.** Resumen de los resultados del análisis bioinformático de los genes con cambios de

expresión positivos en la comparación *ScoM145/ScoZm*

Gen	Anotación	Fold change	Firma	Match genes total	Match genes metabolismo carbono
sco3264	Putative GntR Family regulator	6.23	 E-value: 2.4 e-003	80 genes	13 genes
sco3986	Putative GntR Family regulator	14.22	 E-value: 8.8 e-001	113 genes	14 genes
sco4261	Putative LuxR Family regulator	2.45	 E-value: 2.4 e-021	41 genes	5 genes
sco6288	Putative regulatory protein (SARP)	0.99	 E-value: 2.2 e-009	30 genes	4 genes



## 11. Distribución de los posibles reguladores transcripcionales en el genoma de *S. coelicolor*.

Con la finalidad de obtener evidencia que nos permitiera limitar a los posibles reguladores transcripcionales involucrados en el fenómeno de regulación por glucosa, los genes expresados diferencialmente, clasificados como posibles reguladores transcripcionales, fueron analizados para la búsqueda de ortólogos en otros genomas de estreptomicetos y se estableció su localización en el cromosoma de *S. coelicolor*.

Como se observa en las tablas 10, 11 y 12, la mayoría de los genes expresados diferencialmente que codifican para posibles reguladores transcripcionales, se encuentran localizados en el centro del genoma y, de manera general, tienen al menos 5 ortólogos en otros genomas de estreptomicetos.

La localización cromosomal fue importante para encontrar candidatos de estudio, ya que es altamente probable, que los productos de expresión necesarios para el fenómeno de regulación por carbono se encuentren conservados, es decir principalmente localizados al centro del cromosoma. En tanto, la ortología fue realizada considerando que generalmente los ortólogos pueden tener funciones equivalentes en diferentes organismos.

Estos datos se analizaron en conjunto con las predicciones de firmas de unión a DNA y, las redes de interacción; estos datos parecen sugerir que los genes *sco3264*, *sco3986* y *sco6288* podrían codificar reguladores transcripcionales importantes para el mecanismo de regulación por carbono.

**Tabla 10.** Características de los reguladores transcripcionales con un cambio negativo de expresión en la comparación Glc/Agar.

Transcriptional factors down-regulated in Glc/Agar				
Gene	Family or putative function	Orthologs streptomyces <sup>a</sup>	Chromosome localization	Log <sub>2</sub> Fold change
<a href="#">sco6162**</a>	<b>LuxR two-component system response regulator</b>	<b>9</b>	<b>Core</b>	<b>-2.5</b>
<a href="#">sco3933</a>	regulatory protein	4	Core	-1.78
<a href="#">sco4677</a>	<b>regulatory protein</b>	<b>12</b>	<b>Core</b>	<b>-1.65</b>
<a href="#">sco6992</a>	regulatory protein	5	Arm	-1.6
<a href="#">sco3986</a>	<b>GntR family transcriptional regulator</b>	<b>1</b>	<b>Core</b>	<b>-2.17</b>
<a href="#">sco1541</a>	regulator	9	Arm	-1.44
<a href="#">sco7727</a>	MarR family regulatory protein	8	Arm	-1.25
<a href="#">sco5785</a>	two-component system response regulator	7	Core	-1.2
<a href="#">sco1699</a>	transcriptional regulator TetR	10	Arm	-1.27
<a href="#">sco5819</a>	sporulation transcription factor WhiH	9	Core	-1.22
<a href="#">sco4920</a>	DeoR family transcriptional regulator	9	Core	-1.25
<a href="#">sco4412</a>	regulatory protein HATPase_c	10	Core	-1.19
<a href="#">sco3134</a>	two-component system response regulator	10	Core	-1.19
<a href="#">sco4122</a>	MarR family transcriptional regulator	10	Core	-1.02
<a href="#">sco5811</a>	transcriptional regulator	10	Core	-1.02
<a href="#">sco2209</a>	transcriptional regulator	10	core	

<sup>a</sup> Los ortólogos fueron seleccionados en la base de datos de genes y genomas de la Universidad de Kioto (KEGG)

**Tabla 11.** Características de los reguladores transcripcionales con un cambio positivo de expresión en la comparación Glc/Agar.

Transcriptional factors up-regulated in Glc/Agar				
Gene	Family or putative function	Orthologs streptomyces <sup>a</sup>	Chromosome localization	Log <sub>2</sub> Fold change
<i>sco0140</i>	MerR family transcriptional regulator	2	arm	
<i>sco2489</i>	TetR family transcriptional regulator	10	core	1.06
<i>sco2935</i>	transcriptional regulator HTH_IcIR	10	core	
<i>sco3361</i>	transcription regulator AsnC	7	core	1.01
<i>sco3423</i>	Regulator	10	core	1.04
<i>sco3810</i>	GntR family transcriptional regulator	9	core	
<i>sco3943</i>	transcriptional regulator	10	core	1.13
<i>sco4020</i>	two component system response regulator OmpR family, response regulator	10	core	1.23
<i>sco4158</i>	LacI-family regulatory protein	11	core	1.169
<i>sco4640</i>	TetR family transcriptional regulator	10	core	
<i>sco4850</i>	TetR family transcriptional regulator	9	core	1.05
<i>sco5413</i>	MarR-transcriptional regulator	10	core	
<i>sco5552</i>	Regulator IcIR HTH_IcIR	10	core	1.33
<i>sco5982</i>	Regulator phenylacetic acid degradation operon negative regulatory protein	10	core	1.6
<i>sco7424</i>	MarR family transcriptional regulator	5	arm	3.65

<sup>a</sup> Los ortólogos fueron seleccionados en la base de datos de genes y genomas de la Universidad de Kioto (KEGG)

**Tabla 12.** Características de los reguladores transcripcionales con un cambio positivo de expresión en la comparación ScoM145/ScoZm.

Transcriptional factors up-regulated in ScoM145/ScoZm			
Gene	Family or putative function	Orthologs <sup>a</sup>	Chromosome localization
<i>sco3264</i>	putative GntR-family regulator	3	core
<i>sco3986</i>	putative GntR-family transcriptional regulator	1	core
<i>sco6288</i>	putative regulatory protein	5	core
<i>sco4261</i>	luxR family	17	arm

<sup>a</sup> Los ortólogos fueron seleccionados en la base de datos de genes y genomas de la Universidad de Kioto (KEGG)

## VI. Conclusiones

- El gen codificante para la glucosa cinasa de *Z. mobilis* restaura la utilización de glucosa y permite el crecimiento en dicho carbohidrato como única fuente de carbono en una mutante *glk* nula de *S. coelicolor*.
- Los genes codificantes para la utilización de agar, enzimas hidrolíticas y transportadores, están sujetos a represión catabólica por glucosa y, este mecanismo es dependiente de la presencia de la enzima Glk de *S. coelicolor*.
- La regulación por glucosa de la producción de antibióticos en *Streptomyces coelicolor* puede ser positiva o negativa. La glucosa ejerce un efecto negativo sobre la transcripción del cluster para la síntesis de actinorrodina y sobre el cluster para la síntesis de undecilprodigiosina pero un efecto positivo de los genes necesarios para la síntesis del policétido Cpk
- El arresto en la diferenciación morfológica en presencia de glucosa correlaciona con los efectos transcripcionales de dicho carbohidrato sobre los reguladores de diferenciación morfológica WhiH y BldN, así como del transportador BldK.
- La mutación en el gen *glk* de *S. coelicolor* conduce a una mayor expresión del regulador transcripcional ArgR, cuyas implicaciones en el fenómeno de regulación por carbono no han sido estudiadas.

## VII. Perspectivas

- Realizar estudios de expresión, en donde se compare a la cepa silvestre con la cepa mutante (ScoM145/ScoZm), en la fase estacionaria y en diferentes fuentes de carbono.
- Realizar mutagénesis de los genes que codifican algunos reguladores transcripcionales identificados en este estudio.
- Construcción de red de regulación y de interacciones con diferentes aproximaciones bioinformáticas.

## VIII. Referencias

1. Angell S, Schwarz E, Bibb M. The glucose kinase of *Streptomyces coelicolor* A3 (2): its nucleotide sequence, transcriptional analysis and role in glucose repression. *Mol Microbiol.* 1992; 6:2833-44.
2. Angell S, Lewis CG, Buttner MJ, Bibb MJ. Glucose repression in *Streptomyces coelicolor* A3 (2) a likely regulatory role for glucose kinase. *Mol Gen Genet.* 1994; 244:135-43.
3. Avignone-Rossa C, White J, Kuiper A, Postma PW, Bibb M, Teixeira de Mattos MJ. Carbon flux distribution in antibiotic-producing chemostat cultures of *Streptomyces lividans*. *Metab Eng.* 2001; 4:138–50.
4. Bentley SD, Chater KF, Cerdeño-Tárraga A-M, Challis GL, *et al.* Complete genome sequence of the model Actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2), *Nature.* 2002; 417: 141–147
5. Bibb MJ, Molle V, Buttner MJ.  $\gamma^{\text{BidN}}$ , an extracytoplasmic function RNAPolymerase sigma factor required for aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *J. Bacteriol.* 2000; 182, 4606-4616.
6. Blättel V, Wirth K, Claus H, Schlott, B, Pfeiffer P, König H. A lytic enzyme cocktail from *Streptomyces* sp. B578 for the control of lactic and acetic acid bacteria in wine. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2009; 83:839-48.
7. Borodina, I., Siebring, J., Zhang, J., Smith, C. P., van Keulen, G., Dijkhuizen, L., & Nielsen, J. (2008). Antibiotic overproduction in *Streptomyces coelicolor* A3 (2) mediated by phosphofructokinase deletion. *Journal of Biological Chemistry*, 283(37), 25186-25199.
8. Breitling R, Armengaud P, Amtmann A, Herzyk P. Rank products: a simple, yet powerful, new method to detect differentially regulated genes in replicated microarray experiments. *FEBS Lett.* 2004; 573:83-92.
9. Brückner R, Titgemeyer F. Carbon catabolite repression in bacteria: choice of the carbon source and autoregulatory limitation of sugar utilization. *FEMS Microbiol. Lett.* 2002; 209:141-148.

10. Bucca G, Laing E, Mersinias V, Allenby N, Hurd D, Holdstock J, Brenner V, Harrison M, Smith CP. Development and application of versatile high density microarrays for genome-wide analysis of *Streptomyces coelicolor*: characterization of the HspR regulon. *Genome Biol.* 2009; 10:R5
11. Brückner R, Titgemeyer F. Carbon catabolite repression in bacteria: choice of the carbon source and autoregulatory limitation of sugar utilization. *FEMS Microbiol. Lett.* 2002; 209:141-148.
12. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, *et al.* The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem.* 2009; 55:611-22.
13. Caspi R, Altman T, Billington R, Dreher K, Foerster H, Fulcher CA, *et al.* The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of Pathway/Genome Databases. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42:D459-D471.
14. Challis GL, Hopwood DA Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100:14555-61.
15. Chen W, Qu D, Zhai L, Tao M, Wang Y, Lin S, Price NP, Deng Z. Characterization of the tunicamycin gene cluster unveiling unique steps involved in its biosynthesis. *Prot Cell.* 2010; 1:1093-105
16. Chi W-J, Chang Y-K, Hong S-K. Agar degradation by microorganisms and agar-degrading enzymes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012; 94:917-30.
17. Claessen D, de Jong W, Dijkhuize L, Wosten H. Regulation of *Streptomyces* development: reach for the sky! *Trends Microbiol.* 2006; 16:313-319
18. Delbaere LTJ, Sudom AM, Prasad L, Leduc Y, Goldie H. Structure/function studies of the phosphoryltransfer enzyme: phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Cell Mol Biol Lett.* 2003; 8:519-521.
19. Duchene AM, Thompson CJ, Mazodier P. Transcriptional analysis of groEL genes in *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Mol Gen Genet.* 1994; 245(1): 61-68.
20. Fan L., Liu Y, Li Z, Baumann HI, Kleinschmidt K, Ye W, Imhoff JF, Kleine M, Ca D. The draft genome sequence of a marine *Streptomyces* sp. strain PP-



- C42 isolated from the Baltic Sea. J Bacteriol. 2011; 193:3691-2
21. Fornwald JA, Schmidt FJ, Adams CW, Rosenberg M, Brawner ME. Two promoters, one inducible and one constitutive, control transcription of the *Streptomyces lividans* galactose operon. Proc Natl Acad Sci USA. 1987; 84:2130-34.
  22. Garcia PP, Bringhurst RM, Gage DJ. Characterization of a two-component regulatory system which regulates succinate-mediated catabolite repression in *Sinorhizobium meliloti*. J Bacteriol. 2010; 192: 5725
  23. Gómez-Escribano J P, Song L, Fox DJ, Yeo V, Bibb M, Challis G. Structure and biosynthesis of the unusual polyketide alkaloid coelimycin P1, a metabolic product of the cpk gene cluster of *Streptomyces coelicolor* M145. Chem Sci. 2012; 3:2716.
  24. Görke B, Stülke J. Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients. Nat Rev Microbiol. 2008; 6:613-24.
  25. Gottelt M, Kol S, Gomez-Escribano JP, Bibb M, Takano E. Deletion of a regulatory gene within the cpk gene cluster reveals novel antibacterial activity in *Streptomyces coelicolor* A3(2) Microbiology. 2010; 156:2343–2353. doi: 10.1099/mic.0.038281-0.
  26. Gubbens J, Janus M, Florea BI, Overkleeft HS, van Wezel GP. Identification of glucose kinase-dependent and -independent pathways for carbon control of primary metabolism development and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* by quantitative proteomics. Mol Microbiol. 2012; 86:1490-1507.
  27. Gust B, Challis G, Fowler K, Kieser T, Chater K. PCR-targeted *Streptomyces* gene replacement identifies a protein domain needed for biosynthesis of the sesquiterpene soil odor geosmin. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100:1541-6.
  28. Hillerich, B., & Westpheling, J. (2006). A new GntR family transcriptional regulator in *Streptomyces coelicolor* is required for morphogenesis and antibiotic production and controls transcription of an ABC transporter in response to carbon source. Journal of bacteriology, 188(21), 7477-7487.
  29. Hindle Z, Smith CP. Substrate induction and catabolite repression of the *Streptomyces coelicolor* glycerol operon are mediated through the GylR

- protein. *Mol Microbiol.* 1994; 737-45.
30. Hodgson DA. Glucose repression of carbon source uptake and metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and its perturbation in mutants resistant to 2-deoxyglucose. *BMC Microbiology.* 1982; 128: 2417-30.
31. Hodgson DA. Primary metabolism and its control in streptomycetes: a most unusual group of bacteria. *Advances in microbial physiology*, 2000, vol. 42, p. 47-238.
32. Hopwood, D. A. (1967). Genetic analysis and genome structure in *Streptomyces coelicolor*. *Bacteriological reviews*, 31(4), 373.
33. Hopwood, D. A., Malpartida, F., Kieser, H. M., Ikeda, H., Duncan, J. Fujii, I., Rudd, B. A. M., Floss, H. G. & Omura, S. (1985). Production of 'hybrid' antibiotics by genetic engineering. *Nature* 314, 642–644.
34. Hopwood, D. A. (2006). Soil to genomics: the *Streptomyces* chromosome. *Annu. Rev. Genet.*, 40, 1-23.
35. Huang C, Lin Y, Huang S, Chen CW. The telomeres of *Streptomyces* chromosomes contain conserved palindromic sequences with potential to form complex secondary structures. *Mol Microbiol.* 1998; 28:905–916.
36. Huang V, Zheng J, Qi Z, Wang J, Place RF, *et al.* Ago1 Interacts with RNA polymerase II and binds to the promoters of actively transcribed genes in human cancer cells. *PLoS Genet* 2013; 9(9): e1003821.
37. Hull, T. D., Ryu, M. H., Sullivan, M. J., Johnson, R. C., Klena, N. T., Geiger, R. M., ...& Bennett, J. A. Cyclic di-GMP phosphodiesterases RmdA and RmdB are involved in regulating colony morphology and development in *Streptomyces coelicolor*. *Journal of bacteriology* 2012, 194(17), 4642-4651.
38. Ikeda, H., Seno, E. T., Bruton, C. J., & Chater, K. F. Genetic mapping, cloning and physiological aspects of the glucose kinase gene of *Streptomyces coelicolor*. *Molecular and General Genetics MGG*, 1984, 196(3), 501-507.
39. Ikeda, H., Ishikawa, J., Hanamoto, A., Shinose, M., Kikuchi, H., Shiba, T., & Ōmura, S. Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nature biotechnology*, 2003, 21(5), 526-531.

40. Ishihama, A., Shimada, T. and Yamazaki, Y. (2016). Transcription profile of *Escherichia coli*: genomic SELEX search for regulatory targets of transcription factors. *Nucleic Acids Research*, 44(5), pp.2058-2074.
41. Jayapal, K. (2008). Genomic and proteomic exploration of regulatory pathways in antibiotic producing *Streptomyces*. Doctor of Philosophy. University of Minnesota.
42. Kawai, S., Mukai, T., Mori, S., Mikami, B., & Murata, K. Hypothesis: structures, evolution, and ancestor of glucose kinases in the hexokinase family. *Journal of bioscience and bioengineering*, 2005, 99(4), 320-330.
43. Kieser T, Bibb MJ, Buttner MJ, Chater KF, Hopwood DA. *Practical Streptomyces genetics*. John Innes Foundation, Norwich; 2000.
44. Kim, E. S., Hong, H. J., Choi, C. Y., & Cohen, S. N. Modulation of Actinorhodin biosynthesis in *Streptomyces lividans* by glucose repression of *afsR2* gene transcription. *Journal of bacteriology*, 2001, 183(7), 2198-2203.
45. Kim, S. H., Lee, H. N., Kim, H. J., & Kim, E. S. Transcriptome analysis of an antibiotic downregulator mutant and synergistic Actinorhodin stimulation via disruption of a precursor flux regulator in *Streptomyces coelicolor*. *Applied and environmental microbiology*, 2011, 77(5), 1872-1877.
46. Kotera M, Tabei Y, Yamanishi Y, Moriya Y, Tokimatsu T, Kanehisa M, Goto S. KCF-S: KEGG chemical function and substructure for improved interpretability and prediction in chemical bioinformatics. *BMC Syst. Biol.* 2013; 7:S2
47. Kwakman JHJM, Postma PW. Glucose kinase has a regulatory role in carbon catabolite repression in *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol.* 1994; 176:2694-8.
48. Lewis NE, Hixson KK, Conrad TM, Lerman JA, Charusanti P, Polpitiya AD, *et al.* Omic data from evolved *E. coli* are consistent with computed optimal growth from genome-scale models. *Mol Syst Biol.* 2010; 6:390. doi: 10.1038/msb.2010.47.
49. Letek M, Valbuena N, Ramos A, Ordóñez E, Gil JA, Mateos LM. Characterization and use of catabolite-repressed promoters from gluconate genes in *Corynebacterium glutamicum*. *J Bacteriol* 2006; 188:409-23.

50. Li W, Lu CD. Regulation of carbon and nitrogen utilization by CbrAB and NtrBC two-component systems in *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 2007; 189:5413-20.
51. Liu, G., Chater, K. F., Chandra, G., Niu, G., & Tan, H. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2013, 77(1), 112-143.
52. Lule I, Maldonado B, D'Huys P, Van Mellaert L, Van Impe J, Bemaerts K, Anné J. On the influence of overexpression of phosphoenolpyruvate carboxykinase in *Streptomyces lividans* on growth and production of human tumour necrosis factor-alpha. Appl Biochem Biotechnol. 2012; 96:367-372.
53. Lunin VV, Li Y, Schrag JD, Iannuzzi P, Cygler M, Matte A. Crystal structures of *Escherichia coli* ATP-dependent glucokinase and its complex with glucose. J Bacteriol. 2004; 186:6915-27.
54. Mahr K, vanWezel G, Svensson C, Kregel U, Bibb M, Titgemeyer F. Glucose kinase of *Streptomyces coelicolor* A3(2): large-scale purification and biochemical analysis. Anton Leeuw Int JG. 2000; 78:253-61.
55. McKenzie, N. L., & Nodwell, J. R. (2007). Phosphorylated AbsA2 negatively regulates antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* through interactions with pathway-specific regulatory gene promoters. Journal of bacteriology, 189(14), 5284-5292.
56. Nett M, Ikeda H, Moore BS. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the Actinomycetes. Nat Prod Rep. 2009; 26:1362-84
57. Nothaft H, Dresel D, Willimek A, Mahr K, Niederweis M, Titgemeyer F. The phosphotransferase system of *Streptomyces coelicolor* is biased for N-acetylglucosamine metabolism. J Bacteriol. 2003; 185:7019-23.
58. Okanishi, M., Suzuki, K., & Umezawa, H. Formation and reversion of Streptomycete protoplasts: cultural condition and morphological study. Microbiology. 1974, 80(2), 389-400.
59. Paradkar, A., Trefzer, A., Chakraborty, R., & Stassi, D. *Streptomyces* genetics: a genomic perspective. Critical reviews in biotechnology. 2003, 23(1), 1-27.
60. Parche, S., Nothaft, H., Kamionka, A., & Titgemeyer, F. Sugar uptake and

- utilisation in *Streptomyces coelicolor*: a PTS view to the genome. Antonie Van Leeuwenhoek. 200078(3-4), 243-251.
61. Park, S. S., Yang, Y. H., Song, E., Kim, E. J., Kim, W. S., Sohng, J. K., ... & Kim, B. G. Mass spectrometric screening of transcriptional regulators involved in antibiotic biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* A3 (2). Journal of industrial microbiology & biotechnology. 2009, 36(8), 1073-1083.
62. Pawlik, K., Kotowska, M., & Kolesiński, P. *Streptomyces coelicolor* A3 (2) produces a new yellow pigment associated with the polyketide synthase Cpk. Journal of molecular microbiology and biotechnology. 2010 19(3), 147-151.
63. Persson, J., Chater, K. F., & Flärdh, K. Molecular and cytological analysis of the expression of *Streptomyces* sporulation regulatory gene whiH. FEMS microbiology letters. 2013, 341(2), 96-105.
64. Pfaffl M, Tichopad A, Prgomet C, Neuvians Tanja. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations. Biotechnol Lett. 2004; 26:509–15.
65. Pfaffl M. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 2001; 29(9):e45.
66. Pérez-Redondo R, Rodríguez-García A, Botas A, Santamarta I, Martín JF, Liras P. ArgR of *Streptomyces coelicolor* is a versatile regulator. PLoS ONE. 2012; 7:e32697.
67. Polti, M. A., García, R. O., Amoroso, M. J., & Abate, C. M. Bioremediation of chromium (VI) contaminated soil by *Streptomyces sp.* MC1. Journal of Basic Microbiology. 2009, 49(3), 285-292.
68. Ramachandran, S, Fontanille, P, Pandey, A, Larroche, C. Gluconic acid: properties, applications and microbial production. Food Technol Biotech. 2006; 44:185-95.
69. Repizo GD, Blancato VS, Sender PD, Lolkema J, Magni C. Catabolite repression of the citST two-component system in. FEMS Microbiol Lett. 2006; 260:224 -31.
70. Rigali, S., Nothaft, H., Noens, E. E., Schlicht, M., Colson, S., Müller, M., ... &

- Van Wezel, G. P. The sugar phosphotransferase system of *Streptomyces coelicolor* is regulated by the GntR-family regulator DasR and links N-acetylglucosamine metabolism to the control of development. *Molecular microbiology*. 2006, 61(5), 1237-1251.
71. Rigali, S., Titgemeyer, F., Barends, S., Mulder, S., Thomae, A. W., Hopwood, D. A., & van Wezel, G. P. Feast or famine: the global regulator DasR links nutrient stress to antibiotic production by *Streptomyces*. *EMBO reports*. 2008, 9(7), 670-675.
72. Romero-Rodríguez A, Robledo-Casados I, Sánchez S. An overview on transcriptional regulators in *Streptomyces*. *Biochem Biophys Acta*. 2015; 1849: 1017-39.
73. Ruiz, B., Chávez, A., Forero, A., García-Huante, Y., Romero, A., Sánchez, M., Langley, E. Production of microbial secondary metabolites: regulation by the carbon source. *Critical reviews in microbiology*. 2010, 36(2), 146-167.
74. Ruiz-Villafán B, Rodríguez-Sanoja R, Aguilar-Osorio G, Sanchez S. Glucose kinases from *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014; 98:6061-71.
75. Ryu, Y. G., Butler, M. J., Chater, K. F., & Lee, K. J. Engineering of primary carbohydrate metabolism for increased production of Actinorhodin in *Streptomyces coelicolor*. *Applied and environmental microbiology*. 2006, 72(11), 7132-7139.
76. Salerno P, Larsson J, Bucca G, Laing E, Smith CP, Flärdh K. One of the two genes encoding nucleoid-associated HU proteins in *Streptomyces coelicolor* is developmentally regulated and specifically involved in spore maturation. *J Bacteriol*. 2009; 191:6489-6500.
77. Salerno, P., Persson, J., Bucca, G., Laing, E., Ausmees, N., Smith, C. P., & Flärdh, K. Identification of new developmentally regulated genes involved in *Streptomyces coelicolor* sporulation. *BMC microbiology*. 2013 13(1), 1.
78. Sambrook J, MacCallum P, Russell D. *Molecular Cloning: A laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
79. Sanchez, S., Chavez, A., Forero, A., García-Huante, Y., Romero, A., Sanchez, M., & Rodríguez-Sanoja, R. Carbon source regulation of antibiotic production. *The Journal of antibiotics*. 2010, 63(8), 442-459.

80. Sánchez S, Demain AL. Valuable products from microbes. In: Neelam G, Abhinav A, editors. *Microbes in Process*. Nova Scientific Publishers, Inc., USA; 2014. p. 23-57.
81. Schrey, S. D., & Tarkka, M. T. Friends and foes: streptomycetes as modulators of plant disease and symbiosis. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2008, 94(1), 11-19.
82. Schütze, E., Ahmed, E., Voit, A., Klose, M., Greyer, M., Svatoš, A., ...& Kothe, E. Siderophore production by streptomycetes—stability and alteration of ferrihydroxamates in heavy metal-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015, 22(24), 19376-19383.
83. Segura D, González R, Rodríguez R, Sandoval T, Escalante L, Sanchez S. *Streptomyces* mutants insensitive to glucose repression showed deregulation of primary and secondary metabolism. *Asia Pac. J Mol Biol Biotechnol*. 1996; 4:30-6.
84. Servin-González, Jensen MR, White J, Bibb M. Transcriptional regulation of the four promoters of the agarase gene (*dagA*) of *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *BMC Microbiology*. 1994; 140:2555-65.
85. Shin, S. K., Park, H. S., Kwon, H. J., Yoon, H. J., & Suh, J. W. (2007). Genetic characterization of two S-adenosylmethionine-induced ABC transporters reveals their roles in modulations of secondary metabolism and sporulation in *Streptomyces coelicolor* M145. *Journal of microbiology and biotechnology*, 17(11), 1818-1825.
86. Smith CP, Chater KF. Structure and regulation of controlling sequences for the *Streptomyces coelicolor* glycerol operon. *J Mol Biol*. 1988; 204:569-80.
87. Strohl, W. R. Compilation and analysis of DNA sequences associated with apparent streptomycete promoters. *Nucleic Acids Research*. 1992. 20(5), 961-974.
88. Studholme, D. J., Bentley, S. D., & Kormanec, J. Bioinformatic identification of novel regulatory DNA sequence motifs in *Streptomyces coelicolor*. *BMC microbiology*. 2004, 4(1), 1.
89. Świątek MA, Gubbens J, Bucca G, Song E, Yang YH, Laing E, Kim BG, Smith CP, van Wezel GP. The ROK-family regulator Rok7B7 pleiotropically affects xylose utilization, carbon catabolite repression, and antibiotic production in

- Streptomyces coelicolor*. J Bacteriol. 2013; 195:1236-48.
90. Taguchi, T., Okamoto, S., Lezhava, A., Li, A., Ochi, K., Ebizuka, Y., & Ichinose, K. Possible involvement of ActVI-ORFA in transcriptional regulation of ActVI tailoring-step genes for Actinorhodin biosynthesis. FEMS microbiology letters. 2007, 269(2), 234-239.
91. Taylor SC, Wakem M, Dijkman G, Alsarraj M, Nguyen M. A practical approach to RTqPCR-publishing data according to the MIQE guidelines. Methods 2010; 50:S1-S5.
92. Temuujin U, Chi WJ, Lee SY, Chang YK, Hong SK. Overexpression and biochemical characterization of DagA from *Streptomyces coelicolor* A3(2): an endo-type  $\beta$ -agarase producing neoagarotetraose and neoagarohexaose. Appl Microbiol Biotechnol. 2011; 92:749-59.
93. Temuujin U, Chi WJ, Chang YK, Hong SK. Identification and biochemical characterization of Sco3487 from *Streptomyces coelicolor* A3(2), an exo- and endo-type  $\beta$ -agarase-producing neoagarobiose. J Bacteriol. 2012; 194:142-9.
94. Tiffert Y, Supra P, Wurm R, Wohlleben W, Wagner R, Reuther J. The *Streptomyces coelicolor* GlnR regulon: identification of new GlnR targets and evidence for a central role of GlnR in nitrogen metabolism in Actinomycetes. Mol Microbiol. 2008; 67:861-80.
95. Tiffert Y, Franz-Wachtel M, Fladerer C, Nordheim A, Reuther J, Wohlleben W, Mast Y. Proteomic analysis of the GlnR-mediated response to nitrogen limitation in *Streptomyces coelicolor* M145. Appl Microbiol Biotechnol. 2011; 89: 1149–1159.
96. Tillotson, R. D., Wösten, H. A. B., Richter, M., & Willey, J. M. A surface active protein involved in aerial hyphae formation in the filamentous fungus *Schizophyllum commune* restores the capacity of a bald mutant of the filamentous bacterium *Streptomyces coelicolor* to erect aerial structures. Molecular microbiology. 1998, 30(3), 595-602.
97. Towle, J. E. AtrA-mediated transcriptional regulation in *Streptomyces* secondary metabolite production and development. (Doctoral dissertation, University of Leeds, 2007).
98. Uguru, G. C., Stephens, K. E., Stead, J. A., Towle, J. E., Baumberg, S., &



- McDowall, K. J. (2005). Transcriptional Activation of the pathway-specific regulator of the Actinorhodin biosynthetic genes in *Streptomyces coelicolor*. *Molecular microbiology*, 58(1), 131-150.
99. van Wezel GP, Mahr K, König M, Traag BA, Pimentel-Schmitt EF, Willimek A, Titgemeyer F. GlcP constitutes the major glucose uptake system of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol*. 2005; 55:624-36.
100. van Wezel GP, König M, Mahr K, Nothaft H, Thomae AW, Bibb M, Titgemeyer F. A new piece of an old jigsaw: glucose kinase is activated posttranslationally in a glucose transport-dependent manner in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2007; 12:67-74.
101. van Wezel GP, McDowall KJ. The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances. *Natural product reports*, 2011; 28:1311-33.
102. van Keulen, G. (2016). Central Carbon Metabolic Pathways in *Streptomyces*. In: P. Dyson, ed., *Streptomyces*, 1st ed. Norfolk: Caister Academic Press, pp.103-123.
103. Volff, J. N., & Altenbuchner, J. Genetic instability of the *Streptomyces* chromosome. *Molecular microbiology*. 1998, 27(2), 239-246.
104. Watve, M. G., Tickoo, R., Jog, M. M., & Bhole, B. D. How many antibiotics are produced by the genus *Streptomyces*?. *Archives of microbiology*. 2001 176(5), 386-390.
105. Willey, J., Santamaria, R., Guijarro, J., Geistlich, M., & Losick, R. (1991). Extracellular complementation of a developmental mutation implicates a small sporulation protein in aerial mycelium formation by *S. coelicolor*. *Cell*. 1991, 65(4), 641-650.
106. Yagüe, P., López-García, M. T., Rioseras, B., Sánchez, J., & Manteca, Á. Pre-sporulation stages of *Streptomyces* differentiation: state-of-the-art and future perspectives. *FEMS microbiology letters*. 2013, 342(2), 79-88.
107. Zamboni N, Maaheimo H, Szyperski T, Hohmann H-P, Sauer U. The phosphoenolpyruvate carboxykinase also catalyzes C3 carboxylation at the interface of glycolysis and the TCA cycle of *Bacillus subtilis*. *Metab Eng*. 2004; 6:277-284.

## Apéndice I: Productos generados durante la realización de esta tesis.

1. Romero A, B Ruíz, Rocha D, M and Sánchez S. Manzo Biochemistry and regulatory functions of glucokinases. Archives of Biochemistry and Biophysics 577-578: 1-10.
2. Romero A, I and Robledo Sánchez S. An overview on transcriptional regulators in *Streptomyces*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms 1849: 1017-1039. 2015
3. Romero A, Rocha D, tierra V, Ruiz B, Sergio Sanchez. Transcriptomic description of a classic model of carbon catabolic repression in *Streptomyces coelicolor*. BMC Microbiology 16(1). 2016. DOI: 10.1186/s12866-016-0690-y
4. Romero A, tierra V, Ruiz B, Sergio Sanchez. Transcriptomic analysis of the glucose effect on secondary metabolite formation and morphological differentiation in *Streptomyces coelicolor*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2016. DOI: 10.1007/s12010-016-2158-9



Contents lists available at ScienceDirect

## Archives of Biochemistry and Biophysics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yabbi](http://www.elsevier.com/locate/yabbi)

## Review

## Biochemistry and regulatory functions of bacterial glucose kinases



Alba Romero-Rodríguez, Beatriz Ruiz-Villafán, Diana Rocha-Mendoza, Monserrat Manzo-Ruiz, Sergio Sánchez\*

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, D.F. 04510, México

## ARTICLE INFO

**Article history:**  
Received 14 February 2015  
and in revised form 30 April 2015  
Available online 13 May 2015

**Keywords:**  
Glucokinases  
Diversity  
Cloning  
Tertiary structure  
Mechanism of action  
Regulatory functions

## ABSTRACT

Glucokinases (GKs) are enzymes widely distributed in all three domains of life. They are located at the beginning of the glycolytic pathway and are responsible for the glucose phosphorylation from various phosphate group donors such as ATP, ADP and polyphosphate. So far, there are eight crystallized GKs, and at least one belongs to each of the three reported GK families. Structural studies have elucidated the mechanism for GK action and multimerization. Cloning, overexpression and biochemical characterization have demonstrated the wide diversity of these enzymes. As reported for various microorganisms, in addition to their catalytic activity, some GKs, possessing ROK (Repressor Orf Kinases) motifs, also display a regulatory role. This function has been associated to the mechanisms of carbon catabolite regulation, morphological differentiation and antibiotic production. The present review covers the classification, detailed tertiary structure, mechanism of action, biochemical characterization and some regulatory aspects of bacterial GKs.

© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

## Introduction

Glucokinases (GKs) are responsible of glucose phosphorylation. The enzyme product, glucose 6-phosphate, can be subsequently metabolized to various metabolic fates. GKs are widely distributed in all three domains of life. According to the Pfam (Protein family database, [11]) GKs are classified based on their primary structure within the sugar kinase/HSP70/actin (Cl0108) superfamily, which contains 29 members. It includes the actin family, HSP70 molecular chaperones, the ROK family (Repressor Orf Kinases), hexokinases 1 and 2, the PGGY family (comprising glyceral kinase and related carbohydrate kinases such as L-fuculokinase and xylulokinase), the propionate/acetate kinase family, and others (<http://pfam.xfam.org/clan/Cl0108>). The GKs transfer a phosphoryl group to the alpha-carbon of glucose, using various phosphate group donors such as ATP (EC: 2.7.1.1 and EC: 2.7.1.2), ADP (EC: 2.7.1.147) and polyphosphate (EC: 2.7.1.63) (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes). In eukaryotes, the enzymes that perform glucose phosphorylation are usually hexokinases [28]. Most prokaryotes use the phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system (PTS) which couples carbohydrate transport to its concomitant phosphorylation [72]. However, even when

bacteria predominantly use PTS, they also possess active GKs [64,56,27,35]. Moreover, in addition to their catalytic activity, some bacterial GKs have shown some degree of regulatory capacity [1,56,35]. The current classification of GKs is based on data from primary, secondary and tertiary structure [28]. Structural studies have established the catalytic mechanism of these enzymes [39] and the mechanism for multimerization (dimer formation) [44]. Cloning of GK genes has enabled their overexpression for further purification and in many cases, their biochemical characterization [78,77,63]. In spite of their importance for the bacterial metabolism, this enzyme has not properly reviewed yet. The aim of the proposed review is to cover several issues about bacterial GKs, such as classification, structure, mechanism of action, biochemical characterization and some aspects on their function as regulatory proteins.

## Source and diversity

Glucokinases are present both in prokaryotes and eukaryotes. Glucose phosphorylation in eukaryotes is mostly achieved by ATP-dependent kinases, called hexokinases (HK), which show broad substrate specificity for hexoses. In contrast to HK, bacterial GKs usually show high specificity for glucose. Kawai et al [28] classified the GKs based on their primary, secondary and tertiary protein structure. Thus, GKs from eukaryotes or prokaryotes were broadly classified into two distinct non-homologous families, hexokinase (HK) and ribokinase (RK). The RK family comprises

\* Corresponding author. Fax: +52 55 56229212.

E-mail addresses: [albaromero@comunidad.unam.mx](mailto:albaromero@comunidad.unam.mx) (A. Romero-Rodríguez), [brvillafan@unam.mx](mailto:brvillafan@unam.mx) (B. Ruiz-Villafán), [divonne29@hotmail.com](mailto:divonne29@hotmail.com) (D. Rocha-Mendoza), [monseh.27@gmail.com](mailto:monseh.27@gmail.com) (M. Manzo-Ruiz), [seran@biomedicas.unam.mx](mailto:seran@biomedicas.unam.mx) (S. Sánchez).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.abbi.2015.05.001>  
0003-9861/© 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.



## Review

An overview on transcriptional regulators in *Streptomyces*

Alba Romero-Rodríguez, Ivonne Robledo-Casados, Sergio Sánchez \*

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 04510, México

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 19 February 2015

Received in revised form 9 June 2015

Accepted 12 June 2015

Available online 17 June 2015

## Keywords:

Transcriptional regulation

Transcription factors

One-component systems

Two-component systems

Regulation

Secondary metabolites

Differentiation

## ABSTRACT

*Streptomyces* are Gram-positive microorganisms able to adapt and respond to different environmental conditions. It is the largest genus of Actinobacteria comprising over 900 species. During their lifetime, these microorganisms are able to differentiate, produce aerial mycelia and secondary metabolites. All of these processes are controlled by subtle and precise regulatory systems. Regulation at the transcriptional initiation level is probably the most common for metabolic adaptation in bacteria. In this mechanism, the major players are proteins named transcription factors (TFs), capable of binding DNA in order to repress or activate the transcription of specific genes. Some of the TFs exert their action just like activators or repressors, whereas others can function in both manners, depending on the target promoter. Generally, TFs achieve their effects by using one- or two-component systems, linking a specific type of environmental stimulus to a transcriptional response. After DNA sequencing, many streptomycetes have been found to have chromosomes ranging between 6 and 12 Mb in size, with high GC content (around 70%). They encode for approximately 7000 to 10,000 genes, 50 to 100 pseudogenes and a large set (around 12% of the total chromosome) of regulatory genes, organized in networks, controlling gene expression in these bacteria. Among the sequenced streptomycetes reported up to now, the number of transcription factors ranges from 471 to 1101. Among these, 315 to 691 correspond to transcriptional regulators and 31 to 76 are sigma factors. The aim of this work is to give a state of the art overview on transcription factors in the genus *Streptomyces*.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Soil and sea microbiota are largely exposed to complex, fluctuating and competitive environments. To cope with these situations, microorganisms have evolved mechanisms that may confer competitive advantages. For instance, saprophytic soil bacteria from the genus *Streptomyces* produce a large number of secondary metabolites like antibiotics, as well as a large number of extracellular enzymes [22]. These bacteria are ecologically important in carbon recycling and, since their diversity includes more than 900 species, they constitute the largest genus of actinobacteria [68,186].

Under nutrient limited conditions, *Streptomyces* can undergo a complex morphological program going from vegetative mycelium to spore formation, ready to colonize new habitats [44]. The onset of morphological differentiation usually coincides with the production of secondary metabolites. In nature, some of the secondary metabolites produced by *Streptomyces* may function as antibiotics. Although it has been generally believed that these compounds are needed to defeat growth of

competing microorganisms to ensure survival of the producing microorganism, the exact role of soil secondary metabolites is unknown and likely to have several functions [20,273].

*Streptomyces coelicolor* A3(2) is a conventional model strain, generally used for chemical and biological studies in actinobacteria [186]. Its DNA sequencing revealed a single linear chromosome 8.66 Mb in size and 72.1% GC content, encoding 7769 genes and 56 pseudogenes [19]. As the number of *Streptomyces* sequenced chromosomes grows, it can be concluded that what they share is that they are large, GC rich, linear chromosomes with a great number of coding sequences and a large set of regulatory genes. Table 1 shows the abundance of regulatory proteins from ten complete genome sequences stored in the Predicted Prokaryotic Transcription Factors Database (P2TF) (<http://www.p2tf.org/webcite>) [15,16]. The large set of putative regulatory genes represents approximately 12.3% of the total chromosome [19] (Table 1) and shows the highly organized regulatory networks that control gene expression in this bacteria [19].

A variety of metabolic processes, such as secondary metabolite production, differentiation, carbon utilization, etc., are fundamental in *Streptomyces* biology. These processes are controlled by subtle and precise regulatory systems. A deeper knowledge of the transcription factors governing these processes is crucial to understand, and manipulate

\* Corresponding author at: Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 04510, México.  
E-mail address: [ses.ar@biomedicas.unam.mx](mailto:ses.ar@biomedicas.unam.mx) (S. Sánchez).

## RESEARCH ARTICLE

## Open Access

# Transcriptomic analysis of a classical model of carbon catabolite regulation in *Streptomyces coelicolor*



Alba Romero-Rodríguez<sup>1</sup>, Diana Rocha<sup>1</sup>, Beatriz Ruiz-Villafan<sup>1</sup>, Victor Tierrafría<sup>1</sup>, Romina Rodríguez-Sanoja<sup>1</sup>, Daniel Segura-González<sup>2</sup> and Sergio Sánchez<sup>1\*</sup>

## Abstract

**Background:** In the genus *Streptomyces*, one of the most remarkable control mechanisms of physiological processes is carbon catabolite repression (CCR). This mechanism regulates the expression of genes involved in the uptake and utilization of alternative carbon sources. CCR also affects the synthesis of secondary metabolites and morphological differentiation. Even when the outcome effect of CCR in different bacteria is the same, their essential mechanisms can be quite different. In several streptomycetes glucose kinase (Gk) represents the main glucose phosphorylating enzyme and has been regarded as a regulatory protein in CCR. To evaluate the paradigmatic model proposed for CCR in *Streptomyces*, a high-density microarray approach was applied to *Streptomyces coelicolor* M145, under repressed and non-repressed conditions. The transcriptomic study was extended to assess the ScGk role in this model by comparing the transcriptomic profile of *S. coelicolor* M145 with that of a  $\Delta$ gk mutant derived from the wild-type strain, complemented with a heterologous *gk* gene from *Zymomonas mobilis* (*Zmgk*), insensitive to CCR but able to grow in glucose (*ScaZm* strain).

**Results:** Microarray experiments revealed that glucose influenced the expression of 651 genes. Interestingly, even when the ScGk protein does not have DNA binding domains and the glycolytic flux was restored by a heterologous glucokinase, the ScGk replacement modified the expression of 134 genes. From these, 91 were also affected by glucose while 43 appeared to be under the control of ScGk. This work identified the expression of *S. coelicolor* genes involved in primary metabolism that were influenced by glucose and/or ScGk. Aside from describing the metabolic pathways influenced by glucose and/or ScGk, several unexplored transcriptional regulators involved in the CCR mechanism were disclosed.

(Continued on next page)

\* Correspondence: sersan@biomedicinas.unam.mx

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Tercer Circuito Exterior s/n, Ciudad de México 04510, México  
Full list of author information is available at the end of the article



© 2016 Romero-Rodríguez et al. **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

---

Please note: Images will appear in color online but will be printed in black and white.

---

1	Article Title	<b>Carbon Catabolite Regulation of Secondary Metabolite Formation and Morphological Differentiation in <i>Streptomyces coelicolor</i></b>
2	Article Sub- Title	
3	Article Copyright - Year	<b>Springer Science+Business Media New York 2016 (This will be the copyright line in the final PDF)</b>
4	Journal Name	Applied Biochemistry and Biotechnology
5		Family Name <b>Sánchez</b>
6		Particle
7		Given Name <b>S.</b>
8	Corresponding	Suffix
9	Author	Organization Universidad Nacional Autónoma de México
10		Division Instituto de Investigaciones Biomédicas
11		Address Cd. de Mexico 04510, Mexico
12		e-mail sersan@biomedicas.unam.mx
13		Family Name <b>Romero-Rodríguez</b>
14		Particle
15		Given Name <b>A.</b>
16		Suffix
17	Author	Organization Universidad Nacional Autónoma de México
18		Division Instituto de Investigaciones Biomédicas
19		Address Cd. de Mexico 04510, Mexico
20		e-mail
21		Family Name <b>Ruiz-Villafán</b>
22		Particle
23		Given Name <b>B.</b>
24		Suffix
25	Author	Organization Universidad Nacional Autónoma de México
26		Division Instituto de Investigaciones Biomédicas
27		Address Cd. de Mexico 04510, Mexico
28		e-mail
29		Family Name <b>Tierrafría</b>
30	Author	Particle
31		Given Name <b>V. H.</b>

## Apéndice II: Plásmidos y cepas empleados

Características	Cepas	Origen
SCP1- SCP2-	<i>S. coelicolor</i> M145	Hopwood <i>et al.</i> (1985)
SCP1- SCP2- <i>glk</i> -	<i>S. coelicolor</i> $\Delta glk$	Derivada de M145. Este trabajo mediante PCR-targeting
<i>S. coelicolor</i> $\Delta glk$ con el plásmido pUNAMZm	ScoZm	Este trabajo
<i>S. coelicolor</i> $\Delta glk$ con el plásmido pIJ702	Sco702	Este trabajo
F- <i>dam</i> -13::Tn9 <i>dcm</i> -6 <i>hsdM hsdR zji</i> -202::Tn10 <i>recF</i> 143 <i>galK2 galT</i> 22 <i>ara</i> -14 <i>lacY1 xyl</i> -5 <i>leuB6 thi</i> -1 <i>tonA</i> 31 <i>rpsL</i> 136 <i>hisG4 tsx</i> -78 <i>mtl</i> -1 <i>glnV</i> 44	<i>E. coli</i> ET12567	Choi <i>et al.</i> (2004) Donada por el Dr. Luis Servin
	<b>Plásmidos</b>	
Derivado de pIJ101 con un estimado de copias de 50 (Angell <i>et al.</i> , 1994).	pIJ702	Angell <i>et al.</i> 1994; John Innes Centre
pIJ2925 conteniendo el fragmento de 1.7 pb PstI-XbaI <i>glk</i> de <i>Z. mobilis</i>	pIJ2442	Angell <i>et al.</i> 1994 ; John Innes Centre
Plásmido pIJ702 conteniendo el fragmento de 1.7 pb PstI-XbaI <i>glk</i> de <i>Z. mobilis</i>	pUNAMZm	(Este trabajo)

## Apéndice III: Oligonucleótidos empleados

Nombre	Gen blanco	Secuencia 5'-3'
glk-fwd-large		ttagcggggctcgaccgaactgagggattcatgggactcattccggggatccg tcgacc
glk-rev-large		cgggtgagcgcagctcccggagtcgggaagtgatcgatcatgtaggctggagc tgcttc
glkout-fwd		gtcgaaccacaggaacccgctggaccac
glkout-rev		gagcgcgggagggatgtgccatgccgtcaa
glk1	<i>glk</i>	Mahr K <i>et al.</i> . 2000
glk2	<i>glk</i>	Mahr K <i>et al.</i> . 2000
sco5373fwd qpcr	<i>atpD</i>	tggcttcggtcagatgga
sco5373rev qpcr	<i>atpD</i>	cggaagatgttgatgaaga
sco3878fwd qpcr	<i>dnaN</i>	ctcaaccgacctcctg
sco3878rev qpcr	<i>dnaN</i>	aggtactgtaggcctcgt
sco5769fwdqpcr	<i>recA</i>	ggagatcgaggcgagat
sco5769revqpcr	<i>recA</i>	gtggtctggactggtgag
sco6008fwd qpcr	<i>rok7b7</i>	cgaaatcgggcacatcac
sco6008rev qpcr	<i>rok7b7</i>	aggagcgggaagcacatag
sco6162fwd qpcr	<i>sco6162</i>	atcgccgagatccttcat
sco6162rev qpcr	<i>sco6162</i>	gtaccgggtcagctcca
sco5578fwd qpcr	<i>glcP</i>	gcagttcgtcgcatcaa
sco5578rev qpcr	<i>glcP</i>	cgtcgtaacgagtagaagaac
sco6164fwd qpcr	<i>sco6164</i>	gcgtcaccagcttcag
sco6164revqpcr	<i>sco6164</i>	tcgtgatctccttgagca



sco3471fwd qpcr	<i>dagA</i>	ttcactgactggcgagaag
sco3471rwd qpcr	<i>dagA</i>	tggaatccattccgaagaagag
sco4729fwd qpcr	<i>rpoA</i>	aagggcaagctggagatg
sco4729rev qpcr	<i>rpoA</i>	tgagaaccggcgagtaga
sco3873 fwd qpcr	<i>gyrA</i>	gcgaagatcaccgagtacaac
sco3873 rev qpcr	<i>gyrA</i>	tacgggatcagcttggtctt
sco5820 fwd qpcr	<i>hrdB</i>	ggagaagttcgactacaccaag
sco5820 rev qpcr	<i>hrdB</i>	ccatgtgcaccgggatac
5085F	<i>ActII-ORF4</i>	gta att tcg cat ccg ctg aac
5085R	<i>ActII-ORF4</i>	gga gat tcc gat acg att cca g

Apéndice IV: Métodos y Medios de cultivo

a. Medios de cultivo

**Medio Luria Bertrani (LB)**

Difco Bactotripton	10 g
Difco extracto de levadura	5 g
NaCl	5 g
Agua	1000 mL

**Medio 2xYT**

Difco Bactotripton	16 g
--------------------	------

Difco extracto de levadura	10 g
NaCl	5 g
Agua	1000 mL

**Medio TSB**

Triptona de soya	30 g
Agua destilada	1000 mL

**Medio MS**

Agar	20 g
Manitol	20 g
Harina de soya	20 g
Agua destilada	1 L

**Medio SOB**

Triptona	20 g
Extracto de levadura	5 g
NaCl	0.5 g
MgSO <sub>4</sub>	2.4 g
KCl	186 mg
Agua	1000 mL

**Medio NMMP**

(NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> )	2 g
Difco casaaminoácidos	5 g
MgSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0.6 g
PEG6000	50 g
Agua destilada	800 mL

Añadir 50 µL de solución estéril de elementos menores

FeSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0.1 g
ZnSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0.1 g
MnCl <sub>2</sub> 4 H <sub>2</sub> O	0.1 g
CaCl <sub>2</sub> 2 H <sub>2</sub> O	0.13 g
Agua destilada	100 mL

**Agar Nutritivo Difco (DNA)**

Agar nutritivo Difco	23 g
Agua	1000 mL

**Medio R2**

Sacarosa	103 g
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.25 g
MgCl <sub>2</sub> 6 H <sub>2</sub> O	10.12 g
Difco casaminoácidos	0.1 g
Agua destilada	800 ml

Por cada 80 mL de la solución en un matraz Erlenmeyer de 250-mL que contenga 2.2 g de agar, agregar en orden:

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0.5%)	1 mL
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O (3.68%)	8 mL
L-prolina (20%)	1.5 mL
Buffer TES (5.73%, pH 7.2)	10 mL
Solución de elementos traza	0.2 mL
NaOH (1N)	0.5 mL
Factores auxótrofos	0.75 mL de cada uno

**Solución de elementos traza**

ZnCl <sub>2</sub>	40 mg
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	200 mg
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	10 mg
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	10 mg
Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> .10H <sub>2</sub> O	10 mg
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	10 mg

Agua destilada	100 mL
----------------	--------

**Medio R2Y**

Realizar de la misma forma que R2, pero añadir 5 mL de una solución al 10% de extracto de levadura por cada 100 mL.

**Medio Mínimo (MM)**

L-asparagina	0.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.2 g
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 g
Glucosa (añadir después de esterilizar)	10 g
Agar	10 g
Agua destilada	1000 ml

En estudios de utilización de carbono la glucosa puede ser reemplazada por una fuente alternativa de carbono y la L-asparagina por (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 g/L).

**Buffer P**

Sacarosa	103 g/L
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.25 g/L
MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	2.02 g/L
Elementos traza	2 mL/L
Agua	800 mL

Por cada 100 mL agregar:

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.5%	1 mL
CaCl <sub>2</sub> 2 H <sub>2</sub> O 3.68%	10 mL
Buffer TES 5.73% pH 7.2	10 mL

## b. Metodologías

**Extracción de DNA plasmídico**

Para todas las extracciones de plásmidos y cósmidos de *E. coli* se utilizó la técnica de lisis alcalina (Sambrook *et al.*, 2001).

**Minipreparaciones de DNA plasmídico a partir de cultivos de *E. coli***

1. En un tubo Eppendorf colocar 2 mL de cultivo LB inoculado con *E. coli*, y centrifugar a 8000 rpm por 10 min.
2. Resuspender el paquete de células en 200 µL de Tris 25 mM, EDTA 25 mM, pH 8 (Solución I).
3. Añadir 250 µL de una solución fresca de NaOH 0.2N, SDS 1% (Solución II). Mezclar por inversión vigorosa los tubos, hasta que el contenido se vea transparente, homogéneo y muy viscoso.
4. Añadir 350 µL de acetato de potasio 3M, pH 4.8 (Solución III). Mezclar bien por inversión hasta que se pierda la viscosidad y se vea un precipitado blanco. Centrifugar a 13000 rpm durante 10 min y pasar la fase acuosa a un tubo nuevo.
5. Añadir al tubo 400 µL de fenol/cloroformo, agitar 30 s en vórtex y centrifugar 2 min en la microfuga.
6. Pasar la fase acuosa a otro tubo y añadir 600 µL de etanol absoluto frío. Dejar precipitando 5 min a temperatura ambiente.
7. Centrifugar 10 min a 13000 rpm en la microfuga. Retirar todo el sobrenadante con una pipeta Pasteur, dando un segundo pulso en la microfuga para eliminar todo el sobrenadante.
8. Resuspender el pellet en 50 µL de TE (Tris 10 mM, EDTA 0.1 mM pH 8).
9. Añadir 150 µL de acetato de sodio 4 M, pH 6. Mezclar bien e incubar una hora a -20°C.
10. Centrifugar 10 min en la microfuga a 13000 rpm. Pasar el sobrenadante a un tubo limpio y añadir 200 µL de isopropanol, mezclar muy bien y precipitar 10 min en hielo.
11. Centrifugar 10 min en la microfuga a 13000 rpm. Eliminar todo el sobrenadante. Resuspender en 45 µL de TE, mezclar bien, dar un pulso en la microfuga y añadir 5 µL de acetato de sodio 3 M pH 6 y 125 µL de etanol frío. Precipitar 10 min en hielo.
12. Centrifugar 10 min en la microfuga a máxima velocidad. Eliminar todo el sobrenadante. Secar el pellet y resuspenderlo en 20-25 µL de TE o agua ultra pura.
- 13.

**Minipreparaciones de DNA plasmídico a partir de cultivos de *Streptomyces*.****Aislamiento de plásmido por lisis alcalina y precipitación con acetato de potasio (modificado de Birnboim y Doly, 1979)**

**TEGLR** 25 mM Tris-HCl pH8, 10 mM EDTA pH8, 50 mM glucosa (18µL 50% solución stock para 1 mL), 1 mg/mL lisozima, opcional: 5 µg/mL RNAsa A **NaOH/SDS:** 0.2N NaOH, 1% SDS

**3M acetato de potasio pH 4.8**

**Fenol/cloroformo ácido**, posible **fenol pH8**

**Isopropanol**

**TE buffer****Acetato de potasio 3M sin amortiguar****Acetato de amonio 5M****Etanol 100% y 70%, posible 100mM espermina-HCl (0.348 g/mL, esterilizar en autoclave y guardar a temperatura ambiente). La espermina puede ser sustituida por glucógeno.****Los volúmenes de reactivos y condiciones de centrifugación dados en el procedimiento son para 10 mL.**

1. Resuspender el micelio de no más de 50mL de cultivo en 1.4 mL de TEGLR (volumen total  $\leq$  1.7 mL). Incubar 30 minutos a 37°C.
2. Añadir 2.8 mL de NaOH/SDS; mezclar inmediatamente mediante repetidas inversiones. Incubar 20 minutos a 20°. Concentración final: 133mM NaOH, 23mM SDS, 16mM glucosa, 8mM Tris, 3mM EDTA
3. Añadir 2 mL de acetato de potasio 3M pH 4.8 y 2 mL de fenol/cloroformo ácido y mezclar inmediatamente por inversión. Incubar 5 minutos en hielo. Centrifugar 15 minutos, 12000 x g a 4° (Ej. 10000 rpm en rotor SS-34). Fenol/cloroformo reduce el corte de DNA; fase no separada es formada (Kieser, 1984). Concentración final: 1M KOAc, 90mM NaOH, 16mM SDS.
4. Opcional: Extraer con fenol pH8, enfriar en hielo, centrifugar como antes descrito. Este paso remueve ssDNA y proteína remanente.
5. Transferir la fase acuosa (o el sobrenadante) (c. 6 mL) a un nuevo tubo de centrifuga que contiene 3.6 mL 20° isopropanol (0.6 vol). Mezclar por inversión y centrifugar como en el paso 3. Decantar el sobrenadante, girar por algunos segundos y remover todo el líquido.

**Los pasos 6-8 remueven más ssDNA. Son opcionales, pero importantes para gradientes de CsCl-etidio. Pasos 9a y 9b son caminos alternativos opcionales para remover trazas de SDS, fenol y sal, los cuales pueden ser aplicados después del paso 5 de ser necesario.**

6. Disolver el precipitado en 0.5 mL de TE. Es importante mantener el volumen bajo. Las muestras son adecuadas para electroforesis en gel de agarosa pero no para reacciones enzimáticas.
7. Transferir la solución a un tubo de 1.5 mL que contenga 100  $\mu$ L de acetato de potasio 3M no amortiguado y 100  $\mu$ L de fenol/cloroformo ácido. Emulsificar mediante vortex. Enfriar la muestra en hielo y centrifugar 5 minutos, 11000 x g en frío.
8. Transferir la fase acuosa superior (c. 0.55 mL) a un tubo nuevo de 10 mL conteniendo 0.4 mL de acetato de potasio 3M no amortiguado y 4.5 mL de TE. Agregar 3.3 mL de isopropanol (0.6 vol.), mezclar y centrifugar como en el paso 3y remover todo el líquido. Lavar el pellet (del cual gran parte se encuentra en la pared lateral del tubo) con 5 mL 0° 70% etanol, remover todo el líquido.

9. Puede ser realizado después del paso 5. **Trazas remanentes de SDS, fenol y sal son removidos mediante un paso de precipitación adicional después de disolver la muestra en un volumen relativamente grande. Pasos 9a y 9b son alternativos.**

9a. Precipitación por etanol-acetato de amonio: disolver DNA en 1 mL TE, añadir 1 mL de acetato de amonio 5M, mezclar, centrifugar, transferir sobrenadante a un nuevo tubo (descartar el pellet), añadir 4.4 mL de etanol, mezclar y centrifugar, 10 minutos, 12000 x g. Remover todo el líquido, lavar con 7 mL etanol 70%, remover todo el líquido y secar en vacío (para remover trazas de acetato de amonio). Disolver en 350 µL TE.

9b. Precipitación con espermina: Disolver DNA en 7 mL TE (sal no es añadida), agregar 350 µL 100mM espermina, mezclar e incubar en hielo por 5 minutos. Centrifugar 10 minutos, 12000 x g y remover todo el líquido. 5mM de espermina es c. 5-veces más que necesario. Añadir 200 µL de acetato de potasio 3M no amortiguado, 2.0 mL TE y 4.8 mL de etanol, mezclar e incubar  $\geq$  5 minutos a 20° (el tiempo requerido depende del grosor del pellet). Centrifugar 10 minutos, 12000 x g. Remover todo el líquido, lavar con 10 mL 70% etanol, secar al aire y disolver en 350 µL TE. Notar que la espermina es extraída del pellet no disuelto.

#### Extracción mediante fenol ácido (pH4)

Fenol a pH 4 desnaturaliza y disuelve linear y OC DNA (Azad *et al.*, 1992, y referencias dentro del mismo). CCC DNA permanece en fase acuosa. Mantener la muestra fría.

**Acetato de sodio 0.5M pH 4.0:** acetato de sodio 0.5M + ácido acético 3.155 M. Para 100 mL: 6.804 g CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O (o 16.7 mL de solución 3M sin amortiguar); ajustar a pH 4.0 con 8.67 mL (9.10 g) de ácido acético glacial.

**Fenol pH 4.0:** equilibrar 3 x con 0.5 vol 50 mM acetato de sodio pH 4.0

**100 mM cloruro de magnesio** (para 100 mL: 2.03 g MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O; BDH 10149)

**Cloroformo: alcohol isoamílico 24:1**

**Acetato de sodio 3M no amortiguado** (48,82 g 100 ml<sup>-1</sup>)

1. Disolver DNA en 300 µL TE, enfriar en hielo.
2. Agregar 30 µL acetato de sodio 0.5M pH 4.0 y 5 µL 100mM cloruro de magnesio, mezclar, agregar 360 µL fenol pH 4, agitar en vortex por 1 minuto y centrifugar 10 minutos 11000 x g a 4 °. Concentración final 50 µM acetato de sodio y 1.5mM cloruro de magnesio.
3. Transferir la fase acuosa superior (300 µL) a un tubo con 30 µL de acetato de sodio no amortiguado, mezclar, agregar 400 µL de alcohol cloroformo/isoamílico, mezclar en vortex por 10 segundos y centrifugar de la manera antes descrita.
4. Transferir la fase superior (300 µL) y precipitar con 180 µL (0.6 vol) isopropanol; lavar el pellet con etanol 70%.

#### Extracción de cósmido

1. Centrifugar los 5 mL de medio LB previamente inoculados con *E. coli* transformada con pIJ773.
2. Resuspender en 100µL en solución 1 (50 mM Tris/HCl pH8, 10 mM EDTA)
3. Inmediatamente añadir 200 µL de solución 2 (200 mM NaOH, 1% SDS) Invertir 10x
4. Añadir 150 µL de solución de acetato de potasio (3 M, pH 5.5) invertir 5x.
5. Centrifugar 13000 rpm por 5 min a temperatura ambiente.

6. Quedarse con el sobrenadante, añadir 40µL de fenol/cloroformo, colocar en vortex por 2 min y centrifugar por 5 min a 13000 rpm a temperatura ambiente.
7. Transferir el sobrenadante y añadir 600µL de isopropanol.
8. Dejar 10 min en hielo, centrifugar a 13000 rpm por 10 min.
9. Transferir la fase acuosa y lavar el pellet con 200 µL de etanol al 70%.
10. Centrifugar 5 min a 13000 rpm.
11. Mezclar por inversión, dejar el tubo abierto por 15 min para secar el pellet.
12. Resuspender en 50 µL de agua estéril.

#### Extracción de DNA genómico.

1. Inocular dos matraces con medio TSB e incubar por 48 h con glicina 0.5%
2. Cosechar el micelio a 9000 rpm por 10 min, lavar una vez con un volumen de sacarosa al 10.3%.
3. Resuspender el micelio en 5 mL de buffer P con lisozima 20 mg/ml.
4. Centrifugar a 6000 rpm por 10 min, resuspender en 10 mL de sacarosa 10.3%, adicionar 200 µL de EDTA 500 mM pH8 y 4 mL de SDS 10%.
5. Mezclar y adicionar 15 mL de NaCl 6 M, volver a mezclar e incubar por 60 min a 4°C, overnight.
6. Centrifugar por 30 min a 10000 rpm.
7. Recuperar el sobrenadante, añadir un volumen de isopropanol y precipitar por 10 min a temperatura ambiente.
8. Centrifugar por 15 min a 10000 rpm.
9. Lavar el pellet con etanol al 70%.
10. Resuspender en agua y agregar RNAsa.
11. Lavar con fenol, resuspender en isopropanol y precipitar por una noche.

#### Actividad de ATP-Glk

	Sistema de reactivos	Agua o glucosa 200 mM	6GDPH	Extracto enzimático
<b>Ajuste a cero</b>	-----	1950 µl Agua	-----	50 µl
<b>Blanco de reactivos</b>	1746 µl	200 µl Agua	4 µl	50 µl
<b>Muestra</b>	1746 µl	200 µl	4 µl	50 µl

1. Para cada tiempo se prepara el sistema anterior de reactivos y se incuban a 35°C en baño maría durante 10 min.
2. Dentro del baño se añade agua o glucosa, la enzima y al final el extracto enzimático. Inmediatamente de añadir el extracto, tomar el tiempo, se agita la mezcla y se lee a 350 nm cada 20 segundos durante 2 min.

$$Actividad\ volumétrica = \frac{\Delta abs * V dtotal}{\Delta t * \epsilon * d * Vol extracto} = \frac{mmol}{Ls}$$

$$\epsilon = 6.22 \text{ L/mmol*cm}$$

1. Restar a las muestras el blanco de reactivos
2. Después de calcular actividad, determinar el promedio y desviación estándar de cada repetición.



$$\text{Actividad específica} = \text{Actvolum} \frac{\frac{\text{mmol}}{\text{ml} \cdot \text{min}}}{\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \text{deproteína}} = \text{mmol} / \text{mg} \cdot \text{min}$$

### Producción de células de *E. coli* electrocompetentes

Todos los pasos en este protocolo deben llevarse a cabo asépticamente

1. Pre-Inóculo: Suspender una colonia en un matraz que contenga 50 ml de medio LB. Incubar el cultivo durante la noche a 37°C con agitación vigorosa.
2. Inocular 25 ml del pre-inóculo en 475 ml de medio LB precalentado contenido en un matraz de 2 litros.
3. Incubar los matraces a 37°C con agitación constante. Medir la OD-600 cada veinte minutos (este paso tomará alrededor de 1.5-2 horas).
4. Una vez que la OD-600 del cultivo alcanza el valor de 0.4, transferir rápidamente los matraces aun baño de hielo-agua durante 15-30 minutos. Para asegurar un enfriamiento uniforme, agitar manualmente a lo largo de la incubación. En preparación para el siguiente paso, colocar también las botellas de centrifugación en el baño hielo.

Nota: Después de este punto, no deje que sus células se caliente más de 4 ° C

Nota: Al cosechar las células por decantación, tener mucho cuidado de no resuspender el pellet - esto podría resultar en un rendimiento mucho menor. Si es necesario, aspirar en lugar de decantar el sobrenadante. Además, si el pellet parece flojo re-centrifugar las células.

1. Centrifugación 1: Transferir los cultivos a frascos centrífugos fríos. Se cosechan las células por centrifugación a 5000 rpm, durante 15 minutos a 4°C. Se decanta el sobrenadante y se resuspende el botón celular en 500 ml de agua milli Q fría en hielo.
2. Centrifugación 2 (agua): Cosechar las células por centrifugación a 5000 rpm durante 20 minutos a 4 ° C. Se decanta el sobrenadante y se resuspende el botón celular en 250 ml de agua desionizada con hielo.
3. Centrifugación 3 (agua): Cosechar las células por centrifugación a 5000 rpm durante 20 minutos a 4 ° C. Se decanta el sobrenadante y se resuspende el sedimento celular en 10 ml de glicerol al 10% enfriado con hielo.
4. Centrifugar 4 (glicerol): Cosechar las células por centrifugación a 5000 g durante 20 minutos a 4 ° C. Decantar cuidadosamente el sobrenadante y utilizar una pipeta Pasteur para eliminar las gotas restantes.
5. Resuspender en el botón celular en un volumen adecuado, aproximadamente 500 µL. Hacer alícuotas de 40 µL de la suspensión celular en tubos Eppendorf previamente enfriados. Congelar rápidamente en hielo seco o utilizar inmediatamente.
6. Prueba de formación de arco: Transferir 40 µl de la suspensión a una cubeta de electroporación fría y compruebe si se produce arco cuando se aplica una descarga eléctrica.

Si se produce el arco, lavar el resto de la suspensión celular una vez más con medio glicerol 10% para asegurar que la conductividad de la suspensión bacteriana es suficientemente baja (<5 mEq).

7. Almacenamiento: Almacenar las células a -80 ° C hasta que se requieran para su uso.

#### Electro-Transformación

1. A 40 µL de células competentes se les adiciona el DNA y, se incuba en hielo por 1 min.
2. La mezcla de DNA y células se colocan en una cubeta de electroporación fría.
3. La cubeta se deposita en el electroporador, el cual produce una constante de tiempo de 4-5 ms y 12.5 kV/cm, y se le da un pulso de 1.25 V. Inmediatamente después se le adicionan 950 µL de medio SOC y rápidamente se resuspenden las células con una micropipeta.
4. Se transfieren las células a un tubo de 1.5 mL y se incuban a 37°C en agitación continua por 1.30 h, después se plaquea la muestra en medio LB con las condiciones de selección.

#### Obtención de preparaciones densas de esporas

1. Inocular cajas Petri con medio MS en forma confluyente e incubar hasta esporulación. Agregar a cada caja 10 mL de agua estéril. Con ayuda de un asa bacteriológica raspar la superficie para separar las esporas del micelio.
2. Recuperar los 10 mL de agua y pasarlos por un filtro de algodón para esporas.
3. Agregar 5 mL de agua al filtro para recuperar la mayor cantidad de esporas.
4. Centrifugar el filtrado de esporas a 3500 rpm durante 10 min a 4°C.
5. Eliminar sobrenadante y lavar una vez con 10 mL de agua para eliminar los restos del medio. Centrifugar a 3500 rpm durante 10 min a 4°C
6. Eliminar el sobrenadante y resuspender el paquete de esporas en 1 mL de glicerol al 20%. Colocar en viales pequeños y almacenar a -20°C.
7. Tomar una alícuota de 10 µL del resuspendido e inocular dos medios TSB con 10 µL cada uno.
8. Incubar a 29°C por 24 h a 180 rpm

#### Pregerminado de esporas.

1. Pregerminar esporas de *S. coelicolor* en 50 mL de medio 2xYT por 10 h.
2. Centrifugar por 10 min a 8000 rpm.
3. Lavar las células una vez con medio 2xYT.
4. Leer densidad óptica a 490 nm.
5. Calcular la concentración y el volumen requerido para inocular  $3 \times 10^6$  esporas pregerminadas.

#### Protocolo para rompimiento celular de *Streptomyces* por sonicación

1. Agregar 1 ml de la muestra de cultivo a 500 µl de PED en un tubo de 15 mL.
2. Sonicar 5 veces durante 30 s con descansos de 60 s a una amplitud de 60 A.
3. Hacer alícuotas de 1 mL en tubos de 1.5 mL y agregarles 1 µl de inhibidor de proteasas.
4. Centrifugar las muestras en el cuarto frío a 13000 rpm durante 30 min.

5. Congelar muestras.
6. Cuantificar por Bradford (Protocolo de Bio-Rad)

#### Protocolo para el tratamiento de muestras para su observación en el microscopio electrónico de barrido.

1. Realizar un corte del tamaño deseado de la muestra empleando un sacabocados.
2. Retirar el exceso de agar de la muestra con ayuda de un bisturí sin dañar la colonia.
3. Fijar la muestra con glutaraldehído al 3% toda la noche.
4. Una vez fijas las muestras, éstas se deshidratan utilizando concentraciones crecientes de etanol, desde 50% hasta el 99%, cada una durante 10 minutos.
5. Secar las muestras por liofilización.
6. Realizar la metalización, recubrimiento con oro, en el equipo Sputtering System.
7. Observar al microscopio.

#### Protocolo para la síntesis de cDNA

Para una reacción de 20  $\mu\text{L}$ , se empleó 1  $\mu\text{g}$  de RNA cuya concentración fue determinada espectrofotométricamente y corroborada por densitometría en el equipo Typhoon FLA 7000® (GE Healthcare Life Sciences)

Para la síntesis de cDNA se empleó el siguiente protocolo:

1. En un tubo para microcentrífuga adicionar
  - a) 50 ng de hexámeros al azar (random primers) o 2 pmol de primers específicos
  - b) 1  $\mu\text{l}$  de mezcla de dNTPs (10 mM).
  - c) Llevar a volumen de 12  $\mu\text{l}$  con agua ultrapura.
  - d) Calentar a 65°C durante 5 min
  - e) Enfriar rápidamente en hielo
  - f) Centrifugar brevemente
2. Adicionar a la mezcla anterior
  - a) 4  $\mu\text{L}$  de 5X First-Strand Buffer
  - b) 2  $\mu\text{L}$  0.1 M DTT
  - c) 1  $\mu\text{L}$  RNaseOUT™ (40 units/ $\mu\text{L}$ )

3. Mezclar el contenido e incubar durante 2 min a 25°C
4. Adicionar 1 µL (200 unidades) de la enzima SuperScript™ II RT. Mezclar mediante pipeteo ligero.
5. Agregar agua ultrapura estéril para un volume final de 20 µL final volume.
6. Incubar a 42°C durante 50 min.
7. Inactivar la reacción mediante calentamiento a 70°C por 15 min.

### Protocolo para la amplificación de DNA en tiempo real

Una vez sintetizado el cDNA se realizaron curvas de amplificación a las concentraciones para validar la eficiencia del ensayo:

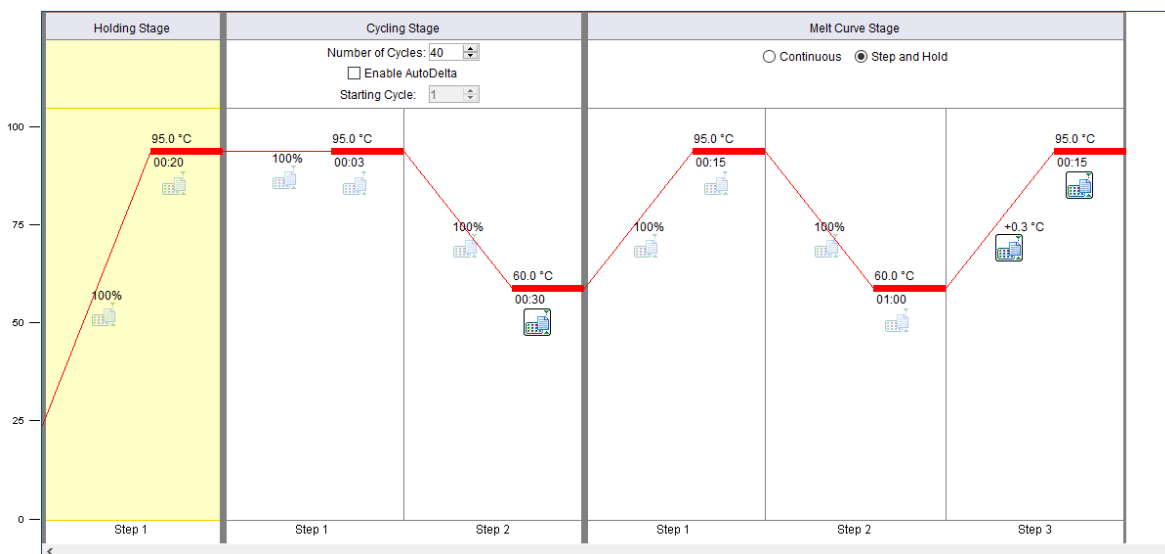
1. Obtener cDNA, de acuerdo al protocolo descrito anteriormente.
2. Diseñar oligonucleótidos para la amplificación de fragmentos cortos del gen de interés (70-150 pb). En esta tesis se empleó el software PrimerQuest® Design Tool de Integrated DNA Technologies.
3. Para cada blanco, realizar curvas estándar de 5 puntos cada una, por triplicado, empleando diluciones de factor 10. Obtener la gráfica de valores de Ct versus concentración. Calcular la pendiente y eficiencia de amplificación.

Los oligonucleótidos empleados en este estudio demostraron una eficiencia entre 90-110%.

El rango dinámico del ensayo fue determinado realizando curvas estándar con las concentraciones 100, 50, 25, 12.5 y 6.25 ng y 40, 20, 10, 5 y 1 ng. Así, para las comparaciones entre las diferentes condiciones, se utilizaron 10 ng como concentración estándar. La mezcla de reacción estuvo constituida de la siguiente manera:

Componente	Volumen
Power SYBR™ Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific)	5 µL
cDNA 10 ng	1 µL
Primers 5 µM	1 µL
Agua	3 µL

Las condiciones de amplificación, se muestran a continuación. Las reacciones fueron llevadas a cabo en placas de 48 pozos en el equipo StepOne™ Real-Time PCR System. Los resultados fueron analizados empleando el software StepOne™ Software v2.3.



### Procedimiento para la cuantificación relativa

Se realizó un estudio piloto probando diferentes candidatos para seleccionar los mejores genes de referencia. La estabilidad de los genes de referencia fue analizada empleando los software BestKeeper y geNorm.

El método empleado para la cuantificación relativa (veces de cambio) fue propuesto por Pfaffl, 2004. Éste considera la diferencia en la eficiencia del ensayo. El procedimiento se describe a continuación:

1. Determinar el valor Ct promedio de cada condición
2. Calcular la diferencia entre los valores de Ct para el gen de interés (blanco) y el gen de referencia.
3.  $\Delta Ct$  gen blanco =  $Ct$  control -  $Ct$  tratado
4.  $\Delta Ct$  gen de referencia =  $Ct$  control -  $Ct$  tratado
5. Con los valores de eficiencia obtenidos en la curva de amplificación, se aplica la siguiente ecuación para la obtención de la expresión relativa del gen blanco de la muestra tratada respecto a la de referencia.
6.  $Ratio = (E_{\text{gen blanco}})^{\Delta Ct_{\text{blanco}}} / (E_{\text{ref index}})^{\Delta Ct_{\text{gen de referencia}}}$
7. El valor E representa las veces de cambio por ciclo por gen. Por ejemplo, en un ensayo con una eficiencia de 95%, el valor de E sería igual a 1.95

## Apéndice V: Procedimientos bioinformáticos

**Genes ortólogos para la búsqueda de secuencias consenso.**

Para cada factor de transcripción expresado diferencialmente en la comparación ScoM145/ScoZm se buscó en la base de datos Kyoto Encyclopedia of Genes and genomes (<http://www.genome.jp/kegg/ko.html>) a 10 ortólogos. Los ortólogos fueron definidos mediante las mejores puntuaciones realizando blast-bidireccional.

Posteriormente, para cada ortólogo y factor de transcripción se obtuvieron las secuencias génicas comprendidas entre -400 y +50 pb. Asimismo, se construyó una base de datos con las secuencias comprendidas entre -400 y +50 pb de cada gen expresado diferencialmente.

## Apéndice VI: Genes expresados diferencialmente en la comparación Glc/Agar

Gene name	Rank down regulated	pfp value	Log(2) Average	Product/Function
<i>sco6164</i>	1	0.00000	-5.26	SC1A9.28c; putative DnaK suppressor protein; K06204 DnaK suppressor protein; [GeneDB:SCO6164] [NCBI-GI:21224490] [NCBI-GeneID:1101605] [UniProt:Q9ZBS4]
<i>sco0930</i>	8	0.00000	-3.29	SCM10.18c; lipoprotein; [GeneDB:SCO0930] [NCBI-GI:21219449] [NCBI-GeneID:1096353] [UniProt:Q9RCY0]
<i>sco2217</i>	4	0.00000	-3.91	SC10B7.12; secreted protein; [GeneDB:SCO2217] [NCBI-GI:21220689] [NCBI-GeneID:1097650] [UniProt:Q9KZ20]
<i>sco6651</i>	9	0.00000	-3.14	SC4G2.25. SC5A7.01; glycosyl transferase; [GeneDB:SCO6651] [NCBI-GI:32141310] [NCBI-GeneID:1102090] [UniProt:Q8CJM1]
<i>sco6165</i>	11	0.00000	-3.07	SC1A9.29c. SC6C5.01; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6165] [NCBI-GI:32141289] [NCBI-GeneID:1101606] [UniProt:Q8CJP0]
<i>sco1089</i>	7	0.00000	-3.35	2SCG4.05c; hypothetical protein 2SCG405c; [GeneDB:SCO1089] [NCBI-GI:21219604] [NCBI-GeneID:1096512] [UniProt:Q9K3Q9]
<i>sco6166</i>	5	0.00000	-3.64	SC6C5.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6166] [NCBI-GI:21224491] [NCBI-GeneID:1101607] [UniProt:Q9ZBP3]
<i>sco2779</i>	3	0.00000	-3.90	acdH. SCC105.10; acyl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO2779] [NCBI-GI:21221230] [NCBI-GeneID:1098213] [UniProt:Q9XCG6]
<i>sco6650</i>	2	0.00000	-4.13	SC4G2.24; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6650] [NCBI-GI:21224947] [NCBI-GeneID:1102089] [UniProt:O86696]
<i>sco6655</i>	10	0.00000	-3.14	ribA2. SC5A7.05; GTP cyclohydrolase II [EC:3.5.4.25]; K01497 GTP cyclohydrolase II; [GeneDB:SCO6655]

				[NCBI-GI:21224951] [NCBI-GeneID:1102094] [UniProt:O88011]
<i>sco6160</i>	6	0.00000	-3.46	SC1A9.24c; putative SecDF protein-export membrane protein; K03072 preprotein translocase SecD subunit; K03074 preprotein translocase SecF subunit; [GeneDB:SCO6160] [NCBI-GI:21224486] [NCBI-GeneID:1101601] [UniProt:Q9ZBS8]
<i>sco1357</i>	15	0.00067	-3.09	2SCG61.39; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1357] [NCBI-GI:21219863] [NCBI-GeneID:1096780] [UniProt:Q9K3X7]
<i>sco3483</i>	14	0.00071	-3.09	SCE65.19c; putative integral membrane transport protein; K02025 multiple sugar transport system permease protein; [GeneDB:SCO3483] [NCBI-GI:21221907] [NCBI-GeneID:1098920] [UniProt:Q9RKF4]
<i>sco5676</i>	13	0.00077	-2.96	gabT; putative 4-aminobutyrate aminotransferase [EC:2.6.1.19]; K00823 4-aminobutyrate aminotransferase; [GeneDB:SCO5676] [NCBI-GI:21224026] [NCBI-GeneID:1101115] [UniProt:O86823]
<i>sco1294</i>	12	0.00083	-3.04	SCBAC36F5.05c; cystathionine gamma-synthase; [GeneDB:SCO1294] [NCBI-GI:21219801] [NCBI-GeneID:1096717] [UniProt:Q93IX6]
<i>sco2776</i>	22	0.00091	-2.83	accD1. SCC105.07; acetyl/propionyl CoA carboxylase. beta subunit [EC:6.4.1.3]; K01966 propionyl-CoA carboxylase beta chain; [GeneDB:SCO2776] [NCBI-GI:21221227] [NCBI-GeneID:1098210] [UniProt:Q9L077]
<i>sco5885</i>	21	0.00095	-2.90	SC3F7.05c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5885] [NCBI-GI:21224227] [NCBI-GeneID:1101327] [UniProt:O54148]
<i>sco1088</i>	20	0.00100	-2.80	2SCG4.04c; oxidoReductase; [GeneDB:SCO1088] [NCBI-GI:21219603] [NCBI-GeneID:1096511] [UniProt:Q9K3R0]
<i>sco1121</i>	19	0.00105	-2.90	2SCG38.14; secreted protein; [GeneDB:SCO1121] [NCBI-GI:21219635] [NCBI-GeneID:1096544] [UniProt:Q9EX05]
<i>sco1573</i>	18	0.00111	-2.96	SCL24.09; oxidoReductase (membrane protein); [GeneDB:SCO1573] [NCBI-GI:21220071] [NCBI-GeneID:1097004] [UniProt:Q9L1A8]
<i>sco6652</i>	17	0.00118	-3.03	SC5A7.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6652] [NCBI-GI:21224948] [NCBI-GeneID:1102091] [UniProt:O88008]
<i>sco4979</i>	24	0.00125	-2.61	2SCK36.02; phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) [EC:4.1.1.32]; K01596 phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP); [GeneDB:SCO4979] [NCBI-GI:21223352] [NCBI-GeneID:1100420] [UniProt:Q93JL5]
<i>sco6161</i>	16	0.00125	-2.87	SC1A9.25c; secreted protein; [GeneDB:SCO6161] [NCBI-GI:21224487] [NCBI-GeneID:1101602] [UniProt:Q9ZBS7]
<i>sco1773</i>	32	0.00125	-2.46	SCI51.13c; putative L-alanine dehydrogenase [EC:1.4.1.1]; K00259 alanine dehydrogenase; [GeneDB:SCO1773] [NCBI-GI:21220265] [NCBI-GeneID:1097204] [UniProt:Q9S227]
<i>sco6473</i>	31	0.00129	-2.44	SC9C7.09c; crotonyl CoA Reductase; [GeneDB:SCO6473] [NCBI-GI:21224777] [NCBI-GeneID:1101912] [UniProt:Q9ZBK1]
<i>sco2494</i>	23	0.00130	-2.71	SC7A8.33c; putative pyruvate phosphate dikinase [EC:2.7.9.1]; K01006 pyruvate.orthophosphate dikinase; [GeneDB:SCO2494] [NCBI-GI:21220957] [NCBI-GeneID:1097928] [UniProt:Q9L2C5]

<i>sco6167</i>	30	0.00133	-2.56	SC6C5.03; proline rich protein (membrane protein); [GeneDB:SCO6167] [NCBI-GI:21224492] [NCBI-GenelD:1101608] [UniProt:Q9ZBP2]
<i>sco1087</i>	29	0.00138	-2.48	2SCG4.03c; putative aldolase [EC:4.1.2.5]; K01620 threonine aldolase; [GeneDB:SCO1087] [NCBI-GI:21219602] [NCBI-GenelD:1096510] [UniProt:Q9K3R1]
<i>sco2954</i>	28	0.00143	-2.60	SCE59.13c; putative RNA polymerase sigma factor; K03088 RNA polymerase sigma-70 factor. ECF subfamily; [GeneDB:SCO2954] [NCBI-GI:21221399] [NCBI-GenelD:1098387] [UniProt:Q9L1U1]
<i>sco2778</i>	34	0.00147	-2.61	hmgL. SCC105.09; hydroxymethylglutaryl-CoA lyase [EC:4.1.3.4]; K01640 hydroxymethylglutaryl-CoA lyase; [GeneDB:SCO2778] [NCBI-GI:21221229] [NCBI-GenelD:1098212] [UniProt:Q9L075]
<i>sco5889</i>	27	0.00148	-2.75	RedO. SC3F7.09; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5889] [NCBI-GI:21224231] [NCBI-GenelD:1101331] [UniProt:O54152]
<i>sco5415</i>	33	0.00152	-2.47	icmA. SC8F4.19; isobutyryl-CoA mutase A [EC:5.4.99.2]; K01848 methylmalonyl-CoA mutase. N-terminal domain; [GeneDB:SCO5415] [NCBI-GI:21223775] [NCBI-GenelD:1100855] [UniProt:Q9X949]
<i>sco3487</i>	26	0.00154	-2.79	SCE65.23; hydrolase; [GeneDB:SCO3487] [NCBI-GI:21221911] [NCBI-GenelD:1098924] [UniProt:Q9RKFO]
<i>sco3484</i>	25	0.00160	-2.85	SCE65.20c; putative secreted sugar-binding protein; K02027 multiple sugar transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO3484] [NCBI-GI:21221908] [NCBI-GenelD:1098921] [UniProt:Q9RKFF3]
<i>sco2207</i>	35	0.00171	-2.48	SC10B7.02; hypothetical secreted protein; [GeneDB:SCO2207] [NCBI-GI:21220679] [NCBI-GenelD:1097640] [UniProt:Q9X955]
<i>sco6162</i>	36	0.00250	-2.50	SC1A9.26c; two-component system response regulator; [GeneDB:SCO6162] [NCBI-GI:21224488] [NCBI-GenelD:1101603] [UniProt:Q9ZBS6]
<i>sco5311</i>	46	0.00261	-2.35	SC6G9.22; secreted protein; [GeneDB:SCO5311] [NCBI-GI:21223674] [NCBI-GenelD:1100751] [UniProt:Q9XAG0]
<i>sco3478</i>	45	0.00267	-2.53	SCE65.14c; dehydrogenase; [GeneDB:SCO3478] [NCBI-GI:21221902] [NCBI-GenelD:1098915] [UniProt:Q9RKFF9]
<i>sco3477</i>	48	0.00271	-2.52	SCE65.13c; dehydrogenase; [GeneDB:SCO3477] [NCBI-GI:21221901] [NCBI-GenelD:1098914] [UniProt:Q9RKG0]
<i>sco6424</i>	44	0.00273	-2.44	SC1A6.13c; two-component system sensor protein; [GeneDB:SCO6424] [NCBI-GI:21224731] [NCBI-GenelD:1101863] [UniProt:O69818]
<i>sco5254</i>	47	0.00277	-2.34	2SC7G11.16c. sodN; superoxide dismutase [EC:1.15.1.1]; K00518 superoxide dismutase; [GeneDB:SCO5254] [NCBI-GI:21223621] [NCBI-GenelD:1100695] [UniProt:P80735]
<i>sco0257</i>	43	0.00279	-2.32	SCF20.03; hypothetical protein; K07045; [GeneDB:SCO0257] [NCBI-GI:21218809] [NCBI-GenelD:1095681] [UniProt:Q9S2E3]
<i>sco2495</i>	50	0.00280	-2.34	SC7A8.34. SCC82.01; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2495] [NCBI-GI:32141171] [NCBI-GenelD:1097929] [UniProt:Q8CJZ4]
<i>sco0644</i>	39	0.00282	-2.59	SCF91.04c.; membrane protein; [GeneDB:SCO0644] [NCBI-GI:21219174] [NCBI-GenelD:1096067] [UniProt:Q9RJCO]



sco0955	42	0.00286	-2.27	SCM11.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0955] [NCBI-GI:21219473] [NCBI-GeneID:1096378] [UniProt:Q9RIV1]
sco3476	49	0.00286	-2.50	SCE65.12c; putative short-chain dehydrogenase [EC:1.1.1.125]; K00065 2-deoxy-D-gluconate 3-dehydrogenase; [GeneDB:SCO3476] [NCBI-GI:21221900] [NCBI-GeneID:1098913] [UniProt:Q9RKG1]
sco3480	38	0.00289	-2.55	SCE65.16c; putative racemase [EC:5.1.2.2]; K01781 mandelate racemase; [GeneDB:SCO3480] [NCBI-GI:21221904] [NCBI-GeneID:1098917] [UniProt:Q9RKF7]
sco3482	41	0.00293	-2.56	SCE65.18c; putative sugar-permease; K02026 multiple sugar transport system permease protein; [GeneDB:SCO3482] [NCBI-GI:21221906] [NCBI-GeneID:1098919] [UniProt:Q9RKF5]
sco0752	37	0.00297	-2.51	salO. SCF81.11c; protease precursor; [GeneDB:SCO0752] [NCBI-GI:21219276] [NCBI-GeneID:1096175] [UniProt:Q9RJE0]
sco2999	40	0.00300	-2.22	SCE33.01c. SCE99.06c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2999] [NCBI-GI:32141188] [NCBI-GeneID:1098432] [UniProt:Q8CJY0]
sco6647	53	0.00321	-2.22	SC4G2.21c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO6647] [NCBI-GI:21224944] [NCBI-GeneID:1102086] [UniProt:O86693]
sco3479	52	0.00327	-2.46	SCE65.15c; putative beta-galactosidase [EC:3.2.1.23]; K01190 beta-galactosidase; [GeneDB:SCO3479] [NCBI-GI:21221903] [NCBI-GeneID:1098916] [UniProt:Q9RKF8]
sco1412	55	0.00327	-2.24	SC6D7.27c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1412] [NCBI-GI:21219915] [NCBI-GeneID:1096838] [UniProt:Q9RKX1]
sco5071	54	0.00333	-2.44	SCBAC20F6.14c; hydroxylacyl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO5071] [NCBI-GI:21223443] [NCBI-GeneID:1100512] [UniProt:Q53925]
sco3481	51	0.00333	-2.43	SCE65.17c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3481] [NCBI-GI:21221905] [NCBI-GeneID:1098918] [UniProt:Q9RKF6]
sco0585	60	0.00350	-2.07	cvnD11. SCF55.09c; ATP/GTP binding protein; [GeneDB:SCO0585] [NCBI-GI:21219118] [NCBI-GeneID:1096008] [UniProt:Q9RJQ5]
sco3362	57	0.00351	-2.11	SCE94.13; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3362] [NCBI-GI:21221791] [NCBI-GeneID:1098799] [UniProt:Q9X8L9]
sco0396	59	0.00356	-2.16	SCF62.22; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0396] [NCBI-GI:21218939] [NCBI-GeneID:1095819] [UniProt:Q9RJJ2]
sco2976	56	0.00357	-2.16	SCE50.04c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2976] [NCBI-GI:21221420] [NCBI-GeneID:1098409] [UniProt:Q9L059]
sco4574	58	0.00362	-2.21	nuoM. SCD16A.09c; NADH dehydrogenase I chain M [EC:1.6.5.3]; K00342 NADH dehydrogenase I chain M; [GeneDB:SCO4574] [NCBI-GI:21222957] [NCBI-GeneID:1100014] [UniProt:Q9XAR6]
sco2726	62	0.00387	-2.06	msdA. SCC46.11c; methylmalonic acid semialdehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.27]; K00140 methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase; [GeneDB:SCO2726]

				[NCBI-GI:21221180] [NCBI-GeneID:1098160] [UniProt:Q9L1J1]
sco5399	61	0.00393	-2.02	SC8F4.03; probable acetoacetyl-coA thiolase [EC:2.3.1.9]; K00626 acetyl-CoA C-acetyltransferase; [GeneDB:SCO5399] [NCBI-GI:21223759] [NCBI-GeneID:1100839] [UniProt:Q9L2C1]
sco5679	63	0.00397	-1.98	SC5H4.03; putative aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.3]; K00128 aldehyde dehydrogenase (NAD+); [GeneDB:SCO5679] [NCBI-GI:21224028] [NCBI-GeneID:1101118] [UniProt:Q9KYT6]
sco3051	64	0.00406	-2.20	fadE. SCBAC19G2.06c; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]; K00257; [GeneDB:SCO3051] [NCBI-GI:21221493] [NCBI-GeneID:1098484] [UniProt:Q7AKM9]
sco1563	65	0.00462	-2.00	SCL11.19c; acetyltransferase; [GeneDB:SCO1563] [NCBI-GI:21220062] [NCBI-GeneID:1096994] [UniProt:Q9L1B9]
sco0315	66	0.00485	-1.83	SC5G9.24c; decarboxylase; [GeneDB:SCO0315] [NCBI-GI:21218863] [NCBI-GeneID:1095739] [UniProt:Q9RL03]
sco3475	67	0.00507	-2.24	SCE65.11c; putative galactonate dehydratase protein [EC:4.2.1.6]; K01684 galactonate dehydratase; [GeneDB:SCO3475] [NCBI-GI:21221899] [NCBI-GeneID:1098912] [UniProt:Q9RKG2]
sco2218	68	0.00559	-2.15	SC10B7.13c; lipoprotein; [GeneDB:SCO2218] [NCBI-GI:21220690] [NCBI-GeneID:1097651] [UniProt:Q9KZ19]
sco0395	69	0.00580	-1.99	SCF62.21; epimerase/dehydratase; [GeneDB:SCO0395] [NCBI-GI:21218938] [NCBI-GeneID:1095818] [UniProt:Q9RJJ3]
sco6653	73	0.00712	-2.09	SC5A7.03; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6653] [NCBI-GI:21224949] [NCBI-GeneID:1102092] [UniProt:O88009]
sco5089	70	0.00714	-2.06	ActIORF3. SCBAC28G1.15; Actinorhodin polyketide synthase acyl carrier protein; K05553 3-oxoacyl-ACP synthase acyl carrier protein; [GeneDB:SCO5089] [NCBI-GI:21223460] [NCBI-GeneID:1100530] [UniProt:Q02054]
sco0268	72	0.00722	-1.95	SCF1.10; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0268] [NCBI-GI:21218819] [NCBI-GeneID:1095692] [UniProt:Q9RK94]
sco3473	71	0.00732	-2.23	SCE65.09c; putative aldolase [EC:4.1.2.14 4.1.3.16]; K01625 2-dehydro-3-deoxyphosphogluconate aldolase; K01650 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase; [GeneDB:SCO3473] [NCBI-GI:21221897] [NCBI-GeneID:1098910] [UniProt:Q9RKG4]
sco6472	74	0.00743	-1.82	SC9C7.08c; coenzyme B12-dependent mutase [EC:5.4.99.2]; K01848 methylmalonyl-CoA mutase. N-terminal domain; K01849 methylmalonyl-CoA mutase. C-terminal domain; [GeneDB:SCO6472] [NCBI-GI:21224776] [NCBI-GeneID:1101911] [UniProt:Q9ZBK2]
sco1356	75	0.00760	-2.14	2SCG61.38; iron sulphur protein (secreted protein); [GeneDB:SCO1356] [NCBI-GI:21219862] [NCBI-GeneID:1096779] [UniProt:Q9K3X8]
sco6163	76	0.00789	-2.09	SC1A9.27c; sensor kinase; [GeneDB:SCO6163] [NCBI-GI:21224489] [NCBI-GeneID:1101604] [UniProt:Q9ZBS5]
sco2529	78	0.00859	-1.82	SCC117.02; metalloprotease [EC:3.4.24.-]; K01417; [GeneDB:SCO2529] [NCBI-GI:21220989] [NCBI-GeneID:1097963] [UniProt:Q9L2L8]

<i>sco4572</i>	77	0.00870	-2.04	nuoK. SCD16A.11c; NADH dehydrogenase I chain K [EC:1.6.5.3]; K00340 NADH dehydrogenase I chain K; [GeneDB:SCO4572] [NCBI-GI:21222955] [NCBI-GenelD:1100012] [UniProt:Q9XAR4]
<i>sco0394</i>	79	0.00886	-1.86	SCF62.20; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0394] [NCBI-GI:21218937] [NCBI-GenelD:1095817] [UniProt:Q9RJJ4]
<i>sco5658</i>	81	0.00901	-1.84	SC6A9.09c; polyamine-binding lipoprotein; [GeneDB:SCO5658] [NCBI-GI:21224009] [NCBI-GenelD:1101097] [UniProt:O86741]
<i>sco5074</i>	82	0.00902	-1.88	SCBAC20F6.17; dehydratase; [GeneDB:SCO5074] [NCBI-GI:21223446] [NCBI-GenelD:1100515] [UniProt:Q9ADD7]
<i>sco0584</i>	80	0.00913	-1.85	SCF55.08c; cytochrome P450; [GeneDB:SCO0584] [NCBI-GI:21219117] [NCBI-GenelD:1096007] [UniProt:Q9RJQ6]
<i>sco3474</i>	92	0.00913	-2.07	SCE65.10c; sugar kinase; [GeneDB:SCO3474] [NCBI-GI:21221898] [NCBI-GenelD:1098911] [UniProt:Q9RKG3]
<i>sco1627</i>	85	0.00918	-1.91	cvnD9. SCI41.10c; ATP-GTP binding protein; [GeneDB:SCO1627] [NCBI-GI:21220123] [NCBI-GenelD:1097058] [UniProt:Q9RJ74]
<i>sco1411</i>	91	0.00923	-1.96	SC6D7.28c; transmembrane transport protein; [GeneDB:SCO1411] [NCBI-GI:21219914] [NCBI-GenelD:1096837] [UniProt:Q9RKX0]
<i>sco2530</i>	83	0.00928	-1.80	SCC117.03; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2530] [NCBI-GI:21220990] [NCBI-GenelD:1097964] [UniProt:Q9L2L7]
<i>sco0393</i>	84	0.00929	-1.83	SCF62.19; putative transferase [EC:2.7.7.33]; K00978 glucose-1-phosphate cytidyltransferase; [GeneDB:SCO0393] [NCBI-GI:21218936] [NCBI-GenelD:1095816] [UniProt:Q9RJJ5]
<i>sco5897</i>	87	0.00931	-1.97	RedG. SC10A5.02; oxidase; [GeneDB:SCO5897] [NCBI-GI:21224238] [NCBI-GenelD:1101339] [UniProt:O54095]
<i>sco2408</i>	88	0.00932	-1.91	SC4A7.36; aminotransferase; [GeneDB:SCO2408] [NCBI-GI:21220875] [NCBI-GenelD:1097842] [UniProt:Q9RDM9]
<i>sco3289</i>	89	0.00933	-2.02	SCE15.06; large membrane protein; [GeneDB:SCO3289] [NCBI-GI:21221721] [NCBI-GenelD:1098723] [UniProt:Q9X881]
<i>sco4571</i>	90	0.00933	-1.98	nuoJ. SCD16A.12c; NADH dehydrogenase I chain J [EC:1.6.5.3]; K00339 NADH dehydrogenase I chain J; [GeneDB:SCO4571] [NCBI-GI:21222954] [NCBI-GenelD:1100011] [UniProt:Q9XAR3]
<i>sco7190</i>	86	0.00942	-1.81	SC8A11.18; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7190] [NCBI-GI:21225469] [NCBI-GenelD:1102628] [UniProt:Q9FBZ2]
<i>sco0586</i>	93	0.00989	-1.79	cvnC11. SCF55.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0586] [NCBI-GI:21219119] [NCBI-GenelD:1096009] [UniProt:Q9RJQ4]
<i>sco2788</i>	95	0.00989	-1.81	SCC105.19; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2788] [NCBI-GI:21221239] [NCBI-GenelD:1098222] [UniProt:Q9L066]
<i>sco4570</i>	94	0.01000	-2.00	nuoI. SCD16A.13c; NADH dehydrogenase I chain I [EC:1.6.5.3]; K00338 NADH dehydrogenase I chain I; [GeneDB:SCO4570] [NCBI-GI:21222953] [NCBI-GenelD:1100010] [UniProt:Q9XAR2]

<i>sco1575</i>	96	0.01010	-1.80	SCL24.11; putative thiamine biosynthesis lipoprotein precursor; K03734 thiamine biosynthesis lipoprotein; [GeneDB:SCO1575] [NCBI-GI:21220073] [NCBI-GenelD:1097006] [UniProt:Q9L1A6]
<i>sco1160</i>	98	0.01163	-1.80	cvnA3. SCG8A.14c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1160] [NCBI-GI:21219673] [NCBI-GenelD:1096583] [UniProt:Q9KZ15]
<i>sco0237</i>	97	0.01175	-1.87	SCJ9A.16; oxidoReductase; [GeneDB:SCO0237] [NCBI-GI:21218790] [NCBI-GenelD:1095661] [UniProt:Q9S1Q4]
<i>sco0732</i>	99	0.01202	-1.78	3SC5B7.10; secreted protease; [GeneDB:SCO0732] [NCBI-GI:21219257] [NCBI-GenelD:1096155] [UniProt:Q9EWT9]
<i>sco2789</i>	100	0.01250	-1.85	glmS2. SCC105.20; glucosamine-fructose-6-phosphate aminotransferase [EC:2.6.1.16]; K00820 glucosamine--fructose-6-phosphate aminotransferase (isomerizing); [GeneDB:SCO2789] [NCBI-GI:21221240] [NCBI-GenelD:1098223] [UniProt:Q9L065]
<i>sco4565</i>	101	0.01257	-1.89	nuoD. SCD16A.18c; NADH dehydrogenase I chain D [EC:1.6.5.3]; K00333 NADH dehydrogenase I chain D; [GeneDB:SCO4565] [NCBI-GI:21222948] [NCBI-GenelD:1100005] [UniProt:Q9XAQ7]
<i>sco4800</i>	104	0.01317	-1.73	icmB. SCD63A.11; isobutyryl CoA mutase. small subunit [EC:5.4.99.2]; K01849 methylmalonyl-CoA mutase. C-terminal domain; [GeneDB:SCO4800] [NCBI-GI:21223178] [NCBI-GenelD:1100241] [UniProt:Q9KY64]
<i>sco0392</i>	103	0.01320	-1.73	SCF62.18; methyltransferase; [GeneDB:SCO0392] [NCBI-GI:21218935] [NCBI-GenelD:1095815] [UniProt:Q9RJJ6]
<i>sco3933</i>	102	0.01333	-1.78	SCQ11.16; regulatory protein; [GeneDB:SCO3933] [NCBI-GI:21222339] [NCBI-GenelD:1099369] [UniProt:Q9X9T5]
<i>sco0398</i>	105	0.01343	-1.77	SCF62.24; glycosyl transferase; [GeneDB:SCO0398] [NCBI-GI:21218941] [NCBI-GenelD:1095821] [UniProt:Q9RJJ0]
<i>sco7612</i>	106	0.01387	-1.75	SC2H2.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7612] [NCBI-GI:21225874] [NCBI-GenelD:1103050] [UniProt:Q9F3E5]
<i>sco1823</i>	107	0.01589	-1.63	SCI8.08c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO1823] [NCBI-GI:21220312] [NCBI-GenelD:1097257] [UniProt:Q9RJ45]
<i>sco4189</i>	117	0.01615	-1.87	2SCD46.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4189] [NCBI-GI:21222585] [NCBI-GenelD:1099629] [UniProt:Q7AKJ8]
<i>sco6797</i>	115	0.01626	-1.74	cvnD7. SC1A2.06; ATP/GTP binding protein; [GeneDB:SCO6797] [NCBI-GI:21225090] [NCBI-GenelD:1102236] [UniProt:Q9L235]
<i>sco5079</i>	113	0.01628	-1.62	ActVA4. SCBAC28G1.05; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5079] [NCBI-GI:21223450] [NCBI-GenelD:1100520] [UniProt:Q53906]
<i>sco4677</i>	116	0.01629	-1.66	SCD31.02c; regulatory protein; [GeneDB:SCO4677] [NCBI-GI:21223057] [NCBI-GenelD:1100118] [UniProt:Q9L0G5]
<i>sco2805</i>	114	0.01632	-1.67	2SCC13.13; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2805] [NCBI-GI:21221256] [NCBI-GenelD:1098239] [UniProt:Q9F3H6]
<i>sco4569</i>	112	0.01643	-1.82	nuoH. SCD16A.14c; NADH dehydrogenase I chain H [EC:1.6.5.3]; K00337 NADH dehydrogenase I chain H;

				[GeneDB:SCO4569] [NCBI-GI:21222952] [NCBI-GenelD:1100009] [UniProt:Q9XAR1]
<i>sco5400</i>	118	0.01653	-1.67	SC8F4.04; putative transport system kinase [EC:2.7.-.-]; K07588 LAO/AO transport system kinase; [GeneDB:SCO5400] [NCBI-GI:21223760] [NCBI-GenelD:1100840] [UniProt:Q9L2C0]
<i>sco4187</i>	111	0.01658	-1.62	2SCD46.01c. SCD66.24c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4187] [NCBI-GI:32141229] [NCBI-GenelD:1099627] [UniProt:Q8CJU4]
<i>sco4567</i>	110	0.01673	-1.81	nuoF. SCD16A.16c; NADH dehydrogenase I chain F [EC:1.6.5.3]; K00335 NADH dehydrogenase I chain F; [GeneDB:SCO4567] [NCBI-GI:21222950] [NCBI-GenelD:1100007]
<i>sco1629</i>	108	0.01676	-1.78	cvnB9. SCI41.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1629] [NCBI-GI:21220125] [NCBI-GenelD:1097060] [UniProt:Q9RJ72]
<i>sco5447</i>	109	0.01688	-1.64	SC3D11.04c; neutral zinc metalloprotease; [GeneDB:SCO5447] [NCBI-GI:21223805] [NCBI-GenelD:1100887] [UniProt:Q9L1F8]
<i>sco0572</i>	119	0.01706	-1.81	SC5G5.04c; putative cytosine permease; K03457 nucleobase:cation symporter-1. NCS1 family; [GeneDB:SCO0572] [NCBI-GI:21219106] [NCBI-GenelD:1095995] [UniProt:Q93RZ8]
<i>sco1428</i>	121	0.01711	-1.73	acd; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]; K00257; [GeneDB:SCO1428] [NCBI-GI:21219931] [NCBI-GenelD:1096854] [UniProt:Q9RKY7]
<i>sco0399</i>	120	0.01717	-1.72	SCF62.25; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0399] [NCBI-GI:21218942] [NCBI-GenelD:1095822] [UniProt:Q9RJI9]
<i>sco5028</i>	122	0.01820	-1.65	SCK7.01; putative ATP-binding protein; K07175 PhoH-like ATPase; [GeneDB:SCO5028] [NCBI-GI:21223401] [NCBI-GenelD:1100469] [UniProt:Q9FBP8]
<i>sco5086</i>	123	0.01837	-1.62	ActIII. SCBAC28G1.12c; ketoacyl Reductase [EC:1.3.1.-]; K00224; [GeneDB:SCO5086] [NCBI-GI:21223457] [NCBI-GenelD:1100527] [UniProt:P16544]
<i>sco4793</i>	124	0.01863	-1.67	SCD63A.04c; NPL/P60 family secreted protein; [GeneDB:SCO4793] [NCBI-GI:21223171] [NCBI-GenelD:1100234] [UniProt:Q9KY71]
<i>sco1630</i>	127	0.01874	-1.78	cvnA9. SCI41.13c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO1630] [NCBI-GI:21220126] [NCBI-GenelD:1097061] [UniProt:Q9RJ71]
<i>sco3472</i>	128	0.01875	-1.82	SCE65.08c; transposase remnant; [GeneDB:SCO3472] [NCBI-GI:21221896] [NCBI-GenelD:1098909] [UniProt:Q9RKG5]
<i>sco4566</i>	125	0.01888	-1.77	nuoE. SCD16A.17c; NADH dehydrogenase I chain E [EC:1.6.5.3]; K00334 NADH dehydrogenase I chain E; [GeneDB:SCO4566] [NCBI-GI:21222949] [NCBI-GenelD:1100006] [UniProt:Q9XAQ8]
<i>sco7573</i>	126	0.01889	-1.86	SC5F1.27c; anti-sigma factor antagonist; [GeneDB:SCO7573] [NCBI-GI:21225837] [NCBI-GenelD:1103011] [UniProt:Q9F3A2]
<i>sco0400</i>	129	0.01907	-1.68	SCF62.26; putative epimerase [EC:5.1.3.13]; K01790 dTDP-4-dehydrorhamnose 3.5-epimerase; [GeneDB:SCO0400] [NCBI-GI:21218943] [NCBI-GenelD:1095823] [UniProt:Q9RJ18]

<i>sco4930</i>	130	0.02008	-1.63	SCK13.22; putative enoyl-CoA hydratase [EC:4.2.1.17]; K01692 enoyl-CoA hydratase; [GeneDB:SCO4930] [NCBI-GI:21223304] [NCBI-GeneID:1100371] [UniProt:Q9EWW0]
<i>sco3982</i>	131	0.02145	-2.19	SCBAC25E3.19; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3982] [NCBI-GI:21222386] [NCBI-GeneID:1099418] [UniProt:Q93J25]
<i>sco7197</i>	132	0.02182	-1.61	SC8A11.25c; amino acid transport integral membrane protein; [GeneDB:SCO7197] [NCBI-GI:21225476] [NCBI-GeneID:1102635] [UniProt:Q9FBY5]
<i>sco6992</i>	133	0.02353	-1.60	absR1. SC8F11.18c; regulatory protein; [GeneDB:SCO6992] [NCBI-GI:21225278] [NCBI-GeneID:1102430] [UniProt:Q9RGD7]
<i>sco2573</i>	134	0.02366	-1.60	SCC123.11; oxidoReductase; [GeneDB:SCO2573] [NCBI-GI:21221032] [NCBI-GeneID:1098007] [UniProt:Q9RDL3]
<i>sco1157</i>	137	0.02401	-1.59	cvnD3. SCG8A.11c; ATP/GTP binding protein; [GeneDB:SCO1157] [NCBI-GI:21219670] [NCBI-GeneID:1096580] [UniProt:Q9KZ18]
<i>sco6629</i>	136	0.02419	-1.52	SC4G2.03; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6629] [NCBI-GI:21224926] [NCBI-GeneID:1102068] [UniProt:O86676]
<i>sco0383</i>	135	0.02422	-1.51	SCF62.09; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0383] [NCBI-GI:21218926] [NCBI-GeneID:1095806] [UniProt:Q9RJK5]
<i>sco6749</i>	138	0.02435	-1.58	SC5F2A.32; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6749] [NCBI-GI:21225043] [NCBI-GeneID:1102188] [UniProt:Q9X7Q5]
<i>sco0588</i>	139	0.02446	-1.57	cvnA11. SCF55.12c; sensor kinase; [GeneDB:SCO0588] [NCBI-GI:21219121] [NCBI-GeneID:1096011] [UniProt:Q9RJQ2]
<i>sco1159</i>	142	0.02507	-1.59	cvnB3. SCG8A.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1159] [NCBI-GI:21219672] [NCBI-GeneID:1096582] [UniProt:Q9KZ16]
<i>sco2727</i>	140	0.02507	-1.59	SCC46.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2727] [NCBI-GI:21221181] [NCBI-GeneID:1098161] [UniProt:Q9L1J0]
<i>sco3290</i>	141	0.02511	-1.77	SCE15.07; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3290] [NCBI-GI:21221722] [NCBI-GeneID:1098724] [UniProt:Q9X882]
<i>sco3288</i>	144	0.02521	-1.70	SCE15.05; integral membrane protein; [GeneDB:SCO3288] [NCBI-GI:21221720] [NCBI-GeneID:1098722] [UniProt:Q9X880]
<i>sco0256</i>	143	0.02538	-1.52	SCF20.02; short chain oxidoReductase; [GeneDB:SCO0256] [NCBI-GI:21218808] [NCBI-GeneID:1095680] [UniProt:Q9S2E4]
<i>sco1158</i>	147	0.02578	-1.60	cvnC3. SCG8A.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1158] [NCBI-GI:21219671] [NCBI-GeneID:1096581] [UniProt:Q9KZ17]
<i>sco4564</i>	145	0.02586	-1.60	nuoC. SCD16A.19c; NADH dehydrogenase I chain C [EC:1.6.5.3]; K00332 NADH dehydrogenase I chain C; [GeneDB:SCO4564] [NCBI-GI:21222947] [NCBI-GeneID:1100004] [UniProt:Q9XAQ6]
<i>sco5993</i>	146	0.02589	-1.48	StBAC16H6.28; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5993] [NCBI-GI:21224330] [NCBI-GeneID:1101435] [UniProt:Q93JD4]

<i>sco0389</i>	148	0.02615	-1.46	SCF62.15; lipoprotein; [GeneDB:SCO0389] [NCBI-GI:21218932] [NCBI-GeneID:1095812] [UniProt:Q9RJJ9]
<i>sco1161</i>	150	0.02627	-1.58	SCG8A.15c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO1161] [NCBI-GI:21219674] [NCBI-GeneID:1096584] [UniProt:Q9KZ14]
<i>sco5175</i>	151	0.02629	-1.51	SCP8.38; integral membrane protein; [GeneDB:SCO5175] [NCBI-GI:21223544] [NCBI-GeneID:1100616] [UniProt:Q9FBI4]
<i>sco3486</i>	149	0.02638	-1.51	SCE65.22; putative aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.22]; K00138 lActaldehyde dehydrogenase; [GeneDB:SCO3486] [NCBI-GI:21221910] [NCBI-GeneID:1098923] [UniProt:Q9RKF1]
<i>sco5880</i>	152	0.02638	-1.50	RedY; RedY protein; [GeneDB:SCO5880] [NCBI-GI:21224223] [NCBI-GeneID:1101322] [UniProt:O54144]
<i>sco0108</i>	153	0.02745	-1.23	SCJ11.37; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0108] [NCBI-GI:21218672] [NCBI-GeneID:1095533] [UniProt:Q9RI69]
<i>sco6423</i>	154	0.02799	-1.48	SC1A6.12c; putative lipoate-protein ligase [EC:2.7.7.63]; K03800 lipoate-protein ligase A; [GeneDB:SCO6423] [NCBI-GI:21224730] [NCBI-GeneID:1101862] [UniProt:O69817]
<i>sco5176</i>	155	0.02858	-1.50	SCP8.39; Reductase; [GeneDB:SCO5176] [NCBI-GI:21223545] [NCBI-GeneID:1100617] [UniProt:Q9FBI3]
<i>sco6414</i>	156	0.02904	-1.47	SC1A6.03; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6414] [NCBI-GI:21224721] [NCBI-GeneID:1101853] [UniProt:O69808]
<i>sco1626</i>	157	0.02911	-1.63	SCI41.09c; cytochrome P450; [GeneDB:SCO1626] [NCBI-GI:21220122] [NCBI-GeneID:1097057] [UniProt:Q9RJ75]
<i>sco2777</i>	158	0.02918	-1.48	accC. SCC105.08; acetyl/propionyl CoA carboxylase alpha subunit [EC:6.3.4.14]; K01946 biotin carboxylase; [GeneDB:SCO2777] [NCBI-GI:21221228] [NCBI-GeneID:1098211] [UniProt:Q9L076]
<i>sco6795</i>	160	0.02931	-1.56	cvnB7. SC1A2.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6795] [NCBI-GI:21225088] [NCBI-GeneID:1102234] [UniProt:Q9L237]
<i>sco5177</i>	159	0.02937	-1.48	2SC3B6.01; hypothetical protein 2SC3B601; [GeneDB:SCO5177] [NCBI-GI:21223546] [NCBI-GeneID:1100618] [UniProt:Q9FCL1]
<i>sco5174</i>	162	0.02963	-1.48	SCP8.37; transferase; [GeneDB:SCO5174] [NCBI-GI:21223543] [NCBI-GeneID:1100615] [UniProt:Q9FBI5]
<i>sco2953</i>	161	0.02975	-1.48	SCE59.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2953] [NCBI-GI:21221398] [NCBI-GeneID:1098386] [UniProt:Q9L1U2]
<i>sco3986</i>	163	0.03055	-2.17	SCBAC25E3.23; GntR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3986] [NCBI-GI:21222390] [NCBI-GeneID:1099422] [UniProt:Q93J21]
<i>sco7726</i>	165	0.03079	-1.46	SC8D11.17; hydrolase; [GeneDB:SCO7726] [NCBI-GI:21225985] [NCBI-GeneID:1103164] [UniProt:Q9AK02]
<i>sco5895</i>	166	0.03084	-1.50	RedI. SC3F7.15; methyltransferase; [GeneDB:SCO5895] [NCBI-GI:21224237] [NCBI-GeneID:1101337] [UniProt:O54158]
<i>sco0382</i>	164	0.03091	-1.39	SCF62.08; UDP-glucose/GDP-mannose family dehydrogenase (putative secreted protein) [EC:1.1.1.132]; K00066 GDPmannose 6-dehydrogenase;

				[GeneDB:SCO0382] [NCBI-GI:21218925] [NCBI-GenelD:1095805] [UniProt:Q9RJK6]
sco5893	168	0.03185	-1.53	RedK. SC3F7.13; oxidoReductase; [GeneDB:SCO5893] [NCBI-GI:21224235] [NCBI-GenelD:1101335] [UniProt:O54156]
sco4563	167	0.03192	-1.48	nuoB. SCD16A.20c; NADH dehydrogenase I chain B [EC:1.6.5.3]; K00331 NADH dehydrogenase I chain B; [GeneDB:SCO4563] [NCBI-GI:21222946] [NCBI-GenelD:1100003] [UniProt:Q9XAQ5]
sco3471	169	0.03207	-1.24	dagA. SCE65.07c; extracellular agarase precursor [EC:3.2.1.81]; K01219 agarase; [GeneDB:SCO3471] [NCBI-GI:21221895] [NCBI-GenelD:1098908] [UniProt:P07883]
sco4575	170	0.03212	-1.47	nuoN. SCD16A.08c; NADH dehydrogenase I chain N [EC:1.6.5.3]; K00343 NADH dehydrogenase I chain N; [GeneDB:SCO4575] [NCBI-GI:21222958] [NCBI-GenelD:1100015] [UniProt:Q9XAR7]
sco1628	172	0.03227	-1.55	cvnC9. SCI41.11c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1628] [NCBI-GI:21220124] [NCBI-GenelD:1097059] [UniProt:Q9RJ73]
sco4089	171	0.03228	-1.39	SCD25.25c. vdH; valine dehydrogenase [EC:1.4.1.-]; K00271; [GeneDB:SCO4089] [NCBI-GI:21222491] [NCBI-GenelD:1099526] [UniProt:Q06539]
sco5112	173	0.03474	-1.57	bldKA. SCBAC31E11.08; BldKA. ABC transport system integral membrane protein; [GeneDB:SCO5112] [NCBI-GI:21223483] [NCBI-GenelD:1100553] [UniProt:Q93IU3]
sco7095	174	0.03500	-1.46	SC3A4.21c; hydrolase; [GeneDB:SCO7095] [NCBI-GI:21225377] [NCBI-GenelD:1102533] [UniProt:Q9KZ37]
sco1541	175	0.03680	-1.45	SCL2.31; regulator; [GeneDB:SCO1541] [NCBI-GI:21220041] [NCBI-GenelD:1096967] [UniProt:Q9L268]
sco4568	176	0.03682	-1.46	nuoG. SCD16A.15c; NADH dehydrogenase I chain G [EC:1.6.5.3]; K00336 NADH dehydrogenase I chain G; [GeneDB:SCO4568] [NCBI-GI:21222951] [NCBI-GenelD:1100008]
sco1700	177	0.03712	-1.45	SCI30A.21c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1700] [NCBI-GI:21220195] [NCBI-GenelD:1097131] [UniProt:Q9S252]
sco1860	178	0.03713	-1.57	SCI39.07c; secreted protein; [GeneDB:SCO1860] [NCBI-GI:21220348] [NCBI-GenelD:1097294] [UniProt:Q93RW6]
sco4573	179	0.03782	-1.46	nuoL. SCD16A.10c; NADH dehydrogenase I chain L [EC:1.6.5.3]; K00341 NADH dehydrogenase I chain L; [GeneDB:SCO4573] [NCBI-GI:21222956] [NCBI-GenelD:1100013]
sco3328	181	0.03801	-1.34	SCE68.26c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3328] [NCBI-GI:21221759] [NCBI-GenelD:1098762] [UniProt:Q9WX06]
sco5644	182	0.03808	-1.38	SC6A9.23c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5644] [NCBI-GI:21223995] [NCBI-GenelD:1101083] [UniProt:O86755]
sco5081	180	0.03811	-1.35	ActVA6. SCBAC28G1.07; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5081] [NCBI-GI:21223452] [NCBI-GenelD:1100522] [UniProt:Q53908]
sco3987	184	0.03864	-1.97	SCBAC25E3.24; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3987] [NCBI-GI:21222391] [NCBI-GenelD:1099423] [UniProt:Q93J20]



<i>sco2977</i>	183	0.03874	-1.42	SCE50.05; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2977] [NCBI-GI:21221421] [NCBI-GeneID:1098410] [UniProt:Q9L058]
<i>sco0387</i>	185	0.03897	-1.36	SCF62.13; bi-domain oxidoReductase; [GeneDB:SCO0387] [NCBI-GI:21218930] [NCBI-GeneID:1095810] [UniProt:Q9RJK1]
<i>sco6796</i>	186	0.03919	-1.45	cvnC7. SC1A2.05; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6796] [NCBI-GI:21225089] [NCBI-GeneID:1102235] [UniProt:Q9L236]
<i>sco5890</i>	187	0.03973	-1.50	RedN. SC3F7.10; 8-amino-7-oxononanoate synthase; [GeneDB:SCO5890] [NCBI-GI:21224232] [NCBI-GeneID:1101332] [UniProt:O54153]
<i>sco3365</i>	188	0.04064	-1.31	SCE94.16c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3365] [NCBI-GI:21221794] [NCBI-GeneID:1098802] [UniProt:Q9X8M2]
<i>sco3983</i>	189	0.04074	-2.10	SCBAC25E3.20; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3983] [NCBI-GI:21222387] [NCBI-GeneID:1099419] [UniProt:Q93J24]
<i>sco3713</i>	191	0.04099	-1.36	SCH35.11; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3713] [NCBI-GI:21222126] [NCBI-GeneID:1099149] [UniProt:Q9X8Z5]
<i>sco6798</i>	190	0.04100	-1.47	SC1A2.07; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6798] [NCBI-GI:21225091] [NCBI-GeneID:1102237] [UniProt:Q9L234]
<i>sco3527</i>	192	0.04135	-1.23	SCE2.08; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3527] [NCBI-GI:21221948] [NCBI-GeneID:1098963] [UniProt:Q9X8A3]
<i>sco5114</i>	193	0.04197	-1.51	bldKC. SCBAC31E11.10; BldKC. putative ABC transport system integral membrane protein; K02033 peptide/nickel transport system permease protein; [GeneDB:SCO5114] [NCBI-GI:21223485] [NCBI-GeneID:1100555] [UniProt:Q93IU1]
<i>sco1359</i>	194	0.04216	-1.31	2SCG61.41. SC10A9.01; integral membrane protein; [GeneDB:SCO1359] [NCBI-GI:32141140] [NCBI-GeneID:1096782] [UniProt:Q8CK31]
<i>sco0587</i>	195	0.04226	-1.34	cvnB11. SCF55.11c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0587] [NCBI-GI:21219120] [NCBI-GeneID:1096010] [UniProt:Q9RJQ3]
<i>sco4799</i>	196	0.04240	-1.37	SCD63A.10c; secreted lipase; [GeneDB:SCO4799] [NCBI-GI:21223177] [NCBI-GeneID:1100240] [UniProt:Q9KY65]
<i>sco5478</i>	199	0.04256	-1.30	SC2A11.12; oligopeptide transport system integral membrane protein; K02033 peptide/nickel transport system permease protein; [GeneDB:SCO5478] [NCBI-GI:21223835] [NCBI-GeneID:1100918] [UniProt:O86573]
<i>sco5896</i>	198	0.04263	-1.43	RedH. SC10A5.01. SC3F7.16; phosphoenolpyruvate-utilizing enzyme [EC:2.7.9.2]; K01007 pyruvate.water dikinase; [GeneDB:SCO5896] [NCBI-GI:32141277] [NCBI-GeneID:1101338] [UniProt:Q8CJQ2]
<i>sco5466</i>	197	0.04284	-1.28	SC3D11.23c; hydrolase; [GeneDB:SCO5466] [NCBI-GI:21223824] [NCBI-GeneID:1100906] [UniProt:Q9L1D9]
<i>sco1706</i>	200	0.04320	-1.29	SCI30A.27c; putative aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.3]; K00128 aldehyde dehydrogenase (NAD+); [GeneDB:SCO1706] [NCBI-GI:21220201] [NCBI-GeneID:1097137] [UniProt:Q9S246]

<i>sco7226</i>	202	0.04337	-1.26	SC2H12.25; integral membrane protein; [GeneDB:SCO7226] [NCBI-GI:21225503] [NCBI-GenelD:1102664] [UniProt:Q9K459]
<i>sco5080</i>	201	0.04348	-1.29	ActVA5. SCBAC28G1.06; hydrolase; [GeneDB:SCO5080] [NCBI-GI:21223451] [NCBI-GenelD:1100521] [UniProt:Q53907]
<i>sco2209</i>	203	0.04365	-1.33	SC10B7.04; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO2209] [NCBI-GI:21220681] [NCBI-GenelD:1097642] [UniProt:Q9X957]
<i>sco5054</i>	204	0.04422	-1.30	SCK7.27; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5054] [NCBI-GI:21223427] [NCBI-GenelD:1100495] [UniProt:Q9FBM5]
<i>sco5113</i>	205	0.04473	-1.43	bldKB. SCBAC31E11.09; BldKB. putative ABC transport system lipoprotein; K02035 peptide/nickel transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO5113] [NCBI-GI:21223484] [NCBI-GenelD:1100554] [UniProt:Q93IU2]
<i>sco6375</i>	206	0.04481	-1.26	SC4A2.11c; secreted protein; [GeneDB:SCO6375] [NCBI-GI:21224687] [NCBI-GenelD:1101816] [UniProt:O86667]
<i>sco3988</i>	207	0.04483	-1.63	SCBAC25E3.25; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3988] [NCBI-GI:21222392] [NCBI-GenelD:1099424] [UniProt:Q93J19]
<i>sco6941</i>	209	0.04483	-1.39	cvnC8. SC1G8.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6941] [NCBI-GI:21225228] [NCBI-GenelD:1102379] [UniProt:Q9KYK0]
<i>sco3817</i>	208	0.04500	-1.33	bkdA1. SCGD3.18c; putative branched-chain alpha keto acid dehydrogenase E1 alpha subunit [EC:1.2.4.1]; K00161 pyruvate dehydrogenase E1 component. alpha subunit; [GeneDB:SCO3817] [NCBI-GI:21222227] [NCBI-GenelD:1099253] [UniProt:Q9XA60]
<i>sco3323</i>	210	0.04610	-1.37	SCE68.21; putative RNA polymerase sigma factor; K03088 RNA polymerase sigma-70 factor. ECF subfamily; [GeneDB:SCO3323] [NCBI-GI:21221754] [NCBI-GenelD:1098757] [UniProt:Q9WX11]
<i>sco6027</i>	211	0.04725	-1.23	SC1C3.15c; acetyl-coa acetyltransferase (thiolase); [GeneDB:SCO6027] [NCBI-GI:21224359] [NCBI-GenelD:1101468] [UniProt:O69857]
<i>sco3622</i>	212	0.04811	-1.30	SC66T3.33; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3622] [NCBI-GI:21222038] [NCBI-GenelD:1099058] [UniProt:Q9XAI0]
<i>sco6026</i>	213	0.04826	-1.24	SC1C3.14c; fatty acid oxidation complex alpha-subunit; [GeneDB:SCO6026] [NCBI-GI:21224358] [NCBI-GenelD:1101467] [UniProt:O69856]
<i>sco0390</i>	215	0.04865	-1.27	SCF62.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0390] [NCBI-GI:21218933] [NCBI-GenelD:1095813] [UniProt:Q9RJJ8]
<i>sco7472</i>	214	0.04879	-1.27	paaB. SCBAC17A6.05; putative phenylacetic acid degradation protein PaaB; K02610 phenylacetic acid degradation protein; [GeneDB:SCO7472] [NCBI-GI:21225740] [NCBI-GenelD:1102910] [UniProt:Q93JC4]
<i>sco1574</i>	216	0.04926	-1.33	SCL24.10; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1574] [NCBI-GI:21220072] [NCBI-GenelD:1097005] [UniProt:Q9L1A7]
<i>sco4676</i>	222	0.05108	-1.24	SCD31.01c. SCD40A.22c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4676] [NCBI-GI:32141244] [NCBI-GenelD:1100117] [UniProt:Q8CJT0]

<i>sco4458</i>	221	0.05109	-1.26	SCD6.36c. SCD65.01c; lipoprotein; [GeneDB:SCO4458] [NCBI-GI:32141237] [NCBI-GeneID:1099898] [UniProt:Q8CJT7]
<i>sco4789</i>	219	0.05114	-1.32	SCD63.21; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4789] [NCBI-GI:21223168] [NCBI-GeneID:1100230] [UniProt:Q9L0G8]
<i>sco0932</i>	220	0.05118	-1.40	SCM10.20; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0932] [NCBI-GI:21219451] [NCBI-GeneID:1096355] [UniProt:Q9RCX8]
<i>sco7727</i>	218	0.05119	-1.25	SC8D11.18c; MarR-family regulatory protein; [GeneDB:SCO7727] [NCBI-GI:21225986] [NCBI-GeneID:1103165] [UniProt:Q9AK01]
<i>sco1903</i>	217	0.05120	-1.23	SCI7.21; transport associated protein; [GeneDB:SCO1903] [NCBI-GI:21220390] [NCBI-GeneID:1097337] [UniProt:Q9X9W9]
<i>sco5117</i>	224	0.05223	-1.23	SC9E12.02; putative peptide transport system secreted peptide-binding protein; K02035 peptide/nickel transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO5117] [NCBI-GI:21223487] [NCBI-GeneID:1100558] [UniProt:Q9F353]
<i>sco7700</i>	223	0.05224	-1.26	SC1A4.08. SCBAC12C8.01; cyclase; [GeneDB:SCO7700] [NCBI-GI:32141341] [NCBI-GeneID:1103138] [UniProt:Q9F1Y6]
<i>sco4562</i>	225	0.05320	-1.29	nuoA. SCD16A.21c; NADH dehydrogenase I chain A [EC:1.6.5.3]; K00330 NADH dehydrogenase I chain A; [GeneDB:SCO4562] [NCBI-GI:21222945] [NCBI-GeneID:1100002] [UniProt:Q9XAQ4]
<i>sco3800</i>	229	0.05332	-1.21	SCAC2.08. SCGD3.01; putative acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]; K00257; [GeneDB:SCO3800] [NCBI-GI:32141216] [NCBI-GeneID:1099236] [UniProt:Q8CJV6]
<i>sco1705</i>	227	0.05335	-1.22	SCI30A.26c; alcohol dehydrogenase (zinc-binding); [GeneDB:SCO1705] [NCBI-GI:21220200] [NCBI-GeneID:1097136] [UniProt:Q9S247]
<i>sco2826</i>	228	0.05338	-1.30	SCBAC17F8.17; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2826] [NCBI-GI:21221276] [NCBI-GeneID:1098260] [UniProt:Q93J71]
<i>sco7291</i>	230	0.05348	-1.28	SC5F8.01c. SC5H1.01; serine/threonine protein kinase; [GeneDB:SCO7291] [NCBI-GI:32141327] [NCBI-GeneID:1102729] [UniProt:Q8CJK5]
<i>sco0381</i>	226	0.05350	-1.22	SCF62.07; glycosyl transferase; [GeneDB:SCO0381] [NCBI-GI:21218924] [NCBI-GeneID:1095804] [UniProt:Q9RJK7]
<i>sco2980</i>	231	0.05398	-1.27	SCE50.08; putative integral membrane transport protein; K10234 alpha-glucoside transport system permease protein; [GeneDB:SCO2980] [NCBI-GI:21221424] [NCBI-GeneID:1098413] [UniProt:Q9L055]
<i>sco5891</i>	233	0.05494	-1.31	RedM. St3F7.11; peptide synthase; [GeneDB:SCO5891] [NCBI-GI:21224233] [NCBI-GeneID:1101333] [UniProt:O54154]
<i>sco4790</i>	232	0.05504	-1.24	SCD63.22c. SCD63A.01c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4790] [NCBI-GI:32141246] [NCBI-GeneID:1100231] [UniProt:Q8CJS9]
<i>sco3112</i>	235	0.05511	-1.31	SCE41.21c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3112] [NCBI-GI:21221551] [NCBI-GeneID:1098546] [UniProt:Q9F2N8]

sco5965	234	0.05521	-1.53	SC7H1.35; integral membrane protein; [GeneDB:SCO5965] [NCBI-GI:21224303] [NCBI-GenelD:1101407] [UniProt:O54194]
sco0258	236	0.05818	-1.28	SCF20.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0258] [NCBI-GI:21218810] [NCBI-GenelD:1095682] [UniProt:Q9S2E2]
sco5785	237	0.05827	-1.26	SC4H2.06; two-component regulator; [GeneDB:SCO5785] [NCBI-GI:21224130] [NCBI-GenelD:1101227] [UniProt:O69961]
sco2718	240	0.05892	-1.20	SCC46.03c; secreted protein; [GeneDB:SCO2718] [NCBI-GI:21221172] [NCBI-GenelD:1098152] [UniProt:Q9L1J8]
sco1330	239	0.05904	-1.28	2SCG61.12c; fatty acid CoA ligase; [GeneDB:SCO1330] [NCBI-GI:21219836] [NCBI-GenelD:1096753] [UniProt:Q9K403]
sco7837	242	0.05905	-1.31	SC8E7.34c; membrane protein; [GeneDB:SCO7837] [NCBI-GI:21226086] [NCBI-GenelD:1103275] [UniProt:Q9S1Y4]
sco7643	238	0.05908	-1.56	SC10F4.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7643] [NCBI-GI:21225904] [NCBI-GenelD:1103081] [UniProt:Q9F3P4]
sco7786	241	0.05913	-1.23	SC5E9.34c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7786] [NCBI-GI:21226037] [NCBI-GenelD:1103223] [UniProt:Q9EWK7]
sco1699	243	0.05922	-1.27	SCI30A.20c; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO1699] [NCBI-GI:21220194] [NCBI-GenelD:1097130] [UniProt:Q9S253]
sco6417	244	0.06045	-1.29	SC1A6.06; putative integral membrane transporter; K03457 nucleobase:cation symporter-1. NCS1 family; [GeneDB:SCO6417] [NCBI-GI:21224724] [NCBI-GenelD:1101856] [UniProt:O69811]
sco7701	245	0.06147	-1.33	SCBAC12C8.02; methyltransferase; [GeneDB:SCO7701] [NCBI-GI:21225960] [NCBI-GenelD:1103139] [UniProt:Q9F1Y5]
sco5390	248	0.06246	-1.28	2SC6G5.34c; alkanal monooxygenase (luciferase); [GeneDB:SCO5390] [NCBI-GI:21223750] [NCBI-GenelD:1100830] [UniProt:Q9K4C1]
sco5629	249	0.06249	-1.32	SC6A9.38; ATP/GTP-binding protein; [GeneDB:SCO5629] [NCBI-GI:21223984] [NCBI-GenelD:1101070] [UniProt:O86768]
sco5819	247	0.06267	-1.23	sporulation transcription factor. WhiH; [GeneDB:SCO5819] [NCBI-GI:21224163] [NCBI-GenelD:1101261] [UniProt:O50536]
sco5887	246	0.06276	-1.31	RedQ. SC3F7.07c; acyl carrier protein; K02078 acyl carrier protein; [GeneDB:SCO5887] [NCBI-GI:21224229] [NCBI-GenelD:1101329] [UniProt:O54150]
sco3835	252	0.06278	-1.20	SCH69.05; dehydrogenase; [GeneDB:SCO3835] [NCBI-GI:21222244] [NCBI-GenelD:1099271] [UniProt:Q9XA29]
sco1810	250	0.06288	-1.22	SCI28.04c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1810] [NCBI-GI:21220300] [NCBI-GenelD:1097244] [UniProt:Q9S279]
sco4920	251	0.06295	-1.26	SCK13.12; DeoR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO4920] [NCBI-GI:21223294] [NCBI-GenelD:1100361] [UniProt:Q9AD80]
sco0961	253	0.06312	-1.20	glgC. SCM11.16c; glucose-1-phosphate adenylyltransferase [EC:2.7.7.27]; K00975 glucose-1-

				phosphate adenylyltransferase; [GeneDB:SCO0961] [NCBI-GI:21219479] [NCBI-GeneID:1096384] [UniProt:P72394]
sco2979	254	0.06323	-1.24	SCE50.07; putative integral membrane transport protein; K10233 alpha-glucoside transport system permease protein; [GeneDB:SCO2979] [NCBI-GI:21221423] [NCBI-GeneID:1098412] [UniProt:Q9L056]
sco5073	255	0.06329	-1.21	SCBAC20F6.16; putative oxidoReductase [EC:1.6.5.5]; K00344 NADPH2:quinone Reductase; [GeneDB:SCO5073] [NCBI-GI:21223445] [NCBI-GeneID:1100514] [UniProt:Q53927]
sco2113	256	0.06652	-1.36	bfr. SC6E10.07; putative bActerioferritin; K03594 bacterioferritin; [GeneDB:SCO2113] [NCBI-GI:21220591] [NCBI-GeneID:1097547] [UniProt:Q9S2N0]
sco5116	257	0.06681	-1.34	bldKE. SC9E12.01. SCBAC31E11.12; putative peptide transport system ATP-binding subunit; K02032 peptide/nickel transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5116] [NCBI-GI:32141254] [NCBI-GeneID:1100557] [UniProt:Q8CJS2]
sco0682	258	0.06725	-1.25	SCF15.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0682] [NCBI-GI:21219211] [NCBI-GeneID:1096105] [UniProt:Q9RK34]
sco6243	259	0.06776	-1.22	aceB1. SCAH10.08c; malate synthase [EC:2.3.3.9]; K01638 malate synthase; [GeneDB:SCO6243] [NCBI-GI:21224564] [NCBI-GeneID:1101684] [UniProt:Q9RKU9]
sco5350	260	0.06827	-1.23	SCBAC5H2.19; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5350] [NCBI-GI:21223711] [NCBI-GeneID:1100790] [UniProt:Q9ADB8]
sco2572	262	0.06966	-1.22	SCC123.10; integral membrane protein; [GeneDB:SCO2572] [NCBI-GI:21221031] [NCBI-GeneID:1098006] [UniProt:Q9RDL4]
sco1329	261	0.06969	-1.13	2SCG61.11c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1329] [NCBI-GI:21219835] [NCBI-GeneID:1096752] [UniProt:Q9K404]
sco3714	264	0.06970	-1.25	SCH35.10; putative transposase; K07496 putative transposase; [GeneDB:SCO3714] [NCBI-GI:21222127] [NCBI-GeneID:1099150] [UniProt:Q9X8Z6]
sco3268	263	0.06981	-1.97	SCE39.18c; secreted protein; [GeneDB:SCO3268] [NCBI-GI:21221701] [NCBI-GeneID:1098702] [UniProt:Q9X8E1]
sco5115	268	0.07007	-1.32	bldKD. SCBAC31E11.11; BldKD. putative ABC transporter intracellular ATPase subunit; K02031 peptide/nickel transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5115] [NCBI-GI:21223486] [NCBI-GeneID:1100556] [UniProt:Q93IU0]
sco4412	267	0.07019	-1.20	SC6F11.10; regulatory protein; [GeneDB:SCO4412] [NCBI-GI:21222801] [NCBI-GeneID:1099852] [UniProt:Q9F376]
sco3134	266	0.07034	-1.20	SCE66.13c; two-component system response regulator; [GeneDB:SCO3134] [NCBI-GI:21221572] [NCBI-GeneID:1098568] [UniProt:Q9K3T0]
sco0401	265	0.07038	-1.23	SCF62.27; glutamate-1-semialdehyde 2.1-aminomutase; [GeneDB:SCO0401] [NCBI-GI:21218944] [NCBI-GeneID:1095824] [UniProt:Q9RJ17]

sco4894	270	0.07085	-1.13	2SCK8.20c; hypothetical protein 2SCK820c; [GeneDB:SCO4894] [NCBI-GI:21223268] [NCBI-GenelD:1100335] [UniProt:Q9AK32]
sco3656	269	0.07086	-1.20	SCH10.34c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3656] [NCBI-GI:21222071] [NCBI-GenelD:1099092] [UniProt:Q9X8S3]
sco3266	271	0.07111	-1.93	SCE39.16c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3266] [NCBI-GI:21221699] [NCBI-GenelD:1098700] [UniProt:Q9X8D9]
sco5886	272	0.07147	-1.24	RedR. SC3F7.06c; 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase II [EC:2.3.1.179]; K09458 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase II; [GeneDB:SCO5886] [NCBI-GI:21224228] [NCBI-GenelD:1101328] [UniProt:O54149]
sco7130	273	0.07341	-1.22	SC4B10.31; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7130] [NCBI-GI:21225412] [NCBI-GenelD:1102568] [UniProt:Q9FC56]
sco6885	275	0.07462	-1.33	SC7F9.37; putative DNA methylase [EC:2.1.1.72]; K07319 putative adenine-specific DNA-methyltransferase; [GeneDB:SCO6885] [NCBI-GI:21225176] [NCBI-GenelD:1102324] [UniProt:Q9L1N0]
sco6906	274	0.07471	-1.16	SC1B2.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6906] [NCBI-GI:21225196] [NCBI-GenelD:1102345] [UniProt:Q9KYC4]
sco4675	276	0.07743	-1.17	SCD40A.21c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4675] [NCBI-GI:21223056] [NCBI-GenelD:1100116] [UniProt:Q9L0J0]
sco5894	277	0.07791	-1.12	RedJ. SC3F7.14; thioesterase; [GeneDB:SCO5894] [NCBI-GI:21224236] [NCBI-GenelD:1101336] [UniProt:O54157]
sco2823	279	0.07849	-1.11	SCBAC17F8.14c; decarboxylase; [GeneDB:SCO2823] [NCBI-GI:21221273] [NCBI-GenelD:1098257] [UniProt:Q93J74]
sco5884	278	0.07878	-1.20	SC3F7.04c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5884] [NCBI-GI:21224226] [NCBI-GenelD:1101326] [UniProt:O54147]
sco2774	280	0.07911	-1.12	acdH2. SCC105.05c; acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.3]; K00249 acyl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO2774] [NCBI-GI:21221225] [NCBI-GenelD:1098208] [UniProt:Q9L079]
sco5898	283	0.07943	-1.17	RedF. SC10A5.03; probable membrane protein; [GeneDB:SCO5898] [NCBI-GI:21224239] [NCBI-GenelD:1101340] [UniProt:O54096]
sco4581	282	0.07965	-1.25	SCD16A.02c; hypothetical protein; K07024; [GeneDB:SCO4581] [NCBI-GI:21222964] [NCBI-GenelD:1100021] [UniProt:Q9XAS3]
sco0685	281	0.07972	-1.19	SCF15.06c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0685] [NCBI-GI:21219214] [NCBI-GenelD:1096108] [UniProt:Q9RK31]
sco5477	284	0.08039	-1.11	SC2A11.11; putative oligopeptide-binding lipoprotein; K02035 peptide/nickel transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO5477] [NCBI-GI:21223834] [NCBI-GenelD:1100917] [UniProt:O86572]
sco5047	285	0.08105	-1.17	SCK7.20c; fructose-1.6-bisphosphatase II / sedoheptulose-1.7-bisphosphatase [EC:3.1.3.11]; K02446 fructose-1.6-bisphosphatase II; [GeneDB:SCO5047]

				[NCBI-GI:21223420] [NCBI-GeneID:1100488] [UniProt:Q9FBN2]
<i>sco6794</i>	286	0.08213	-1.22	cvnA7. SC1A2.03; membrane protein; [GeneDB:SCO6794] [NCBI-GI:21225087] [NCBI- GeneID:1102233] [UniProt:Q9L238]
<i>sco4053</i>	290	0.08297	-1.20	2SCD60.19; putative transport integral membrane protein; K07156; K07245 putative copper resistance protein D; [GeneDB:SCO4053] [NCBI-GI:21222456] [NCBI- GeneID:1099489] [UniProt:Q9AK64]
<i>sco7337</i>	289	0.08325	-1.12	pepA2. SC4G10.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7337] [NCBI-GI:21225612] [NCBI- GeneID:1102775] [UniProt:O54205]
<i>sco7040</i>	287	0.08345	-1.34	gap2. SC4G1.06c; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; [GeneDB:SCO7040] [NCBI-GI:21225323] [NCBI-GeneID:1102478] [UniProt:Q9FC43]
<i>sco7131</i>	288	0.08347	-1.08	SC4B10.32; lipase; [GeneDB:SCO7131] [NCBI- GI:21225413] [NCBI-GeneID:1102569] [UniProt:Q9FC55]
<i>sco6641</i>	291	0.08368	-1.16	SC4G2.15c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6641] [NCBI-GI:21224938] [NCBI-GeneID:1102080] [UniProt:O86687]
<i>sco2719</i>	292	0.08421	-1.07	SCC46.04; secreted protein; [GeneDB:SCO2719] [NCBI- GI:21221173] [NCBI-GeneID:1098153] [UniProt:Q9L1J7]
<i>sco6919</i>	293	0.08539	-1.12	SC1B2.25c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6919] [NCBI-GI:21225207] [NCBI-GeneID:1102357] [UniProt:Q9KYB4]
<i>sco2822</i>	294	0.08673	-1.11	SCBAC17F8.13c; decarboxylase; [GeneDB:SCO2822] [NCBI-GI:21221272] [NCBI-GeneID:1098256] [UniProt:Q93J75]
<i>sco0441</i>	295	0.08678	-1.15	SCF51A.19; hypothetical protein; K07160; [GeneDB:SCO0441] [NCBI-GI:21218983] [NCBI- GeneID:1095864] [UniProt:Q9RL45]
<i>sco0684</i>	296	0.08875	-1.12	SCF15.05c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0684] [NCBI-GI:21219213] [NCBI-GeneID:1096107] [UniProt:Q9RK32]
<i>sco2560</i>	297	0.08923	-1.15	SCC77.27c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2560] [NCBI-GI:21221019] [NCBI-GeneID:1097994] [UniProt:Q9RDD1]
<i>sco7253</i>	298	0.09010	-1.14	SC5H1.39; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7253] [NCBI-GI:21225530] [NCBI-GeneID:1102691] [UniProt:Q9X7U6]
<i>sco5421</i>	300	0.09483	-1.11	SC8F4.25; integral membrane protein; [GeneDB:SCO5421] [NCBI-GI:21223781] [NCBI- GeneID:1100861] [UniProt:Q9L2A1]
<i>sco0386</i>	299	0.09508	-1.09	SCF62.12; putative asparagine synthetase [EC:6.3.5.4]; K01953 asparagine synthase (glutamine-hydrolysing); [GeneDB:SCO0386] [NCBI-GI:21218929] [NCBI- GeneID:1095809] [UniProt:Q9RJK2]
<i>sco5667</i>	305	0.09570	-1.10	SC8B7.11c; putative ABC-transporter polyamine-binding lipoprotein; K02055 spermidine/putrescine transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO5667] [NCBI-GI:21224017] [NCBI-GeneID:1101106] [UniProt:O86832]
<i>sco5444</i>	301	0.09571	-1.18	glgP. SC3D11.01. SC6A11.20; putative glycogen phosphorylase [EC:2.4.1.1]; K00688 starch phosphorylase;

				[GeneDB:SCO5444] [NCBI-GI:32141263] [NCBI-GenelD:1100884] [UniProt:Q8CJR4]
<i>sco5784</i>	304	0.09586	-1.07	SC4H2.05; two-component sensor; [GeneDB:SCO5784] [NCBI-GI:21224129] [NCBI-GenelD:1101226] [UniProt:O69960]
<i>sco5480</i>	303	0.09604	-1.10	SC2A11.14; oligopeptide ABC transporter ATP-binding protein; K02032 peptide/nickel transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5480] [NCBI-GI:21223837] [NCBI-GenelD:1100920] [UniProt:O86575]
<i>sco0043</i>	306	0.09621	-1.10	SCJ4.24c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0043] [NCBI-GI:21218622] [NCBI-GenelD:1095476] [UniProt:Q9S1U9]
<i>sco5459</i>	302	0.09629	-1.08	SC3D11.16; enoyl-coA hydratase; [GeneDB:SCO5459] [NCBI-GI:21223817] [NCBI-GenelD:1100899] [UniProt:Q9L1E6]
<i>sco7408</i>	307	0.09687	-1.16	SC6D11.04c; probable solute-binding lipoprotein.; K02027 multiple sugar transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO7408] [NCBI-GI:21225678] [NCBI-GenelD:1102846] [UniProt:Q9L151]
<i>sco3603</i>	308	0.09789	-1.03	SC66T3.14c; putative Na(+)/H(+) antiporter; K03316 monovalent cation:H+ antiporter. CPA1 family; [GeneDB:SCO3603] [NCBI-GI:2122019] [NCBI-GenelD:1099039] [UniProt:Q9XAJ9]
<i>sco5398</i>	309	0.09835	-1.07	SC8F4.02c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5398] [NCBI-GI:21223758] [NCBI-GenelD:1100838] [UniProt:Q9L2C2]
<i>sco2230</i>	311	0.10122	-1.06	malF. SC10B7.25c; putative maltose permease; K10109 maltose/maltodextrin transport system permease protein; [GeneDB:SCO2230] [NCBI-GI:21220702] [NCBI-GenelD:1097663] [UniProt:Q9KZ07]
<i>sco4974</i>	310	0.10126	-1.05	2SCK31.34; deaminase; [GeneDB:SCO4974] [NCBI-GI:21223347] [NCBI-GenelD:1100415] [UniProt:Q9ADJ9]
<i>sco0385</i>	312	0.10333	-1.08	SCF62.11; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0385] [NCBI-GI:21218928] [NCBI-GenelD:1095808] [UniProt:Q9RJK3]
<i>sco6982</i>	317	0.10420	-1.09	SC8F11.08; lolE protein; K03335 myo-inositol catabolism protein lolE; [GeneDB:SCO6982] [NCBI-GI:21225268] [NCBI-GenelD:1102420] [UniProt:Q9KZH0]
<i>sco6416</i>	314	0.10427	-1.07	SC1A6.05; oxidoReductase; [GeneDB:SCO6416] [NCBI-GI:21224723] [NCBI-GenelD:1101855] [UniProt:O69810]
<i>sco1427</i>	315	0.10432	-1.15	SC6D7.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1427] [NCBI-GI:21219930] [NCBI-GenelD:1096853] [UniProt:Q9RKY6]
<i>sco5476</i>	313	0.10447	-1.07	SC2A11.10; oligopeptide transport integral membrane protein; K02034 peptide/nickel transport system permease protein; [GeneDB:SCO5476] [NCBI-GI:21223833] [NCBI-GenelD:1100916] [UniProt:O86571]
<i>sco0391</i>	316	0.10449	-1.08	SCF62.17; transferase; [GeneDB:SCO0391] [NCBI-GI:21218934] [NCBI-GenelD:1095814] [UniProt:Q9RJJ7]
<i>sco4561</i>	318	0.10635	-1.11	SCD16A.22; NLP/P60 family protein; [GeneDB:SCO4561] [NCBI-GI:21222944] [NCBI-GenelD:1100001] [UniProt:Q9XAQ3]
<i>sco1378</i>	319	0.10661	-1.13	SC10A9.20c; putative glycine dehydrogenase [EC:1.4.4.2]; K00282 glycine dehydrogenase subunit 1; K00283 glycine dehydrogenase subunit 2;



				[GeneDB:SCO1378] [NCBI-GI:21219883] [NCBI-GenelD:1096801] [UniProt:Q9AK84]
<i>sco0141</i>	320	0.10703	-1.12	SCJ33.05c; calcium-binding protein; [GeneDB:SCO0141] [NCBI-GI:21218700] [NCBI-GenelD:1095565] [UniProt:Q9RIX2]
<i>sco5511</i>	322	0.10748	-1.05	SC8D9.23; membrane associated phosphodiesterase; [GeneDB:SCO5511] [NCBI-GI:21223867] [NCBI-GenelD:1100951] [UniProt:Q9Z568]
<i>sco0683</i>	325	0.10751	-1.09	SCF15.04c; hypothetical protein; K07131; [GeneDB:SCO0683] [NCBI-GI:21219212] [NCBI-GenelD:1096106] [UniProt:Q9RK33]
<i>sco5442</i>	321	0.10766	-1.12	SC6A11.18c; trehalose synthase; [GeneDB:SCO5442] [NCBI-GI:21223801] [NCBI-GenelD:1100882] [UniProt:Q9L1K3]
<i>sco5072</i>	323	0.10768	-1.13	SCBAC20F6.15; hydroxylacyl-CoA dehydrogenase [EC:1.1.1.-]; K05556 hydroxylacyl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO5072] [NCBI-GI:21223444] [NCBI-GenelD:1100513] [UniProt:Q53926]
<i>sco5420</i>	324	0.10769	-1.03	SC8F4.24; cholesterol esterase; [GeneDB:SCO5420] [NCBI-GI:21223780] [NCBI-GenelD:1100860] [UniProt:Q9L2A2]
<i>sco7336</i>	326	0.10908	-1.36	pepA. SC4G10.15c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7336] [NCBI-GI:21225611] [NCBI-GenelD:1102774] [UniProt:Q54206]
<i>sco2229</i>	327	0.11064	-1.03	malG. SC10B7.24c; putative maltose permease; K10110 maltose/maltodextrin transport system permease protein; [GeneDB:SCO2229] [NCBI-GI:21220701] [NCBI-GenelD:1097662] [UniProt:Q9KZ08]
<i>sco0010</i>	328	0.11104	-1.08	SCJ30.05; hypothetical protein (secreted protein); [GeneDB:SCO0010] [NCBI-GI:21218592] [NCBI-GenelD:1095439] [UniProt:Q9S1Y4]
<i>sco5479</i>	329	0.11179	-1.06	SC2A11.13; oligopeptide ABC transporter ATP-binding protein; K02031 peptide/nickel transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5479] [NCBI-GI:21223836] [NCBI-GenelD:1100919] [UniProt:Q86574]
<i>sco1113</i>	330	0.11355	-0.99	2SCG38.06; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1113] [NCBI-GI:21219627] [NCBI-GenelD:1096536] [UniProt:Q9EX13]
<i>sco0992</i>	331	0.11628	-1.11	2SCG2.05; cysteine synthase; [GeneDB:SCO0992] [NCBI-GI:21219509] [NCBI-GenelD:1096415] [UniProt:Q9EX46]
<i>sco1328</i>	332	0.11645	-1.15	2SCG61.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1328] [NCBI-GI:21219834] [NCBI-GenelD:1096751] [UniProt:Q9K405]
<i>sco6470</i>	333	0.11676	-1.06	SC9C7.06c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6470] [NCBI-GI:21224774] [NCBI-GenelD:1101909] [UniProt:Q9ZBK4]
<i>sco0090</i>	336	0.11688	-1.00	SCJ11.19c; transposase; [GeneDB:SCO0090] [NCBI-GI:21218659] [NCBI-GenelD:1095518] [UniProt:Q9RI85]
<i>sco0397</i>	337	0.11706	-1.05	SCF62.23; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0397] [NCBI-GI:21218940] [NCBI-GenelD:1095820] [UniProt:Q9RJJ1]
<i>sco6155</i>	334	0.11713	-1.06	SC1A9.19; pyruvate dehydrogenase [EC:1.2.2.2]; K00156 pyruvate dehydrogenase (cytochrome);

				[GeneDB:SCO6155] [NCBI-GI:21224481] [NCBI-GenelD:1101596] [UniProt:Q9ZBT3]
sco5125	335	0.11719	-0.99	SC9E12.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5125] [NCBI-GI:21223495] [NCBI-GenelD:1100566] [UniProt:Q9F345]
sco7189	338	0.11737	-1.17	SC8A11.17c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7189] [NCBI-GI:21225468] [NCBI-GenelD:1102627] [UniProt:Q9FBZ3]
sco7208	341	0.11792	-1.01	SC2H12.07c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7208] [NCBI-GI:21225485] [NCBI-GenelD:1102646] [UniProt:Q9K477]
sco5879	340	0.11809	-1.05	RedW; acyl-CoA dehydrogenase RedW; [GeneDB:SCO5879] [NCBI-GI:21224222] [NCBI-GenelD:1101321] [UniProt:O54143]
sco0388	339	0.11817	-1.04	SCF62.14; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0388] [NCBI-GI:21218931] [NCBI-GenelD:1095811] [UniProt:Q9RJK0]
sco7474	342	0.11906	-1.01	paaD. SCBAC17A6.07; putative phenylacetic acid degradation protein PaaD; K02612 phenylacetic acid degradation protein; [GeneDB:SCO7474] [NCBI-GI:21225742] [NCBI-GenelD:1102912] [UniProt:Q93JC2]
sco4122	343	0.12020	-1.03	SCD72A.08; MarR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO4122] [NCBI-GI:21222521] [NCBI-GenelD:1099559] [UniProt:Q9KYE8]
sco1590	346	0.12283	-1.03	SCI35.12c; secreted protein; [GeneDB:SCO1590] [NCBI-GI:21220087] [NCBI-GenelD:1097021] [UniProt:O88050]
sco5888	345	0.12290	-1.10	RedP. SC3F7.08; 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase [EC:2.3.1.180]; K00648 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase III; [GeneDB:SCO5888] [NCBI-GI:21224230] [NCBI-GenelD:1101330] [UniProt:O54151]
sco5811	347	0.12303	-1.01	SC4H2.32; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO5811] [NCBI-GI:32141274] [NCBI-GenelD:1101253] [UniProt:Q8CJQ4]
sco3265	349	0.12307	-1.85	SCE39.15c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3265] [NCBI-GI:21221698] [NCBI-GenelD:1098699] [UniProt:Q9X8D8]
sco4301	344	0.12320	-0.99	SCD95A.34c; DNA-binding protein; [GeneDB:SCO4301] [NCBI-GI:21222694] [NCBI-GenelD:1099741] [UniProt:Q9KXU0]
sco1163	348	0.12328	-1.02	SCG8A.17c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1163] [NCBI-GI:21219676] [NCBI-GenelD:1096586] [UniProt:Q9KZI2]
sco6206	350	0.12386	-1.05	SC2G5.27c; putative oxidoReductase [EC:5.3.1.22]; K01816 hydroxypyruvate isomerase; [GeneDB:SCO6206] [NCBI-GI:21224530] [NCBI-GenelD:1101647] [UniProt:Q9Z596]
sco5385	351	0.12544	-0.99	2SC6G5.29; putative 3-hydroxybutyryl-coA dehydrogenase [EC:1.1.1.157]; K00074 3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO5385] [NCBI-GI:21223745] [NCBI-GenelD:1100825] [UniProt:Q9K4C6]
sco6469	352	0.12636	-1.01	SC9C7.05c; putative acyl-CoA dehydrogenase [EC:1.3.99.-]; K00257; [GeneDB:SCO6469] [NCBI-GI:21224773] [NCBI-GenelD:1101908] [UniProt:Q9ZBK5]

sco3540	354	0.12972	-1.00	SCH5.02c. slpD; proteinase (secreted protein); [GeneDB:SCO3540] [NCBI-GI:21221959] [NCBI-GenelD:1098976] [UniProt:Q7AKL3]
sco7473	353	0.13006	-1.01	paaC. SCBAC17A6.06; putative phenylacetic acid degradation protein PaaC; K02611 phenylacetic acid degradation protein; [GeneDB:SCO7473] [NCBI-GI:21225741] [NCBI-GenelD:1102911] [UniProt:Q93JC3]
sco2883	355	0.13251	-0.98	SCE6.20; cytochrome P450; [GeneDB:SCO2883] [NCBI-GI:21221332] [NCBI-GenelD:1098317] [UniProt:Q9KZR8]
sco3604	356	0.13399	-1.02	SC66T3.15c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3604] [NCBI-GI:21222020] [NCBI-GenelD:1099040] [UniProt:Q9XAJ8]
sco2770	357	0.13555	-0.95	SCC105.01c. SCC57A.41c. speB; agmatinase [EC:3.5.3.11]; K01480 agmatinase; [GeneDB:SCO2770] [NCBI-GI:32141181] [NCBI-GenelD:1098204] [UniProt:Q8CJY5]
sco6475	358	0.13827	-1.01	SC9C7.11c; oxidoReductase; [GeneDB:SCO6475] [NCBI-GI:21224779] [NCBI-GenelD:1101914] [UniProt:Q9ZBJ9]
sco0384	359	0.13836	-0.99	SCF62.10; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0384] [NCBI-GI:21218927] [NCBI-GenelD:1095807] [UniProt:Q9RJK4]
sco3816	360	0.13917	-0.99	bkdB1. SCGD3.17c; putative branched-chain alpha keto acid dehydrogenase E1 beta subunit [EC:1.2.4.1]; K00162 pyruvate dehydrogenase E1 component. beta subunit; [GeneDB:SCO3816] [NCBI-GI:21222226] [NCBI-GenelD:1099252] [UniProt:Q9XA61]
sco2717	361	0.13920	-1.13	SCC46.02c; small membrane protein; [GeneDB:SCO2717] [NCBI-GI:21221171] [NCBI-GenelD:1098151] [UniProt:Q9L1J9]
sco0944	362	0.14028	-1.11	SCM10.32; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0944] [NCBI-GI:21219463] [NCBI-GenelD:1096367] [UniProt:Q9RCW6]
sco1241	363	0.14080	-1.03	2SCG1.16c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1241] [NCBI-GI:21219750] [NCBI-GenelD:1096664] [UniProt:Q9FCC6]
sco6205	364	0.14184	-1.00	SC2G5.26c; putative dehydrogenase [EC:1.1.1.60]; K00042 2-hydroxy-3-oxopropionate Reductase; [GeneDB:SCO6205] [NCBI-GI:21224529] [NCBI-GenelD:1101646] [UniProt:Q9Z597]
sco1174	366	0.14227	-1.04	SCG11A.05. thcA; aldehyde dehydrogenase [EC:1.2.1.3]; K00128 aldehyde dehydrogenase (NAD+); [GeneDB:SCO1174] [NCBI-GI:21219685] [NCBI-GenelD:1096597] [UniProt:Q9RJZ6]
sco7475	365	0.14233	-0.95	SCBAC17A6.08; putative phenylacetic acid degradation NADH oxidoReductase PaaE; K02613 phenylacetic acid degradation NADH oxidoReductase; [GeneDB:SCO7475] [NCBI-GI:21225743] [NCBI-GenelD:1102913] [UniProt:Q93JC1]
sco6173	368	0.14245	-0.97	SC6C5.09; putative permease SC6C5.09; K06901 putative MFS transporter. AGZA family. xanthine/uracil permease; [GeneDB:SCO6173] [NCBI-GI:21224498] [NCBI-GenelD:1101614] [UniProt:Q9ZBN6]
sco1660	367	0.14253	-0.98	glpK. SC152.02; putative glycerol kinase [EC:2.7.1.30]; K00864 glycerol kinase; [GeneDB:SCO1660] [NCBI-GI:21220156] [NCBI-GenelD:1097091] [UniProt:Q9ADA7]

<i>sco3263</i>	369	0.14268	-1.64	SCE39.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3263] [NCBI-GI:21221696] [NCBI-GeneID:1098697] [UniProt:Q9X8D6]
<i>sco7079</i>	370	0.14432	-0.99	SC3A4.05; pseudogene; [GeneDB:SCO7079] [NCBI-GeneID:1102517]
<i>sco1474</i>	373	0.14552	-1.03	SCL6.31; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1474] [NCBI-GI:21219976] [NCBI-GeneID:1096900] [UniProt:Q9L0Y5]
<i>sco0746</i>	372	0.14567	-1.03	SCF81.05; serine/threonine protein kinase (putative secreted protein); [GeneDB:SCO0746] [NCBI-GI:21219270] [NCBI-GeneID:1096169] [UniProt:Q9RJE6]
<i>sco1064</i>	371	0.14606	-0.90	SCG22.10c; putative sugar transport integral membrane protein; K02025 multiple sugar transport system permease protein; [GeneDB:SCO1064] [NCBI-GI:21219579] [NCBI-GeneID:1096487] [UniProt:Q9K435]
<i>sco7524</i>	374	0.14626	-0.96	SCBAC25F8.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7524] [NCBI-GI:21225790] [NCBI-GeneID:1102962] [UniProt:Q93IZ6]
<i>sco1722</i>	377	0.14878	-0.96	SCI11.11c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1722] [NCBI-GI:21220216] [NCBI-GeneID:1097153] [UniProt:Q9S2A8]
<i>sco6393</i>	375	0.14891	-1.04	SC3C8.12; transposase; [GeneDB:SCO6393] [NCBI-GI:21224705] [NCBI-GeneID:1101834] [UniProt:O69924]
<i>sco5932</i>	376	0.14896	-1.04	abfB; arabinofuranosidase [EC:3.2.1.55]; K01209 alpha-N-arabinofuranosidase; [GeneDB:SCO5932] [NCBI-GI:21224270] [NCBI-GeneID:1101374] [UniProt:O54161]
<i>sco1189</i>	378	0.14902	-1.02	SCG11A.20; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1189] [NCBI-GI:21219700] [NCBI-GeneID:1096612] [UniProt:Q9RJY1]
<i>sco7271</i>	383	0.14950	-0.99	SC5H1.21c; ion channel subunit; [GeneDB:SCO7271] [NCBI-GI:21225548] [NCBI-GeneID:1102709] [UniProt:Q9X7S9]
<i>sco5443</i>	382	0.14990	-0.94	pep1A; putative alpha-amylase [EC:3.2.1.-]; K01238; [GeneDB:SCO5443] [NCBI-GI:21223802] [NCBI-GeneID:1100883] [UniProt:Q9L1K2]
<i>sco2016</i>	384	0.15010	-0.94	SC7H2.30c; monooxygenase; [GeneDB:SCO2016] [NCBI-GI:21220498] [NCBI-GeneID:1097450] [UniProt:Q9S2I7]
<b>Gene</b>	<b>Rank up regulated</b>	<b>pfp value</b>	<b>Log(2) Average</b>	
<i>sco7153</i>	1	0.00000	4.48	SC9A4.15; putative sugar transporter; K08139 MFS transporter. SP family. sugar:H+ symporter; [GeneDB:SCO7153] [NCBI-GI:21225433] [NCBI-GeneID:1102591] [UniProt:Q9ZBQ1]
<i>sco5578</i>	2	0.00000	4.38	SC7A1.22; putative sugar transporter; K08139 MFS transporter. SP family. sugar:H+ symporter; [GeneDB:SCO5578] [NCBI-GI:21223934] [NCBI-GeneID:1101019] [UniProt:Q9ZBQ1]
<i>sco5521</i>	4	0.00000	3.34	SC1C2.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5521] [NCBI-GI:21223876] [NCBI-GeneID:1100961] [UniProt:O86503]
<i>sco6010</i>	3	0.00000	3.58	SC7B7.07; probable ABC-transport system ATP binding protein [EC:3.6.3.17]; K02056 simple sugar transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO6010] [NCBI-GI:21224345] [NCBI-GeneID:1101452] [UniProt:O50504]

<i>sco6011</i>	6	0.00000	3.31	SC7B7.08; probable ABC-type transmembrane transport protein; K02057 simple sugar transport system permease protein; [GeneDB:SCO6011] [NCBI-GI:21224346] [NCBI-GenelD:1101453] [UniProt:O50505]
<i>sco3152</i>	5	0.00000	3.59	SCE87.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3152] [NCBI-GI:21221589] [NCBI-GenelD:1098586] [UniProt:Q9RKD5]
<i>sco2306</i>	17	0.00059	2.62	SCC30.14; putative ABC transporter integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO2306] [NCBI-GI:21220775] [NCBI-GenelD:1097740] [UniProt:Q9L007]
<i>sco5423</i>	16	0.00063	2.50	pyk2. SC8F4.27c; pyruvate kinase [EC:2.7.1.40]; K00873 pyruvate kinase; [GeneDB:SCO5423] [NCBI-GI:21223783] [NCBI-GenelD:1100863] [UniProt:Q9L299]
<i>sco4294</i>	15	0.00067	2.62	SCD95A.27; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4294] [NCBI-GI:21222687] [NCBI-GenelD:1099734] [UniProt:Q9KXU7]
<i>sco7676</i>	14	0.00071	2.87	SC4C2.11; ferRedoxin; [GeneDB:SCO7676] [NCBI-GI:21225936] [NCBI-GenelD:1103114] [UniProt:Q9EWQ1]
<i>sco6509</i>	13	0.00077	2.79	SC1E6.18c; hydrophobic protein; [GeneDB:SCO6509] [NCBI-GI:21224812] [NCBI-GenelD:1101948] [UniProt:Q9ZC04]
<i>sco0861</i>	12	0.00083	3.03	SCM2.14c; secreted protein; [GeneDB:SCO0861] [NCBI-GI:21219382] [NCBI-GenelD:1096284] [UniProt:Q9RCV0]
<i>sco2025</i>	11	0.00091	2.96	gltD. SC3A3.03c; putative glutamate synthase small subunit [EC:1.4.1.13]; K00266 glutamate synthase (NADPH) small chain; [GeneDB:SCO2025] [NCBI-GI:21220506] [NCBI-GenelD:1097459] [UniProt:Q9S2Z0]
<i>sco4293</i>	10	0.00100	3.15	SCD95A.26; putative threonine synthase [EC:4.2.3.1]; K01733 threonine synthase; [GeneDB:SCO4293] [NCBI-GI:21222686] [NCBI-GenelD:1099733] [UniProt:Q9KXU8]
<i>sco7756</i>	19	0.00105	2.56	SC5E9.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7756] [NCBI-GI:21226012] [NCBI-GenelD:1103194] [UniProt:Q9EWN1]
<i>sco2026</i>	9	0.00111	3.09	gltB. SC3A3.04c; putative glutamate synthase large subunit [EC:1.4.1.13]; K00265 glutamate synthase (NADPH) large chain; [GeneDB:SCO2026] [NCBI-GI:21220507] [NCBI-GenelD:1097460] [UniProt:Q9S2Y9]
<i>sco5774</i>	18	0.00111	2.41	gluD; glutamate permease; K10007 glutamate transport system permease protein; [GeneDB:SCO5774] [NCBI-GI:21224120] [NCBI-GenelD:1101216] [UniProt:O50492]
<i>sco6009</i>	8	0.00125	3.23	SC7B7.06; solute-binding protein; K02058 simple sugar transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO6009] [NCBI-GI:21224344] [NCBI-GenelD:1101451] [UniProt:O50503]
<i>sco5522</i>	7	0.00143	3.20	leuB; 3-isopropylmalate dehydrogenase [EC:1.1.1.85]; K00052 3-isopropylmalate dehydrogenase; [GeneDB:SCO5522] [NCBI-GI:21223877] [NCBI-GenelD:1100962] [UniProt:O86504]
<i>sco6510</i>	22	0.00182	2.39	SC1E6.19c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6510] [NCBI-GI:21224813] [NCBI-GenelD:1101949] [UniProt:Q9ZC03]
<i>sco2633</i>	21	0.00190	2.42	SC8E4A.03. sodF; superoxide dismutase [Fe-Zn] [EC:1.15.1.1]; K00518 superoxide dismutase;

				[GeneDB:SCO2633] [NCBI-GI:21221090] [NCBI-GeneID:1098067] [UniProt:O51917]
<i>sco4851</i>	25	0.00200	2.35	SC5G8.19c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4851] [NCBI-GI:21223227] [NCBI-GeneID:1100292] [UniProt:Q9KZ95]
<i>sco6433</i>	20	0.00200	2.54	SC1A6.22; hypothetical protein; K06995; [GeneDB:SCO6433] [NCBI-GI:21224740] [NCBI-GeneID:1101872] [UniProt:O69827]
<i>sco5554</i>	24	0.00208	2.46	leuD; 3-isopropylmalate dehidratasa pequeña subunidad [EC:4.2.1.33]; K01704 3-isopropylmalate/(R)-2-methylmalate dehidratasa pequeña subunidad; [GeneDB:SCO5554] [NCBI-GI:21223909] [NCBI-GeneID:1100994] [UniProt:O86535]
<i>sco7511</i>	23	0.00217	2.25	gap2. SCBAC25F8.03c; gliceraldehído 3-fosfato dehidrogenasa [EC:1.2.1.12]; K00134 gliceraldehído 3-fosfato dehidrogenasa; [GeneDB:SCO7511] [NCBI-GI:21225777] [NCBI-GeneID:1102949] [UniProt:Q93J08]
<i>sco5775</i>	29	0.00241	2.17	gluC; glutamato permeasa; K10006 glutamato transporte sistema permeasa proteína; [GeneDB:SCO5775] [NCBI-GI:21224121] [NCBI-GeneID:1101217] [UniProt:O50493]
<i>sco3427</i>	28	0.00250	2.27	rpmE. SCE9.34c; putativa 50S ribosomal proteína L31; K02909 grande subunidad ribosomal proteína L31; [GeneDB:SCO3427] [NCBI-GI:21221854] [NCBI-GeneID:1098864] [UniProt:Q9X8K6]
<i>sco6008</i>	27	0.00259	2.14	SC7B7.05; probable transcripcional represor proteína; [GeneDB:SCO6008] [NCBI-GI:21224343] [NCBI-GeneID:1101450] [UniProt:O50502]
<i>sco6662</i>	30	0.00267	2.11	tal1; transaldolasa [EC:2.2.1.2]; K00616 transaldolasa; [GeneDB:SCO6662] [NCBI-GI:21224958] [NCBI-GeneID:1102101] [UniProt:O88018]
<i>sco3089</i>	26	0.00269	2.47	SCE25.30; putativa ABC transportador ATP-binding proteína; K02003; [GeneDB:SCO3089] [NCBI-GI:21221529] [NCBI-GeneID:1098523] [UniProt:Q9KZ60]
<i>sco3090</i>	31	0.00290	2.37	SCE25.31; putativa ABC transportador integral membrana proteína; K02004; [GeneDB:SCO3090] [NCBI-GI:21221530] [NCBI-GeneID:1098524] [UniProt:Q9KZ59]
<i>sco5776</i>	34	0.00294	2.15	gluB; glutamato binding proteína; K10005 glutamato transporte sistema sustrato-binding proteína; [GeneDB:SCO5776] [NCBI-GI:21224122] [NCBI-GeneID:1101218] [UniProt:O50494]
<i>sco1679</i>	40	0.00300	1.98	SCi52.21; putativa gluconocinasa [EC:2.7.1.12]; K00851 gluconocinasa; [GeneDB:SCO1679] [NCBI-GI:21220175] [NCBI-GeneID:1097110] [UniProt:Q9AD88]
<i>sco1250</i>	33	0.00303	2.17	2SCG1.25; acetiltransferasa; [GeneDB:SCO1250] [NCBI-GI:21219759] [NCBI-GeneID:1096673] [UniProt:Q9FCB7]
<i>sco2528</i>	39	0.00308	2.29	leuA. SCC121.31c; 2-isopropilmalato sintasa [EC:2.3.3.13]; K01649 2-isopropilmalato sintasa; [GeneDB:SCO2528] [NCBI-GI:32141173] [NCBI-GeneID:1097962] [UniProt:O31046]
<i>sco4251</i>	32	0.00313	2.14	SCD8A.24c; secretada proteína; [GeneDB:SCO4251] [NCBI-GI:21222646] [NCBI-GeneID:1099691] [UniProt:Q9L0P0]
<i>sco2346</i>	35	0.00314	1.99	SCC8A.04c; putativa hidrolasa [EC:3.1.3.-]; K01112; [GeneDB:SCO2346] [NCBI-GI:21220814] [NCBI-GeneID:1097780] [UniProt:Q9KY44]

<i>sco4159</i>	38	0.00316	2.03	glnR. SCD84.26c; transcriptional regulatory protein; [GeneDB:SCO4159] [NCBI-GI:21222557] [NCBI-GeneID:1099599] [UniProt:Q05943]
<i>sco0863</i>	37	0.00324	2.31	SCM2.16c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0863] [NCBI-GI:21219384] [NCBI-GeneID:1096286] [UniProt:Q9RCU8]
<i>sco1680</i>	36	0.00333	1.99	SCI30A.01. SCI52.22; putative gluconate permease; K03299 gluconate:H <sup>+</sup> symporter. GntP family; [GeneDB:SCO1680] [NCBI-GI:32141150] [NCBI-GeneID:1097111] [UniProt:Q8CK22]
<i>sco4253</i>	42	0.00381	1.99	SCD8A.26c; hypothetical protein; K06907; [GeneDB:SCO4253] [NCBI-GI:21222648] [NCBI-GeneID:1099693] [UniProt:Q9L0N8]
<i>sco4852</i>	41	0.00390	2.23	SC5G8.20c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4852] [NCBI-GI:21223228] [NCBI-GeneID:1100293] [UniProt:Q9KZ94]
<i>sco5638</i>	43	0.00419	2.15	SC6A9.29; integral membrane protein; [GeneDB:SCO5638] [NCBI-GI:21223989] [NCBI-GeneID:1101077] [UniProt:O86761]
<i>sco6429</i>	44	0.00432	2.00	SC1A6.18; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6429] [NCBI-GI:21224736] [NCBI-GeneID:1101868] [UniProt:O69823]
<i>sco7424</i>	45	0.00444	1.91	SC6D11.20; MarR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO7424] [NCBI-GI:21225694] [NCBI-GeneID:1102862] [UniProt:Q9L135]
<i>sco4005</i>	47	0.00447	2.10	2SC10A7.09; RNA polymerase sigma factor; [GeneDB:SCO4005] [NCBI-GI:21222408] [NCBI-GeneID:1099441] [UniProt:Q9ADQ0]
<i>sco2014</i>	46	0.00457	1.89	pyk1. SC7H2.28c; pyruvate kinase [EC:2.7.1.40]; K00873 pyruvate kinase; [GeneDB:SCO2014] [NCBI-GI:21220496] [NCBI-GeneID:1097448] [UniProt:Q9S219]
<i>sco0999</i>	50	0.00500	1.98	2SCG2.12c. sodF2; superoxide dismutase [EC:1.15.1.1]; K00518 superoxide dismutase; [GeneDB:SCO0999] [NCBI-GI:21219516] [NCBI-GeneID:1096422] [UniProt:Q9X469]
<i>sco2146</i>	49	0.00510	2.14	SC6G10.19c; aminotransferase; [GeneDB:SCO2146] [NCBI-GI:21220623] [NCBI-GeneID:1097580] [UniProt:Q9X805]
<i>sco6279</i>	48	0.00521	1.03	SC1G7.05; diaminovalerate-pyruvate aminotransferase; [GeneDB:SCO6279] [NCBI-GI:21224598] [NCBI-GeneID:1101720] [UniProt:Q93S10]
<i>sco0489</i>	51	0.00549	1.91	SCF34.08c; hypothetical protein; K05375 MbtH protein; [GeneDB:SCO0489] [NCBI-GI:21219027] [NCBI-GeneID:1095912] [UniProt:Q9RK17]
<i>sco2305</i>	52	0.00577	2.03	SCC30.13; putative ABC transporter ATP-binding subunit; K09687 antibiotic transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO2305] [NCBI-GI:21220774] [NCBI-GeneID:1097739] [UniProt:Q9L008]
<i>sco5300</i>	53	0.00604	2.06	SC6G9.33; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5300] [NCBI-GI:21223663] [NCBI-GeneID:1100740] [UniProt:Q9XAE9]
<i>sco4248</i>	54	0.00648	1.94	SCD8A.21c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4248] [NCBI-GI:21222643] [NCBI-GeneID:1099688] [UniProt:Q9L0P3]

<i>sco4252</i>	56	0.00679	1.93	SCD8A.25c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4252] [NCBI-GI:21222647] [NCBI-GeneID:1099692] [UniProt:Q9L0N9]
<i>sco6438</i>	55	0.00691	2.00	SC9B5.05; diaminopimelate decarboxylase [EC:4.1.1.20]; K01586 diaminopimelate decarboxylase; [GeneDB:SCO6438] [NCBI-GI:21224744] [NCBI-GeneID:1101877] [UniProt:Q9ZBH5]
<i>sco5777</i>	57	0.00754	1.89	gluA; glutamate uptake system ATP-binding protein [EC:3.6.3.-]; K10008 glutamate transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5777] [NCBI-GI:21224123] [NCBI-GeneID:1101219] [UniProt:O50495]
<i>sco6436</i>	58	0.00828	2.04	SC9B5.03; tRNA synthetase; [GeneDB:SCO6436] [NCBI-GI:21224742] [NCBI-GeneID:1101875] [UniProt:Q9ZBH7]
<i>sco4368</i>	59	0.00831	1.96	SCD19.23c; lipase (secreted protein); [GeneDB:SCO4368] [NCBI-GI:21222759] [NCBI-GeneID:1099808] [UniProt:Q9F2X9]
<i>sco0860</i>	61	0.00885	1.91	SCM2.13c; probable cation-transporting ATPase [EC:3.6.3.-]; K01552; [GeneDB:SCO0860] [NCBI-GI:21219381] [NCBI-GeneID:1096283] [UniProt:Q9RCV1]
<i>sco3719</i>	60	0.00900	1.89	SCH35.05; small membrane protein; [GeneDB:SCO3719] [NCBI-GI:21222132] [NCBI-GeneID:1099155] [UniProt:Q9X901]
<i>sco7199</i>	62	0.01000	1.68	SC1D2.02c; membrane protein; [GeneDB:SCO7199] [NCBI-GI:21225477] [NCBI-GeneID:1102637] [UniProt:Q9K448]
<i>sco0888</i>	63	0.01063	1.77	SCM1.21; secreted protein; [GeneDB:SCO0888] [NCBI-GI:21219408] [NCBI-GeneID:1096311] [UniProt:Q9RD22]
<i>sco0865</i>	64	0.01094	1.84	SCM2.18c; integral-membrane protein; [GeneDB:SCO0865] [NCBI-GI:21219386] [NCBI-GeneID:1096288] [UniProt:Q9RCU6]
<i>sco7459</i>	71	0.01127	1.78	SC5C11.16c; putative ABC transport protein. ATP-binding component. [EC:3.6.3.34]; K02013 iron complex transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO7459] [NCBI-GI:21225728] [NCBI-GeneID:1102897] [UniProt:Q9L156]
<i>sco6990</i>	72	0.01139	1.77	SC8F11.16c; putative membrane transport protein.; K03453 bile acid:Na <sup>+</sup> symporter. BASS family; [GeneDB:SCO6990] [NCBI-GI:21225276] [NCBI-GeneID:1102428] [UniProt:Q9KZG2]
<i>sco6435</i>	70	0.01143	1.97	SC9B5.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6435] [NCBI-GI:21224741] [NCBI-GeneID:1101874] [UniProt:Q9ZBH8]
<i>sco0862</i>	74	0.01149	1.84	SCM2.15c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0862] [NCBI-GI:21219383] [NCBI-GeneID:1096285] [UniProt:Q9RCU9]
<i>sco7464</i>	65	0.01154	1.70	cvnB13. SCBAC14E8.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7464] [NCBI-GI:21225733] [NCBI-GeneID:1102902] [UniProt:Q9ADJ5]
<i>sco5553</i>	69	0.01159	1.94	leuC; 3-isopropylmalate dehydratase large subunit [EC:4.2.1.33]; K01703 3-isopropylmalate/(R)-2-methylmalate dehydratase large subunit; [GeneDB:SCO5553] [NCBI-GI:21223908] [NCBI-GeneID:1100993] [UniProt:O86534]
<i>sco1947</i>	68	0.01162	1.67	gap1. SCC54.07c; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [EC:1.2.1.12]; K00134 glyceraldehyde 3-



				phosphate dehydrogenase; [GeneDB:SCO1947] [NCBI-GI:21220432] [NCBI-GeneID:1097381] [UniProt:Q9Z518]
<i>sco1713</i>	73	0.01164	1.76	SCI11.02c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1713] [NCBI-GI:21220207] [NCBI-GeneID:1097144] [UniProt:Q9S2B7]
<i>sco6282</i>	66	0.01167	0.94	SC1G7.08c; 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] Reductase; [GeneDB:SCO6282] [NCBI-GI:21224601] [NCBI-GeneID:1101723] [UniProt:Q93S07]
<i>sco4247</i>	77	0.01169	1.81	SCD8A.20c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4247] [NCBI-GI:21222642] [NCBI-GeneID:1099687] [UniProt:Q9L0P4]
<i>sco5515</i>	76	0.01171	1.70	SC8D9.27. serA; probable D-3-phosphoglycerate dehydrogenase [EC:1.1.1.95]; K00058 D-3-phosphoglycerate dehydrogenase; [GeneDB:SCO5515] [NCBI-GI:21223871] [NCBI-GeneID:1100955] [UniProt:Q9Z564]
<i>sco6278</i>	75	0.01173	1.09	SC1G7.04; putative integral membrane transport protein; K08167 MFS transporter. DHA2 family. methyl viologen resistance protein SmvA; [GeneDB:SCO6278] [NCBI-GI:21224597] [NCBI-GeneID:1101719] [UniProt:Q93S11]
<i>sco4260</i>	67	0.01179	1.68	SCD49.01c. SCD8A.33c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4260] [NCBI-GI:32141231] [NCBI-GeneID:1099700] [UniProt:Q8CJU2]
<i>sco7463</i>	79	0.01316	1.60	cvnA13. SCBAC14E8.03; sensor histidine kinase; [GeneDB:SCO7463] [NCBI-GI:21225732] [NCBI-GeneID:1102901] [UniProt:Q9ADJ6]
<i>sco3151</i>	78	0.01321	1.81	SCE87.02c; putative deoxyribonuclease [EC:3.1.21.-]; K03424 Mg-dependent DNase; [GeneDB:SCO3151] [NCBI-GI:21221588] [NCBI-GeneID:1098585] [UniProt:Q9RKD6]
<i>sco1138</i>	81	0.01333	1.68	2SCG38.31; putative tricarboxylic transport membrane protein; K07795 putative tricarboxylic transport membrane protein; [GeneDB:SCO1138] [NCBI-GI:21219652] [NCBI-GeneID:1096561] [UniProt:Q9EWY8]
<i>sco5982</i>	80	0.01350	1.62	StBAC16H6.17c; regulator; K02616 phenylacetic acid degradation operon negative regulatory protein; [GeneDB:SCO5982] [NCBI-GI:21224319] [NCBI-GeneID:1101424] [UniProt:Q93JE5]
<i>sco5257</i>	82	0.01524	1.65	2SC7G11.19. metZ; methyltransferase; [GeneDB:SCO5257] [NCBI-GI:21223624] [NCBI-GeneID:1100698] [UniProt:Q9F3K8]
<i>sco6434</i>	83	0.01566	1.85	SC1A6.23. SC9B5.01; oxidoReductase; [GeneDB:SCO6434] [NCBI-GI:32141301] [NCBI-GeneID:1101873] [UniProt:Q8CJN0]
<i>sco4683</i>	85	0.01600	1.57	gdhA. SCD31.08; NADP-specific glutamate dehydrogenase [EC:1.4.1.4]; K00262 glutamate dehydrogenase (NADP+); [GeneDB:SCO4683] [NCBI-GI:21223063] [NCBI-GeneID:1100124] [UniProt:Q9L0F9]
<i>sco0924</i>	84	0.01619	1.66	SCM10.12c; putative cytochrome B subunit [EC:1.3.99.1]; K00241 succinate dehydrogenase cytochrome b-556 subunit; [GeneDB:SCO0924] [NCBI-GI:21219443] [NCBI-GeneID:1096347] [UniProt:Q9RCY6]
<i>sco7200</i>	87	0.01851	1.80	SC1D2.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7200] [NCBI-GI:21225478] [NCBI-GeneID:1102638] [UniProt:Q9K447]

sco6431	86	0.01872	1.74	SC1A6.20; peptide synthase; [GeneDB:SCO6431] [NCBI-GI:21224738] [NCBI-GeneID:1101870] [UniProt:O69825]
sco4258	88	0.01920	1.68	SCD8A.31; hydrolytic protein; [GeneDB:SCO4258] [NCBI-GI:21222653] [NCBI-GeneID:1099698] [UniProt:Q9L0N3]
sco3345	89	0.01989	1.69	SCE7.12c; dihydroxy acid dehydratase [EC:4.2.1.9]; K01687 dihydroxy-acid dehydratase; [GeneDB:SCO3345] [NCBI-GI:21221775] [NCBI-GeneID:1098782] [UniProt:O69198]
sco5513	90	0.01989	1.60	ilvN. SC8D9.25; acetolactate synthase small subunit [EC:2.2.1.6]; K01653 acetolactate synthase small subunit; [GeneDB:SCO5513] [NCBI-GI:21223869] [NCBI-GeneID:1100953] [UniProt:Q9Z566]
sco6663	97	0.01990	1.53	tkkB; transketolase B [EC:2.2.1.1]; K00615 transketolase; [GeneDB:SCO6663] [NCBI-GI:21224959] [NCBI-GeneID:1102102] [UniProt:O88019]
sco4464	94	0.02000	1.50	SCD65.07c; hydrolase; [GeneDB:SCO4464] [NCBI-GI:21222851] [NCBI-GeneID:1099904] [UniProt:Q9F2S5]
sco2839	95	0.02000	1.73	SCE20.13c; lipoprotein; [GeneDB:SCO2839] [NCBI-GI:21221289] [NCBI-GeneID:1098273] [UniProt:Q9RDB2]
sco4257	96	0.02010	1.60	SCD8A.30; hydrolytic protein; [GeneDB:SCO4257] [NCBI-GI:21222652] [NCBI-GeneID:1099697] [UniProt:Q9L0N4]
sco3899	93	0.02011	1.59	SCH24.21c; myo-inositol-1-phosphate synthase [EC:5.5.1.4]; K01858 myo-inositol-1-phosphate synthase; [GeneDB:SCO3899] [NCBI-GI:21222306] [NCBI-GeneID:1099335] [UniProt:Q9X8T5]
sco3718	92	0.02011	1.67	SCH35.06; putative cation transport system component [EC:3.6.3.12]; K01546 K <sup>+</sup> -transporting ATPase ATPase A chain; [GeneDB:SCO3718] [NCBI-GI:21222131] [NCBI-GeneID:1099154] [UniProt:Q9X900]
sco2591	91	0.02033	1.52	SCC88.02; secreted protein; [GeneDB:SCO2591] [NCBI-GI:21221049] [NCBI-GeneID:1098025] [UniProt:Q9L115]
sco3390	98	0.02082	1.70	SCE126.08c; two component sensor kinase; [GeneDB:SCO3390] [NCBI-GI:21221818] [NCBI-GeneID:1098827] [UniProt:Q9X851]
sco6660	99	0.02141	1.49	SC5A7.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6660] [NCBI-GI:21224956] [NCBI-GeneID:1102099] [UniProt:O88016]
sco2505	100	0.02400	1.48	SCC121.08; putative ABC-transporter metal-binding lipoprotein; K09815 zinc transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO2505] [NCBI-GI:21220966] [NCBI-GeneID:1097939] [UniProt:Q9L2H8]
sco3724	101	0.02426	1.45	SCH22A.02c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3724] [NCBI-GI:21222136] [NCBI-GeneID:1099160] [UniProt:Q9L0Y0]
sco3900	102	0.02441	1.54	SCH24.22c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3900] [NCBI-GI:21222307] [NCBI-GeneID:1099336] [UniProt:Q9X8T6]
sco6283	107	0.02477	1.13	SC1G7.09; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6283] [NCBI-GI:21224602] [NCBI-GeneID:1101724] [UniProt:Q93S06]
sco6276	103	0.02485	0.66	SC1G7.02; secreted protein; [GeneDB:SCO6276] [NCBI-GI:21224595] [NCBI-GeneID:1101717] [UniProt:Q93S13]
sco6661	106	0.02500	1.44	SC5A7.11c. zwf; glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase [EC:1.1.1.49]; K00036 glucose-6-phosphate 1-

				dehydrogenase; [GeneDB:SCO6661] [NCBI-GI:21224957] [NCBI-GeneID:1102100] [UniProt:O88017]
sco0476	105	0.02524	1.47	SCF76.16; ABC transport protein. ATP-binding subunit; K02074 zinc/manganese transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO0476] [NCBI-GI:21219016] [NCBI-GeneID:1095899] [UniProt:Q9RJF8]
sco5299	104	0.02529	1.49	SC6G9.34; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5299] [NCBI-GI:21223662] [NCBI-GeneID:1100739] [UniProt:Q9XAE8]
sco4945	110	0.02664	1.51	2SCK31.05; putative dehydrogenase [EC:1.1.1.2]; K00002 alcohol dehydrogenase (NADP+); [GeneDB:SCO4945] [NCBI-GI:21223318] [NCBI-GeneID:1100386] [UniProt:Q9EWF1]
sco5640	108	0.02667	1.44	SC6A9.27; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5640] [NCBI-GI:21223991] [NCBI-GeneID:1101079] [UniProt:O86759]
sco4256	109	0.02688	1.56	SCD8A.29; hydrolytic protein; [GeneDB:SCO4256] [NCBI-GI:21222651] [NCBI-GeneID:1099696] [UniProt:Q9L0N5]
sco6277	111	0.02748	0.62	SC1G7.03; epoxide hydrolase; [GeneDB:SCO6277] [NCBI-GI:21224596] [NCBI-GeneID:1101718] [UniProt:Q93S12]
sco7510	112	0.02902	1.45	cypH. SCBAC25F8.02c; peptidyl-prolyl cis-trans isomerase [EC:5.2.1.8]; K01802 peptidylprolyl isomerase; [GeneDB:SCO7510] [NCBI-GI:21225776] [NCBI-GeneID:1102948] [UniProt:Q93J09]
sco3888	113	0.02982	1.42	StH24.10; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3888] [NCBI-GI:21222295] [NCBI-GeneID:1099324] [UniProt:Q9R3S2]
sco6437	116	0.03017	1.55	SC9B5.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6437] [NCBI-GI:21224743] [NCBI-GeneID:1101876] [UniProt:Q9ZBH6]
sco1364	115	0.03035	1.43	SC10A9.06c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1364] [NCBI-GI:21219869] [NCBI-GeneID:1096787] [UniProt:Q9AK98]
sco3111	114	0.03035	1.55	SCE41.20c; putative ABC transport system ATP-binding protein; K02003; [GeneDB:SCO3111] [NCBI-GI:21221550] [NCBI-GeneID:1098545] [UniProt:Q9F2N9]
sco6452	117	0.03085	1.40	SC9B5.19; putative transport permease protein; K02033 peptide/nickel transport system permease protein; [GeneDB:SCO6452] [NCBI-GI:21224758] [NCBI-GeneID:1101891] [UniProt:Q9ZBG1]
sco0866	118	0.03280	1.56	SCM2.19c; probable ECF-family sigma factor; K03088 RNA polymerase sigma-70 factor. ECF subfamily; [GeneDB:SCO0866] [NCBI-GI:21219387] [NCBI-GeneID:1096289] [UniProt:Q9RCU5]
sco1139	119	0.03294	1.42	2SCG38.32; integral membrane protein; [GeneDB:SCO1139] [NCBI-GI:21219653] [NCBI-GeneID:1096562] [UniProt:Q9EWY7]
sco6272	120	0.03408	1.22	SC2C4.02; secreted FAD-binding protein; [GeneDB:SCO6272] [NCBI-GI:21224592] [NCBI-GeneID:1101713] [UniProt:Q9EX55]
sco2784	121	0.03421	1.37	SCC105.15; acetyltransferase; [GeneDB:SCO2784] [NCBI-GI:21221235] [NCBI-GeneID:1098218] [UniProt:Q9L070]
sco5162	122	0.03467	1.38	SCP8.25; putative integral membrane protein; K05595 multiple antibiotic resistance protein; [GeneDB:SCO5162]

				[NCBI-GI:21223531] [NCBI-GeneID:1100603] [UniProt:Q9FBJ6]
sco5032	123	0.03659	1.41	ahpC. SCK7.05c; alkyl hydroperoxide Reductase [EC:1.11.1.15]; K03386 peroxiRedoxin (alkyl hydroperoxide Reductase subunit C); [GeneDB:SCO5032] [NCBI-GI:21223405] [NCBI-GeneID:1100473] [UniProt:Q9FBP5]
sco4289	125	0.03824	1.38	SCD95A.22; secreted protein; [GeneDB:SCO4289] [NCBI-GI:21222682] [NCBI-GeneID:1099729] [UniProt:Q9KXV2]
sco4261	124	0.03839	1.39	SCD49.02c; response regulator; [GeneDB:SCO4261] [NCBI-GI:21222655] [NCBI-GeneID:1099701] [UniProt:Q9K4F1]
sco5258	126	0.04143	1.34	2SC7G11.20c. atrC; ATP-binding protein [EC:3.6.3.21]; K02028 polar amino acid transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5258] [NCBI-GI:21223625] [NCBI-GeneID:1100699] [UniProt:Q9F3K7]
sco5512	127	0.04181	1.41	ilvB. SC8D9.24; acetolactate synthase large subunit [EC:2.2.1.6]; K01652 acetolactate synthase large subunit; [GeneDB:SCO5512] [NCBI-GI:21223868] [NCBI-GeneID:1100952] [UniProt:Q9Z567]
sco5552	129	0.04194	1.34	SC1C2.33c; regulator; [GeneDB:SCO5552] [NCBI-GI:21223907] [NCBI-GeneID:1100992] [UniProt:O86533]
sco1792	128	0.04211	1.31	SCi51.32c; putative 3-methyladenine DNA glycosylase [EC:3.2.2.-]; K03652 3-methyladenine DNA glycosylase; [GeneDB:SCO1792] [NCBI-GI:21220284] [NCBI-GeneID:1097226] [UniProt:Q9S208]
sco4366	130	0.04300	1.45	SCD19.21c; putative phosphoserine aminotransferase [EC:2.6.1.52]; K00831 phosphoserine aminotransferase; [GeneDB:SCO4366] [NCBI-GI:21222757] [NCBI-GeneID:1099806] [UniProt:Q9F2Y1]
sco0140	131	0.04305	1.49	SCJ33.04; MerR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO0140] [NCBI-GI:21218699] [NCBI-GeneID:1095564] [UniProt:Q9RIX3]
sco5230	133	0.04346	1.31	SC7E4.27c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO5230] [NCBI-GI:21223598] [NCBI-GeneID:1100671] [UniProt:Q9K493]
sco2683	134	0.04358	1.41	SCC61A.04c; single-strand DNA-binding protein; [GeneDB:SCO2683] [NCBI-GI:21221138] [NCBI-GeneID:1098117] [UniProt:Q9KYI9]
sco2463	132	0.04371	1.51	SC7A8.02; putative ABC transporter; K06147 ATP-binding cassette. subfamily B. bacterial; [GeneDB:SCO2463] [NCBI-GI:21220926] [NCBI-GeneID:1097897] [UniProt:Q9L2F3]
sco2164	136	0.04441	1.29	SC5F7.37c. St6G10A.02c; putative integral membrane efflux protein; K03296 hydrophobic/amphiphilic exporter-1 (mainly G- bacteria). HAE1 family; [GeneDB:SCO2164] [NCBI-GI:32141159] [NCBI-GeneID:1097597] [UniProt:Q8CK05]
sco3959	135	0.04444	1.41	SCD78.26; possible integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO3959] [NCBI-GI:21222364] [NCBI-GeneID:1099395] [UniProt:Q9ZBX3]
sco0923	137	0.04730	1.42	SCM10.11c; putative Reductase flavoprotein subunit [EC:1.3.99.1]; K00239 succinate dehydrogenase

				flavoprotein subunit; [GeneDB:SCO0923] [NCBI-GI:21219442] [NCBI-GeneID:1096346] [UniProt:Q9RCY7]
sco6658	138	0.04833	1.28	SC5A7.08c; 6-phosphogluconate dehydrogenase [EC:1.1.1.44]; K00033 6-phosphogluconate dehydrogenase; [GeneDB:SCO6658] [NCBI-GI:21224954] [NCBI-GeneID:1102097] [UniProt:O88014]
sco3967	140	0.04857	1.38	SCBAC25E3.04c; conserved hypothetical membrane protein; K07040; [GeneDB:SCO3967] [NCBI-GI:21222371] [NCBI-GeneID:1099403] [UniProt:Q93J39]
sco0498	139	0.04885	1.39	SCF34.17c; putative peptide monooxygenase [EC:1.13.12.-]; K00468; [GeneDB:SCO0498] [NCBI-GI:21219036] [NCBI-GeneID:1095921] [UniProt:Q9RK08]
sco5129	141	0.04943	1.41	SC9E12.14; putative ABC transporter ATP-binding protein; K01990 ABC-2 type transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5129] [NCBI-GI:21223499] [NCBI-GeneID:1100570] [UniProt:Q9F341]
sco5031	142	0.05063	1.28	ahpD. SCK7.04c; alkyl hydroperoxide Reductase system hypothetical protein; K04756 alkyl hydroperoxide Reductase subunit D; [GeneDB:SCO5031] [NCBI-GI:21223404] [NCBI-GeneID:1100472] [UniProt:Q7AKI6]
sco4246	143	0.05140	1.38	SCD8A.19c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4246] [NCBI-GI:21222641] [NCBI-GeneID:1099686] [UniProt:Q9L0P5]
sco3956	147	0.05211	1.34	SCD78.23; putative ABC transporter ATP-binding protein; K01990 ABC-2 type transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO3956] [NCBI-GI:21222361] [NCBI-GeneID:1099392] [UniProt:Q9ZBX6]
sco0231	146	0.05226	1.32	SCJ9A.10c; small hydrophobic hypothetical protein; [GeneDB:SCO0231] [NCBI-GI:21218784] [NCBI-GeneID:1095655] [UniProt:Q9S1R0]
sco6451	145	0.05248	1.30	SC9B5.18; putative substrate binding protein; K02035 peptide/nickel transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO6451] [NCBI-GI:21224757] [NCBI-GeneID:1101890] [UniProt:Q9ZBG2]
sco5583	144	0.05257	1.37	SC7A1.27; ammonium transporter; K03320 ammonium transporter. Amt family; [GeneDB:SCO5583] [NCBI-GI:21223939] [NCBI-GeneID:1101024] [UniProt:Q9ZBP6]
sco7465	148	0.05378	1.25	cvnC13. SCBAC14E8.05; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7465] [NCBI-GI:21225734] [NCBI-GeneID:1102903] [UniProt:Q9ADJ4]
sco5929	149	0.05409	1.26	SC10A5.34c; oxidoReductase; [GeneDB:SCO5929] [NCBI-GI:21224268] [NCBI-GeneID:1101371] [UniProt:O54125]
sco3712	150	0.05413	1.30	SCH35.12c; hydrolase; [GeneDB:SCO3712] [NCBI-GI:21222125] [NCBI-GeneID:1099148] [UniProt:Q9X8Z4]
sco1140	151	0.05556	1.29	2SCG38.33; putative integral membrane protein; K07793 putative tricarboxylic transport membrane protein; [GeneDB:SCO1140] [NCBI-GI:21219654] [NCBI-GeneID:1096563] [UniProt:Q9EWY6]
sco3957	153	0.05758	1.31	SCD78.24; possible integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO3957] [NCBI-GI:21222362] [NCBI-GeneID:1099393] [UniProt:Q9ZBX5]

<i>sco4955</i>	152	0.05776	1.25	2SCK31.15c; ATP/GTP-binding protein; [GeneDB:SCO4955] [NCBI-GI:21223328] [NCBI-GenelD:1100396] [UniProt:Q9ADK5]
<i>sco6274</i>	155	0.05813	0.94	SC2C4.04c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6274] [NCBI-GI:21224594] [NCBI-GenelD:1101715] [UniProt:Q9EX53]
<i>sco4020</i>	156	0.05827	1.24	2SC10A7.24; putative two component system response regulator; K02483 two-component system. OmpR family. response regulator; [GeneDB:SCO4020] [NCBI-GI:21222423] [NCBI-GenelD:1099456] [UniProt:Q9ADN7]
<i>sco3332</i>	154	0.05838	1.35	SCE68.30c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3332] [NCBI-GI:21221763] [NCBI-GenelD:1098766] [UniProt:Q9WX02]
<i>sco3910</i>	157	0.05904	1.27	SCH24.32c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3910] [NCBI-GI:21222317] [NCBI-GenelD:1099346] [UniProt:Q9X8U6]
<i>sco0859</i>	158	0.05911	1.35	SCM2.12c; membrane protein; [GeneDB:SCO0859] [NCBI-GI:21219380] [NCBI-GenelD:1096282] [UniProt:Q9RCV2]
<i>sco3705</i>	159	0.05987	1.38	SCH35.19c; putative ABC transporter membrane subunit; K02018 molybdate transport system permease protein; [GeneDB:SCO3705] [NCBI-GI:21222118] [NCBI-GenelD:1099141] [UniProt:Q9X8Y7]
<i>sco6453</i>	160	0.06338	1.20	SC9B5.20; putative transport permease protein; K02034 peptide/nickel transport system permease protein; [GeneDB:SCO6453] [NCBI-GI:21224759] [NCBI-GenelD:1101892] [UniProt:Q9ZBG0]
<i>sco6320</i>	161	0.06348	1.26	SCIF3.22c; transport integral membrane protein; [GeneDB:SCO6320] [NCBI-GI:21224636] [NCBI-GenelD:1101761] [UniProt:Q93RS4]
<i>sco7462</i>	162	0.06364	1.22	SCBAC14E8.02c; putative integral membrane protein; K07090; [GeneDB:SCO7462] [NCBI-GI:21225731] [NCBI-GenelD:1102900] [UniProt:Q9ADJ7]
<i>sco3338</i>	164	0.06384	1.19	SCE7.05c; putative integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO3338] [NCBI-GI:21221768] [NCBI-GenelD:1098775] [UniProt:Q9X8G2]
<i>sco6285</i>	163	0.06423	0.94	SC1G7.11; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6285] [NCBI-GI:21224604] [NCBI-GenelD:1101726] [UniProt:Q93S04]
<i>sco3704</i>	167	0.06431	1.34	SCH35.20c; putative substrate-binding transport protein; K02020 molybdate transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO3704] [NCBI-GI:21222117] [NCBI-GenelD:1099140] [UniProt:Q9X8Y6]
<i>sco0074</i>	165	0.06436	1.28	SCJ11.03; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0074] [NCBI-GI:21218648] [NCBI-GenelD:1095505] [UniProt:Q9RIA1]
<i>sco7695</i>	166	0.06470	1.24	SC1A4.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7695] [NCBI-GI:21225955] [NCBI-GenelD:1103133] [UniProt:Q9EX60]
<i>sco3091</i>	168	0.06506	1.32	SCE25.32c; cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase [EC:2.1.1.79]; K00574 cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase; [GeneDB:SCO3091] [NCBI-GI:21221531] [NCBI-GenelD:1098525] [UniProt:Q9KZ58]

<i>sco3096</i>	169	0.06645	1.21	eno. SCE41.05c; enolase [EC:4.2.1.11]; K01689 enolase; [GeneDB:SCO3096] [NCBI-GI:21221535] [NCBI-GenelD:1098530] [UniProt:Q9F2Q3]
<i>sco4904</i>	170	0.06671	1.20	2SCK8.30c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4904] [NCBI-GI:21223278] [NCBI-GenelD:1100345] [UniProt:Q9AK22]
<i>sco0867</i>	172	0.06936	1.23	SCM2.20c; integral-membrane protein; [GeneDB:SCO0867] [NCBI-GI:21219388] [NCBI-GenelD:1096290] [UniProt:Q9RCU4]
<i>sco6109</i>	173	0.06942	1.20	SCBAC1A6.33; secreted hydrolase; [GeneDB:SCO6109] [NCBI-GI:21224438] [NCBI-GenelD:1101550] [UniProt:Q9ADF4]
<i>sco5229</i>	171	0.06977	1.18	SC7E4.26c; putative permease; K03307 solute:Na+ symporter. SSS family; [GeneDB:SCO5229] [NCBI-GI:21223597] [NCBI-GenelD:1100670] [UniProt:Q9K494]
<i>sco3429</i>	174	0.07149	1.28	rpmB. SCE9.36; putative 50S ribosomal protein L28; K02902 large subunit ribosomal protein L28; [GeneDB:SCO3429] [NCBI-GI:21221856] [NCBI-GenelD:1098866] [UniProt:Q9X8K8]
<i>sco4158</i>	175	0.07303	1.17	SCD84.25c; putative LacI-family regulatory protein; [GeneDB:SCO4158] [NCBI-GI:2122556] [NCBI-GenelD:1099598] [UniProt:Q05954]
<i>sco4245</i>	177	0.07768	1.27	SCD8A.18c; hypothetical protein; K06903; [GeneDB:SCO4245] [NCBI-GI:21222640] [NCBI-GenelD:1099685] [UniProt:Q9L0P6]
<i>sco2019</i>	176	0.07773	1.25	SC7H2.33c; putative chorismate mutase [EC:5.4.99.5]; K04092 chorismate mutase; [GeneDB:SCO2019] [NCBI-GI:21220501] [NCBI-GenelD:1097453] [UniProt:Q9S2I4]
<i>sco6273</i>	179	0.08123	0.92	SC2C4.03c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6273] [NCBI-GI:21224593] [NCBI-GenelD:1101714] [UniProt:Q9EX54]
<i>sco7544</i>	180	0.08128	1.19	SC8G12.20; putative ABC-transport protein. membrane component.; K02050 sulfonate/nitrate/taurine transport system permease protein; [GeneDB:SCO7544] [NCBI-GI:21225809] [NCBI-GenelD:1102982] [UniProt:Q9KYY5]
<i>sco2383</i>	178	0.08146	1.17	SC4A7.11; secreted protein; [GeneDB:SCO2383] [NCBI-GI:21220850] [NCBI-GenelD:1097817] [UniProt:Q9RDQ1]
<i>sco0715</i>	181	0.08193	1.15	SCF42.25c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0715] [NCBI-GI:21219241] [NCBI-GenelD:1096138] [UniProt:Q9L2J4]
<i>sco4021</i>	182	0.08236	1.16	2SC10A7.25; putative two component system histidine kinase [EC:2.7.13.3]; K02484 two-component system. OmpR family. sensor kinase; [GeneDB:SCO4021] [NCBI-GI:21222424] [NCBI-GenelD:1099457] [UniProt:Q9ADN6]
<i>sco3958</i>	183	0.08421	1.21	SCD78.25; ABC transporter ATP-binding protein; K01990 ABC-2 type transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO3958] [NCBI-GI:21222363] [NCBI-GenelD:1099394] [UniProt:Q9ZBX4]
<i>sco6430</i>	184	0.08451	1.18	SC1A6.19; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6430] [NCBI-GI:21224737] [NCBI-GenelD:1101869] [UniProt:O69824]
<i>sco1067</i>	185	0.08476	1.18	SCG22.13; integral membrane transport protein; [GeneDB:SCO1067] [NCBI-GI:21219582] [NCBI-GenelD:1096490] [UniProt:Q9K432]

<i>sco4947</i>	187	0.08529	0.98	2SCK31.07. narG3; nitrate Reductase alpha chain NarG3 [EC:1.7.99.4]; K00370 nitrate Reductase 1. alpha subunit; [GeneDB:SCO4947] [NCBI-GI:21223320] [NCBI-GenelD:1100388] [UniProt:Q9EWF3]
<i>sco0958</i>	186	0.08559	1.13	SCM11.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0958] [NCBI-GI:21219476] [NCBI-GenelD:1096381] [UniProt:Q9RIU8]
<i>sco7047</i>	188	0.08846	1.17	SC4G1.13; undecaprenyl-diphosphatase [EC:3.6.1.27]; K06153 undecaprenyl-diphosphatase; [GeneDB:SCO7047] [NCBI-GI:21225330] [NCBI-GenelD:1102485] [UniProt:Q9FC36]
<i>sco3968</i>	189	0.08952	1.21	SCBAC25E3.05c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO3968] [NCBI-GI:21222372] [NCBI-GenelD:1099404] [UniProt:Q93J38]
<i>sco3943</i>	191	0.09063	1.14	rstP. SCD78.10c; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3943] [NCBI-GI:21222348] [NCBI-GenelD:1099379] [UniProt:O87640]
<i>sco2489</i>	190	0.09111	1.16	SC7A8.28; TetR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO2489] [NCBI-GI:21220952] [NCBI-GenelD:1097923] [UniProt:Q9L2D0]
<i>sco4259</i>	192	0.09651	1.14	SCD8A.32c; AAA family ATPase; [GeneDB:SCO4259] [NCBI-GI:21222654] [NCBI-GenelD:1099699] [UniProt:Q9L0N2]
<i>sco1715</i>	193	0.09715	1.13	hgd. SCI11.04; putative homogentisate 1.2-dioxygenase [EC:1.13.11.5]; K00451 homogentisate 1.2-dioxygenase; [GeneDB:SCO1715] [NCBI-GI:21220209] [NCBI-GenelD:1097146] [UniProt:Q9S2B5]
<i>sco0446</i>	194	0.09897	1.33	SCF51A.24c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0446] [NCBI-GI:21218988] [NCBI-GenelD:1095869] [UniProt:Q9RL40]
<i>sco2307</i>	195	0.10405	1.22	SCC30.15; two-component sensor kinase; [GeneDB:SCO2307] [NCBI-GI:21220776] [NCBI-GenelD:1097741] [UniProt:Q9L006]
<i>sco5830</i>	197	0.10477	1.12	hypothetical protein; [GeneDB:SCO5830] [NCBI-GI:21224174] [NCBI-GenelD:1101272] [UniProt:O70006]
<i>sco7428</i>	196	0.10500	1.13	hmpA1; flavohemoprotein [EC:1.14.12.17]; K05916 nitric oxide dioxygenase; [GeneDB:SCO7428] [NCBI-GI:21225698] [NCBI-GenelD:1102866] [UniProt:Q9L131]
<i>sco4954</i>	199	0.10508	1.09	2SCK31.14c; hypothetical protein 2SCK3114c; [GeneDB:SCO4954] [NCBI-GI:21223327] [NCBI-GenelD:1100395] [UniProt:Q9ADK6]
<i>sco3793</i>	198	0.10520	1.14	SCAC2.01; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3793] [NCBI-GI:21222204] [NCBI-GenelD:1099229] [UniProt:Q9F325]
<i>sco2722</i>	200	0.10665	1.16	SCC46.07c; putative integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO2722] [NCBI-GI:21221176] [NCBI-GenelD:1098156] [UniProt:Q9L1J4]
<i>sco2907</i>	202	0.10688	1.07	SCE19A.07; putative PTS transmembrane component [EC:2.7.1.69]; K02803 PTS system. N-acetylglucosamine-specific IIB component; K02804 PTS system. N-acetylglucosamine-specific IIC component; [GeneDB:SCO2907] [NCBI-GI:21221354] [NCBI-GenelD:1098340] [UniProt:Q9S2H4]



<i>sco7399</i>	204	0.10706	1.15	SC10G8.27c; binding-protein-dependent transport lipoprotein; [GeneDB:SCO7399] [NCBI-GI:21225670] [NCBI-GeneID:1102837] [UniProt:Q9L178]
<i>sco6275</i>	203	0.10714	0.85	SC1G7.01c. SC2C4.05c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6275] [NCBI-GI:32141295] [NCBI-GeneID:1101716] [UniProt:Q8CJN6]
<i>sco2950</i>	201	0.10741	1.08	hup. SCE59.09c; DNA-binding protein Hu (hs1); [GeneDB:SCO2950] [NCBI-GI:21221395] [NCBI-GeneID:1098383] [UniProt:P0A3H5]
<i>sco0973</i>	206	0.10757	1.16	SCM11.28; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0973] [NCBI-GI:21219491] [NCBI-GeneID:1096396] [UniProt:Q9RIT4]
<i>sco2861</i>	207	0.10768	1.28	SCE20.35.; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2861] [NCBI-GI:21221311] [NCBI-GeneID:1098295] [UniProt:Q9RD90]
<i>sco5810</i>	205	0.10785	1.07	SC4H2.31c; transmembrane efflux protein; [GeneDB:SCO5810] [NCBI-GI:21224155] [NCBI-GeneID:1101252] [UniProt:O69986]
<i>sco3306</i>	210	0.11048	1.08	SCE68.04c; aminotransferase; [GeneDB:SCO3306] [NCBI-GI:21221737] [NCBI-GeneID:1098740] [UniProt:Q9WX27]
<i>sco4244</i>	213	0.11061	1.13	SCD8A.17c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4244] [NCBI-GI:21222639] [NCBI-GeneID:1099684] [UniProt:Q9L0P7]
<i>sco4640</i>	209	0.11062	1.11	SCD82.11; TetR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO4640] [NCBI-GI:21223022] [NCBI-GeneID:1100081] [UniProt:Q9L0M0]
<i>sco4054</i>	214	0.11098	1.17	2SCD60.20; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4054] [NCBI-GI:21222457] [NCBI-GeneID:1099490] [UniProt:Q9AK63]
<i>sco6659</i>	212	0.11104	1.10	pgi. SC5A7.09c; glucose-6-phosphate isomerase [EC:5.3.1.9]; K01810 glucose-6-phosphate isomerase; [GeneDB:SCO6659] [NCBI-GI:21224955] [NCBI-GeneID:1102098] [UniProt:O88015]
<i>sco4495</i>	211	0.11104	1.13	SCD35.02; putative DNA polymerase related protein [EC:2.7.7.7]; K02334 DNA polymerase bacteriophage-type; [GeneDB:SCO4495] [NCBI-GI:21222880] [NCBI-GeneID:1099935] [UniProt:Q9L0U9]
<i>sco1523</i>	208	0.11111	1.18	SCL2.13c; pyridoxine biosynthesis protein [EC:4.-.-.-]; K06215 pyridoxine biosynthesis protein; [GeneDB:SCO1523] [NCBI-GI:21220023] [NCBI-GeneID:1096949] [UniProt:Q9L286]
<i>sco3649</i>	215	0.11121	1.11	fba. SCH10.27c; putative fructose 1.6-bisphosphate aldolase [EC:4.1.2.13]; K01624 fructose-bisphosphate aldolase. class II; [GeneDB:SCO3649] [NCBI-GI:21222064] [NCBI-GeneID:1099085] [UniProt:Q9X8R6]
<i>sco5468</i>	218	0.11179	1.11	SC2A11.02c; transmembrane transport protein; [GeneDB:SCO5468] [NCBI-GI:21223825] [NCBI-GeneID:1100908] [UniProt:O86563]
<i>sco2762</i>	216	0.11213	1.14	SCC57A.33c; secreted protein; [GeneDB:SCO2762] [NCBI-GI:21221214] [NCBI-GeneID:1098196] [UniProt:Q9RDG6]
<i>sco3810</i>	217	0.11226	1.00	SCGD3.11c; GntR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3810] [NCBI-GI:21222220] [NCBI-GeneID:1099246] [UniProt:Q9XA67]

<i>sco1550</i>	219	0.11288	1.14	SCL11.06c; small membrane protein; [GeneDB:SCO1550] [NCBI-GI:21220049] [NCBI-GeneID:1096981] [UniProt:Q9L1D2]
<i>sco0922</i>	221	0.11615	1.23	SCM10.10c; putative Reductase iron-sulfur protein [EC:1.3.99.1]; K00240 succinate dehydrogenase iron-sulfur protein; [GeneDB:SCO0922] [NCBI-GI:21219441] [NCBI-GeneID:1096345] [UniProt:Q9RCY8]
<i>sco5379</i>	220	0.11641	1.03	2SC6G5.23; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5379] [NCBI-GI:21223739] [NCBI-GeneID:1100819] [UniProt:Q9K4D2]
<i>sco3375</i>	222	0.11685	1.06	SCE94.26c; Lsr2-like protein; [GeneDB:SCO3375] [NCBI-GI:21221804] [NCBI-GeneID:1098812] [UniProt:Q9X8N1]
<i>sco3074</i>	223	0.11834	1.07	SCE25.15c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO3074] [NCBI-GI:21221515] [NCBI-GeneID:1098507] [UniProt:Q9KZ74]
<i>sco4584</i>	227	0.11960	1.13	SCD20.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4584] [NCBI-GI:21222967] [NCBI-GeneID:1100024] [UniProt:Q9F2X7]
<i>sco2210</i>	226	0.12000	1.10	glnII. SC10B7.05; glutamine synthetase [EC:6.3.1.2]; K01915 glutamine synthetase; [GeneDB:SCO2210] [NCBI-GI:21220682] [NCBI-GeneID:1097643] [UniProt:Q9X958]
<i>sco5514</i>	225	0.12004	1.09	ilvC. SC8D9.26; acetolactate synthase small subunit [EC:1.1.1.86]; K00053 ketol-acid Reductoisomerase; [GeneDB:SCO5514] [NCBI-GI:21223870] [NCBI-GeneID:1100954] [UniProt:Q9Z565]
<i>sco4762</i>	228	0.12026	1.04	groEL1; 60 kD chaperonin cpn60; K04077 chaperonin GroEL; [GeneDB:SCO4762] [NCBI-GI:21223141] [NCBI-GeneID:1100203] [UniProt:P40171]
<i>sco7417</i>	224	0.12054	1.12	SC6D11.13c; putative cytochrome P450-family protein. [EC:1.14.-.-]; K00517; [GeneDB:SCO7417] [NCBI-GI:21225687] [NCBI-GeneID:1102855] [UniProt:Q9L142]
<i>sco4471</i>	229	0.12358	1.10	SCD65.14; secreted protein; [GeneDB:SCO4471] [NCBI-GI:21222858] [NCBI-GeneID:1099911] [UniProt:Q9F2R8]
<i>sco3423</i>	231	0.12688	1.05	SCE9.30; regulator; [GeneDB:SCO3423] [NCBI-GI:21221850] [NCBI-GeneID:1098860] [UniProt:Q9X8K2]
<i>sco3877</i>	234	0.12731	1.02	SCH18.14c; putative 6-phosphogluconate dehydrogenase [EC:1.1.1.44]; K00033 6-phosphogluconate dehydrogenase; [GeneDB:SCO3877] [NCBI-GI:21222285] [NCBI-GeneID:1099313] [UniProt:Q53917]
<i>sco4157</i>	235	0.12736	1.14	SCD84.24c; protease; [GeneDB:SCO4157] [NCBI-GI:21222555] [NCBI-GeneID:1099597] [UniProt:Q9KZU4]
<i>sco6284</i>	230	0.12743	0.78	SC1G7.10; putative decarboxylase [EC:4.1.1.41]; K01604 methylmalonyl-CoA decarboxylase alpha chain; [GeneDB:SCO6284] [NCBI-GI:21224603] [NCBI-GeneID:1101725] [UniProt:Q93S05]
<i>sco0988</i>	232	0.12754	1.09	2SCG2.01; acetyltransferase; [GeneDB:SCO0988] [NCBI-GI:21219505] [NCBI-GeneID:1096411] [UniProt:Q8R5N4]
<i>sco2935</i>	233	0.12760	1.07	SCE19A.35c; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO2935] [NCBI-GI:21221382] [NCBI-GeneID:1098368] [UniProt:Q9R3R2]
<i>sco7799</i>	237	0.13000	1.05	SC10B8A.09c; transposase; [GeneDB:SCO7799] [NCBI-GI:21226051] [NCBI-GeneID:1103237] [UniProt:Q9FCL5]
<i>sco1714</i>	238	0.13013	1.05	SCI11.03c; secreted protein; [GeneDB:SCO1714] [NCBI-GI:21220208] [NCBI-GeneID:1097145] [UniProt:Q9S2B6]

<i>sco1658</i>	236	0.13038	1.11	gylR. SCI46.03; glycerol operon regulatory protein; [GeneDB:SCO1658] [NCBI-GI:21220154] [NCBI-GenelD:1097089] [UniProt:P15360]
<i>sco3185</i>	239	0.13226	1.08	SCE22.02; putative Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiporter; K03316 monovalent cation:H <sup>+</sup> antiporter. CPA1 family; [GeneDB:SCO3185] [NCBI-GI:21221620] [NCBI-GenelD:1098619] [UniProt:Q9KYW0]
<i>sco6124</i>	240	0.13254	1.15	SC9B2.11; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6124] [NCBI-GI:21224451] [NCBI-GenelD:1101565] [UniProt:Q9Z548]
<i>sco1033</i>	243	0.13519	1.11	SCG20A.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1033] [NCBI-GI:21219549] [NCBI-GenelD:1096456] [UniProt:Q9K3M7]
<i>sco2114</i>	242	0.13570	1.07	SC6E10.08c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2114] [NCBI-GI:21220592] [NCBI-GenelD:1097548] [UniProt:Q9S2M9]
<i>sco3717</i>	241	0.13618	1.12	SCH35.07; putative cation transport system component [EC:3.6.3.12]; K01547 K <sup>+</sup> -transporting ATPase ATPase B chain; [GeneDB:SCO3717] [NCBI-GI:21222130] [NCBI-GenelD:1099153] [UniProt:Q9X8Z9]
<i>sco6044</i>	244	0.13811	1.01	SC1B5.04c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO6044] [NCBI-GI:21224375] [NCBI-GenelD:1101485] [UniProt:O69832]
<i>sco5771</i>	246	0.13858	1.15	SC4H8.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5771] [NCBI-GI:21224117] [NCBI-GenelD:1101213] [UniProt:O50489]
<i>sco7400</i>	245	0.13882	1.06	SC10G8.28c; putative ABC-transport protein. ATP-binding component. [EC:3.6.3.34]; K02013 iron complex transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO7400] [NCBI-GI:21225671] [NCBI-GenelD:1102838] [UniProt:Q9L177]
<i>sco5413</i>	247	0.13883	1.07	SC8F4.17; MarR-transcriptional regulator; [GeneDB:SCO5413] [NCBI-GI:21223773] [NCBI-GenelD:1100853] [UniProt:Q9L2A7]
<i>sco4943</i>	248	0.14327	1.05	2SCK31.03; oxidoReductase; [GeneDB:SCO4943] [NCBI-GI:21223316] [NCBI-GenelD:1100384] [UniProt:Q9EWW3]
<i>sco4850</i>	251	0.14434	1.06	SC5G8.18c; TetR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO4850] [NCBI-GI:21223226] [NCBI-GenelD:1100291] [UniProt:Q9KZ96]
<i>sco0499</i>	252	0.14464	1.07	SCF34.18; formyltransferase; [GeneDB:SCO0499] [NCBI-GI:21219037] [NCBI-GenelD:1095922] [UniProt:Q9RK07]
<i>sco0694</i>	250	0.14480	1.03	SCF42.04; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0694] [NCBI-GI:21219222] [NCBI-GenelD:1096117] [UniProt:Q9L2K9]
<i>sco0171</i>	249	0.14510	0.95	SCJ1.20; nicotinate phosphoribosyltransferase [EC:2.4.2.11]; K00763 nicotinate phosphoribosyltransferase; [GeneDB:SCO0171] [NCBI-GI:21218728] [NCBI-GenelD:1095595] [UniProt:Q9RIZ4]
<i>sco2464</i>	254	0.14713	1.20	SC7A8.03; putative ABC transporter; K06147 ATP-binding cassette. subfamily B. bacterial; [GeneDB:SCO2464] [NCBI-GI:21220927] [NCBI-GenelD:1097898] [UniProt:Q9L2F2]
<i>sco3035</i>	253	0.14735	0.97	SCE34.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3035] [NCBI-GI:21221478] [NCBI-GenelD:1098468] [UniProt:Q9KZL0]

<i>sco0472</i>	256	0.14766	1.02	SCF76.12c; secreted protein; [GeneDB:SCO0472] [NCBI-GI:21219012] [NCBI-GeneID:1095895] [UniProt:Q9RJG2]
<i>sco5285</i>	255	0.14773	0.94	lon. SCCB12.09; ATP-dependent protease [EC:3.4.21.53]; K01338 ATP-dependent Lon protease; [GeneDB:SCO5285] [NCBI-GI:21223651] [NCBI-GeneID:1100726] [UniProt:Q9EVK2]
<i>sco4657</i>	259	0.15035	0.98	SCD40A.03c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4657] [NCBI-GI:21223038] [NCBI-GeneID:1100098] [UniProt:Q9L0K6]
<i>sco3361</i>	258	0.15050	1.01	SCE94.12c; AsnC-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3361] [NCBI-GI:21221790] [NCBI-GeneID:1098798] [UniProt:Q9ZEP1]
<i>sco7154</i>	257	0.15058	1.02	ilvC2. SC9A4.16c; ketol-acid Reductoisomerase [EC:1.1.1.86]; K00053 ketol-acid Reductoisomerase; [GeneDB:SCO7154] [NCBI-GI:21225434] [NCBI-GeneID:1102592] [UniProt:Q9FBT8]
<i>sco3993</i>	260	0.15200	1.06	SCBAC25E3.30c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3993] [NCBI-GI:21222396] [NCBI-GeneID:1099429] [UniProt:Q93J15]
<i>sco3918</i>	261	0.15215	1.19	SCH24.40c. SCQ11.01c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3918] [NCBI-GI:32141220] [NCBI-GeneID:1099354] [UniProt:Q8CJV3]

## Apéndice VII: Genes expresados diferencialmente en la comparación ScoM145/ScoZm

Gene name	Rank down regulated	pfp value	Log(2) Average	Product/Function
<i>sco3413</i>	1	0.00000	-3.35	SCE9.20. tipA; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3413] [NCBI-GI:21221840] [NCBI-GeneID:1098850] [UniProt:P0A4T8]
<i>sco3472</i>	2	0.00500	-2.22	SCE65.08c; transposase remnant; [GeneDB:SCO3472] [NCBI-GI:21221896] [NCBI-GeneID:1098909] [UniProt:Q9RKG5]
<i>sco5025</i>	5	0.01400	-3.16	SCK15.27; transcriptional regulator; [GeneDB:SCO5025] [NCBI-GI:21223398] [NCBI-GeneID:1100466] [UniProt:Q9KY77]
<i>sco0556</i>	6	0.01667	-2.96	SCF73.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0556] [NCBI-GI:21219090] [NCBI-GeneID:1095979] [UniProt:Q9RJ13]
<i>sco7036</i>	4	0.01750	-1.84	argG. SC4G1.02; argininosuccinate synthase [EC:6.3.4.5]; K01940 argininosuccinate synthase; [GeneDB:SCO7036] [NCBI-GI:21225319] [NCBI-GeneID:1102474] [UniProt:P24532]

sco1578	8	0.01875	-1.72	argB. SCL24.14c; acetylglutamate kinase [EC:2.7.2.8]; K00930 acetylglutamate kinase; [GeneDB:SCO1578] [NCBI-GI:21220076] [NCBI-GeneID:1097009] [UniProt:Q9L1A3]
sco7586	7	0.02143	-2.78	SC5F1.40; oxidoReductase; [GeneDB:SCO7586] [NCBI-GI:21225850] [NCBI-GeneID:1103024] [UniProt:Q9F389]
sco3138	3	0.02333	-1.86	galT. SCE66.17c; galactose-1-phosphate uridylyltransferase [EC:2.7.7.10]; K00964 galactose-1-phosphate uridylyltransferase; [GeneDB:SCO3138] [NCBI-GI:21221576] [NCBI-GeneID:1098572] [UniProt:Q9K3S6]
sco2779	9	0.04111	-2.71	acdH. SCC105.10; acyl-CoA dehydrogenase; [GeneDB:SCO2779] [NCBI-GI:21221230] [NCBI-GeneID:1098213] [UniProt:Q9XCG6]
sco1577	10	0.05000	-1.57	argD. SCL24.13c; acetonitrile aminotransferase [EC:2.6.1.11]; K00818 acetylornithine aminotransferase; [GeneDB:SCO1577] [NCBI-GI:21220075] [NCBI-GeneID:1097008] [UniProt:Q9L1A4]
sco1576	11	0.05636	-1.55	argR. SCL24.12c; arginine repressor; K03402 transcriptional regulator of arginine metabolism; [GeneDB:SCO1576] [NCBI-GI:21220074] [NCBI-GeneID:1097007] [UniProt:Q9L1A5]
sco5536	18	0.06111	-1.59	SC1C2.17; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5536] [NCBI-GI:21223891] [NCBI-GeneID:1100976] [UniProt:O86518]
sco5026	21	0.06286	-2.49	SCK15.28; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5026] [NCBI-GI:21223399] [NCBI-GeneID:1100467] [UniProt:Q9KY76]
sco6266	20	0.06350	-2.00	SCAH10.31. scbA; ScbA protein; [GeneDB:SCO6266] [NCBI-GI:21224587] [NCBI-GeneID:1101707] [UniProt:O86851]
sco3487	17	0.06353	-1.74	SCE65.23; hydrolase; [GeneDB:SCO3487] [NCBI-GI:21221911] [NCBI-GeneID:1098924] [UniProt:Q9RKFO]
sco2464	27	0.06444	-1.67	SC7A8.03; putative ABC transporter; K06147 ATP-binding cassette. subfamily B. bacterial; [GeneDB:SCO2464] [NCBI-GI:21220927] [NCBI-GeneID:1097898] [UniProt:Q9L2F2]
sco0138	28	0.06464	-2.21	SCJ33.02; short chain dehydrogenase; [GeneDB:SCO0138] [NCBI-GI:21218697] [NCBI-GeneID:1095562] [UniProt:Q9RIX5]
sco1570	16	0.06500	-1.48	argH. SCL24.06c; argininosuccinate lyase [EC:4.3.2.1]; K01755 argininosuccinate lyase; [GeneDB:SCO1570] [NCBI-GI:21220068] [NCBI-GeneID:1097001] [UniProt:Q9L1B1]
sco7698	19	0.06579	-2.39	SC1A4.06c; MerR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO7698] [NCBI-GI:21225958] [NCBI-GeneID:1103136] [UniProt:Q9EX58]
sco3475	26	0.06615	-1.84	SCE65.11c; putative galactonate dehydratase protein [EC:4.2.1.6]; K01684 galactonate dehydratase; [GeneDB:SCO3475] [NCBI-

				GI:21221899] [NCBI-GeneID:1098912] [UniProt:Q9RKG2]
sco2296	30	0.06700	-1.69	SCC30.04; integral membrane protein; [GeneDB:SCO2296] [NCBI-GI:21220765] [NCBI-GeneID:1097730] [UniProt:Q9L017]
sco0555	15	0.06800	-1.96	SCF73.02c; membrane-bound oxidoReductase; [GeneDB:SCO0555] [NCBI- GI:21219089] [NCBI-GeneID:1095978] [UniProt:Q9RJI4]
sco1579	29	0.06828	-1.40	argJ. SCL24.15c; putative glutamate N- acetyltransferase [EC:2.3.1.1 2.3.1.35]; K00620 amino-acid N-acetyltransferase; K00642 glutamate N-acetyltransferase; [GeneDB:SCO1579] [NCBI-GI:32141148] [NCBI-GeneID:1097010] [UniProt:Q8CK24]
sco3476	25	0.06840	-1.77	SCE65.12c; putative short-chain dehydrogenase [EC:1.1.1.125]; K00065 2- deoxy-D-gluconate 3-dehydrogenase; [GeneDB:SCO3476] [NCBI-GI:21221900] [NCBI-GeneID:1098913] [UniProt:Q9RKG1]
sco3474	24	0.06917	-1.73	SCE65.10c; sugar kinase; [GeneDB:SCO3474] [NCBI-GI:21221898] [NCBI-GeneID:1098911] [UniProt:Q9RKG3]
sco5976	32	0.06969	-1.34	arcB. StBAC16H6.11; ornithine carbamoyltransferase [EC:2.1.3.3]; K00611 ornithine carbamoyltransferase; [GeneDB:SCO5976] [NCBI-GI:21224313] [NCBI-GeneID:1101418] [UniProt:Q93JF1]
sco1580	14	0.07143	-1.50	argC; N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate Reductase [EC:1.2.1.38]; K00145 N-acetyl- gamma-glutamyl-phosphate Reductase; [GeneDB:SCO1580] [NCBI-GI:21220077] [NCBI-GeneID:1097011] [UniProt:P54895]
sco3484	23	0.07174	-1.55	SCE65.20c; putative secreted sugar-binding protein; K02027 multiple sugar transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO3484] [NCBI-GI:21221908] [NCBI-GeneID:1098921] [UniProt:Q9RKF3]
sco2463	31	0.07194	-1.58	SC7A8.02; putative ABC transporter; K06147 ATP-binding cassette. subfamily B. bacterial; [GeneDB:SCO2463] [NCBI-GI:21220926] [NCBI-GeneID:1097897] [UniProt:Q9L2F3]
sco3477	33	0.07273	-1.79	SCE65.13c; dehydrogenase; [GeneDB:SCO3477] [NCBI-GI:21221901] [NCBI-GeneID:1098914] [UniProt:Q9RKG0]
sco7262	22	0.07364	-1.51	SC5H1.30c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7262] [NCBI-GI:21225539] [NCBI-GeneID:1102700] [UniProt:Q9X7T7]
sco3483	13	0.07615	-1.70	SCE65.19c; putative integral membrane transport protein; K02025 multiple sugar transport system permease protein; [GeneDB:SCO3483] [NCBI-GI:21221907] [NCBI-GeneID:1098920] [UniProt:Q9RKF4]

sco1089	12	0.07667	-1.46	2SCG4.05c; hypothetical protein 2SCG405c; [GeneDB:SCO1089] [NCBI-GI:21219604] [NCBI-GeneID:1096512] [UniProt:Q9K3Q9]
sco3473	34	0.07853	-1.23	SCE65.09c; putative aldolase [EC:4.1.2.14 4.1.3.16]; K01625 2-dehydro-3-deoxyphosphogluconate aldolase; K01650 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase; [GeneDB:SCO3473] [NCBI-GI:21221897] [NCBI-GeneID:1098910] [UniProt:Q9RKG4]
sco5676	35	0.08829	-1.27	gabT; putative 4-aminobutyrate aminotransferase [EC:2.6.1.19]; K00823 4-aminobutyrate aminotransferase; [GeneDB:SCO5676] [NCBI-GI:21224026] [NCBI-GeneID:1101115] [UniProt:O86823]
sco6164	36	0.10833	-1.51	SC1A9.28c; putative DnaK suppressor protein; K06204 DnaK suppressor protein; [GeneDB:SCO6164] [NCBI-GI:21224490] [NCBI-GeneID:1101605] [UniProt:Q9ZBS4]
sco7587	38	0.12237	-1.39	SC5F1.41; integral membrane protein; [GeneDB:SCO7587] [NCBI-GI:21225851] [NCBI-GeneID:1103025] [UniProt:Q9F388]
sco3478	37	0.12432	-1.72	SCE65.14c; dehydrogenase; [GeneDB:SCO3478] [NCBI-GI:21221902] [NCBI-GeneID:1098915] [UniProt:Q9RKF9]
sco3481	40	0.12925	-1.36	SCE65.17c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3481] [NCBI-GI:21221905] [NCBI-GeneID:1098918] [UniProt:Q9RKF6]
sco5367	39	0.13205	-0.97	2SC6G5.11. atpB; ATP synthase A chain [EC:3.6.3.14]; K02108 F-type H <sup>+</sup> -transporting ATPase a chain; [GeneDB:SCO5367] [NCBI-GI:21223727] [NCBI-GeneID:1100807] [UniProt:Q9K4D8]
sco7530	41	0.13220	-1.69	SC8G12.06c; regulatory protein; [GeneDB:SCO7530] [NCBI-GI:21225795] [NCBI-GeneID:1102968] [UniProt:Q9KYZ9]
sco2776	42	0.13548	-2.00	accD1. SCC105.07; acetyl/propionyl CoA carboxylase. beta subunit [EC:6.4.1.3]; K01966 propionyl-CoA carboxylase beta chain; [GeneDB:SCO2776] [NCBI-GI:21221227] [NCBI-GeneID:1098210] [UniProt:Q9L077]
sco1088	48	0.13979	-1.14	2SCG4.04c; oxidoReductase; [GeneDB:SCO1088] [NCBI-GI:21219603] [NCBI-GeneID:1096511] [UniProt:Q9K3R0]
sco3480	43	0.14047	-1.45	SCE65.16c; putative racemase [EC:5.1.2.2]; K01781 mandelate racemase; [GeneDB:SCO3480] [NCBI-GI:21221904] [NCBI-GeneID:1098917] [UniProt:Q9RKF7]
sco1087	44	0.14136	-1.14	2SCG4.03c; putative aldolase [EC:4.1.2.5]; K01620 threonine aldolase; [GeneDB:SCO1087] [NCBI-GI:21219602] [NCBI-GeneID:1096510] [UniProt:Q9K3R1]
sco5839	46	0.14217	-1.16	SC9B10.06; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5839] [NCBI-GI:21224183] [NCBI-GeneID:1101281] [UniProt:O50513]

sco2778	47	0.14277	-1.86	hmgL. SCC105.09; hydroxymethylglutaryl-CoA lyase [EC:4.1.3.4]; K01640 hydroxymethylglutaryl-CoA lyase; [GeneDB:SCO2778] [NCBI-GI:21221229] [NCBI-GeneID:1098212] [UniProt:Q9L075]
sco1815	45	0.14400	-1.21	fabG. SCI28.09c; probable 3-oxacyl-(acyl-carrier-protein) Reductase [EC:1.1.1.100]; K00059 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] Reductase; [GeneDB:SCO1815] [NCBI-GI:21220305] [NCBI-GeneID:1097249] [UniProt:Q9S274]
sco3411	49	0.14939	-1.30	SCE9.18c; possible membrane protein; K03975 membrane-associated protein; [GeneDB:SCO3411] [NCBI-GI:21221838] [NCBI-GeneID:1098848] [UniProt:Q9X8J1]
<b>Gene name</b>	<b>Rank up regulated</b>	<b>pfp value</b>	<b>Log(2)</b>	<b>Product/Function</b>
sco3982	3	0.00333	3.96	SCBAC25E3.19; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3982] [NCBI-GI:21222386] [NCBI-GeneID:1099418] [UniProt:Q93J25]
sco7676	4	0.00500	3.17	SC4C2.11; ferRedoxin; [GeneDB:SCO7676] [NCBI-GI:21225936] [NCBI-GeneID:1103114] [UniProt:Q9EWQ1]
sco4004	6	0.00500	2.99	2SC10A7.08c; small membrane protein; [GeneDB:SCO4004] [NCBI-GI:21222407] [NCBI-GeneID:1099440] [UniProt:Q9ADQ1]
sco3268	2	0.00500	3.74	SCE39.18c; secreted protein; [GeneDB:SCO3268] [NCBI-GI:21221701] [NCBI-GeneID:1098702] [UniProt:Q9X8E1]
sco3265	7	0.00571	3.46	SCE39.15c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3265] [NCBI-GI:21221698] [NCBI-GeneID:1098699] [UniProt:Q9X8D8]
sco4852	5	0.00600	2.77	SC5G8.20c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4852] [NCBI-GI:21223228] [NCBI-GeneID:1100293] [UniProt:Q9KZ94]
sco3986	8	0.00750	3.77	SCBAC25E3.23; GntR-family transcriptional regulator; [GeneDB:SCO3986] [NCBI-GI:21222390] [NCBI-GeneID:1099422] [UniProt:Q93J21]
sco6433	10	0.00900	2.37	SC1A6.22; hypothetical protein; K06995; [GeneDB:SCO6433] [NCBI-GI:21224740] [NCBI-GeneID:1101872] [UniProt:O69827]
sco6282	9	0.01000	2.19	SC1G7.08c; 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] Reductase; [GeneDB:SCO6282] [NCBI-GI:21224601] [NCBI-GeneID:1101723] [UniProt:Q93S07]
sco5521	1	0.01000	3.17	SC1C2.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO5521] [NCBI-GI:21223876] [NCBI-GeneID:1100961] [UniProt:O86503]
sco6279	12	0.01333	1.85	SC1G7.05; diaminobutyrate-pyruvate aminotransferase; [GeneDB:SCO6279] [NCBI-GI:21224598] [NCBI-GeneID:1101720] [UniProt:Q93S10]



sco4174	11	0.01455	3.70	SCD66.11c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4174] [NCBI-GI:21222571] [NCBI-GeneID:1099614] [UniProt:Q9K4G4]
sco3983	15	0.01533	3.48	SCBAC25E3.20; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3983] [NCBI-GI:21222387] [NCBI-GeneID:1099419] [UniProt:Q93J24]
sco4005	13	0.01538	2.90	2SC10A7.09; RNA polymerase sigma factor; [GeneDB:SCO4005] [NCBI-GI:21222408] [NCBI-GeneID:1099441] [UniProt:Q9ADQ0]
sco3987	14	0.01571	3.36	SCBAC25E3.24; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3987] [NCBI-GI:21222391] [NCBI-GeneID:1099423] [UniProt:Q93J20]
sco3263	16	0.01938	3.25	SCE39.13c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3263] [NCBI-GI:21221696] [NCBI-GeneID:1098697] [UniProt:Q9X8D6]
sco4851	18	0.02111	2.19	SC5G8.19c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4851] [NCBI-GI:21223227] [NCBI-GeneID:1100292] [UniProt:Q9KZ95]
sco6276	17	0.02118	1.57	SC1G7.02; secreted protein; [GeneDB:SCO6276] [NCBI-GI:21224595] [NCBI-GeneID:1101717] [UniProt:Q93S13]
sco3956	19	0.02526	2.02	SCD78.23; putative ABC transporter ATP-binding protein; K01990 ABC-2 type transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO3956] [NCBI-GI:21222361] [NCBI-GeneID:1099392] [UniProt:Q9ZBX6]
sco6435	22	0.02591	2.00	SC9B5.02; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6435] [NCBI-GI:21224741] [NCBI-GeneID:1101874] [UniProt:Q9ZBH8]
sco6272	21	0.02667	1.66	SC2C4.02; secreted FAD-binding protein; [GeneDB:SCO6272] [NCBI-GI:21224592] [NCBI-GeneID:1101713] [UniProt:Q9EX55]
sco5776	20	0.02800	2.18	gluB; glutamate binding protein; K10005 glutamate transport system substrate-binding protein; [GeneDB:SCO5776] [NCBI-GI:21224122] [NCBI-GeneID:1101218] [UniProt:O50494]
sco6278	24	0.03458	1.94	SC1G7.04; putative integral membrane transport protein; K08167 MFS transporter. DHA2 family. methyl viologen resistance protein SmvA; [GeneDB:SCO6278] [NCBI-GI:21224597] [NCBI-GeneID:1101719] [UniProt:Q93S11]
sco3719	23	0.03478	2.20	SCH35.05; small membrane protein; [GeneDB:SCO3719] [NCBI-GI:21222132] [NCBI-GeneID:1099155] [UniProt:Q9X901]
sco6277	27	0.03481	1.47	SC1G7.03; epoxide hydrolase; [GeneDB:SCO6277] [NCBI-GI:21224596] [NCBI-GeneID:1101718] [UniProt:Q93S12]
sco6429	25	0.03600	1.94	SC1A6.18; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6429] [NCBI-GI:21224736] [NCBI-GeneID:1101868] [UniProt:O69823]
sco3266	26	0.03615	2.77	SCE39.16c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3266] [NCBI-GI:21221699] [NCBI-GeneID:1098700] [UniProt:Q9X8D9]

sco6436	28	0.03893	1.96	SC9B5.03; tRNA synthetase; [GeneDB:SCO6436] [NCBI-GI:21224742] [NCBI-GeneID:1101875] [UniProt:Q9ZBH7]
sco5774	33	0.04273	2.04	gluD; glutamate permease; K10007 glutamate transport system permease protein; [GeneDB:SCO5774] [NCBI-GI:21224120] [NCBI-GeneID:1101216] [UniProt:O50492]
sco3957	32	0.04281	1.79	SCD78.24; possible integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO3957] [NCBI-GI:21222362] [NCBI-GeneID:1099393] [UniProt:Q9ZBX5]
sco4903	31	0.04323	1.98	2SCK8.29c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4903] [NCBI-GI:21223277] [NCBI-GeneID:1100344] [UniProt:Q9AK23]
sco6431	29	0.04379	1.85	SC1A6.20; peptide synthase; [GeneDB:SCO6431] [NCBI-GI:21224738] [NCBI-GeneID:1101870] [UniProt:O69825]
sco3988	30	0.04467	2.47	SCBAC25E3.25; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3988] [NCBI-GI:21222392] [NCBI-GeneID:1099424] [UniProt:Q93J19]
sco3089	34	0.04588	2.05	SCE25.30; putative ABC transporter ATP-binding protein; K02003; [GeneDB:SCO3089] [NCBI-GI:21221529] [NCBI-GeneID:1098523] [UniProt:Q9KZ60]
sco2513	35	0.04714	1.81	SCC121.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2513] [NCBI-GI:21220974] [NCBI-GeneID:1097947] [UniProt:Q9L2H0]
sco2839	37	0.04784	1.81	SCE20.13c; lipoprotein; [GeneDB:SCO2839] [NCBI-GI:21221289] [NCBI-GeneID:1098273] [UniProt:Q9RDB2]
sco0489	36	0.04861	1.43	SCF34.08c; hypothetical protein; K05375 MbtH protein; [GeneDB:SCO0489] [NCBI-GI:21219027] [NCBI-GeneID:1095912] [UniProt:Q9RK17]
sco3958	42	0.05024	1.61	SCD78.25; ABC transporter ATP-binding protein; K01990 ABC-2 type transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO3958] [NCBI-GI:21222363] [NCBI-GeneID:1099394] [UniProt:Q9ZBX4]
sco3264	38	0.05079	2.50	SCE39.14c; GntR-family regulator; [GeneDB:SCO3264] [NCBI-GI:21221697] [NCBI-GeneID:1098698] [UniProt:Q9X8D7]
sco0498	41	0.05122	1.27	SCF34.17c; putative peptide monooxygenase [EC:1.13.12.-]; K00468; [GeneDB:SCO0498] [NCBI-GI:21219036] [NCBI-GeneID:1095921] [UniProt:Q9RK08]
sco3152	39	0.05154	2.43	SCE87.03c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3152] [NCBI-GI:21221589] [NCBI-GeneID:1098586] [UniProt:Q9RKD5]
sco7799	40	0.05200	1.92	SC10B8A.09c; transposase; [GeneDB:SCO7799] [NCBI-GI:21226051] [NCBI-GeneID:1103237] [UniProt:Q9FCL5]
sco3111	43	0.05395	1.87	SCE41.20c; putative ABC transport system ATP-binding protein; K02003;

				[GeneDB:SCO3111] [NCBI-GI:21221550] [NCBI-GenelD:1098545] [UniProt:Q9F2N9]
sco1713	45	0.05422	1.80	SC111.02c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO1713] [NCBI-GI:21220207] [NCBI-GenelD:1097144] [UniProt:Q9S2B7]
sco6274	44	0.05545	1.59	SC2C4.04c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6274] [NCBI-GI:21224594] [NCBI-GenelD:1101715] [UniProt:Q9EX53]
sco6273	46	0.05609	1.70	SC2C4.03c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6273] [NCBI-GI:21224593] [NCBI-GenelD:1101714] [UniProt:Q9EX54]
sco2986	47	0.05681	1.72	SCE50.14c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO2986] [NCBI-GI:21221430] [NCBI-GenelD:1098419] [UniProt:Q9L049]
sco3985	48	0.06229	2.29	SCBAC25E3.22; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3985] [NCBI-GI:21222389] [NCBI-GenelD:1099421] [UniProt:Q93J22]
sco3717	49	0.06327	1.65	SCH35.07; putative cation transport system component [EC:3.6.3.12]; K01547 K <sup>+</sup> - transporting ATPase ATPase B chain; [GeneDB:SCO3717] [NCBI-GI:21222130] [NCBI-GenelD:1099153] [UniProt:Q9X8Z9]
sco6283	50	0.06740	1.44	SC1G7.09; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6283] [NCBI-GI:21224602] [NCBI-GenelD:1101724] [UniProt:Q93S06]
sco4317	53	0.07717	1.79	SCD95A.50; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4317] [NCBI-GI:21222710] [NCBI-GenelD:1099757] [UniProt:Q9KXS4]
sco3967	52	0.07750	1.67	SCBAC25E3.04c; conserved hypothetical membrane protein; K07040; [GeneDB:SCO3967] [NCBI-GI:21222371] [NCBI-GenelD:1099403] [UniProt:Q93J39]
sco6434	51	0.07765	1.63	SC1A6.23. SC9B5.01; oxidoReductase; [GeneDB:SCO6434] [NCBI-GI:32141301] [NCBI-GenelD:1101873] [UniProt:Q8CJN0]
sco4261	54	0.08111	1.56	SCD49.02c; response regulator; [GeneDB:SCO4261] [NCBI-GI:21222655] [NCBI-GenelD:1099701] [UniProt:Q9K4F1]
sco3090	56	0.08179	1.62	SCE25.31; putative ABC transporter integral membrane protein; K02004; [GeneDB:SCO3090] [NCBI-GI:21221530] [NCBI-GenelD:1098524] [UniProt:Q9KZ59]
sco3918	55	0.08309	1.59	SCH24.40c. SCQ11.01c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO3918] [NCBI-GI:32141220] [NCBI-GenelD:1099354] [UniProt:Q8CJV3]
sco0090	58	0.08345	1.62	SCJ11.19c; transposase; [GeneDB:SCO0090] [NCBI-GI:21218659] [NCBI-GenelD:1095518] [UniProt:Q9RI85]
sco4368	57	0.08368	1.77	SCD19.23c; lipase (secreted protein); [GeneDB:SCO4368] [NCBI-GI:21222759] [NCBI-GenelD:1099808] [UniProt:Q9F2X9]
sco6509	60	0.08633	1.88	SC1E6.18c; hydrophobic protein; [GeneDB:SCO6509] [NCBI-GI:21224812] [NCBI-GenelD:1101948] [UniProt:Q9ZC04]

sco5777	62	0.08742	1.77	gluA; glutamate uptake system ATP-binding protein [EC:3.6.3.-]; K10008 glutamate transport system ATP-binding protein; [GeneDB:SCO5777] [NCBI-GI:21224123] [NCBI-GeneID:1101219] [UniProt:O50495]
sco5775	63	0.08746	1.68	gluC; glutamate permease; K10006 glutamate transport system permease protein; [GeneDB:SCO5775] [NCBI-GI:21224121] [NCBI-GeneID:1101217] [UniProt:O50493]
sco2930	59	0.08763	1.53	SCE19A.30; putative permease membrane component; K05846 osmoprotectant transport system permease protein; [GeneDB:SCO2930] [NCBI-GI:21221377] [NCBI-GeneID:1098363] [UniProt:Q9S2F1]
sco3959	61	0.08885	1.55	SCD78.26; possible integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO3959] [NCBI-GI:21222364] [NCBI-GeneID:1099395] [UniProt:Q9ZBX3]
sco6268	64	0.09375	1.56	SCAH10.33c; histidine kinase; [GeneDB:SCO6268] [NCBI-GI:21224589] [NCBI-GeneID:1101709] [UniProt:Q9RKS6]
sco0861	65	0.09815	1.90	SCM2.14c; secreted protein; [GeneDB:SCO0861] [NCBI-GI:21219382] [NCBI-GeneID:1096284] [UniProt:Q9RCV0]
sco0973	66	0.09970	1.67	SCM11.28; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0973] [NCBI-GI:21219491] [NCBI-GeneID:1096396] [UniProt:Q9RIT4]
sco5285	73	0.10562	1.50	lon. SCCB12.09; ATP-dependent protease [EC:3.4.21.53]; K01338 ATP-dependent Lon protease; [GeneDB:SCO5285] [NCBI-GI:21223651] [NCBI-GeneID:1100726] [UniProt:Q9EVK2]
sco2528	72	0.10667	1.86	leuA. SCC121.31c; 2-isopropylmalate synthase [EC:2.3.3.13]; K01649 2-isopropylmalate synthase; [GeneDB:SCO2528] [NCBI-GI:32141173] [NCBI-GeneID:1097962] [UniProt:O31046]
sco1550	69	0.10696	1.34	SCL11.06c; small membrane protein; [GeneDB:SCO1550] [NCBI-GI:21220049] [NCBI-GeneID:1096981] [UniProt:Q9L1D2]
sco2126	74	0.10730	2.03	glk. SC6E10.20c; glucokinase [EC:2.7.1.2]; K00845 glucokinase; [GeneDB:SCO2126] [NCBI-GI:21220604] [NCBI-GeneID:1097560] [UniProt:P0A4E1]
sco0016	68	0.10735	2.28	SCJ30.12; hypothetical protein; [GeneDB:SCO0016] [NCBI-GI:21218598] [NCBI-GeneID:1095450] [UniProt:Q9S1X7]
sco6275	67	0.10746	1.41	SC1G7.01c. SC2C4.05c; type I polyketide synthase; [GeneDB:SCO6275] [NCBI-GI:32141295] [NCBI-GeneID:1101716] [UniProt:Q8CJN6]
sco7643	71	0.10789	1.36	SC10F4.16; hypothetical protein; [GeneDB:SCO7643] [NCBI-GI:21225904] [NCBI-GeneID:1103081] [UniProt:Q9F3P4]

<i>sco4173</i>	70	0.10857	1.87	SCD66.10c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4173] [NCBI-GI:21222570] [NCBI-GeneID:1099613] [UniProt:Q9K4G5]
<i>sco4054</i>	75	0.11027	1.45	2SCD60.20; integral membrane protein; [GeneDB:SCO4054] [NCBI-GI:21222457] [NCBI-GeneID:1099490] [UniProt:Q9AK63]
<i>sco3390</i>	77	0.12857	1.58	SCE126.08c; two component sensor kinase; [GeneDB:SCO3390] [NCBI-GI:21221818] [NCBI-GeneID:1098827] [UniProt:Q9X851]
<i>sco7399</i>	76	0.12987	1.20	SC10G8.27c; binding-protein-dependent transport lipoprotein; [GeneDB:SCO7399] [NCBI-GI:21225670] [NCBI-GeneID:1102837] [UniProt:Q9L178]
<i>sco4293</i>	78	0.13269	1.74	SCD95A.26; putative threonine synthase [EC:4.2.3.1]; K01733 threonine synthase; [GeneDB:SCO4293] [NCBI-GI:21222686] [NCBI-GeneID:1099733] [UniProt:Q9KXU8]
<i>sco4175</i>	79	0.13608	1.75	SCD66.12c; hypothetical protein; [GeneDB:SCO4175] [NCBI-GI:21222572] [NCBI-GeneID:1099615] [UniProt:Q9K4G3]
<i>sco4947</i>	80	0.13813	1.23	2SCK31.07. narG3; nitrate Reductase alpha chain NarG3 [EC:1.7.99.4]; K00370 nitrate Reductase 1. alpha subunit; [GeneDB:SCO4947] [NCBI-GI:21223320] [NCBI-GeneID:1100388] [UniProt:Q9EWF3]
<i>sco6288</i>	81	0.13901	1.00	SC1G7.14. SCBAC8D1.01; regulatory protein; [GeneDB:SCO6288] [NCBI-GI:21224607] [NCBI-GeneID:1101729] [UniProt:Q93RY4]
<i>sco6285</i>	82	0.14220	1.52	SC1G7.11; hypothetical protein; [GeneDB:SCO6285] [NCBI-GI:21224604] [NCBI-GeneID:1101726] [UniProt:Q93S04]
<i>sco2306</i>	83	0.14361	1.68	SCC30.14; putative ABC transporter integral membrane protein; K01992 ABC-2 type transport system permease protein; [GeneDB:SCO2306] [NCBI-GI:21220775] [NCBI-GeneID:1097740] [UniProt:Q9L007]
<i>sco0863</i>	84	0.15250	1.64	SCM2.16c; integral membrane protein; [GeneDB:SCO0863] [NCBI-GI:21219384] [NCBI-GeneID:1096286] [UniProt:Q9RCU8]
<i>sco4950</i>	85	0.15294	1.24	2SCK31.10. narI3; nitrate Reductase gamma chain NarI3; [GeneDB:SCO4950] [NCBI- GI:21223323] [NCBI-GeneID:1100391] [UniProt:Q9EWF6]

