

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 075**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2008.01)

C12Q 1/25 (2006.01)

C12N 9/00 (2006.01)

C12N 15/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2012** **PCT/AU2012/000541**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012** **WO12155202**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2012** **E 12786407 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018** **EP 2710153**

54 Título: **Detección de dinoflagelados productores de saxitoxina**

30 Prioridad:

16.05.2011 US 201161486633 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.04.2018

73 Titular/es:

NEWSOUTH INNOVATIONS PTY LIMITED (50.0%)
Rupert Myers Building Gate 14, Barker Street
University of New South Wales
Sydney, NSW 2052, AU y
UNIVERSITETET I OSLO (50.0%)

72 Inventor/es:

NEILAN, BRETT A.;
MURRAY, SHAUNA ANN;
STUKEN, ANKE;
JAKOBSEN, KJETILL S.;
ORR, RUSSEL J. S. y
KELLMANN, RALF

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 663 075 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Detección de dinoflagelados productores de saxitoxina

5 **Campo técnico**

La invención se refiere en general al campo de las saxitoxinas y a la identificación de microorganismos capaces de producirlas. Más específicamente, la invención se refiere a la identificación de genes que codifican saxitoxina en dinoflagelados, y a métodos para la detección específica de dinoflagelados que son productores de saxitoxinas.

10

Antecedentes

La saxitoxina (STX) es una potente neurotoxina que se produce en entornos acuáticos de todo el mundo y tiene importantes repercusiones económicas, ambientales y para la salud humana. La ingesta de especies vectoras puede conducir una intoxicación paralizante por mariscos, una enfermedad humana grave que puede provocar parálisis y muerte. Se estima que cada año se producen 2.000 casos de intoxicación paralizante por mariscos en seres humanos, con una tasa de mortalidad del 15%. Los costes de la monitorización y mitigación de STX han llevado a una pérdida económica anual por proliferaciones dañinas de plancton calculadas en 895 millones de dólares americanos. En entornos de agua dulce, STX se produce predominantemente por cianobacterias procariotas. Sin embargo, en entornos marinos los dinoflagelados eucariotas se han asociado con la presencia de STX. A pesar de la asociación de varias especies de dinoflagelados con la producción de STX, la base genética para la producción de STX en estos microorganismos sigue sin concretarse.

Existe la necesidad de métodos para detectar la presencia (o ausencia) de dinoflagelados productores de STX en muestras marinas.

Resumen de la invención

Varios estudios han intentado sin éxito identificar genes y/o enzimas de la ruta de STX en dinoflagelados por caracterización enzimática, enfoques de PCR, análisis *in silico* de bibliotecas de etiquetas de secuencias expresadas (EST), o el uso de otras secuencias de nucleótidos disponibles públicamente. Además, varios estudios anteriores han sugerido que STX de hecho puede no ser producido por dinoflagelados, sino por bacterias cocultivadas.

Los presentes inventores han determinado que los dinoflagelados son de hecho productores de STX y han identificado genes responsables de la producción de STX en estos microorganismos. La identificación de genes responsables de la producción de STX proporciona una base para numerosas pruebas moleculares para detectar dinoflagelados productores de STX tanto en agua dulce como en entornos marinos.

En un primer aspecto, la invención proporciona un método para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, comprendiendo el método:

obtener una muestra para su uso en el método, y
analizar la muestra para detectar la presencia de uno o más de un polinucleótido de saxitoxina A de dinoflagelado o un polipéptido codificado por dicho polinucleótido,
en el que el dominio catalítico de saxitoxina se selecciona de: dominio catalítico de saxitoxina A4 o un fragmento de un dominio catalítico de saxitoxina A4; y
la presencia de dicho polinucleótido o polipéptido indica la presencia de un dinoflagelado productor de saxitoxina en la muestra.

En una realización del primer aspecto, el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos de saxitoxina A seleccionada de las expuestas en cualquiera de las SEQ ID NOS: 230-242 o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.

En una realización del primer aspecto, el polinucleótido comprende una secuencia de dominio catalítico de saxitoxina A4, o un fragmento de la misma.

En una realización del primer aspecto, la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4 o fragmento de la misma comprende los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante

de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4 o fragmento de la misma consiste en los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, el análisis comprende la amplificación de polinucleótidos de la muestra mediante reacción en cadena de la polimerasa.

En una realización del primer aspecto, la reacción en cadena de la polimerasa utiliza uno o más cebadores que comprenden una secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 198 o SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, la reacción en cadena de la polimerasa utiliza uno o más cebadores que consisten en una secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 198 o SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, la reacción en cadena de la polimerasa utiliza uno o más cebadores que comprenden o consisten en una secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NOS: 198-199, 228-229 y 243-244, o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.

En una realización del primer aspecto, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de saxitoxina A expuesta en SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, el polipéptido consiste en una secuencia de aminoácidos de saxitoxina A expuesta en la SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del primer aspecto, el dinoflagelado productor de saxitoxina es del género *Alexandrium*, *Pyrodinium* o *Gymnodinium*.

En una realización del primer aspecto, el dinoflagelado productor de saxitoxina se selecciona del grupo que consiste en *A. catenella*, *A. fundyense*, *A. lusitanicum*, *A. minutum*, *A. ostenfeldii*, *A. tamarense*, *G. catenatum*, y *P. bahamense var compressum*.

En una realización del primer aspecto, dicho análisis se realiza usando un par de cebadores del decimoprimer o decimosegundo aspecto.

En un tercer aspecto, la divulgación proporciona un kit para la detección de un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, comprendiendo el kit al menos un agente para detectar la presencia de un polinucleótido de saxitoxina A de dinoflagelado o un polipéptido codificado por dicho polinucleótido.

En un cuarto aspecto, la divulgación proporciona un kit para determinar la ausencia de un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, comprendiendo el kit al menos un agente para detectar la presencia de un polinucleótido de saxitoxina A de dinoflagelado o un polipéptido codificado por dicho polinucleótido.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente se une específicamente a un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos de saxitoxina A seleccionada de las expuestas en una cualquiera de las SEQ ID NOS: 230-242 o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente se une específicamente a una secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4, o un fragmento de la misma.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4 o fragmento de la misma comprende los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4 o fragmento de la

misma consiste en los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

5 En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente es un cebador, sonda o anticuerpo.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente es un cebador que comprende una secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 198 o SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

10 En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente es un cebador que consiste en una secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 198 o SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente es un cebador que comprende o consiste en una secuencia expuesta en una cualquiera de las SEQ ID NOS: 198-199, 228-229 y 243-244, o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.

En una realización del tercer o cuarto aspecto, el agente se une específicamente a una secuencia de aminoácidos de saxitoxina A expuesta en la SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 4, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.

20 En una realización del tercer o cuarto aspecto, el kit comprende dos agentes, en el que los dos agentes son un par de cebadores del decimoprimer o decimosegundo aspecto.

En una realización del primer, segundo, tercer o cuarto aspecto, la muestra es una muestra ambiental.

25 En una realización del primer, segundo, tercer o cuarto aspecto, la muestra es una muestra de agua salada.

En una realización del primer, segundo, tercer o cuarto aspecto, la muestra es una muestra de agua dulce.

30 En una realización del primer, segundo, tercer o cuarto aspecto, la muestra es una muestra marina.

En un quinto aspecto, la divulgación proporciona un polinucleótido aislado que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1, o una variante o fragmento de la misma.

35 En una realización del quinto aspecto, el polinucleótido aislado consiste en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 1, o una variante o fragmento de la misma.

En un sexto aspecto, la invención proporciona un polinucleótido aislado que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 3, o una variante o fragmento de la misma.

40 En una realización del sexto aspecto, el polinucleótido aislado consiste en la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 3, o una variante o fragmento de la misma.

En un séptimo aspecto, la divulgación proporciona un polinucleótido aislado que comprende la secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NOS: 5-197, 224-227, 230-242 y 247 o una variante o fragmento de una cualquiera de esas secuencias.

45 En una realización del séptimo aspecto, el polinucleótido aislado consiste en la secuencia expuesta en una cualquiera de las SEQ ID NOS: 5-197, 224-227, 230-242 y 247 o una variante o fragmento de una cualquiera de esas secuencias.

En un octavo aspecto, la divulgación proporciona un polipéptido aislado codificado por uno cualquiera de los polinucleótidos de acuerdo con el quinto, sexto o séptimo aspecto.

55 En un noveno aspecto, la divulgación proporciona un cebador o sonda que se une específicamente a un polinucleótido de acuerdo con el quinto, sexto o séptimo aspecto.

En un décimo aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de acuerdo con el octavo aspecto.

En un decimoprimer aspecto, la divulgación proporciona un par de cebadores para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, en donde dicho par de cebadores comprende un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 198, o un fragmento o variante de la misma, y un
5 segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de la misma.

En una realización del decimoprimer aspecto, el par de cebadores comprende un primer cebador que consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 198, o un fragmento o variante de la misma, y un segundo cebador
10 que consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de la misma.

En un decimosegundo aspecto, la divulgación proporciona un par de cebadores para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, en donde dicho par de cebadores comprende:

15 un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 198 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 199; o un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 200 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 201; o
20 un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 202 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 203; o un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 204 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 205; o
25 un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 206 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 207; o un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 208 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 209; o
30 un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 210 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 211; o un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 220 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 221; o
35 un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 222 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 223; o un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 228 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 229; o
un primer cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 243 y un segundo cebador que comprende o consiste en la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 244.

Breve descripción de los dibujos

40 Las realizaciones preferidas de la presente invención se describirán ahora, solo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

La **Figura 1** es un diagrama que muestra la estructura de *sxtA* en dinoflagelados y cianobacterias. **A.** Estructura de transcripción de las transcripciones de *sxtA* en *A. fundyense* CCMP1719. **B.** Estructura genómica de *sxtA* de *C. raciborskii* T3. **C.** Estructura de STX con enlaces y moléculas introducidas por *sxtA* marcadas en negrita.

La **Figura 2** es un gráfico que muestra el contenido de GC de transcripciones de *sxtA* de *A. fundyense* y de genes cianobacterianos de *sxtA*. El contenido de GC se calculó cada 10 pb con un tamaño de ventana de 1000 pb.

50 La **Figura 3** muestra un árbol filogenético de *SxtA1*. Representación esquemática, dibujada a escala (para ver el árbol completo, véase la **Figura 5**). Se muestra la topología de probabilidad máxima. Los números en los nodos representan valores bootstrap de máxima probabilidad y análisis bayesianos, respectivamente.

La **Figura 4A** muestra un árbol filogenético de *SxtA4*. Representación esquemática, dibujada a escala (para ver el árbol completo, véase la **Figura 6**). Se muestra la topología de probabilidad máxima. Los números en los nodos representan valores bootstrap de máxima probabilidad y análisis bayesianos, respectivamente.

55 La **Figura 4B** es un gráfico que muestra el número de copias genómicas de *sxtA4* en ACSH02 de *A. catenella* en tres puntos temporales diferentes durante el ciclo de crecimiento.

La **Figura 5** muestra un árbol filogenético de *SxtA1*. Se muestra la topología de probabilidad máxima. Los números en los nodos representan valores bootstrap de máxima probabilidad y análisis bayesianos,

respectivamente. Las secuencias en negrita son secuencias derivadas de transcripción; ya sean generadas usando RACE o son cóntigos del ensamblaje de lectura 454.

La **Figura 6** muestra un árbol filogenético de *SxtA4*. Se muestra la topología de probabilidad máxima. Los números en los nodos representan valores bootstrap de máxima probabilidad y análisis bayesianos, respectivamente. Las secuencias en negrita son secuencias derivadas de transcripción; ya sean generadas usando RACE o son cóntigos del ensamblaje de lectura 454.

La **Figura 7** es un mapa que muestra sitios de muestreo de fitoplancton y *S. glomerata* a los que se hace referencia en el Ejemplo 2. **A.** Nueva Gales del Sur, Australia, y los tres estuarios en los que se tomaron muestras de proliferaciones: **B.** Agua de Brisbane, **C.** el río Georges y **D.** Wagonga Inlet. La barra de escala en D representa 1 km en los mapas insertados B, C y D.

La **Figura 8** es un gráfico que muestra una curva estándar del par de cebadores de *sxtA4* basado en diluciones de ADN a partir de números conocidos de células de tres cepas de *Alexandrium catenella* que crecen exponencialmente. El ensayo se probó usando concentraciones de ADN que representan 30-2600 células en las diferentes cepas.

La **Figura 9** proporciona dos gráficos que muestran la abundancia de copias génicas de *sxtA4* (eje y primario) y estimaciones de células de *Alexandrium catenella* (eje y secundario) en base a los recuentos de identificaciones de células microscópicas y qPCR usando un par de cebadores de ADNr LSU en **A.** río Georges y **B.** sitios de muestreo de Wagonga Inlet, durante noviembre de 2010.

La **Figura 10** proporciona un gráfico que muestra el número o las copias de *sxtA4* l⁻¹ y las células de *Alexandrium catenella*, según se determina usando un recuento manual bajo los microscopios ópticos, cada semana en el sitio de muestreo.

La **Figura 11** proporciona un gráfico que muestra una ecuación de regresión entre la abundancia de células de *Alexandrium catenella* y las copias de *sxtA4*.

La **Figura 12** muestra imágenes SEM de *Alexandrium tamarense* ATNWB01. A) Vista ventral, con membrana celular intacta, que muestra el tamaño y la forma general de la célula, barra de escala = 5 µm, B) Vista dorsal, con membrana celular intacta, que muestra la forma de la célula, barra de escala = 10 µm, C) Epicono en vista apical que muestra APC y poro en placa de 1', barra de escala = 5 µm, D) Hipocono en vista antapical, que muestra patrones de placa, barra de escala = 10 µm, E) Complejo de poros apicales, que muestra la forma de la coma, F) Placa sulcal posterior, que muestra el poro, barra de escala = 2 µm

La **Figura 13** muestra imágenes SEM de cepas de *Alexandrium tamarense* ATCJ33, ATEB01 y ATBB01 (para comparación, tomadas de Hallegraeff et al 1991). AD, ATCJ33, A) ATCJ33 que muestra una cadena de 2 células, y tamaño y forma general de la célula, barra de escala = 10 µm, B) Primera placa apical, que muestra poro ventral, C) APC, que muestra la forma de la coma, D) Primera placa apical que muestra el poro ventral, E, F, H ATEB01. E) ATEB01 que muestra el tamaño y la forma general de las células, barra de escala = 10 µm, F) ATEB01, primera placa apical que muestra el poro ventral, G) ATBB01 que muestra el poro ventral y APC, H) ATEB01 que muestra la APC.

La **Figura 14** muestra la filogenia concatenada de ADNr 18S+ITS1-5.8S-ITS2+28S del complejo *A. tamarense* (2821 caracteres). El árbol se reconstruye con inferencia bayesiana (Phylobayes). Los números en los nodos internos representan la probabilidad posterior y los valores bootstrap (>50%) para Phylobayes y RAxML (ordenado; Phylobayes/RaxML). Los círculos de color negro indican un valor de probabilidad posterior de 1.00 y bootstrap >90%. Los clados del grupo 1-4 se han colapsado, para una versión expandida de la filogenia, véase

La **Figura 15** es un perfil de toxina de ATNWB01 usando HPLC, se determinaron los picos indicados contra los estándares de toxinas de PSP.

La **Figura 16** muestra la filogenia concatenada de ADNr 18S+ITS1-5.8S-ITS2+28S del complejo *A. tamarense* (2821 caracteres). El árbol se reconstruye con inferencia bayesiana (Phylobayes). Los números en los nodos internos representan la probabilidad posterior y los valores bootstrap (>50%) para Phylobayes y RAxML (ordenado; Phylobayes/RaxML). Los círculos de color negro indican un valor de probabilidad posterior de 1.00 y bootstrap >90%.

Definiciones

Como se usa en esta solicitud, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, el término "un dinoflagelado" también incluye una pluralidad de dinoflagelados.

Como se usa en el presente documento, la expresión "que comprende" significa "que incluye". Las variaciones de la palabra "que comprende", tales como "comprender" y "comprende", tienen significados correspondientemente variados. Por lo tanto, por ejemplo, un polinucleótido "que comprende" una secuencia que codifica una proteína

puede consistir exclusivamente en esa secuencia o puede incluir una o más secuencias adicionales.

Como se usa en el presente documento, el término "saxitoxina" incluye saxitoxina pura y análogos de la misma, ejemplos no limitantes de los cuales incluyen neosaxitoxina (neoSTX), gonyautoxinas (GTX), descarbamolsaxitoxina (dcSTX), análogos no sulfatados, análogos mono-sulfatados, análogos disulfatados, análogos descarbamolados y análogos hidrófobos.

Cualquier descripción de los documentos de la técnica anterior en el presente documento, o declaraciones en el presente documento derivadas o basadas en estos documentos, no es una admisión de que los documentos o declaraciones derivadas sean parte del conocimiento general común de la técnica relevante.

Descripción detallada

Los presentes inventores han determinado que los dinoflagelados son productores de saxitoxina (STX) y han identificado genes responsables de la producción de STX en estos microorganismos. En base a este descubrimiento, los inventores han desarrollado un ensayo capaz de discernir entre especies de dinoflagelados productores de STX y especies de dinoflagelados que no producen STX.

Por consiguiente, ciertos aspectos de la invención se refieren a la provisión de secuencias polinucleotídicas y polipeptídicas de STX presentes en dinoflagelados.

También se proporcionan métodos para la detección de dinoflagelados productores de STX en una muestra dada en base a la detección de la presencia (o ausencia) de una o más secuencias de la invención en la muestra.

También se proporcionan kits para la detección de dinoflagelados productores de STX en una muestra dada que comprende uno o más agentes para detectar la presencia (o ausencia) de una o más secuencias de la invención en la muestra.

Polinucleótidos y polipéptidos

Se divulgan en el presente documento secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de saxitoxina de dinoflagelado ("polinucleótidos de la invención" y "polipéptidos de la invención", respectivamente). Los polinucleótidos de la invención pueden ser ácidos desoxirribonucleicos (ADN), ácidos ribonucleicos (ARN) o ácidos desoxirribonucleicos complementarios (ADNc).

En ciertas realizaciones, las secuencias son secuencias de polinucleótidos del gen de saxitoxina A (*sxtA*) o secuencias de polipéptido de saxitoxina A (STXA).

Las secuencias de polinucleótidos de *sxtA* pueden comprender uno o más dominios catalíticos del gen *sxtA* (es decir, los dominios catalíticos *sxtA1*, *sxtA2*, *sxtA3* o *sxtA4*), o uno o más fragmentos de los mismos. A modo de ejemplo no limitante únicamente, la secuencia *sxtA1* puede definirse por los nucleótidos 160-1821 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1) o los nucleótidos 277-2022 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3). La secuencia *sxtA2* puede definirse por los nucleótidos 1837-2415 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1) o los nucleótidos 2038-2604 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3). La secuencia *sxtA3* puede definirse por los nucleótidos 2479-2694 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1) o los nucleótidos 2722-2949 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3). La secuencia *sxtA4* puede definirse por los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3) o los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3).

Otros ejemplos no limitantes de secuencias de polinucleótidos del gen *sxtA* de la invención incluyen los proporcionados en el GenBank número de acceso JF343238 y JF343239 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3).

Las secuencias polipeptídicas de STXA pueden comprender uno cualquiera o más dominios catalíticos de proteína STX (es decir, los dominios catalíticos STXA1, STXA2, STXA3 o STXA4) o uno o más fragmentos de los mismos. A modo de ejemplo no limitante únicamente, la secuencia STXA1 puede definirse por los residuos de aminoácidos 1-

554 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2) o los residuos de aminoácidos 1-582 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4). La secuencia STXA2 puede definirse por los residuos de aminoácidos 560-752 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2) o los residuos de aminoácidos 588-776 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4). La secuencia STXA3 puede definirse por los residuos de aminoácidos 774-845 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2) o los residuos de aminoácidos 816-891 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4). La secuencia STXA4 puede definirse por los residuos de aminoácidos 947-1281 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4).

Otros ejemplo no limitantes de secuencias de polipéptidos STX de la invención incluyen las proporcionadas en el GenBank número de acceso JF343238 y JF343239 (SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 4).

15 Preferiblemente, las secuencias polinucleotídicas y polipeptídicas son de dinoflagelados productores de saxitoxina. Por ejemplo, las secuencias polinucleotídicas y polipeptídicas pueden ser de dinoflagelados del orden *Gonyaulacales* o *Gymnodiniales*. Preferiblemente, los dinoflagelados son del género *Alexandrium* (anteriormente *Gonyaulax*), *Pyrodinium* o *Gymnodinium*.

20 Los ejemplos no limitantes de especies *Alexandrium* preferidas incluyen *A. catenella* (por ejemplo, las cepas ACCC01, ACSH02, ACTRA02 y CCMP1493), *A. fundyense* (por ejemplo, las cepas CCMP1719 y CCMP1979), *A. lusitanicum*, *A. minutum* (por ejemplo, las cepas CCMP1888, CCMP113, ALSP01, ALSP02 y AMD16/AMAD16), *A. ostenfeldii*, y *A. tamarense* (por ejemplo, las cepas CCMP1771, ATBB01, ATEB01, ATCJ33 y ATNWB01). Los ejemplos no limitantes de especies preferidas de *Gymnodinium* incluyen *G. catenatum* (por ejemplo, las cepas GCTRA01 y CS-395). Los ejemplos no limitantes de especies preferidas de *Pyrodinium* incluyen *P. bahamense* var *compressum*.

Los fragmentos de ambos polinucleótidos de la invención y polipéptidos de la invención también se proporcionan en el presente documento.

30 Un "fragmento" de polinucleótido como se contempla en el presente documento es una molécula de polinucleótido que es un constituyente de un polinucleótido de la invención o variante del mismo. Los fragmentos de un polinucleótido no necesitan necesariamente codificar polipéptidos que retengan actividad biológica aunque esto no está excluido de ser el caso. En ciertas realizaciones, el fragmento puede ser útil como sonda de hibridación o cebador de PCR. El fragmento puede derivarse escindiendo un polinucleótido de la invención o, como alternativa, puede sintetizarse por otros medios, por ejemplo, mediante síntesis química. Un fragmento de polinucleótido como se contempla en el presente documento puede ser de menos de aproximadamente 5000 nucleótidos de longitud, menos de aproximadamente 4500 nucleótidos de longitud, o menos de aproximadamente 4000, 3500, 3000, 2500, 2000, 1500, 1000, 750, 500, 400, 300, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25 o 15 nucleótidos de longitud. Adicionalmente, o como alternativa, un fragmento de polinucleótido como se contempla en el presente documento puede tener más de aproximadamente 15 nucleótidos de longitud, más de aproximadamente 25 nucleótidos de longitud, o más de aproximadamente 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 o 4000 nucleótidos de longitud. Adicionalmente o como alternativa, un fragmento de polinucleótido como se contempla en el presente documento puede tener entre aproximadamente 25 y aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, entre aproximadamente 25 y aproximadamente 75 nucleótidos de longitud, o entre aproximadamente 25 y aproximadamente 100, 100 y 250, 100 y 500, 250 y 500, 100 y 1000, 500 y 2000, 1000 y 2000 nucleótidos de longitud.

Los fragmentos de polinucleótidos de la invención comprenden fragmentos del gen *sxtA*. Por ejemplo, los fragmentos de polinucleótidos de la invención pueden comprender uno cualquiera o más de los dominios catalíticos *sxtA1*, *sxtA2*, *sxtA3* o *sxtA4*, o uno o más fragmentos de los mismos. Los fragmentos polipeptídicos de la invención comprenden fragmentos de la proteína STX. Por ejemplo, los fragmentos de polinucleótidos de la invención pueden comprender uno cualquiera o más de los dominios catalíticos de STXA1, STXA2, STXA3 o STXA4, o uno o más fragmentos de los mismos.

55 Los ejemplos específicos y no limitantes de los fragmentos de la secuencia de polinucleótidos del gen *sxtA* de la invención incluyen los proporcionados en el GenBank números de acceso JF343240 - JF343432 (SEQ ID NO: 5 - SEQ ID NO: 197), y los expuestos en las SEQ ID NOs: 224-227, 230-242 y 247.

Los ejemplos específicos y no limitativos adicionales de fragmentos de la secuencia de polinucleótidos del gen *sxtA* de la invención incluyen los definidos por los nucleótidos 3115-4121 y los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 3), y fragmentos y variantes de la misma.

5

Los ejemplos específicos y no limitantes de secuencias del dominio catalítico de *sxtA1* incluyen los expuestos en las SEQ ID NOs: 224-227 y 247.

Los ejemplos específicos y no limitantes de secuencias del dominio catalítico de *sxtA4* incluyen los expuestos en las
10 SEQ ID NOs: 230-242.

Un "fragmento" polipeptídico como se contempla en el presente documento es una molécula polipeptídica que es un constituyente de un polipéptido de la invención o una variante del mismo. Típicamente, el fragmento posee actividad biológica cualitativa en común con el polipéptido del cual es un constituyente o aunque esto no sea necesariamente
15 requerido. Un fragmento de polipéptido como se contempla en el presente documento puede ser menor de aproximadamente 1500 residuos de aminoácidos de longitud, menor de aproximadamente 1400 residuos de aminoácidos de longitud, o menor de aproximadamente 1300, 1200, 1100, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25 o 15 residuos de aminoácidos de longitud. Adicionalmente o como alternativa, un fragmento polipeptídico como se contempla en el presente documento puede ser de más de aproximadamente 15
20 residuos de aminoácidos de longitud, más de aproximadamente 25 residuos de aminoácidos de longitud, o más de aproximadamente 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, o 1300 residuos de aminoácidos de longitud. Adicionalmente o como alternativa, un fragmento polipeptídico como se contempla en el presente documento puede ser de entre aproximadamente 15 y aproximadamente 25 residuos de aminoácidos de longitud, entre aproximadamente 15 y aproximadamente 50 residuos de aminoácidos de longitud, o entre
25 aproximadamente 15 y 75, 15 y 100, 15 y 150, 25 y 50, 25 y 100, 50 y 100, 50 y 150, 100 y 200, 100 y 250, 100 y 300, 100 y 500, 500 y 750, 500 y 1000, o 1000 y 1300 residuos de aminoácidos de longitud.

Los ejemplos específicos y no limitantes de fragmentos de secuencia de polipéptidos de STXA de la invención incluyen los definidos por los residuos de aminoácidos X-Y de la secuencia de polipéptidos expuesta en el GenBank
30 número de acceso JF343248 (SEQ ID NO: 3), los definidos por los residuos de aminoácidos 947-1281 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4), y fragmentos y variantes de la misma.

Las variantes de polinucleótidos de la invención y polipéptidos de la invención, y fragmentos de los mismos, también
35 se proporcionan en el presente documento.

Una "variante" como se contempla en el presente documento, se refiere a una secuencia sustancialmente similar. En general, dos secuencias son "sustancialmente similares" si las dos secuencias tienen un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (porcentaje de "identidad de secuencia"), en una región
40 específica o, cuando no se especifica, por toda la secuencia. Por consiguiente, una "variante" de una secuencia polinucleotídica y polipeptídica desvelada en el presente documento puede compartir al menos un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 83%, 85%, 88%, 90%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% o un 99% de identidad de secuencia con la secuencia de referencia.

En general, las variantes de secuencias polipeptídicas poseen actividad biológica cualitativa en común. Las variantes de secuencia de polinucleótidos generalmente codifican polipéptidos que generalmente poseen actividad biológica cualitativa en común. También se incluyen dentro del significado del término "variante" los homólogos de los polinucleótidos de la invención y los polipéptidos de la invención. Un homólogo de polinucleótido es típicamente de una especie de dinoflagelado diferente pero que comparte sustancialmente la misma función o actividad biológica
50 que el polinucleótido correspondiente desvelado en el presente documento. Un homólogo de polipéptido es típicamente de una especie de dinoflagelado diferente pero que comparte sustancialmente la misma función o actividad biológica que el polipéptido correspondiente desvelado en el presente documento. El término "variante" también incluye análogos de los polipéptidos de la invención. Un "análogo" polipeptídico es un polipéptido que es un derivado de un polipéptido de la invención, cuyo derivado comprende la adición, eliminación, sustitución de uno o
55 más aminoácidos, de tal forma que el polipéptido conserva sustancialmente la misma función. La expresión "sustitución conservativa de aminoácidos" se refiere a una sustitución o reemplazo de un aminoácido por otro aminoácido con propiedades similares dentro de una cadena polipeptídica (secuencia primaria de una proteína). Por ejemplo, la sustitución del aminoácido cargado ácido glutámico (Glu) por el aminoácido cargado ácido aspártico (Asp) de manera similar sería una sustitución conservativa de aminoácidos.

Típicamente, los polinucleótidos y polipéptidos de la divulgación están "aislados". Se entenderá que el término "aislado" en este contexto significa que el polinucleótido o polipéptido se ha eliminado o no está asociado con algunos o ninguno de los demás componentes con los que se encontraría en su estado natural. Por ejemplo, un polinucleótido "aislado" puede eliminarse de otros polinucleótidos de una secuencia de polinucleótidos mayor, o puede eliminarse de componentes naturales tales como polinucleótidos no relacionados. Asimismo, un polipéptido "aislado" se puede eliminar de otros polipéptidos de una secuencia polipeptídica más grande, o se puede eliminar de componentes naturales tales como polipéptidos no relacionados. En aras de la claridad, un polinucleótido "aislado" de polipéptido también incluye un polinucleótido o polipéptido que no se ha tomado de la naturaleza, sino que se ha preparado de nuevo, tal como químicamente sintetizado y/o preparado por métodos recombinantes. Como se describe en el presente documento, un polipéptido aislado de la invención puede incluirse como una parte componente de un polipéptido o proteína de fusión más larga.

En ciertas realizaciones, los polinucleótidos de la divulgación se pueden clonar en un vector. El vector puede comprender, por ejemplo, una secuencia de ADN, ARN o ADN complementario (ADNc). El vector puede ser un vector plasmídico, un vector viral, o cualquier otro vehículo adecuado adaptado para la inserción de secuencias extrañas, su introducción en células y la expresión de las secuencias introducidas. Típicamente, el vector es un vector de expresión y puede incluir secuencias de control y procesamiento de la expresión tales como un promotor, un potenciador, sitios de unión a ribosomas, señales de poliadenilación y secuencias de terminación de la transcripción. La invención también contempla células huésped transformadas por dichos vectores. Por ejemplo, los polinucleótidos de la invención se pueden clonar en un vector que se transforma en una célula huésped bacteriana, por ejemplo, *E. coli*. Los métodos para la construcción de vectores y su transformación en células huésped se conocen generalmente en la técnica, y se describen en textos estándar tales como, por ejemplo, Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York; y Ausubel et al. (Eds) *Current Protocols in Molecular Biology* (2007), John Wiley and Sons, Inc.

Sondas, cebadores y anticuerpos

Los polinucleótidos de la divulgación incluyen derivados y fragmentos de los mismos para su uso como cebadores y sondas.

Los derivados y fragmentos pueden estar en forma de oligonucleótidos. Los oligonucleótidos son tramos cortos de residuos de nucleótidos adecuados para su uso en reacciones de amplificación de ácidos nucleicos tales como PCR, siendo típicamente de al menos aproximadamente 5 nucleótidos a aproximadamente 80 nucleótidos de longitud, más típicamente de aproximadamente 10 nucleótidos de longitud a aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, y aún más típicamente de aproximadamente 15 nucleótidos de longitud a aproximadamente 30 nucleótidos de longitud.

En una realización, la sonda comprende o consiste en una secuencia como se expone en la SEQ ID NO: 245 o SEQ ID NO: 246.

Las sondas son secuencias de nucleótidos de longitud variable, por ejemplo, entre aproximadamente 10 nucleótidos y varios miles de nucleótidos, para su uso en la detección de secuencias homólogas, típicamente por hibridación. Las sondas de hibridación pueden ser fragmentos de ADN genómico, fragmentos de ADNc, fragmentos de ARN u otros oligonucleótidos.

Los métodos para el diseño y/o la producción de sondas y/o cebadores de nucleótidos se conocen en la técnica, y se describen en textos estándar tales como Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York; y publicaciones tales como Itakura et al. (1984) *Annu. Rev. Biochem.* 53: 323; Innis et al. (Eds) (1990) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, Nueva York; Innis y Gelfand, (Eds) (1995) *PCR Strategies*, Academic Press, Nueva York; y Innis y Gelfand, (Eds) (1999) *PCR Methods Manual*, Academic Press, Nueva York.

Se pueden preparar cebadores y sondas de polinucleótidos, por ejemplo, mediante técnicas de síntesis química tales como los métodos de fosfodiéster y fosfotriéster (véase, por ejemplo, Narang et al. (1979) *Meth. Enzymol.* 68: 90; Brown et al. (1979) *Meth. Enzymol.* 68:109; y la Patente de Estados Unidos N.º 4356270), y el método de dietilfosoramidita (véase Beaucage et al. (1981) *Tetrahedron Letters*, 22: 1859-1862).

Los polinucleótidos de la divulgación que incluyen las sondas y cebadores mencionados anteriormente, pueden

marcarse mediante la incorporación de un marcador para facilitar su detección. Las técnicas para marcar y detectar ácidos nucleicos se describen, por ejemplo, en textos estándar tales como Ausubel et al. (Eds) Current Protocols in Molecular Biology (2007), John Wiley and Sons, Inc. Los ejemplos no limitantes de marcadores adecuados incluyen moléculas fluorescentes (por ejemplo, acetilaminofluoreno, 5-bromodesoxiuridina, digoxigenina y fluoresceína) e isótopos radiactivos (por ejemplo, ^{32}P , ^{35}S , ^3H , ^{33}P). La detección del marcador se puede lograr, por ejemplo, mediante técnicas químicas, fotoquímicas, inmunoquímicas, bioquímicas o espectroscópicas.

Las sondas y los cebadores se pueden usar, por ejemplo, para detectar o aislar dinoflagelados en una muestra de interés. En ciertas realizaciones, las sondas y cebadores pueden usarse para detectar dinoflagelados productores de STX en una muestra de interés. Adicionalmente o como alternativa, las sondas o cebadores se pueden usar para aislar secuencias correspondientes en otros organismos incluyendo, por ejemplo, otras especies de dinoflagelados. Se pueden usar métodos tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación y similares, para identificar dichas secuencias en base a su homología de secuencia con las secuencias expuestas en el presente documento. Las secuencias que se seleccionan en base a su identidad de secuencia con las secuencias completas expuestas en el presente documento o a fragmentos de las mismas se incluyen por las realizaciones. Dichas secuencias incluyen secuencias que son ortólogos de las secuencias desveladas. El término "ortólogos" se refiere a genes derivados de un gen ancestral común y que se encuentran en diferentes especies como resultado de la especiación. Los genes encontrados en diferentes especies se consideran ortólogos cuando sus secuencias de nucleótidos y/o sus secuencias de proteínas codificadas comparten una identidad sustancial como se define en otra parte en el presente documento. Las funciones de los ortólogos suelen estar altamente conservadas entre las especies.

En técnicas de hibridación, la totalidad o parte de una secuencia de nucleótidos conocida se usa para generar una sonda que se hibrida selectivamente a otras secuencias de ácidos nucleicos correspondientes presentes en una muestra dada. Las sondas de hibridación pueden ser fragmentos de ADN genómico, fragmentos de ADNc, fragmentos de ARN, u otros oligonucleótidos, y pueden marcarse con un marcador detectable. Por lo tanto, por ejemplo, las sondas para la hibridación pueden prepararse marcando oligonucleótidos sintéticos basados en las secuencias de la invención. El nivel de homología (identidad de secuencia) entre la sonda y la secuencia diana se determinará en gran medida por la rigurosidad de las condiciones de hibridación. En particular, la secuencia de nucleótidos utilizada como sonda puede hibridarse con un homólogo u otra variante de un polinucleótido desvelado en el presente documento en condiciones de baja rigurosidad, rigurosidad media o alta rigurosidad. Existen numerosas condiciones y factores, bien conocidos por los expertos en la técnica, que pueden emplearse para alterar la rigurosidad de la hibridación, tales como, por ejemplo, la longitud y la naturaleza (ADN, ARN, composición de base) del ácido nucleico a hibridar con un ácido nucleico especificado; concentración de sales y otros componentes, tales como la presencia o ausencia de formamida, sulfato de dextrano, polietilenglicol, etc.; y alterando la temperatura de las etapas de hibridación y/o lavado.

Bajo un enfoque de PCR, los cebadores de oligonucleótidos pueden diseñarse para su uso en reacciones de PCR para amplificar secuencias de ADN correspondientes a partir de ADNc o ADN genómico extraído de cualquier organismo de interés. Los métodos para diseñar cebadores de PCR y clonación por PCR son generalmente conocidos en la técnica. Los métodos conocidos de PCR incluyen, pero sin limitación, métodos que usan cebadores emparejados, cebadores anidados, cebadores específicos individuales, cebadores degenerados, cebadores específicos de gen, cebadores específicos de vector, cebadores parcialmente desapareados, y similares.

El destinatario experto reconocerá que los cebadores descritos en el presente documento para su uso en PCR o RT-PCR también se pueden usar como sondas para la detección de secuencias de genes *sxt* de dinoflagelados.

También se contemplan en la divulgación anticuerpos que son capaces de unirse específicamente a polipéptidos descritos en la descripción. Los anticuerpos pueden usarse para detectar y analizar cualitativa o cuantitativamente uno o más polipéptidos STX en una muestra dada. Al "unirse específicamente", se entenderá que el anticuerpo es capaz de unirse al polipéptido diana o fragmento del mismo con una afinidad mayor que la que se une a una proteína no relacionada. Por ejemplo, el anticuerpo se puede unir al polipéptido o fragmento del mismo, con una constante de unión en el intervalo de al menos aproximadamente 10^{-4} M a aproximadamente 10^{-10} M. Preferiblemente, la constante de unión es al menos aproximadamente 10^{-5} M, o al menos aproximadamente 10^{-6} M. Más preferiblemente, la constante de unión es al menos aproximadamente 10^{-7} M, al menos aproximadamente 10^{-8} M, o al menos aproximadamente 10^{-9} M o más. En el contexto de la presente invención, la referencia a un anticuerpo específico para un polipéptido STX de la invención incluye un anticuerpo que es específico de un fragmento del polipéptido.

Los anticuerpos de la divulgación pueden existir en una diversidad de formas incluyendo, por ejemplo, en forma de un anticuerpo completo, o como un fragmento de anticuerpo, u otro fragmento inmunológicamente activo del mismo, tal como regiones determinantes de complementariedad. De forma similar, el anticuerpo puede existir como un fragmento de anticuerpo que tiene dominios funcionales de unión a antígeno, es decir, dominios variables de cadena pesada y ligera. Además, el fragmento de anticuerpo puede existir en una forma seleccionada del grupo que consiste en, pero sin limitación: Fv, Fab, F(ab)₂, scFv (Fv monocatenario), dAb (anticuerpo de dominio individual), anticuerpos quiméricos, anticuerpos bi-específicos, diacuerpos y triacuerpos.

Se puede producir un "fragmento" de anticuerpo por modificación de un anticuerpo completo o por síntesis del fragmento de anticuerpo deseado. Los métodos para generar anticuerpos, incluyendo fragmentos de anticuerpos, se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, síntesis mediante tecnología de ADN recombinante. El destinatario experto conocerá los métodos de síntesis de anticuerpos, tales como los descritos en, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 5296348 y textos estándar tales como Ausubel et al. (Eds) *Current Protocols in Molecular Biology* (2007), John Wiley and Sons, Inc.

Preferiblemente, los anticuerpos se preparan a partir de regiones discretas o fragmentos del polipéptido STX de interés. Una porción antigénica de un polipéptido de interés puede ser de cualquier longitud apropiada, tal como de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 aminoácidos. Preferiblemente, una porción antigénica contiene al menos aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 residuos de aminoácidos.

Los anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de la divulgación se pueden preparar, por ejemplo, usando polipéptidos STX purificados de la invención, o secuencias de polinucleótidos sxt purificadas de la invención que codifican polipéptidos STX de la invención usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que contiene típicamente porciones de Fab, se puede preparar usando la tecnología de hibridoma descrita en Harlow y Lane (Eds) *Antibodies - A Laboratory Manual*, (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y.; Coligan, *Current Protocols in Immunology* (1991); Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (1986) 2ª ed; y Kohler & Milstein, (1975) *Nature* 256: 495-497. Dichas técnicas incluyen, pero sin limitación, preparación de anticuerpos por selección de anticuerpos de bibliotecas de anticuerpos recombinantes en fagos o vectores similares, así como preparación de anticuerpos policlonales y monoclonales inmunizando conejos o ratones (véase, por ejemplo, Huse et al. (1989) *Science* 246: 1275-1281; Ward et al. (1989) *Nature* 341: 544-546).

También se entenderá que los anticuerpos de la divulgación incluyen anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos y anticuerpos completamente humanos. Un anticuerpo de la invención puede ser un anticuerpo biespecífico, que tiene especificidad de unión a más de un antígeno o epítipo. Por ejemplo, el anticuerpo puede tener especificidad para uno o más polipéptidos STX o fragmentos de los mismos, y adicionalmente tener especificidad de unión por otro antígeno. Los métodos para la preparación de anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos completamente humanos y anticuerpos biespecíficos se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, los descritos en la Patente de Estados Unidos N.º 6995243.

Generalmente, una muestra que comprende potencialmente un polipéptido STX de la divulgación se puede poner en contacto con un anticuerpo que se une específicamente al polipéptido STX o fragmento del mismo. Opcionalmente, el anticuerpo puede fijarse a un soporte sólido para facilitar el lavado y posterior aislamiento del complejo, antes de poner en contacto el anticuerpo con una muestra. Los ejemplos de soportes sólidos incluyen, por ejemplo, placas de microtitulación, perlas, marcas o microperlas. Los anticuerpos también se pueden unir a una matriz ProteinChip o un sustrato de sonda como se ha descrito anteriormente.

Las etiquetas detectables para la identificación de anticuerpos unidos a polipéptidos de la invención incluyen, pero sin limitación, fluorocromos, tintes fluorescentes, radiomarcadores, enzimas tales como peróxido de rábano picante, fosfatasa alcalina y otros usados comúnmente en la técnica, y etiquetas colorimétricas, incluyendo oro coloidal o perlas de vidrio o plástico de colores. Como alternativa, el anticuerpo se puede detectar usando un ensayo indirecto, en el que, por ejemplo, se usa un segundo anticuerpo marcado para detectar el anticuerpo específico del polipéptido unido.

Los métodos para detectar la presencia, o medir la cantidad, de un complejo anticuerpo-marcador incluyen, por ejemplo, detección de fluorescencia, quimioluminiscencia, luminiscencia, absorbancia, birrefringencia, transmitancia, reflectancia o índice de refracción, tal como resonancia de plasmón superficial, elipsometría, un método especular resonante, un método de guía de onda de acoplador de rejilla, o interferometría. Los métodos de radiofrecuencia incluyen espectroscopia de resonancia multipolar. Los métodos electroquímicos incluyen métodos de amperometría y voltametría. Los métodos ópticos incluyen métodos de imágenes y métodos sin imágenes y microscopía.

Los ensayos útiles para detectar la presencia, o medir la cantidad, de un complejo anticuerpo-marcador incluyen, incluyen, por ejemplo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), un ensayo radioinmune (RIA), o un ensayo de transferencia Western. Dichos métodos se describen, por ejemplo, en Stites & Terr, (Eds) (1991) Clinical Immunology, 7ª ed; y Asai, (Ed) (1993) Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology, volumen 37.

Métodos para detectar dinoflagelados

La divulgación proporciona métodos para la detección y/o el aislamiento de polinucleótidos de la invención y/o polipéptidos de la invención ("métodos de la invención").

En una realización, la invención proporciona un método para detectar un dinoflagelado en una muestra. El método comprende obtener una muestra para su uso en el método, y detectar la presencia de un polinucleótido de la invención y/o un polipéptido de la invención, o un fragmento o variante de los mismos en la muestra. La presencia del polinucleótido, polipéptido o variante o fragmento del mismo en la muestra es indicativo de dinoflagelados en la muestra.

Los presentes inventores han determinado que el gen *sxtA* está presente en dinoflagelados productores de saxitoxina pero ausente en dinoflagelados que no producen saxitoxina. En particular, se ha identificado que la detección de los dominios catalíticos de *sxtA1* y/o *sxtA4* del gen *sxtA* son indicativos de dinoflagelados productores de saxitoxina.

Por consiguiente, en otra realización, la invención proporciona un método para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra. El método comprende obtener una muestra para su uso en el método, y detectar la presencia de un polinucleótido de la invención y/o un polipéptido de la invención, o un fragmento o variante de los mismos en la muestra. La presencia del polinucleótido, polipéptido, o variante o fragmento de los mismos en la muestra es indicativo de un dinoflagelado productor de saxitoxina en la muestra.

En otra realización, la invención proporciona un método para determinar la ausencia de dinoflagelados productores de saxitoxina en una muestra. El método comprende obtener una muestra para su uso en el método, y determinar la ausencia de un polinucleótido de la invención y/o un polipéptido de la invención, o un fragmento o variante de los mismos en la muestra. La ausencia del polinucleótido, polipéptido, o variante o fragmento de los mismos en la muestra es indicativo de que los dinoflagelados productores de saxitoxina no están presentes en la muestra.

En el contexto de los métodos de la divulgación (incluyendo aquellos a los que se hace referencia en los párrafos inmediatamente anteriores), la secuencia de polinucleótidos puede ser una secuencia del gen saxitoxina A (*sxtA*). La secuencia de polinucleótidos de *sxtA* puede comprender uno o más dominios catalíticos del gen *sxtA* (es decir, los dominios catalíticos *sxtA1*, *sxtA2*, *sxtA3* o *sxtA4*), o uno o más fragmentos de los mismos. Preferiblemente, la secuencia de polinucleótidos *sxtA* comprende un dominio *sxtA1* y/o *sxtA4*, o uno o más fragmentos de la misma. Más preferiblemente, la secuencia de polinucleótidos *sxtA* comprende un dominio *sxtA4*, o uno o más fragmentos de la misma. La secuencia polipeptídica puede ser una secuencia del polipéptido saxitoxina A (STXA).

En algunas realizaciones, la secuencia de polinucleótidos corresponde a una secuencia proporcionada en uno cualquiera de los números de acceso al GenBank JF343238 y JF343239 (SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3), o un fragmento o una variante de cualquiera de las secuencias.

En otras realizaciones, la secuencia de polinucleótidos corresponde a una secuencia proporcionada en uno cualquiera de los números de acceso al GenBank JF343240 - JF343432 (SEQ ID NO: 5 - SEQ ID NO: 197), o un fragmento o una variante de una cualquiera de las secuencias.

En otras realizaciones, la secuencia de polinucleótidos comprende una secuencia de dominio catalítico de *sxtA1* proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 224-227 y 247, o un fragmento o una variante de una cualquiera de las secuencias.

En otras realizaciones, la secuencia de polinucleótidos comprende una secuencia de dominio catalítico de *sxtA4* proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 230-242, o un fragmento o una variante de una cualquiera de las secuencias.

En otras realizaciones, la secuencia de polinucleótidos puede comprender los nucleótidos 160-1821 de la secuencia

de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1); los nucleótidos 277-2022 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3); los nucleótidos 1837-2415 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1); los nucleótidos 2038-2604 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3); los nucleótidos 2479-2694 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 1); los nucleótidos 2722-2949 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3); los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3); los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3); o un fragmento o una variante de una cualquiera de las secuencias.

En el contexto de los métodos de la divulgación (incluyendo los referidos en los párrafos anteriores), la secuencia polipeptídica puede ser una secuencia de proteína saxitoxina A (STXA). La secuencia polipeptídica de STXA puede comprender uno cualquiera o más dominios catalíticos de proteína STXA (es decir, los dominios catalíticos STXA1, STXA2, STXA3 o STXA4) o uno o más fragmentos de los mismos. Preferiblemente, la secuencia del polipéptido STXA comprende un dominio STXA1 o STXA4, o uno o más fragmentos del mismo. Más preferiblemente, la secuencia polipeptídica de STXA comprende un dominio STXA4, o uno o más fragmentos del mismo.

En algunas realizaciones, la secuencia de polipéptido corresponde a una secuencia proporcionada en el GenBank números de acceso JF343238 o JF343239 (SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 4), o un fragmento o una variante de cualquiera de las secuencias.

En otras realizaciones, la secuencia polipeptídica puede comprender los residuos de aminoácidos 1-554 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2); los residuos de aminoácidos 1-582 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4); los residuos de aminoácidos 560-752 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2); los residuos de aminoácidos 588-776 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4); los residuos de aminoácidos 774-845 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343238 (SEQ ID NO: 2); los residuos de aminoácidos 816-891 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4); los residuos de aminoácidos 947-1281 de la secuencia polipeptídica expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 4); o un fragmento o una variante de una cualquiera de las secuencias.

Los dinoflagelados detectados en una muestra o determinados como ausentes de una muestra usando los métodos de la invención pueden ser dinoflagelados productores de saxitoxina. Sin imponer ninguna limitación particular, los dinoflagelados pueden ser del orden *Gonyaulacales* o *Gymnodiniales*. Los dinoflagelados pueden ser del género *Alexandrium* (anteriormente *Gonyaulax*), *Pyrodinium* o *Gymnodinium*. Los ejemplos adecuados de especies *Alexandrium* incluyen *A. catenella* (por ejemplo, las cepas ACCC01, ACSH02, ACTRA02 y CCMP1493), *A. fundyense* (por ejemplo, las cepas CCMP1719 y CCMP1979), *A. lusitanicum*, *A. minutum* (por ejemplo, las cepas CCMP1888, CCMP113, ALSP01, ALSP02 y AMD16/AMAD16), *A. ostentfeldii* y *A. tamarense* (por ejemplo, las cepas CCMP1771, ATBB01, ATEB01, ATCJ33 y ATNWB01). Los ejemplos adecuados de especies *Gymnodinium* incluyen *G. catenatum* (por ejemplo, las cepas GCTRA01 y CS-395). Los ejemplos adecuados de especies *Pyrodinium* incluyen *P. bahamense var compressum*.

Una muestra para su uso en los métodos de la invención se puede "obtener" por cualquier medio. Por ejemplo, la muestra puede obtenerse retirándola de un estado de origen natural (por ejemplo, una muestra de un lago, océano o río), o retirándola de un estado "no natural" (por ejemplo, un cultivo en un entorno de laboratorio, presa, depósito, tanque, etc.).

Puede sospecharse que una muestra para su uso en los métodos de la invención comprende uno o más dinoflagelados, o uno o más dinoflagelados productores de saxitoxina. La muestra puede ser una muestra comparativa o de control, por ejemplo, una muestra que comprende una concentración o densidad conocida de dinoflagelados o dinoflagelados productores de saxitoxina o una muestra que comprende una o más especies conocidas o cepas de dinoflagelados o dinoflagelados productores de saxitoxina. La muestra puede obtenerse a partir de cualquier fuente. Por ejemplo, una muestra puede ser una muestra ambiental. La muestra ambiental puede derivarse, por ejemplo, de agua salada, agua dulce, un río, un lago, un océano o las aguas costeras. La muestra ambiental puede derivarse de una proliferación de dinoflagelados. Como alternativa, la muestra puede derivarse de una fuente de laboratorio, tal como un cultivo o una fuente comercial. Como alternativa, la muestra puede derivarse de una fuente biológica tal como, por ejemplo, tejido o fluido biológico. La muestra puede modificarse desde su

estado original, por ejemplo, mediante purificación, dilución o la adición de cualquier otro componente o componentes.

- En ciertas realizaciones, una muestra analizada usando los métodos de la invención puede proporcionar información con respecto a la presencia o ausencia de saxitoxina en animales que pueblan la fuente de la muestra. Por ejemplo, la muestra puede ensayarse para determinar la presencia o ausencia de saxitoxina en alimentos marinos animales tales como, por ejemplo, pescado (por ejemplo, pez globo) y en particular mariscos (por ejemplo, mejillones, almejas, ostras, vieiras y similares).
- 10 Los polinucleótidos y polipéptidos para su uso en los métodos de la invención se pueden aislar (es decir, extraer) de microorganismos en cultivo mixto o como especies individuales o aislados de género. Por consiguiente, los microorganismos de una muestra pueden cultivarse antes de la extracción, o la extracción puede realizarse directamente en una muestra dada. Los métodos adecuados para el aislamiento (es decir, extracción) y la purificación de polinucleótidos y polipéptidos para el análisis usando métodos de la invención son generalmente conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en textos estándar tales como Ausubel (Eds) *Current Protocols in Molecular Biology* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Coligan et al. (Eds) *Current Protocols in Protein Science* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Walker, (Ed) (1988) *New Protein Techniques: Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Clifton, N.J; y Scopes, R. K. (1987) *Protein Purification: Principles and Practice*, 3ª. Ed., Springer-Verlag, Nueva York, N.Y. Se describen métodos adicionales en Neilan (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2286-2291. Las técnicas de purificación de polipéptidos adecuadas aptas para su uso en los métodos de la invención incluyen, pero sin limitación, cromatografía de fase inversa, cromatografía de interacción hidrófoba, centrifugación, filtración en gel, precipitación con sulfato de amonio, e intercambio iónico.

- En realizaciones alternativas, los métodos de la invención pueden realizarse sin aislar ácidos nucleicos y/o polipéptidos de la muestra.

- La detección de la presencia (o determinación de la ausencia) de polinucleótidos de la invención y/o polipéptidos de la invención en una muestra dada se puede realizar usando cualquier técnica adecuada. Dichas técnicas adecuadas pueden implicar típicamente el uso de un cebador, sonda o anticuerpo específico para uno cualquiera o más polinucleótidos de la invención o uno cualquiera o más polipéptidos de la invención. Las técnicas adecuadas incluyen, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y variaciones relacionadas de esta técnica (por ejemplo, PCR cuantitativa), ensayos basados en anticuerpos tales como ELISA, transferencia Western, citometría de flujo, microscopía fluorescente, y similares. Estas y otras técnicas adecuadas son generalmente conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en textos estándar tales como Coligan et al. (Eds) *Current Protocols in Protein Science* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Walker, (Ed) (1988) *New Protein Techniques: Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Clifton, N.J; y Scopes (1987) *Protein Purification: Principles and Practice*, 3ª. Ed., Springer-Verlag, Nueva York, N.Y.

- En realizaciones preferidas, la detección de la presencia (o determinación de la ausencia) de polinucleótidos de la invención en una muestra dada se logra por amplificación de ácidos nucleicos extraídos de una muestra de interés mediante reacción en cadena de la polimerasa usando cebadores que hibridan específicamente con la secuencia de polinucleótidos, y detectando la secuencia amplificada. Bajo el enfoque de PCR, los cebadores de oligonucleótidos pueden diseñarse para su uso en reacciones de PCR para amplificar polinucleótidos de la invención tales como, por ejemplo, ARN (por ejemplo, ARNm), ADN y/o polinucleótidos de ADNc. Los métodos adecuados de PCR incluyen, pero sin limitación, los que usan cebadores emparejados, cebadores anidados, cebadores específicos individuales, cebadores degenerados, cebadores específicos de gen, cebadores específicos de vector, cebadores parcialmente desapareados, y similares. Los métodos para diseñar cebadores de PCR y RT-PCR son generalmente conocidos en la técnica y se desvelan, por ejemplo, en textos estándar tales como Ausubel et al. (Eds) *Current Protocols in Molecular Biology* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Maniatis et al. *Molecular Cloning* (1982), 280-281; Innis et al. (Eds) (1990) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Academic Press, Nueva York); Innis y Gelfand, (Eds) (1995) *PCR Strategies* (Academic Press, Nueva York); Innis y Gelfand, (Eds) (1999) *PCR Methods Manual* (Academic Press, Nueva York); y Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York).

- El experto en la técnica apreciará fácilmente que diversos parámetros de los procedimientos de PCR y RT-PCR pueden alterarse sin afectar a la capacidad para obtener el producto deseado. Por ejemplo, la concentración de sal se puede variar o el tiempo y/o la temperatura de una o más de las etapas de desnaturalización, hibridación y extensión pueden variarse. De forma similar, la cantidad de plantilla de ADN, ADNc o ARN también se puede variar dependiendo de la cantidad de ácido nucleico disponible o la cantidad óptima de plantilla requerida para la

amplificación eficiente. Los cebadores para su uso en los métodos y kits de la presente invención son típicamente oligonucleótidos, siendo típicamente de al menos aproximadamente 5 nucleótidos a aproximadamente 80 nucleótidos de longitud, más típicamente de aproximadamente 10 nucleótidos de longitud a aproximadamente 50 nucleótidos de longitud, y aún más típicamente de aproximadamente 15 nucleótidos de longitud a aproximadamente 30 nucleótidos de longitud.

El experto en la técnica reconocerá que los cebadores de la divulgación pueden ser útiles para varias aplicaciones diferentes, incluyendo, pero sin limitación, PCR, RT-PCR y como sondas para la detección de polinucleótidos de la invención. Dichos cebadores se pueden preparar mediante cualquier método adecuado, incluyendo, por ejemplo, síntesis química directa o clonación y restricción de secuencias apropiadas. No todas las bases en el cebador necesitan reflejar la secuencia de la molécula de plantilla en la que se hibridará el cebador. El cebador solo necesita contener suficientes bases complementarias para permitir que el cebador hibride con la plantilla. Un cebador también puede incluir bases de desapareamiento en una o más posiciones, que son bases que no son complementarias a las bases en la plantilla, sino que están diseñadas para incorporar cambios en el ADN tras la extensión o amplificación de la base. Un cebador puede incluir bases adicionales, por ejemplo en forma de una secuencia de reconocimiento de enzima de restricción en el extremo 5', para facilitar la clonación del ADN amplificado.

Los métodos de la divulgación implican detectar la presencia (o determinar la ausencia) de polinucleótidos de la invención y/o polipéptidos de la invención en una muestra dada. Como se ha indicado anteriormente, las secuencias pueden comprender secuencias de saxitoxina A que incluyen una cualquiera o más de las secuencias del dominio catalítico de saxitoxina A1, A2, A3 o A4 (o uno o más fragmentos de la misma). Preferiblemente, la secuencia comprende el dominio de saxitoxina A1 y/o de saxitoxina A4 (o uno o más fragmentos de la misma). Más preferiblemente, la secuencia comprende el dominio de saxitoxina A4 (o uno o más fragmentos de la misma).

El experto en la técnica reconocerá que puede usarse cualquier cebador que sea capaz de amplificar un polinucleótido de la invención, cualquier sonda capaz de detectar un polinucleótido de la invención, o cualquier anticuerpo capaz de detectar un polipéptido de la invención, al realizar los métodos de la invención. En realizaciones preferidas, los cebadores, las sondas y los anticuerpos se unen específicamente a una cualquiera o más de las secuencias de saxitoxina A a las que se hace referencia en el párrafo anterior (es decir, el párrafo directamente anterior).

Al "unirse específicamente" se entenderá que el cebador, la sonda o el anticuerpo es capaz de unirse a la secuencia diana con una afinidad mayor que la que se une a una secuencia no relacionada. Por consiguiente, cuando se expone a una pluralidad de secuencias diferentes pero igualmente accesibles como posibles compañeros de unión, el cebador, sonda o anticuerpo específico para una secuencia diana se unirá selectivamente a la secuencia diana y otros compañeros de unión potenciales alternativos permanecerán sustancialmente sin unirse por el cebador, sonda o anticuerpo. En general, un cebador, sonda o anticuerpo específico para una secuencia diana se unirá preferiblemente a la secuencia diana al menos 10 veces, preferiblemente 50 veces, más preferiblemente 100 veces, y mucho más preferiblemente más de 100 veces más frecuentemente que a otras secuencias potenciales que no son secuencias diana. Un cebador, sonda o anticuerpo específico para una secuencia diana puede ser capaz de unirse a secuencias no diana a un nivel débil pero detectable. Esto se conoce comúnmente como unión de fondo y se puede distinguir fácilmente de la unión específica, por ejemplo, mediante el uso de un control apropiado.

En realizaciones preferidas, los cebadores, sondas o anticuerpos se unen específicamente a una secuencia de polinucleotídica o polipeptídica del dominio catalítico de A4, o un fragmento de la misma. Más preferiblemente, los cebadores, sondas o anticuerpos se unen específicamente a una secuencia de polinucleótidos o de polipéptidos del dominio catalítico de saxitoxina A4, o un fragmento de la misma.

Los cebadores y las sondas adecuadas pueden unirse específicamente a cualquier fragmento de una secuencia de polinucleótidos del dominio catalítico de saxitoxina A4. A modo de ejemplo no limitante únicamente, los cebadores y las sondas adecuadas pueden unirse específicamente a un fragmento de la secuencia de polinucleótidos del dominio catalítico de saxitoxina A4 definida por los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos expuesta en el GenBank número de acceso JF343239 (SEQ ID NO: 3). Los anticuerpos adecuados pueden unirse específicamente a un fragmento de una secuencia de polipéptidos del dominio catalítico de saxitoxina A4 codificada por dichas secuencias de polinucleótidos.

En algunas realizaciones, los métodos de la invención pueden implicar la detección de la presencia (o determinación de la ausencia) de polinucleótidos de la invención en una muestra que usa la amplificación por PCR. Los pares de

cebadores de oligonucleótidos adecuados para la amplificación por PCR de las secuencias de polinucleótidos de saxitoxina A pueden ser capaces de amplificar uno cualquiera o más dominios catalíticos del gen *sxt*, o uno o más fragmentos de los mismos. Preferiblemente, los cebadores amplifican una secuencia que comprende una secuencia de polinucleótidos del dominio catalítico de saxitoxina A4, o un fragmento de la misma. A modo de ejemplo no limitante únicamente, un par de cebadores adecuado para este fin puede comprender un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de SEQ ID NO: 198, o un fragmento o variante de la misma, y/o un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 199, o un fragmento o variante de la misma. Otros ejemplos no limitantes de pares de cebadores adecuados incluyen los expuestos en las SEQ ID NOs: 200-211, 220-223, 228-229 y 243-244 (incluyendo fragmentos y variantes de estas secuencias de pares de cebadores).

El experto en la técnica reconocerá que los cebadores ilustrados no pretenden limitar la región del gen de saxitoxina A amplificada o los métodos de la invención en general. El experto en la técnica también reconocerá que la invención no se limita al uso de los cebadores específicos ilustrados, y también se pueden usar secuencias de cebador alternativas, con la condición de que los cebadores estén diseñados apropiadamente para permitir la amplificación de secuencias de polinucleótidos de saxitoxina, preferiblemente secuencias de polinucleótidos de saxitoxina A, y más preferiblemente secuencias de polinucleótidos del dominio de saxitoxina A4.

En otras realizaciones, los métodos de la invención pueden implicar la detección de la presencia (o determinación de la ausencia) de polinucleótidos de la invención en una muestra mediante el uso de sondas adecuadas. Las sondas de la invención se basan en las secuencias de polinucleótidos *sxt* de la invención. Las sondas son secuencias de nucleótidos de longitud variable, por ejemplo, entre aproximadamente 10 nucleótidos y varios miles de nucleótidos, para su uso en la detección de secuencias homólogas, típicamente por hibridación. Las sondas de hibridación de la invención pueden ser fragmentos de ADN genómico, fragmentos de ADNc, fragmentos de ARN u otros oligonucleótidos. Las sondas de la invención pueden marcarse mediante la incorporación de un marcador para facilitar su detección. Los ejemplos de marcadores adecuados incluyen moléculas fluorescentes (por ejemplo, acetilaminofluoreno, 5-bromodesoxiuridina, digoxigenina, fluoresceína) e isótopos radiactivos (por ejemplo, ³²P, ³⁵S, ³H, ³³P). La detección del marcador se puede lograr, por ejemplo, mediante técnicas químicas, fotoquímicas, inmunoquímicas, bioquímicas o espectroscópicas. Los métodos para el diseño y/o producción de sondas de nucleótidos se conocen generalmente en la técnica, y se describen, por ejemplo, en textos estándar tales como Robinson et al. (Eds) *Current Protocols in Cytometry* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Ausubel et al. (Eds) *Current Protocols in Molecular Biology* (2007), John Wiley and Sons, Inc; Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York; y Maniatis et al. (1982) *Molecular Cloning*, 280-281.

En otras realizaciones, los métodos de la divulgación pueden implicar la detección de la presencia (o determinación de la ausencia) de polipéptidos de la invención en una muestra que usa anticuerpos. Los anticuerpos pueden usarse para detectar y analizar cualitativa o cuantitativamente uno o más polipéptidos STX de la invención en una muestra dada. Los anticuerpos pueden conjugarse con un fluorocromo que permite la detección, por ejemplo, mediante citometría de flujo, inmunohistoquímica u otros medios conocidos en la técnica. Como alternativa, el anticuerpo puede estar unido a un sustrato que permita la detección colorimétrica o quimioluminiscente. La divulgación también contempla el uso de anticuerpos secundarios capaces de unirse a uno o más anticuerpos capaces de unirse específicamente a un polipéptido de la invención.

45 Kits para detectar dinoflagelados

La divulgación también proporciona kits para la detección y/o el aislamiento de polinucleótidos de la invención y/o polipéptidos de la invención ("kits de la invención").

50 En ciertas realizaciones, los kits se usan para detectar un dinoflagelado en una muestra.

En otras realizaciones, los kits se usan para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra.

En otras realizaciones, los kits se usan para determinar la ausencia de dinoflagelados productores de saxitoxina en una muestra.

En general, los kits de la invención comprenden al menos un agente para detectar la presencia de uno o más polinucleótidos de la invención y/o uno o más polipéptidos de la invención, y/o variantes o fragmentos de los mismos (véase la descripción en la sección anterior titulada "Polinucleótidos y polipéptidos"). Cualquier agente adecuado

para este propósito se puede incluir en los kits. Los ejemplos no limitantes de agentes adecuados incluyen cebadores, sondas y anticuerpos tales como los descritos anteriormente en las secciones tituladas "Sondas, cebadores y anticuerpos" y "Métodos para detectar dinoflagelados".

- 5 En realizaciones preferidas, los kits son para su uso en los métodos de la invención (véase la descripción en la sección anterior titulada "Métodos para detectar dinoflagelados").

En algunas realizaciones, la invención proporciona un kit para la detección de un dinoflagelado en una muestra, comprendiendo el kit al menos un agente para detectar en la muestra la presencia de uno o más polinucleótidos de la invención, y/o uno o más polipéptidos de la invención, y/o una variante o fragmento de cualquiera. Preferiblemente, el dinoflagelado es un dinoflagelado productor de saxitoxina.

En otras realizaciones, la invención proporciona un kit para determinar la ausencia de un dinoflagelado en una muestra, comprendiendo el kit al menos un agente para determinar en la muestra la ausencia de uno o más polinucleótidos de la invención, y/o uno o más polipéptidos de la invención, y/o una variante o fragmento de cualquiera. Preferiblemente, el dinoflagelado es un dinoflagelado productor de saxitoxina.

En general, los kits de la invención pueden comprender cualquier cantidad de componentes adicionales. A modo de ejemplo no limitante, los componentes adicionales pueden incluir componentes para recoger y/o almacenar muestras, reactivos para cultivo celular, muestras de referencia, tampones, etiquetas, y/o instrucciones escritas para realizar uno o más métodos de la invención.

Los dinoflagelados detectados en una muestra o determinados como ausentes de una muestra usando los kits de la invención pueden ser dinoflagelados productores de saxitoxina. Sin imponer ninguna limitación particular, los dinoflagelados pueden ser del orden *Gonyaulacales* o *Gymnodiniales*. Los dinoflagelados pueden ser del género *Alexandrium* (anteriormente *Gonyaulax*), *Pyrodinium* o *Gymnodinium*. Los ejemplos adecuados de especies *Alexandrium* incluyen *A. catenella* (por ejemplo, las cepas ACCC01, ACSH02, ACTRA02 y CCMP1493), *A. fundyense* (por ejemplo, las cepas CCMP1719 y CCMP1979), *A. lusitanicum*, *A. minutum* (por ejemplo, las cepas CCMP1888, CCMP113, ALSP01, ALSP02 y AMD16/AMAD16), *A. ostenfeldii* y *A. tamarense* (por ejemplo, las cepas CCMP1771, ATBB01, ATEB01, ATCJ33 y ATNWB01). Los ejemplos adecuados de especies *Gymnodinium* incluyen *G. catenatum* (por ejemplo, las cepas GCTRA01 y CS-395). Los ejemplos adecuados de especies *Pyrodinium* incluyen *P. bahamense var compressum*.

Ejemplos

La invención se describirá ahora con referencia a los ejemplos específicos, que no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes.

Ejemplo 1: Identificación de genes con codificación nuclear para la neurotoxina saxitoxina en dinoflagelados

Materiales y métodos

- Mediciones de cultivo y toxinas

Se obtuvieron cultivos de dinoflagelados productores y no productores de saxitoxina de diversas colecciones de cultivos (Tabla 1).

Tabla 1. Lista de cepas de dinoflagelados usadas en este estudio, su producción de STX y si los fragmentos *sxtA1* y *sxtA4* se amplificaron a partir de su ADN genómico.

Orden	Género	Especie	Cepa	STX	PCR <i>sxtA1</i>	PCR <i>sxtA4</i>
<i>Gonyaulacales</i>						
<i>Alexandrium</i>						
		<i>affine</i>	CCMP112	n. d.	n. d.	n. d.
		<i>affine</i>	AABB01/01	n. d.	n. d.	n. d.
		<i>affine</i>	AABB01/02	n. d.	n. d.	n. d.
		<i>andersonii</i>	CCMP1597	n. d.	n. d.	n. d.
		<i>andersonii</i>	CCMP2222	n. d.	n. d.	n. d.
		<i>catenella</i>	ACCC01	sí	sí	sí
		<i>catenella</i>	ACSH02	sí	sí	sí

<i>catenella</i>	ACTRA02	sí	sí	sí
<i>catenella</i>	CCMP1493	sí	sí	sí
<i>fundyense</i>	CCMP1719	sí	sí	sí
<i>fundyense</i>	CCMP1979	sí	sí	sí
<i>minutum</i>	CCMP1888	sí	sí	sí
<i>minutum</i>	CCMP113	sí	sí	sí
<i>minutum</i>	ALSP01	sí	sí	sí
<i>minutum</i>	ALSP02	sí	sí	sí
<i>minutum</i>	AMD16	sí	sí	sí
<i>tamarensis</i>	CCMP1771	n. d.	sí	sí
<i>tamarensis</i>	ATBB01	n. d.	sí	sí
<i>tamarensis</i>	ATEB01	n. d.	sí	sí
<i>tamarensis</i>	ATCJ33	n. d.	sí	sí
<i>tamarensis</i>	ATNWB01	sí	sí	sí
<i>Gambierdiscus</i>				
<i>australis</i>	CAWD148	*	n. d.	n. d.
<i>Ostreopsis</i>				
<i>ovata</i>	CAWD174	*	n. d.	n. d.
<i>siamensis</i>	CAWD96	*	n. d.	n. d.
<i>Gymnodiniales</i>				
<i>Amphidinium</i>				
<i>massarti</i>	CS-259	*	n. d.	n. d.
<i>Gymnodinium</i>				
<i>catenatum</i>	GCTRA01	sí	sí	sí
<i>catenatum</i>	CS-395	sí	sí	sí
<i>Prorocentrales</i>				
<i>Prorocentrum</i>				
<i>lima</i>	CS-869	*	n. d.	n. d.

*n.d. no detectado, *especie nunca reportada para sintetizar STX*

Las culturas se mantuvieron en GSe (véase el método en Doblin et al. (1999), Growth and biomass stimulation of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Graham) by dissolved organic substances. J Exp Mar Biol Ecol 236: 33-47) o medio L1 (véase el método en Guillard y Hargraves (1993) *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. Phycologia 32, 234-236) a 16 - 20 °C, bajo un ciclo de luz 12/12, y una irradiación de fotones de ~100 micromoles de fotones m⁻² s⁻¹. La toxicidad de las cepas se determinó usando HPLC o LCMS. El límite de detección del método por HPLC varió de aproximadamente 0,07 µg STXequiv./100 g para C1 y C3 a 4,1 µg STXequiv./100 g para GTX1. El límite de detección para el método por LCMS varió de aproximadamente 0,1 pg/célula para NEO y STX a 0,5 pg/célula para C1 y C2.

10

- Extracción de ARN y ADN.

Para aislar el ARN total para la construcción de la biblioteca 454 (véase a continuación), se recogieron cultivos de Balech CCMP1719 de *Alexandrium fundyense* y Halim CCMP113 de *Alexandrium minutum* en fase exponencial a través de centrifugación (1 min, 1000 x g, 12 °C). Las células se lavaron con PBS, se expusieron a batido de perlas en hielo seco con un batidor de perlas Fast Prep de Medinor (20 s, velocidad 4) usando perlas de 1,4 mm (Medinor) y se extrajo el ARN total con el kit de células de ARN total ChargeSwitch® (Invitrogen) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

15

Para el análisis RACE, se aisló ARNm enriquecido con poliA usando el kit Dynabeads DIRECT (Invitrogen). Las células se recogieron por centrifugación (2 min, 4 °C, 16000 x g), se lavaron dos veces con PBS, se añadió el tampón de lisis/unión, y se homogeneizó usando el batidor de perlas (20 s, etapa 4). Después de la centrifugación (1 min, 4 °C, 16000 x g), el homogenizado transparente se transfirió a la mezcla Dynabeads y el ARNm se aisló de acuerdo con el protocolo. Finalmente, el ARNm se trató con TURBO™ DNasa (Ambion) de acuerdo con el protocolo suministrado.

25

Se aisló ADN genómico de todas las cepas de dinoflagelados enumeradas en la Tabla 1 usando el kit ChargeSwitch® de planta de ADN genómico (Invitrogen) de acuerdo con el protocolo del fabricante, o mediante el método CTAB.

30

Se determinaron la calidad y la cantidad de ARN y ADN usando un espectrofotómetro Nanodrop (Thermo Scientific), amplificando genes de dinoflagelados de control (citocromo b, actina) y/o visualizándolos en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio.

5 - Construcción de la biblioteca de ADNc, secuenciación 454, ensamblaje y análisis

Las bibliotecas de ADNc enriquecidas con poliA normalizadas con adaptadores 454 unidos en cada extremo se construyeron comercialmente por Vertis Biotechnologie AG (<http://www.vertis-biotech.com/>). Se secuenció media placa de cada una de las bibliotecas de CCMP 1719 de *A. fundyense* y CCMP113 de *A. minutum* usando la tecnología TITAN de secuenciación Roche 454 en el Centro Noruego de Secuenciación de Alto Rendimiento (<http://www.sequencing.uio.no/>). Solamente las lecturas 454 que poseían al menos un adaptador de ADNc se consideraron adicionalmente. Los adaptadores y, en caso de estar presentes, las secuencias líder con corte y empalme de dinoflagelados (SL) completas y parciales se eliminaron antes del ensamblaje utilizando una secuencia de comandos PERL interna que ahora está integrada en la herramienta bioinformática CLOTU. Las lecturas se ensamblaron usando el programa de software Mira v3.0.5 con los conmutadores principales "denovo", "est", "preciso" y "454".

Para identificar secuencias putativas del gen *sxt* dentro de las dos bibliotecas 454, se realizaron búsquedas BLAST personalizadas en el portal de datos en línea disponible gratuitamente "Bioportal" (www.bioportal.no). Se usaron dos estrategias: los genes *sxt* de cianobacterias se consultaron frente a los conjuntos de datos de *Alexandrium* ensamblados o los conjuntos de datos de lecturas 454 sin ensamblar. Todos los aciertos con un valor de $e < 0,1$ se extrajeron y la secuencia con el menor valor de e para cada gen se sometió a BLAST con respecto a la base de datos de proteínas no redundante en NCBI.

Para *sxtA*, todas las secuencias recuperadas se volvieron a ensamblar en el programa de software CLC Bio Main Workbench, usando un solapamiento mínimo de 10 pb y una rigurosidad de alineación baja o alta. Las secuencias de cóntigo resultantes se sometieron a BLAST con respecto a las bases de datos no redundantes y EST en NCBI usando los algoritmos blastn, blastx y tblastx. La estructura de las transcripciones *sxtA* se determinó alineando su secuencia traducida a *sxtA* de cianobacterias, así como mediante búsquedas de dominios conservados (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>). Se determinaron previamente los residuos catalíticos y de unión a sustrato de *sxtA* de cianobacterias. Se realizaron búsquedas en las transcripciones para determinar la presencia de posibles péptidos señal y los correspondientes sitios de escisión usando las redes neuronales y los modelos ocultos de Markov implementados en SignalP 3.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) y el enfoque de 3 capas de Signal-3L (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Signal-3L/>). Las hélices transmembrana se exploraron utilizando TMHMM servidor 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) y perfiles de hidrofobicidad con gráficos de Kyte-Doolittle.

- Análisis RACE

Se diseñaron cebadores en regiones conservadas de los cóntigos con alta similitud con *sxtA* usando el software Primer3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>; Tabla 2).

Tabla 2. Cebadores usados en PCR y secuenciación

Nombre	Secuencia 5' - 3'	Orientación	Descripción
sxt001	TGCAGCGMTGCTACTCCTACTAC (SEQ ID NO: 200)	Directo	se une en <i>sxtA1</i> , diseñado en lecturas 454
sxt002	GGTCGTGGTCYAGGAAGGAG (SEQ ID NO: 201)	Inverso	se une en <i>sxtA1</i> , diseñado en lecturas 454
sxt007	ATGCTCAACATGGGAGTCATCC (SEQ ID NO: 202)	Directo	se une en <i>sxtA4</i> , diseñado en lecturas 454
sxt008	GGGTCCAGTAGATGTTGACGATG (SEQ ID NO: 203)	Inverso	se une en <i>sxtA</i> , diseñado en lecturas 454
Cebadores adicionales usados para los análisis RACE y secuenciación			
sxt013	GTAGTAGGAGTAGCKACGCTGCA (SEQ ID NO: 204)	Inverso	complemento inverso de sxt001
sxt014	CTCCTTCCTRGACCACGACC (SEQ ID NO: 205)	Directo	complemento inverso de sxt002
sxt015	GGATGACTCCCATGTTGAGCAT (SEQ ID NO: 206)	Inverso	complemento inverso de sxt007

sxt016	CATCGTCAACATCTACTGGACCC (SEQ ID NO: 207)	Directo	complemento inverso de sxt008
sxt019	GGCAAGTATCTCCGCAGGCTTAC (SEQ ID NO: 208)	Inverso	se une en sxtA1, aguas arriba de sxt002
sxt020	CGTGGAGGAGCATGTTGACAGAATC (SEQ ID NO: 209)	Directo	se une en sxtA1, aguas abajo de sxt001
sxt026	ACTCGACAGGCCGGCAGTACAGAT (SEQ ID NO: 210)	Inverso	se une con sxtA4, aguas arriba de sxt008
sxt040	TGAGCAGGCACGCAGTCC (SEQ ID NO: 211)	Directo	se une en sxtA1 en la transcripción larga
Cebadores para amplificar clones directamente			
TopoF	GGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTG (SEQ ID NO: 212)	Directo	se une en el vector pCR®2.1-TOPO®
TopoR	AGTCACGACGTTGTAAAACGACGG (SEQ ID NO: 213)	Inverso	se une en el vector pCR®2.1-TOPO®

El ADNc de la primera cadena se sintetizó con ~95 ng de ARNm enriquecido con poliA usando el cebador adaptador AP de acuerdo con las instrucciones del fabricante para las transcripciones con alto contenido de GC (sistema 3'RACE, Invitrogen). Después del tratamiento con RNasa H, el producto RACE se diluyó 1:10 y se usó como plantilla para PCR. Para amplificar el extremo 5' de la transcripción, se usaron tres protocolos diferentes. En primer lugar, el método de Zhang (Zhang et al. (2007) Spliced leader RNA trans-splicing in dinoflagellates. Proc Natl Acad Sci USA 104: 4618-4623) se usó con ligeras modificaciones: la biblioteca 3'RACE descrita anteriormente se amplificó con los cebadores AUAP (cebador adaptador suministrado con el kit) y dinoSL enriquecer para transcripciones completas (programa de PCR: 94 °C - 60 s; 30 x (94 °C - 30 s, 68 °C - 5 min); 68 °C - 10 min; mantenimiento a 8 °C; química de PCR, véase a continuación). El producto de la PCR se diluyó 1:10 y se usó como plantilla en las PCR anidadas, que se amplificaron usando el cebador dinoSL como cebadores directos y varios cebadores inversos internos diferentes (Tabla 2). Además, estos experimentos usaron los dos kits 5'RACE System (Invitrogen) y el kit GeneRacer (Invitrogen), usando los cebadores adaptador 5' proporcionados y varios cebadores inversos internos diferentes (Tabla 2). Todos los productos se clonaron y se secuenciaron como se describe a continuación.

15 - PCR y secuenciación

Todas las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes de 25 µl que contenían plantilla, 1 unidad tampón de PCR 10X BD Advantage 2 (BD Biosciences), dNTP 0,2 mM, 0,5 µM de cada cebador directo e inverso (Tabla 2), DMSO (concentración final al 10%) y 0,25 unidades 50X BD Advantage 2 Polymerase Mix (BD Biosciences). Si no se indica otra cosa, las PCR se amplificaron como se indica a continuación: 94 °C - 2,5 min; 5 x (94 °C - 30 s; 68 °C - variable); 5 x (94 °C - 30 s; 66 °C - 30 s; 68 °C - variable); 25x (94 °C - 30 s; 64 °C - 30 s; 68 °C - variable); 68 °C - 10 min; 8 °C - mantenimiento. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio al 1 %, se cortaron y se limpiaron con el gel Wizard® SV y el sistema PCR Clean-up (Promega) y se clonaron con el kit de clonación TOPO TA® de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen; vector pCR®2.1-TOPO®; células *E. coli* componentes químicamente resistentes a fagos One Shot® Mach1™ T1). Las colonias individuales se añadieron directamente a 25 µl de reacciones de PCR que contenían 1 unidad de tampón de PCR estándar 10X (Qiagen), cebador 0,4 µM TopoF y TopoR (Tabla 2), dNTP 0,2 mM, y 1 unidad de HotStarTaq (Qiagen). Las condiciones de ciclado fueron 95 °C - 15 min, 30 x (94 °C - 30 s; 60 °C - 30 s; 72 °C - 90 s), 72 °C - 5 min, 8 °C - mantenimiento. Los productos de PCR se diluyeron y se secuenciaron por Sanger directamente desde ambos lados usando los cebadores M13F y M13R suministrados con el kit de clonación.

- Amplificación genómica de SxtA1 y sxtA4

Se analizaron todas las cepas de dinoflagelados (Tabla 1) para determinar la presencia de genes putativos sxtA1 y sxtA4. Las PCR se realizaron usando ADNg de acuerdo con el protocolo descrito anteriormente. El fragmento sxtA1 se amplificó con los cebadores sxt001 y sxt002 (~550 pb) y el fragmento sxtA4 con los cebadores sxt007 y sxt008 (~750 pb) (Tabla 2).

- Análisis filogenéticos

Las secuencias de nucleótidos de dinoflagelados se alinearon manualmente usando MacClade v4.07 (véase Maddison y Maddison (1992) MacClade. 3 ed: Sinauer Associates) considerando la secuencia de codificación en el marco de lectura correcto antes de traducirse en la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las secuencias de aminoácidos de dinoflagelados se alinearon posteriormente, usando el modelo MAFFTv6 L-INS-I para las

secuencias *sxt* ortólogas para cianobacterias, además de una selección de aciertos de NCBI nr Blastp estrechamente relacionados, que constituyen el exogrupo. Los alineamientos resultantes se verificaron manualmente y las posiciones mal alineadas se excluyeron usando MacClade v4.07 (véase Maddison y Maddison (1992) anteriormente).

5

ProtTest v2.4 (véase Abascal et al. (2005) ProtTest: selection of best-fit models of protein evolution. *Bioinformatics* 21: 2104-2105) determinó WAG como el modelo evolutivo óptimo para todos los alineamientos inferidos. Los análisis de máxima probabilidad (ML) se realizaron con RAXML-VI-HPCv7.2.6, modelo PROTCATWAG con 25 tipos de categorías (véase Stamatakis (2006) RAXML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690). La topología más probable se estableció a partir de 100 búsquedas separadas y se realizaron análisis bootstrap con 100 pseudo-réplicas. Las inferencias bayesianas se realizaron usando Phylobayes v3.2e (véase Lartillot y Philippe (2004) A Bayesian mixture model for across-site heterogeneities in the amino-acid replacement process. *Mol Biol Evol* 21: 1095-1109; y Lartillot y Philippe (2006) Computing Bayes factors using thermodynamic integration. *Syst Biol* 55: 195-207) bajo el mismo modelo de sustitución con un número libre de categorías de mezcla y una discreta variación entre sitios en 4 categorías. Los árboles se dedujeron cuando la diferencia máxima más grande entre las biparticiones (cadenas) fue <0,1. Todos los análisis modelo de estimación y filogenéticos se hicieron en el "Bioportal" disponible gratuitamente (<http://www.bioportal.uio.no/>).

20 - Determinación del número de copias

Se cultivaron cultivos por lotes de 200 ml por triplicado de la cepa ACSH02 de *Alexandrium catenella* como se ha descrito previamente, y se contó la abundancia cada tres días usando una cámara Sedgewick-Rafter y un microscopio de luz invertida (Leica Microsystems). Se tomaron muestras de 10 ml para la extracción de ADN en la fase exponencial temprana, la fase exponencial tardía y la fase estacionaria.

Los cebadores adecuados para qPCR se diseñaron basándose en regiones conservadas en un alineamiento de lecturas 454 de *A. fundyense* y *A. minutum* que cubren la región *sxtA4* usando el software Primer 3 que amplifica un producto de 161 pb. Los ciclos de qPCR se realizaron en un Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science) usando SYBR Green PCR Master Mix (Invitrogen). Se realizaron ensayos de qPCR en un volumen final de 25 µl de volumen que consiste en 12,5 µl de SYBR Green PCR master mix, 1 µl de ADN plantilla, 1 µl de cada par de cebadores, 1 µl de BSA y 8,5 µl de agua MilliQ. Los ensayos qPCR se realizaron por triplicado con el siguiente protocolo: 95 °C durante 10 s, y 35 ciclos de 95 °C durante 15 s y 60 °C durante 30 s. El análisis de la curva de fusión se realizó al final de cada programa para confirmar la especificidad de amplificación, y los productos de PCR seleccionados se secuenciaron. La curva estándar se construyó a partir de una serie de dilución de 10 veces de una concentración conocida de producto de PCR reciente, que varía de 2 - 2 x 10⁻⁵ ng. Las moléculas de producto de PCR se determinaron: $(A \times 6,022 \times 10^{23}) \times (660 \times B)^{-1}$ con A: concentración del producto PCR, 6,022 x 10²³: número de Avogadro, 660: peso molecular promedio por par de bases y B: longitud del producto de PCR. Se determinó el número de moléculas en las muestras desconocidas y se dividió por el número conocido de células en la plantilla qPCR para obtener el número de copias por célula. El límite de detección fue de aproximadamente 5000 copias de la secuencia génica (es decir, ~20 - 30 células por ensayo, cada una con ~200 copias de la secuencia). Sin embargo, los análisis se realizaron con 10 - 100 veces este número de células, y por lo tanto, no se ejecutan en o cerca del límite de detección.

45 Resultados

- Identificación de secuencias *sxt* en el transcriptoma de *A. minutum* y *A. fundyense*

La secuenciación 454 dio como resultado 589.410 lecturas en bruto para *A. minutum* y 701.870 lecturas en bruto para *A. fundyense* (SRA028427.1: muestras SRS151150.1 y SRS151148.1, respectivamente). Después del control de calidad, las lecturas se ensamblaron en 44.697 cóntigos y 539 singletons para *A. minutum* y 51.861 cóntigos y 163 singletons para *A. fundyense*. Las longitudes de cóntigo y contenidos de GC fueron similares para ambas bibliotecas: las longitudes de secuencia media (± DE) de 669 pb (± 360) y 678 pb (± 361) y un contenido de GC del 59% y del 58% se calcularon para *A. minutum* y *A. fundyense*, respectivamente.

55

La búsqueda de la biblioteca de ADNc 454 sin ensamblar con el gen *sxtA* de cianobacterias dio como resultado 94 aciertos para *A. fundyense* y 88 aciertos para *A. minutum*, respectivamente. La misma búsqueda en los conjuntos de datos ensamblados arrojó 10 cóntigos de *A. fundyense* y 9 de la biblioteca de *A. minutum*. Después de agrupar todas las secuencias y el reensamblaje, dos cóntigos mostraron una gran similitud con *sxtA* de cianobacterias: uno

para el dominio *sxtA1* (longitud de cóntigo = 1450 bp, GC = 60,1%, puntuación de bit = 213, valor de $e = 5e^{-61}$) y el otro para *sxtA4* (longitud de cóntigo = 1059 pb, GC = 65%, puntuación de bit = 195, valor de $e = 1e^{-47}$). Ambos cóntigos contenían secuencias de ambas bibliotecas de *Alexandrium*, pero ninguno contenía un ORF completo, una secuencia líder con corte y empalme con dinoflagelados o una cola de poliA. Los dos cóntigos se usaron para
5 diseñar cebadores *sxtA1* y *sxtA4* para amplificación genómica, análisis RACE y secuenciación.

Los resultados de la búsqueda *in silico* para los genes *sxt* centrales restantes se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Análisis de Blast de los genes *sxt* centrales de T3 de *C. raciborskii* frente a las bibliotecas 454 ensambladas de *A. fundyense* y *A. minutum*; dados son: el número de cóntigos con un valor de E ≤0,1 presente en cada biblioteca; el acierto de blastX superior, su número de acceso, taxonomía, puntuación y valor de E cuando el cóntigo superior se somete a Blast con respecto a la base de datos de proteínas no redundante de NCBI, así como el acierto más cercano a genes *sxt* de cianobacterias del mismo análisis.

Biblioteca 454	Número de cóntigos	Puntuación superior/Valor de E	Acierto de blastX superior con respecto a la base de datos nr de NCBI	Acceso	Taxonomía	Puntuación blastX superior/valor de E	Puntuación de acierto de <i>sxt</i> superior/Valor de E
sxtA <i>A. fundyense</i>	10	105/ 2e-51	policetico sintasa [<i>Myxococcus xanthus</i> DK 1622]	YP_63211	Bacteria; Proteobacteria	183/5e-44	182/7e-44
<i>A. minutum</i>	9	108/3e-61	SxtA [<i>Lyngbya wollei</i>]	ACG63826	Bacteria; Cianobacteria	236/2e-65	236/2e-65
sxtB <i>A. fundyense</i>	1	46/7e-11	citidina desaminasa [<i>Plesiocystis pacifica</i> SIR-1]	ZP_01910517	Bacteria; Proteobacteria	91/9e-27	67/1e-11
<i>A. minutum</i>	1	0.094	ninguno				
sxtF/sxtM <i>A. fundyense</i>	4	51/4e-06	proteína de eflujo putativa, MATE [<i>Polysphondylium pallidum</i> PN500]	EFA81712	Eucariota; Amoebozoa	136/2e-30	62/5e-08
<i>A. minutum</i>	1	34/0,01	proteína de eflujo putativa, MATE [<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>]	XP_002873960	Eucariota; Viridiplantae	78/8e-23	ninguno
sxtG <i>A. fundyense</i>	9	57/2e-27	glicina amidinotransferasa [<i>Amycolatopsis mediterranei</i> U32]	YP_003768377	Bacteria; Actinobacteria	163/3e-38	140/2e-31
<i>A. minutum</i>	7	55/2e-25	glicina amidinotransferasa [<i>Amycolatopsis mediterranei</i> U32]	YP_003768377	Bacteria; Actinobacteria	143/2e-32	117/1e-24
sxtH/sxtT <i>A. fundyense</i>	7	43/2e-12	Región de Rieske (2Fe-2S) [<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413]	YP_321575	Bacteria; Cianobacteria	197/6e-86	80/1e-12
<i>A. minutum</i>	6	41/5e-06	Región de Rieske (2Fe-2S) [<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413]	YP_321575	Bacteria; Cianobacteria	119/5e-38	60/2e-07
sxtI <i>A. fundyense</i>	3	68/1e-13	Carbamoiltransferasa [<i>Nocardioopsis dassonvillei</i> DSM 43111]	YP_003679504	Bacteria; Actinobacteria	131/9e-29	89/9e-16

Biblioteca 454	Número de cúntigos	Puntuación superior/Valor de E	Acierto de blastX superior del cúntigo superior con respecto a la base de datos nr de NCBI	Acceso	Taxonomía	Puntuación blastX superior/valor de E	Puntuación de acierto de <i>sxt</i> superior/Valor de E
<i>A. minutum</i> sxtR	1	67/1e-13	carbamoil transferasa [<i>Streptomyces griseoflavus</i> Tu4000]	ZP_05536710	Bacteria; Actinobacteria	132/6e-29	91/1e-16
<i>A. fundyense</i>	3	36/0,063	atp-citrato sintasa [<i>Ectocarpus siliculosus</i>]	CBJ30109	Eucariota; stramenopiles	349/8e-96	ninguno
<i>A. minutum</i> sxtS	1	38/0,015	atp-citrato sintasa [<i>Ectocarpus siliculosus</i>]	CBJ30109	Eucariota; stramenopiles	516/1e-144	ninguno
<i>A. minutum</i> sxtU	1	36/0,05	proteína hipotética [<i>Perkinsus marinus</i> ATCC 50983]	XP_002767298	Eucariota; Alveolata	91/4e-34	ninguno
<i>A. fundyense</i>	33	83/2e-16	proteína predicha [<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>]	XP_001689640	Eucariota; Viridiplantae	214/4e-54	107/8e-22
<i>A. minutum</i>	27	84/2e-16	proteína hipotética [<i>Schizophyllum commune</i> H4-8]	XP_003034688	Eucariota; Fungi	116/1e-24	797/2e-13

Además de *sxtA*, se recuperaron cóntigos con una buena puntuación de alineamiento (puntuación de bits >55) y un valor de e altamente significativo ($<e^{-20}$) para el gen *sxtG* de la amidinotransferasa en ambas bibliotecas. El re-blasting de los cóntigos con los valores de e más bajos contra la base de datos de proteínas nr de NCBI mostró que el gen más similar era una glicina aminotransferasa actinobacteriana, mientras que la similitud con *sxtG* de cianobacterias era menor pero aún muy significativa (Tabla 3). Para los genes de biosíntesis central *sxtB*, *sxtF/M*, *sxtH/T*, *sxtI*, *sxtR* y *sxtU*, se recuperaron cóntigos con un valor de $e \leq 0,1$ de ambas bibliotecas de *Alexandrium*, mientras que *sxtS* solo tuvo un acierto en la biblioteca de *A. minutum* (Tabla 3). No se recuperaron las coincidencias para *sxtC*, *sxtD* y *sxtE* en ninguna de las bibliotecas. *SxtC* y *sxtE* son proteínas desconocidas y *sxtD* es una proteína de tipo esteroide desaturasa. Es posible que las proteínas de dinoflagelados sin similitud con los genes de las cianobacterias realicen su función. Como alternativa, estos genes no estaban presentes en el conjunto de datos generado. Si bien el conjunto de datos es completo, no está completo. Por ejemplo, algunas regiones de las transcripciones *sxtA* tampoco se recuperaron en el conjunto de datos 454, pero solo se obtuvieron mediante análisis RACE (véase anteriormente). El re-blasting contra la base de datos de proteínas nr de NCBI recuperó aciertos de las proteínas para *sxtB* (*A. fundyense* solamente), *sxtF/M*, *sxtH/T*, *sxtI* y *sxtU* que son similares a las codificadas en los genes cianobacterianos *sxt* correspondientes. La similitud de secuencia real estaba menos conservada y no se observaron aciertos significativos entre los cóntigos de *Alexandrium* y los genes *sxt* de cianobacterias.

- Estructura de transcripción de *sxtA* en *A. fundyense*

Los experimentos de RACE dieron como resultado dos familias de transcripciones de tipo *sxtA* diferentes. Ambos tenían secuencias líder con corte y empalme de dinoflagelados en el extremo 5' y colas de poliA en el extremo 3', pero diferían en secuencia, longitud, y en el número de dominios *sxt* que codificaban. Las transcripciones más cortas codifican los dominios *sxtA1*, *sxtA2* y *sxtA3*, mientras que las transcripciones más largas codifican los cuatro dominios *sxtA*, que también se codifican por el gen cianobacteriano *sxtA* (Figura 1).

La secuencia de consenso de las transcripciones más cortas fue de 3136 pb excluyendo la cola de poliA. Se secuenciaron ocho clones con SL-líder, y se descubrieron tres 5'UTR diferentes. Las secuencias fueron casi idénticas; sin embargo, un clon tenía 15 pb y otro tenía una inserción de 19 pb siguiendo exactamente la secuencia SL. Las dos inserciones de secuencia fueron, aparte de la longitud, idénticas. Los nueve 3'UTR que se secuenciaron fueron casi idénticos y la cola de poliA comenzó en la misma posición en cada clon. La estructura de dominio de esta transcripción de *sxtA* más corta fue como se indica a continuación: Los residuos de aminoácidos 1-27 codifican un péptido señal. Los residuos 28-531 corresponden a *sxtA1*, que contiene tres motivos conservados (I: VDTGCGDGS (SEQ ID NO: 214), II: VDASRTLHVR (SEQ ID NO: 215), III: LEVSFGLCVL (SEQ ID NO: 216)). Los residuos 535-729 corresponden a *sxtA2* con los dominios catalíticos 557-W, 648-T, 663-H, 711-R; mientras que *sxtA3*, el dominio final de la transcripción corta, corresponde a los residuos 750-822 con el sitio de unión a fosfopanteteinilo 783-DSL-785.

La secuencia de consenso de la transcripción de *sxtA* más larga fue de 4613 pb (regla de la mayoría, 3'UTR más larga, sin cola de poliA, Figura 1). Se caracterizaron cinco clones con secuencias SL. Uno de ellos tenía una secuencia SL ligeramente divergente con una A en la posición 15 en lugar de la G habitual. Todas las UTR 5' tenían una longitud de 97 pb (excluida la secuencia SL) y casi idénticas en secuencia. Cada uno de los cuatro clones 3' secuenciados tenía una longitud diferente (342, 407, 446 y 492 pb). La estructura de dominio de la transcripción de *sxtA* más larga fue como se indica a continuación: Los residuos de aminoácidos 1-25 codifican un péptido señal. Los residuos 26-530 corresponden al dominio *sxtA1* con los tres motivos conservados: I: VVDTGCGDG (SEQ ID NO: 217), II: VDPSSRLHV (SEQ ID NO: 218) e III: LQGSFGLCML (SEQ ID NO: 219); los residuos 535-724 corresponden al dominio *sxtA2*, con los restos catalíticos 556-W, 661-T, 693-H, 708-R; *sxtA3* corresponde a los residuos 763-539 donde 799-DSL-801 es el sitio de unión de fosfopanteteinilo; finalmente, el dominio *sxtA4* corresponde a los residuos 894-1272.

El contenido de GC de las dos transcripciones de *sxtA* de *Alexandrium* fue consistentemente más alto que los genes de cianobacteria *sxtA* (Figura 2). El contenido de GC fue del 69% (transcripción larga), 62% (transcripción corta) y 43% (todos los genes de cianobacteria *sxtA*).

Todos los algoritmos predijeron la presencia de péptidos señal (SP) y sitios de escisión correspondientes para ambas transcripciones. Sin embargo, las hélices transmembrana que pueden indicar péptidos de tránsito de clase I en dinoflagelados no se predijeron. Ninguna de las transcripciones coincidió con los criterios para los péptidos de tránsito de clase II y clase III.

Los números de acceso al Genbank son JF343238 para las transcripciones cortas y JF343239 para las

transcripciones largas de *sxtA* (secuencias consenso de la regla de la mayoría), y JF343357 - JF343432 para las secuencias RACE clonadas restantes de CCMP 1719 de *A. fundyense*.

- Filogenia de secuencias de dinoflagelados *sxtA1* y *sxtA4*

- 5 Los cebadores de *sxtA1* y *sxtA4* diseñados en este estudio (Tabla 2) amplificaron bandas individuales de ~550 pb (*sxtA1*) y ~750 pb (*sxtA4*) de longitud en 18 cepas de *Alexandrium* que comprendían cinco especies y dos cepas de *Gymnodinium catenatum*, que tenían un rango de toxicidades (Tabla 1). No se amplificaron productos de PCR de *sxtA1* o *sxtA4* para cinco cepas de *Alexandrium affine* y *Alexandrium andersonii* no productoras de STX, ni para
- 10 cepas de dinoflagelados no productoras de STX de los géneros *Gambierdicus*, *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Amphidinium* (Tabla 1). Estos resultados basados en PCR generalmente están de acuerdo con las mediciones de toxinas. Sin embargo, los fragmentos de *sxtA1* y *sxtA4* se amplificaron a partir del ADN genómico de cuatro cepas de *A. tamarense* (ATCJ33, ATEB01, CCMP1771, ATBB01) en las que no se detectaron STX (Tabla 1).
- 15 Los análisis filogenéticos de *sxtA1* (Figura 3, Figura 5) muestran que todas las secuencias de *sxtA1* formaron un grupo totalmente compatible, dividido en dos subgrupos. Algunos clones de la misma cepa fueron idénticos, sin embargo, se observaron clones ligeramente diferentes para la mayoría de las cepas. Estos diferentes clones se distribuyeron a lo largo de la filogenia, generalmente sin patrones relacionados con especies o cepas. Solo las secuencias de *G. catenatum* formaron una rama estrecha dentro de uno de los subgrupos. Los parientes más
- 20 cercanos al grupo de dinoflagelados fueron los genes cianobacterianos *sxtA* y las policétido sintasas proteobacterianas (Figura 3, Figura 5).

Todas las secuencias de *sxtA4* formaron un grupo bien soportado, con clones de la misma cepa distribuidos en todas partes (Figura 4A, Figura 6). Los genes cianobacterianos *sxtA* y las aminotransferasas actinobacterianas

25 formaron los clados hermanos más cercanos.

Los números de acceso al Genbank para los fragmentos genómicos *sxtA1* y *sxtA4* son JF343240 - JF343356.

- Número de copias y polimorfismo de *sxtA4*

- 30 Se encontraron entre 100 - 240 copias genómicas de *sxtA4* en *A. catenella* en cultivos en lotes por triplicado de ACSH02 recogidos en tres puntos de tiempo con diferentes tasas de crecimiento, en base al ensayo por qPCR (Figura 4B).
- 35 El análisis de un cóntigo de 987 pb, que cubría el dominio *sxtA4* y se basó en lecturas 454 de *A. fundyense*, reveló al menos 20 polimorfismos de nucleótidos individuales (SNP), 15 de los cuales eran silenciosos. Los SNP se definieron como un cambio de par de bases que se produjo en al menos dos de las lecturas. El homopolímero se estira y los índices fueron ignorados.

40 **Análisis**

- Los genes *Sxt* están codificados en genomas de dinoflagelados

- El genoma de dinoflagelado es inusualmente grande [1,5 - 200 pg de célula 1 de ADN; 52] y muy divergente.
- 45 Estimaciones recientes predicen que los genomas de dinoflagelados contienen entre 38.000 y casi 90.000 genes que codifican proteínas, que corresponden a 1,5 - 4,5 la cantidad de genes codificados en el genoma humano. Los resultados de la secuenciación >1,2 millones de EST en este estudio demuestran que los homólogos cercanos de los genes implicados en la biosíntesis de STX en cianobacterias también están presentes en los dinoflagelados productores de STX (Tabla 3). Para confirmar aún más sus orígenes de dinoflagelados se investigó que *sxtA* es el
- 50 único gen de partida de la ruta de biosíntesis. El transcriptoma de CCMP 1719 de *A. fundyense* contenía dos familias de transcripciones diferentes que tenían la misma arquitectura de dominio que *sxtA* en las cianobacterias. Las dos familias de transcripción variaron en longitud, secuencia y cantidad de dominios catalíticos que codifican. Las transcripciones más largas contenían los cuatro dominios presentes en los genes *sxtA* cianobacterianos conocidos, sin embargo, las transcripciones más cortas carecían del dominio de la aminotransferasa terminal (Figura
- 55 1). En contraste con las transcripciones bacterianas, ambas familias de transcripciones poseían colas de poliA eucariotas en el extremo 3' y las secuencias líder con corte y empalme de dinoflagelados en el extremo 5'. Por lo tanto, estos resultados muestran claramente que al menos *sxtA*, y posiblemente otros genes *sxt*, están codificados en el genoma nuclear de dinoflagelados y que la síntesis de STX en dinoflagelados no se origina en bacterias cocultivadas. Sin embargo, estas bacterias todavía pueden desempeñar un papel importante en la modulación de la

biosíntesis de STX en los dinoflagelados.

Los péptidos señal identificados en ambas transcripciones indican un direccionamiento específico de ambos productos de Sxt. Muchos genes en los genomas nucleares de dinoflagelados son derivados de plastos y sus productos están dirigidos al plastido. Estas proteínas se traducen en el citosol y luego se transportan al plastido a través de las membranas de plastos. En los dinoflagelados que contienen peridina como *Alexandrium*, este proceso requiere la presencia de motivos peptídicos de señal y de transferencia. Se predice que ambas transcripciones *sxtA* contienen péptidos señal, pero las estructuras del péptido de transferencia no se identificaron. Por lo tanto, parece que ambas proteínas *sxtA* se dirigen fuera del citosol, pero la región de la diana debe investigarse experimentalmente.

Las transcripciones de *sxtA* de dinoflagelados no difirieron solamente de los homólogos cianobacterianos por la presencia de péptidos señal, secuencias de SL y colas de poliA, sino también en su contenido de GC. Las EST de *A. fundyense* tenían un contenido de GC considerablemente mayor (Figura 2). Se ha informado que los genes transcritos de especies *Alexandrium* tienen un contenido promedio de GC >56%, mientras que las cianobacterias filamentosas, tales como los géneros productores de STX *Cylindrospermopsis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* y *Lyngbya*, tienen un contenido de GC genómico de aproximadamente el 40%. Esto indica que el contenido de GC de *sxtA* ha divergido significativamente del antecesor que posee el *sxtA* progenitor, en línea con el resto del genoma en estos microorganismos.

La participación de las dos transcripciones de *sxtA* diferentes y su papel en la síntesis de STX es actualmente poco clara, pero las diferencias en el contenido de GC (Figura 2) indican que están bajo diferentes presiones de selección.

- Las copias no idénticas de *sxtA*: variación a nivel de genoma y transcriptoma

Una característica típica de los genomas de dinoflagelados es que los genes pueden aparecer en copias múltiples, que pueden o no ser idénticas. Esto posiblemente esté relacionado con mecanismos genéticos altamente inusuales, tal como el reciclaje de ADNc procesados. Parece que *sxtA* también aparece en copias múltiples dentro de los genomas de dinoflagelados. Se estimó que 100 - 240 copias del dominio *sxtA4* estaban presentes en el ADN genómico de ACSH02 de *A. catenella* (ribotipo asiático templado). Las diferencias en el número de copias detectadas a lo largo del ciclo celular están probablemente relacionadas con la tasa de crecimiento del cultivo discontinuo y la proporción de células en diversas fases del ciclo celular. Todas las secuencias genómicas de *sxtA4* de 15 cepas diferentes de *Alexandrium* y *G. catenatum* formaron un grupo filogenético bien soportado, con varias secuencias de clones ligeramente diferentes de la misma cepa distribuidas por todo el árbol. También se encontró que *SxtA1* se producía en copias múltiples no idénticas en todas las cepas analizadas (Figura 5). Además, la separación del grupo de dinoflagelados de *sxtA1* en dos sub-clados indica que *sxtA1* puede estar codificado por dos clases de genes separadas, al menos en algunas cepas.

La variación genómica de *sxtA* también está presente en los transcriptomes de *Alexandrium*. La adición de los datos del transcriptoma al árbol de *sxtA1* mostró que el clado superior corresponde a las transcripciones de *sxtA* más largas, mientras que el clado inferior corresponde a las transcripciones más cortas (Figura 3, Figura 5). Los análisis a nivel de nucleótidos de la región *sxtA4* en el transcriptoma de *A. fundyense* revelaron muchos sitios de SNP, dos tercios de los cuales permanecían en silencio.

- Correlación entre la producción de *sxtA1*, *sxtA4* y saxitoxina

Las secuencias genómicas *sxtA1* y *sxtA4* identificadas durante este estudio estuvieron presentes en todas las cepas de dinoflagelados productores de STX analizadas, incluyendo dos cepas de *G. catenatum* y 14 *Alexandrium* de las especies *A. catenella*, *A. minutum*, *A. fundyense* y *A. tamarense*. Ninguno de los dos fragmentos *sxt* se amplificó a partir de dos cepas de *A. andersoni* y tres cepas de *A. affines*. Tampoco se detectaron homólogos en *Gambierdiscus australes*, *Amphidinium massartii*, *Prorocentrum lima*, *Ostreopsis siamensis* y *Ostreopsis ovata*, ninguno de los cuales se sabe que produce STX (Tabla 1).

A pesar de la muy buena correlación entre la presencia de *sxtA1* y *sxtA4* y el contenido de STX para la mayoría de las cepas analizadas, ambos fragmentos también se amplificaron a partir de cepas de *A. tamarense* para las que no se detectó producción de STX (Tabla 1). Los análisis por RACE de la cepa de *A. tamarense* CCMP1771 revelaron que *sxtA1* y *sxtA4* se transcribieron en esta cepa (datos no mostrados). Se postula que la cantidad de STX producida por *A. tamarense* es menor que el límite de detección de los métodos de determinación de toxina por HPLC/MS utilizados, ya que se encontró que un ensayo de saxifilina muy sensible utilizado para investigar la cepa

ATBB01 de *A. tamarensis* es tóxico. Se ha sugerido que la abundancia de la transcripción se relaciona positivamente con la cantidad de copias génicas presentes en un genoma de dinoflagelado. Por lo tanto, es posible que las cepas con niveles bajos de STX tengan menos copias de los genes *sxt* en comparación con aquellas con mayor producción de STX. Si esto es cierto, entonces la presencia de *sxtA1* y *sxtA4* indicaría la toxicidad y podrían desarrollarse métodos moleculares para detectar las células productoras de STX en el entorno.

- Evolución de la síntesis de STX en eucariotas y su papel en la diversificación de *Alexandrium*

Los genes *sxt* de cianobacterias están altamente conservados entre especies de cianobacterias y se cree que el grupo de genes ha surgido hace al menos 2100 millones de años. Los resultados en el presente documento muestran que las transcripciones de dinoflagelados *sxtA* que están estrechamente relacionadas filogenéticamente con un clado de las secuencias *sxtA* de cianobacterias y otros genes relacionados con toxinas bacterianas putativas (Figura 3 y Figura 4) también tienen la misma estructura de dominio que los genes cianobacterianos *sxtA* (Figura 1). Se propone que esta sorprendente similitud es más probable debido a un evento de transferencia génica horizontal (HGT) entre las bacterias productoras de STX ancestrales y los dinoflagelados. Dentro de los dinoflagelados, STX se producen por especies de los géneros *Alexandrium* y *Pyrodinium*, que pertenecen a la familia Gonyaulacaceae dentro del orden Gonyaulales, así como por una especie del género *Gymnodinium*, que pertenece a la familia Gymnodiniaceae en el orden Gymnodinales. Por lo tanto, estas toxinas se producen por dos géneros dentro de una familia y por una sola especie de un orden de dinoflagelado distante. Esta distribución de síntesis de STX dentro de los dinoflagelados, así como la estrecha relación entre secuencias de *sxtA* de *Alexandrium* y *Gymnodinium catenatum* (Figura 3, Figura 4, Figura 5 y Figura 6), sugiere que HGT de bacteria con respecto al dinoflagelado probablemente tuvo lugar antes del origen de los géneros *Alexandrium* y *Pyrodinium*, y fue seguido de una transferencia de dinoflagelado con respecto a dinoflagelado en *G. catenatum*. La extensión de HGT eucariotas-eucariotas a menudo se subestima debido a las dificultades para detectar dichos eventos, sin embargo, trabajos recientes resaltan la importancia y la prevalencia de dichas transferencias génicas.

La relación entre las secuencias de *sxtA4* de dinoflagelados en este estudio no se resolvió en este estudio, ya que la mayoría de los nodos internos no estaban estadísticamente soportados (Figura 5 y Figura 6). Por lo tanto, no fue posible determinar con certeza si la evolución de los genes *sxtA* refleja la del género *Alexandrium*, o determinar los orígenes de una HGT putativa de *Alexandrium* en *G. catenatum*. Sin embargo, las copias del gen *sxtA1* y *sxtA4* de múltiples cepas de *G. catenatum*, *A. minutum* y *A. catenella* tendieron a agruparse por especies, lo que indica que su historia refleja la evolución de estas especies. La no amplificación de *sxtA1* y *sxtA4* de las especies no productoras de STX *A. affine* y *A. andersoni* puede indicar que los genes *sxtA* se han perdido de estos linajes o han mutado tanto, que los cebadores desarrollados aquí no fueron capaces para amplificarlos.

Los dos conjuntos de datos de EST de *Alexandrium* contenían transcripciones, que codificaban homólogos para la mayoría de los genes *sxt* centrales identificados a partir de cianobacterias (Tabla 3). Aunque la similitud con los genes citobacterianos *sxt* a menudo era significativa, era mucho menor que la observada para *sxtA*. Los aciertos más cercanos fueron para otros genes bacterianos o eucariotas presentes en la base de datos. Esto indica que diferentes genes en la ruta *sxt* pueden tener orígenes separados en dinoflagelados. Se requiere un trabajo adicional para dilucidar los orígenes complejos de este grupo de genes y conducirá a nuevos avances con respecto a los genomas y la biología molecular de estos microorganismos antiguos e importantes.

Ejemplo 2: Método cuantitativo para detectar y cuantificar la producción de STX en dinoflagelados

Materiales y métodos

- Mantenimiento de cultivos

Los cultivos de dinoflagelados (Tabla 4) se mantuvieron en GSe (Doblin et al., 1999, anteriormente) o en medio L1 (Guillard & Hargraves, 1993 anteriormente) a 16-20 °C. La luz se proporcionó por bombillas fluorescentes blancas (Crompton Light), con un flujo de fotones de 60-100 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en un ciclo de oscuridad/luz de 12/12 horas. Las cepas usadas se proporcionaron por la University of Tasmania (aisladas por M. de Salas), la Australian National Culture Collection of Marine Microalgae, Provasoli-Guillard Culture Collection (CCMP) y la Cawthron Institute Culture Collection.

Tabla 4. Las cepas de dinoflagelados analizadas, contenido de STX y si el par de cebadores qPCR de *sxtA4* dio como resultado un producto. Todas las muestras se analizaron con un control positivo para asegurar que los inhibidores de la PCR no estaban presentes.

Dinoflagelado	Número de cepa	STX detectadas ¹	Producto de qPCR de <i>sxtA4</i>
<i>Alexandrium</i>			
<i>affine</i>	CCMP112	-	-
<i>affine</i>	CS-312/02	-	-
<i>andersonii</i>	CCMP1597	-	-
<i>andersonii</i>	CCMP2222	-	-
<i>catenella</i>	ACCC01	+	+
<i>catenella</i>	ACSH02	+	+
<i>catenella</i>	ACTRA02	+	+
<i>fundyense</i>	CCMP1719	+	+
<i>minutum</i>	CCMP113	+	+
<i>minutum</i>	CS-324	+	+
<i>tamarensis</i>	ATCJ33	-	+
<i>tamarensis</i>	ATNWB01	+	+
<i>Gambierdiscus</i>			
<i>australes</i>	CAWD148	-	-
<i>Ostreopsis</i>			
<i>ovata</i>	CAWD174	-	-
<i>siamensis</i>	CAWD	-	-
<i>Amphidinium</i>			
<i>massartii</i>	CS-259	-	-
<i>Gymnodinium</i>	<i>catenatum</i>	+	+
Muestra de agua ambiental que contiene:		n/a	-
<i>Protoceratium reticulatum</i>			
<i>Prorocentrum micans</i> , <i>Karenia</i> sp			
	<i>Karlodinium veneticum</i>		
	<i>Polarella glacialis</i>		
	<i>Symbiodinium</i> sp		

- Extracción de ADN y PCR

La densidad del cultivo se determinó regularmente usando una célula Sedgewick Rafter (Proscitech) y un microscopio de luz invertida (Leica Microsystems). Se recogieron números conocidos de células cultivadas durante la fase de crecimiento exponencial. El ADN se extrajo de los sedimentos celulares usando el método CTAB (see Doyle y Doyle, 1987 A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull 19:1-5), con una precipitación adicional de ADN durante una noche a -20 °C. La calidad y cantidad de ADN se determinó usando un Nanodrop (Termocientífico), y amplificando un gen de dinoflagelado de control (ARNr de *cytb* o SSU), de acuerdo con los protocolos de Lin et al. (2009), usando el par de cebadores 4f y 6r, que amplifican un fragmento de 440 pb, o cebadores de ADNr 18S 18SF08 (5'-TTGATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTG-3'(SEQ ID NO: 220)) y R0ITS (5'-CCTTGTTACGACTTCTCCTTCCTC-3'(SEQ ID NO: 221)) que amplifican ~1780 pb.

- Desarrollo del ensayo por qPCR de *sxt* y determinación del número de copias

Se construyó un alineamiento de *sxtA4* denómico y secuencias de 9 cepas de las especies *Alexandrium catenella*, *A. tamarensis*, *A. minutum*, *A. fundyense* y *Gymnodinium catenatum* (GenBank números de acceso JF343238 - JF343239, JF343259-JF343265). Se verificó el grado de conservación de las secuencias génicas para una fracción de 440 pb del dominio *sxtA4* y se encontró que era del 94-98% entre especies de *Alexandrium*, y del 89% entre especies de *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium*. Los cebadores específicos para *sxtA4* se diseñaron usando el software Primer3 y una secuencia consenso. La especificidad de las secuencias de cebador se confirmó entonces usando BLAST (herramienta de búsqueda de alineamiento local básica) en el NCBI (National Centre for Biotechnology Information). Las secuencias de los cebadores fueron *sxtA4F* 5' CTGAGCAAGGCGTTCAATTC 3' (SEQ ID NO: 198) y *sxtA4R* 5' TACAGATMGGCCCTGTGARC 3' (SEQ ID NO: 199), dando como resultado un producto de 125 pb.

Para determinar su especificidad para cepas productoras de STX, o cepas potencialmente productoras de STX, el par de cebadores de *sxtA4* se amplificó a partir de 6 especies de *Alexandrium*, *Gymnodinium catenatum* y otras 3 especies productoras de toxina de Gonyaulacales: *Ostreopsis ovata*, *Gambierdiscus australes*, *Ostreopsis siamensis*, un dinoflagelado adicional, *Amphidinium massartii*, y una muestra ambiental que contenía una comunidad mixta de fitoplancton, incluyendo 6 especies de dinoflagelado identificadas (Tabla 4). La amplificación por PCR se

realizó en 20 µl de reacciones que contenían plantilla, 0,5 µM de cada cebador, MgCl₂ 3 mM, 1 µl de BSA (NEB) y 10 µl de Immomix (Bioline), que contenían dNTPs, Immolase Taq polimerasa y tampón de reacción o 20 µl con plantilla, 0,2 µM de cada cebador, MgCl₂ 3 mM, 1 µl de BSA, 2 µl de tampón de reacción MyTaq (Bioline) que contenía dNTPs, 0,2 µl de polimerasa de inicio en caliente MyTaq (Bioline) y H₂O. Las PCR de inicio en caliente se realizaron con una etapa de desnaturalización inicial de 95 °C durante 5-10 min, y 35 ciclos de 30 s a 95 °C, 30 s a 55 o 60 °C (para los cebadores *cytb* y *sxtA4*, respectivamente), 30 s a 72 °C seguido de una etapa de extensión final de 7 min a 72 °C. El fragmento 18S se amplificó en 25 µl de reacciones con plantilla, 1 unidad de tampón de PCR 10X BD Advantage 2 (BD Biosciences), dNTP 5 mM, 0,2 µM de cada cebador, DMSO (concentración final al 10%) y 0,25 unidades de 50X BD Advantage 2 Polymerase Mix (BD Biosciences). Las PCR se amplificaron como se indica a continuación: 94 °C - 1 min; 30 x (94 °C - 30 s; 57 °C - 30 s; 68 °C - 120 s); 68 °C - 10 min; 8 °C - mantenimiento. Los productos se analizaron usando electroforesis en gel de agarosa al 3%, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron.

La qPCR también se realizó usando un par de cebadores específicos para el ribotipo asiático templado de *Alexandrium catenella*, encontrado en aguas templadas australianas, basado en una región de la región de ADN ribosomal de la subunidad grande (LSU) (Hosoi Tanabe y Sako, 2005), amplificando un fragmento de 160 pb, catF (5'-CCTCAGTGAGATTGTAGTGC-3' (SEQ ID NO: 222)) y catR (5'-GTGCAAAGGTAATCAAATGTCC-3' (SEQ ID NO: 223)). Los ensayos se realizaron en muestras ambientales, y las nuevas curvas estándar de este par de cebadores de ARNr LSU se construyeron sobre la base de cepas aisladas de aguas australianas por M. de Salas (UTAS): ACCC01, aislada de Cowan Creek, NSW, aproximadamente a 20 km del sitio Brisbane Water y 50 km del sitio del río Georges, ACSH02, aislada del puerto de Sydney, aproximadamente a 35 km al norte del sitio del río Georges, y ACTRA02, aislada de Tasmania, Australia.

El ciclado de qPCR se realizó en un Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science) usando SSOFast Evagreen supermix (Biorad). Se realizaron ensayos de qPCR en un volumen final de 20 µl que consistía en 10 µl de mezcla maestra Evagreen (que contenía colorante intercalante de ADN, tampón y *Taq* polimerasa), 1 µl de ADN plantilla, 0,5 µM de cada cebador y 1 µl de BSA. Los ensayos qPCR se realizaron por triplicado con los siguientes ciclos: 95°C durante 10 s, y 35 réplicas de 95°C durante 15 s y 60°C durante 30 s. El análisis de la curva de fusión se realizó al final de cada ciclo para confirmar la especificidad de amplificación, y los productos de PCR seleccionados se secuenciaron.

Las curvas estándar tanto para *sxtA4* como ARNr LSU se construyeron de dos maneras: (1) Usando una serie de diluciones de una concentración conocida de producto de PCR fresco, que varía de 5,7-5,7 x 10⁻⁵ ng(n = 6). Se usaron curvas estándar usando producto de PCR para determinar la eficacia del ensayo (véase el método en Pfaffl, (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR Nucleic Acids Res. 2001 May 1;29(9):e45), así como para determinar el número de copias. Las moléculas de producto de PCR se determinaron: $(A \times 6,022 \times 10^{23}) \times (660 \times B)^{-1}$ con A: concentración del producto de PCR, 6,022 x 10²³: número de Avogadro, 660: peso molecular promedio por par de bases y B: longitud del producto de PCR. Se determinó el número de moléculas en las muestras desconocidas y se dividió por el número conocido de células en la plantilla qPCR de ADN para obtener el número de copias por célula. (2) Extracción de ADN de muestras duplicadas de números conocidos de células de cepas de *Alexandrium catenella* (ACCC01, ACSH02, ACTRA02) tomadas durante la fase de crecimiento exponencial, y dilución del ADN al 50% en 3 órdenes de magnitud (n = 6).

Para estimar la abundancia ambiental de *A. catenella* en las muestras basadas en el ensayo de ARNr LSU, las ecuaciones de (2) se extrapolaron y se aplicaron a los valores de CT medidos para estas muestras. Debido a que se ha encontrado variabilidad en los números de copias de los genes de ARNr entre cepas de algunas especies de *Alexandrium*, así como una variabilidad de hasta un factor de 2 esperado debido a la variabilidad en el crecimiento y las condiciones del ciclo celular de las células, se determinó el número de copias de la región génica de ARNr LSU en muestras duplicadas de cada una de las 3 cepas. Las abundancias finales de *A. catenella* en las muestras ambientales se determinaron como la media y la desviación estándar de 6 estimaciones independientes.

- Colección de muestras de fitoplancton y ostra

La comunidad de fitoplancton se muestreó diariamente durante la marea media durante el 15-20 de noviembre de 2010, en sitios de monitorización estándar cerca de las granjas de ostras de Sydney (*Saccostrea glomerata*) en Wagonga Inlet, Narooma, NSW, -36° 13' E 150° 6' S y el río Georges, NSW -34° 1' E 151° 8' S (Figura 7). Las muestras también se tomaron en Brisbane Water, NSW -33° 28' E 151° 18' S el 22 de julio de 2010 (Figura 7).

Se tomaron muestras de botellas de 4 l por triplicado cada día para el análisis molecular. Se tomó otra botella de 500 ml y se fijó inmediatamente con yoduro de Lugol para la identificación microscópica y el recuento. Las muestras se

filtraron usando filtros Millipore de 3 µm y se congelaron a -20 °C hasta la extracción del ADN. Se tomaron diez muestras individuales de *S. glomerata* de granjas en las inmediaciones del sitio de muestreo de fitoplancton el 17/11/10 y el 19/11/10. Las muestras de *S. glomerata* se agruparon para la prueba de toxinas.

- 5 Para determinar la especificidad del par de cebadores en muestras ambientales mixtas, se tomaron muestras de una comunidad de fitoplancton en la que no estaban presentes especies conocidas productoras de STX. Se tomaron muestras de 1 l de la comunidad de superficie en Jervis Bay el 19 de enero de 2011, y se conservaron, se concentraron, se identificaron y se contaron especies presentes de 500 ml, como anteriormente. Los dinoflagelados presentes se identificaron como *Protoceratium reticulatum*, *Karlodinium cf veneficum*, *Karenia* sp., *Prorocentrum micans*, *Polarella glacialis*, *Pfiesteria shumwayae*, y *Symbiodinium* sp. Se filtraron 500 ml de la muestra restante y se realizó la extracción de ADN y PCR como se ha descrito anteriormente.

- Recuentos celulares de *Alexandrium* usando microscopía

- 15 Las células de fitoplancton en ~300 ml de las muestras conservadas de Lugol se concentraron por filtración de membrana asistida por gravedad sobre filtros de éster de celulosa de 5 µm (Advantec) antes del lavado en 4 ml y el recuento. Las especies de *Alexandrium* se identificaron y se contaron usando una célula Sedgewick Rafter y un microscopio Zeiss Axiolab equipado con óptica de contraste de fase. El número de células contadas varió entre las muestras, dependiendo de la abundancia de *Alexandrium*, y las tasas de error estándar se calcularon usando la ecuación: $\text{Error} = 2/\sqrt{n}$, donde n es el número de células observadas en la muestra.

- Determinación de toxinas en ostras y culturas

- Las muestras de marisco y los sedimentos celulares de dinoflagelados se analizaron mediante HPLC, de acuerdo con el Método oficial AOAC 2005.06 para toxinas paralizantes por mariscos en el Cawthron Institute, Nueva Zelanda. No se usó un modificador de matriz como se describe en el protocolo original, sino que se usaron recuperaciones promedio de pico para cada compuesto por separado. El análisis por HPLC se realizó en un sistema Waters Acquity UPLC (Waters) acoplado a un detector Waters Acquity FLR. La separación se logró con una columna Waters Acquity C18 BEH de 1,7 µm de 2,1 x 50 mm a 30 °C, eluida a 0,2 ml min⁻¹. Las fases móviles eran formiato de amonio 0,1 M (A) y formiato de amonio 0,1 M en acetonitrilo al 5% (B), ambos ajustados a pH 6. El gradiente consistió en el 100% de A durante 0,5 min, un gradiente lineal al 80% de B durante 3,5 min, después volviendo a las condiciones iniciales durante 0,1 min y se mantuvieron durante 1,9 min. El detector de fluorescencia tenía una excitación ajustada a 340 nm y una emisión a 395 nm. Los estándares analíticos para los análogos de STX se obtuvieron del National Research Council, Canadá. El límite de detección del HPLC de los cultivos celulares se consideró que era de 0,1 pg por célula⁻¹ para NEO y STX, 0,2 pg por célula⁻¹ para GTX1/4, GTX6 (B2) y GTX5 (B1), 0,5 pg por célula⁻¹ para C1,2, y <0,3 pg por célula⁻¹ para los análogos C3,4.

Resultados

- 40 - Especificidad, sensibilidad y eficiencia del par de cebadores

- Se encontró que los cebadores diseñados en este estudio amplifican un fragmento del tamaño correcto en todos los dinoflagelados productores de STX de la especie: *Alexandrium minutum*, *A. catenella*, *A. fundyense*, *A. tamarense* y *Gymnodinium catenatum* (Tabla 4). Además, amplificó un fragmento del tamaño correcto de las especies *A. tamarense*, cepa ATCJ33, ribotipo de Tasmania, que no se encontró que produjera STX a un nivel superior al límite de detección del método de HPLC utilizado. La secuenciación de los productos confirmó que se trata de un homólogo de *sxtA4*.

- El par de cebador de *sxtA4* no amplificó el ADN de las especies de Gonyaulacalean relacionadas no productoras de STX *Alexandrium andersonii*, *Alexandrium affine*, *Gambierdiscus australes*, *Ostreopsis ovata* o *Ostreopsis siamensis* ni de la especie de dinoflagelado relacionada de forma más distante *Amphidinium massartii*. Además, el par de cebadores de *sxtA4* no amplificó el ADN de las muestras de fitoplancton, que contenían una comunidad mixta planctónica que incluía bacterias, diatomeas, picoplancton y los dinoflagelados *Protoceratium reticulatum*, *Karlodinium cf veneficum*, *Karenia* sp., *Prorocentrum micans*, *Polarella glacialis*, *Pfiesteria shumwayae*, y *Symbiodinium* sp. (Tabla 4). En contraste, el ADN de todas las muestras se amplificó usando el par de cebadores de control positivo para asegurar que la plantilla de reacción estaba intacta y libre de inhibidores.

La eficacia del ensayo *sxtA4* basado en este par de cebadores fue del 97% según se calculó usando una serie de diluciones de producto de PCR fresco en 6 órdenes de magnitud. El ensayo tuvo una eficacia del 93-107% según se

calculó usando una serie de dilución del 50% de ADN_g duplicado de las tres cepas de *A. catenella* (Figura 8). Para las curvas estándar basadas tanto en el producto de PCR como basadas en ADN_g, los valores de r^2 de las ecuaciones de regresión fueron 0,95 o mayores (Figura 8). El ensayo fue sensible a las cantidades de ADN que representan ~30 a >2000 células de las tres cepas de *A. catenella*. Por lo tanto, si la recolección de muestras se realizó siguiendo un protocolo similar al utilizado, y se recogieron 4 l de agua de mar, se extrajeron y se eluyeron en 15 µl, de los cuales se ensayó 1 µl, el ensayo detectaría entonces concentraciones ambientales de *A. catenella* con un límite inferior de aproximadamente 110 células por l⁻¹.

- Número de copias de genes *sxtA4*

El número de copias de *sxtA4* en las 3 cepas cultivadas de *Alexandrium catenella* tenía una media de 178-280 por célula⁻¹ (Tabla 5). La toxicidad de estas cepas fue de 3,1-6,6 pg de equivalentes de STX por célula⁻¹ (Tabla 5). En las muestras ambientales, el número de copias de *sxtA4* se estimó en 226 y 376 por célula⁻¹ en las muestras del río Georges y Wagonga Inlet, respectivamente, y el más variable entre las estimaciones basadas en las muestras de

Tabla 5. STX presentes en cepas de *Alexandrium catenella*, en pg por célula⁻¹ y en *Saccrostrea glomerata* de los sitios de muestreo, en µg equivalentes de STX kg⁻¹ de marisco, y número medio de copias de genes *sxtA4* en la cepa o en todas las muestras de fitoplancton de ese sitio de muestreo. Una lectura de 0 indica que los niveles estaban por debajo del límite de detección de la prueba. Las muestras de *S. glomerata* se tomaron el 17/11/10, el 19/11/10 y el 22/7/10 para el río Georges, Wagonga Inlet y Brisbane Water, respectivamente.

	STX totales	GTX- 1,4	GTX- 6	C1,2	GTX-5 (B1)	NEO/STX	C- 3,4	B2	<i>sxtA4</i> por célula ⁻¹ +/- de en la cepa o en la muestra de plancton
cultivos									
ACSH02	5,25	1,75	0,60	2,40	0,5	<0,1	<0,3	0	178 +/- 49 (n = 9)
ACCC01	6,60	1,15	0	2,55	0	0	1,00	1,9	240 +/- 97 (n = 3)
ACTRA02	3,13	1,13	0	2,00	0	0	0	0	280 +/- 85 (n = 3)
<i>S. glomerata</i>									
Río Georges	200	160	traza	30	10	0	traza	0	226 +/- 97 (n = 15)
Wagonga Inlet	48	32	0	16	0	0	0	0	376 +/- 257 (n = 12)
Brisbane Water	145	53	92		0	0	0	0	275 (n = 1)

Muestras ambientales

Se detectó *sxtA4* en la muestra de Brisbane Water individual, así como en los conjuntos de muestras del río Georges y Wagonga Inlet (Figura 9). La secuenciación y el análisis de la curva de fusión confirmaron que se trata de *sxtA4*, con una identidad promedio del 99% o superior al gen correspondiente de la cepa *Alexandrium catenella*. Se observó una relación positiva entre el número de células, según lo estimado a partir de microscopía, el número de células según lo estimado a partir del ADN_r LSU, y el número de copias de *sxtA4* en ambos grupos de muestras ambientales. La correlación entre el número de células según se estimó a partir de qPCR génica del ARN_r LSU y el número de copias del gen *sxtA4* estimado fue muy alta para las muestras del río Georges ($r^2 = 0.97$, pendiente = 0,0059, $p < 0,001$), e inferior para la muestra de Wagonga Inlet ($r^2 = 0,70$, pendiente = 0,001, $p < 0,07$) (Figura 9).

STX en muestras de *S. glomerata* agrupadas se detectaron de cada uno de estos tres sitios, con las mayores concentraciones indicadas para el sitio del río Georges (200 µg de equivalente de STX kg⁻¹ de marisco) con niveles inferiores registrados tanto para Wagonga Inlet como para Brisbane Water (48 y 145 µg de equivalente de STX kg⁻¹ de marisco, respectivamente, Tabla 5).

Análisis

Se proporciona en el presente documento un nuevo método para detectar y cuantificar el potencial de producción de STX en muestras ambientales marinas. El ensayo se basa en la detección del gen *sxtA* que codifica una enzima única supuestamente implicada en la ruta *sxt*. El método descrito detectó el gen *sxtA* en todos los cultivos

productores de STX, y no lo detectó en los cultivos no productores de STX o la muestra ambiental que no contenía especies productoras de STX conocidas. Sin embargo, también se detectaron genes *sxtA* en la cepa no productora de *Alexandrium tamarense*, ribotipo de Tasmania, ATCJ33. Dado que se ha encontrado que una cepa estrechamente relacionada del ribotipo de Tasmania de esta especie produce STX (datos no publicados), es posible que la cepa ATCJ33 tenga el potencial de producir STX bajo ciertas circunstancias. La amplificación de *sxtA4* de las especies y cepas de *Alexandrium* y *Gymnodinium catenatum* en este estudio está en línea con los hallazgos en el Ejemplo uno anterior, en el que se amplificaron fragmentos de aproximadamente 550 pb y de 750 pb de *sxtA1* y *sxtA4* de las mismas cepas ensayadas, y no se detectó la amplificación de estos fragmentos de las especies *Alexandrium affine* y *A. andersonii*.

- Número de copias del contenido de *sxtA4* y STXs

Se encontró que la abundancia de *sxtA4* era relativamente similar entre las cepas y las muestras ambientales ensayadas, con un intervalo de 178-376 copias por célula⁻¹ (Tabla 5). Esto apoya los resultados en el Ejemplo uno anterior en el que se encontraron 100-240 copias por célula⁻¹ durante el crecimiento de la cepa ACSH02 de *Alexandrium catenella* usando qPCR. La toxicidad equivalente de STX total de las tres cepas de *Alexandrium catenella* fue de 3,1-6,6 pg equivalentes de STX por célula⁻¹ (Tabla 5). Esto está dentro de otras especies productoras de STX, tales como cepas de *A. minutum*, *A. catenella* y *A. tamarense* (0,66-9,8 pg de equivalentes de STX por célula⁻¹), dependiendo del suministro de nutrientes y el crecimiento del cultivo, pero menor que las cepas más tóxicas tales como *Gymnodinium catenatum* (26-28 pg de equivalentes de STX por célula⁻¹), y *Alexandrium ostentfeldii* (hasta 217 pg de equivalentes de STX por célula⁻¹)

- *sxtA4*, *A. catenella* y STXs en el sudeste de Australia

Se tomaron muestras de *Alexandrium catenella* en tres ocasiones en estuarios del sureste de Australia a lo largo de este período de estudio y, en cada caso, se detectó *sxtA4* (Tabla 4). Para el conjunto de muestras del río Georges, la correlación entre copias de *sxtA4* por l⁻¹ y la abundancia celular por l⁻¹, según lo determinado por ADNr LSU, fue altamente significativa (Figura 9). En el sitio de muestreo del río Georges, se registraron abundancias medias de 3150-26450 células por l⁻¹ a lo largo del período de muestreo de 5 días en base a la estimación del análisis de ADNr LSU, y 7900-38000, basándose en los recuentos de células microscópicas de los días seleccionados. El último día de muestreo, se encontró variabilidad en los recuentos celulares entre las muestras por triplicado tomadas en el sitio, lo que refleja la fragmentación en la distribución de *A. catenella*. A pesar de esto, la correlación entre las copias de *sxtA4* por l⁻¹ y el número de células de *Alexandrium catenella* basado en qPCR de ARNr fue muy fuerte ($r^2 = 0,97$, pendiente = 0,0059, $p < 0,001$), y las cargas totales de STX en muestras de ostras tomadas durante esta semana fueron 200 µg de equivalentes de STX por kg⁻¹ de mariscos, por debajo del nivel regulador para la monitorización de la salud pública (800 µg de equivalentes de STX por kg⁻¹ de marisco) pero el más alto de las tres muestras tomadas durante este estudio.

En Wagonga Inlet, se encontraron abundancias medias de 30-288 células por l⁻¹ basadas en la estimación del ensayo de qPCR de ADNr LSU y 80-540 células por l⁻¹ basándose en los recuentos de células del microscopio a lo largo de todo el período de muestreo (Figura 9). La correlación entre las copias de *sxtA4* por l⁻¹ y el número de células, según se calculó a partir del ensayo de qPCR de ADNr LSU, fue menor que la de las muestras del río Georges ($r^2 = 0,70$, pendiente = 0,001, $p = 0,07$). Esto puede reflejar el hecho de que dos de estas muestras contenían menos de 110 células por l⁻¹ y, por lo tanto, estaban en el límite inferior de detección fiable de este ensayo. Como alternativa, el menor coeficiente de correlación de este conjunto de muestreo puede atribuirse a la presencia de diferentes cepas de *Alexandrium catenella* que difieren en el número de copias de *sxtA*.

- Métodos de detección para STX y especies de *Alexandrium*

En general, la enumeración de fitoplancton formador de HAB y sus toxinas para la industria y para la investigación oceanográfica biológica se basa en el recuento basado en microscopía de especies y métodos de detección directa de toxinas. La cuantificación de las STX generalmente se realiza mediante bioensayo de ratón, HPLC instrumental, LC-MS o inmunoensayos basados en anticuerpos, tales como ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA). La HPLC es un proceso lento y costoso, que requiere un laboratorio analítico bien equipado y patrones puros de STX y sus numerosos análogos. Aunque los métodos de ELISA recientemente desarrollados han superado algunos de estos inconvenientes, no están disponibles para varios derivados de STX comunes, y tienen problemas de reactividad cruzada, ya que los perfiles de las toxinas a menudo son bastante complejos.

Los métodos genético moleculares y basados en anticuerpos para la identificación y enumeración de especies

marinas de fitoplancton tienen muchas ventajas en comparación con los recuentos basados en microscopios y los métodos directos de detección de toxinas: su simplicidad, con un requisito mucho menor de preparación y experiencia en comparación con la identificación taxonómica basada en microscopía, la rentabilidad (los reactivos de qPCR generalmente tienen un coste de menos ~1 dólar por muestra), la velocidad y el potencial para la automatización (hasta 30 muestras pueden procesarse por triplicado en menos de 2 horas en una máquina de qPCR estándar usando placas de 96 pocillos). El coste de las máquinas de qPCR en tiempo real ha disminuido sustancialmente en los últimos años, y es posible manipularlas con una preparación básica en técnicas de biología molecular.

- 10 Se puede lograr un límite de detección fiable de ~110 células por l⁻¹ de *Alexandrium catenella* usando el método de qPCR indicado aquí. Los ensayos basados en qPCR para la detección de *Alexandrium* pueden ser más sensibles que los métodos basados en microscopía a bajas abundancias celulares y donde las especies de interés pueden ser un componente menor del fitoplancton. El método de la cámara de recuento de Sedgewick-Rafter, como se aplica en la mayor parte de los programas de monitorización de fitoplancton, se considera que tiene un límite de detección
- 15 fiable de 1000 células por l⁻¹. Sin embargo, esto depende del volumen de muestra observado. En el presente estudio, los niveles de detección hasta <20 células por l⁻¹ se lograron utilizando el método de la cámara de recuento de Sedgewick-Rafter, filtrando la muestra de tal forma que se observaron mayores volúmenes de muestra. El error estándar de los recuentos basados en microscopio depende del número de células observadas, y aumenta al disminuir el número de células. Para los métodos basados en genética molecular, el error estándar asociado con los
- 20 recuentos celulares es independiente de la abundancia de células, para las abundancias de células mayores que el umbral de detección del ensayo. La identificación genética molecular y los métodos de enumeración han indicado umbrales de detección del orden de 10-100 células por l⁻¹ de especies de *Alexandrium* usando sondas de qPCR y FISH, dependiendo del volumen de agua (típicamente 1-8 l) muestreado usando estos métodos. Dado que las concentraciones tan bajas como de 200 células por l⁻¹ de especies de *Alexandrium* se han asociado con la absorción
- 25 de STX en marisco, la detección fiable de especies a bajas abundancias celulares es una ventaja importante de los métodos de enumeración basados en qPCR sobre los recuentos microscópicos según se pone en práctica actualmente en la mayor parte de los programas de monitorización de fitoplancton.

Aunque se han observado muchas ventajas en los métodos de monitorización basados en genética molecular, los

30 métodos actuales tienen varios inconvenientes. La qPCR para la enumeración de especies usando genes marcadores requiere el uso de múltiples sondas en hábitats donde se producen varias especies de *Alexandrium*, *Pyrodinium bahamense* y *Gymnodinium catenatum* y producen STX. Las especies no documentadas previamente en un hábitat particular se identifican ocasionalmente, y es posible que no se aprecien si no está disponible una sonda adecuada para su identificación. Además, la enumeración de ciertas especies diana requiere investigación para

35 cultivar y determinar la toxicidad de las especies locales productoras de STX, ya que esto puede variar entre regiones. Las altas abundancias de *Alexandrium catenella* en las regiones en las que esta especie generalmente produce STX no siempre se han correlacionado con STX en marisco, lo que sugiere que pueden producirse diferencias en el nivel de población en la producción de STX.

- 40 Un inconveniente final de la mayoría de los métodos de recuento basados en qPCR es que los genes de ARN ribosómico, que se usan comúnmente para detección, ya que sus velocidades de divergencia relativamente rápidas permiten el diseño de marcadores específicos de especie, pueden variar significativamente en el número de copias entre las cepas de algunas especies de *Alexandrium*, y en algunos casos, durante el crecimiento de las especies. Esto puede deberse a la presencia de pseudogenes de ADNr inestables en algunas especies de *Alexandrium*, y
- 45 posiblemente a la presencia de moléculas de ADNr extracromosómico. El efecto de esta variación es causar disparidades entre el número de genes estimado y el número de células, y en consecuencia, inconsistencias entre las estimaciones de abundancia basadas en microscopía y aquellas basadas en qPCR. Por esta razón, en el presente estudio, se determinó el número de copias de los genes de ADNr LSU en réplicas de tres cepas de *A. catenella* aisladas de aguas locales, con el fin de obtener una estimación fiable del número de células basado en el
- 50 número de copias de ADNr LSU.

El nuevo método presentado aquí se basa en la detección directa de un gen (*sxtA*) involucrado en la síntesis de STX. Por lo tanto, puede estar más estrechamente relacionado con la producción de STX que la abundancia de cualquier especie en particular. Además, es considerablemente más rápido y más económico detectar *sxtA* que las

55 toxinas reales usando instrumentos analíticos. Usando el par de cebadores descrito, *sxtA4* no se amplificó a partir de dos especies de *Alexandrium* no productoras de STX probadas, sino que se amplificó a partir de la especie de *Gymnodinium catenatum*, productora de STX relacionada de forma relativamente distante. Esto permite el uso de un único ensayo para detectar simultáneamente varios géneros productores de STX diferentes, incluyendo las especies productoras de STX potenciales que no se conocían previamente en un sitio particular. Sin embargo, el ensayo

también amplificó un producto de una cepa de *Alexandrium tamarense* ATCJ33 que no se ha encontrado que produzca STX, lo que refleja los hallazgos en el Ejemplo uno anterior de que esta cepa poseía *sxtA1* y *sxtA4*, y mostrando que este ensayo puede no ser indicativo, en un pequeño porcentaje de casos, de la presencia de STX.

- 5 La regulación del nivel de transcripción puede desempeñar un papel relativamente menor en la expresión de muchos genes de dinoflagelados, en comparación con la regulación en otros organismos, ya que se ha informado que los genes que se regulan positivamente aumentan en la abundancia de la transcripción en no más de aprox. 5 veces, en comparación con los niveles durante el crecimiento estándar. Esto ha llevado a la teoría de que la duplicación de copias genómicas de genes altamente expresados en dinoflagelados puede funcionar como un medio para
10 aumentar su transcripción. Si esto fuera cierto, puede haber una relación entre el número de copias de *sxtA* por célula⁻¹ y la cantidad de STX producidas por una cepa en particular. En este estudio, las especies evaluadas tenían cuotas de células STX relativamente similares y ninguna diferencia significativa en *sxtA* por célula⁻¹.

15 **Ejemplo 3: Investigación de secuencias *sxtA* en especies de dinoflagelados productoras y no productoras de saxitoxina**

Objetivo

Para amplificar y secuenciar genes implicados en la síntesis de saxitoxina (STX) en dinoflagelados que se sabe que
20 producen saxitoxina y aquellos que no se sabe que producen STX.

Materiales y métodos

Se cultivaron cepas de dinoflagelados en medio GSe y se mantuvieron en un armario de cultivo a 18 grados, y un
25 ciclo de luz 12/12. El ADN se extrajo de 20 ml de cultivo de crecimiento exponencial mediante cosecha centrifugando a 3000 g durante 5 minutos, después usando el método CTAB.

La plantilla de ADN se amplificó por PCR usando PCR polimerasa rica en Advantage GC (Clontech), que contiene BSA al 10%, en un termociclador con las siguientes condiciones de PCR: una desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 °C antes de 35 ciclos de (1) 30 s a 94 °C de desnaturalización, (2) 30 s de hibridación (temperatura variable), y
30 (3) 1-2 minutos a 72 °C de extensión, con una extensión final de 10 minutos a la misma temperatura. Los productos de PCR se escindieron en gel usando Promega Wizard SV Gel y PCR Clean-Up System (Promega), antes de la secuenciación directa con un analizador de ADN ABI3730 (Applied Biosystems) usando cebadores como se indica a continuación.

35

Sxt001	F	TGCAGCGMTGCTACTCCTACTAC (SEQ ID NO: 200)	57,1
Sxt002	R	GGTCGTGGTCYAGGAAGGAG (SEQ ID NO: 201)	55,9

Las especies recientemente investigadas para este estudio fueron la especie productora de STX: *Alexandrium tamarense*, cepa CAWD121, y las especies no productoras *Alexandrium* sp, cepa AAKT01, *Amphidinium massartii* CS-259, *Amphidinium mootonorum* CAWD161, *Coolia monotis* CAWD98, *Gambierdiscus australes* CAWD148,
40 *Prorocentrum lima* CAWD, *Protoceratium reticulatum* CAWD, *Gonyaulax spinifera* CAWD.

Resultados

Se identificó un gen del dominio *sxtA1* del tamaño correcto a partir de la cepa CAWD121 de la especie *Alexandrium tamarense* (SEQ ID NO: 224), y la presunta especie productora de saxitoxina de *Alexandrium catenella*, cepa ACNC50 (SEQ ID NOs: 225-226 muestra secuencias de dominio *sxtA1* de dos clones de la cepa ACNC50). Se encontró que esto es un 99% similar al gen correspondiente de la cepa ACSH02 de *Alexandrium catenella*.

Un gen para *sxtA1* (SEQ ID NO: 227) también se amplificó a partir de la cepa AAKT01 de *Alexandrium*, que no se ha
50 notificado previamente que produzca saxitoxina.

No se podrá amplificar ningún gen de ninguna de las especies no productoras de dinoflagelados restantes.

Conclusión

55

La presencia de genes supuestamente implicados en la síntesis de saxitoxina en dinoflagelados se ha confirmado en todas las especies que producen saxitoxina. En este estudio, se encontraron en una cepa productora adicional que

ha causado proliferaciones de algas nocivas que contienen saxitoxina en Nueva Zelanda, aislada como CAWD121. Además, se encontró que una especie de *Alexandrium*, cepa AAKT01, estrechamente relacionada con especies que producen saxitoxina, posee el gen *sxtA1*. No se ha notificado previamente que esta especie produzca saxitoxina, pero ahora se sugiere que puede producirla bajo ciertas circunstancias. Se pueden requerir análisis de toxinas usando técnicas de detección más sensibles para verificar esta hipótesis. Por ejemplo, Negri et al (2003) notificaron que la cepa *A. tamarense*, ATBB01 mostró actividad de STX al ensayarse con el ensayo de saxifilina, pero no tenía toxinas detectables cuando se analizó con métodos de HPLC (véase Negri, et al. (2003). "Paralytic shellfish toxins are restricted to few species among Australia's taxonomic diversity of cultured microalgae", J. Phycol. 39(4), 663-667.

- 10 No se encontró que ninguna de las especies de otras órdenes de dinoflagelados investigadas en este estudio, que no se sabe que producen saxitoxina y que no están estrechamente relacionadas con las especies productoras de saxitoxina, poseyera el gen *sxtA1*.

15 **Ejemplo 4: *Alexandrium catenella* de Opuia Bay, Nueva Zelanda, según se monitoriza mediante un ensayo de qPCR basado en *sxtA***

Objetivo

- 20 Para determinar si el número de copias del gen *sxtA* implicado en la síntesis de saxitoxina en dinoflagelados marinos, se correlaciona con un recuento manual del número de células de *Alexandrium catenella* en muestras ambientales marinas.

Métodos

- 25 Las muestras se recogieron en Opuia Bay, en la región sudeste de la bahía de Onapua en Queen Charlotte Sound, Isla Sur, Nueva Zelanda. Una vez a la semana durante 4 semanas (22/2/12 - 13/3/12), se tomaron por triplicado muestras de 500 ml de una muestra integrada de 0-15 m de profundidad desde la columna de agua y se almacenaron a -80 °C. Después de la descongelación, se filtraron 200 ml de cada muestra a través de un filtro Millipore de 0,45 µm. El filtro se aclaró en ~50 ul de agua de mar en un tubo Eppendorf, se agitó vorticialmente y se centrifugó. El sedimento se extrajo utilizando el kit de suelo de ADN Mobio, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN se eluyó dos veces en 100 ul (el mismo eluato se enjuagó a través del filtro dos veces). El ADN se concentró en 20 ul de muestra usando una alta precipitación de sal/etanol.

- 35 Las secuencias de los cebadores fueron *sxtA4F* 5'-CTGAGCAAGGCGTTCAATTC-3' (SEQ ID NO: 198) y *sxtA4R* 5'-TACAGATMGGCCCTGTGARC-3' (SEQ ID NO: 199), dando como resultado un producto de 125 pb.

- Las curvas estándar para *sxtA4* se construyeron usando una serie de diluciones de una concentración conocida de producto de PCR fresco, que variaba de $5,7-5,7 \times 10^{-5}$ ng ($n = 6$). Se usaron curvas estándar usando producto de PCR para determinar la eficacia del ensayo, así como para determinar el número de copias. Las moléculas de producto de PCR se determinaron: $(A \times 6,022 \times 10^{23}) \times (660 \times B)^{-1}$ con A: concentración del producto PCR, $6,022 \times 10^{23}$: número de Avogadro, 660: peso molecular promedio por par de bases y B: longitud del producto de PCR.

- El ciclado de qPCR se realizó en un Rotor Gene 3000 (Corbett Life Science) usando SSOFast Evagreen supermix (Biorad). Se realizaron ensayos de qPCR en un volumen final de 20 µl que consistía en 10 µl de mezcla maestra Evagreen (que contenía colorante intercalante de ADN, tampón y *Taq polimerasa*), 1 µl de ADN plantilla, 0,5 µM de cada cebador y 1 µl de BSA. Los ensayos qPCR se realizaron por triplicado con los siguientes ciclos: 95°C durante 10 s, y 35 réplicas de 95°C durante 15 s y 60°C durante 30 s. El análisis de la curva de fusión se realizó al final de cada ciclo para confirmar la especificidad de amplificación, y los productos de PCR seleccionados se secuenciaron.

50 **Resultados**

- Se encontró que el número de copias de *sxtA4* por l^{-1} detectado alcanzó un pico en la tercera semana de muestreo y luego cayó (Figura 10), similar al cambio en la abundancia de las células de *Alexandrium catenella*. Se encontró que número de copias de *sxtA4* l^{-1} en las muestras de agua por triplicado estaba correlacionado significativamente con la abundancia media de células de *Alexandrium catenella* l^{-1} (Figura 11, $R^2 = 0,86$).

Conclusión

Se encontró que el ensayo cuantitativo de qPCR basado en el gen *sxtA* es un método fiable para determinar el

potencial de presencia de saxitoxina en muestras ambientales marinas que contenían *Alexandrium catenella*. Se encontró que la abundancia de copias del gen *sxtA* estaba correlacionada significativamente con la abundancia de la especie *Alexandrium catenella*.

5 Ejemplo 5: Amplificación de las secuencias de *sxtA1* y *sxtA4* e investigación de la producción de saxitoxina y *sxtA* en el clado del grupo V de *Alexandrium tamarense* "no tóxico"

Resumen

- 10 Las tres especies de *Alexandrium* *A. tamarense*, *A. fundyense* y *A. catenella* incluyen cepas que pueden ser potentes productores de la neurotoxina saxitoxina (STX) y sus análogos, los agentes causantes de la intoxicación paralizante por marisco (PSP). Estas tres especies son morfológicamente muy similares, difieren entre sí solo en la posesión de un poro ventral, o en la capacidad de formar cadenas. La idoneidad de estos caracteres morfológicos para la delimitación de especies ha sido ampliamente debatida. Un clado distintivo de este complejo de especie, el
- 15 Grupo V, el clado de Tasmania, se encuentra en el sur de Australia, y ocasionalmente se produce en proporciones de proliferación. Este clado ha sido considerado no tóxico, y no se han encontrado toxinas PSP en los marisco después de la proliferación de esta especie. En el presente estudio, se identificó una cepa de Tasmania de *Alexandrium tamarense*, Grupo V, que produce STX y posee el gen, *sxtA* que está supuestamente involucrado en la producción de STX. El perfil de la toxina se determinó y es inusual, incluyendo una alta proporción de GTX5 y una
- 20 pequeña cantidad de STX, y difiere de la de *A. catenella* co-ocurrente (Grupo IV). Una proliferación putativa de *A. tamarense* que se produjo en octubre de 2010, y el posterior hallazgo de STX en ostras de la roca de Sydney (*Saccostrea glomerata*), puede sugerir que algunas cepas de origen natural de esta especie podrían producir STX.

Introducción

- 25 Tres especies comunes y generalizadas del género dinoflagelado *Alexandrium*, *A. catenella*, *A. tamarense* y *A. fundyense*, poseen características morfológicas muy similares, a veces superpuestas (Balech, 1995, Fukuyo, 1985, Steidinger, 1990). Se considera que este clado comprende un "complejo de especies", ya que consiste en cinco grupos genéticamente distintos (John et al., 2003; Orr et al., 2011; Scholin et al., 1994; Lilly et al., 2007). Las
- 30 características que se utilizan para la identificación de estas especies incluyen la forma de la célula, la forma del complejo de poro apical (APC), la presencia (*A. tamarense*) o la ausencia (*A. catenella*/*A. fundyense*) de un poro ventral en la primera placa apical, y si las células muestran una tendencia a la formación de cadenas (*A. catenella*) o no (*A. tamarense*/*A. fundyense*) (Balech, 1995). También se han observado algunas formas con morfologías intermedias entre estas tres especies (Cembella et al., 1988; Gayoso y Fulco, 2006; Orlova et al., 2007; Sako et al.,
- 35 1990; Orr et al., 2011).

- En contraste con la información basada en la morfología, los numerosos estudios filogenéticos de especies de *Alexandrium*, en base a regiones del operón de ARNr, incluyendo los genes SSU, ITS/5.8s y LSU, tienen clados claramente diferenciados (Grupos IV) de entre sí (John et al., 2003; Scholin et al., 1994); (Kim y Sako, 2005; Leaw et
- 40 al., 2005; Lilly et al., 2007; Montresor et al., 2004; Rogers et al., 2006; Orr et al., 2011). Basándose en un estudio de la diversidad de dinoflagelados y su relación con las secuencias de ADNr, Litaker et al. (2007) sugirieron que un marcador conservador de "nivel de especie" en dinoflagelados podría considerarse una diferencia del 4% (= distancia genética no corregida de 0,04) en regiones alineadas de ADNr ITS1/5.85/ITS2. Estos clados de *Alexandrium tamarense/catenella/fundyense* difieren entre sí en un 13-18% en secuencias alineadas de
- 45 ITS1/5.8S/ITS2 (Orr et al., 2011), por lo tanto, a un nivel 3-4 veces mayor que en otras especies de dinoflagelados.

- La identificación de cepas de *Alexandrium tamarense/catenella/fundyense* con respecto a un clado genético particular (Grupo I-V) se ha considerado más predictiva de su propensión para la producción de STX que las identificaciones de especies basadas en la morfología (Scholin et al., 1994; John et al., 2003; Kim y Sako, 2005;
- 50 Leaw et al., 2005; Montresor et al., 2004; Lilly et al., 2007; Rogers et al., 2006). Todas las cepas de los Grupos I y IV analizadas hasta la fecha producen cantidades variables de STX, con diversos perfiles de toxinas (Tabla 7, Anderson et al., 1994), mientras que no se han notificado cepas del Grupo II que produzcan STX (John et al. 2003). La toxicidad de las cepas de los Grupos III y V no está clara. Generalmente se han considerado no tóxicas (Lilly et al., 2007; Scholin et al., 1994; Genovesi et al., 2011; Bolch y de Salas, 2007; Hallegraeff et al., 1991). Se ha
- 55 informado que una sola cepa con una secuencia genética que la ubica dentro del Grupo III, CCMP116, es tóxica (Penna y Magnani, 1999). Si bien las cepas del Grupo V en general se han considerado no tóxicas (Hallegraeff et al., 1991; Bolch y de Salas, 2007), se ha sugerido que la cepa ATBB01/CS298 de Bell Bay, Tasmania puede producir niveles muy bajos de STX (Scholin et al., 1994; Negri et al., 2003). El perfil de la toxina no se determinó.

En las aguas marinas australianas, las especies de *Alexandrium* *A. catenella* y *A. minutum* producen STX, y han tenido lugar en proporciones de proliferación, lo que da como resultado la captación de STX en los mariscos (Hallegraeff et al., 1988; Hallegraeff et al., 1991; Bolch y de Salas, 2007). De las especies del complejo de especies *A. tamarensis*, se han encontrado dos grupos consistentemente en la región: *A. tamarensis* del Grupo V y *A. catenella* del Grupo IV (Bolch y de Salas, 2007). No se han encontrado otros grupos de este complejo de especies durante las investigaciones realizadas en los últimos 20 años (Hallegraeff et al., 1988; Hallegraeff et al., 1991; Bolch y de Salas, 2007). Se han presentado varias teorías sobre los orígenes de estas cepas de "complejo de especies" de *A. tamarensis* en aguas marinas australianas, incluida su introducción en aguas de lastre (Grupo IV), o su presencia a largo plazo en la región (Grupo V) (Bolch y de Salas, 2007).

Las proliferaciones de *A. catenella* (Grupo IV), *A. minutum* y las especies *Gymnodinium catenatum*, se han asociado con la captación de STX en vectores de moluscos en múltiples ocasiones en sitios en Nueva Gales del Sur, Australia Meridional, Victoria y Tasmania, Australia. (revisado en Bolch y de Salas, 2007). Los posibles vectores de moluscos que se han investigado para determinar la presencia de STX, ya sea experimentalmente o en el transcurso de la monitorización, en aguas australianas son ostras de la roca de Sidney (*Saccostrea glomerata*), ostras del pacífico (*Crassostrea gigas*) y ostras perla *Pinctada imbricata* (Murray et al., 2009). Las proliferaciones de *A. tamarensis* del Grupo V se han producido de forma intermitente en toda la región, pero no se ha notificado que causen la captación de STX en los mariscos (Hallegraeff et al., 1991).

En el transcurso de la investigación de la base genética de la producción de STX, se descubrieron genes para los supuestos dominios de *sxtA* *sxtA1* y *sxtA4* en tres cepas de *A. tamarensis* del Grupo V (Stüken et al., 2011). Estas cepas se investigaron de nuevo para determinar sus afinidades genéticas y su potencial para la producción de STX.

Este estudio describe el perfil de la toxina, la morfología y la filogenia molecular de una cepa de *A. tamarensis* que se encontró que producía STX. Además, se informa un hallazgo de presencia de STX en muestras de *S. glomerata* de Nueva Gales del Sur en 2010, después de una supuesta proliferación de esta especie.

Materiales y métodos

30 Mantenimiento de cultivos

Los cultivos de dinoflagelados se mantuvieron en medios GSe a 18 °C. La luz se proporcionó por bombillas fluorescentes blancas (Crompton Light), con un flujo de fotones de 60-100 µmol de fotones m⁻² s⁻¹ en un ciclo de oscuridad/luz de 12/12 horas. Las cepas utilizadas fueron ATCJ33, aislada de Cape Jaffa, Australia del Sur, Australia (-36,94, 139,70); ATNWB01, aislada de North West Bay, Tasmania, Australia (-43,08,147,31); y ATEB01, aislada de Emu Bay, Burnie, Tasmania, Australia (-41,05,145,91), por M de Salas. Los cultivos a granel para la determinación de toxinas se inocularon el mismo día en matraces Erlenmeyer de 2 l y se cosecharon juntos, durante la fase logarítmica tardía o estacionaria temprana, para la extracción de toxinas. La abundancia celular se determinó contando submuestras de 1 ml usando una cámara de recuento de Sedgewick Rafter bajo un microscopio de luz invertida Leica DMIL. Los cultivos se centrifugaron e inmediatamente se congelaron a -20 °C antes del análisis por HPLC o la extracción de ADN. Los sedimentos celulares para el análisis de HPLC contenían 1,25 - 2,25 x 10⁶ células.

LM y SEM

Se determinó el tamaño y la forma de la célula usando un Microscopio de Luz Invertida Leica DMIL con 40 o 100 aumentos. Para el microscopio electrónico de barrido, se utilizaron dos métodos, con el fin de mantener intacta la membrana celular o exponerla. Los cultivos se fijaron en tetróxido de osmio al 2% durante 10 minutos, o en glutaraldehído al 4% durante 1-2 horas. Se colocaron en cubreobjetos recubiertos de polilisina o en filtros Millipore de 5 µm, se aclararon en agua destilada, y se deshidrataron en una serie de concentraciones crecientes de etanol (30, 50, 70, 90, 100%), seguido de un secado crítico puntual (Baltec). Cuando se secaron por completo, se montaron o en portaobjetos y se recubrieron por pulverización con oro. Se observaron usando un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo Zeiss Ultra Plus (FESEM) en la University of Sydney (Australian Centre for Microscopy and Microanalysis) a 5-15 kV.

55 Extracción de ADN y PCR

Se extrajo ADN de los sedimentos celulares usando el método CTAB, con una precipitación adicional de ADN durante una noche a -20 °C. La calidad y cantidad de ADN se determinó utilizando un Nanodrop (Thermoscientific), y

amplificando un gen de dinoflagelado de control (*cytb*), de acuerdo con los protocolos de (Lin et al., 2009), usando el par de cebadores 4f y 6r, que amplifican un fragmento de 440 pb.

Se amplificaron secuencias parciales de los genes de ARNr LSU y SSU y genes 5.8s/ITS completos usando cebadores publicados previamente: SS3, SS5 (Medlin et al., 1988), D1R, D3b (Scholin et al., 1994) y Alex5.8s (Orr et al., 2011). Las condiciones típicas de ciclado para las PCR consistieron en una etapa de desnaturalización inicial de 94 °C durante 2 min, seguida de 35 ciclos de 94 °C durante 20 s, 56 °C durante 30 s, y 72 °C durante 1 min, seguido de una etapa final de extensión de 7 min. Los productos de PCR se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa y se tiñeron con bromuro de etidio, y se visualizaron mediante transiluminación con UV. Los fragmentos a secuenciar se escindieron del gel, el ADN se purificó usando un kit de purificación de gel Bioline (Bioline, Estados Unidos), se eluyó en 2 x 10 µl de tampón de elución, y la concentración se verificó mediante el uso de un Nanodrop. Después, se usaron aproximadamente 40 ng de producto de PCR para la secuenciación directa con los mismos cebadores usados para la amplificación inicial del producto.

15 **Determinación de toxinas**

Los sedimentos celulares de dinoflagelados se analizaron mediante HPLC, de acuerdo con el Método oficial AOAC 2005.06 para toxinas paralizantes por mariscos en el Cawthron Institute, Nueva Zelanda. No se usó un modificador de matriz como se describe en el protocolo original; en cambio, se usaron recuperaciones de pico promedio para cada compuesto por separado. El análisis por HPLC se realizó en un sistema Waters Acquity UPLC (Waters) acoplado a un detector Waters Acquity FLR. La separación se logró con una columna Waters Acquity C18 BEH de 1,7 µm de 2,1 x 50 mm a 30 °C, eluida a 0,2 ml min⁻¹. Las fases móviles eran formiato de amonio 0,1 M (A) y formiato de amonio 0,1 M en acetonitrilo al 5% (B), ambos ajustados a pH 6. El gradiente consistió en el 100% de A durante 0,5 min, un gradiente lineal al 80% de B durante 3,5 min, después volviendo a las condiciones iniciales durante 0,1 min y se mantuvieron durante 1,9 min. El detector de fluorescencia tenía una excitación ajustada a 340 nm y una emisión a 395 nm. Los estándares analíticos para los análogos de STX se obtuvieron del National Research Council, Canadá. El límite de detección del HPLC de los cultivos celulares se consideró que era de 0,1 pg por célula⁻¹ para NEO y STX, 0,2 pg por célula⁻¹ para GTX1/4, GTX6 (B2) y GTX5 (B1), 0,5 pg por célula⁻¹ para C1,2, y <0,3 pg por célula⁻¹ para los análogos C3,4.

30

Análisis filogenéticos

Nuevas secuencias de *Alexandren tamarensis* del Grupo V que se generaron en este estudio; (1) ADNr 18S (Subunidad pequeña), (2) ADNr 1 y 2 más 5.8S de la región de transcripción interna (ITS), y (3) ADNr 28S (Subunidad grande), se concatenaron para construir una región de 2.821 caracteres del operón de ADNr para la cepa ATNWB01 (GenBank números de acceso JQ991015, JQ991016, JQ991017). Además, se generaron nuevas secuencias de ADNr LSU a partir de las cepas ATCJ33 (874 pb) y ATEB01 (longitud de 678 pb, GenBank números de acceso JQ991018 y JQ991019). Esto se alineó junto con todos los ortólogos de los datos de secuencia del Grupo V en la base de datos de nucleótidos NCBI [http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) (a partir de 10.2010), y un grupo externo de *A. affine*. El modelo MAFFT v6 Q-INS-I (Hofacker et al., 2002; Katoh y Toh, 2008; Kiryu et al., 2007), considerando la estructura secundaria del ARN, se utilizó para alinear el conjunto de datos (se usaron parámetros predeterminados) y la alineación resultante se comprobó manualmente usando MacClade v4.07 (Madison y Madison, 1992). La alineación se infirió entonces con Gblocks v0.91b (Castresana, 2000), bajo los parámetros menos estrictos, para excluir las posiciones mal alineadas y las regiones divergentes de la inferencia filogenética. MODELTEST (Posada y Crandall, 1998) estableció el modelo óptimo de evolución de nucleótidos; para todas las alineaciones se prefirió GTR tanto para el criterio de información de Akaike como bayesiano (AIC y BIC). Los análisis de máxima probabilidad (ML) se realizaron con RAXML-VI-HP v7.2.6, modelo GTRCAT con 25 tipos de categorías (Stamatakis, 2006). La topología más probable se estableció a partir de 100 búsquedas separadas y se realizaron análisis bootstrap con 100 pseudo-réplicas. Las inferencias Bayesianas se realizaron utilizando Phylobayes v3.2e (Lartillot et al., 2007; Lartillot y Philippe, 2004) bajo el modelo de sustitución GTRCAT con un número libre de categorías de mezcla y una discreta variación entre sitios en 4 categorías. Los árboles se dedujeron cuando la diferencia máxima más grande entre las biparticiones (cadenas) fue <0,1. Toda la estimación del modelo y los análisis filogenéticos se realizaron en el Bioportal disponible gratuitamente (Kumar et al., 2009) en la Universidad de Oslo (<http://www.bioportal.uio.no/>).

55

Recogida, recuento e identificación de muestras de fitoplancton y marisco

El fitoplancton se recogió como parte de la monitorización quincenal del NSW Shellfish Program en el río Hastings, Nueva Gales del Sur, Australia (-31,42 E, 152,87 S) durante dos semanas consecutivas en octubre y noviembre de

2010, 25/10/10 y 9/11/10. En la segunda semana, se recogieron ostras de la roca de Sidney (*Saccostrea glomerata*) de granjas y se analizaron mediante una prueba PSP de Jellett (Jellett Rapid Testing Ltd, Canadá) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- 5 Para el recuento de muestras en frascos, se concentraron células de fitoplancton en 500 ml de muestras conservadas de Lugol por filtración de membrana asistida por gravedad sobre filtros de éster de celulosa de 5 µm (Advantec) antes del lavado en 4 ml y el recuento. Las especies de *Alexandrium* se identificaron y se contaron usando una célula Sedgewick Rafter y un microscopio Zeiss Axiolab equipado con óptica de contraste de fase. Las especies se identificaron por el Dr. S. Brett, quien identificó fitoplancton dañino como parte del NSW Shellfish
- 10 Program desde 2003. Las especies de *Alexandrium* se encuentran comúnmente en aguas de NSW, siendo las especies más comúnmente identificadas *A. catenella* y *A. pseudogonyaulax*. El número de células contadas varió entre las muestras, dependiendo de la abundancia de *Alexandrium*, y las tasas de error estándar se calcularon usando la ecuación: $\text{Error} = 2/\sqrt{n}$, donde n es el número de células observadas en la muestra.

15 Resultados

Microscopía de electrónica de luz y barrido

- Las células de ATNWB01 se redondearon, 25 - 45 µm de largo ($\mu = 34,2$, $n = 20$), 27 - 40 µm de ancho ($\mu = 33,6$, $n =$
- 20 20) (Figura 12, A-B). Las células casi siempre eran individuales. Las cadenas de dos células rara vez se observaron. La primera placa apical se extendió al complejo de poros apicales y contenía un poro pequeño, el poro ventral (Figura 12, C). La placa de poro apical (Po) tenía una forma de coma característica, rodeada por pequeños poros marginales (Figura 12E). Ocasionalmente se observaron células con un poro en la placa sulcal posterior (Figura 12 F). La mayoría de las células carecían de un poro en la placa sulcal posterior.

- 25 Las células de los cultivos ATCJ33 (Figura 13 A-D), ATEB01 (Figura 13, E, F, H) y ATBB01 (Figura 13 G) tenían células redondeadas. Las células eran en su mayoría individuales, ocasionalmente en cadenas de 2 células (Figura 13 A). Las células de ATCJ33 tenían 23-38 µm de largo ($\mu = 30,6$, $n = 20$), 23 - 38 µm de ancho ($\mu = 29,5$, $n = 20$), las células de ATEB01 tenían 25-40 µm de largo ($\mu = 33,5$, $n = 20$), 23 - 35 µm de ancho ($\mu = 31,6$, $n = 20$). La
- 30 primera placa apical se extendió al poro apical y contenía un poro ventral (Figura 13B, D, H). La placa de poro apical mostró una forma de coma característica (Figura 13C, G, H).

Análisis filogenético

- 35 Los análisis filogenéticos que incluían las nuevas secuencias de ADNr (Figura 14, Figura 16), las secuencias de ADNr SSU, ITS/5.8s y LSU parcial de la cepa productora de toxina ATNWB01 y las secuencias LSU de las dos cepas no tóxicas ATCJ33 y ATEB01, muestran que todas estas forman un clado bien soportado (1,00/100, para soporte de PP/BS) junto con otras cepas de *A. tamarense* del Grupo V. No se pudo observar ninguna diferencia en este clado basado en ADNr de longitud completa, incluyendo las regiones ITS más variables.

40

Comparación de los dominios *sxtA1* y *sxtA4* de los genes *sxtA* en las cepas

- Se comparó el contenido de nucleótidos de las secuencias para los dos dominios de *sxtA* en cepas de *A. tamarense* del Grupo 5, previamente secuenciadas (Stüken et al., 2011). Una secuencia de 440 pb del dominio *sxtA4* mostró
- 45 que la cepa ATNWB01 difería de las otras dos cepas del Grupo 5 de *A. tamarense* analizadas, ATEB01 y ATCJ33, en solo 2 nucleótidos (99,5% de identidad de secuencia). Por el contrario, estas tres cepas mostraron un 89-98% de identidad de secuencia con estos genes de otras especies de *Alexandrium* y *Gymnodinium catenatum*. En una comparación de una región de 450 pb del dominio *sxtA1*, la cepa ATNWB01 difirió de las otras 2 cepas del Grupo 5 en un 2-2,5% (97,5-98% de identidad de secuencia), en comparación con una identidad de secuencia del 70-93%
- 50 para otras secuencias de *Alexandrium* y *Gymnodinium catenatum* del dominio *sxtA1*.

Toxinas

- De las tres cepas de *A. tamarense*, Grupo V, se ensayaron aproximadamente $1,5 - 2,2 \times 10^6$ células para determinar
- 55 la toxicidad usando HPLC. Dos cepas, ATCJ33 y ATEB01, tenían perfiles negativos, sin toxinas detectables. Una cepa, ATNWB01, mostró resultados positivos con un perfil que consistía principalmente en GTX5, con parte de STX, C1,2 y deSTX (Figura 15, Tabla 7), y una cuota celular de $15,3 \text{ fmol célula}^{-1}$.

Muestras ambientales

Se detectaron células de *Alexandrium* a niveles de 350 células por l⁻¹ en muestras de monitorización de rutina recogidas del río Hastings el 25/10/10 (Tabla 6). Las pruebas de Jellet posteriores en muestras de ostras del mismo sitio recogidas el 11 de septiembre de 2010 fueron positivas para las toxinas de PSP. Las células de *Alexandrium* en las muestras eran células individuales y tenían una forma generalmente redondeada. Las células tenían 35 µm de longitud, y 32-35 µm de ancho. El examen de *Alexandrium* theca reveló un poro ventral en la placa de 1', una placa de 1' del tamaño y la forma de *A. tamarense*, y la ausencia de un poro de conexión en el APC.

De las especies de *Alexandrium* observadas en aguas australianas, el tamaño y la forma de las células, la forma de la placa de 1', la presencia del poro ventral en la placa de 1', y la forma de la APC, parecen más consistentes con *Alexandrium tamarense*. Sin embargo, no se establecieron cultivos a partir de este evento de proliferación, y ni las secuencias moleculares ni los perfiles de toxinas pudieron confirmarse.

Tabla 6: Resultados de la monitorización de la toxicidad de fitoplancton y ostras, río Hastings.

Sitio	Especie	Células l ⁻¹	Fecha	Resultado de la prueba de Jellet en muestras de ostras
Río Hastings	<i>Alexandrium tamarense</i>	350	25/10/2010	Negativo
	<i>Alexandrium tamarense</i>	350	9/11/2010	Positivo (PSP)

15

Tabla 7. Perfiles de toxinas de cepas del complejo del complejo de especies de *Alexandrium catenella*/lafundyense/tamarense, que muestran el % molar y el contenido total de toxina. ND = no detectado

Especie	Cepa	Clado	Perfil C1,2	C3,4	GTX 1,4	GTX 2,3	GTX5 (B1)	GTX6 (B2)	neoSTX	STX	dcSTX	Contenido de toxina fmol/célula	Referencia
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATBR2c	I	70	-	10	3	-	-	16	1	-	42-199*	Persich et al 2006
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATBR2d	I	80	-	10	2	-	-	8	-	-	42-199	Persich et al 2006
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATBR2e	I	60	-	19	2	-	-	19	-	-	42-199	Persich et al 2006
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATBR2g	I	63	-	33	2	-	-	2	-	-	42-199	Persich et al 2006
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB38	I	-	-	23,0	77,1	-	-	-	-	-	18,5	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB39	I	44,4	-	9,2	4,2	14,2	26,4	-	1,6	-	24,7	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB36	I	26,2	-	13,7	13,7	33,7	0,1	12,5	-	-	92,0	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB42	I	-	-	25,9	74,0	-	-	-	-	-	18,3	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB45	I	1,1	-	13,3	27,6	15,9	15,5	20,1	2,5	-	96,9	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB37	I	-	-	59,6	40,3	-	-	-	-	-	11,7	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium catenella</i>	PFB41	I	-	-	38,1	60,2	-	-	-	-	-	8,5	Aguilera-Belmonte et al 2011
<i>Alexandrium tamarense</i>	SZN01	II										ND	John et al 2003
<i>Alexandrium tamarense</i>	SZN08	II										ND	John et al 2003
<i>Alexandrium tamarense</i>	SZN19	II										ND	John et al 2003
<i>Alexandrium tamarense</i>	SZN21	II										ND	John et al 2003
<i>Alexandrium</i>	Diversas	II										ND	Higman et al 2001

tamarense	cepas	IV	54	2	-	-	44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lilly et al 2002
Alexandrium catenella	ATTL01	IV	54	2	-	-	44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lilly et al 2002
Alexandrium catenella	ATTL02	IV	33	20	1	-	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Hallegraeff et al 1991
Alexandrium catenella	ACPP09	IV	22,2	13,7	30,1	0,5	1,9	30,4	1,0	-	-	-	-	-	-	-	Hallegraeff et al 1991
Alexandrium catenella	ACPP02	IV	11,9	4,6	21,3	0,2	4,0	57,3	0,4	-	-	-	-	-	-	-	Mackenzie et al 2004*(media de 13 aislados)
Alexandrium catenella	CAWD44	IV	53	35	8	2	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	Mackenzie et al 2004
Alexandrium tamarense	CAWD12 ₁	IV	8	90	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Murray et al 2011
Alexandrium catenella	ACSH02	IV	41	-	35	-	10	13	-	-	-	-	-	-	-	-	Murray et al 2011
Alexandrium catenella	ACCC01	IV	36	14	16	-	-	34	-	-	-	-	-	-	-	-	Murray et al 2011
Alexandrium catenella	ACTRA0 2	IT	59	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Orr et al 2011
Alexandrium tamarens	ATBB01	V															Negri et al 2003
Alexandrium tamarens	ATBB01	V															Negri et al 2003
Alexandrium tamarens	ATCJ33	V															Este estudio
Alexandrium tamarens	ATEB01	V															Este estudio
Alexandrium tamarens	ATNWB0 ₁	V	0,1	-	-	-	86	-	-	11	2	-	-	-	-	15,3	Este estudio

Análisis

En general, entre las cepas de especies tóxicas del género *Alexandrium*, el perfil de la toxina parece permanecer en gran medida constante a lo largo del tiempo (Cembella y Destombe, 1996) aparte de situaciones de agotamiento extremo de nutrientes (Boczar et al., 1988). Por el contrario, se ha encontrado que la cantidad de toxina producida (cuota celular) varía con el tiempo. Mientras que los perfiles de toxinas parecen ser estables dentro de una cepa, la relación entre un perfil de toxina particular y la identificación de una cepa para un grupo genético particular (I-V) de este complejo de especie no está clara. Se han encontrado variaciones considerables en los perfiles de toxinas entre cepas de cada grupo examinado (Tabla 7).

Este estudio es el primer informe del perfil de toxinas de una cepa de *Alexandrium tamarense*, Grupo V. El estudio muestra que, en base a las características morfológicas, tal como la presencia del poro ventral, y las secuencias largas de genes de ADNr, incluyendo las regiones ITS1/5.8s/ITS2 variables, la cepa ATNWB01 era miembro del Grupo V. Previamente, las cepas de este grupo se han ensayado para determinar la toxicidad por medio de HPLC y se han encontrado no tóxicas (Hallegraeff et al., 1991; Salas et al., 2001; Bolch y De Salas, 2007). Negri et al (2003) notificaron que la cepa *A. tamarense*, ATBB01 mostró actividad de STX al ensayarse con el ensayo de saxifilina, pero no tenía toxinas detectables cuando se analizó con métodos de HPLC. En el mismo estudio, se encontró que un cultivo que se había identificado como *A. tamarense* de aguas australianas (cepa ATTRA03) producía STX (Negri et al., 2003). La cepa ATTRA03 murió posteriormente sin verificación de su identidad y, por lo tanto, no está claro qué especie o grupo representaba esta cepa. Puede haberse derivado de un quiste introducido, ya que se aisló como un quiste de un puerto de envío utilizado para exportaciones (Bolch y de Salas, 2007).

Se descubrió que tres cepas de Japón, incluyendo At304, aisladas de Mikawa Bay, Japón, eran miembros del clado del Grupo V en el análisis filogenético (Figura 14). Este es el primer informe de una cepa del Grupo V presente en la región del Pacífico noroccidental, ya que anteriormente se pensaba que estaba confinada al sur de Australia (Bolch y de Salas 2007). La toxicidad de las cepas de Japón no se determinó, y es necesario que se examinen.

La cepa ATNWB01 tenía una cuota de células de STX dentro del intervalo detectable usando métodos de HPLC estándar (15,3 fmol célula⁻¹ Tabla 7). Esto es similar a la cuota de toxinas informada para muchas cepas comunes productoras de STX de este complejo de especies (Tabla 7, 3.5-328 fmol célula⁻¹, 0,66 - 9,8 pg de equivalentes de STX por célula⁻¹). El perfil de la toxina de esta cepa fue relativamente inusual, ya que no se ha notificado comúnmente que GTX5 sea una parte principal del perfil de toxina de cepas del complejo de especies de *Alexandrium tamarense* (Tabla 7, Anderson et al., 1994). En general, las cepas de *Alexandrium catenella* (Grupo IV), la fuente más común de PST en moluscos en Nueva Gales del Sur, han contenido altas proporciones de C1/2 y GTX1/4 como componentes principales (Murray et al, 2011; Negri et al. 2003; Hallegraeff et al., 1991). Se ha encontrado que GTX5 es un componente principal de una cepa de *Alexandrium tamarense* del Grupo I de Chile, (33,7%, Aguilera-Belmonte et al., 2011), y dos cepas de *Alexandrium catenella* (Grupo IV) de Francia, (44-46%, Lilly et al., 2002).

No se hicieron cultivos de la cepa *A. tamarense* identificada a partir de la muestra del río Hastings, y no se determinaron secuencias moleculares, por lo tanto, no es posible identificarla definitivamente como *A. tamarense* del Grupo V. Se ha realizado una monitorización quincenal de fitoplancton en 69 sitios en 32 estuarios en Nueva Gales del Sur durante los últimos 7 años. Se ha identificado *Alexandrium catenella* en 8 ocasiones de muestreo en 2010 y 2011. En 7 de estas, las toxinas PSP se encontraron posteriormente en ostras de muestra de las zonas de recolección de ostras vecinas, utilizando pruebas de Jellet de PSP (NSW Food Authority, datos no publicados). Se identificó *Alexandrium tamarense* a partir de 4 muestras en 2010 y 2011. La muestra del río Hastings es el primer informe de que se asocia con la toxicidad de PSP en ostras australianas. Los análogos producidos por *Alexandrium tamarense* del Grupo V, en particular, la alta proporción de GTX5, tiene una baja toxicidad equivalente en comparación con los análogos más tóxicos, tales como STX, y se estima que son aproximadamente un 10% tan tóxicos como STX (Oshima, 1995). Esta baja toxicidad equivalente de STX puede explicar por qué este es el primer informe de un incidente de toxicidad por marisco en esta región que supuestamente está relacionado con una proliferación de esta especie. Se requiere un muestreo adicional de las poblaciones del Grupo V de *Alexandrium tamarense* en las aguas costeras de Nueva Gales del Sur para verificar si las poblaciones locales pueden producir toxinas.

Se ha encontrado que las tres cepas de *A. tamarense* poseen el gen *sxtA* (Stüken et al., 2011). Se encontró que los genes *sxtA* estaban estrechamente relacionados entre sí en todas las cepas del Grupo V (diferencias del 0,5 - 2,5% en las secuencias alineadas para los dominios *sxtA1* y *sxtA4*). Por lo tanto, la presencia o ausencia de estos genes en estas cepas parece no estar relacionada con la producción de toxinas.

Las diferencias en el crecimiento y la producción de toxinas en las especies *Alexandrium catenella*, *Alexandrium tamarense* y *Alexandrium minutum* se han notificado previamente, relacionadas con las condiciones ambientales del cultivo, tales como salinidad, luz y nutrientes, y la fase de crecimiento del cultivo (Hamasaki et al., 2001; Hu et al., 2006; Lippemeier et al., 2003; Anderson et al. 1990; Grzebyk et al., 2003). En el presente estudio, cada una de las tres cepas de *A. tamarense* se cultivaron en condiciones de luz idéntica, en los mismos medios y agua de mar, y se inocularon y después se cosecharon los mismos días. Por lo tanto, parece poco probable que la falta de toxicidad encontrada en las otras dos cepas del Grupo V de *Alexandrium tamarense* sea el resultado de las diferencias en las condiciones ambientales que promueven la expresión diferencial de la producción de STX.

10

Algunas cepas cultivadas de *Alexandrium* pueden perder toxicidad en el tiempo en cultivo, por ejemplo, en *Alexandrium minutum* (indicado como *A. lusitanicum* en Martins et al., 2004). Inicialmente, se pensó que esto estaba relacionado con la exposición a antibióticos, ya que se ha demostrado que las bacterias cocultivadas y simbióticas desempeñan un papel en la mediación de la producción de toxinas en las especies de *Alexandrium* (Ho et al., 2006).

15 En el presente estudio, los cultivos del Grupo V examinados probablemente contienen comunidades bacterianas mixtas en línea con las del agua de mar en el sitio de aislamiento, y ninguna ha estado expuesta a antibióticos.

Los experimentos de apareamiento han encontrado que los subclones de una cepa clonal tóxica de *Alexandrium tamarense* (Grupo IV) pueden ser no tóxicos (Cho et al., 2008). Las características no tóxicas de una cepa de *A. tamarense*, un subclón axénico no tóxico de una cepa tóxica, se confirmaron a nivel de atomoles por célula. Tres de los nueve subclones tóxicos de esta misma cepa se volvieron no tóxicos en un período de tiempo relativamente corto (4-6 años), mientras que los otros subclones tóxicos conservaron su toxicidad y los subclones no tóxicos permanecieron no tóxicos (Cho et al., 2008).

25 Se han encontrado altos niveles de diferencias genéticas poblacionales dentro de la especie *Alexandrium catenella* del Grupo IV (Masseret et al., 2009), *Alexandrium tamarense* del Grupo I (Nagai et al., 2007), (Alpermann et al., 2009), *A. fundyense* del Grupo I (Erdner et al., 2011) y *A. minutum* (McCauley et al., 2009), usando marcadores microsatélites. Esto, en combinación con los resultados de cepas con diferente producción de toxina tras experimentos de apareamiento intraespecífico (Cho et al., 2008), sugiere que también pueden existir diferencias significativas en el nivel de población en la producción de toxinas dentro de *A. tamarense* (Grupo V). Estudios adicionales que usando marcadores microsatélites en cultivos clónicos múltiples de esta cepa pueden ayudar a determinar si la producción de toxinas está restringida a una población particular de esta especie, lo que puede permitir el diseño de herramientas genéticas predictivas para la identificación de esta población.

35 **Bibliografía**

Aguilera-Belmonte, A., Inostroza, I., Franco, J.M., Riobá, P., Gomez, P.I., 2011. The growth, toxicity and genetic characterization of seven strains of *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech 1985 (Dinophyceae) isolated during the 2009 summer outbreak in southern Chile. Harmful Algae. In Press.

40 Alpermann, T.J., Beszteri, B., John, U., Tillmann, U., Cembella, A.D., 2009. Implications of life history transitions on the population genetic structure of the toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Mol. Ecol. 18(10), 2122-2133.

Anderson, D., Kulis, D., Doucette, G., Gallagher, J., Balech, E., 1994. Biogeography of toxic dinoflagellates in the genus *Alexandrium* from the northeastern United States and Canada. Mar. Biol. 120(3), 467-478.

45 Anderson, D., Kulis, D., Sullivan, J., Hall, S., 1990. Toxin composition variations in one isolate of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. Toxicon 28(8), 885-893.

Balech, E. 1995. The genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Shenkin Island Press.

Boczar, B.A., Beitler, M.K., Liston, J., Sullivan, J.J., Cattolico, R.A., 1988. Paralytic shellfish toxins in *Protogonyaulax tamarens* and *Protogonyaulax catenella* in axenic culture. Plant Physiol. 88(4), 1285.

50 Bolch, C.J.S., de Salas, M.F., 2007. A review of the molecular evidence for ballast water introduction of the toxic dinoflagellates *Gymnodinium catenatum* and the *Alexandrium*. Harmful Algae 6(4), 465-485.

Castresana, J., 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. Mol. Biol. Evol. 17(4), 540-552.

55 Cembella, A., Destombe, C., 1996. Genetic differentiation among *Alexandrium* populations from eastern Canada. In: Harmful and Toxic Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission, UNESCO, Paris, 447-450.

Cembella, A., Taylor, F., Theriault, J.C., 1988. Cladistic analysis of electrophoretic variants within the toxic dinoflagellate genus *Protogonyaulax*. Bot. Mar. 31(1), 39-52.

Cho, Y., Hiramatsu, K., Ogawa, M., Omura, T., Ishimaru, T., Oshima, Y., 2008. Non-toxic and toxic

subclones obtained from a toxic clonal culture of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae): Toxicity and molecular biological feature. *Harmful Algae* 7(6), 740-751.

de Salas, M.F., Emmerik, M.J., Hallegraeff, G., Negri, A., Vaillancourt, R., Bolch, C., 2001. Toxic Australian *Alexandrium* Dinoflagellates: Introduced or indigenous? In: Hallegraeff, G.M., Blackburn, S.I., Bolch, C.J., Lewis, R.J. (Eds.), *Proceedings of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Hobart, Tasmania, Harmful Algal Blooms 2000., pp 477-480.

Erdner, D.L., Richlen, M., McCauley, L.A. R., Anderson, D.M., 2011. Diversity and dynamics of a widespread bloom of the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *PLoS One* 6(7), e22965.

Fukuyo, Y., 1985. Morphology of *Protogonyaulax tamarens* (Lebour) Taylor and *Protogonyaulax catenella* (Whedon and Kofoid) Taylor from Japanese coastal waters. *Bull. Mar. Sci.* 37(2), 529-537.

Gayoso, A.M., Fulco, V.K., 2006. Occurrence patterns of *Alexandrium tamarens* (Lebour) Balech populations in the Golfo Nuevo (Patagonia, Argentina), with observations on ventral pore occurrence in natural and cultured cells. *Harmful Algae* 5(3), 233-241.

Genovesi, B., Shin-Grzebyk, M.S., Grzebyk, D., Laabir, M., Gagnaire, P.A., Vaquer, A., Pastoureaud, A., Lasserre, B., Collos, Y., Berrebi, P., 2011. Assessment of cryptic species diversity within blooms and cyst bank of the *Alexandrium tamarens* complex (Dinophyceae) in a Mediterranean lagoon facilitated by semi-multiplex PCR. *J. Plankt. Res.* 33(3), 405. Grzebyk, D., Bechemin, C., Ward, C.J., Verite, C., Codd, G.A., Maestrini, S.Y., 2003. Effects of salinity and two coastal waters on the growth and toxin content of the

dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *J. Plankt. Res.* 25(10), 1185.

Hallegraeff, G., Bolch, C., Blackburn, S., Oshima, Y., 1991. Species of the toxigenic dinoflagellate genus *Alexandrium* in southeastern Australian waters. *Bot. Mar.* 34(6), 575-588.

Hallegraeff, G., Steffensen, D., Wetherbee, R., 1988. Three estuarine Australian dinoflagellates that can produce paralytic shellfish toxins. *J. Plankt. Res.* 10(3), 533.

Hamasaki, K., Horie, M., Tokimitsu, S., Toda, T., Taguchi, S., 2001. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarens* isolated from Hiroshima Bay, western Japan, as a reflection of changing environmental conditions. *J. Plankt. Res.* 23(3), 271.

Higman, W.A., Stone, D.M., Lewis, J.M., 2001. Sequence comparisons of toxic and non-toxic *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) isolates from UK waters. *Phycologia* 40 (3), 256-262.

Ho, A.Y.T., Hsieh, D.P.H., Qian, P.Y., 2006. Variations in paralytic shellfish toxin and homolog production in two strains of *Alexandrium tamarens* after antibiotic treatments. *Aquat. Microb. Ecol.* 42(1), 41-53.

Hofacker, I.L., Fekete, M., Stadler, P.F., 2002. Secondary structure prediction for aligned RNA sequences. *J. Mol. Biol.* 319(5), 1059-1066.

Hu, H., Chen, W., Shi, Y., Cong, W., 2006. Nitrate and phosphate supplementation to increase toxin production by the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarens*. *Mar. Poll. Bull.* 52(7), 756- 760.

John, U., Fensome, R.A., Medlin, L.K., 2003. The application of a molecular clock based on molecular sequences and the fossil record to explain biogeographic distributions within the *Alexandrium tamarens* species complex (Dinophyceae). *Mol. Biol. Evol.* 20(7), 1015-1027. Katoh, K., Toh, H., 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings Bioinf.* 9(4), 286-298.

Kim, C.J., Sako, Y., 2005. Molecular identification of toxic *Alexandrium tamariyavanichii* (Dinophyceae) using two DNA probes. *Harmful Algae* 4(6), 984-991.

Kiryu, H., Tabei, Y., Kin, T., Asai, K., 2007. Murlet: a practical multiple alignment tool for structural RNA sequences. *Bioinformatics* 23(13), 1588-1598.

Kumar, S., Skjveland, ., Orr, R., Enger, P., Ruden, T., Mevik, B.H., Burki, F., Botnen, A., Shalchian-Tabrizi, K., 2009. AIR: A batch-oriented web program package for construction of supermatrices ready for phylogenomic analyses. *BMC Bioinformatics* 10(1), 357.

Lartillot, N., Brinkmann, H., Philippe, H., 2007. Suppression of long-branch attraction artefacts in the animal phylogeny using a site-heterogeneous model. *BMC Evol. Biol.* 7(Suppl 1), S4.

Lartillot, N., Philippe, H., 2004. A Bayesian mixture model for across-site heterogeneities in the amino-acid replacement process. *Mol. Biol. Evol.* 21(6), 1095-1109.

Leaw, C.P., Lim, P.T., Ng, B.K., Cheah, M.Y., Ahmad, A., Usup, G., 2005. Phylogenetic analysis of *Alexandrium* species and *Pyrodinium bahamense* (Dinophyceae) based on theca morphology and nuclear ribosomal gene sequence. *J. Phycol.* 44(5).

Lilly, E., Kulis, D., Gentien, P., Anderson, D., 2002. Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from the western Pacific: evidence from DNA and toxin analysis. *J. Plankt. Res.* 24(5), 443.

Lilly, E.L., Halanych, K.M., Anderson, D.M., 2007. Species boundaries and global biogeography of the *Alexandrium tamarens* complex (Dinophyceae) 1. *J. Phycol.* 43(6), 1329-1338.

Lin, S., Zhang, H., Hou, Y., Zhuang, Y., Miranda, L., 2009. High-level diversity of dinoflagellates in the

natural environment, revealed by assessment of mitochondrial *cox1* and *cob* genes for dinoflagellate DNA barcoding. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(5), 1279.

Lippemeier, S., Frampton, D.M.F., Blackburn, S.I., Geier, S.C., Negri, A.P., 2003. Influence of phosphorous limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by online detection of variable chlorophyll fluorescence. *J. Phycol.* 39(2), 320-331.

Litaker, R.W., Vandersea, M.W., Kibler, S.R., Reece, K.S., Stokes, N.A., Lutzoni, F.M., Yonish, B.A., West, M.A., Black, M.N.D., Tester, P.A., 2007. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences. *J. Phycol.* 43(2), 344-355.

Madison, W., Madison, D., 1992. *MacClade: interactive analysis of phylogeny and character evolution*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.

Martins, C.A., Kulis, D., Franca, S., Anderson, D.M., 2004. The loss of PSP toxin production in a formerly toxic *Alexandrium lusitanicum* clone. *Toxicon* 43(2), 195-205.

Masseret, E., Grzebyk, D., Nagai, S., Genovesi, B., Lasserre, B., Laabir, M., Collos, Y., Vaquer, A., Berrebi, P., 2009. Unexpected genetic diversity among and within populations of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* as revealed by nuclear microsatellite markers. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(7), 2037-2045.

McCauley, L.A.R., Erdner, D.L., Nagai, S., Richlen, M.L., Anderson, D.M., 2009. Biogeographic analysis of the globally distributed harmful algal bloom species *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) based on rRNA gene sequences and microsatellite markers. *J. Phycol.* 45(2), 454-463.

Medlin, L., Elwood, H.J., Stickel, S., Sogin, M.L., 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene* 71(2), 491-499.

Montresor, M., John, U., Beran, A., Medlin, L.K., 2004. *Alexandrium tamatum* sp. nov. (dinophyceae): A new nontoxic species in the genus *Alexandrium*. *J. Phycol.* 40(2), 398-411. Murray, S.A., O'Connor, W.A., Alvin, A., Mihali, T.K., Kalaitzis, J., Neilan, B.A., 2009. Differential accumulation of paralytic shellfish toxins from *Alexandrium minutum* in the pearl oyster, *Pinctada imbricata*. *Toxicon* 54(3), 217-223.

Murray, S.A., Wiese M., Strüken, A., Brett, S. Kellmann, R., Hallegraeff, G.M., Neilan, B.A., 2011. sxtA-based quantitative molecular assay to identify saxitoxin-producing harmful algal blooms in marine waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:7050-7057.

Nagai, S., Lian, C., Yamaguchi, S., Hamaguchi, M., Matsuyama, Y., Itakura, S., Shimada, H., Kaga, S., Yamauchi, H., Sonda, Y., 2007. Microsatellite markers reveal population genetic structure of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarens* (dinophyceae) in Japanese coastal waters. *J. Phycol.* 43(1), 43-54.

Negri, A., Llewellyn, L., Doyle, J., Webster, N., Frampton, D., Blackburn, S., 2003. Paralytic shellfish toxins are restricted to few species among Australia's taxonomic diversity of cultured microalgae. *J. Phycol.* 39(4), 663-667.

Orlova, T.Y., Selina, M.S., Lilly, E.L., Kulis, D.M., Anderson, D.M., 2007. Morphogenetic and toxin composition variability of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) from the east coast of Russia. *J. Phycol.* 46(5).

Orr, R.J.S., Stüken, A., Rundberget, T., Eikrem, W., Jakobsen, K.S., 2011. Improved phylogenetic resolution of toxic and non-toxic *Alexandrium* strains using a concatenated rDNA approach. *Harmful Algae* 10(6), 676-688.

Oshima, Y., 1995. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC International* 78(2), 528-532.

Parkhill, J.P., Cembella, A.D., 1999. Effects of salinity, light and inorganic nitrogen on growth and toxigenicity of the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarens* from northeastern Canada. *J. Plankt. Res.* 21(5), 939-955.

Penna, A., Magnani, M., 1999. Identification of *Alexandrium* (Dinophyceae) species using PCR and rRNA targeted probes. *J. Phycol.* 35(3), 615-621.

Persich, G., Kulis, D., Lilly, E., Anderson D. M., Garcia V.M.T. 2006. Probable origin and toxin profile of *Alexandrium tamarens* (Lebour) Balech from southern Brazil. *Harmful Algae* 5, 36-44.

Posada, D., Crandall, K.A., 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14(9), 817-818.

Rogers, J.E., Leblond, J.D., Moncreiff, C.A., 2006. Phylogenetic relationship of *Alexandrium monilatum* (Dinophyceae) to other *Alexandrium* species based on 18S ribosomal RNA gene sequences. *Harmful Algae* 5(3), 275-280.

Sako, Y., Kim, C.H., Ninomiya, H., Adachi, M., Ishida, Y., 1990. Isozyme and cross analysis of mating populations in the *Alexandrium catenella/tamarens* species complex. In: *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, 320-323.

Scholin, C.A., Herzog, M., Sogin, M., Anderson, D.M., 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (dinophyceae). II Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene. *J. Phycol.* 30(6), 999-1011.

Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22(21), 2688.

Steidinger, K.A., 1990. Species of the tamarensis/catenella group of *Gonyaulax* and the fucoxanthin derivative-containing gymnodinoids. In: Graneli, E., Sundström, B., Edler, L., Anderson, D.M. (Eds.), *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, New York, pp. 11-16.

Strüken, A., Orr, R.J.S., Kellmann, R., Murray, S.A., Neilan, B.A., Jakobsen, K.S., 2011. Discovery of nuclear-encoded genes for the neurotoxin saxitoxin in dino flagellates. *PLoS One* 6(5), e20096.

Wohlrab, S., M. H. Iversen, and U. John. 2010. A molecular and co-evolutionary context for grazer induced toxin production in *Alexandrium tamarense*. *PLoS One* 5:e15039.

Yang, I., U. John, S. Beszteri, G. Glöckner, B. Krock, A. Goesmann, and A. D. Cembella. 2010. Comparative gene expression in toxic versus non-toxic strains of the marine dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *BMC Genomics* 11:248.

Ejemplo 6: Reacciones de qPCR para la detección de sxtA4 y discernimiento entre cepas tóxicas y no tóxicas de *Alexandrium minutum*

Materiales y métodos

Se realizaron reacciones de qPCR de 10 µl o 20 µl en un sistema Roche LightCycler®480 en una placa blanca de 96 pocillos. Cada reacción contenía 5 o 10 µl de LightCycler® 480 SYBR Green I Master, 125 nM de cada cebador (sxt072 y sxt073) y plantilla (ADNc o ADNg de *Alexandrium*). Las reacciones se realizaron por duplicado. Se incluyeron curvas estándar y controles sin plantilla en cada placa. Las curvas estándar se generaron con 10x diluciones en serie de un amplicón de PCR purificado en gel generado a partir de la cepa CCMP113 con los cebadores sxt007 y sxt008 (PCR para obtener amplicón como se describe en Stücken et al. 2011, PlosOne). Los parámetros de ciclado de qPCR fueron: inicio en caliente: 1x (95 °C, 10 min); amplificación: 45x (94 °C, 10 s; 64 °C, 20 s; 72 °C, 10 s, adquisición única; curva de fusión: 1x (95 °C, 5 s; 65 °C, 1 min; mediciones continuas de hasta 97 °C); Enfriamiento: 1x (40 °C, 10 s). El punto de cruce y los análisis de la curva de fusión se realizaron usando el software suministrado por Roche.

Los cebadores de qPCR usados para la detección de sxtA en estos experimentos fueron:

sxt072 CTTGCCCGCCATATGTGCTT (SEQ ID NO: 228)

sxt073 GCCCGGCGTAGATGATGTTG (SEQ ID NO: 229)

Resultados

Las siguientes cepas se ensayaron por la qPCR descrita anteriormente.

Especie	Cepa	¿Síntesis de SXT?	Resultado
<i>Alexandrium minutum</i>	1022 Rance	en investigación	doble pico
<i>Alexandrium minutum</i>	771 Penzé	en investigación	doble pico
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATNWB01	sí	pico individual
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATCJ33	no	pico individual
<i>Alexandrium tamarense</i>	ATEB01	no	pico individual
<i>Alexandrium catenella</i>	ACTRA	sí	pico individual
<i>Alexandrium catenella</i>	ACCC01	sí	pico individual
<i>Alexandrium andersonii</i>	CCMP2222	no	*confuso
<i>Alexandrium insuetum</i>	CCMP2082	no	*confuso
<i>Alexandrium affine</i>	CCMP112	no	*confuso
<i>Alexandrium affine</i>	PA8V	no	sin amplificación
<i>Alexandrium minutum</i>	CCMP113	sí	pico individual
<i>Alexandrium minutum</i>	AL24V	sí	pico individual
<i>Alexandrium minutum</i>	Min3	sí	pico individual
<i>Alexandrium minutum</i>	VGO650	no	doble pico
<i>Alexandrium minutum</i>	VGO651	no	doble pico
<i>Alexandrium minutum</i>	AL10C	sí	pico individual
<i>Alexandrium catenella</i>	CCMP1493	sí	pico individual
<i>Alexandrium fundyense</i>	CCMP1719	sí	pico individual
<i>Alexandrium fundyense</i>	MDQ1096	sí	pico individual

Las secuencias para cepas productoras de saxitoxina se generaron como se indica a continuación:

	Alexandrium minutum CCMP113_sxtA4_gDNA_consensus (SEQ ID NO: 230)
5	Alexandrium minutum CCMP113_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 231)
	Alexandrium minutum AL24V_sxtA4_gDNA_consensus (SEQ ID NO: 232)
	Alexandrium minutum AL24V_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 233)
	Alexandrium minutum Min3_sxtA4_gDNA_consensus (SEQ ID NO: 234)
	Alexandrium minutum Min3_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 235)
10	Alexandrium minutum VGO650_sxtA4_gDNA_consensus (SEQ ID NO: 236)
	Alexandrium minutum VGO651_sxtA4_gDNA_consensus (SEQ ID NO: 237)
	Alexandrium minutum VGO651_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 238)
	Alexandrium minutum AL10C_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 239)
	Alexandrium catenella CCMP1493_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 240)
15	Alexandrium fundyense CCMP1719_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 241)
	Alexandrium fundyense MDQ1096_sxtA4_cDNA_consensus (SEQ ID NO: 242)

Los cebadores utilizados detectaron sxtA en especies productoras de STX y también pueden discriminar entre cepas tóxicas y no tóxicas de *Alexandrium minutum*. *A. minutum* no tóxicos tienen dos copias de sxtA diferentes en su genoma, lo que da como resultado una curva de fusión bimodal, cuando se usa un ensayo Sybr Green (véase la Figura 17: *A. minutum* tóxico AL1V, dos curvas, *A. minutum* no STX VGO651, una curva). Otras especies también tienen curvas de fusión características, pero la discriminación entre especies tóxicas y no tóxicas basada en la curva de fusión solo funciona para *A. minutum*.

También se demostró que los cebadores sxt072 y sxt073 funcionan bien con la sonda Universal Probe Library de Roche, #142 (datos no mostrados). Este ensayo es muy específico y útil para la detección de sxtA en muestras ambientales.

Ejemplo 7: sxtA1 y sxtA4 están ausentes en las cepas de dinoflagelados que no producen saxitoxinas

Materiales y métodos

Las PCR de sxtA1 y sxtA4 se realizaron como se describe en el Ejemplo 1 anterior.

Resultados

sxtA (1/4) no se detectó en ninguna de las cepas de dinoflagelados enumeradas a continuación:

Especie/Taxón	sxtA (1/4)
<i>Adenoides eludens</i> CCMP1891	n.d.
<i>Alexandrium insuetum</i> CCMP2082	n.d.
<i>Amphidinium carteri</i> UIO081	n.d.
<i>Amphidinium mootonorum</i> CAWD161	n.d.
<i>Azadinium spinosum</i> RCC2538	n.d.
<i>Ceratium longipes</i> CCMP1770	n.d.
<i>Coolia monotis</i>	n.d.
<i>Gambierdiscus australes</i> CAWD148	n.d.
<i>Gymnodinium aureolum</i> SCCAP K-1561	n.d.
<i>Heterocapsa triquetra</i> RCC2540	n.d.
<i>Karlodinium veneficum</i> RCC2539	n.d.
<i>Lepidodinium chlorophorum</i> RCC2537	n.d.
<i>Lingulodinium polyedrum</i> CCMP1931	n.d.
<i>Pentaparsodinium dalei</i> SCCAP K-1100	n.d.
<i>Polarella glacialis</i> CCMP2088	n.d.
<i>Prorocentrum micans</i> UIO292	n.d.
<i>Prorocentrum minimum</i> UIO085	n.d.
<i>Protoceratium reticulatum</i>	n.d.
<i>Pyrocystis noctiluca</i> CCMP732	n.d.
<i>Scrippsiella trochoideae</i> BS-46	n.d.
<i>Thecadinium kofoidii</i> SCCAP K-1504	n.d.

n.d. no detectado

LISTA DE SECUENCIAS

5	<110> NewSouth Innovations Pty Ltd Universitetet i Oslo
	<120> Detección de dinoflagelados productores de saxitoxina
10	<130> 998829C
	<160> 247
	<170> PatentIn versión 3.5
15	<210> 1 <211> 3166 <212> ADN <213> Alexandrium fundyense
20	<400> 1

accgtagcca	ttttggctca	agccaaactc	ggatcattcc	tggccactgc	gccgccatcc	60
gtgccggcgc	cccgaaccgg	ggcacctcat	gtccgtggag	catgacgacga	tccgagacgc	120
ggccccgaac	gggatcgacc	tggcgacaaa	tgccttcacg	ctcgtccacg	gctggacggc	180
ggcgccccctg	ctcctggagc	tcgtggccaa	cttcagcgcg	ccctggagg	ggcgggccca	240
gaccgcgggg	gagctggccg	cggagacggg	cgccgaggag	gggccccctg	cgatcctcct	300
ccgcgcctgc	agcgtcctgg	gctacgtgcg	cttcgacgcc	cagagcaggg	cgtactccct	360
ggccccgggg	cggagctgg	acgagctcag	gaccgtgctc	caccctgctg	cggaggtcgc	420
gaggggcctg	caggagctgt	acagcgaggt	cgcccccccc	ttccagctgc	cctcggagga	480
cgcggcgcgg	tgcctggccc	tctgggagga	gcagcgcccc	tcctggagcc	agtgacaggag	540
cagggccctg	ggcgtcctgc	tggacggcgc	tgtgctggcg	ccgctgcttg	tgtccgtgac	600
gtactcctcg	aggtgggacg	aggagggcca	ggagcacggc	agggataacg	tcatggagcg	660
cttcgacttc	agcaagatgt	tgcggcgcca	gcggctccgc	ctcggggaca	tcttcgagca	720
gttggggcgc	ggcactatga	acgcgaaggg	cgtgatcatg	atgtcgtcaa	agggggccat	780
ggcgttgacg	cgatgctact	cctactacgt	cccactgtcg	tacgcaccgc	tgatggccca	840
gatctcgccg	atcctgtttg	atgatgcggg	ctgggggttc	actgacgcgg	ggacagaactc	900
cttcgacgac	gtggaggagc	atgttgacag	aatccttgaat	gttgttgcca	gtggtgcgca	960
acacccggac	ctctttaagg	atatgatgcg	acacatcagt	accgtgttca	agggcgaggc	1020
atttgccttg	cagccaagtt	tcgttttgga	cactggctgt	ggcgacggga	gcctgtctcat	1080
acatatctat	gaacatatca	aacagcacac	acccccgggg	aaagtgcctg	atcagttccc	1140
tctgacgatg	gtcggcgctg	acctcaatga	ggatccgcga	gtgacaacag	ctgtgaatct	1200
gagcaagcag	ggcgtccccg	acgtggtcat	ctctggcgat	gtgggtaagc	ctgcggagat	1260
acttgccgcg	ctgaagaaga	agaaggtgga	cgcgctgagg	acgcttcacg	tccgctcctt	1320
cctagaccac	gaccgtactt	acatcccacc	ggctcatgaga	atagagggaag	agagcagcac	1380
agccaggttt	gcccgcactc	agatggcaga	ctttgtgcat	ctggacaagc	gtggaaagcc	1440
catcacggct	ctggagctgt	ttgcatccct	gggtggaacat	tttgaaagat	gggctgatgc	1500
gctggagggtc	tccttcggac	tgtgtgtgct	ggaggttatg	atgctggatg	tgcccacgac	1560
gcagcgctgg	ttcaacgact	gcgtgtcctt	ccctctggac	ttcgtccagt	gtctttcgcg	1620
gcagtacatg	gtatcggcgg	cggcattttac	aatgggagct	gccatggcgg	gcctcctgcc	1680
tgcggacttc	cgcgccgtgg	agacgtatcc	tgagcatggg	aggtacaacc	gaatgttgag	1740
ccagcacctg	gtcaagaggc	cgttcaggct	gcgccttgca	gaggttgccg	acctccagag	1800
cctcgttcat	gtcgaagagc	tggcatggcc	caagcagatg	cagggaaagc	tggaggtgct	1860
ccgcagacga	ctggaggcgt	ccccaccac	caacctggtc	tgcgagctgg	agggcagggt	1920
cgttgccgtg	ctttacatgc	aacggatcga	gagtcttgcc	gtcctcgatg	gggtgcagtt	1980
catggacgta	tcgtctgcgc	actccccag	gggtcgtctg	ctgcagctca	tctcgatagc	2040
gggtccatccg	gactttgcag	gcatgaatct	gggcccgcgag	ctgaaggagt	ttggccttca	2100
cttggctcgg	ttggacagca	ccatcgagag	ggctatcggt	gtcacaaggt	gcagcaagga	2160
gtttcggcag	tacgatggcc	ccatgagtga	gtacgtcaat	gcgcacttct	ctggggccccg	2220
gaccgacagc	acgctggact	tcactcctc	cgccggagcg	cagttcgtcc	gcttgggtgga	2280
gggcttccgc	cccgaaggaca	ccgacaacgg	cggcacagga	gtgggtcatg	cctacgacat	2340
caggaggggt	ctgcccaggg	aggcggtgcg	gggcgcgccc	ccgagcaggc	cgccgcggag	2400
gacgaagggtc	ccctcgctgc	agctgggtcca	ggacgtcatg	accagcatcg	gctaccccc	2460
caacctcaat	gacctcacca	agggcttctt	cgactacggc	atggactccc	tggagctcgt	2520
ccgcattccg	aacaagctga	gcctcgccct	gcagacggag	ctccccgcga	cgctgctcct	2580
cgacttcccc	accgtgcacg	acctcgtgga	gcggctggac	caggaccggg	cccccgagtc	2640
cgatgaggag	gaggaggtgc	gggaggaggc	caaggccacg	gccagagccc	cggccaaggc	2700
caaggccctg	gccaaggcgc	gcgagcgcac	ccagcgcttc	gggccctcgg	agatcatcag	2760
cggtgcagaag	cgctgcctca	acgtctacgc	ccagcccatc	taccagaagc	ggttcacgga	2820
catggccaaag	aagtgtctcc	cggacatgct	caagtacatc	ctcgccatag	agtccatcct	2880
ggtcgagggtc	gaggggcccg	tcctgcagga	gttcagctg	atccaagatc	tcgagtacaa	2940
gtcgggtccag	agaggccgcg	agaatttgat	gtactacatg	tcaagctatt	ggctggccca	3000
cccagagata	cgcgatcaga	gccagcagtt	actcctcctc	acgctgcagg	accagtgtcg	3060
gggcaataac	cacttgtagg	ctggcgctcc	gcgggcacct	cgaatctgcg	gagccacata	3120
cgagagtctc	agtgcgaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaa		3166

<210> 2
 <211> 973
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense
 <400> 2

```

Met Leu Val His Gly Trp Thr Ala Ala Pro Leu Leu Leu Glu Leu Val
1      5      10      15
Ala Asn Phe Ser Ala Pro Leu Glu Gly Arg Ala Gln Thr Ala Gly Glu
20      25      30
Leu Ala Ala Glu Thr Gly Ala Glu Glu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu
35      40      45
Arg Ala Cys Ser Val Leu Gly Tyr Val Arg Phe Asp Ala Gln Ser Arg
50      55      60
Ala Tyr Ser Leu Val Pro Gly Pro Glu Leu Asp Glu Leu Arg Thr Val
65      70      75      80
Leu His Pro Ala Ser Glu Val Ala Arg Gly Leu Gln Glu Leu Tyr Ser
85      90      95
Glu Val Ala Pro Pro Phe Gln Leu Pro Ser Glu Asp Ala Ala Arg Cys
100      105      110
Leu Ala Leu Trp Glu Glu Gln Arg Pro Ser Trp Ser Gln Cys Arg Ser
115      120      125
Arg Ala Leu Gly Val Leu Leu Asp Gly Ala Val Leu Ala Pro Leu Leu
130      135      140
Val Ser Val Thr Tyr Ser Ser Arg Trp Asp Glu Glu Gly Gln Glu His
145      150      155      160
Gly Arg Asp Asn Val Met Glu Arg Phe Asp Phe Ser Lys Met Leu Pro
165      170      175
Ala Gln Arg Ser Ala Leu Gly Asp Ile Phe Glu Gln Leu Gly Val Gly
180      185      190
Thr Met Asn Ala Lys Gly Val Ile Met Met Ser Ser Lys Gly Ala Met
195      200      205
Ala Leu Gln Arg Cys Tyr Ser Tyr Tyr Val Pro Leu Ser Tyr Ala Pro
210      215      220
Leu Met Ala Gln Ile Ser Pro Ile Leu Phe Asp Asp Ala Gly Trp Gly
225      230      235      240
Phe Thr Asp Ala Gly Thr Asp Ser Phe Asp Asp Val Glu Glu His Val
245      250      255
Asp Arg Ile Leu Asn Val Val Gly Ser Gly Ala Gln His Arg Thr Leu
260      265      270
Phe Lys Asp Met Met Arg His Ile Ser Thr Val Phe Lys Gly Glu Ala
275      280      285
Phe Ala Leu Gln Pro Ser Phe Val Val Asp Thr Gly Cys Gly Asp Gly
290      295      300
Ser Leu Leu Ile His Ile Tyr Glu His Ile Lys Gln His Thr Pro Arg
305      310      315      320
Gly Lys Val Leu Asp Gln Phe Pro Leu Thr Met Val Gly Val Asp Leu
325      330      335
Asn Glu Asp Pro Arg Val Thr Thr Ala Val Asn Leu Ser Lys Gln Gly
340      345      350
Val Pro His Val Val Ile Ser Gly Asp Val Gly Lys Pro Ala Glu Ile
355      360      365
Leu Ala Ala Leu Lys Lys Lys Lys Val Asp Ala Ser Arg Thr Leu His
370      375      380

```

Val	Arg	Ser	Phe	Leu	Asp	His	Asp	Arg	Thr	Tyr	Ile	Pro	Pro	Val	Met
385					390					395					400
Arg	Ile	Glu	Glu	Glu	Ser	Ser	Thr	Ala	Arg	Phe	Ala	Arg	Thr	Gln	Met
				405					410					415	
Ala	Asp	Phe	Val	His	Leu	Asp	Lys	Arg	Gly	Lys	Pro	Ile	Thr	Ala	Leu
			420					425					430		
Glu	Leu	Phe	Ala	Ser	Leu	Val	Glu	His	Phe	Glu	Arg	Trp	Ala	Asp	Ala
		435					440					445			
Leu	Glu	Val	Ser	Phe	Gly	Leu	Cys	Val	Leu	Glu	Val	Met	Met	Leu	Asp
		450				455					460				
Val	Pro	Thr	Thr	Gln	Arg	Trp	Phe	Asn	Asp	Cys	Val	Ser	Phe	Pro	Leu
465					470					475					480
Asp	Phe	Val	Gln	Cys	Leu	Ser	Arg	Gln	Tyr	Met	Val	Ser	Ala	Ala	Ala
				485					490					495	
Phe	Thr	Met	Gly	Ala	Ala	Met	Ala	Gly	Leu	Leu	Pro	Ala	Asp	Phe	Arg
			500					505						510	
Ala	Val	Glu	Thr	Tyr	Pro	Glu	His	Gly	Arg	Tyr	Asn	Arg	Met	Leu	Ser
		515					520					525			
Gln	His	Leu	Val	Lys	Arg	Pro	Phe	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Glu	Val	Ala
		530				535						540			
Asp	Leu	Gln	Ser	Leu	Val	His	Val	Glu	Glu	Leu	Ala	Trp	Pro	Lys	Gln
545					550					555					560
Met	Gln	Gly	Ser	Leu	Glu	Val	Leu	Arg	Arg	Arg	Leu	Glu	Ala	Ser	Pro
				565					570					575	
Thr	Thr	Asn	Leu	Val	Cys	Glu	Leu	Glu	Gly	Arg	Val	Val	Ala	Val	Leu
			580					585					590		
Tyr	Met	Gln	Arg	Ile	Glu	Ser	Leu	Ala	Val	Leu	Asp	Gly	Val	Gln	Phe
		595					600					605			
Met	Asp	Val	Ser	Ser	Ala	His	Ser	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Leu	Gln	Leu
		610				615						620			
Ile	Ser	Ile	Ala	Val	His	Pro	Asp	Phe	Ala	Gly	Met	Asn	Leu	Gly	Arg
625					630					635					640
Glu	Leu	Lys	Glu	Phe	Gly	Leu	His	Leu	Ala	Arg	Leu	Asp	Ser	Thr	Ile
				645					650					655	
Glu	Arg	Val	Ile	Gly	Val	Thr	Arg	Cys	Ser	Lys	Glu	Phe	Arg	Gln	Tyr
			660					665					670		
Asp	Gly	Pro	Met	Ser	Glu	Tyr	Val	Asn	Ala	His	Phe	Ser	Gly	Ala	Arg
		675					680					685			
Thr	Asp	Ser	Thr	Leu	Asp	Phe	His	Ser	Ser	Ala	Gly	Ala	Gln	Phe	Val
		690				695						700			
Arg	Leu	Val	Glu	Gly	Phe	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Asp	Asn	Gly	Gly	Thr
705					710					715					720
Gly	Val	Val	Ile	Ala	Tyr	Asp	Ile	Arg	Arg	Ala	Leu	Pro	Arg	Glu	Ala
				725					730					735	
Ala	Ala	Gly	Ala	Pro	Pro	Ser	Arg	Pro	Pro	Pro	Arg	Thr	Lys	Val	Pro
			740					745					750		
Ser	Leu	Gln	Leu	Val	Gln	Asp	Val	Met	Thr	Ser	Ile	Gly	Tyr	Pro	Pro
		755					760					765			
Asn	Leu	Asn	Asp	Leu	Thr	Lys	Gly	Phe	Phe	Asp	Tyr	Gly	Met	Asp	Ser
		770				775						780			
Leu	Glu	Leu	Val	Arg	Ile	Arg	Asn	Lys	Leu	Ser	Leu	Ala	Leu	Gln	Thr
785					790					795					800
Glu	Leu	Pro	Ala	Thr	Leu	Leu	Leu	Asp	Phe	Pro	Thr	Val	His	Asp	Leu
				805						810				815	
Val	Glu	Arg	Leu	Asp	Gln	Asp	Arg	Ala	Pro	Glu	Ser	Asp	Glu	Glu	Glu
			820					825					830		
Glu	Val	Arg	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala	Thr	Ala	Arg	Ala	Pro	Ala	Lys	Ala
		835					840					845			
Lys	Ala	Leu	Ala	Lys	Gly	Gly	Glu	Ala	Thr	Gln	Arg	Phe	Gly	Pro	Ser
		850				855					860				
Glu	Ile	Ile	Ser	Val	Gln	Lys	Arg	Cys	Leu	Asn	Val	Tyr	Ala	Gln	Pro

865					870					875				880
Ile	Tyr	Gln	Lys	Arg	Phe	Thr	Asp	Met	Ala	Lys	Lys	Cys	Phe	Pro Asp
				885					890					895
Met	Leu	Lys	Tyr	Ile	Leu	Ala	Ile	Glu	Ser	Ile	Leu	Val	Glu	Val Glu
		900						905					910	
Gly	Pro	Val	Leu	Gln	Glu	Phe	Gln	Leu	Ile	Gln	Asp	Leu	Glu	Tyr Lys
		915					920					925		
Ser	Val	Gln	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Leu	Met	Tyr	Tyr	Met	Ser	Ser Tyr
	930					935					940			
Trp	Leu	Ala	His	Pro	Glu	Ile	Arg	Asp	Gln	Ser	Gln	Gln	Leu	Leu Leu
945					950					955				960
Leu	Thr	Leu	Gln	Asp	Gln	Cys	Trp	Gly	Asn	Asn	His	Leu		
			965					970						

<210> 3
 <211> 4648
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 3

tccgtagcca	ttttggctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcggcc	60
ggcgaccccg	ctcccgcgca	tccgtccgcc	tctgctcccg	ttcctcccaa	gccaaagcgca	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cttgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgtcg	180
cgggggacag	gcacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaaagtcga	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcàccgatg	ccttcatgct	ggtgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggagttt	gttgcgagct	tcctgcagcc	cttgcagcgg	cagcccatga	360
ccgccgagca	gctcgccgcg	gagacaaacg	cgggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tacttggaac	tggacctga	gaccgatgtg	tatgcccgtg	480
tcccggggcc	ggggattgag	gcgctcgccg	cgctcctccg	gccagcggcg	cccaccagcg	540
cggccttgcg	aagcatctac	cagcacgccc	agccgcggtt	cagggtgccc	tcatccgagg	600
cggcgcaactg	cttgcggatt	tgggcggagc	accggcccac	ctggagaagg	gcggcttgca	660
agcggttggc	cctcctgctc	gacggggcgg	tcctcgtccc	gttgttgacc	tcgatcacat	720
actttgcgag	gtgggacgag	gaggggctgg	attccggcaa	ggagggcgcc	ttggaccgcc	780
tcgacttcag	caaggccaat	gccgcggcaa	gggcggccct	cgggggcacg	ttcggcgagt	840
tgggcgtggg	cacagtggac	ggcgagggca	ccgtgacctt	gaccgcggag	ggctcgttcg	900
ccctgcagcg	tcgctactcc	tactacgtcc	cgacgtccta	cgccccactg	ctggacaggt	960
accacagcat	cctcttcgag	aatcccggct	gggggttcgc	cgtgcccggc	cgggactcgc	1020
aggagcagga	gatccacgtc	caccggacgc	tgaacgtggg	gggcagcggg	gcgcagcacc	1080
agacgctctt	cacggacctc	gtgcggctca	ttgactcggg	cttcgcgggc	ggggacttcg	1140
cgtcgagcc	ggcgttcgct	gtggacacgg	ggtgcggcga	cggccgcttg	ctcaggcgca	1200
tctacgagca	cgtgaagagc	aacacgccgc	gcgggaaggc	gctcgccgag	cacccgctca	1260
cgatggtcgg	cgtcgacttc	aacaaggact	ctcgggtggc	gacggagctc	aacctgagca	1320
ggcacgcagt	cccgcacctg	gtgctgttcg	gggacgtcgg	caagcccgcg	gacatcatgg	1380
agatcctcgg	gcggaagggg	gtggacccga	gcaggctccct	ccacgtgcgc	tccttccttg	1440
accacgaccg	gccgtacgtc	cccccgcccc	gcgagatgga	cccggacagc	gcggccggga	1500
ggttcgcgag	gctgcagctg	tcggactgcg	cccacctcga	cggcgagggc	aagcggatcg	1560
cgccgagcga	gatgttcgcc	tcgctgggtg	agcacttcca	gcgctggggc	ggcgccctgc	1620
agggctcggt	cggcctctgc	atgctggagg	tcgatgatgct	ggacgtgccg	acgacgaggg	1680
cgtccctgaa	cgattgcgtc	tcgctccact	tcgacctcgt	gcagtgcttc	tcccggcagt	1740
acatggtgtc	gccgcgggcc	ttcgcccttg	gcctggccat	ggccggcctc	ctgcccggga	1800
gctacgaggg	cgtccagacc	caccggcgcc	gggggcggtg	ctgccgcgtg	atgagccagc	1860
acctcgtgcg	ccggccgtac	cagatccgcc	tcgccgaggt	cggtagacctg	ccgaggctcg	1920
cgcgcctgga	ggagctggcg	tggggccgcc	tcggcgccac	gccggagggtc	ctgcggaggc	1980
gcctggagac	gtctccgacc	acgtgcctgg	ccgtcgagat	ggaccagctg	gtcgtggccg	2040
tgctctacac	gcagcgggtg	gacagcgccg	atgtgggtgga	ccagcagaag	ttcatgcagg	2100
tctccgactg	gcacagcccc	agcggccgca	tcatgcagct	catcgcgatc	tgctccgacc	2160
cggccgccaa	gcacctgggc	gtcgcggcgg	acctgctcgc	cttcgcgctc	cacctggccc	2220
gcctcagccc	ggacgtggac	agcgtcatcg	gggtgacgcg	ctgccaaaac	ttcgagacat	2280
tcgccgggtc	gatgcgggac	tacgtggacg	agcacatcgc	cggcaccgcc	gtagatocca	2340
tcacggcct	ccacaccggc	aacggagctc	gggtagtccg	cctcgtgcac	ggcttcaggc	2400
cggaggacgt	gggcaaccgc	ggggacggcg	tgctcataca	gtacgacacg	agcaaagctcg	2460
gcgcggcaac	cggcgagcgc	gcggcccccg	gcgtcggggc	tgctgcggcg	cccccccccg	2520

```

ggccggctcc cgcgccatgc cccacggact acgagcacca cgaggctctt gtcctggccg 2580
ctctgggcag cctgatgctg aagaacggcg gcaccgaggg ggccggcccg ggcagcgccg 2640
acgtcagatt tgtggacatg gacctcctgg actccctcaa cttcaccgac ttcgcaggcc 2700
agctggacgc cgcgctcccc gtgcccgtct ccgtcgggct gctcttcgag gcgtccacgc 2760
ccaggaagct ggccgcgcac ctccaccgcg agatgcagcg gctggccggc caggcggacg 2820
ggggggcccg cctcggcccc gcaccggccg ccgcgcgcgc gccgcgcgcc gctgcccgca 2880
gggaggagcg cgcggaggct ccgctggcct ccttcgactc ggtgtgcacc aagctcgagg 2940
ggtgctccgc gctggctgac gggtgctggt gcacgcagct ggcgaaactgc agctacctcg 3000
gcttccagtg gcgggacgag atcgccgatg gcgtggaccg ggacgtgcgc acttggggcg 3060
tccaccccc gtggaccagg ctctgtctct ctccgaagct gtacgacgac gtcgaggcg 3120
gctgttgcca gctgaccggc atctggaagt gcgttctgta cccgagcgtt accatgctca 3180
acatgggagt catcccgagc ctctgggggt agagcgggtt cctcctcctg gacataaaacg 3240
cccacgactg cgtgcagacg gccgccaggc tctgcaagaa gggcgccacc gtggtgcgcc 3300
tgaggcaca cgcgcgggag cagctcgagc acatgtctct gtcgatcccg cagggggccg 3360
acatcaccta cgtgtgcgac ggcgtgtact ccacggacgg agagctcgcc gacttgcccg 3420
ccatagtgtc ttgtttgagg ccgcgcgggg ccaagatact cgtagacgac tcgcataagct 3480
gcggcggtct tggccgcaac cccgactcgg agcaaccctt cgggtatggt ggcggcgggc 3540
tcgtcgagta cttcgggctg gactacgcgg agaacaacat catctacgcc gggcagctga 3600
gaaggcggt caattcgccc ggcggattcg tcggctgtgc gcgcgagacc gacgagaagt 3660
tcggcattct gaacttggcc aagaactcga acacactcgt gttcacaggg ccgatctgta 3720
ctgccggcct gtcgagtgcg atgacgacct tcgacctcaa cgccgcgag ggggaccttc 3780
agcgcaagcg gcttctggcg gcgacctcgt aattctgcga ggggctcaag gcgctcgggt 3840
gccccacac ctaccacggg ttccccatcg tcaacatcta ctggaccccg gtcgaggtgt 3900
gcgcagaggt gtacagggag ctgatgagcg cgaggcaggg cgcgttccag caggggcgctg 3960
tcacgacccc catgtggcac cccatcgccc cgaagggcca cgagatgctg cgcttcaggt 4020
tcacgtcgct ccacgacgag gccgcggtgc gccacatcct cgtgatcctc gaggacctga 4080
tcaagcgcta cccgccctcc gccgtgccgc cgcgcactcg atcgcccgcc cgagccgcag 4140
gaccagcgcc gctcatccca ggggttgttt aagggttgt tgagtctttt caatctagtc 4200
agcgtgtttt taatgtgcaa gcagcaaggg tcaggcggtat tctgggcttg tacaccaagg 4260
gccaggcagg ttttggtgct gcgcgttttg atcctgctgt gttgtcgtag cgtgcaagca 4320
gcaagggtca ggcggagtcc tgggcttgta caccaagggc caggcaggtt tggctgccgc 4380
cgttttgatc ctgctgtggt gtggtagcat gcaagcagca agggtcaggc ggattttggg 4440
ctttgctgat cctgatccaa ggtatgacca gccatggcgc atcatcgct ctaaggtagc 4500
gcctgtccat gctcgccatc ttagctggtc actattcgca tcaacactcg caaggtagc 4560
gtctgctacg cacagggtac aattgacatt gtggatcgag ccacggaagg gagaaaaaaa 4620
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 4648

```

<210> 4
 <211> 1281
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 4
 Met Leu Val His Gly Trp Thr Cys Gly Pro Leu Leu Leu Glu Phe Val
 1 5 10 15
 Ala Ser Phe Leu Gln Pro Leu Gln Arg Gln Pro Met Thr Ala Glu Gln
 20 25 30
 Leu Ala Ala Glu Thr Asn Ala Gly Glu Gly Pro Val Ala Ile Thr Leu
 35 40 45
 Arg Thr Met Ala Ile Leu Gly Tyr Leu Asp Leu Asp Pro Glu Thr Asp
 50 55 60
 Val Tyr Ala Val Val Pro Gly Pro Gly Ile Glu Ala Leu Ala Ala Leu
 65 70 75 80
 Leu Arg Pro Ala Ala Pro Thr Ser Ala Ala Leu Arg Ser Ile Tyr Gln
 85 90 95
 His Ala Gln Pro Pro Phe Arg Val Pro Ser Ser Glu Ala Ala His Cys
 100 105 110
 Leu Arg Ile Trp Ala Glu His Arg Pro Thr Trp Arg Arg Ala Ala Cys
 115 120 125
 Lys Arg Leu Ala Leu Leu Leu Asp Gly Ala Val Leu Val Pro Leu Leu
 130 135 140
 Thr Ser Ile Thr Tyr Phe Ala Arg Trp Asp Glu Glu Gly Leu Asp Ser

145		150		155		160
Gly Lys Glu Gly Ala Leu Asp Arg Leu Asp Phe Ser Lys Ala Asn Ala						
	165		170			175
Ala Ala Arg Ala Ala Leu Gly Gly Ile Phe Gly Glu Leu Gly Val Gly						
	180		185			190
Thr Val Asp Gly Glu Gly Thr Val Thr Leu Thr Ala Glu Gly Ser Phe						
	195		200			205
Ala Leu Gln Arg Arg Tyr Ser Tyr Tyr Val Pro Thr Ser Tyr Ala Pro						
	210		215			220
Leu Leu Asp Arg Tyr His Ser Ile Leu Phe Glu Asn Pro Gly Trp Gly						
	225		230			235
Phe Ala Gly Ala Gly Arg Asp Ser Gln Glu Gln Glu Ile His Val His						
	245		250			255
Arg Thr Leu Asn Val Val Gly Ser Gly Ala Gln His Gln Thr Leu Phe						
	260		265			270
Thr Asp Leu Val Arg Leu Ile Asp Ser Val Phe Ala Gly Gly Asp Phe						
	275		280			285
Ala Ser Gln Pro Ala Phe Val Val Asp Thr Gly Cys Gly Asp Gly Arg						
	290		295			300
Leu Leu Arg Arg Ile Tyr Glu His Val Lys Ser Asn Thr Pro Arg Gly						
	305		310			315
Lys Ala Leu Ala Glu His Pro Leu Thr Met Val Gly Val Asp Phe Asn						
	325		330			335
Lys Asp Ser Arg Val Ala Thr Glu Leu Asn Leu Ser Arg His Ala Val						
	340		345			350
Pro His Leu Val Leu Phe Gly Asp Val Gly Lys Pro Ala Asp Ile Met						
	355		360			365
Glu Ile Leu Gly Arg Lys Gly Val Asp Pro Ser Arg Ser Leu His Val						
	370		375			380
Arg Ser Phe Leu Asp His Asp Arg Pro Tyr Val Pro Pro Ala Arg Glu						
	385		390			395
Met Asp Pro Asp Ser Ala Ala Gly Arg Phe Ala Arg Leu Gln Leu Ser						
	405		410			415
Asp Cys Ala His Leu Asp Gly Glu Gly Lys Arg Ile Ala Pro Ser Glu						
	420		425			430
Met Phe Ala Ser Leu Val Glu His Phe Gln Arg Trp Gly Gly Ala Leu						
	435		440			445
Gln Gly Ser Phe Gly Leu Cys Met Leu Glu Val Met Met Leu Asp Val						
	450		455			460
Pro Thr Thr Arg Ala Ser Leu Asn Asp Cys Val Ser Leu His Phe Asp						
	465		470			475
Leu Val Gln Cys Leu Ser Arg Gln Tyr Met Val Ser Pro Ala Ala Phe						
	485		490			495
Ala Leu Gly Leu Ala Met Ala Gly Leu Leu Pro Gly Ser Tyr Glu Gly						
	500		505			510
Val Gln Thr His Pro Ala Arg Gly Arg Tyr Cys Arg Val Met Ser Gln						
	515		520			525
His Leu Val Arg Arg Pro Tyr Gln Ile Arg Leu Ala Glu Val Gly Asp						
	530		535			540
Leu Pro Arg Leu Ala Arg Leu Glu Glu Leu Ala Trp Gly Arg Leu Gly						
	545		550			555
Ala Thr Pro Glu Val Leu Arg Arg Arg Leu Glu Thr Ser Pro Thr Thr						
	565		570			575
Cys Leu Ala Val Glu Met Asp Gln Leu Val Val Ala Val Leu Tyr Thr						
	580		585			590
Gln Arg Val Asp Ser Ala Asp Val Val Asp Gln Gln Lys Phe Met Gln						
	595		600			605
Val Ser Asp Trp His Ser Pro Ser Gly Arg Ile Met Gln Leu Ile Ala						
	610		615			620
Ile Cys Ser Asp Pro Ala Ala Lys His Leu Gly Val Ala Ala Asp Leu						
	625		630			635
						640

Leu Ala Phe Ala Leu His Leu Ala Arg Leu Ser Pro Asp Val Asp Ser
 645 650 655
 Val Ile Gly Val Thr Arg Cys Gln Asn Phe Glu Thr Phe Ala Gly Ser
 660 665 670
 Met Arg Asp Tyr Val Asp Glu His Ile Ala Gly Thr Arg Val Asp Pro
 675 680 685
 Ile Ile Gly Leu His Thr Gly Asn Gly Ala Arg Val Val Arg Leu Val
 690 695 700
 His Gly Phe Arg Pro Glu Asp Val Gly Asn Arg Gly Asp Gly Val Leu
 705 710 715 720
 Ile Gln Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Gly Ala Ala Thr Gly Glu Arg Ala
 725 730 735
 Ala Pro Gly Val Gly Pro Ala Ala Ala Pro Pro Pro Gly Pro Ala Pro
 740 745 750
 Ala Pro Cys Pro Thr Asp Tyr Glu His His Glu Ala Leu Val Leu Ala
 755 760 765
 Ala Leu Gly Ser Leu Met Leu Lys Asn Gly Gly Thr Glu Ala Ala Ala
 770 775 780
 Ala Gly Ser Ala Asp Val Arg Phe Val Asp Met Asp Leu Leu Asp Ser
 785 790 795 800
 Leu Asn Phe Thr Asp Phe Ala Gly Gln Leu Asp Ala Ala Leu Pro Val
 805 810 815
 Pro Val Ser Val Gly Leu Leu Phe Glu Ala Ser Thr Pro Arg Lys Leu
 820 825 830
 Ala Ala His Leu His Arg Glu Met Gln Arg Leu Ala Gly Gln Ala Asp
 835 840 845
 Gly Gly Pro Arg Leu Gly Pro Ala Pro Ala Ala Ala Pro Pro
 850 855 860
 Pro Ala Ala Ala Arg Glu Glu Ala Ala Glu Ala Pro Leu Ala Ser Phe
 865 870 875 880
 Asp Ser Val Cys Thr Lys Leu Glu Gly Cys Ser Ala Leu Val Asp Gly
 885 890 895
 Cys Trp Cys Ile Asp Val Ala Asn Cys Ser Tyr Leu Gly Phe Gln Trp
 900 905 910
 Arg Asp Glu Ile Ala Asp Gly Val Asp Arg Asp Val Arg Thr Trp Gly
 915 920 925
 Val His Pro Pro Trp Thr Arg Leu Val Ser Ser Pro Lys Leu Tyr Asp
 930 935 940
 Asp Val Glu Ala Arg Cys Cys Glu Leu Thr Gly Ile Trp Lys Cys Val
 945 950 955 960
 Leu Tyr Pro Ser Val Thr Met Leu Asn Met Gly Val Ile Pro Ser Leu
 965 970 975
 Val Gly Glu Ser Gly Phe Leu Leu Leu Asp Ile Asn Ala His Asp Cys
 980 985 990
 Val Gln Thr Ala Ala Arg Leu Cys Lys Lys Gly Ala Thr Val Val Arg
 995 1000 1005
 Leu Arg His Asn Asp Ala Glu Gln Leu Glu His Met Leu Ser Ser
 1010 1015 1020
 Ile Pro Gln Gly Ala Asp Ile Thr Tyr Val Cys Asp Gly Val Tyr
 1025 1030 1035
 Ser Thr Asp Gly Glu Leu Ala Asp Leu Pro Ala Ile Cys Ala Cys
 1040 1045 1050
 Leu Arg Pro Arg Gly Ala Lys Ile Leu Val Asp Asp Ser His Gly
 1055 1060 1065
 Cys Gly Val Leu Gly Arg Asn Pro Asp Ser Glu Gln Pro Phe Gly
 1070 1075 1080
 Tyr Gly Gly Gly Gly Val Val Glu Tyr Phe Gly Leu Asp Tyr Ala
 1085 1090 1095
 Glu Asn Asn Ile Ile Tyr Ala Gly Gln Leu Ser Lys Ala Phe Asn
 1100 1105 1110
 Ser Pro Gly Gly Phe Val Gly Cys Ala Arg Glu Thr Asp Glu Lys

1115	1120	1125
Phe Gly Ile Leu Asn Leu Ala Lys Asn Ser Asn Thr Leu Val Phe		
1130	1135	1140
Thr Gly Pro Ile Cys Thr Ala Gly Leu Ser Ser Ala Met Thr Thr		
1145	1150	1155
Leu Asp Leu Asn Ala Ala Glu Gly Asp Leu Gln Arg Lys Arg Leu		
1160	1165	1170
Leu Ala Ala Thr Leu Glu Phe Cys Glu Gly Leu Lys Ala Leu Gly		
1175	1180	1185
Cys Pro His Thr Tyr His Gly Phe Pro Ile Val Asn Ile Tyr Trp		
1190	1195	1200
Thr Pro Val Glu Val Cys Ala Glu Val Tyr Arg Glu Leu Met Ser		
1205	1210	1215
Ala Arg Gln Gly Ala Phe Gln Gln Gly Val Val Thr Thr Pro Met		
1220	1225	1230
Trp His Pro Ile Ala Pro Lys Gly His Glu Met Leu Arg Phe Gln		
1235	1240	1245
Phe Thr Ser Leu His Asp Glu Ala Ala Val Arg His Ile Leu Val		
1250	1255	1260
Ile Leu Glu Asp Leu Ile Lys Arg Tyr Pro Pro Ser Ala Val Pro		
1265	1270	1275
Pro Arg Ile		
1280		

<210> 5
 <211> 504
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 5

gtcccgacct cctacgcccc actgctggac aggtaccacc gcatcctctt cgagaatccc	60
ggctgggggt tcgccggcgc cggccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg	120
acgctgaacg tggtagggcag cggggcgag caccagacgc tcttcacgga tctcgtgcgg	180
ctgattgact cggctcttcgc gggcggggac ttcgcggcgc agccggcggt cgtcgtggac	240
acaggggtgcg gcgacggccg cttgctcagg cgcattctacg agcacgtgaa gagcaacacg	300
ccgcgcggga aggcgctcgg cgagcaccgc ctcacgatgg tcggcgctcga cttcaacaag	360
gactctcggg tggccacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccgca cctgggtgctg	420
ttcggggacg tcggcaagcc cgccgacatc atggagctcc tcgggcggag ggggggtggac	480
ccgagcaggt ccctccacgt gcgc	504

<210> 6
 <211> 504
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 6

gtcccgacct cctacgcccc actgctggac aggtaccacc gcatcctctt cgagaatccc	60
ggctgggggt tcgccggcgc cggccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg	120
acgctgaacg tggtagggcag cggggcgag caccagacgc tcttcacgga tctcgtgcgg	180
ctgattgact cagtcttcgc gggcggggac ttcgcggcgc agccggcggt cgtcgtggac	240
acaggggtgcg gcgacggccg cttgctcagg cgcattctacg agcacgtgaa gagcaacacg	300
ccgcgcggga aggcgctcgg cgagcaccgc ctcacgatgg tcggcgctcga cttcaacaag	360
gactctcggg tggccacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccgca cctgggtgctg	420
ttcggggacg tcagcaagcc cgccgacatc atggagctcc tcgggcggaa tgggggtggac	480
ccgagcaggt ccctccacgt gcgc	504

<210> 7
 <211> 402
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 7

gaggagcatg ttgacagaat cttgaatgtc gttggcagtg gtgcgcaaca ccggaccctc 60
ttaaaggatc tgatgcgaca catcagtgcc gtgttcaagg gcgaggcatt tgccctcgag 120

ccaaattttg ttgtggacac tggctgtggc gacgggagcc tgctcataca cgtctacgag 180
cacatcaagg agcacacgcc ccgggggaaa gtgctcgacg agttccctct gacgatggtc 240
ggcgtggacc tcaacgagga gccgcgagtg acgacggccg tgaatctgag caagcagggc 300
gtcccgcacg tggatcatctc cggcgacgtg ggcaagcccg cggagatcat ggccgcgctg 360
aagaagaaga aggtggaccc gtcgaggacg cttcatgtcc gc 402

<210> 8
<211> 505
<212> ADN
<213> Alexandrium catenella

<400> 8
gtcccgaact cctacgcccc actgctggac aggtaccaca gcatcctctt cgagaatccc 60
ggctgggggt tcgcccggcg cgccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg 120
acgctgaacg tgggtggcag cggggcgagc caccagacgc tcttcacgga cctcgtgcgg 180
ctgatcgact cggctcttcg gggcggggac ttgcggcgcg agccggcggt cgtcgtggac 240
acggggtgcg gcgacggccg cttgctcagg cgcattctac agcacgtgaa gagcaacacg 300
ccgcgcggga aggcgctcgg cgagcaccgg ctacgatggc tcggcgctga cttcaacaag 360
gactctcggg tggccacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccgca caatgggtgct 420
gttcggcgac gtcggcaagc ccgcccacat cagggagctc tcggggcgga agggggtgga 480
ccctagcagg tccctccacg tgcgc 505

<210> 9
<211> 504
<212> ADN
<213> Alexandrium catenella

<400> 9
gtcccgaact cctacgcccc actgctggac aggtaccacc gcatcctctt cgagaatccc 60
ggctgggggt tcgcccggcg cgccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg 120
acgctgaacg tgggtggcag cggggcgagc caccagacgc tcttcacgga tctcgtgcgg 180
ctcattgact cggctcttcg gggcggggac ttgcggcgcg agccggcggt cgtcgtggac 240
acggggtgcg gcgacggccg cttgctcagg cgcattctac agcacgtgaa gagcaacacg 300
ccgcgcggga aggcgctcgg cgagcaccgg ctacgatggc tcggcgctga cttcaacaag 360
gactctcggg tggccacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccgca cctgggtgctg 420
ttcggggagc tcggcaagcc ccgcccacat atggagctcc tcggggcgag gggggtggac 480
ccgagcaagt ccctccacgt gcgc 504

<210> 10
<211> 504
<212> ADN
<213> Alexandrium catenella

<400> 10
gtcccagtgt cgtacgcacc actgatggcc cagatctcac ccatcctctt tgatgatgag 60
ggctgggggt tcaactgacg ggggacagac tccttcgagc tggaggagca tgttgacaga 120
atcttgaatg tcgtgggcag tgggtgcgaa caccggaccc tctttaagga tctgatgcga 180
cacatcagtg ccgtgttcaa gggcgaggca tttgcctcgc agccaaattt tgttgtggac 240
actggctgtg gcgacgggag cctgctcata caggtctacg agcacatcaa ggagcacacg 300
ccccggggga aagtgtctga cgagttccct ctgacgatgg tcggcggtgga cctcaacgag 360
gagccgcgag tgacgacggc cgtgaatctg agcaagcagg gcgtcccgca cgtggatcatc 420
tccggcgagc tgggcaagcc ccgaggatc aaggccgcgc tgaagaagaa gaaggtggac 480
ccgtcgagga cgcttcatgt ccgc 504

<210> 11
<211> 504

<212> ADN

<213> Alexandrium catenella

<400> 11

gtcccgacct cctacgcccc accgctggac atgtaccacc gcatcctctt cgagaatccc	60
agctgggggt tcgcccggcg cgccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg	120
acgctgaacg tgggtggcag cggggcgag caccagacgc tcttcacgga tctcgtgcgg	180
ctgattgact cggctcttcgc gggcggggac ttcgcggcg agccggcggt cgtcgtggac	240
acaggggtgcg ggcacggccg cttgctcagg cgcattctac agcacgtgaa gagcaacacg	300

5

ccgcgcggga aggcgctcgg cgagcaccgg ctcacgatgg tcggcgtcga cttcaacaag	360
gactctcggg tggccacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccga cctggtgctg	420
ttcggggagc tcggcaagcc cgccgacatc atggagctcc tcgggcggag gggggtggac	480
ccgagcaggt ccctccacgt gcgc	504

<210> 12

<211> 448

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 12

cccgggtggg ggttcgccgg cgccggccgg gactcgcagg agcaggaggt ccacgtccac	60
cggacgctga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga cgctcttcac ggatctcgtg	120
cggctcattg actcgggtctt cgcggggcgg gacttcgcgt cgcagccggc gttcgtcgtg	180
gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcattc acgagcacgt gaagagcaac	240
acgccgcgcg ggaaggcgct cgcgagcac ccgctcacga tggtcggcgt cgacttcaac	300
aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc acgcgggtccc gcacctggtg	360
ctgttcgggg acgttcggca agcccgccga catcatggag atcctcgggc ggaagggggt	420
ggaccggagc aggtccctcc acgtgcgc	448

15

<210> 13

<211> 504

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 13

gtcccgacct cctacgcccc actgctggac aggtaccaca gcatcctctt cgagaatccc	60
ggctgggggt tcgctggtgc cgccggggac tcgcaggagc aggaggtcca cgtccaccgg	120
acgctgaacg tgggtggcag cggggcgag caccagacgc tcttcacgga cctcgtgcgg	180
ctcattgact cggctcttcgc gggcggggac ttcgcattcg agccggcggt catcgtggac	240
acggggtgcg ggcacggccg cttgctcagg cgcattctac agcacgtgaa gagcaacacg	300
ccgcgcggga aggcgctcgc cgagcaccgg ctcacgatgg tcggcgtcga cttcaacaag	360
gactctcggg tggcgacgga gctcaacctg agcaggcacg cggccccga cctggtgctc	420
ttcggggagc tcggcaagcc cgccgacatc atggagaccc tcgggcggaa tggggtggac	480
ccgagcaggt ccctccacgt gcgc	504

25

<210> 14

<211> 504

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 14

gtcccacgt	cctacgcccc	actgctggac	aggtaccaca	gcatcctctt	cgagaatccc	60
ggctgggggt	tcgctgggtgc	cggccggggac	tcgcaggagc	aggaggtcca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tgggtgggcag	cggggcgcgag	caccagacgc	tcttcacgga	cctcgtgcgg	180
ctcattgact	cgggtcttcgc	gggcggggac	ttcgcatcgc	agccggcggt	catcgtggac	240
acggggtgcg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcacgtacg	agcacgtgaa	gagcaacacg	300
ccgcgcggga	aggcgctcgc	cgagcaccgc	ctcacgatgg	tcggcgtcga	cttcaacaag	360
gactctcggg	tggcgacgga	gctcaacctg	agcaggcacg	cgggtcccga	cctggtgctc	420
ttcggggacg	tcggcaagcc	cgccgacatc	atggagaccc	tcggggcgga	tgggggtggac	480
ccgagcagg	ccctccacgt	gcgc				504

<210> 15
 <211> 505
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

gtcccacgt	cctacgcccc	actgctggac	aggtaccaca	gcatcctctt	cgagaatccc	60
ggctgggggt	tcgctgggtgc	cggccggggac	tcgcaggagc	aggaggtcca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tgggtgggcag	cggggcgcgag	caccagacgc	tcttcacgga	cctcgtgcgg	180
ctcattgact	cgggtcttcgc	gggcggggac	ttcgcatcgc	agccggcggt	catcgtggac	240
acggggtgcg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcacgtacg	agcacgtgaa	gagcaacacg	300
ccgcgcggga	aggcgctcgc	cgagcaccgc	ctcacgatgg	tcggcgtcga	cttcaacaag	360
gactctcggg	tggcgacgga	gctcaacctg	agcaggcacg	cgggtcccga	cctggtgctc	420

ttcggggacg	tcggcaagcc	cgccgacgat	catggagacc	ctcggggcgga	atgggggtgga	480
cccagcagg	tccctccacg	tcgcg				505

<210> 16
 <211> 505
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

gtcccacgt	cctacgcccc	cctgctggac	aggtaccaca	gcatcctctt	cgagaatccc	60
ggctgggggt	tcgcccggcg	cggccggggac	tcgcaggagc	aagaggtcca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tgggtgggcag	cggggcgcgag	caccagacgc	tcttcacgga	cctcgtgcgg	180
ctcattgact	cgggtcttcgc	gggcggggac	ttcgctcgc	agccggcggt	cgtcgtggac	240
acggggtgcg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcacgtacg	agcacgtgaa	gagcaacacg	300
ccgcgcggga	aggcgctcgc	cgagcaccgc	ctcacgatgg	tcggcgtcga	cttcaacaag	360
gactctcggg	tggcgacgga	gctcaacctg	agcaggcacg	cgggtcccga	ccatggtgct	420
gttcggggac	gtcggcaagc	ccgcccacat	catggagctc	ctcggggcgga	atgggggtgga	480
cccagcagg	tccctccacg	tcgcg				505

<210> 17
 <211> 442
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

gtcccacgt	cctacgcccc	cctgctggac	aagtaccaca	gcatcctctt	cgagaatccc	60
ggctgggggt	tcgcccggcg	cggccggggac	tcgcaggagc	aagaggtcca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tgttgggcag	cggggcgcgag	caccagacgc	tcttcacgga	cctcgtgcgg	180
ctcattgact	cggtcttcgc	gggcggggac	ttcgctgtcg	cagccggcggt	tcgtcgtgga	240
tacagggtgt	ggcgacggcc	gcttgttcag	gcgcttctac	gagcacgtga	aagagcaaca	300
cttctcgcgc	gggaaggcgc	tcgccgagca	cccgtcacg	atggtcggcg	tcgacttcaa	360
caaggactct	cgggtggcga	cggagctcaa	cctgagcagg	cacgcagtcc	cgcaccaagg	420
gctgttcggg	gacgtcggca	ag				442

<210> 18
 <211> 505

<212> ADN

<213> *Gymnodinium catenatum*

<400> 18

gtcccgcagt	cctatgcccc	cctgctggac	aagtaccaca	gcatcctctt	cgagaaccct	60
ggttgggggt	tcgtcggcgc	cggccaggac	tcgcaggagc	aagagatcca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tggttggcag	cggggcgag	caccagacgc	tcttactga	cctcgtgcgg	180
cacatcgact	ccctcttcac	tggaggggac	ttcatgtcgc	agccggcggt	cgtcgtggat	240
acaggggtgtg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcactctacg	agcacgtgaa	gagcaaacg	300
ccgcgcggga	aggctctcgc	cgaacacccg	ctcacgatgg	ttggcgtcga	cttcaacaag	360
gactcccgcg	tggcgacgga	gctcaacttg	agcaagcatg	cagtcccaca	cctagtgtctg	420
ttcgggggatg	ttggcaagcc	cgcgcacatc	atggagctct	ctcaggcaga	atgggggtgga	480
cccgagcagg	gcctccacg	tgcgc				505

5

<210> 19

<211> 504

<212> ADN

<213> *Gymnodinium catenatum*

10

<400> 19

gtcccgcagt	cctacgcccc	cctgctggac	aagtaccaca	gcatcctctt	cgagaatcct	60
ggctgggggt	tcgtcggcgc	cggccaggac	tcgcaggagc	aggaaattca	cgtccaccgg	120
acgctgaacg	tggttggcag	cggggcgag	caccagacgc	tcttactga	cctcgtgcgg	180
cacatcgact	ccctcttcac	gggaggggac	ttcatgtcgc	agccggcggt	cgtcgtggat	240
acaggggtgtg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcactctacg	agcacgtgaa	gagcaaacg	300
ccgcgcggga	aggctctcgc	cgaacacccg	ctcacgatgg	ttggcgtcga	cttcaacaag	360
gactcccgcg	tggcgacgga	gctcaacttg	agcaagcatg	cagtcccaca	cctagtgtctg	420
ttcgggggatg	taggcaaacc	cgcgcacatc	atggagctcc	tcaggcagaa	tgggggtggac	480
ccgagcaggg	ccctccacgt	gcgc				504

15

<210> 20

<211> 504

<212> ADN

<213> *Gymnodinium catenatum*

20

<400> 20

gtcccgcagt	cctacgcccc	cctgctggac	aaataccaca	gcatcctctt	cgagaatcct	60
ggctgggggt	tcgtcggcgc	cggccaggac	tcgcaggagc	aggaaattca	cgtccaccgg	120
acgctgaatg	tggttggcag	cggggcgag	caccagacgc	tcttactga	cctcgtgcgg	180
cacatcgact	ccctcttcac	tggaggggac	ttcatgtcgc	agccggcggt	cgtcgtggat	240
acaggggtgtg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcactctacg	agcacgtgaa	gagcaaacg	300
ccgcgcggga	aggctctcgc	cgaacacccg	ctcacgatgg	ttggcgtcga	cttcaacaag	360
gactcccgcg	tggcgacgga	gctcaacttg	agcaaacatg	cagtcccaca	cctagtgtctg	420
ttcgggggatg	ttggcaggcc	cggcgacatc	atggagctcc	tcaggcagaa	tggagtggac	480
ccgagcaggg	ccctccacgt	gcgc				504

<210> 21

<211> 504

<212> ADN

<213> *Gymnodinium catenatum*

25

<400> 21

gtccccgacgt	cctacgcccc	cctgctggac	aagtaccaca	gcatcctctt	cgagaatcct	60
ggctgggggt	tcgtcgggcg	cggccaggac	tcgcaggagc	aggaaattca	cgccaccggg	120
acgctgaacg	tgggtggcag	cggggcgagc	caccagacgc	tcttcaactga	cctcgtgcgg	180
cacatcgact	ccctcttcac	gggaggggac	ttcatgtcgc	agccggcggt	cgctcgtggat	240
acaggggtgtg	gcgacggccg	cttgctcagg	cgcacgtgaa	gagcaaacacg		300
ccgcgcggga	aggcgctcgc	cgaacacccg	ctcacgatgg	ttggcgtcga	cttcaacaag	360
gactcccgcg	tggcgacgga	gctcaacttg	agcaagcatg	cagtcccaca	cctagtgtctg	420
ttcgggggatg	taggcaaacc	cgccgacatc	atggagctcc	tcaggcagaa	tgggggtggac	480
ccgagcaggg	ccctccacgt	gcgc				504

<210> 22
 <211> 504
 <212> ADN
 <213> *Gymnodinium catenatum*

<400> 22	
gtccccgacgt	cctacgcccc
ggctgggggt	tcgtcgggcg
acgctgaacg	tgggtggcag
cacatcgact	ccctcttcac
acaggggtgtg	gcgacggccg
ccgcgcggga	aggcgctcgc
gactcccgcg	tggcgacgga
ttcgggggatg	taggcaaacc
ccgagcaggg	ccctccacgt
gcgc	

<210> 23
 <211> 447
 <212> ADN
 <213> *Gymnodinium catenatum*

<400> 23	
cctgggttggg	ggttcgtcgg
cggacgctga	acgtggtggg
cggcacatcg	actccctctt
gatacaggg	gtggcgacgg
acgccgcgcg	ggaaggcgct
aaggactccc	gcgtggcgac
ctgttcgggg	atgttggcaa
gacccgagca	gggcctcca

<210> 24
 <211> 649
 <212> ADN
 <213> *Alexandrium catenella*

<400> 24	
gttcctcctc	ctgtacataa
gaagggcgcc	accgtggtgc
ctcgtcgatc	ccgcaggggg
cgaagagctc	gccgacttgc
actcgtagac	gactcgcatg
cctcgggtat	ggtggcgggc
catcatctac	gccgggcagc
tgcgcgcgag	accgacgaga
cgtgttcaca	gggcccgatc
caacgcgcgc	gagggggacc
cgaggggctc	aaggcgctcg

<210> 25
 <211> 576

<212> ADN

<213> Alexandrium catenella

<400> 25

tgggtgcgcct	gaagcacaac	gacacggaac	agcccagca	catgctctcg	tcgatcccg	60
agggggccga	catcacctac	gtgtgcgacg	gcgtgtactc	cacggacgaa	gagctcgccg	120
acttgcccc	catatgtgct	tgtttgaggc	cgcgcggggc	caagatactc	gtagacgact	180
cgcgatggctg	cgccgttctt	ggccgcaacc	ccaactcgga	gcaacccctc	gggtatgggtg	240
gcggcggcgt	catcgagtac	ttcgggctgg	actacgcgga	gaacaacatc	atctacgccg	300
ggcagctgag	caaggcgctt	aattcgcccg	gcggattcgt	cagctgtgcg	cgcgagaccg	360
acgagaattt	cgccgttctg	aacttgcca	agaactcgaa	cacactcgtg	tatcacaggg	420
ccgatctgta	ctgccgccct	gtcgagtacg	aagacaacct	tcgacctcaa	cgccgcgag	480
ggggaccttc	agcgcaagcg	gcttctggcg	gctaccctcg	aattctgcga	ggggctcaag	540
gcgctcgggt	gccccacac	ctaccacgag	ttcccc			576

5

<210> 26

<211> 600

<212> ADN

<213> Alexandrium catenella

10

<400> 26

ggttcctcct	cctgtacata	aacgcccacg	actgcgtgca	gacggccgcc	aggctctgca	60
agaaggggcg	caccgtggtg	cgctgaagc	acaacgacac	ggaacagccc	gagcacatgc	120
tctcgtcgat	cccgagggg	gccgacatca	cctacgtgtg	cgacggcgtg	tactccacgg	180
acgaagagct	cgccgacttg	cccgccatat	gtgcttgttt	gaggccgcgc	ggggccaaga	240
tactcgtaga	cgactcgcat	ggctgcggcg	ttcttgcccg	caaccccaac	tcggagcaac	300
ccctcgggta	tggtggcgcg	ggcgtcatcg	agtacttcgg	gctggactac	gcggagaaca	360
acatcatcta	cgccgggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	gcccggcgga	ttcgtaagct	420
gtgcgcgcga	gaccgacgag	aatttcggcg	ttctgaactt	ggccaagaac	tcgaacacac	480
tcgtgttca	agggccgac	tgtaactgcg	gcctgtcgag	tgcaagacg	accttcgacc	540
tcaacgccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggcttct	ggcggtacc	ctcgaattct	600

15

<210> 27

<211> 653

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

20

<400> 27

ccagcctcgc	gggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaaggcg	tcaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	ggagcgcatg	ctctcctcga	tcccgaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccaca	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgcata	tgtgcttgtt	240
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttgccc	300
gaaacccaga	ctcgagagca	cccttcgggt	atgggtggcg	tggtgcgtgc	gagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagagac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaact	420
cgcccgccgc	attcgtcggc	tgcgcgcgcg	agaccgacga	gaagtccggc	atcctgaact	480

tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtaccgcc	ggcctgtcga	540
gtgcaaagac	gaccctggac	ctcaacgccg	ccgaggggga	ccttcagcgc	aggcggtccc	600
tggcgccgac	ccctcgagtt	ctgcgagggg	ctcaaggcgc	tcgggtgccc	cca	653

<210> 28

<211> 639

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

25

<400> 28

```

ctggacataa acgcccacga ctgctgtcag acggccgcca ggctctgcaa gaagggtcaa      60
ccgtgggtgc cctgaagcac aacgacacgg agcagctgga gcgcatgctc tcctcgatcc      120
cgcagggggc cgacatcacc tacgtgtgcg acggcgtgta ctccacagac ggagagctcg      180
ccgacttgcc cgccatatgt gcttggttga ggccgcgcgg ggccaagata ctctgggacg      240
actcgcattg ctgcggcggt cttggccgaa acccagactc ggagcaaccc ttcgggtatg      300
gtggcgggtg cgtcgtcagag tacttcgggc tggactacgc ggagaacaac atcatctacg      360
ccgggcagct gagcaaggcg ttcaactcgc ccggcggatt cgtcgggtgc gcgcgcgaga      420
ccgacgttta agttcggcat cctgaacttg gccaaagaact cgaacacact cgtgttcaca      480
gggcccgatct gtaccgcccg cctgtcgagt gcaaagacga ccctggacct caacgccgcc      540
gagggggacc ttcagcgagc gcggctcctg gcggcgaccc tcgagttctg cgaggggctc      600
agggcgctcg ggtgccccca cacctaccac ggcttcccc      639

```

<210> 29
 <211> 671
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

```

<400> 29
ccagcctcgc gggcgagagc gggttcctcc tcctggacat aaacgcccac gactgcgtgc      60
agacggccgc caggctctgc aagaaggcg tccacgtggt gcgcctgaag cacaacgaca      120
cggagcagct ggagcgcagc ctctcctcga tcccgagggg ggccgacatc acctacgtgt      180
gcgacggcgt gtactccaca gacggagagc tcgcccactt gcccgccata tgtgcttgtt      240
tgagggccgc cggggccaaag atactcgtgg acgactcgca tggctgcggc gttcttgccc      300
gaaacccaaa ctccggagcaa cccttcaggt atggtggcgg tggcgtcgtc gactacttcg      360
ggctggacta cgcggagaaac aacatcatct acgcccggca gctgagcaag gcgttcaact      420
cgcccggcgg attcgtcggc tgcgcgcgcg agaccgacga gaagtccggc atcctgaact      480
tggccaagaa ctagaacaca ctctgtgtca cagggccgat ctgtaccgcc ggcctgtcga      540
gtgcaaagac gaccctggac ctcaacgccg ccgaggggga ccttcagcgc agggcgctcc      600
tggcggcgac cctcgagttc tgcgaggggc tcagggcgct cgggtgcccc cacacctacc      660
acggcttccc c

```

<210> 30
 <211> 624
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

```

<400> 30
tcctcctgga cataaacgcc cactactgctg tgcagacggc agccaggctc tgcaagaagg      60
gagtcaccgt cgtgcgcctg aagcacaacg acacggagca gctcgagcgc gtgctctcgt      120
cgatcccgga gggggccgac atcacctacg tgtgcgacgg cgtctactcc acggacggag      180
agctcgccga cttgcccgcc atatgtgctt gtttgaggcc gcgcggggcc aagatactcg      240
tggacgactc gcacgggtgc ggcgttcttg gccgcaaccc cgactcggag caacccttcg      300
gatatggcgg cggcggcgct gtcaagtact tcgggctgga ctacgcggag aacaacatca      360
tctacgccgg gcagctgagc aaggcgttca attcgcgccg cggattcgtg ggctgcgcac      420
gcgagaccca cgagaagtgc ggcattctga acttgcccaa gaactcgaac acgctcgtgt      480
tcacagggcc gatctgtact gccggcctgt cgagtgcgaa gacgaccctc gacctcaact      540
ttgccgaggg ggaccgtcag cgcaagcggc ttcttgaggc gaccctggaa tttgcgaggg      600
gctcaaggcg ctcgggtgcc ccca

```

<210> 31
 <211> 671
 <212> ADN
 <213> Gymnodinium catenatum

<400> 31

cgggccctcgt	agggcgagaat	ggattcccttc	tcttgacat	aaatgccac	gattgtgtgc	60
agacagctgc	caggctttgc	aagaaaggca	ccaccaccgt	acgcttgaag	cacaatgacg	120
cagagcagct	cgagcgcgta	cttgctcgta	tcccagaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacgggtgt	gtactccacg	gacggtgaag	tcgctgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cgggggccaag	atactcgttg	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttggtc	300
gcaatcccga	ctcggagcag	ccctacgggt	atggcgcgcg	cgcgctcgtc	aagtacttcg	360
ggctggatta	tcgggagAAC	aacatcatct	acgcccggca	gttgagcaag	gcgttcaatt	420
cacccgggcg	attcgtcggt	tgcgacgtg	agaccgacga	gaaattcggc	attctgagct	480
tggccaagaa	ttcgaacacg	ctcgtgttca	cgggggccgat	ttgtactgcc	ggcctatcga	540
gtgcgaagac	aaccctcgac	ctcaacgccc	ccgaggggga	ccttcagcgc	aagcggcttc	600
tggaggcgac	cctcagattt	tgtgaggggc	tcaaggcgct	cggtgcccc	cacacttatc	660
atgggttccc	c					671

<210> 32
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 32						
tgcagcggtg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaa	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgaggg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcgtgg	actcggctctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcat	cgacttcaac	aaagactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgccgac	atcatggagc	480
tccacggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggctccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 33
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 33						
tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaa	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgaggg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcgtgg	actcggctctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgccgac	atcatggagc	480
tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggctccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 34
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 34

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgtccctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcgtgg	actcgggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcgcgac	atcatggagc	480
ccctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
ccgacc						546

<210> 35
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 35	
tgcagcgctg	ctactcctac
acagcatcat	cttcgagaat
agcaggaggt	ccacgtccac
cgctcttcac	ggacctcgtg
cgcagccggc	gttcgctcgtg
acgagcacgt	gaagagcaac
tggtcggcgt	cgacttcaac
acgcgggtccc	gcacctggtg
tcctcggggc	gaaggggggtg
acgacc	

<210> 36
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 36	
tgcagcgatg	ctactcctac
acagcatcat	cttcgagaat
agcaggaggt	ccacgtccac
cgctcttcac	ggacctcgtg
cgcagccggc	gttcgctcgtg
acgagcacgt	gaagagcaac
tggtcggcgt	cgacttcaac
acgcgggtccc	gcacctggtg
tcctcggggc	gaaggggggtg
acgacc	

<210> 37
 <211> 545
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 37

gcagcgatgc	tactcctact	acgtcccgac	gtccacgcgc	ccactgctgg	acaggtacca	60
cagcatcatc	ttcgagaatc	ccgggtgggg	gttcgcccgc	gccggcgggg	actcgcagga	120
gcaggagggtc	cacgtccaca	ggacgctgaa	cgtgggtggg	agcggggcgc	agcaccagac	180
gctcttcacg	gacctcgtgc	ggctcgtgga	ctcgggtctc	gcgggcgggg	acttcgcgtc	240
gcagccggcg	ttcgtcgtgg	acacgggggtg	cggcgacggc	cgtttgctca	ggcgcatcta	300
cgagcacgtg	aagagcaaca	cggcgcgcg	gaaggcgctc	gccgagcacc	cgctcacgat	360
ggccggcgctc	gacttcaaca	aggactctcg	ggtggcgacg	gagctcaacc	tgagcaggca	420
cgcgggtccc	cacctgggtgc	tggttcgggga	cgtcggcaag	cccgcggaca	tcagggagct	480
cctcggggcg	aagggggtgg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	tcctggacca	540
cgacc						545

<210> 38
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

tgacgcatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgtcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgc	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggagggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcatg	cggctcgtgg	actcgggtcct	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacgggggt	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgccgac	atcatggagc	480

tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	tcctggacc	540
acgacc						546

<210> 39
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

tgacgcatg	ctattcctac	tacgtcccga	cgtcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgc	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggagggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcgtgg	actcgggtcct	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacgggggt	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	gaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgccgac	atcatggagc	480
tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	tcctggacc	540
acgacc						546

<210> 40
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 40

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgtga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgct	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggac	atcatggagc	480
tcctcggggcg	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 41
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 41						
tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgtga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgct	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	tcgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggac	atcatggagc	480
tcctcggggcg	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 42
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 42						
tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgtga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcgccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgct	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300

acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcgac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggcg	atcatggagc	480
tcctcggggcg	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 43
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 43

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgtccctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgctgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcgggtctt	cgccggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcattc	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccggcgac	atcatggagc	480
tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtcctctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 44
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 44	
tgcagcgctg	ctactcctac
caccgatcct	ctttgatgat
acgtggagga	gcatgttgac
ccctctttaa	ggatctgatg
cgcagccaaa	ttttgttgtg
acgagcacat	caaggagcac
tggtcggcgt	ggacctcaac
agggcgctcc	gcacgtgggtc
cgctgaagaa	gaagaagggtg
acgtcc	

<210> 45
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 45	
tgcagcgatg	ctactcctac
accgcatacct	cttcragaat
arcaggaggt	ccacgtccac
cgctcttcac	ggatctcgtg
cgcagccggc	gttcgtcgtg
acgagcacgt	gaagagcaac
tggtcggcgt	cgacttcaac
acgcggtccc	gcacctgggtg
tcctcggggc	gaggggggtg
acgacc	

<210> 46
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 46	
tgcagcgatg	ctactcctac
accgcatacct	cttcgagaat

	agcaggaggt ccacgtccac cggacgctga acgtggtggg cagcggggcg cagcaccaga	180
	cgctcttcac ggatctcgtg cggctgattg actcgggtctt cgcggggcggg gacttcgcgg	240
	cgcagccggc gttcgtcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcacatct	300
	atgagcacgt gaagagcaac acgccgcgcg ggaaggcgct cggcgagcac ccgctcacga	360
	tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggccac ggagctcaac ctgagcaggc	420
	acgcggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggagc	480
	tcctcggggc gaggggggtg gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctagacc	540
	acgacc	546
	<210> 47	
	<211> 546	
5	<212> ADN	
	<213> Alexandrium catenella	
	<400> 47	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cctcctacgc cccactgctg gacaggtacc	60
	accgcacccct cttcgagaat cccggctggg ggttcgcggg cgccggcccg gactcgcagg	120
	agcaggaggt ccacgtccac cggacgctga acgtggtggg cagcggggcg cagcaccaga	180
	cgctcttcac ggatctcgtg cggctgattg actcgggtctt cgcggggcggg gacttcgcgg	240
	cgcagccggc gttcgtcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcacatct	300
	acgagcacgt gaagagcaac acgccgcgcg ggaaggcgct cggcgagcac ccgctcacga	360
	tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggccac ggagctcaac ctgagcaggc	420
	acgcggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggagc	480
	tcctcggggc gaggggggtg gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctgagacc	540
	acgacc	546
10	<210> 48	
	<211> 546	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium catenella	
15	<400> 48	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cctcctacgc cccactgctg gacaggtacc	60
	accgcacccct cttcgagaat cccggctggg ggttcgcggg cgccggcccg gactcgcagg	120
	agcaggaggt ccacgtccac cggacgctga acgtggtggg cagcggggcg cagcaccaga	180
	cgctcttcac ggatctcgtg cggctgattg actcgggtctt cgcggggcggg gacttcgcgg	240
	cgcagccggc gttcgtcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcacatct	300
	acgagcacgt gaagagcaac acgccgcgcg ggaaggcgct cggcgagcac ccgctcacga	360
	tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggccac ggagctcaac ctgagcaggc	420
	acgcggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggagc	480
	tcctcggggc gaggggggtg gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctagacc	540
	acgacc	546
	<210> 49	
20	<211> 546	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium tamarense	
	<400> 49	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cgtcctacgc cccgctgctg gacaggtacc	60
	acagcatcct cttcgataat cccggctggg ggttcgcggg tgccggcccg gactcgcagg	120
	agcaggagat ccacgtccac cggacgctga acgtggtggg cagcggggcg cagcaccaga	180
	cgctcttcac ggacctcgtg cggctcattg actcgggtctt cgcggggcggg gacttcgcgt	240
	cgcagccggc gtcctcgtg gacacggggg gtggcgactg ccgcttgctc aggcgcacatct	300
	acgagcacgt gaagagcaac acgccgcgcg ggaaggcgct cggcgagcac ccgctcacga	360
	tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggccac ggagctcaac ctgagcaggc	420
	acgcggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggaga	480
	tcctcggggc gaaggggggtg gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctgagacc	540
	acgacc	546
25		

<210> 50
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

5

<400> 50
 tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cgtcctacgc cccgctgctg gacaggtacc 60
 acagcatcct cttcgataat cccggctggg gggtcgccgg tgccggccgg gactcgcagg 120
 agcaggagat ccacgtccac cggacgtga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga 180
 cgctcttcac agacctcgtg cggctcattg actcgggtctt cgcggggcgg gacttcgcgt 240
 cgcagccggc gttcgtcgtg gacacggggg gtggcgactg ccgcttgctc aggcgcattc 300
 acgagcacgt gaagagcaac acgccgcggc ggaaggcgct cgcgcagcac ccgctcacga 360
 tggtcggcat agacttcaac aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420
 acgcgggtccc gcacctggtt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggaga 480
 tcctcggggc gaaggggggt gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctagacc 540
 acgacc 546

<210> 51
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

10

<400> 51
 tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccac tgcgtacgc acctctgatg gccagatct 60
 cgcgcatcct gtttgatgat gcgactggg gggtcgccga cgcggggaca gactccttcg 120
 acgtggagga gcatgttgac agaactctga atgttggttg cagtgggtgc caacaccgga 180
 ccctctttaa ggatctgatg cgacacatca gtgccgtgtt caaggcgag gcatttgcct 240
 tgcagccaaa tttcgttggt gacactggct gtggcgacgg gggcctgctc atgcatact 300
 atgaacatat caaacagcac acgccccggg ggaaaatgct cgatgagttc cctctgacaa 360
 tggtcggcgt tgacctcaat gaggagccgc gagtgcacaac agccgtgaat ctgagcaagc 420
 agggcgctccc gcacgtggtc atctccggcg acgtgggtag gcccgggag ataattgccg 480
 cgctgaagaa gaagaagggt gacccgtcga ggacgcttca cgtccgctcc ttcctggacc 540
 acgacc 546

15

<210> 52
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

20

<400> 52
 tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cgtcctacgc cccactgctg gacaggtacc 60
 acagcatcct cttcgagaat cccggctggg gggtcgctgg tgccggccgg gactcgcagg 120
 agcaggaggt ccacgtccac cggacgtga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga 180
 cgctcttcac ggacctcgtg cggctcattg actcgggtctt cgcggggcgg gacttcgcgt 240
 cgcagccggc gttcatcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcattc 300
 acgagcacgt gaagagcaac acgccgcggc ggaaggcgct cgcgcagcac ccgctcacga 360
 tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420
 acgcgggtccc gcacctggtg ctcttcgggg acgtcggcga gcccgccgac atcatggaga 480
 ccctcggggc gaatgggggt gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctagacc 540
 acgacc 546

25

<210> 53
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

30

<400> 53

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccac	tgctcgtagc	accactgatg	gcccagatct	60
caccgatcct	gtttgatgat	gcggtctggg	ggttcactga	cgcggggaca	gactcctttg	120
acgtggagga	gcatgttgac	agaattttga	atgttgttgg	cagtgggtgcg	caacaccgga	180
ccctatttaa	ggatctgatg	cgacacatca	gtgcegtgtt	caaggccgag	gcatttgccct	240
tgcagccaaa	ttttgttgtg	gacactggct	gtggcgacgg	gagcctgctc	atacatatct	300
atgaacacat	caagcagcac	acgccccggg	ggaaagtgtc	cgatgagttc	cctctaacga	360
tggtcggcgt	tgacctcaat	gaggagccgc	gagtgacaac	agccgtgaat	ctgagcaagc	420
agggcgctcc	gcacgtggtc	atctccggcg	acgtgggtaa	gcccgcggag	ataatggccg	480
cgctgaagaa	gaagaagggtg	gacccgctga	ggacgcttca	tgccgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 54

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 54

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgctgg	tgccggcccg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	cggacgtgta	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcatttg	actcgggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcat	240
cgcagccggc	gttcacgtg	gacacggggt	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcacat	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcgcgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	ggatggcggc	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctcttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggac	atcatggaga	480
ccctcggggc	gaatgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 55

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 55

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgctgg	tgccggcccg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	cggacgtgta	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcatttg	actcgggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcat	240
cgcagccggc	gttcacgtg	gacacggggt	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcacat	300
acgagcacgt	gaatagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcgcgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctcttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggac	atcatggaga	480
ccctcggggc	gaatgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 56

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 56

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgctgg	tgccggcccg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	cggacgtgta	acgtgggtgg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcatttg	actcgggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcat	240
cgcagccggc	gttcacgtg	gacacggggt	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcacat	300
acgagcacgt	gaagagcaac	tcgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcgcgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcggc	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctcttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcggac	atcatggaga	480
ccctcggggc	gaatgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

	<210> 57	
	<211> 549	
	<212> ADN	
5	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 57	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccac tgcgtacgc accgctgatg gccagatct 60	
	cgccgatcct gtttgatgat gcgggctggg gggttactga cgcggggaca gactccttcg 120	
	acgacgtgga ggagcatgtt gacagaatct tgaatgttgt tggcagtggg gcgcaacacc 180	
	ggaccctctt taaggatatg atgcgacaca tcagtaccgt gttcaagggc gaggcatttg 240	
	ccttgacgcc aagtttcgct gtggacactg gctgtggcga cgggagcctg ctcatacata 300	
	tctatgaaca tatcaaacag cacacacccc gggggaaagt gcttgatcag tccctctga 360	
	cgatggtcgg cgttgacctc aatgaggatc cgcgagtgc aacagctgtg aatctgagca 420	
	agcagggcgt cccgcacgtg gtcactctctg gcgatgtggg taagcctgcg gagatacttg 480	
	ccgcgctgaa gaagaagaag gtggacgcgt caggacgcgt tcatgtccgc tcttctctgg 540	
	accacgacc 549	
10	<210> 58	
	<211> 487	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
15	<400> 58	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccac tgcgtacgc accgctgatg gccagatct 60	
	cgccgatcct gtttgatgat gcgggctggg gggttactga cgcggggaca gactccttcg 120	
	acgacgtgga ggagcatgtt gacagaatct tgaatgttgt tggcagtggg gcgcaacacc 180	
	ggaccctctt taaggatatg atgcgacaca tcagtaccgt gttcaagggc gaggcatttg 240	
	ccttgacgcc aagtttcgct gtggacactg gctgtggcga cgggagcctg ctcatacata 300	
	tctatgaaca tatcaaacag cacacacccc gggggaaagt gcttgatcag tccctctga 360	
	cgatggtcgg cgttgacctc aatgaggatc cgcgagtgc aacagctgtg aatctgagca 420	
	agcagggcgt cccgcacgtg gtcactctctg gcgatgtggg taagcctgcg gagatacttg 480	
	ccgcgct 487	
	<210> 59	
20	<211> 546	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 59	
	tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccca cgtcctacgc cccactgctg gacaggtacc 60	
	acagcatcct ctctcgagaat cccggctggg gggtcgccgg tgcagccgg gactcgcagg 120	
	agcaggagat ccacgtccac cggacgtga acgtggtggg cagcggggcg cagcaccaga 180	
	cgtctctcac ggacctcgtg cggctcattg actcgtctt cgcgggcccgg gacttcgcgt 240	
	cgcagccggc gttcgtcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgcctc aggcgcactc 300	
	acgagcacgt gaagagcaac acgccgcgcg ggaaggcgt cgcagagcac ccgctcacga 360	
	tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc gggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420	
	acgcggtccc gcacctggtg ctgttcgggg acgtcggcaa gccggccgac atcatggagc 480	
	tcctcggacg gaggggggtg gaccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctagacc 540	
	acgacc 546	
25	<210> 60	
	<211> 545	
	<212> ADN	
30	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 60	

gcagcgctgc tactcctact acgtcccgac gtccctacgcc ccaatgctgg acaggtacca 60
cagtatcctc ttcgagaatc ccgggtgggg gtccgcccgg gccggccggg actcgcagga 120
gcaggagatc cacgtccacc ggacgctgaa cgtgggtggg agcggggcgc agcaccagac 180
gctcttcacg gacctcgtgc ggctcattga ctcggtcttc gcgggcccgg acttcgcgtc 240
gcagccggcg ttctgctgtg acacgggggtg cggcgacggc cgcttgctca ggcgcaccta 300
cgagcacgtg aagagcaaca cgcgcgcggg gaaggcgctc gccgagcacc cgctcacgat 360
ggtcggcgctc gacttcaaca aggactctcg ggtggcgacg gagctcaacc tgagcaggca 420
cgcgggtccc cacctgggtg tgttcgggga cgtcggcaag ccggccgaca tcatggagct 480
cctcgggacg aggggggtgg acccgagcag gtccctccac gtgcgctcct tcctagacca 540
cgacc 545

<210> 61
<211> 546
5 <212> ADN
<213> Alexandrium fundyense

<400> 61
tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cgtccctacgc cccactgctg gacaggtacc 60
acagcatcct cttcgagaat cccgggtggg gggtcgcggg tgccggccgg gactcgcagg 120
agcaggagat ccacgtccac cggacgctga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga 180
cgctcttcac ggacctcgtg cggctcattg actcgggtctt cgcgggcccgg gacttcgcgt 240
cgcagccggc gttcgtcgtg gacacgggggt gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcacatc 300
acgagcacgt gaagagcaac acgcccgcgc ggaaggcgct cgcgagcac ccgctcacga 360
tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420

acgcgggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggaga 480
tcctcggggc gaacgggggt gacccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctggacc 540
acgacc 546

<210> 62
<211> 546
10 <212> ADN
15 <213> Alexandrium fundyense

<400> 62
tgcagcgatg ctactcctac tacgtcccga cgtccctacgc cccactgctg gacaggtacc 60
acagcatcct cttcgagaat cccgggtggg gggtcgcggg tgccggccgg gactcgcagg 120
agcaagagat ccacgtccac cggacgctga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga 180
cgctcttcac ggacctcgtg cggctcattg actcgggtctt cgcgggcccgg gacttcgcgt 240
cgcagccggc gttcgtcgtg gacacgggggt gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcacatc 300
acgagcacgt gaagagcaac acgcccgcgc ggaaggcgct cgcgagtag ccgctcacga 360
tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420
acgcgggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggaga 480
tcctcggggc gaacgggggt gatccgagca ggtccctcca cgtgcgctcc ttcctggacc 540
acgacc 546

<210> 63
<211> 546
20 <212> ADN
<213> Alexandrium fundyense

25 <400> 63

tgcagcgctg	ctactcctac	tacgtcccga	cgtcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgcggg	tgccggcccg	gactcgcagg	120
agcaggagat	ccacgtccac	cggacgctga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcattg	actcggctct	cgcggggcgg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgt	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcggagcac	ccgatcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gccggccgac	atcatggaga	480
tcctcggggc	gaacgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 64
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgtcctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	ctcggctggg	ggttcgcggg	tgccggctcg	gactcgcagg	120
agcaggagat	ccacgtccac	cggacgctga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcattg	actcggctct	cgcggggcgg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgt	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcggagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgccgac	atcatggaga	480
tcctcggggc	gaacgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 65
 <211> 545
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

gcagcgatgc	tactcctact	acgtcccgcg	gtcctacgcc	ccactgctgg	acaggtacca	60
cagcatcctc	ttcgagaatc	ccggctgggg	ggttcgcggg	gccggccggg	actcgcagga	120
gcaggagatc	cacgtccacc	ggacgctgaa	cgtggtgggc	agcggggcgc	agcaccagac	180
gctcttcacg	gacctcgtgc	ggctcattga	ctcggctctc	gcggggcggg	acttcgcgtc	240
gcagccggcg	ttcgtcgtgg	acacgggggtg	cggcgacggc	cgcttgctca	ggcacatcta	300
cgagcacgtg	aagagcaaca	cgcgcgcggg	gaaggcgctc	gccgagcacc	cactcacgat	360
ggtcggcgct	gacttcaaca	aggactctcg	ggtaggcgac	gagctcaacc	tgagcaggca	420
cgcggtcccc	cacctgggtgc	tggttcgggga	cgtcggcaag	cccggcgaca	tcatggagct	480
cctcggacgg	aggggggggtg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	tcctggacca	540
cgacc						545

<210> 66
 <211> 546
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 66

tgcagcgatg	ctacttctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgccgg	tgccggccgg	gactcgagg	120
agcaggagat	ccacgtccac	cggacgtga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcattg	actcggctct	cgcggggcgg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcggagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggaccctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctgttcggag	acgtcggcaa	gcccggcgac	atcatggaga	480
tcctcggacg	gagcgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 67

<211> 545

5

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 67

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgccgg	tgccggccgg	gactcgagg	120
agcaggagat	ccacgtccac	cggacgtga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcattg	actcggctct	cgcggggcgg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cgcggagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgat	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccggccgac	atcatggagc	480
tcctcggacg	gaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttccagacca	540
cgacc						545

10

<210> 68

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

15

<400> 68

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcct	cttcgagaat	cccggctggg	ggttcgccgg	tgccggccgg	gactcgagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	cggacgtga	acgtggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggctcattg	actcggctct	cgcggggcgg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgctcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcgcg	ggaaggcgct	cacggagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcggtccc	gcacctgggtg	ctcttcgggg	acgtcggcaa	gcccggccgac	atcatggaga	480
ccctcggggc	gaatgggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

20

<210> 69

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 69

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacagggacc	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

25

acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgcgggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcgcac	atcatggagc	480
tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctagacc	540
acgacc						546

<210> 70

<211> 546

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 70

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtgggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	tcgccgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ccgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcgcac	atcacggagc	480
tcctcggggc	gaaggggggtg	gacccgagca	ggtccctcca	cgtgcgctcc	ttcctggacc	540
acgacc						546

<210> 71

<211> 545

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 71

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	ggttcgccgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	gcgtgggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	gagctcaacc	tgagcaggca	420
cgcgggtccc	cacctggtgc	tggttcgggga	cgtcgggcaag	cccgcgcaca	tcattggagct	480
cctcggggcg	aaggggggtg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	tcctggacca	540
cgacc						545

<210> 72

<211> 545

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 72

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccga	cgctctacgc	cccactgctg	gacaggtacc	60
acagcatcat	cttcgagaat	cccgggtggg	agttcgccgg	cgccggcggg	gactcgcagg	120
agcaggaggt	ccacgtccac	aggacgctga	acgtgggtggg	cagcggggcg	cagcaccaga	180
cgctcttcac	ggacctcgtg	cggtcgtgg	actcggtctt	cgcgggcggg	gacttcgcgt	240
cgcagccggc	gttcgtcgtg	gacacggggg	gcggcgacgg	ccgcttgctc	aggcgcatct	300
acgagcacgt	gaagagcaac	acgccgcg	ggaaggcgct	cgccgagcac	ccgctcacga	360
tggtcggcgt	cgacttcaac	aaggactctc	gggtggcgac	ggagctcaac	ctgagcaggc	420
acgcgggtccc	gcacctggtg	ctgttcgggg	acgtcggcaa	gcccgcgcac	atcatggagc	480
tcctcggggc	gaggggggtg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	tcctggacca	540
cgacc						545

<210> 73

<211> 546
<212> ADN
<213> Alexandrium fundyense

5 <400> 73
tgcagcgctg ctactcctac tacgtcccga cgtcctacgc cccactgctg gacaggtacc 60
acagcatcct ctctcgagaat cccggctggg gggttcgccg tgcggggcgg gactcgcagg 120
agcaggagat ccacgtccac cggacgctga acgtgggtgg cagcggggcg cagcaccaga 180
cgctcttcac ggacctcgtg cggctcattg actcgggtct cgcggggcgg gacttcgcgt 240
cgcagccggt gtctcgtcgtg gacacggggg gcggcgacgg ccgcttgctc aggcgcattc 300
acgagcacgt gaagagcaat acgccgcgcg ggaaggcgct cgcctagcac ccgctcatga 360
tggtcggcgt cgacttcaac aaggactctc ggggtggcgac ggagctcaac ctgagcaggc 420
acgcgggtccc gcacctgggt ctgttcgggg acgtcggcaa gcccgccgac atcatggaga 480
tccttggggc gaaggggggtg gacccgagca ggtccctcca ggtgcgctcc ttcttgagacc 540
acgacc 546

<210> 74
<400> 74

10 000

<210> 75
<211> 670
<212> ADN
15 <213> Alexandrium minutum

<400> 75
cgagcctggc gggcgagagc gggttcctcc tcctggacat caacgcccac gactgcgtgc 60
agacggccgc caggctctgc aagaaggag tcaccgtcgt gcgcctgaag cacaacgaca 120
cggagcagct cgagcgctg ctctcgtcga tcccggagg ggcgacatc acctacgtgt 180
gcgacggcgt ctactccacg gacggagagc tcgccgactt gcccgccata tgtgcttggt 240
tgaggcccg cggggccaag atactcgtgg acgactcgca cggttgcggc gttcttggcc 300
gcaaccccga ctcggagcaa cccttcggat atggcgccgg cggcgtcgtc aagtacttcg 360
ggctggacta cgcgagagaac aacatcatct acgcccggca gctgagcaag gcgttcaatt 420
cgcccggcag attcgtgggc tgcgcacgcg agaccgacga gaagtccggc atcctgaact 480
tgggccaagaa ctcgaacatg ctctgtttca caggggccgat ctgtactgcc ggctgtcga 540
gtgcgaagac gacctcgac ctcaactttg ccgaggggga ccgtcagcgc aagcggcttc 600
ttcaggcgac cctcgaattt tgcgaggggc tcaaggcgct cgggtgcccc cacacctacc 660
acgggttccc 670

<210> 76
<211> 670
<212> ADN
20 <213> Alexandrium minutum

<400> 76
cgagcctggc gggcgagagc ttgttcctcc tcctggacat aaacgcccac gactgcgtgc 60
agacggcagc caggctctgc aagaaggag tcaccgtcgt gcgcctgaag cacaacgaca 120
cggagcagct cgagcgctg ctctcgtcga tcccggagg ggcgacatc acctacgtgt 180
gcgacggcgt ctactccacg gacggagagc tcgccgactt gcccgccata tgtgcttggt 240
tgaggcccg cggggccaag atactcgtgg acgactcgca cggttgcggc gttcttggcc 300
gcaaccccga ctcggagcaa cccttcggat atggcgccgg cggcgtcgtc aagtacttcg 360
ggctggacta cgcgagagaac aacatcatct acgcccggca gctgagcaag gcgttcaatt 420
cgcccggcgg attcgtgggc tgcgcacgcg agaccgacga gaagtccggc attctgaact 480
tgggccaagaa ctcgaacacg ctctgtttca caggggccgat ctgtactgcc ggctgtcga 540
gtgcgaagac gacctcgac ctcaactttg ccgaggggga ccgtcagcgc aagcggcttc 600
ttgagggcgac cctggaattt tgcgaggggc tcaaggcgct cgggtgcccc cacacctacc 660
acgggttccc 670

<210> 77
<211> 670
30 <212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 77

cgagcctggc	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggcagc	caggctctgc	aagaaggag	tcaccgtcgt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagcgcgtg	ctctcgtcga	tcccggaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180

gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccggccata	tgtgcttggt	240
tgaggcccg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	cggttgccgc	gttcttgccc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgccgg	cggcgtcgtc	aagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagaaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccgg	attcgtgggc	tgccgacgcg	agaccgacga	gaagttcgcc	attctgaact	480
tgccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccctcgac	ctcractttg	ccgaggggga	ccgtcagcgc	aagcggcttc	600
ttgaggcgac	cctggaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggttgcccc	crcacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 78

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 78

cgagcctggc	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggcagc	caggctctgc	aagaaggag	tcaccgtcgt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagygcgtg	ctctcgtcga	tcccggaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccggccata	tgtgcttggt	240
tgaggcccg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	cggttgccgc	gttcttgccc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgccgg	cggcgtcgtc	aagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagaaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccgg	attcgtgggc	tgccgacgcg	agaccgacga	gaagttcgcc	attctgaact	480
tgccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccctcgac	ctcractttg	ccgaggggga	ccgtcagcgc	aagcggcttc	600
ttgaggcgac	cctggaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggttgcccc	crcacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 79

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 79

cgagcctggc	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacgggagc	caggctctgc	aagaaggag	tcaccgtcgt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagygcgtg	ctctcgtcga	tcccggaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccggccata	tgtgcttggt	240
tgaggcccg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	cggttgccgc	gttcttgccc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgccgg	cggcgtcgtc	aagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagaaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccgg	attcgtgggc	tgccgacgcg	agaccgacga	gaagttcgcc	attctgaact	480
tgccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccctcgac	ctcaactttg	ccgaggggga	ccgtcagcgc	aagcggcttc	600
ttgaggcgac	cctggaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggttgcccc	cacacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 80

<211> 627

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 80
 cgccacgac tgcgtgcaga cggcagccag gctctgcaag aaggagagtc cgcgtcgtgcg 60
 cctgaagcac aacgacacgg agcagctcga gcgcgtgctc tcgtcgatcc cggaggggac 120
 cgacatcacc tacgtgtgcg acggcgctcta ctccacggac ggagagctcg ccgacttgcc 180
 cgccatatgt gcttgtttga ggccgcgcgg ggccaagata ctctgggacg actcgacagg 240
 ttgcgcgctt cttggccgca accccgactc ggagcaaccc ttccgatatg gcggcggcgg 300
 cgtcgtcaag tacttcgggc tggactacgc ggagaacaac atcatctacg ccgggcagct 360
 gagcaaggcg ttcaattcgc ccggcggatt cgtgggctgc gcacgcgaga ccgacgagaa 420
 gttcggcatt ctgaacttgg ccaagaactc gaacacgctc gtgttcacag ggccgatctg 480
 tactgccggc ctgtcgggtg cgaagacgac cctcgacctc aactttgccg agggggagccg 540
 tcagcgcaag cggcttcttg aggcgaccct ggaattttgc gaggggctca aggcgctcgg 600
 gtgccccac acctaccacg ggttccc 627

5 <210> 81
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

10 <400> 81
 cgagcctggc gggcgagagc gggttcctcc tcctggacat caacgcccac gactgcgtgc 60
 agacggccgc caggctctgc aagaaggagag tcaccgtcgt gcgcctgaag cacaacgaca 120
 cggagcagct cgagcgcgtg ctctcgtcga tcccggagg ggccgacatc acctacgtgt 180
 gcgacggcgt ctactccacg gacggagagc tcgcccactt gcccggcata tgtgcttgtt 240
 tgaggccgcg cggggccaag atactcgtgg acgactcgca cggttgcggc gttcttgcc 300
 gcaaccccga ctccggagcaa cccttcggat atggcgccgg cggcgtcgtc aagtacttcg 360
 ggctggacta cgcggagaac aacatcatct acgcccggca gctgagcaag gcgttcaatt 420
 cgcccgccgc attcgtgggc tgcgcacgcg agaccgacga gaagtccggc atcctgaact 480
 tggccaagaa ctgaaacacg ctctgtttca caggccgat ctgtactgcc ggcctgtcga 540
 gtgcgaagac gacctcgcac ctcaactttg ccgaggggga cgtcagcgc aagcggcttc 600
 ttcaggcgac cctcgaattt tgcgaggggc tcaaggcgct cgggtgcccc cacacctacc 660
 acgggttccc 670

15 <210> 82
 <211> 669
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 82
 cgagcctggc gggcgagagc gggttcctcc tcctggacat caacgcccac gactgcgtgc 60
 agacggccgc caggctctgc aagaaggagag tcaccgtcgt gcgcctgaag cacaacgaca 120
 cggagcagct cgagcgcgtg ctctcgtcga tcccggagg ggccgacatc acctacgtgt 180
 gcgacggcgt ctactccacg gacggagagc tcgcccactt gcccggcata tgtgcttgtt 240
 tgaggccgcg cggggccaag atactcgtgg acgactcgca cggttgcggc gttcttgcc 300
 gcaaccccga ctccggagcaa cccttcggat atggcgccgg cggcgtcgtc aagtacttcg 360
 gctggactac gcggagaaca acatcatcta gcgcggcgag ctgagcaagg cgttcaattc 420
 gcccggcgga ttctgtgggt gcgcacgcga gaccgacgag aggttcggca ttctgaactt 480
 ggccaagaac tcgaacacgc tcgtgttcac agggccgatc tgtactgccg gcctgtcga 540
 tgcggaagac accctcgacc tcaactttgc cgagggggac cgtcagcgc aagcggcttc 600
 tgaggcgacc ctggaatttt gcgaggggct caaggcgctc ggggtgcccc acacctacca 660
 cgggttccc 669

20 <210> 83
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

25 <400> 83

agcctttgtg ggcgagagca ggttcccccg cctgtgcata aacgcctacg attgcgcgca 60
gacggccgcc aggcctctgca agaagggcgc caccgtgggtg cgcttgaagc acaacgacac 120
ggagcagctc gagcacatgc tctcgtcgat cctgcagggg ccgacatcac ctacgtgtgc 180
gacggcgtgt actccacgga cggagagctc gccgacttgc ccgccatatg tgttttgtgt 240
gaggccgctg ggggccaata tactcgtaga cgactcgcat ggctgcggcg ttcttgcccg 300
cgaccccgac tcggagcaac ccctcgggta tgggtggcggc ggcgcgcgtcg agtatttcgg 360
gctgggctac gcggagaaca acatcagcta cgccgggcag ctgagcaagg cgttcaattc 420
gcccggcgga atcgtcgggt gtgcgcgcga gaccgacgag aatttcggcg ctctgaactt 480
ggccaagaac tcgagcacac tcgcgctcac agggccgatc tgtactgtcg gcctgtcgag 540
tgcaagacg accttcgacc tcaacgcctg cgagggggac ttttcagcgc aagcggctgc 600
tggcgactac cctcgaattc tgcgaggggc tcaaggcgct cgggtgcccc cacacctacc 660
acgggttccc 670

<210> 84
<211> 671
<212> ADN
<213> Alexandrium minutum

<400> 84

cgagcctggc gggcgagagc ttgttctccc tcctggacat aaacgcccac gactgcgtgc 60
agacggcagc caggctctgc aagaaggagc tcaccgtcgt gcgcctgaag cacaacgaca 120
cggagcagct cgagcacatg ctctcgtcga tcctgcaggg gccgacatca cctacgtgtg 180
cgacggcgtg tactccacgg acggagagct cgccgacttg ccgcgccatat gtgtttgtgt 240
tgaggccgcg tggggccaat atactcgtag acgactcgca tggctgcggc gttcttgggc 300
gcgaccccgga ctcgagagaa cccctcgggt atgggtggcg cgccgcgcgtc gagtatttcg 360
ggctgggcta cgcggagaac aacatcagct acgccgggca gctgagcaag gcgttcaatt 420
cgcccgcgcg aatcgtcgggt tgtgcgcgcg agaccgacga gaatttcggc gctctgaact 480
tggccaagaa ctcgagcaca ctgcgctca caggccgatc ctgtactgtc ggcctgtcga 540
gtgcgaagac gaccttcgac ctcaacgcct tcgaggggga cttttcagcg caagcggctg 600
ctggcgacta ccctcgaatt ctgcgagggg ctcaaggcgc tcgggtgccc ccacacctac 660
cacgggtccc c 671

<210> 85
<211> 672
<212> ADN
<213> Alexandrium minutum

<400> 85

cgagcctttg tgggcgagag caggttcccc cgctgtgca taaacgccta cgattgcgcg 60
cagacggccg ccaggctctg caagaagggc gccaccgtgg tcgccttgaa gcacaacgac 120
acggagcagc tcgagcacat gctctcgtcg atcctgcagg ggccgacatc acctacgtgt 180
gcgacggcgt gtactccacg gacggagagc tcgcccactt gcccgccata tgtgttttgt 240
gtgaggcccg gtggggccaa tatactcgta gacgactcgc atggctgcgg cgttcttgcc 300
cgcgactccg actcggagca accctcgggt tatgggtggc gcggcgccgt cgagtatttc 360
gggctgggct acgcggagaa caacatcagc tacgccgggc agctgagcaa ggcgttcaat 420
tcgccggcg gaatcgtcgg ttgtgcgcgc gagaccgacg agaatttcgg cgctctgaac 480
ttggccaaga actcagcac actcgcgctc acaggccga tctgtactgt cggcctgtcg 540
agtgcgaaga cgaccttcga cctcaacgcc gtcgaggggg acttttcagc gcaagcggct 600
gctggcgact accctcgaat tctgcgaggg gctcaaggcg ctcgggtgccc ccacacctac 660
ccacgggttc cc 672

<210> 86
<211> 672
<212> ADN
<213> Alexandrium minutum

<400> 86

cgagcctttg	tgggagagag	cagggtcccc	cgctgtgca	taaagccta	cgattgcgcg	60
cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	tgcgcttgaa	gcacaacgac	120
acggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcctgcagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgttttgt	240
gtgaggccgc	gtggggccaa	tatactcgta	gacgactcgc	atggctgcgg	cgttcttgcc	300
cgcgaccccg	actcggagca	acccctcggg	tatggtggcg	gcggcgccgt	cgagtatttc	360
gggctgggct	acgcggagaa	caacatcagc	tacgccgggc	agctgagcaa	ggcgttcaat	420
tcgcccggcg	gaatcgtcgg	ttgtgcgcgc	gagaccgacg	agaatttcgg	cgctctgaac	480
ttggccaaga	actcgagcac	actcgcgctc	acagggccga	tctgtactgt	cggcctgtcg	540
agtgcgaaga	cgaccttcga	cctcaacgcc	gtcgaggggg	acttttcagc	gcaagcggct	600
gctggcgact	accctcgaat	tctgcgaggg	gctcaaggcg	ctcgggtgcc	cccacaccta	660
ccacgggttc	cc					672

<210> 87
 <211> 672
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

cgagcctttg	tgggagagag	cagggtcccc	cgctgtgca	taaagccta	cgattgcgcg	60
cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	tgcgcttgaa	gcacaacgac	120
acggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcctgcagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgttttgt	240
gtgaggccgc	gtggggccaa	tatactcgta	gacgactcgc	atggctgcgg	cgttcttgcc	300
cgcgactcgc	actcggagca	acccctcggg	tatggtggcg	gcggcgccgt	cgagtatttc	360
gggctgggct	acgcggagaa	caacatcagc	tacgccgggc	agctgagcaa	ggcgttcaat	420

tcgcccggcg	gaatcgtcgg	ttgtgcgcgc	gagaccgacg	agaatttcgg	cgctctgaac	480
ttggccaaga	actcgagcac	actcgcgctc	acagggccga	tctgtactgt	cggcctgtcg	540
agtgcgaaga	cgaccttcga	cctcaacgcc	gtcgaggggg	acttttcagc	gcaagcggct	600
gctggcgact	accctcgaat	tctgcgaggg	gctcaaggcg	ctcgggtgcc	cccacaccta	660
ccacgggttc	cc					672

<210> 88
 <211> 671
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

cgagcctggc	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggcagc	caggctctgc	aagaagggag	tcaccgtcgt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagctgct	cgagcgcggt	ctctcgtcga	tcgccgaggg	ggccgacatc	acctacgcgt	180
gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaa	atactcgtgg	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttgccc	300
gcgaccccg	ctcggagcaa	cccctcgggt	atggtggcgg	cggcgcgcgt	gagtatttcg	360
ggctgggcta	cgcgagagaa	aacatcagct	acgcggggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccg	aatcgtcgg	ttgtgcgcgc	agaccgacga	gaatttcggc	gctctgaact	480
tgccaagaa	ctcgagcaca	ctcgcgctca	cagggccgat	ctgtactgtc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccttcgac	ctcaacgccg	tcgaggggga	cttttcagcg	caagcggctg	600
ttggcgacta	ccctcgaatt	ctgcgagggg	ctcaaggcgc	taggggtgcc	ccacacctac	660
cacgggttcc	c					671

<210> 89
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 89

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgggagagag	cttggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggcag	ccaggctctg	caagaaggga	gtcaccgtcg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcgcgt	gctctcgtcg	atcccggagg	180
gggcccagacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tctactccac	ggacggagag	ctcgcgcgact	240
tgcccgcctat	atgtgctcgt	ttggggccgc	gcggggccga	gatactcgtg	gacgactcgc	300
acggttgccg	cggttcttggc	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcgga	tatggcggcg	360
gcggcgctcgt	ctagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtggg	ctgcgcacgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	gctcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cggcctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacttt	gccgaggggg	600
accgtcagcg	caagcggcct	cttgaggcga	ccctggaatt	ttgcgagggg	ctcaaggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtcaa	catctactgg	accc	714

<210> 90
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgggagagag	cttggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggcag	ccaggctctg	caagaaggga	gtcaccgtcg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcgcgt	gctctcgtcg	atcccggagg	180
gggcccagacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tctactccac	ggacggagag	ctcgcgcgact	240
tgcccgcctat	atgtgctcgt	ttggggccgc	gcggggccga	gatactcgtg	gacgactcgc	300
acggttgccg	cggttcttggc	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcgga	tatggcggcg	360
gcggcgctcgt	ctagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtggg	ctgcgcacgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	gctcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cggcctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacttt	gccgaggggg	600
accgtcagcg	caagcggcct	cttgaggcga	ccctggaatt	ttgcgagggg	ctcaaggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtcaa	catctactgg	accc	714

<210> 91
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgggagagag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggcag	ccaggctctg	caagaaggga	gtcaccgtcg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcgcgt	gctctcgtcg	atcccggagg	180
gggcccagacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tctactccac	ggacggagag	ctcgcgcgact	240
tgcccgcctat	atgtgcttgt	ttgaggccgc	gcggggccaa	gatactcgtg	gacgactcgc	300
acggttgccg	cggttcttggc	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcgga	tatggcggcg	360
gcggcgctcgt	caagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtggg	ctgcgcacgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	cattctgaac	ctggccaaga	actcgaacac	gctcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cggcctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacttt	gccgaggggg	600
accgtcagcg	caagcggcct	cttgaggcga	ccctggaatt	ttgcgagggg	ctcaaggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtcaa	catctactgg	accc	714

<210> 92
 <211> 713
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 92

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgggcgagag	cttggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggcag	ccaggctctg	caagaaggag	tcaccgtcgt	120
gcgcctgaag	cacaacgaca	cggagcagct	cgagcgcgtg	ctctcgtcga	tcccggaggg	180
ggccgacatc	acctacgtgt	gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgcccactt	240
gcccgcata	tgtgcttggt	tggggccgcg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	300
cggttgccgc	gttcttggtc	gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgccgc	360
cggcgtcgtc	aagtacttcg	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaatt	cgcccggcgg	attcgtgggc	tgcgcacgcg	agaccgacga	480
gaagttcggc	attctgaact	tggccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	540
ctgtactgcc	ggcctgtcga	gtgcgaagac	gacctcgcac	ctcaactttg	ccgaggggga	600
ccgtcagcgc	aagcggcttc	ttgagggcgc	cctggaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	660
cggttgcccc	cacacctacc	acgggttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc	713

<210> 93
 <211> 713
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgagcgagac	cggttcctc	ctcctggaca	60
tcaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggcca	ccaggctctg	caagaaggga	gtcaccgtcg	120
tgccgctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcgcgt	gctctcgtcg	atcccggagg	180
ggccgacatc	gcctacgtgt	gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgcccactt	240
gcccgcata	tgtgcttggt	tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	300
cggttgccgc	gttcttggtc	gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgccgc	360
cggcgtcgtc	aagtacttcg	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaatt	cgcccggcgg	attcgtgggc	tgcgcacgcg	agaccgacga	480
gaagttcggc	attctgaact	tggccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	ccgggcccgat	540
ctgtactgcc	ggcctgtcga	gtgcgaagac	gacctcgcac	ctcaactttg	ccgaggggga	600
ccgtcagcgc	aagcggcttc	ttcaggcgac	cctcgaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	660
cggttgcccc	cacacctacc	acgggttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc	713

<210> 94
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agatggccgc	caggctctgc	aagaaggggc	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggaacagcc	cgagcacatg	ctctcgtcaa	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacgaagagc	tcgcccactt	gcccgcata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggtgcgcgc	gttcttggtc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccctcgggt	atgggtggcg	cggcgtcacc	gagtacttcg	360
ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccggcgg	attcgtcagc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaatttcggc	gttctgcact	480
tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgtcga	cagggccgat	ctgtactgcc	agcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccttcgac	ctcaacgccc	ccgaggggga	ccttcagcgc	aagcggcttc	600
tggcggttac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggttgcccc	cacacctacc	660
acgagttccc						670

<210> 95
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium tamarense

<400> 95

cgagcctcgt	gggcgagagc	gggttcctcg	tcctcgacat	aaacacccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaaggggc	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaa	atactcgtag	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttgccc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccctcgggt	gtggtggtgg	cgcgctcgtc	gagtacttcg	360
ggctggatta	cgcgagaa	aacgacatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcattcaatt	420
cgcccgccg	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agacagacga	gaagtgcggc	attctgagct	480
tgccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcaatgac	gaccctcgac	ctcaacgccg	ccgaggggga	ccttcagcgc	aagcggttc	600
tgccggcgac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggtgcgcc	cacacctacc	660
acgggtctccc						670

<210> 96

<211> 670

5 <212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 96

cgagcctcgt	gggcgagagc	gggttcctcg	tcctcgacat	aaacacccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaaggggc	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaa	atactcgtag	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttgccc	300
gcaacccctga	ctcggagcaa	cccctcgggt	gtggtggtgg	cgcgctcgtc	gagtacttcg	360
ggctggatta	cgcgagaa	aacgacatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccg	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agacagacga	gaagtgcggc	attctgagct	480
tgccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcaatgac	gaccctcgac	ctcaacgccg	ccgaggggga	ccttcagcgc	aagcggttc	600
tgccggcgac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cggtgcgcc	cacacctacc	660
acgggtctccc						670

10

<210> 97

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

15

<400> 97

ccagcctcgc	gggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	ggctgcgtgc	60	
agacggccgc	caggctctgc	aagaatggcg	tcaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120	
cggagcagct	ggagcgcag	ctctcctcga	tcccgagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180	
gcgacggcgt	atactccaca	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240	
tgaggccgcg	cggggccaa	atactcgtgg	acgactcgca	tggtgcggc	gttcttgccc	300	
gaaaccccaga	ctcggagcaa	cccctcgggt	atggtggcgg	tgcgctcgtc	gagtacttcg	360	
ggctggacta	cgcgagaa	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaact	420	
tgcccgccg	attcgtcggc	tgccgcgcgcg	agaccgacga	gaagtccggc	atcctgaact	480	
tgccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtaccgcc	ggcctgtcga	540	
gtgcaagac	gaccctggac	ctcaacgccg	ccgaggggga	ccttcagcgc	aggcggttc	600	
tgccggcgac	cctcgaagtc	tgcgaggggc	tcaggcgct	cggtgcgcc	cacacctacc	660	
acgggtctccc						670	

20

<210> 98

<211> 713

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

25

<400> 98

tgctcaacat	gggagtcac	cccagcctcg	cgggcgagag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gtcaccgtgg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tggagcgcac	gctctcctcg	atcccgagg	180
gggcccagac	cacccacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	agacggaggg	ctcgcgcact	240
tgcccgcctat	atgtgcttgt	ttgagggccg	gcgggaccaa	gatactcgtg	gacgactcgc	300
atggctgcgg	cgttcttggc	cgaaaccag	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	360
gtgcgctcgc	gagtaacttc	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaact	cgcccggcgg	attcgtcggc	tgcgcgcgcg	agaccgacga	480
gaagtccggc	atcctgaact	tggccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	540
ctgtaccgcc	ggcctgtcga	gtgcaaagac	gacctgggac	ctcaacgccg	ccgaggggga	600
ccttcagcgc	aggcggctcc	tggcggcgac	cctcaggttc	tgcgaggggc	tcagggcgct	660
cgggtgcccc	cacacctacc	acggcttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc	713

<210> 99

<211> 713

5

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 99

tgctcaacat	gggagtcac	cccagcctcg	cgggcgaggag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gtcaccgtgt	120
gcgcctgaag	cacaacgaca	cggagcagct	ggagcgcacg	ctctcctcga	tcccgaggg	180
ggccgacatc	acctacgtgt	gcgacggcgt	gtactccaca	gacggagagc	tcgccgactt	240
gcccgcctata	tgtgcttgtt	tgaggcccg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	300
tggctgcggc	gttcttggcc	gaaaccacga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggtgg	360
tggcgctcgc	gagtaacttc	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaact	cgcccggcgg	attcgtcggc	tgcgcgcgcg	agaccgacga	480
gaagtccggc	atcctgaact	tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	540
ctgtaccgcc	ggcctgtcga	gtgcaaagac	gacctgggac	ctcaacgccg	ccgaggggga	600
ccttcagcgc	aggcggctcc	tggcggcgac	cctcaggttc	tgcgaggggc	tcagggcgct	660
cgggtgcccc	cacacctacc	acggcttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc	713

10

<210> 100

<211> 713

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

15

<400> 100

tgctcaacat	gggagtcac	cccagcctcg	cgggcgaggag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gtcaccgtgt	120
gcgcctgaag	cacaacgaca	cggagcagct	ggagcgcacg	ctctcctcga	tcccgaggg	180
ggccgacatc	acctacgtgt	gcgacggcgt	gtactccaca	gacggagagc	tcgccgactt	240
gcccgcctata	tgtgcttgtt	tgaggcccg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	300
tggctgcggc	gttcttggcc	gaaaccacga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggtgg	360
tggcgctcgc	gagtaacttc	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaact	cgcccggcgg	attcgtcggc	tgcgcgcgcg	agaccgacga	480
gaagtccggc	atcctgaact	tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	540
ctgtaccgcc	ggcctgtcga	gtgcaaagac	gacctgggac	ctcaacgccg	ccgaggggga	600
ccttcagcgc	aggcggctcc	tggcggcgac	cctcaggttc	tgcgaggggc	tcagggcgct	660
cgggtgcccc	cacacctacc	acggcttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc	713

20

<210> 101

<211> 714

<212> ADN

<213> Alexandrium tamarense

<400> 101

tgctcaacat	gggagtcate	cccagccccg	cgggagagag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gtcaccgtgg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tggagcgcac	gctctcctcg	atcccgcagg	180
gggcccagacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	agacggagag	ctcgcgcgact	240
tgcccgcctat	atgtgattgt	ttgaggccgc	gcggggccaa	gatactcgtg	gacgactcgc	300
atggctgcgg	cgttcttggc	cgaaacccag	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	360
gtggcgctcgt	cgagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgcggggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaac	tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgcgcgcgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	catcctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	540
tctgtaccgc	cggcctgtcg	agtgcaaaga	cgaccctgga	cctcaacgcc	gccgaggggg	600
accttcagcg	caggcggtc	ctggcggcga	ccctcgagtt	ctgcgagggg	ctcagggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacggcttcc	ccatcgtaaa	catctactgg	accc	714

<210> 102
 <211> 667
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 102						
cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccac	gtctgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggaaacagcc	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacgtact	ccacggacga	agagctcgcc	gacttgcccc	ccatatgtgc	ttgtttgagg	240
ccgcgcgggg	caaagatact	cgtagacgac	tcgcatggct	gcggcgcttc	tggccgcaac	300
cccaactcgg	agcaacccct	cgggtatggt	ggcggcgccg	tcacgagta	cttcgggctg	360
gactacgcgg	agaacacccat	catatacgcc	gggcagctga	gcaaggcggt	caattcgccc	420
ggcggattcg	tcagctgtgc	gcgcgcgaga	ccgacgagaa	tttcggcggt	atgaacttgg	480
ccaagaactc	gaacacactc	gtgttcacag	ggccgatctg	tactgccggc	ctgtcgagtg	540
cgaagacgac	cttcgacctc	aacgcccgcc	agggggacct	tcagcgcaag	cggcttcttg	600
cggctaccct	cgaattctgc	gaggggctca	aggcgctcgg	gtgccccac	acctaccacg	660
ggttccc						667

<210> 103
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 103						
cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggaaacagcc	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacgaagagc	tcgccgactt	gcccgcata	tgtgcttgtg	240
tgaggcccg	cggggccaaag	atactcgtag	acgactcgca	tggttgcggc	gttcttgccc	300
gcaaccccaa	ctcggagcaa	ccccgcgggt	atgggtggtg	cggcgctcatg	gagtaacttcg	360
ggctggacta	cgcggagaac	aacatcatct	atgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccgg	attcgtcagc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaattgcggc	gttctgaact	480
tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtattgcc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccttcgac	ctctacgcgg	ccgagggggg	ccttcagcgc	aagcggcttc	600
tggcggtac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cgggtgcccc	cacacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 104
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 104

cgagcctcgt	gggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgacg	120
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggctgcggc	gttcttgacc	300
gcaaccccgga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggcgg	cggcgtcgtc	gagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagagaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccgccgc	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaagtccggc	attctgaact	480
tggccaagaa	ctcaaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	540
gtgcgatgac	gacctcgcac	ctcaacgccg	ccgaggggga	ccttcagcgc	aagcggcttc	600
tggcggcgac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cgggtgcccc	cacacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 105
 <211> 667
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 105	
cgagcctcgt	gggcgagagc
agacggccgc	caggctctgc
cggagcagct	cgagcacata
gcgacggcgt	gtactccacg
tgaggccgcg	tggggccaag
gcaccccgga	ctcggagcaa
tggactacgc	ggagaacaac
ccggcgggatt	cgtcggctgt
ccaagaactc	gaccacactc
cgaagacgac	cttcgacctc
cggctaccct	cgaattctgc
ggttccc	

<210> 106
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 106	
cgagcctcgt	gggcgagagc
agacagccgc	caggctctgc
cggagcagct	cgagcacata
gcgacggcgt	gtactccacg
tgaggccgcg	cggggccaag
gcaaccccgga	ctcggagcaa
ggctggacta	cgcgagagaac
cgcccgccgc	attcgtcggc
tggccaagaa	ctcaaacaca
gtgcgaagac	gaccttcgac
tggcggcgac	cctcgaattc
acgggttccc	

<210> 107
 <211> 668
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 107

```

cgggcctcgt gggcgagagc ggggttcctcc tcctgtacat aaacgcccac gactgcggtgc      60
agacgggccgc caggctctgc aagaagggcg ccaccgtggt gcgcctgaag cacaacgaca      120
cggaacagcc cgagcacatg ctctcgtcga tcccgagggg gccgacatca cctacgtgtg      180
cgacggcggtg tactccacgg acgaagagct cgccggcttg ccgcccataat gtgcttggtt      240
gaggccgcgc ggggccaaga tactcgtaga cgactcgcat ggctgcgggc ttcttgcccg      300
caaccccaac tcggagcaac ccctcgggta tgggtggcggc ggcgtcatcg agtacttcgg      360
gctggactac gcggaagaaca acatcatcta cgccgggcag ctgagcaagg cgttcaattc      420
gcccggcgga ttctgcagct gtgcgcgcga gaccgacgag aatttcggcg ttctgaactt      480
ggccaagaac tcgaacacac tcgtgtctac agggccgata tgtactgccg gcctgtcgag      540
tgcaagacg accttcgacc tcaacgcgcg cgagggggac cttcagcgca agcggcttct      600
ggcggcgacc ctcaattct gcgaggggct caaggcgctc gggtgcccca cacctaccac      660
gggttccc

```

<210> 108
 <211> 673
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 108
cgaggcacgt gggcgagagc ggggttcctcc tcctgtacat aaacgcccac gactgcggtgc      60
agacgggccgc caggctctgc aagaagggcg ccaccgtggt gcgcctgaag cacaacgaca      120
cggagcagct cgagcacatg ctctcgcga tcccgagggg gggggcgaca tcacctacat      180
gtgcgacggc gtgtactcca cgacgggaga gctcgccaac ttgcccgcga tatgtgcttg      240
tttgaggccg cgtggggcca acatacgctg agacgactcg catggttgcg gcgctcttg      300
ccgcaacccc gactcggagc aacccctcgg gtatgggtggc ggcggcgggc cagagtactt      360
cgggctggac tacgcggaga acaacatcat ctacgcccgg cagttgagca aggcgttcaa      420
ttcgcggcgg ggattcgtct ttgtgcgcg cgagaccgac gcgaagtttg gcttttctga      480
acttgcccaa gagctcgaac cactcgtgc tcacagggcc gatctgtcct gccggcctgt      540
cgagtgcgaa gacgacctt gacctcaacg ccgcccaggg ggaccttcag cgcaagcggc      600
ttctggcggc gacctcgaa ttctgcgagg ggttcaaggc gctcgggtgc cccacacctt      660
accacgggtt ccc

```

<210> 109
 <211> 669
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 109
cgagcctcgt gggcgagagc ggggttcctcc tcctgtacat aaacgcccac gactgcggtgc      60
agacgggccgc caggctctgc aagaagggcg ccaccgtggt gcgcctgaag cacaacgaca      120
cggaacagcc cgagcacatg ctctcgtcga tcccgagggg gccgacatc acctacgtgt      180
gtgacggcgt gtactccacg gacgaagagc tcgcccactt gcccgccata tgtgcttggt      240
tgaggccgcg ggggccaata tactcgtaga cgactcgcat ggctgcgggc ttcttgcccg      300
caaccccaac tcggagcaac ccctcgggta tgggtggcggc ggcgtcatcg agtacttcgg      360
gctggactac gcggaagaaca acatcatcta cgccgggcag ctgagcaagg cattcaattc      420
gcccggcgga ttctgcagct gtgcgcgcga gaccgacgag aatttcggcg ttctgaactt      480
ggccaagaac tcgaacacac tcgtgttcac agggccgata tgtactgctg gcctgtcgag      540
tgcaagacg accttcgacc tcagcgccgc cgagggggac cttcagcgca agcggcttct      600
ggcggctacc ctcaattct gcgaggggct caaggcgctc gggtgccccc acacctacca      660
cgggttccc

```

<210> 110
 <211> 673
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 110

cgaggctcgt	gggcgagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagacgggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgccga	tcctgcaggg	gggggcgaca	tcacctacat	180
gtgcgacggc	gtgtactcca	cggacggaga	gctcgccaac	ttgcccgcga	tatgtgcttg	240
tttgaggccg	cgtggggcca	acatacgcgt	agacgactcg	catggttgcg	gcgctcttg	300
ccgcaacccc	gactcggagc	aaccctcgg	gtatggtggc	ggcggcgcg	ccgagtactt	360
cgggctggac	tacgaggaga	acaacatcat	ctacgcccgg	cagttgagca	aggcggtcaa	420
ttcgcccggc	ggattcgtct	tttgtgcgcg	cgagaccgac	gcgaagtgtg	gcttttctga	480
acttggccaa	gagctcgaac	ccactcgtgc	tcacagggcc	gatctgtcct	gccggcctgt	540
cgagtgcgaa	gacgaccttc	gacctcaacg	ccgccgaggg	ggaccttcag	cgcaagcggc	600
ttctggcggc	gacctcga	ttctgcgagg	ggttcaaggc	gctcgggtgc	ccccacacct	660
accacgggtt	ccc					673

<210> 111
 <211> 668
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 111		
cgagcctcgt	gggcgagagc aggttcctcc tcctgtacat aaacgcccac gactgcgtgc 60	
agacagccgc	caggctctgc aagaaggcg ccaccgtggt gcgcctgaag cacaacgaca 120	
cggagcagct	cgagcacatg ctctcgccga tcccgcaggg gccgacatca cctacgtgtg 180	
cgacggcgcg	tactccacgg acagagagct gcgcgacttg cccgccatat gtgcttggtt 240	
gaggccgcgc	ggggccaaga tactcgtaga cgactcgcat ggctgcggcg ttcttgcccg 300	
caaccccgcac	tcggagcaac cctcaagta tgggtggcggt gtcgtcgtcg agtacttcgg 360	
gctggactac	gcagagaaca acatcatcta gcgcggcgag ctgatcaagg cgttcaattc 420	
gcccggcgga	ttcgtcggct gtgcgcgcga gaccgacgag aatttaggcg ttctgagctt 480	
ggccaagaac	tcgaacacac tcgggttcac agggccgacg tgtactgcca gcctgtcgag 540	
tgcgaagacg	accttcgacc tcaacgccgc caagggggac cttcagcgca agcggcttct 600	
ggcggtacc	ctcgaattct gcgagggggt caggcgctcg ggtgccccca cacctaccat 660	
gggttccc		668

<210> 112
 <211> 668
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 112		
agcctggcgg	gcgagagcgg gttcctcctc ctggacatca acgcccacga ctgcgtgcag 60	
acggccgcga	ggctctgcaa gaaggagtc accgtcgtgc gcctgaagca caacgacacg 120	
gagcagctcg	agcgcgtgct ctgcgtcgatc ccggaagggg ccgacatcac ctacgtgtgc 180	
gacggcgtct	actccacggg cggagagctc gccgacttgc ccgccatatg tgcttggttg 240	
agggcgcgcg	ggggccaagat actcgtggac gactcgcaag gttgcggcgt tcttgccgcg 300	
aaccccgcact	cggagcaacc cttcggatat ggccggcgcg gcgtcgtcaa gtacttcggg 360	
ctggactacg	cggagaacaa catcatctac gccgggcagc tgagcaaggc gttcaattcg 420	
cccggcgga	tcgtgggctg cgcacgcgag accgacgaga agttcggcat cctgaacttg 480	
gccaaagaact	cgaacacgct cgtgttcaca gggccgatct gtactgccgg cctgtcgagt 540	
gcgaagacga	ccctcgacct caactttgcc gagggggacc gtcagcgcaa gcggcttctt 600	
caggcgaccc	tcgaattttg cgaggggctc aaggcgctcg ggtgccccca cacctaccac 660	
gggttccc		668

<210> 113
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 113

cgagcctggc	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggcagc	caggctctgc	aagaaggag	tcaccgtcgt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggagcagct	cgagcgcgtg	ctctcgtcga	tcccggagg	ggccgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcgt	ctactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgcctta	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtgg	acgactcgca	cggttgcggc	gttcttggcc	300
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcggat	atggcgggcg	cgcgctcgtc	aagtacttcg	360
ggctggacta	cgcgagaaac	aacatcatct	acgcccggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgcccggcgg	attcgtgggc	tgcgcacgcg	agaccgacga	gaagttcggc	attctgaact	480
tgccaagaa	ctcgaacacg	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactacc	ggcctgtcga	540
gtgcgaagac	gaccctcgac	ctcaactttg	ccgaggggga	ccgtcagcgc	aagcggcttc	600
ttgaggcgac	cctggaattt	tgcgaggggc	tcaaggcgct	cgggtgcccc	cacacctacc	660
acgggttccc						670

<210> 114
 <211> 711
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 114	
tgctcaacat	gggagtcac
taaacgccc	cgactgcgtg
tgcgcctgaa	gcacaacgac
gggcccagac	cacctacgtg
tgcccgccat	atgtgcttgt
acggttgccg	cgttcttggc
gcgtcgtaaa	gtacttcggg
tgagcaaggc	gttcaattcg
agttcgccat	tctgaacttg
gggagtcac	ccgagcctgg
cagacggcgg	ccaggctctg
tcgagcgcgt	gctctcgtcg
tctactccac	ggacggagag
gcggggccaa	gatactcgtg
actcggagca	acccttcgga
cggagaacaa	catcatctac
tcgtgggctg	cgcacgcgag
cgtgttcaca	gggcccgatct

gtactgccgg	cctgtcgagt	gcgaagacga	ccctcgacct	caactttgcc	gagggggacc	600
gtcagcgtaa	gcggcttctt	gaggcgaccc	tggaaattttg	cgagggggctc	aaggcgctcg	660
ggtgccccca	cacctaccac	gggttcccc	tcgtcaacat	ctactggacc	c	711

<210> 115
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 115	
tgctcaacat	gggagtcac
tcaacgccc	cgactgcgtg
tgcgcctgaa	gcacaacgac
gggcccagac	cacctacgtg
tgcccgccat	atgtgcttgt
acggttgccg	cgttcttggc
gcggcgctcg	caagtacttc
agctgagcaa	ggcgttcaat
agaagttcgg	catcctgaac
tctgtactgc	cgccctgtcg
accgtcagcg	caagcggctt
tcgggtgccc	ccacacctac
ccgagcctgg	ccaggctctg
tcgagcgcgt	gctctcgtcg
tctacccac	ggacggagag
gcggggccaa	gatactcgtg
actcggagca	acccttcgga
cggagaacaa	catcatctac
tcgtgggctg	cgcacgcgag
cgtgttcaca	gggcccgatct

<210> 116
 <211> 714
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

<400> 116

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctgg	cgggcgagg	cggttcctc	ctcctggaca	60
taaagcccca	cgactgcgtg	cagacggcag	ccaggctctg	caagaaggga	gtcacgcgtg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tgcagcgcgt	gctctcgtcg	atcccggagg	180
gggcccacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tctactccac	ggacggagag	ctcgccgacc	240
tgcccgccat	atgtgcttgt	ttgagggcgc	gcggggcca	gatactcgtg	gacgactcgc	300
acggttgcgg	cgttcttgcc	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcgga	tatggcggcg	360
gcggcgtcgt	caagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtggg	ctgcgcacgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	gctcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cggcctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacttt	gccgaggggg	600
accgtcagcg	caagcggcct	cttgaggcga	ccctggaatt	ttgcgagggg	ctcaaggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtaaa	catctactgg	accc	714

<210> 117
 <211> 663
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 117						
gagcctcgtg	ggcgagagcg	ggttcctcct	cctggacata	cacgcccacg	actgctgca	60
gacggccgcc	aggctctgca	aacagggtgc	caccgtgggtg	cgcctgaggc	gcaacgacac	120
ggagcagctc	gagcacatgc	tctcgtcgac	cccgcagggg	ccgacatcac	ctacgtgtgc	180
gacggcgtgt	actccacgga	cggagagctc	gccgacttgc	ccgccatatg	tgtttgtttg	240
aggccgcacg	gggccaatat	actcgtagac	gactcgcagt	gttgccggcg	tcttggccgc	300
aaccccgact	cggagcaacc	cctcgggtat	gggtggcgcg	tcgtctagta	cttcgggctg	360
ggctacgcgg	agcgcaacat	catctacgcc	tggcagttga	gcaaggcggt	caattcgccc	420
ggcggtattc	ccggtgttac	cggagaccga	cgataagttc	ggcgttctga	gcttggccaa	480
gactcgaac	acactcgtgt	gcacagggcc	gatctgtact	gccggcctgc	cgagtgcgaa	540
gacgaccttc	gacctcaacg	ccgccgaggg	ggaccttcag	cgcaagcggc	ttctggcggt	600
gacctcggga	ttctgcgagg	ggctcaaggc	gctcgggtgc	ccccacacct	accacgggct	660
ccc						663

<210> 118
 <211> 671
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 118						
cgagcctttg	tgggcgagag	caggttcctc	ctcctggaca	taaagcccca	cgactgcgtg	60
cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	tgcgctgag	gcacaacgac	120
gcgagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcccgcagg	gggcccacat	cacctacgtg	180
tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgccgact	tgcccgccat	atgtgcttgt	240
ttgaggccgc	gcggggcca	gatactcgta	gacgactcgc	atggctgcgg	cgttcttgcc	300
cgcaaccccg	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	gcggcgtcgt	cgagtacttc	360
gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	agctgagcaa	ggcgttcaat	420
tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	agaagttcgg	cattctgaac	480
ttggccaaga	actcaaacac	actcgcgttc	acagggccga	tctgtactgc	cggcctgtcg	540
agtgcgatga	cgaccctcga	cctcaacgcc	gccgaggggg	accttcagcg	caagcggcct	600
ctggaggcgg	ccctcgaatt	ctgcgagggg	ctcaaggcgc	tcgggtgccc	ccacacctac	660
cacgggttcc	c					671

<210> 119
 <211> 669
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 119

cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccgc	gactgcgcgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaaggggtg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cgctacagcc	cgagcgcatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	gccgacatca	cctacgtgtg	180
cgacggcggtg	tactccacgg	acgaagagct	cgccgacttg	cccgccatat	gtgcttggtt	240
gaggccgcgc	ggggccaaga	tactcgtaga	cgactcgcat	ggctgcggcg	ttcttgggcg	300
caacccaac	tggagcaac	ccctcgggta	tggggcgccg	ggcgcatcg	agtacttcgg	360
gctggactac	gaggagaacg	acatcatcta	cgccggggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	420
gcccggcgga	ttcgtcagtt	gtgcgcgcga	gaccgacgct	aatttcggcg	ttctgaactt	480
ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttcac	agggccgata	tgtactgccg	gcctgtcgag	540
tgcgaagacg	accttcgacc	tcaacgcccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggtctct	600
ggcggtacc	ctcgaattct	gcgaggggct	caaggcgctc	gggtgcccc	acacctacca	660
cggttccc						669

<210> 120

<211> 669

5 <212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 120

cgagcctcgt	gggagagagc	aggttcctcc	tcctgtacat	caacgcccac	gactgcgtgc	60
agacagccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cgagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggcgacatc	acctacgtgt	180
gcgacggcg	gtactccaca	gacagagagc	tcgccgactt	ggcgccata	tgtgcttggt	240
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggctgcggc	gttcttgggc	300
gcaaccccga	ctcgagcaaa	ccctcaagt	atggtggcg	cgcgctcgtc	gagtacttcg	360
ggctggacta	cgcagagaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	420
cgccggcg	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaatttcggc	gttctgaact	480
tggccaagaa	ctcgaacaca	ctcggttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtgga	540
gtgcgaagac	gaccttcgac	ctcaacgccc	ccaaggggga	ccttcagcg	aagcggtctc	600
tggcggtacc	cctcgaattc	cgcgagggg	tcaggcgctc	gggtgcccc	acacctacca	660
cggttccc						669

10

<210> 121

<211> 668

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

15

<400> 121

cgggcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctgtacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	60
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgaag	cacaacgaca	120
cggaacagcc	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	gccgacatca	cctacgtgtg	180
cgacggcggtg	tactccacgg	acgaagagct	cgccggcttg	cccgccatat	gtgcttggtt	240
gaggccgcgc	ggggccaaga	tactcgtaga	cgactcgcat	ggctgcggcg	ttcttgggcg	300

caacccaac	tggagcaac	ccctcgggta	tggggcgccg	ggcgcatcg	agtacttcgg	360
gctggactac	gaggagaaca	acatcatcta	cgccggggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	420
gcccggcgga	ttcgtcagct	gtgcgcgcga	gaccgacgag	aatttcggcg	ttctgaactt	480
ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttcac	agggccgata	tgtactgccg	gcctgtcgag	540
tgcgaagacg	accttcgacc	tcaacgcccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggtctct	600
ggcgggcacc	ctcgaattct	gcgaggggct	caaggcgctc	gggtgcccc	cacctaccac	660
gggttccc						668

20

<210> 122

<211> 1428

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

25

<400> 122

tccgtagcca	ttttggctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcgggc	60
ggcgaccccg	ctcccgccga	tcggtccgcc	tctgtctccc	ttcctcccaa	gccaagcgca	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cctgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgtcg	180
cgggggacag	gcacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaagtcca	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcaccgatg	ccttcatgct	ggcgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggaattt	gttgcgagct	tcctgcagcc	cctgcagcgg	cagcccatga	360
ccgcccagca	gctcgccgcg	gagacaaacg	caggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tacttggacc	tggaccctga	gaccgatgtg	tatgccgtgg	480
tccccggggc	gggattcagg	cgctcgccgc	gctcctccgg	ctagcggcgc	ccaccagcgc	540
ggccttgcca	agcatctacc	agcacgcccc	gccgcccgtc	aggggtgccct	catccgaggg	600
ggcgcaactgc	ttgcggattt	gggcgggagca	ccagcccacc	tggagaaggg	cggcttgcaa	660
gcggctggcc	ctcctgctcg	acggggccgt	cctcgtcccc	ctgttgacct	cgatcacata	720
ctttgcgagg	tgggacgagg	aggggctgga	ttccggcaag	gagggcgccct	tggaccgcct	780
cgacttcagc	aaggccaatg	ccgcggcaag	ggcgcccctc	gggggcatct	tcggcgagtt	840
gggcgtgggc	acagtggacg	gcaagggcac	cgtgaccttg	accgcggagg	gctcgctcgc	900
cctgcagcgt	agctactcct	actacgtccc	gacgtcctac	gccccactgc	tggacaggtg	960
ccacagcagc	ctcttcgaga	atcccggctg	gggattcgcc	ggtgcccggc	gggactcgca	1020
ggagcaggag	atccacgtcc	accggacgct	gaacgtgggtg	ggcagcgggg	cgcagcacca	1080
gacgctcttc	acggacctcg	tgcggctcat	tgactcggtc	ttcgcgggcg	gggacttcgc	1140
gtcgagcccg	gcgttcgtcg	tggacacggg	gtgcggcgac	ggccgcttgc	tcaggcgcat	1200
ctacgagcac	gtgaagagca	acacgcccg	cgggaagggtg	ctcgccgagc	acccgatcac	1260
gatgggtcgg	gtcgacttca	acaaggactc	tcgggtggcg	acggagctca	acctgagcag	1320
gcacgcggtc	ccgcacctgg	tgctgttcgg	ggacgtcggc	aagccggccg	acatcatgga	1380
gacccctcgg	cggaaacggg	tggacccgag	caggtccctc	cacgtgcg		1428

<210> 123
 <211> 925
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

tccgtagcca	ttttggctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcgggc	60
ggcgaccccg	ctcccgccga	tcggtccgcc	tctgtctccc	ttcctcccaa	gccaagcgca	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cctgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgtcg	180
cgggggacag	gcacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaagtcca	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcaccgatg	ccttcatgct	ggcgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggaattt	gttgcgagct	tcctgcagcc	cctgcagcgg	cagcccatga	360
ccgcccagca	gctcgccgcg	gagacaaacg	caggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tacttggacc	tggaccctga	gaccgatgtg	tatgccgtgg	480
tccccggggc	gggattcagg	cgctcgccgc	gctcctccgg	ctagcggcgc	ccaccagcgc	540
ggccttgcca	agcatctacc	agcacgcccc	gccgcccgtc	aggggtgccct	catccgaggg	600
ggcgcaactgc	ttgcggattt	gggcgggagca	ccagcccacc	tggagaaggg	cggcttgcaa	660
gcggctggcc	ctcctgctcg	acggggccgt	cctcgtcccc	ctgttgacct	cgatcacata	720
ctttgcgagg	tgggacgagg	aggggctgga	ttccggcaag	gagggcgccct	tggaccgcct	780
cgacttcagc	aaggccaatg	ccgcggcaag	ggcgcccctc	gggggcatct	tcggcgagtt	840
gggcgtgggc	acagtggacg	gcgagggcac	cgtgaccttg	accgcggagg	gctcgttcgc	900
cctgcagcgt	agctactcct	actac				925

<210> 124
 <400> 124
 000
 <210> 125
 <211> 1450
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 125

accgtagcca	ttttagctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcggcc	60
ggcgaccccg	ctcccgtga	tccgtccgcc	tctgtctccg	ttctcccaa	gccaagcgca	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cttgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgtcg	180
cgggggacag	ccacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaagtcca	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcaccgatg	ccttcatgct	ggtgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggagttt	gttgcgagct	tcttcgagcc	cttgcagcgg	cagcccatga	360
ccgccgagca	gctcgcccg	gagacaaacg	cgggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tacttggacc	tggaccctga	gaccgatgtg	tttgccgtgg	480
tccccggggc	ggggattcag	gcgctcactg	cgtccctccg	gccagcggcg	cccaccagcg	540
cggccttgca	aagcatctac	cagcacgccc	agccgcccgt	cagggtgccc	tcatccgagg	600
cggcgcaactg	cttgcggatt	tgggcggagc	accggcccac	ctggagaagg	gcggtctgca	660
agcggctggc	cctcctgctc	gacggggccg	tcctcgtccc	gttgttgacc	tcgatcacat	720
actttgcgag	gtgggacgag	gaggggctgg	attccggcaa	ggtgggggcc	ttggaccgcc	780
tcgacttcag	caaggccaat	gccgcggcaa	gggcggccct	cgggtggcatc	ttcgccgagt	840
tgggcgtggg	cacagtggac	ggcgagggca	ccgtgacctt	gaccgcggag	ggctcgttcg	900
ccctgcagcg	ttgtactacc	tactacgtcc	cgcgtcccta	cgcgccaatg	ctggacaggt	960
accacagcat	cctcctcgag	aatcccggct	gggggttcgc	cgggtgccggc	cgggactcgc	1020
aggagcagga	gatccacgtc	caccggacgc	tgaacgtggg	gggcagcggg	gcgcagcacc	1080
agacgctctt	cacggacctc	gtgcggctca	ttgactcggg	cttcgcgggc	ggggacttcg	1140
cgtcgagcc	ggcgttcgtc	gtggacacgg	ggtgcggcga	cggccgcttg	ctcaggcgca	1200
tctacgagca	cgtgaagagc	aacacgccgc	gcgggaaggc	gctcgccgag	caccgcgtca	1260
tgatggctgg	cgtcgacttc	aacaaggact	ctcgggtggc	gacggagctc	aacctgagca	1320
ggcacgcggg	cccgacactg	gtgctgttcg	gggacgtcgg	caagcccggc	gacatcatgg	1380
agatcctcgg	gcggaagggg	gtggaccgga	gcaggtccct	ccgcgtgcgc	tccttctcgg	1440
accacgacca						1450

<210> 126

<211> 1449

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 126

accgtagcca	ttttggctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcagcc	60
ggcacacccg	ctcccgcgca	tccgtccgcc	tctgtctccg	ttctcccaa	gccaagcgca	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cttgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgtcg	180
cgggggacag	gcacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaagtcca	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcaccgatg	ccttcatgct	ggtgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggagttt	gttgcgaact	tcctcgagcc	cttgcagcag	cagcccatga	360
ccgccgagca	gctcgcccg	gagacaaacg	cgggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tacttggacc	tggaccctga	gaccgatgtg	tataccgtgg	480
tccccggggc	ggggattgag	gcgctcgccg	cgtccctccg	gccagcggcg	cccaccggcg	540
cggccttgca	aagcatctac	cagcacgccc	agccgcccgt	cagggtgccc	tcatccgagg	600
cggcgcaactg	cttgcggatt	tgggcggagc	accggcccac	ctggagaagg	gcggtctgca	660
agcggctggc	cctcctgctc	gacggggccg	tcctcgtccc	gttgttgacc	tcgatcacat	720
actttgcgag	gtgggacgag	gaggggctgg	attccggcaa	ggagggcgcc	ttggaccgcc	780
tcgacttcag	caaggccaat	gccgcggcaa	gggcggccct	cgggggcatc	ttcgccgagt	840
tgggcgtggg	cacagtggac	ggcgagggca	ccgtgacctt	gaccgcggag	ggctcgttcg	900
ccctgcagcg	ttgtactacc	tactacgtcc	cgcgtcccta	cgcgccattg	ctggacaggt	960
accacagcat	ctcctttgag	aatcccggct	gggggttcgc	cagtgcgggc	cgggactcgc	1020
aggagcagga	gatccacgtc	caccggacgc	tgaacgtggg	gggcagcggg	gcgcagcacc	1080
agacgctctt	cacggacctc	gtgcggctca	ttgactcggg	cttcgcgggc	ggggactttg	1140
cgtcgagcc	cgcgttcgtc	gtggacacgg	ggtgcggcga	cggccgcttg	ctcaggcgca	1200
tctacgagca	cgtgaagagc	aacccgcgcg	gcgggaaggc	gctcgccgag	caccgcgtca	1260
cgatggctcg	cgtcgacttc	aacaaggact	ctcgggtggc	gacggagctc	aacctgagca	1320

ggcacgcagt	cccgacactg	gtgctgttcg	gggacgtcgg	caagcccggc	gacatcatgg	1380
agatcctcgg	gcggaagggg	gtggaccgga	gcaggtccct	ccacgtgcgc	tccttctcag	1440
accacgacc						1449

<210> 127

<211> 1449

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 127

accgtagcca	ttttggctca	agagttggat	cccaagctgc	tcttccgcag	ccaggcggcc	60
ggcgaccccg	ctcccgcgca	tcggtccgcc	tctgctccc	ttcctcccaa	gccaaagcga	120
tgccgcagct	tctgagcacc	cttgtagcac	cggacagcgc	tggatcttgt	gagagcgctcg	180
cgggggacag	gcacggggcc	tccggacgca	acgagctcga	ggaggcttcc	gccaaagtcga	240
acatccacgg	cctcgacctc	ggcaccgatg	ccttcatggt	ggtgcacggg	tggacttgcg	300
ggcccttgct	cctggagttt	gttgcgaaact	tcctgcagcc	cttgacagcg	cagccccatga	360
ccgccgagca	gctcgccgcg	gagacaaaacg	cgggggaagg	gcccgtggcg	atcactctgc	420
ggacaatggc	catcctcggg	tgcttggaacc	tggaccctga	gaccgatgtg	tataccgtga	480
tcccggggcc	ggggattgag	gcgctcgcgc	cgctcctccg	gccagcggcg	cccaccagcg	540
cggccttgca	aagcatctac	cagcacgccc	agccgcggtt	cagggtgccc	tcacccgagg	600
cggcgactg	cctgcggatt	tgggcggagc	accggcccac	ctggagaagg	gcggcttgca	660
agcggctggc	ctcctgctc	gacggggccg	tcctcgctcc	gttggtgacc	tcgatcacat	720
actttgcgag	gtgggacgag	gaggggctgg	attccggcaa	ggagggcgcc	ttggaccgcc	780
tcgacttcag	caaggccaat	gccgcggcaa	gggcggccct	cgggggcac	ttcggcgagt	840
tggcgctggg	cacagtggac	ggcgagggca	ccgtgtcctt	gaccgcggag	ggctcgctcg	900
ccctgcagcg	ttgtactctc	tactacgtcc	cgacgtccaa	cgccccattg	ctggacaggt	960
accacagcat	cctctttgag	aatcccggtt	gggggttcgc	cgggtccggc	cgggactcgc	1020
aggagcagga	gatccacgtc	caccggacgc	tgaacgtggt	gggcggcggg	gcgcagcacc	1080
agacgtctt	cacggacctc	gtgcggctca	ttgaccgggt	cttcgcgggc	ggggactttg	1140
cgctgcagcc	ggcgcttcgc	gtggacacgg	ggtgcggcga	cggccgcttg	ctcaggcgca	1200
tctacgagca	cgtgaagagc	aacacgccgc	gcgggaaggc	gctcgcggag	caccgctca	1260
cgatggtcgg	cgtcgacttc	aacaaggact	ctcgggtggc	gacggagctc	aacctgagca	1320
ggcacgcagt	cccgcacctg	gtgctgttcg	gggacgtcgg	caagcccggc	gacatcatgg	1380
agatcctcgg	gcggaagggg	gtggacccga	gcaggtccct	ccacgtgcgc	tccttcctgg	1440
accacgacc						1449

5

<210> 128

<211> 882

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

10

<400> 128

ttccgcagcc	aggcggcccg	cgcacccgct	cccgcgcgac	ggtccgcctc	tgctcccgtt	60
cttccaagcc	aagcgcatgc	cgcagcttct	gagcacctt	gtagcaccgg	acagcgctgg	120
atcttgtag	agcgtcgcgg	gggacaggca	cggggcctcc	ggacgcaacg	agctcgagga	180
ggcttccgcc	aagtcgaaca	tccacggcct	cgacctcggc	accgatgcct	tcagtctggc	240
gcacgggtgg	acttgccggc	ccttgctcct	ggagtttgtt	gcgagcttcc	tacagccctt	300
gcagcggcag	cccatgaccg	ccgagcagct	cgcgcgggag	acaaacgcgg	gggaagggcc	360
cgtggcgatc	actctgcgga	caatggccat	cctcgggtac	ttggacctgg	accctgagac	420
cgatgtgtat	gccgtggtcc	cggggccggg	gattcaggcg	ctcgcgcgc	tcctccggcc	480
agcggcgccc	accagcgcgg	ccttgcgaa	catctaccag	cacgcccagc	cgcggttcag	540
ggtgcctca	tccgaggcgg	cgcactgctt	gcggatttgg	gcggagcacc	ggcccacctg	600
gagaagggcg	gcttgcaagc	ggctggccct	cctgctcgac	ggggcgcgtc	tcgtcccgc	660
gttgacctcg	atcacatact	ttgcgaggtg	ggacgaggag	gggctggatt	ccggcaagga	720
gggcgccttg	gaccgcctcg	acttcagcaa	ggccaatgcc	gcggcaaggg	cggccctcgg	780
gggcatcttc	ggcgagttgg	gcgtgggcac	agtggacggc	gagggcaccg	tgaccttgac	840
cgcggagggc	tcgttcgccc	tcagcgtcgc	ctactcctac	ta		882

<210> 129

<211> 815

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

15

<400> 129

```

ccaagcgcat gccgcagctt ctgagcacc ttgtagcacc ggacagcgct ggatcttgtg      60
agagcgctgc gggggacagg cacggggcct ccggacgcaa cgagctcgag gaggcttccg      120
ccaagtcgaa catccacggc ctgcacctcg gcaccgatgc cttcatgctg gcgcacgggt      180
ggacttgccg gcccttgctc ctggagtttg ttgcgagctt cctgcagccc ttgcagcggc      240
agcccatgac cgccgagcag ctgcgccgg agacaaacgc ggggggaggg cccgtggcga      300
tactctgctg gacaatggcc atcctcgggt acttggaact ggacctgag accgatgtgt      360
atgccgtggt ccccgggccg gggattgagg cgctcgccgc gctcctccgg ccagcggcgc      420
ccaccagcgc ggccttgcca agcatctacc agcacgcca gccgccgttc agggtgccct      480
catccgaggc ggcgcactgc ttgcggattt gggcggagca ccggtccacc tggagaaggg      540
cggtctgcaa gcggctggcc ctctgctcg acggggccgt cctcgtcccg ttgttgacct      600
cgatcacata ctttgcgagg tgggacgagg aggggctgga ttccggcaag gagggcgcct      660
tggaaccgct cgacttcagc aaggccaatg ccgcggaag ggcggccctc gggggcatct      720
tcggcgagtt aggcgtgggc acagtggacg gcgagggcac cgtgaccttg acccggagg      780
gctcgttcgc cctgcagcgt cgctactcct actac                                     815

```

<210> 130
 <211> 480
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 130
caatggccat cctcgggtac ttggacctgg accctgagac cgatgtgtat accgtggtcc      60
ccggggccggg gattgaggcg ctgcgcgcgc tcctccggcc agcggcgccc accagcgcg      120
ccttgcaaaag catctaccag cagccccagc cgccgttcag ggtgccctca tccgaggcgg      180
cgcaactgctt gcggttttg gcggagcacc gggccacctg gagaagggcg gcttgcaagc      240
ggctggccct cctgctcgac gggggcgctc tcgtcccgt gttgacctcg atcacatact      300
ttgcgggggt ggacgaggag gggctggatt ccggcaagga gggcgccctg gaccgcctcg      360
acttcagcaa ggccaatgcc gcggcaaggg cggccctcgg gggcatcttc ggcgagttgg      420
gcgtggggcac agtggacggc gagggcaccc tgacctgac cgcgaggggc tcgttcaccc      480

```

<210> 131
 <211> 451
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 131
gacctgaga ccgatgtgta tgccgtggtc cccgggcccgg gattgaggc gttcgccgcg      60
ctcctccggc cagcgccgcc caccagcgcg gccttgcgaa gcatctacca gcacgcccag      120
ccggcgttca gggtgccctc atccgaggcg gcgcactgct tgcggttttg ggcggagcac      180
cggccacact ggagaacggc ggcttgcaag cggctggccc tcctgctcga cggggccgtc      240
ctcgtcccgt tgttgacctc gatcacatac ttgagaggt gggacgagga ggggctggat      300
tccggcaagg agggcgccct ggaccgcctc gacttcagca aggccaatgc cgcggcaagg      360
gcggccctcg gggcgctctt cggcgagttg ggcgtgggca cagtggacgg cgagggcacc      420
gtgaccttga ccgcgagggg ctggttcgcc c                                     451

```

<210> 132
 <211> 397
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 132
gccgcgctcc tccggccagc ggcgcccacc agcgcggcct tgcaagcat ctaccagcac      60
gcccagccgc cgttcagggt gccctcatcc gaggcggcgc actgcttgcg gatttgggcg      120
gagcaccggc ccacctggag aacggcggct tgcaagcggc tggccctcct gctcgacggg      180
gcgctcctcg tcccgttggt gacctcgatc acatactttg cgaggtggga cgaggagggg      240
ctggattccg gcaaggaggg cgccttgga cgcctcgact tcagcaaggc caatgccgcg      300
gcaaggggcg cctcggggg catcttcggc gaggttggcg tgggcacagt ggacggcgag      360
ggcacccgtga ccttgaccgc ggagggctcg ttcgccc                                     397

```

	<210> 133	
	<211> 234	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
5	<400> 133	
	ccctcctgct cgacggggcc gtccctcgcc cgttggtgac ctcgatcaca tactttgcca 60	
	ggtagggacga ggaggggctg gattccggca aggagggcgc cttggaccgc ctcgacttca 120	
	gcaaggccaa tgccgcggca agggcggccc tcgggggcat cttcggcgag ttgggctggg 180	
	gcacagtgga cggcgagggc accgtgacct tgaccgcgga gggctcggtc gccc 234	
	<210> 134	
10	<211> 254	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 134	
	tcctgctcga cggggccgtc ctcgcccggt tgttgacctc gatcacatac tttgcgaggt 60	
	gggacgagga ggggctggat tccggcaagg agggcgccctt ggaccgcctc gacttcagca 120	
	aggccaatgc cgcagcaagg gcgccctcgc ggggcatctt cggcgagttg ggcgtgggca 180	
	cagtggacgg cgagggcacc gtgacctga ccgaggaggg ctcgttcgcc ctgcagcgtc 240	
15	gctactccta ctac 254	
	<210> 135	
	<211> 561	
	<212> ADN	
20	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 135	
	caccgtgacc ttgaccgcgg agggctcggt cgccctgcag cgtcgctact cctactacat 60	
	cccgcgctcc tacgccccac tgctggacag gtaccacagc atcctcttcg agaatcccgg 120	
	ctgggggttc gccggtgccg gccgggactc gcaggagcag gagatccacg tccaccggac 180	
	actgaacgtg gtgggcagcg gtgcgcagca ccagacgctc ttcacggacc tcgtgcggct 240	
	cattgactcg gtcttcgcgg gtggggactt cgcgtcgag ccggcggttc tcgtggacac 300	
	ggggtgcggc gacggccgct tgctcaggcg catctacgag cactgaaga gcaacacgcc 360	
	gcgcgggaag gcgctcgccg agcaccgcct cagcatggtc ggcgtcgact tcaacaagga 420	
	ctctcgggtg gcgacggagc tcaacctgag caggcacgcg gttccgcacc tgggtgctgt 480	
	cgggggcgct ggcaagccgg ccgacatcat ggagatcctc gggcggaacg gggtaggacc 540	
	gagcaggtcc ctccacgtgc g 561	
25	<210> 136	
	<211> 553	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
30	<400> 136	
	ccttgaccgc ggagggctcg ttgcgcctgc agcgtcgcta ctccactac atcccgcgct 60	
	cctacgcccc actgctggac aggtaccaca gcacccctt cgagaatccc ggctgggggt 120	
	tcgcgggtgc cggccgggac tcgcaggagc aggagatcca cgtccaccgg acgctgaacg 180	
	tggtgggacg cggggcgagc caccagacgc tcttcacgga cctcgtgcgg ctcatgact 240	
	cgtctctcgc gggcggggac ttgcgctcgc agccggcggt cgtcgtggac acggggtgcg 300	
	gcgacggccg cttgctcagg cgcactacg agcacgtgaa gagcaacacg ccgcgcggga 360	
	aggcgctcgc cgagcaccgc ctacgatgg tcggcgctga cttcaacaag gactctcggg 420	
	tggcgacgga gctcaacctg agcaggcacg cgggtcccga cctgggtgctg ttcggggacg 480	
	tcggcaagcc cgccgacatc atggagctcc tcggacggag ggggggtggac ccgagcaggt 540	
	ccctccacgt gcg 553	
	<210> 137	
35	<211> 1880	
	<212> ADN	

<213> Alexandrium fundyense

<400> 137

tgagcaggca	cgagtcctcg	cacctgggtgc	tggtcgggga	cgtcgggcaag	cccgccgaca	60
tcatggagat	cctcggggcg	aacggggtgg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	120
tcctggacca	cgaccggccg	tacgtccccc	cgcccgccga	gatggacccg	gacagcgccg	180
ccgggaggtt	cgcgaggctg	cagctgccgg	actgcgccca	cctcgacggc	gagggcaagc	240
ggatcgcgcc	gagcgagatg	ttcgccctcg	tggtggagca	cttcacagcg	tggggcgccg	300
ccctgcaggg	ctcggtccgg	ctctgcatgc	tggaggatcat	gatgctggac	gtgccgacga	360
cgagggcgct	cctgaacgat	tgctgtctcg	tccacttcga	cctcgtagcag	tgccctctccc	420
ggcagtacat	ggtgtcgccg	gcggccttcg	ccttgggcct	ggccatggcc	ggcctcctgc	480
ccgggagcta	cgagggcgct	cagaccaccc	cgggcggggg	gcggtactgc	cgctgatga	540
gccagcacct	cgtagcgccg	ccgtaccaga	tccgcctcgc	cgaggtcggg	gacctgccga	600
ggctcgcgcg	cctggaggag	ctggcggtgg	gcgcgcttgg	cgccacgccc	gaggtcctgc	660
ggaggcgccct	ggagacgtct	ccgaccacgt	gcctggccgt	cgagatggac	cagctggtcg	720
tggcggtgct	ctacacgcag	cggttgagca	gcgcgcatgt	ggtggaccag	cagaagttca	780
tgcaggtctc	cgactcgcac	agcccgagcg	gcgcggtcat	gcagctcatc	gcgatctgct	840
ccgaccggcg	cgccaagcac	ctgggcgtcg	cgccggaccc	gctcgccctc	gcgctccacc	900
tggcccgccct	cagcccgagc	gtggacagcg	tcacggggtg	gacgcgctgc	caaaaacttcg	960
agacgttcgc	cggttcgatg	cggtgactacg	tggacgagca	catcgccggc	acccgcgtag	1020
atcccatcat	cggtctccac	accggcaacg	gagctcgggt	agtccgcctc	gtgcgcggtc	1080
tcaggccgga	ggacgtgggc	aaccgcgggg	acggcggtgct	catacagtac	gacacgagca	1140
agctcggcgc	ggcaaccggc	gagcgcgccg	cccccggtgt	cgggcctgct	gcggcacccc	1200
cccccgggcc	ggctcccgcg	ccatgccccca	cggtactacga	gcaccacgag	gctcttgctc	1260
tggccgctct	gggcagcctg	atgctgaaga	acggcgggcac	cgaggcgggc	gccgcgggca	1320
gcgcgacgt	cagatttgtg	gacatggacc	tcctggactc	cctcaacttc	accgacttcg	1380
caggccagct	ggacgcgcgc	ctccccgtgc	ccgtctccgt	cggtctgctc	ttcgaggcgt	1440
ccacgcccag	gaagctggcc	gcgcacctcc	accgcgagat	gcagcggtcg	gccggccagg	1500
cggacggggg	gccgcgcctc	ggccccgtac	cgcccgccgc	cgccgcgcgc	ccgcccgctg	1560
cggccaggga	ggaggccgcg	gaggctccgc	tggcctcctt	cgactcggtg	tgaccaagc	1620
tcgaggggtg	ctccgcgctg	gtcgacggct	gctggtgcat	cgacgtggcg	aactgcagct	1680
acctcggtct	ccagtggcgg	gacgagatcg	ccgatggcgt	ggaccgggac	gtgcgcactt	1740
ggggcgctcca	cccccggtgg	accaggctcg	tctcgctctc	gaagctgtac	gacgacgtcg	1800
aggcgcgctg	ttgcgagctg	accggcatct	ggaagtgcgt	tctgtaccgc	agcgttacca	1860
tgctcaacat	gggagtcacg					1880

<210> 138

<211> 2570

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 138

tgagcaggca	cgagtcctcg	cacctggtgc	tgttcgggga	cgtcggcaag	cccgccgaca	60
tcattggagat	cctcggggcgg	aacgggggtgg	accggagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	120
tcctggacca	cgaccggccg	tacgtccccc	cggcccgca	gatggaccgg	gacagcgagg	180
ccgggagggtt	cgcgaggctg	cagctgtcgg	actgcgccc	cctcgacggc	gagggcaagc	240
ggatcgccgc	gagcgagatg	ttcgctcgc	tggaggagca	cttcagcgcc	tggggcgagg	300
ccctgcaggg	ctcgttcggc	ctctgcatgc	tggaggatcat	gatgctggac	gtgccgacga	360
cgagggcgctc	cctgaacgat	tgcgtctcgc	tccacttcga	cctcgtgcag	tgcctctccc	420
ggcagtacat	ggtgtcgccg	gcggccttcg	ccttgggcct	ggccatggcc	ggcctcctgc	480
ccgggagcta	cgagggcgctc	cagaccacc	cggcgcgggg	gcggtagctgc	cgcgtagtga	540
gccagcacct	cgtgcgcggg	ccgtaccaga	tccgcctcgc	cgaggtcggt	gacctgccga	600
ggctcgcgg	cctggaggag	ctggcggtgg	gccgccttgg	cgccacggcc	gaggtcctgc	660
ggaggcgctc	ggagacgtct	ccgaccacgt	gcctggcgct	cgagatggac	cagctggtcg	720
tggccgtgct	ctacacgcag	cgggtggaca	gcgcgagatg	ggtggaccag	cagaagtcca	780
tgcaggtctc	cgactcgac	agcccgagcg	gccgcgtcat	gcagctcatc	gcgatctgct	840
ccgaccggc	cgccaagcac	ctggcgctcg	cggcgagacct	gctcgccttc	gcgctccacc	900
tggccccgct	cagccccggac	gtggacagcg	tcgtcggggt	gacgcgctgc	caaaacttcg	960
agacgttcgc	cgggtcagtg	cgggactacg	tggcggagca	catcgccggc	accgcgtag	1020
atcccatcat	cggcctccac	accggcaacg	gagctcgggt	agtcgcctc	gtgcgaggct	1080
tcaggccgga	ggacgtgggc	aaccgcgggg	acggcggtgct	catacagtag	gacacgagca	1140
agctcggcg	ggcaaccggc	gagcgcgcg	cccccggtgt	caggcctgct	gcggcaccgc	1200
cccccgggc	ggctccccgc	ccatgcccc	cggactacga	gcaccacgag	gctcttgcct	1260
tggccgctct	cggcagcctg	atgctgaaga	acggcgggac	cgaggcgggc	gccgcgggca	1320
gcgcgacgt	cagatttggt	gacatggacc	tcctggactc	cctcaacttc	accgacttcg	1380
caggccagct	ggacgcggcg	ctccccgtgc	ccgtctccgt	cgggctgctc	ttcgaggcgt	1440
ccacgcccag	gaagctggcc	gcgcacctcc	accgcgagat	gcagcggtcg	gccggccagg	1500
cggacggggg	ggccgcgcct	cggccccgta	ccggccgcgc	ccgcgcgcgc	gccgcccgct	1560
gcggccaggg	aggaggccgc	ggaggctccg	ctggcctcct	tcgactcggg	gtgcaccaag	1620
ctcgaggggg	gctccgcgct	ggtcgacggc	tgttggtgca	tcgacgtggc	gaactgcagc	1680
tacctcggt	tcagtgggc	ggacgagatc	gccgatggcg	tggaccggga	cgtgcgcact	1740
tggggcgctc	accccccggt	gaccaggctc	gtctcgtctc	cgaagctgta	cgacgacgtc	1800
gagggcgctc	gttcgagct	gaccggcatc	tggaaagtgc	ttctgtacc	gagcgttacc	1860
atgctcaaca	tgggagtcac	ccgagcctc	gtgggcgaga	gcgggttcct	cctcctggac	1920
ataaacgccc	acgactgctg	gcagacggcc	gccaggtctc	gcaagaaggg	cgccaccgtg	1980
gtgcgcctga	ggcacaacga	cgcggagcag	ctcgagcaca	tgtctctcgt	gatcccgag	2040
ggggccgaca	tcacctacgt	gtgcgacggc	gtgtactcca	cggacggaga	gctcgcggac	2100
ttgcccgcga	tatgtgcttg	tctgaggccg	cgcggggcca	agatactcgt	agacgactcg	2160
catggctgcg	gcgttcttgg	ccgcaacccc	gactcggagc	aacccttcgg	gtatggtggc	2220
ggcgccgctc	tcgagtactt	cgggctggac	tacgcggaga	acaacatcat	ctacgcgggg	2280
cagctgagca	aggcgctcaa	ttcgcccggc	ggattcgtcg	gctgtgcgcg	cgagaccgac	2340
gagaagttcg	gcattctgaa	cttgcccaag	aactcgagca	cactcgtgtt	cacaggggcc	2400
atctgtactg	cgggcctgtc	gagtgcgatg	acgaccctcg	acctcaacgc	cgccgagggg	2460
gaccttcagc	gcaagcgact	tctggcgggc	accctcgaat	tctgtgaggg	gctcaaggcg	2520
ctcggtgccc	cccacacctc	ccacgggttc	cccatcgtca	acatctactg		2570

<210> 139
<400> 139
000

<210> 140
<211> 2574
<212> ADN
<213> Alexandrium fundyense
<400> 140

tgagcaggca	cgcagtcccc	cacctgggtgc	tgttcgggga	cgtcgggcaag	cccgcgcaca	60
tcattggagat	cctcggggcgg	aaggggggtgg	acccgagcag	gtccctccac	gtgcgctcct	120
tcctggacca	cgaccggccg	tacgtccccc	cgggccgcga	gatggaccgc	gacagcgccg	180
ccgggaggtt	cgcgaggctg	cagctgtcgg	actgcgcca	cctcgacggc	gagggcaagc	240
ggatcgcgcc	gagcgagatg	ttcgctcgc	tggaggagca	cttcacgcgc	tggggcgccg	300
ccctgcaggg	ctcgttcggc	ctctgcatgc	tggaggtcat	gatgctggac	gtgccgacga	360
cgagggcgctc	cctgaacgat	tgcgtgtcgc	tccacttcga	cgtcgtgcag	tgcctctccc	420
ggcagtacat	ggtgtcgcg	gcggccttcg	ccttgggcct	ggccatggcc	ggcctcctgc	480
ccgggagcta	cgagggcgctc	cagaccacc	cgggcgggg	gcggtactgc	cgctgtatga	540
gccagcacct	cgtgcgccg	ccgtaccaga	tccgcctcgc	cgaggtcgg	gacctgccga	600
ggctcgcgcg	cctggaggag	ctggcggtgg	gcgcctcgg	cgccacgcgc	gaggtcctgc	660
ggaggcgctc	ggagacgtct	ccgaccacgt	gcctggccgt	cgagatggac	cagctggctc	720
tggccgtgct	ctacacgcag	cggttgga	gcgcgatgt	ggtggaccag	cagaagtcca	780
tgcaggtctc	cgactggcac	agcccgagcg	gccgcacat	gcagctcatc	gcgatctgct	840
ccgacccggc	cgccaagcac	ctggcgctcg	cgcgcgacct	gctcgcttc	gcgctccacc	900
tggcccgctc	cagcccgac	gtggacagcg	tcatcggggt	gacgcgctgt	caaaaacttc	960
agacattcgc	cggttcgatg	cgggactacg	tggacgagca	catcgccggc	acccgcgtag	1020
atcccatcat	cgccctccac	accggcaacg	gagctcgggt	agtcgcctc	gtgcacggct	1080
tcaggccgga	ggacgtgggc	aaccgcggg	acggcggtct	catacagtac	gacacgagcc	1140
agctcggcgc	ggcaaccggc	gagcgggcg	cccccgcg	cgggcctgct	gcgcgcggcc	1200
ccccggggc	ggctcccg	ccatgcccc	cgactacga	gcaccacgag	gctcttcttc	1260
tggccgctct	gggcagcctg	atgctgcaga	acggcgccac	cgaggcgccg	gccgcgggca	1320
gcgcgcagct	cagatttctg	gacatggacc	tcctggactc	cctcaacttc	accgacttcg	1380
caggccagct	ggatgcccga	ctccccgtgc	ccgtctccgt	cggtctgctc	ttcgaggcgt	1440
ccacgcccag	gaagctggcc	gcgcacctcc	accgcgagat	gcagcggtcg	gccggccagg	1500
cggacggggg	gccgcgcctc	ggccccgcac	cgccgcgcgc	cgccgcgcgc	ccgcccgcgt	1560
cggccaggga	ggaggccgcg	gaggtctcgc	tggcctcctt	cgactcggtg	tgcaccaagc	1620
tcgaggggtg	ctccgcgctg	gtcgacggct	gctggtgcat	cgacgtggcg	aactgcagct	1680
acctcggtct	ccagtggcgg	gacgagatcg	ccgagggcgt	ggaccgggac	gtgcgcactt	1740
ggggcgctca	ccccccatgg	accaggctcg	tctcgtctcc	gaagctgtac	gacgacgtcg	1800
aggcgcgctg	ttgcgagctg	accggcatct	ggaagtgcgt	tctgtacccg	agcgttacca	1860
tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctcg	tgggcgagag	cggttcctc	ctcctggaca	1920
tcaacgcccc	cgactgtgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaaggcg	gccaccgtgg	1980
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcccgaggg	2040
gggcccagat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgtgact	2100
tgcgcgccat	atgtgcttgt	ttgaggccac	gcggggccaa	gatactcgta	gacgactcgc	2160
atggctcgcg	cggttcttgg	cgcaaccgg	actcggaaca	acccttcggg	tatggtggcg	2220
gcggcgctcg	cgagtacttc	gggctggact	acggcgagaa	caacatcatc	tatgccgggc	2280
agctgagcaa	ggcggttaat	tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	2340
agaagtctcg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	2400
tctgtactgc	cggcctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacgcc	gccgaggggg	2460
accttcagcg	caagcggtct	ctggcggcga	ccctcgaatt	ctgcgagggg	ctcaaggcgc	2520
ttgggtgtcc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgctca	catctactgg	accc	2574

<210> 141
 <211> 1881
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense
 <400> 141

ggatgactcc	catgttgagc	atggtaacgc	tcgggtacag	aacgcacttc	cagatgccgg	60
tcagctcgca	acagcgcgcc	tcgacgtcgt	cgtacagctt	cggagacgag	acgagcctgg	120
tccacggggg	gtggacgccc	caagtgcgca	cgtcccggtc	cacgccatcg	gcgatctcct	180
cccgccactg	gaagccgagg	tagctgcagt	tcgccacgtc	gatgcaccag	cagccgtcga	240
ccagcgcgga	gcacccctcg	agcttggtgc	acaccgagtc	gaaggaggcc	agcggagcct	300
ccgcggcctc	ctccctggcc	gcagcgggcg	gcggcgcggc	ggcggcggcc	ggtacggggc	360
cgaggcgcg	ccccccgtcc	gcctggcccg	ccagccactg	catctcgcgg	tggagggtcg	420
cggccagctt	cctgggctg	gacgcctcga	agagcagccc	gacggagacg	ggcacgggga	480
gcggggcgtc	cagctggcct	gtgaagtcgg	tgaagttgag	ggagtcagg	aggcccatgt	540
ccacaaatct	gacgtcggcg	ctgcccgcg	cgcgcgcctc	ggtgccgcgg	ttcttcagca	600
tcaggctgcc	cagagcggcc	aggacaagag	cctcgtgggt	ctcgtagtc	gtggggcatg	660
gcgcgggagc	cggcccgggg	gggggcgccg	cagcaggccc	gacgcggggg	gccgcgcgct	720
cgcgggttgc	gcgcgcgtgc	ttgctcgtgt	cgtactgtat	gagcacgccc	tccccgcggt	780
tgcccacgtc	ctccggcctg	aagccgcgca	cgaggcggac	taccgagct	ccgttgccgg	840
tgtggaggcc	gatgatggga	tctacgcggg	tgccggcgat	gtgctcgtcc	acgtagtccc	900
gcatcgaccc	ggcgaacgtc	tcgaagtttt	ggcagcgcg	caccccgatg	acgtgtcca	960
cgtccgggct	aggcggggcc	aggtggagcg	cgaaggcgag	caggtccgcc	gcgacgcca	1020
ggtgcttgcc	ggccgggtcg	gagcagatcg	cgtgagctg	catgatgcgg	ccgtcggggc	1080
tgtgccagtc	ggagacctgc	atgaacttct	gctggtccac	cccatcgcg	ctgtccaccc	1140
gctgcgtgta	gagcacggcc	acgaccagct	ggtccatctc	gacggccagg	cacgtggtcg	1200
gagacgtctc	caggcgcctc	cgcaggacct	ccggcggtgg	gccgaggcgg	ccccacgcca	1260
gctcctccag	gcgcgcgagc	ctcggcaggt	caccgacctc	ggcgaggcgg	atctggtacg	1320
gccggcgcac	gaggtgctgg	ctcatcacgc	ggcagtagcg	ccccgcgcgc	gggtgggtct	1380
ggacgccttc	gtagctcccc	ggcaggaggc	cggccatggc	caggcccaag	gcgaaggccg	1440
ccggcgacac	catgtactgc	cgggagaggc	actgcacgag	gccgaagtgg	agtgagacgc	1500
aatcgttcag	ggacgccttc	gtcgtcggca	cgtccagcat	catgacctcc	agcatgcaga	1560
ggccgaacga	gccctgcagg	gcgcgcgcgc	agcgtggaa	gtgctccacc	agcgaggcga	1620
acatctcgct	cggcgcgac	cgttgccct	cgcgcgcgag	gtgggcgcag	tccgacagct	1680
gcagcctcgc	aaacctcccc	gcgcgcgtgt	ccgggtccat	ctcgcgggcc	ggagggacgt	1740
acggccggtc	gcggtccagg	aaggagcgca	cgtggaggga	cctgctcggg	tccaccccg	1800
tccgcccag	gatctccatg	atgtcggccg	gcttgccgac	gtccccgaac	agcaccaggt	1860
gcgggactgc	gtgctgctc	a				1881

<210> 142

<211> 2575

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 142

gggtccagta	gatgttgacg	atggggaacc	cgtggtaggt	gtgggggcac	ccaagcgcct	60
tgagcccttc	gcagaattcg	agggtcgccg	ccagaagcca	cttgcgctga	agggtccccc	120
cggcgcggtt	gaggtcgagg	gtcgtcttcg	cactcgacag	gccggcagta	cagatcggcc	180
ctgtgaacac	gagtgtgttc	gagttcttgg	ccaagttcag	aatgccgaac	ttctcgtcgg	240
tctcgcgcg	acagccgacg	aatccgcggg	gcgaattgaa	cgccttgctc	agctgcccgg	300
catagatgat	gttggttctc	gcgtagtcca	gccgaagta	ctcgacgacg	ccgcgcgcac	360
catacccgaa	gggttgctcc	gagtcgggg	tgccgccaag	aacgcgcgag	ccatgcgagt	420
cgtctacgag	tatcttgccc	ccgcgtggcc	tcaacaagc	acatatggcg	ggcaagttag	480
cagactctcc	gtccgtggag	tacacgccgt	cgcacacgta	ggtgatgtcg	gccccctgcg	540
ggatcgacga	gagcatgtgc	tcgagctgct	ccgtgtcgtt	gtgcttcagg	cgcaccacgg	600
tggcgccctt	cttgacagag	ctggcgcccg	tctgcacaca	gtcgtggggc	ttgatgtcca	660
ggaggaggaa	cccgtctcgc	cccacgaggc	tcgggatgac	tcccatgttg	agcatggtaa	720
cgtcgggta	cagaacgcac	ttccagatac	cggtcagctc	gcaacagcgc	gcctcgacgt	780

```

cgctcgtacag cttcggagac gagacgagcc tgggtccatgg ggggtggacg ccccaagtgc 840
gcacgtcccg gtccacgccc tcggcgatct cgtcccgcga ctggaagccg aggtagctgc 900
agttcgccac gtcgatgcac cagcagccgt cgaccagcgc ggagcaccac tcgagcttgg 960
tgcacaccga gtcgaaggag gccagcggag cctccgcggc ctctctccct ggccgcagcg 1020
ggcggcgggc cggcgggggc ggcgggtgcg gggcgaggc gggggccccc gtccgcctgg 1080
ccggccagcc gctgcatctc gcggtggagg tgcgcggcca gcctcctggg cgtggacgcc 1140
tcgaagagca gcccagcgga gacgggcacg gggagtgcgg catccagctg gctcggaag 1200
tcgatgaagt tgaggagtc caggaggtcc atgtccaca atctgacgtc ggcgtgccc 1260
gcggccgccc cctcggtgcc gccgttctgc agcatcaggc tgcccagagc ggccaggaca 1320
agagcctcgt ggtgctcgta gtccgtgggg catggcgcgg gagccggccc gggggggggc 1380
gccgcagcag gcccagcgcc gggggccgcc cgtctgcgca ttgcccgcgc gagctggctc 1440
gtgtcgtact gtatgagcac gccgtccccg cggttgccca cgtcctccgg cctgaagccg 1500
tgcacgaggg ggactaccgg agctccattg ccggtgtgga ggccgatgat gggatctacg 1560
cgggtgcccg cgatgtgctc gtccacgtag tcccgcatcg acccggcgaa tgtctcgaag 1620
ttttggcagc gcgtcaccac gatgacgctg tcacagtcgg ggctgaggcg ggccagggtg 1680
agcgcgaagg cgagcaggtc cgccgcgacg cccagggtct tggcgggccg gtccggagcag 1740
atcgcatgat gctgcatgat gcggccgctc gggctgtgcc agtcggagac ctgcatgaac 1800
ttctgctggt ccaccacatc ggcgcgatcc gcccgctgcg tgtagagcac ggccacgacc 1860
agctggtcca tctcgacggc caggcacgtg gtcggagacg tctccaggcg cctccgcagg 1920
acctccggcg tggcgccgag gcggcccccac gccagctcct ccaggcgcgc gagcctcggc 1980
aggtcaccga cctcgccgag gcggatctgg tacggccggc gcacgaggtg ctggtctatc 2040
acgcggcagt accgccccg cgccgggtgg gtctggacgc cctcgtagct cccgggcagg 2100
aggccggcca tggccaggcc caaggcgaag gccgcccggc acaccatgta ctgcccgggtg 2160
aggcactgca cgacgtcgaa gtggagcgac acgcaatcgt tcagggacgc ccccgctcgtc 2220
ggcacgtcca gcatcatgac ctccagcatg cagaggccga acgagccctg cagggcgccc 2280
ccccagcgct ggaagtgtct caccagcgag gcgaacatct cgtcgggcgc gatccgcttg 2340
ccctcgccgt cgaggtgggc gcagtccgac agctgcagcc tcgcgaacct cccggccgcg 2400
ctgtccgggt ccatctcgcg ggccgggggg acgtacggcc ggtcgtggtc cagggaaggag 2460
cgcacgtgga gggacctgct cgggtccacc cccttccgcc cgaggatctc catgatgtcg 2520
gcggtcttgc cgacgtcccc gaacagcacc aggtgcagga ctgctgcct gctca 2575

```

<210> 143
 <211> 1209
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (314)..(314)
 <223> n es a, c, g, o t

<400> 143

catggacctc	ctggactccc	tcaacttcac	cgacttcgca	ggccagctgg	acgccgcgct	60
ccccgtgccc	gtctccgtcg	ggctgctctt	cgaggcgctcc	acgcccagga	agctggccgc	120
gcacctccac	cgcgagatgc	agcggctggc	cgccagggcg	gacggggggc	cgcgctcgg	180
ccccgcaccg	gcccgcggcg	ccgcgcggcc	gcccgtgctg	gccagggagg	aggccgcgga	240
ggctccgctg	gcctcctttg	actcgggtgtg	caccaagctc	gaggggtgct	ccgcgctggg	300
cgacggctgc	tggngcatcg	acgtggcgaa	ctgcagctac	ctcggcttcc	agtggcgggg	360
cgagatcgcc	gagggcggtg	accgggacgt	gcgcacttgg	ggcgtccacc	ccccgtggac	420
caggctcgtc	tcgtctccga	agctgtacga	cgacgtcgag	gcgcgctgtt	gcgagctgac	480
cggcatctgg	aagtgcgttc	tgtaccgag	cgttaccatg	ctcaacatgg	gagtcacccc	540
gagcctcgtg	ggcgagagcg	ggttcctcct	cctggacata	aacgcccacg	actgcgtgca	600
gacggccgccc	aggctctgca	agaaggggcg	caccgtgggtg	gcctgagggc	acaacgacgc	660
ggagcagctg	gagcacatgc	tctcgtcgat	cccgcagggg	gccgacatca	cctacgtgtg	720
cgacggcggtg	tactccacgg	acggagagct	cgccgacttg	cccgccatat	gtgcttgttt	780
gagggcgcgc	ggggccaaga	tactcgtaga	cgactcgcat	ggctgcggcg	ttcttgcccg	840
caacccccgac	tcggagcaac	ccttcgggta	tgggtggcggc	ggcgtcgtcg	agtacttcgg	900
gctggactac	gcggaagaac	acatcatcta	cgccggggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	960
gcccgcggga	ttcgtcgggt	gtgcgcgcga	gaccgacgag	aagttcggca	ttctgaactt	1020
ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttcac	agggccgatc	tgactgccc	gcctgtcgag	1080
tgcaagacg	accctcgacc	tcaacgccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggcttct	1140
ggcggcgacc	ctcgaattct	gcgaggggct	caaggcgctc	gggtgcccc	acacctacca	1200
cgggttccc						1209

<210> 144

<211> 1208

5

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 144

catggacctc	ctggactccc	tcaacttcac	cgacttcgca	ggccagctgg	acgccgcgct	60
ccccgtgccc	gtctccgtcg	ggctgctctt	cgaggcgctcc	acgcccagga	agctggccgc	120
gcacctccac	cgtgagatgc	agcggctggc	cgccagggcg	gacggggggc	gcgcctcggc	180
ccccgcaccg	ccgcgcggcg	ccgcgcggcc	cccgtgctg	ccagggagga	ggccgcggag	240
gctccgctgg	cctcctttga	ctcgggtgtg	accaagctcg	aggggtgctc	cgcgctgggtc	300
ggcggctgct	ggagcatcga	cgtggcgaa	tcgagctacc	tcggcttcca	gtggcgggac	360
gagatcgccc	agggcggtgg	ccgggacgtg	cgcacttggg	gcgtccacc	ccccgtggac	420
aggctcgtct	cgtctccgaa	gctgtacgac	gacgtcgagg	cgcgctgttg	cgagctgacc	480
ggcatctgga	agtgcggtct	gtacccgagc	gttaccatgc	tcaacatggg	agtcacccc	540
agcctcgtgg	gcgagagcgg	gttcctcctc	ctggacataa	acgcgcacga	ctgcgtgtag	600
acggccgcca	ggctctgcaa	gaaggggcgc	accgtgggtg	gcctgaggca	caacgacgcg	660
gagcagctcg	agcacatgct	ctcgacgac	ccgcaggggg	ccgacatcac	ctacgtgtgc	720
gacggcggtg	actccacgga	cggagagctc	gccgacttgc	ccgccatatg	tgcttggttg	780
aggccgcgcg	gggccaagat	actcgtagac	gactcgcatg	gctgcggcgt	tcttgccgcg	840
aacccccgact	cggagcaacc	cttcgggtat	ggtggcgcg	gcgtcgtcga	gtacttcggg	900
ctggactacg	cggagaacaa	catcatctac	gccggggcagc	tgagcaaggc	gttcaattcg	960
cccggcggat	tcgtcggcgg	tgccgcgcgag	accgacgaga	agtttggtcat	tctgaacttg	1020
gccaagaact	cgaacacact	cgtgttcgca	ggggccgatct	gtactgccc	cctgtcgagt	1080
gcgaagacga	ccctcgacct	caacgccgc	gaggggggac	ttcagcgcaa	gcggcttctg	1140
gcggcgaccc	tcgaattctg	cgaggggctc	aaggcgctcg	ggtgccccca	cacctaccac	1200
gggttccc						1208

10

<210> 145

<211> 1209

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

15

<400> 145

catggacctc	ctggactccc	tcaacttcac	cgacttcgca	ggccagctgg	atgccgcact	60
ccccgtgccc	gtctccgtcg	ggctgctctt	cgaggcgctcc	acgcccagga	agctggccgc	120
gcacctccac	cgcgagatgc	agcggctggc	cggccaggcg	gacggggggc	cgcgcctcgg	180
ctccgcaccg	gccgccgcgc	ccgcgcgcgc	gcccgcctgcg	gccagggagg	agggccgcgga	240
ggctccgctg	gcctccttcg	actcgggtgtg	caccaagctc	gaggggtgct	ccgcgctggt	300
cgacggctgc	tgggtgcatcg	acgtggcgaa	ctgcagctac	ctcggcttcc	cgtggcgagg	360
cgagatcgcc	gagggcgctgg	accgggacgt	gcgcacttgg	ggcgtccacc	ccccatggac	420
caggctcgtc	tcgtctccga	agctgtacga	cgacgtcgag	gcgcgctggt	gcgagctgac	480
cggcatctgg	aagtgcgttc	tgtacccgag	cgttaccatg	ctcaacatgg	gagtcatccc	540
gagcctcgtg	ggcgagagcg	ggttcctcct	cctggacatc	aacgcccacg	actgtgtgca	600
gacggcgccc	aggctctgca	agaagggcac	caccgtgggtg	cgcctgaagc	acaacgacac	660
ggagcagctc	gagcacatgc	tctcgtagat	cccgcagggg	gccgacatca	cctacgtgtg	720
cgacggcgctg	tactccacgg	acggagagct	cgctgacttg	cccgccatat	gtgcttgttt	780
gagggcacgc	ggggccaaga	tactcgtaga	cgactcgcac	ggctgcggcg	ttcttgcccg	840
caaccccgac	tcggagcaac	cctccgggta	tgggtggcggc	ggcgtcgtcg	agtacttcgg	900
gctggactac	gcggagaaca	acatcatcta	tgccgggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	960
gcccggcgga	ttcgtcggct	gtgcgcgcga	gaccgacgag	aagttcggca	ttctgaactt	1020
ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttcac	agggccgac	tgtactgccg	gcctgtcgag	1080
tgcaagacg	accctcgacc	tcaacgccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggcttct	1140
ggcggcgacc	ctcgaattct	gcgaggggct	caaggcgctt	gggtgcccc	acacctacca	1200
cgggttccc						1209

<210> 146
 <211> 1207
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 146						
catggacctc	ctggactccc	tcaacttcac	cgacttcgca	ggtcagctgg	acgccgcgct	60
ccccgtgccc	gtctccgtcg	ggctgctctt	cgaggcgctcc	acgcccagga	agctggccgc	120
gcacctccac	cgcgagatgc	agcggctggc	cggccaggcg	gacggggggc	cgcgcctcgg	180
ccccgcaccg	gccgccgcgc	ccgcgcgcgc	gcccgcctgcg	gccagggagg	agggccgcgga	240
ggctccgctg	gcctcctttg	actcagtggtg	cgccaagctc	gaggggtgct	ccgcgctggt	300
cgacggctgc	tggcgcatcg	acgtggcgaa	ctgcagctac	ctcggcttcc	agtggcgagg	360
cgagatcgcc	gatggcgctgg	accgggacgt	gcgcacttgg	ggcgtccacc	ccccgtggac	420
caggctcgtc	tcgtccccga	agctgtacga	cgacgtcgag	gcgcgctggt	gcgagctgac	480
cggcatctgg	gagtgcgttc	tgtacccgag	cgttaccatg	ctcaacatgg	gagtcatccc	540
gagcctcgtg	ggcgagagcg	ggttcctcct	cctgacataa	acgcccacga	ctgcgtgcag	600
acggccgcga	ggctctgcaa	gaagggcgc	accgtgggtg	gcctgaggca	caacgacgcg	660
gagcagctcg	agcacatgct	ctcgtcgatc	ccgcaggggg	ccgacatcac	ctacgtgtgc	720
gacggcgctgt	actccacgga	cggagagctc	gccgacttgc	ccgccatatg	tgcttgtctg	780
agggccgcgc	gggcccagat	actcgtagac	gactcgcacg	gctgcggcgt	tcttgccgcg	840
aaccccgact	cggagcaacc	cttcgggtat	ggtggcgcg	gcgtcgtcga	gtacttcggg	900
ctggactacg	cggagaacaa	catcatctac	gccgggcagc	tgagcaaggc	gttcaattcg	960
cccggcggat	tcgtcggctg	tgccgcgcgag	accgacgaga	agttcggcat	tctgaacttg	1020
gccaagaact	cgaacacact	cgtgttcaca	gggcccgatct	gtactgccgg	cctgtcgagt	1080
gcgatgacga	ccctcgacct	caacgccgc	gaggggacct	tcagcgcaag	cggcttctgg	1140
tggcgaccct	cgaattctgt	gaggggctca	agggcgctcg	gtgccccac	acctaccacg	1200
ggttccc						1207

<210> 147
 <211> 873
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense
 <400> 147

ggacgagatc	gccgatggcg	tggaccggga	cgtgcgcact	tggggcgctc	accccccgctg	60
gaccaggctc	gtctcgtctc	cgaagctgta	cgacgacgtc	gaggcgcgct	gttgcgagct	120
gaccggcatc	tggaaagtgcg	ttctgtaccc	gagcggtacc	atgctcaaca	tgggagtcac	180
cccgaacctc	gtgggcgaga	gcgggttcct	cctcctggac	ataaacgccc	acgactgctg	240
gcagacggcc	gccaggctct	gcaagaagg	gcgccaccgtg	gtgcgcctga	ggcacaacga	300
cgcggagcag	ctcagacaca	tgctctcgtc	gatcccgag	gggcccacat	cacctacgtg	360
tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgccgact	agcccaccat	atgtgcttgt	420
ctgaggccgc	gtggggccaa	gatacccgta	gacgactcgc	atggctgcgg	cgttcttgcc	480
cgcaaccccc	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	gcggcgctcg	cgagtacttc	540
gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	agctgagcaa	ggcgttcaat	600
tgcgccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	agaagtccgg	cattctgaac	660
ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	tctgtactgc	cagcctgtcg	720
agtgcgatga	cgaccctcga	cctcaacgcc	gccgaggggg	accttcagcg	caagcggctt	780
ctggcgggcg	ccctcgaatt	ctgtgagggg	ctcaaggcgc	tcgggtgccc	cacacctacc	840
acgggttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc			873

<210> 148
 <211> 597
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 148	
acgagatcgc	cgatggcgctg
ccaggctcgt	ctcgtctccg
ccggcatctg	gaagtgcggt
cgagcctcgt	gggagagagc
agacggccgc	caggctctgc
cgagcagct	cgagcacatg
gcgacggcgt	gtactccacg
tgaggccgcg	cggggccaag
gcaaccccga	ctcggagcaa
rgctggacta	cgcgagaaac
gacccgggacg	tgcgcacttg
acgacgtcga	ggcgcgctgt
gcgttaccat	gctcaacatg
aaacgcccac	gactgcgtgc
gcgcctgagg	cacaacgacg
ggccgacatc	acctacgtgt
gcccgcactt	gcccgcata
tggtgctgtc	gttcttgccc
cggcgtcgtc	gagttacttcg
gctgagcaag	gcgttca

<210> 149
 <211> 723
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 149	
acgagatcgc	cgatggcgctg
ccaggctcgt	ctcgtctccg
ccggcatctg	gaagtgcggt
cgagcctcgt	gggagagagc
agacggccgc	caggctctgc
cgagcagct	cgagcacatg
gcgacggcgt	gtactccacg
tgaggccgcg	cggggccaag
gcaaccccga	ctcggagcaa
ggctggacta	cgcgagaaac
cgcccgccgcg	attcgtcggc
tggccaagaa	ctcgaacaca
gta	
gacccgggacg	tgcgcacttg
acgacgtcga	ggcgcgctgt
gcgttaccat	gctcaacatg
aaacgcccac	gactgcgtgc
gcgcctgagg	cacaacgacg
ggccgacatc	acctacgtgt
gcccgcactt	gcccgcata
tggtgctgtc	gttcttgccc
cggcgtcgtc	gagttacttcg
gctgagcaag	gcgttcaatt
gaagtccggc	attctgaact
ctgtactgcc	ggcctgtcga

<210> 150
 <211> 722
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 150

acgagatcgc	cgatggcggtg	gaccggggacg	tgcgcacttg	ggcggtccac	cccccggtgga	60
ccaggtctcgt	ctcgtctccg	aagctgtacg	acgacgtcgg	ggcggtcgtg	tgcgagctga	120
ccggcatctg	gaagtgcgtt	ctgtaccgga	gcgttaccat	gctcaacatg	ggagtcaccc	180
cgagcctcgt	ggggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	240
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgagg	cacaacgacg	300
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	360
gcgacggcgt	gtattccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgcacata	tgtgcttgtc	420
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggctgcggc	gttcttggtc	480
gcaacccctg	actcggagca	accttcggg	tatggtagcg	gcggcgctcg	cgagtacttc	540
gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	agccgagcaa	ggcgttcaat	600
tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgatg	agaagtccg	cattctgaac	660
ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	tctgtactgc	cggcctgtcg	720
ag						722

<210> 151

<211> 721

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 151

acgagatcgt	cgatggcggtg	gaccggggacg	tgcgcacttg	ggcggtccac	cccccggtgga	60
ccaggctcgt	ctcgtctccg	aagctgtacg	acgacgtcga	ggcggtcgtg	tgcgagctga	120
ccggcatctg	gaagtgcgtt	ctgtaccgga	gcgttaccat	gctcaacatg	ggagtcaccc	180
cgagcctcgt	ggggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	240
agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	gcgcctgagg	cacaacgacg	300
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcgg	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	360
gcgacggcgt	gtattccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgcacata	tgtgcttgtc	420
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggctgcggc	gttcttggtc	480
gcaacccgga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggcgg	cgcgctcgtc	gagtacttcg	540
ggctggacta	cgcggagaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	600
cgcccgcgcg	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaagtccggc	attctgaact	660
tggccaagaa	ctcaaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcga	720
g						721

<210> 152

<211> 872

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 152

acgagatcgc	cgatggcggtg	gaccggggacg	tgcgcacttg	ggcggtccac	cccccggtgac	60
caggctcgtc	tcgtctccga	agctgtacga	cgacgtcgag	gcgcgtcgtt	gcgagctgac	120

cggcacatctg	aagtgcgttc	tgtaccgag	cgttaccatg	ctcaacatgg	gagtcacccc	180
gagcctcgtg	ggcgagagcg	ggttcctcct	cctggacata	aacgcccacg	actgcgtgca	240
gacggccgcc	aggctctgca	ggaagggcgc	caccgtgggtg	gcctgaggc	acaacgacgc	300
ggagcagctc	gagcacatgc	tctcgtcgat	cccgcagggg	gccgacatca	cctacgtgag	360
cgacggcggtg	tactccacgg	acggagagct	cgccgacttg	cccgcacatc	gtgcttgctt	420
gaggccgcgc	ggggccaaga	tactcgtaga	cgactcgcgt	ggctgcggcg	tccttggtcg	480
caaccccgac	tcggagcaac	ccttcgggta	tgggtggcgc	ggcgctcgtc	agtacttcgg	540
gctggactac	gcggagaaca	acatcatcta	cgccggggcag	ctgagcaagg	cgttcaattc	600
gcccggcgga	ttcgtcggct	gtgcgcgcga	gaccgacgag	aagtccggca	ttctgaactt	660
ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttca	agggccgac	tgtactgccg	gcctgtcgag	720
tgcgatgacg	accttcgacc	tcaacgccgc	cgagggggac	cttcagcgca	agcggcttct	780
ggcgccgacc	ctcgaattct	gtgaggggct	caaggcgctc	gggtgcccc	acacctacca	840
cgggttcccc	atcgtcaaca	tctactggac	cc			872

<210> 153

<211> 873

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 153

acgagatcgc	cgatggcgtg	gacctggacg	tgcgcacttg	gggcgtccac	ccccctgga	60
ccaggctcgt	ctcgtctccg	aagctgtacg	acgacgtcga	ggcgcgctgt	tgcgagctga	120
ccggcatctg	gaagtgcgtt	ctgtaccgga	gcgttaccat	gctcaacatg	ggagtcatcc	180
cgagcctcgt	gggcgagagc	gggttcctcc	tcctggacat	aaacgcccac	gactgcgtgc	240
agacggccgc	caggctctgc	aagaaggcgc	ccaccgtggt	gtgcctgagg	cacaacgacg	300
cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	ggccgacatc	acctacgtgt	360
gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgccgactt	gcccgccata	tgtgcttgtc	420
tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	tggctgcggc	gttcttgccc	480
gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggcgg	cggcgtcgtc	gagtacttcg	540
ggctggacta	cgcggagaac	aacatcatct	acgccgggca	gctgagcaag	gcgttcaatt	600
cgcccggcgg	attcgtcggc	tgtgcgcgcg	agaccgacga	gaagtccggc	attctgaact	660
tgccaagaa	ctcgaacaca	ctcgtgttca	cagggccgat	ctgtactgcc	ggcctgtcaa	720
gtgcgatgac	gacctcgcac	ctcaacgccg	caggggggga	ccttcagcgc	aagcggcttc	780
tgggcggcgc	cctcgaattc	tgtgaggggc	tcaaggcgct	cgggtgcccc	cacacctacc	840
acgggttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccc			873

5

<210> 154

<211> 827

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

10

<400> 154

ccaccccccg	tggaccaggc	tcgtctcgtc	ttcgaagctg	tacgacgacg	tcgaggcgcg	60
ctgttgcgag	ctgaccggca	tctggaagtg	cgttctgtac	ccgagcggtta	ccatgctcaa	120
catgggagtc	atcccgagcc	tcgtggcgga	gagcgggttc	ctcctcctag	acataaacgc	180
ccacgactgc	gtacagacgg	ccgccaggct	ctgcaagaag	agcgcctccg	tgggtgcgct	240
gaggcacaac	gacgcggagc	agctcgagca	catgctctcg	tcgatcccg	agggggcgga	300
catcacctac	gtgtgcgacg	gcgtgtactc	caaggacgga	gagctcgccg	acttgcccgc	360
catatgtgct	tgtctgtggc	cgcgcggggc	caagatactc	gtagacgact	cgcgtggctg	420
cggcgttctt	ggccgcaacc	ccgactcgga	gcaacccttc	gggtatggtg	gcggcggcgt	480
cgtcgagtac	tacgggctgg	actacgcgga	gaacaacatc	atctacgccg	ggcagctgaa	540
caaggcgctt	aattcgcccg	gcggattcgt	cggctgtgcg	cgcgagaccg	acgagaagtt	600
ggcattctcg	aacttggtca	agaactcgaa	cacactgtg	ttcacagggc	cgatctgtac	660
tgccggcccg	tcagtgcgga	tgacgacct	cgaacctcaac	gccgccgagg	gggaccctca	720
gcgcaagcgg	cttctggcgg	cgacctcgga	attctgtgag	gggtcgaagg	cgctcgggtg	780
ccccacacc	taccacgggt	tcccatcgt	caacatctac	tggaccc		827

15

<210> 155

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 155

ccccccgtgg	accaggtcgt	tctcgtctcc	gaagctgtgc	gacgacgtcg	aggcgcgctg	60
ttgcgagctg	accggcatct	ggaagtgcgt	tctgtaccgg	agcgttacca	tgtcaacat	120
gggagtcac	ccgagcctcg	tgggcgagag	cgggttcctc	ctcctgggca	taaacgcca	180
cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	tgcgcctgag	240
gcacaacgac	gcggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcccgcagg	gggccgacat	300
cacctacgtg	tgcgacggtg	tactccacgg	acggagagct	cgcgcacttg	cccgccatat	360
gtgctgtctt	gaggccgcgc	ggggccaagg	tactcgtaga	cgactcgcat	ggctgcggcg	420
ttcttggtcg	caaccccgac	tcggagcaac	ccttcgggta	tgggtgcggc	ggcgtcgtcg	480
agtacttcgg	gctggactac	gcggagaaca	acatcatcta	cgcggggcag	ctgagcaagg	540
cgttcaattc	gcccggcgga	ttcgttggtc	gtgcgcgcga	gaccgacgag	aagttcgcca	600
ttctgagctt	ggccaagaac	tcgaacacac	tcgtgttcac	agggccgata	tgtactgccg	660
gcctgtcgag						670

20

<210> 156

<211> 533

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 156

tcgagggcgct	ctgttgcgag	ctgaccggca	tctggaagtg	cgttctgtac	ccgagcggtta	60
ccatgctcaa	catgggagtc	atcccagacc	tcgtgggcga	gagcgggttc	ctcctcctgg	120
acataaatgc	ccacgactgt	gtgcagacgg	ccgccaggct	ctgcaagaag	ggcgccaccg	180
tgggtgcgct	gaggcacaac	gacgcggagc	agctcgagca	catgctctcg	tcgatcccgc	240
agggggccga	catcacctac	gtgtgcgacg	gcgtgtactc	cacggacgga	gagctcgccg	300
acttgcccgc	catatgtgct	tgtttgaggg	cgcgcggcgc	caagatactc	gtagacgact	360
cgcattggctg	cggcgttctt	ggccgcaacc	ccgactcgga	gcaacccttc	gggtatggtg	420
gcggcggcgt	cgctcagtag	ttcgggctgg	actacgcgga	gaacaacatc	atctacgccg	480
ggcagctgag	caaggcggtc	aattcgcccc	gcggattcgt	cggctgtgcg	cgc	533

5

<210> 157

<211> 1414

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 157

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctcg	tgggagagag	cgggttcctc	ctcctggaca	60
tcaacgcccc	cgactgtgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	120
tgcgcctgaa	gcacaacgac	acggagcagc	tcgagcacat	gctctcgctg	atcccgcagg	180
gggcccagac	cacctacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgtctgact	240
tgcccggccat	atgtgcttgt	ttgaggccac	gcggggccaa	gatactcgta	gacgactcgc	300
atggctgcgg	cggttcttgg	cgcaaccctg	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	360
gcggcgctcg	cgagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tatgcccggc	420
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	480
agaagttcgg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cgccctgtcg	agtgcgaaga	cgaccctcga	cctcaacgcc	gccgaggggg	600
accttcagcg	caagcggtt	ctggcgccga	ccctcgaatt	ctgcgagggg	ctcaaggcgc	660
ttgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtaaa	catctactgg	accccggctg	720
agggtgtgcg	agaggtgtac	agggagctga	tgagcgcgag	gcagggcgcg	ttccagtggg	780
gcgtcgtcac	gacccccatg	tggcacccca	tcgccccgaa	gggccacgag	atgctgcgct	840
tcaggttcac	gtcgctccac	gacgaggccg	ccgtgcgcca	catcctcgctg	atcctcgagg	900
acctgatcaa	gcgctaccgc	ccctccgcgc	tgccgcgcgc	catctgatcg	gccgcccagag	960
ccgcaggacc	agcgccgctc	atcccagggg	tggtttaagg	gattgtttta	tcttttcaat	1020
ctagtacgag	tgtttttaat	gtgcaagcag	caagggtcag	gcggattctg	ggcttggtaca	1080
ccaagggcca	ggcaggtttt	ggctgcccgc	gttttgatcc	tgctgtgttg	tcgtagcggtg	1140
caagcagcaa	gggtcaggcg	gattctgggc	ttgtacacca	agggccaggc	aggttttggc	1200
tgccgcggtt	ttgatcctgc	tgtgttgcgc	tagcgtgcaa	gcagcgaggg	tcaggcggtat	1260
tttgggcttt	gctgatcctg	atccaaggta	tgaccagcca	tgccgcacat	tcgcgtctaa	1320
ggtagcgctt	gtccgtgtct	gccatcttag	ctgggtcacta	ttcgcaccaa	cactcgcaag	1380
gtacgcgtct	gctaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaa			1414

15

<210> 158

<211> 1315

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

20

<400> 158

tgctcaacat	gggagtcac	ccgagcctcg	tgggagagag	cggttcctc	ctcctggaca	60
taaaacgcca	cgactgcgtg	cagacggcgg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	120
tgcgcctgag	gcacaacgac	gcggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcccgagg	180
gggcccacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgccgact	240
tgcccgcctat	atgtgcttgt	ctgagggccg	gcggggccaa	gatactcgta	gacgactcgc	300
atggttgccg	cggttcttgg	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	360
gcggcgctcg	cgagtacttc	gggctggact	acgaggagaa	caacatcatc	tacgcccggc	420
agctgagcaa	ggcggttcaat	tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	480
agaagtctga	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	540
tctgtactgc	cgccctgtcg	agtgcgatga	cgaccctcga	cctcaacgcc	gccgaggggg	600
accttcagcg	caagcggtct	ctggcgggcg	ccccgaatt	ctgtgagggg	ctcaaggcgc	660
tcgggtgccc	ccacacctac	cacgggttcc	ccatcgtcaa	catctactgg	accccggtcg	720
agggtgtcgc	agaggtgtac	agcgagctga	tgagcgcgag	gcagggcgcg	ttccagctgg	780
gcgtcgtcac	gacccccatg	tgccacccca	tcgctccgaa	ggccacgag	atgctgcgct	840
tcacgttcac	gtcgctccac	gacgaggccg	ccgtgcgcca	catcctcgtg	atcctcgagg	900
acctgatcaa	gcgctacccg	ccctccggcg	tgccgcggcg	catctgatcg	gccgcccggg	960
ccgcaggacc	agcgcgctc	atcccagggg	ttgttttaag	gattgtttta	tcttctcaat	1020
ctagtcagcg	tggttttaat	gtgcaagcag	caagggtcaa	gcggattctg	ggcttgtaga	1080
ccaagggcca	ggcaggtttt	ggctgcggcc	attttgatcc	tgctgtgttg	tcgtagcgtg	1140
caagcagcaa	gggcccaggc	gagtcgtgtg	ttgtacacca	agggccaggc	aggttttggt	1200
tgccgcccgt	tttatccggc	tgtgtgtgtg	tagcgtgcaa	gcagcaaggg	tcaggcggat	1260
ttggggcttt	gctgatcctg	atccaaggta	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaa	1315

<210> 159
 <211> 1453
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 159						
gctcaacatg	ggagtcaccc	cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	60
aaacgcccac	gactgcgtgc	agacggccgc	caggctctgc	aagaaggggc	ccaccgtggt	120
gcgcctgaag	cacaacgacg	cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	180
ggccgacatc	acctacgtgt	gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgcccactt	240
gcccgcata	tgtgcttgtt	tgaggccgcg	cggggccaa	atactcgtag	acgactcgca	300
tggctgcggc	gttcttggcc	gcaaccccg	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggcgg	360
cgccgctcgc	gagtacttcg	ggctggacta	cgcggagaa	aacatcatct	acgcccggca	420
gctgagcaag	gcgttcaatt	cgcccggcgg	attcgtcggc	tggtgcgcgc	agaccgacga	480
gaagtctggc	attctgaact	tgccaagaa	ctcaaacaca	ctcgtgttca	caggggccgat	540
ctgtactgcc	ggcctgtcga	gtgcgatgac	gaccctcgac	ctcaacggcg	ccgaggggga	600
ccttcagcgc	aagcggttcc	tgccggcgac	cctcgaattc	tgcgaggggc	tcaaggcgct	660
cgggtgcccc	cacacctacc	acgggttccc	catcgtcaac	atctactgga	ccccggctga	720
gggtgtcgca	gaggtgtaca	gggagctgat	gagcgcgagg	caggggcgct	tccagctggg	780
cgctcgtcac	acccccatgt	ggcaccat	cgcccaaa	ggccacgaga	tactgcgctt	840
ccagttcacg	tcgctccacg	acgaggccgc	cgtgcgccac	atcctcgtga	tcctcgagga	900
cctgatcaag	cgctacccgc	cctccggcgt	gcccgcgcgc	atctgatcgg	ctgcccggagc	960
cgcaggacca	gcgcccgtca	tcccagggt	tgtttaagg	attgttgagt	cttttcaatc	1020
tagtcagcgt	gttttttaag	tgcaagcag	aagggtcagg	cggattctgg	gcttgtagac	1080
caagggccag	gcaggttttg	gctgcccggc	ttttgatcct	gctgtgttgt	cgtagcgtgc	1140
aagcagcaag	ggtcaggcgg	agtctgggct	tgtacaccaa	gggcccaggc	ggttttggct	1200
gcccgcgttt	tgatctcgtc	gtgtgtgtgt	agcatgcaag	cagcaagggt	caggcggatt	1260
ttgtggcctt	gctgatcctg	atccaaggta	tgaccagcca	tgccgcacat	tcgctctcaa	1320
tgtagcgcct	gtccatgtct	gccatcttag	ctggctacta	tttgcacaa	cactcgcaag	1380
gtacgcgtct	gctacgcaca	ggtgacaatt	gacattgtgt	atcgagccac	ggaagggaga	1440
aaaaaaaaaa	aaa					1453

<210> 160
 <211> 469
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 160						
gctcaacatg	ggagtcaccc	cgagcctcgt	gggagagagc	gggttcctcc	tcctggacat	60

aaacgcgcac	gactgcgtgc	agacggccgc	caggctctgc	aagaagggcg	ccaccgtggt	120
gcgcctgagg	cacaacgacg	cggagcagct	cgagcacatg	ctctcgtcga	tcccgcaggg	180
ggccgacatc	acctacgtgt	gcgacggcgt	gtactccacg	gacggagagc	tcgcccactt	240
gccccccata	tgtgcttggt	tgaggccgcg	cggggccaag	atactcgtag	acgactcgca	300
tggctgcgcc	gttcttgggc	gcaaccccga	ctcggagcaa	cccttcgggt	atggtggcgg	360
cggcgtcgtc	gagtacttcg	ggctggacta	cgcggagaac	aacatcatct	gcgccgggca	420
gctgagcaag	gcgttcaatt	cgcgcggcgg	attcgtcggc	tgtgcgcgc		469

<210> 161
 <211> 457
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 161						
agtcatcccc	agcctcgtgg	gcgagagcgg	gttcctcctc	ctggacataa	acgcccacga	60
ctgtgtgcag	acggccgcca	ggctctgcaa	gaagggcgcc	accgtggtgc	gcctgaagca	120
caacgacacg	gagcagctcg	agcacatgct	ctcgtcgatc	ccgcaggggg	ccgacatcac	180
ctacgtgtgc	gacggcgtgt	actctacgga	cggagagctc	gccgacttgc	ccgccatatg	240
tgcttggttt	aggccgcgcg	gggccaagat	actcgtagac	gactcacatg	gctgcggcgt	300
tcttgccgcg	aaccccgact	cggagcaacc	cttcgggtat	ggtggcgccg	gcgtcgtcga	360
gtacttcggg	ctggactacg	cggagaacaa	catcatctac	gccgggcagc	tgagcaaggc	420
gttcaattcg	cccggcggat	tcgtcggctg	tgccgcgc			457

<210> 162
 <211> 424
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 162						
cctcctcctg	gacataaacg	cccacgactg	cgtgcagacg	gccgccaggc	tctgcaagaa	60
gggcgccacc	gtggctgcgc	tgaagcacia	cgacgcggag	cagctcgagc	acatgctctc	120
gtcgatcccc	cagggggccg	acatcaccta	cgtgtgcgac	gacgtgtact	ccacggacgg	180
agagctcgcc	gacttgcccg	ccatatgtgc	ttgtttgagg	ccgcgcgggg	ccaagatact	240
cgtagacgac	tcgcatggct	gcggcgctct	tgccgcgaac	cccgactcgg	agcaaccctt	300
cgggtatggt	ggcggcgccg	tcgtcgagta	cttcgggctg	gactacgcgg	agaacaacat	360
catctacgcc	gggcagctga	gcaaggcgtt	caattcgccc	ggcggattcg	tcggctgtgc	420
gcgc						424

<210> 163
 <211> 503
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 163						
taaacgcccc	cgactgcgtg	cagacggccg	ccaggctctg	caagaagggc	gccaccgtgg	60
tgccctgag	gcacaacgac	gcggagcagc	tcgagcacat	gctctcgtcg	atcccgcagg	120
gggcgcgacat	cacctacgtg	tgcgacggcg	tgtactccac	ggacggagag	ctcgcggact	180
tgcccgccat	atgtgcttgt	ctgaggccgc	gcggggccaa	gatactcgta	gacgactcgc	240
atggctgcgg	cgttcttggc	cgcaaccccg	actcggagca	acccttcggg	tatggtggcg	300
gcggcgtcgt	cgagtacttc	gggctggact	acgcggagaa	caacatcatc	tacgccgggc	360
agctgagcaa	ggcgttcaat	tcgcccggcg	gattcgtcgg	ctgtgcgcgc	gagaccgacg	420
agaagtccg	cattctgaac	ttggccaaga	actcgaacac	actcgtgttc	acagggccga	480
tctgtactgc	cggcctgtcg	agt				503

<210> 164
 <211> 344
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 164

tgaggcacia	cgacgcggag	cagctcgagc	acatgctctc	gtcgatcccg	cagggggccg	60
acatcaccta	cgtgtgcgac	ggcgtgtact	ccacggacgg	agagctcgcc	gacttgcccc	120
ccatatgtgc	ttgtttgagg	ccgcgcgggg	ccaagatact	cgtagacgac	tcgcatggct	180
gcggcggtct	tggccgcaac	cccgaactcg	agcaaccctt	cgggtatggt	ggcggcgggc	240
tcgtcgagta	cttcggggctg	gactacgcgg	agaacaacat	catctacgcc	gggcagctga	300

gcaaggcggtt	caattcgccc	ggcggattcg	tcggctgtgc	gcgc	344
-------------	------------	------------	------------	------	-----

<210> 165
 <211> 302
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 165	
cgatcccga	ggggggcgac atcacctacg tgtgcgacgg cgtgtactcc acggacggag 60
agctcgccga	cttgcccggc atatgtgctt gtttgaggcc gcgcggggcc aagataactcg 120
tagacgactc	gcatggctgc ggcgttcttg gccgcaaccc cgactcggag caacccttcg 180
ggatgggtgg	cgccggcgctc gtcgagtact tcgggctgga ctacgcggag aacaacatca 240
tctacgcggg	gcagctgagc aaggcggtca attcgcccgg cggattcgtc ggctgtgcgc 300
gc	302

<210> 166
 <211> 1286
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 166	
accgtagcca	ttttggctca agtgaggcct gtgcgcgcca gccaaactcg gatcattcct 60
ggccactgcg	ccgccatctg tgccggcgcc ccgaccgggg gcacctcatg tccgtggagc 120
atgcgacgat	cgccggacgg gccccgaacg ggatcgacct ggcgacaaat gccttcattg 180
tcgtccacgg	ctggacggcg gcgcccctgc tcctggagct cgtggccaac ttcagcgcg 240
ccctggaggg	gcgggcccag accgcggggg agctggccgc ggagacgggc gccgaggagg 300
ggcccctggc	gatectcttc cgcgcctgca gcgtcctggg ctacgtgcgc ttcgacgccc 360
agagcagggc	gtactccctg gtcccggggc cggagctgga cgagctcagg accgtgctcc 420
accctgcgtc	ggaggtcgcg aggggcctgc aggagctgta cagcgaggtc gccccccct 480
tccagctgcc	ctcggaggac gcggcgcggt gcctggccct ctgggaggag cagtggccct 540
cctggagcca	gtgcaggagc agggccctgg gcgtcctgct ggacggcgct gtgctggcg 600
cgctgcttgt	gtccgtgacg tactctctga ggtgggacga ggaggggcag gagcacggca 660
gggataacgt	catggagcgc ttcgacttca gcaagatgtt gccggcgag cggtccgcgc 720
tcggggacat	cttcgagcag ttggggcgctg gcactatgaa cggaaggggc gtgatcatga 780
tgctgtcaaa	ggggggccatg gcgttgacg gatgtactc ctactacgtc ccactgtcgt 840
acgcaccgct	gatggcccag atctcgccga tcctgtttga tgatgcgggc tgggggttca 900
ctgacgcggg	gacagactcc ttcgacgacg tggaggagca tgttgacaga atcttgaatg 960
ttgttggcag	tggtgcgcaa caccggaccc tctttaagga tatgatgcga cacatcagta 1020
ccgtgttcaa	gggcgaggca tttgccttgc agccaagttt cattgtggac actggctgtg 1080
gcgacggggg	cctgctcata catatctatg aacatatcaa acagcacaca ccccggggga 1140
aagtgtttga	tcagttccct ctgacgatgg acggcggtga ccacaatgag gatccgcgag 1200
tgacaacagc	tgtgaatctg agcaagcagg gcgtcccga cgtggtcatc tctggcgatg 1260
tgggtaagcc	tgccgagata cttgcc 1286

<210> 167
 <211> 1282
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 167

```

accgtagcca ttttggtcca aggcctgtgc gcgccagcca aactcggatc attcctggcc 60
actgcgcgcg catccgtgcc ggcccccga cggggggcac ctcatgtccg tggagcatgc 120
gacgatcgcg gacgcggtcc cgaacgggat cgacctggcg acaaatgcct tcatgctcgt 180
ccacggctgg acggcgggcg ccctgtcctt ggagctcgtg gccaaactca gcgcgccct 240
ggagggggcg gcccagaccg cgggggagct ggccgaggag acggggcgcg aggagggggc 300
cctggcgatc ctctcccgcg cctgcagcgt cctgggctac gtgcgcttcg acgcccagag 360
cagggcgtag tccctgggcc cggggccgga gctggacgag ctcaggaccg tgctccaccc 420
tgcgtcggag gtcgcgaggg gcctgcagga gctgtacagc gaggtcgccc ccccttcca 480
gctgcctcgc gaggacgcgg cgcggtgcct ggccctctgg gaggagcagc ggccctcctg 540
gagccagtgc aggagcaggg ccctggcggt cctgctggac ggcgctgtgc tggcgccgct 600
gcttgtgtcc gtgacgtact cctcgaggtg ggacgaggag ggccaggagc acggcagggg 660
taatgtcatg gagcgcttcg acttcagcaa gatgttgccg gcgcagcggg ccgcgctcgg 720
ggacatcttc gagcagttgg gcgtcggcac tatgaacgcg aaggcggtga tcatgatgtc 780
gtcaaagggg gccatggtgt tgcagcgatg ctactcctac tacgtccac tgctcgtacgc 840

```

```

accgctgatg gccagatct cgccgatcct gtttcatgat gcgggctggg ggttcaactga 900
cgcggggaca gactccttcg acgacgtgga ggagcatggt gacagaatct tgaatgttgt 960
tggcagtggt gcgcaacacc ggacctctt taaggatatg atgcgacaca tcagtaccgt 1020
gttcaaggcg gaggcatttg ccttcagcgg aagtttcgtt gtggacactg gctgtggcga 1080
cgggagcctg ctatacata tctatgaaca tatcaaacag cacacacccc gggggaaagt 1140
gcttgatcag ttcctctga cgatggtcgg cgttgacctc aatgaggatc gcgagtgac 1200
aacagctgtg aatctgagca agcagggcgt ccgcacgtg gtcactctcg gcgatgtggg 1260
taagcctcgg gagatacttg cc 1282

```

<210> 168
 <211> 1267
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 168
accgtagcca ttttggtcca agccaaactc ggatcattcc tggccactgc gccgccatcc 60
gtgcggggcg cccgaccggg ggcacctcat gtccgtggag catgcgacga tcgcggacgc 120
ggtcccggac gggatcgacc tggtagaaaa tgccttcagt ctgcgtccacg gctggacggc 180
ggcgccctcg ctctggagc tctgtggcaa cttcagcgcg cccctggagg ggccggccca 240
gaccgcgggg gagctggccg cggagacggg cgcgaggag gggccctgg cgatcctcct 300
ccgcgcctgc agcgtcctgg gctacgtgcg cttcgacgcc cagagcaggg cgtactccct 360
ggtcccgggg ccggagctgg acgagctcag gaccgtgctc caccctgcgt cggagggtcg 420
gaggggctcg caggagctgt acagcgaggt cgcgcgcgc ttcagctgc cctcggagga 480
cgcgggcgcg tgcctggccc tctgggagga gcagcgggcc tccctggagcc agtgagagag 540
cagggccctg ggcgtcctgc tggacggcgc tgtgctggcg ccgctgcttg tgtccgtgac 600
gtactcctcg aggtgggacg aggagggcca ggagcacggc agggataacg tcatggagcg 660
cttcgacttc agcaagatgt tgcggcgca gcggtccgcg ctcggggaca tcttcgagca 720
gttgggctgc ggcactatga acgcgaagg cgtgatcatg atgtcgtcaa agggggccat 780
ggcggtgcag cgatgctact cctactacgt cccactgtcg tacgcaccgc tgatggccca 840
gatctcgccg atcctgtttg atgatgcggg ctgggggttc tctgacgcgg ggacagactc 900
cttcgacgac gtggaggagc atgttgacag aatcttgaat gttgttgcca gtggtgcgca 960
acaccggacc ctctttaagg atatgatgcg acacatcagt accgtgttca agggcgaggc 1020
atctgccttg cagccaagt tctgttgga cactggctgt ggcgacggga gcctgctcat 1080
acatatctat gaacatatca aacagcacac accccgggg aaagtgttg atcagttccc 1140
tctgacgacg gtcggcggtg acctcaatga ggatccgcga gtgacaacag ctgtgaatct 1200
gagcaagcag ggcgtcccg acgtggtcat ctctggcgat gtgggtaagc ctgcggagat 1260
acttgcc 1267

```

<210> 169
 <211> 1267
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 169

accgtagcca	ttttggetca	agccaaaccc	ggatcattcc	tggccactgc	gccgccatcc	60
gtgccggcgc	cccgaaccggg	ggcacctcat	gtccgtggag	catgcgacga	tcgcggacgc	120
ggtcccgaac	gggatcgacc	tggcgacaaa	tgccttcacg	ctcgtccacg	gctggacggc	180
ggcgcccctg	ctcctggagc	tcgtggccaa	cttcagcgcg	ccctggagg	ggcgggccca	240
gaccgcgggg	gagctggccg	cggagacggg	cgccgaggag	gggcccctgg	cgatcctcct	300
ccgcgcctgc	agcgtcctgg	gctacgtgcg	cttcgacgcc	cagagcaggg	cgtactccct	360
ggtcccgggg	ccggagctgg	acgagctcag	gaccgtgctc	caccctgcgt	cggaggtcgc	420
gaggggcctg	caggagctgt	acagcgaggt	cgcccccccc	ttccagctgc	cctcggagga	480
cgcggcgcgg	tgcctggccc	tctgggagga	gcagcggccc	tcctggagcc	agtgcaggag	540
cagggcccctg	ggcgtcctgc	tggacggcgc	tgtgctggcg	ccgctgcttg	tgtccgtgac	600
gtactcctcg	aggtgggacg	aggagggcca	ggagcacggc	agggataacg	tcattggagcg	660
cttcgacttc	agcaagatgt	tgccggcgca	gcggtccgcg	ctcggggaca	tcttcgagca	720
gttgggcgtc	ggcactatga	acgcgaagg	cgtgatcatg	atgtcgtcaa	agggggccat	780
ggcggttcag	cgatgctact	cctactacgt	cccactgtcg	tacgcaccgc	tgatggccca	840
gatctcgccg	atcctgtttg	atgatgcggg	ctgggggttc	actgacgcgg	ggacagactc	900
cttcgacgac	gtggaggagc	atgttgacag	aaccttgaat	gttgttgcca	gtggtgcgca	960
acaccggacc	ctctttaagg	atatgatgcg	acacatcagt	accgtgttca	agggcgaggc	1020
atttgccttg	cagccaagtt	tcgttggtga	cactggctgt	ggcgacggga	gcctgctcat	1080
acatatctat	gaacatatca	aacagcacac	accccggggg	aaagtgcctg	atcagtttcc	1140

tctgacgatg	gtcggcgctg	acctcaatga	ggatccgcga	gtgacaacag	ctgtgaatct	1200
gagcaagcag	ggcgtcccgc	acgtggtcat	ctctggcgat	gtgggtaagc	ctgcggagat	1260
acttgcc						1267

<210> 170
 <211> 1267
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

accgtagcca	ttttggetca	agccaaactc	ggatcattcc	tggccactgc	gccgccatcc	60
gtgccggcgc	cccgaaccggg	ggcacctcat	gtccgtggag	catgcgacga	tcgcggacgc	120
ggtcccgaac	gggatcgacc	tggcgacaaa	tgccttcacg	ctcgtccacg	gctggacggc	180
ggcgcccctg	ctcctggagc	ttgtggccaa	cttcagcgcg	ccctggagg	ggcgggccca	240
gaccgcgggg	gagctggccg	cggagacggg	cgccgaggag	gggcccctgg	cgatcctcct	300
ccgcgcctgc	agcgtcctgg	gctacgtgcg	cttcgacgcc	cagagcaggg	cgtactccct	360
ggtcccgggg	ccggagctgg	acgagctcag	gaccgtgctc	caccctgcgt	cggaggtcgc	420
gaggggcctg	caggagctgt	acagcgaggt	cgcccccccc	ttccagctgc	cctcggagga	480
cgcggcgcgg	tgcctggccc	tctgggagga	gcagcggccc	tcctggagcc	agtgcaggag	540
cagggcccctg	ggcgtcctgc	tggacggcgc	tgtgctggcg	ccgctgcttg	tgtccgtgac	600
gtactcctcg	aggtgggacg	aggagggcca	ggagcacggc	agggataacg	tcattggagcg	660
cttcgacttc	agcaagatgt	tgccggcgca	gcggtccgcg	ctcggggaca	tcttcgagcg	720
gttgggcgtc	ggcactatga	acgcgaagg	cgtgatcatg	atgtcgtcaa	agggggccat	780
ggcggttcag	cgatgctact	cctactacgt	cccactgtcg	tacgcaccgc	tgatggccca	840
gatctcgccg	atcctgtttg	atgatgcggg	ctgggggttc	actgacgcgg	ggacagactc	900
cttcgacgac	gtggaggagc	atgttgacag	aaccttgaat	gttgttgcca	gtggtgcgca	960
acaccggacc	ctctttaagg	atatgatgcg	acacatcagt	accgtgttca	agggcgaggc	1020
atttgccttg	cagccaagtt	tcgttggtga	cactggctgt	ggcgacggga	gcctgctcat	1080
acatatctat	gaacatatca	aacagcacac	accccggggg	aaagtgcctg	atcagtttcc	1140
tctgacgatg	gtcggcgctg	acctcaatga	ggatccgcga	gtgacaacag	ctgtgaatct	1200
gagcaagcag	ggcgtcccgc	acgtggtcat	ctctggcgat	gtgggtaagc	ctgcggagat	1260
acttgcc						1267

<210> 171
 <211> 1267
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 171

```

accgtagcca ttttggtca agccaaactc ggatcattcc tggccactgc gccgtcatcc 60
gtgccggcgc cccgaccggg ggcacctcat gtccgtggag catgcgacga tcgaggacgc 120
ggtcccgaac gggatcgacc tggcgacaaa tgccctcatg ctccgtccacg gctggacggc 180
ggcgcccctg ctccctggagc tcgtggccaa cttcagcgcg cccctggagg ggcgggccca 240
gaccgcgggg gagctggccg cggagacggg cgccgaggag gggcccctgg cgatccctct 300
ccgcgcctgc agcgtccctg gctacgtgcg cttcgacgcc cagagcaggg cgtactccct 360
ggtcccgggg cgggagctgg acgagctcag gaccgtgctc caccctgcgt cggaggtcgc 420
gaggggcctg caggagctgt acagcgaggt cgcctggagg tccagctgc cctcggagga 480
cgcgggcgcg tgcctggccc tctgggagga gcagcgggcc tcctggagcc agtgaggag 540
cagggcccctg ggcgtcctgc tggacggcgc tgtgctggcg ccgctgcttg tgtccgtgac 600
gtactcctcg aggtgggacg aggggggcca ggagcacggc agggataacg tcatggagcg 660
cttcgacttc agcaagatgt tgccggcgca gcggtccgcg ctccgggaca tcttcgagca 720
gttgggcgtc ggcactatga acgcgaaggg cgtgatcatg atgtcgtcaa agggggccat 780
ggcggttcag cgatgctact cctactacgt cccactgtcg tacgcaccgc tgatggccca 840
gatctcgccg atcctgtttg atgatgcggg ctgggggttc actgacgcgg ggacagactc 900
cttcgacgac gtggaggagc atgttgacag aatcttgaat gttgttgga gtggtgcgca 960
acaccggacc ctctttaagg atatgatgcg acacatcagt accgtgttca agggcgaggc 1020
atgtgccttg cagccaagtt tcgttgtgga cactggctgt ggcgacggga gcctgctcat 1080
acatatctat gaacatatca aacagcacac accccggggg aaagtgtctg atcagttccc 1140
tctgacgatg gtcggcgctg acctcaatga ggatccgcga gtgacaacag ctgtgaatct 1200
gagcaagcag ggcgtcccg cgtggtcat ctctggcgat gtgggtaagc ctgaggagat 1260
acttgcc 1267

```

<210> 172

<211> 1267

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 172

```

accgtagcca ttttggtca agccaaactc ggatcattcc tggccactgc gccgcatcc 60
gtgccggcgc cccgaccggg ggcacctcat gtccgtggag catgcgacga tcgaggacgc 120
ggtcccgaac gggatcgacc tggcgacaaa tgccctcatg ctccgtccacg gctggacggc 180
ggcgcccctg ctccctggagc tcgtggccaa cttcagcgca cccctggagg ggcgggccca 240
gaccgcgggg gagctggccg cggagacggg cgccgaggag gggcccctgg cgatccctct 300
ccgcgcctgc agcgtccctg gctacgtgcg cttcgacgcc cagagcaggg cgtactccct 360
ggtcccgggg cgggagctgg acgagctcag gaccgtgctc caccctgcgt cggaggtcgc 420
gaggggcctg caggagctgt acagcgaggt cgcctggagg tccagctgc cctcggagga 480
cgcgggcgcg tgcctggccc tctgggagga gcagcgggcc tcctggagcc agtgaggag 540
cagggcccctg ggcgtcctgc tggacggcgc tgtgctggcg ccgctgcttg tgtccgtgac 600
gtactcctcg aggtgggacg aggggggcca ggagcacggc agggataacg tcatggagcg 660
cttcgacttc agcaagatgt tgccggcgca gcggtccgcg ctccgggaca tcttcgagca 720
gttgggcgtc ggcactatga acgcgaaggg cgtgatcatg atgtcgtcaa agggggccat 780
ggcggttcag cgatgctact cctactacgt cccactgtcg tacgcaccgc tgatggccca 840
gatctcgccg atcctgtttg atgatgcggg ctgggggttc actgacgcgg ggacagactc 900
cttcgacgac gtggaggagc atgttgacag aatcttgaat gttgttgga gtggtgcgca 960
acaccggacc ctctttaagg atatgatgcg acacatcagt accgtgttca agggcgaggc 1020
atgtgccttg cagccaagtt tcgttgtgga cactggctgt ggcgacggga gcctgctcat 1080
acatatctat gaacatatca aacagcacac accccggggg aaagtgtctg atcagttccc 1140
tctgacgatg gtcggcgctg acctcaatga ggatccgcga gtgacaacag ctgtgaatct 1200
gagcaagcag ggcgtcccg cgtggtcat ctctggcgat gtgggtaagc ctgaggagat 1260
acttgcc 1267

```

<210> 173

<211> 1266

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 173

```

ccgtagccat tttggtctaa gccaaactcg gatcattcct ggccactgcg ccgccatccg      60
tgccggcgcc ccgaccgggg gcacctcatg tccgtggagc atgcgacgat cgcggacgcg      120
gtcccgaacg ggatcgacct ggcgacaaat gccttcatgc tcgcccacgg ctggacggcg      180
gcgcccctgc tcctggagct cgtggccaac ttcagcgcg ccttggaggg gcgggcccag      240
accgcggggg agctggccgc ggagacgggc gccgaggagg ggcccctggc gatcctcctc      300
cgcgccctga gcgtcctggg ctacgtgcgc ttcgacgccc agagcagggc gtactccctg      360
gtcccggggc cggagctgga cgagctcagg accgtgctcc accctgctgc ggaggtcgcg      420
aggggcctgc aggagctgta cagcgaggtc gccccccct tccagctgcc ctcggaggac      480
gcggcgcggt gcctggccct ctgggaggag cagcgccct cctggagcca gtgcaggagc      540
agggccctgg gcgtcctgct ggacggcgct gtgctggcgc cgctgcttgt gtccgtgacg      600
tactcctcga ggtgggacga ggagggccag gagcacggca ggataacgt catggagcgc      660
ttcgacttca gcaagatgtt gccggcgag cggtccgcg tcggggacat cttcgagcag      720
ttggcgctcg gcactatgaa cgcgaagggc gtgatcatga tgtcgtcaaa gggggccatg      780
gcgttgacgc gatgtactc ctactacgtc ccactgtcgt acgcaccgct gatggccag      840
atctcgccga tcctgtttga tgatgcgggc tgggggttca ctgacgcggg gacagactcc      900
ttcgacgacg tggaggagca tgttgacaga atcttgaatg ttgttggcag tgggtcgcaa      960
caccggaccg tccttaagga tatgatgcga cacatcagt cctgtgttcaa gggcgaggca      1020
tttgcttgc agccaagtgt cgttgtggac actggctgtg gcgacgggag cctgctcata      1080
catactctat aacatatcaa acagcacaca cccgggggga aagtgttga tcagtccct      1140
ctgacgatgg tcggcggtga cctcaatgag gatccgcgag tgacaacagc tgtgaatctg      1200
agcaagcagg gcgtcccgca cgtggtcatc tctggcgatg tgggtaagcc tgccggagata      1260
cttgcc

```

<210> 174
 <211> 1102
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 174
ccaaactcgg atcattcctg gccactgcgc cgccatccgt gccggcgccc cgaccggggg      60
cacctcatgt ccgtggagca tgcgacgatc gcggacgcgg tcccgaacgg gatcgacctg      120
gcgacaaatg ccttcatgct cgtccacggc tggacggcgg cgcctctgct cctggagctc      180
gtggccaact tcagcgcgcc cctggagggg cgggcccaga ccgcggggga gctggccgcg      240
gagacggggc ccgaggaggg gcccttggcg atcctcctcc gcgcctgcag cgtcctgggc      300
tacgtgcgct tcgacgcccga gagcaggggc tactccctgg tcccggggcc ggagctggac      360
gagctcagga ccgtgctcca ccctgcgtcg gaggtcgcga ggggcctgca ggagctgtac      420
agcgaggtcg cccccccctt ccagctgccc tcggaggagc cggcgcggtg cctggccctc      480
tgggaggagc agcggccctc ctggagccag tgcaggagca gggccctggg cgtcctgctg      540
gacggcgctg tctggcgcc gctgcttgtg tccgtgacgt actcctcgag gtgggacgag      600
gagggccagg agcacggcag ggataacgtc atggagcgct tcgacttcag caagatgttg      660
ccggcgagc ggtccgcgt cggggacatc ttcgagcagt tgggctcg cactatgaac      720
gcgaaggcg tgatcatgat gtcgtcaaag ggggccatgg cgttgacgag atgctactcc      780
tactacgtcc cactgtcgta cgcaccgctg atggcccaga tctcgccgat cctgtttgat      840
gatgcgggct ggggggttca tgacgcgggg acagactcct tcgacgacgt ggaggagcat      900
gttgacagaa tcttgaatgt tgttggcagt ggtgcgcaac accggaccct ctttaaggat      960
atgatgcgac acatcagtag cgtgttcaag ggcgaggcat ttgccttgca accaagtttc      1020
gttgtggaca ctggctgtgg cgacgggagc ctgctcatac atatctatga acatatcaa      1080
cagcacacac cccgggggaa ag

```

<210> 175
 <211> 1001
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 175

gagacggg	ccgaggagg	cctggcgat	cctcctccg	gcctgcagc	tctgggctac	60
gtgcgcttc	acgcccagag	cagggcgtac	tccctgggtcc	cggggccgga	gctggacgag	120
ctcaggaccg	tgctccaccc	tgctcgag	gtcgcgagg	gctgcaggag	ctgtacagc	180
aggtegcccc	ccccttcag	ctgccctcgg	aggacgcggc	gcggtgcctg	gccctctggg	240
aggagcagc	gccctcctgg	agccagtga	ggagcagggc	cctgggcgtc	ctgctggacg	300
gcgctgtgct	ggcgccgctg	cttgtgtccg	tgacgtactc	ctcagggtgg	gacgaggagg	360
gccaggagca	cggcagggat	aacgtcatgg	agcgtctcga	cttcagcaag	atgttgccgg	420
cgcagcggtc	cgcgctcggg	gacatcttcg	agcagttggg	cgtcggcact	atgaacgcga	480
agggcgctgat	catgatgtcg	tcaaagggcg	ccatggcggt	acagcgatgc	tactcctact	540
acgtcccact	gtcgtacgca	ccgctgatgg	cccagatctc	gccgatcctg	tttcatgatg	600
cgggctgggg	gttcactgac	gcggggacag	actccttcga	cgacgtggag	gagcatgttg	660
acagaatctt	gaatgttggt	ggcagtggtg	cgaacaccg	gacctctttt	aaggatatga	720
tgcgacacat	cagtaccgtg	ttcaagggcg	aggcatttgc	cttgcaacca	agtttcgttg	780
tggacactgg	ctgtggcgac	gggagcctgc	tcatacatat	ctatgaacat	atcaaacagc	840
acacaccccc	ggggaagtg	cttgatcagt	tccctctgac	gatggtcggc	gttgacctca	900
atgaggatcc	gcgagtga	acagctgtga	atctgagcaa	gcagggcgtc	ccgcacgtgg	960
tcctctctgg	cgatgtgggt	aagcctgcgg	agatacttgc	c		1001

<210> 176

<211> 713

5 <212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 176

gtgcaggagc	agggccctgg	gcgtcctgct	ggacggcgct	gtgctggcgc	cgctgcttgt	60
gtccgtgacg	tactcctcga	ggtaggacga	ggagggccag	gagcacggca	gggataacgt	120
catggagcgc	ttcgacttca	gcaagatggt	gccggcgag	cgtccgcgc	tcggggacat	180
cttcgagcag	ttgggcgctg	gcactatgaa	cgcgaagggc	gtgatcatga	tgctgtcaaa	240
gggggccatg	gcgttcgagc	gatgctactc	ctactacgtc	ccactgtcgt	acgcaccgct	300
gatggcccg	atctcgccga	tcctgtttga	tgatgcgggc	tgggggttca	ctgacgcggg	360
gacagactcc	ttcgacgacg	tggaggagca	tggtgacaga	atcttgaatg	ttgttggcag	420
tggtgcgcaa	caccggaccc	tctttaagga	tatgatgcga	cacatcagta	ccgtgttcaa	480
gggagaggca	tttgccctgc	agccaagtgt	cgttgtggac	actgactgtg	gcgacgggag	540
cctgctcata	catatctatg	aacatatcaa	acagcacaca	ccccggggga	aagtgccttga	600
tcagttccct	ctgacgatgg	tcggcggtga	cctcaatgag	gatccgcgag	tggcaacagc	660
tgtgaatctg	agcaagcagg	gcgtcccga	cgtggtcatc	tctggcgatg	tgg	713

10

<210> 177

<211> 2369

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

15

<400> 177

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccac	tgtcgtacgc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatgttgt	tggcagtggt	gcgcaacacc	180
ggaccctctt	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggcatttg	240
ccttgagcc	aagtttcgtt	gtgggactg	gctgtggtga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggtcgg	cgttgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctgcg	gagatacttg	480
ccgcgctgaa	gaagaagaag	gtggacgcgt	cgaggacgct	tcattgtccg	tccttcctag	540
accacgaccg	tacttacatc	ccaccggtca	tgagaataga	ggaagagagc	agcacagcca	600
ggtttgcccc	cactcagatg	gcagactttg	tgcatctgga	caagcgtgga	aagcccatca	660
cggtctctgga	gctgttttga	tccctggtgg	aacattttga	aagatgggct	gatgcgctgg	720
aggtctcctt	cggactgtgt	gtgctggagg	ttatgatgct	ggatgtgccc	acgacgcagc	780
gctggttcaa	cgactgcgtg	tccttccttc	tggacttcgt	ccagtgtctt	tcgcggcagt	840
acatggtatc	ggcggcgcca	tttacaatgg	gagctgccat	ggcgggcctc	ctgcctgcgg	900
acttccgcgc	cgtggagacg	tatcctgagc	atgggaggta	caaccgaatg	ttgagccagc	960
acctgggtcaa	gaggccgttc	aggctgcgc	ttgcagaggt	tgccgacctc	cagagcctcg	1020
ttcatgtcga	agagctggca	tggcccaagc	agatgcaggg	aagcctggag	gtgctccgca	1080
gacgactgga	ggcgtcccc	accaccaacc	tggctctgca	gctggagggc	agggtcggtg	1140
ccgtgcttta	catgcaacgg	atcgagagtc	ttgccgtcct	cgatgggggtg	cagttcatgg	1200
acgtatcgtc	tgcgcaactc	cccaggggtc	gtctgctgca	gctcatctcg	atagcgggtc	1260
atccggactt	tgaggcatg	aatctgggcc	gcgagctgaa	ggagtttggc	cttcacttgg	1320
ctcggttggga	cagcaccatc	gagagggtca	tcggtgtcac	aaggtgcagc	aaggagtttc	1380
ggcagtacga	tggccccatg	agtgagtacg	tcaatgcgca	cttctctggg	gccccgaccg	1440
acagcacgct	ggacttccac	tcctcccgcc	gagcgcagtt	cgcccgcttg	gtggagggtc	1500
tccgccccga	ggacaccgac	aacggcgcca	caggagtggg	catcgcctac	gacatcagga	1560
gggtctctgcc	cagggaggcg	gctgcggggc	cgcccccgag	caggcccgcc	ccgaggacga	1620
agggtccctc	gctgcagctg	gtccaggacg	tcattgaccag	catcggctac	ccccccaacc	1680
tcaatgacct	caccaagggc	ttcttcgact	acggcatgga	ctccctggag	ctcgtccgca	1740
tccggaacaa	gctgagcctc	gccctgcaga	cgagactccc	cgcgacgctg	ctcctcgact	1800
tccccaccgt	gcacgacctc	gtggagcggc	tggaccagga	ccgggcccc	gagtcagatg	1860
aggaggagga	ggtgcgggag	gaggccaagg	ccacggccag	agccccggcc	aaggccaagg	1920
ccctggccaa	tggcgcgag	gcgaccacgc	gcttcggggc	ctcggagatc	atcagcgtgc	1980
agaagcgctg	cctcaacgtc	tacgcccagc	ccatctacca	gaagcgggtc	acggacatgg	2040
ccaagaagtg	cttcccgagc	atgctcaagt	acatcctcgc	catagagtcc	atcctggctg	2100
aggctcgagg	gccggtcctg	caggagtcc	agctgatcca	agatctcgag	tacaagtccg	2160
tccagagagg	ccgcgagaat	ttgatgtact	acatgtcaag	ctattggctg	gccccccag	2220
agatacgcca	tcagagccag	cagttactcc	tcctcacgct	gcaggaccag	tgctggggca	2280
ataaccactt	gtaggctggc	gctccgcggg	cacctcgaat	ctgcggagcc	acatacgaga	2340
gtctcagtgc	gaaaaaaaa	aaaaaaaaa				2369

<210> 178

<211> 2374

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 178

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccac	tgtcgtacgc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatgttgt	tggcagtggt	gcgcaacacc	180
ggaccctctt	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggatattg	240
ccttgagcc	aagtttcgtt	gtggacactg	gctgtggcga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggtcgg	cgttgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctgcg	gagatacttg	480
ccgcgctgaa	gaagaagaag	gtggacgcgt	cgaggacgct	tcattgtccg	tccttcctag	540
accacgaccg	tacttacatc	ccaccggtca	tgagaataga	ggaagagagc	agcacagcca	600
ggtttgcccc	cactcagatg	gcagactttg	tgcatctgga	caagcgtgga	aagcccatca	660

cggtctctgga	gctgtttgca	tccctggtgg	aacattttga	aagatgggct	gatgcgctgg	720
aggtctcctt	cggactgtgt	gtgctggagg	ttatgatgct	ggatgtgccc	acgacgcagc	780
gctggttcaa	cgactgcgtg	tccttccctc	tggacttcgt	ccagtgtctt	tcgcggcagt	840
acatgggtatc	ggcggcggca	tttacaatgg	gagctgcat	ggcgggcctc	ctgcctgcgg	900
acttccgcgc	cgtggagacg	tatcctgagc	atgggaggta	caaccgaatg	ttgagccagc	960
acctgggtcaa	gaggccgttc	aggctgcgcc	ttgcagaggt	tgccgacctc	cagagcctcg	1020
ttcatgtcga	agagctggca	tggcccaagc	agatgcaggg	aagcctggag	gtgctccgca	1080
gacgactgga	ggcgtccccc	accaccaacc	tggctgcga	gctggagggc	agggtcgttg	1140
ccgtgcttta	catgcaacgg	atcgagagtc	ttgccgtcct	cgatggggtg	cagttcatgg	1200
acgtatcgctc	tgcgcactcc	cccaggggtc	gtctgctgca	gctcatctcg	atagcgggtc	1260
atccggactt	tgcaggcatg	aatctgggcc	gcgagctgaa	ggagtgtggc	cttcaacttg	1320
ctcggttgga	cagcaccatc	gagaggggtca	tcgggtgtcac	aaggtgcagc	aaggagtttc	1380
ggcagtacga	tggcccatg	agtgagtacg	tcaatgcgca	cttctctggg	gcccggaccg	1440
acagcacgct	ggacttccac	tcctccgcgg	gagcgcagtt	cgcccgcttg	gtggagggct	1500
tccgccccga	ggacaccgac	aacggcggca	caggagtggg	catcgcctac	gacatcagga	1560
gggtctctgcc	caggggaggcg	gctgcggggc	gcggcccgag	caggccgccc	ccgaggacga	1620
aggtccccct	gctgcagctg	gtccaggacg	tcatgaccag	catcggctac	cccccaacc	1680
tcaatgacct	caccaagggc	ttcttcgact	acggcatgga	ctccctggag	ctcgtccgca	1740
tccggaacaa	gctgagcctc	gccctgcaga	cggagctccc	cgcgacgctg	ctcctcgact	1800
tccccaccgt	gcacgacctc	gtggagcggc	tggaccagga	ccgggcccc	gagtcgatg	1860
aggaggagga	ggtgcgggag	gaggccaagg	ccacggccag	agccccggcc	aaggccaagg	1920
ccctggccaa	ggcgccgag	gcgaccagc	gcttcgggcc	ctcgagatc	atcagcgtgc	1980
agaagcgctg	cctcaacgtc	tacgccagc	ccatctacca	gaagcgggtc	acggacatgg	2040
ccaagaagtg	cttcccggac	atgctcaagt	acatcctcgc	catagagtcc	atcctggtcg	2100
aggtcgaggg	gccggtcctg	caggagtctc	agctgatcca	agatctcgag	tacaagtccg	2160
tccagagagg	ccgcgagaat	ttgatgtact	acatgtcaag	ctattggctg	gccccccag	2220
agatacgcga	tcagagccag	cagttactcc	tcctcacgct	gcaggaccag	tgctggggca	2280
ataaccactt	gtaggctggc	gctccgcggg	cacctcgaat	ctgcggagcc	acatacgaga	2340
gtctcagtgc	gaaaaaaaa	aaaaaaaaa	aaaa			2374

<210> 179

<211> 2365

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 179

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtccca	tgctgtacgc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttcactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatgttgt	tggcagtggg	gcgcaacacc	180
ggacctctct	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggcatttg	240
ccttgcagcc	aagtttcggt	gtggacactg	gctgtggcga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggctcg	cgttgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctgcg	gagatacttg	480
ccgcgctgaa	gaagaagaag	gtggacgcgt	cgaggacgct	tcatgtccgc	tccttccctag	540
accacgaccg	tacttacatc	ccaccggtca	tgagaataga	ggaagagagc	agcacagcca	600
ggtttgcccc	cactcagatg	gcagactttg	tgcatctgga	caagcgtgga	aagcccatca	660
cggtcttgga	gctgtttgca	tcctggtgg	aacattttga	aagatgggct	gatgcgctgg	720
aggtctcctt	cggactgtgt	gtgctggagg	ttatgatgct	ggatgtgccc	acgacgcagc	780
gctggttcaa	cgactgcgtg	tccttccctc	tggacttcgt	ccagtgtctt	tcgcggcagt	840
acatgggtatc	ggcggcggca	tttacaatgg	gagctgcat	ggcgggcctc	ctgcctgcgg	900
acttccgcgc	cgtggagacg	tatcctgagc	atgggaggta	caaccgaatg	ttgagccagc	960
acctgggtcaa	gaggccgttc	aggctgcgcc	ttgcagaggt	tgccgacctc	cagagcctcg	1020
ttcatgtcga	agagctggca	tggcccaagc	agatgcaggg	aagcctggag	gtgctccgca	1080
gacgactgga	ggcgtccccc	accaccaacc	tggctgcga	gctggagggc	agggtcgttg	1140
ccgtgcttta	catgcaacgg	atcgagagtc	ttgccgtcct	cgatggggtg	cagttcatgg	1200
acgtatcgctc	tgcgcactcc	cccaggggtc	gtctgctgca	gctcatctcg	atagcgggtc	1260
atccggactt	tgcaggcatg	aatctgggcc	gcgagctgaa	ggagtgtggc	cttcaacttg	1320
ctcggttgga	cagcaccatc	gagaggggtca	tcgggtgtcac	aaggtgcagc	aaggagtttc	1380
ggcagtacga	tggcccatg	agtgagtacg	tcaatgcgca	cttctctggg	gcccggaccg	1440
acagcacgct	ggacttccac	tcctccgcgg	gagcgcagtt	cgcccgcttg	gtggagggct	1500
tccgccccga	ggacaccgac	aacggcggca	caggagtggg	catcgcctac	gacatcagga	1560

gggctctgcc	cagggaggcg	gctgcgggcg	cgcccccgag	caggccgccc	ccgaggacga	1620
aggtcccctc	gctgcagctg	gtccagagcg	tcatgaccag	catcgggtac	ccccccáacc	1680
tcaatgacct	caccaagggc	ttcttcgact	acggcatgga	ctccctggag	ctcgtccgca	1740
tccggaacaa	gctgagcctc	gccctgcaga	cggagctccc	cgcgacgctg	ctcctcgact	1800
tccccaccgt	gcacgacctc	gtggagcggc	tggaccagga	ccggggcccc	gagtcgcatg	1860
aggaggagga	ggtgcgggag	gaggccaagg	ccacggccag	agccccggcc	aaggccaagg	1920
ccctggccaa	gggcggcgag	gcgaccacgc	gcttcgggcc	ctcggagatc	atcagcgtgc	1980
agaagcgctg	cctcaacgtc	tacgccacgc	ccatctacca	gaagcgggtc	acggacatgg	2040
ccaagaagtg	ctccccggac	atgctcaagt	acatcctcgc	catagagtcc	atcctgggtc	2100
aggtcgaggg	gccggtcctg	caggagtccc	agctgatcca	agatctcgag	tacaagtcgg	2160
tccagagagg	ccgcgagaat	ttgatgtact	acatgtcaag	ctattggctg	gccccccag	2220
agatacgcga	tcagagccag	cagttactcc	tctcgcgctg	gcaggaccag	tgctggggca	2280
ataaccactt	gtaggtggc	gctccgcggg	cacctcgaat	ctgcggagcc	acatacgaga	2340
gtctcagtgc	gaaaaaaaaa	aaaaa				2365

<210> 180
 <211> 900
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 180						
tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccac	tgctgtacgc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttcactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatgttgt	tggcagtggg	gcgcaacacc	180
ggaccctctt	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggcatttg	240
ccttgacgcc	aagtttcggt	gtggacactg	gctgtggcga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggctcg	tggtgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctcgc	gagatacttg	480
ccgcgctgaa	gaagaagaag	gtggacgcgt	cgaggacgct	tcattgtccg	tccttcctag	540
accacgaccg	tacttacatc	ccaccgggtca	tgagaataga	ggaagagagc	agcacagcca	600
ggtttgcccc	cactcagatg	gcagactttg	tgcatctgga	caagcgtgga	aagcccatca	660
cggctctgga	gctgtttgca	tccctggtgg	aacattttga	aagatgggct	gatgcgctgg	720
aggtctcctt	cggactgtgt	gtgctggagg	ttatgatgct	ggatgtgccc	acgacgcagc	780
gctggttcaa	cgactgcgtg	tccttcctca	tggacttcgt	ccagtgtctt	tcgcggcagt	840
acatgggtatc	ggcggcggca	tttacaatgg	gagctgcca	ggcgggcctc	ctgcctgcgg	900

<210> 181
 <211> 488
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 181						
tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtcccac	tgctgtacgc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttcactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatgttgt	tggcagtggg	gcgcaacacc	180
ggaccctctt	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggcatttg	240
ccttgacgcc	aagtttcggt	gtggacactg	gctgtggcga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggctcg	cggtgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctcgc	gagatacttg	480
ccgcgctg						488

<210> 182
 <211> 486
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 182

tgcagcgatg	ctactcctac	tacgtccac	tgtcgtagc	accgctgatg	gcccagatct	60
cgccgatcct	gtttgatgat	gcgggctggg	ggttcactga	cgcggggaca	gactccttcg	120
acgacgtgga	ggagcatggt	gacagaatct	tgaatggtgt	tggcagtggg	gcgcaacacc	180
ggaccctctt	taaggatatg	atgcgacaca	tcagtaccgt	gttcaagggc	gaggcatttg	240
ccttcgagcc	aagtttcgtt	gtggacactg	gctgtggcga	cgggagcctg	ctcatacata	300
tctatgaaca	tatcaaacag	cacacacccc	gggggaaagt	gcttgatcag	ttccctctga	360
cgatggtcgg	tggtgacctc	aatgaggatc	cgcgagtgc	aacagctgtg	aatctgagca	420
agcagggcgt	cccgcacgtg	gtcatctctg	gcgatgtggg	taagcctgcg	gagatacttg	480
ccgcgc						486

5
 <210> 183
 <211> 365
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 183						
cactgacgcg	gggacagact	ccttcgacga	cgtaggaggag	catgttgaca	gaatcttgaa	60
tggtgttggc	agtgggtgcgc	aacaccggac	cctctttaag	gatatgatgc	gacacatcag	120
taccgtgttc	aagggcgagg	catttgctt	gcagccaagt	ttcgttggtg	acactggctg	180
tggcgacggg	agcctgctca	tacatatcta	tgaacataatc	aaacagcaca	cacccggggg	240
gaaagtgcct	gatcagttcc	ctctgacgat	ggtcggtcgtt	gacctcaatg	aggatccgcg	300
agtgacaaca	gctgtgaatc	tgagcaagca	gggcgtcccg	cacgtggtca	tctctggcga	360
tgtagg						365

10

<210> 184
 <211> 2244
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

15

<400> 184

cgtggaggag	catgttgaca	gaatcttgaa	tgttgttggc	agtgggtgcgc	tacaccggac	60
cctctttaag	gatatgatgc	gacgcatcag	taccgtgttc	aagggcgagg	catttgcctt	120
gcagccaagt	ttcgttgtgg	acactggctg	tggcgacggg	agcctgctca	tacatatcta	180
tgaacatata	aaacagcaca	caccccgggg	gaaagtgttc	gatcagttcc	ctctgacgat	240
ggctggcggt	gacctcaatg	aggatccgcg	agtgacaaca	gctgtgaatc	tgagcaagca	300
gggctgcccc	cacgtgggtc	tctctggcga	tgtgggtaag	cctgctggaga	tacttgccgc	360
gctgaagaag	aagaaggtgg	acgcgtcgag	gaagcttcat	gtccgctcct	tcctagacca	420
cgaccgtact	tacatcccac	cggtcatgag	aatagaggaa	gagagcagca	cagccaggtt	480
tgcccgact	cagatggcag	actttgtgca	tctggacaag	cgtggaaagc	ccatcacggc	540
tctggagctg	tttgcatccc	tgggtggaaca	ttttgaaaga	tgggctgatg	cgctggaggt	600
ctccttcgga	ctgtgtgtgc	tggagggttat	gatgtctggat	gtgcccacga	cgagcgctg	660
gttcaacgac	tgcgtgtcct	tccctctgga	ctctgtccag	tgtctttcgc	ggcagtacat	720
gggtatcgcg	gcggcattta	caatggggagc	tgccatggcg	ggcctcctgc	ctgctggactt	780
ccgcgcctg	gagacgtatc	ctgagcatgg	gaggtacaac	cgaatgttga	gccagcacct	840
gggtcaagagg	ccgttcaggc	tgcgccttgc	agaggttgcc	gacctccaga	gcctcgttca	900
tgtcgaagag	ctggcatggc	ccaagcagat	tcagggaagc	ctggaggtgc	tccgcagacg	960
actggaggcg	tccccacca	ccaacctggg	ctgagagctg	gagggcaggg	tcgttgccgt	1020
gctttacatg	caacggatcg	agagtcttgc	cgctctcgat	gggggtgcagt	tcattggacgt	1080
atcgctcgcg	cactccccca	gggtcgtct	gctgcagctc	atctcgatag	cggtccatcc	1140
ggactttgca	ggcatgaatc	tgggcgcgca	gctgaaggag	tttggccttc	acttggctcg	1200
gttgagacgc	accatcgaga	gggtcatcgg	tgtcacaagg	tgcagcaagg	agtttcggca	1260
gtacgatggc	cccatgagtg	agtacgtcaa	tgcgcacttc	tctggggccc	ggaccgacag	1320
cacgctggac	ttccactcct	ccgcgggagc	gcagttcgtc	cgcttggtgg	agggcttccg	1380
ccccgaggac	accgacaacg	gcggcacagg	agtgtcatc	gcctacgaca	tcaggagggc	1440
tctgcccagg	gaggcggtcg	cgggcgcgcc	cccagcagg	ccgcgcgcca	ggacgaaggt	1500
cccctcgctg	cagctggtcc	aggacgtcat	gaccagcatc	ggctaccccc	ccaacctcaa	1560
tgacctcacc	aagggcttct	tcgactacgg	catggactcc	ctggagctcg	tccgcatccg	1620
gaacaagctg	agcctcgccc	tgcagacgga	gctccccgcg	acgctgctcc	tcgacttccc	1680
caccgtgcac	gacctcgtgg	agcggctgga	ccaggaccgg	gcccccgagt	ccgatgagga	1740
ggaggagggtg	cgggaggagg	ccaaggccac	ggccagagcc	ccggccaagg	ccaaggccct	1800
ggccaagggc	ggcgaggcga	cccagcgctt	cgggcctcgc	gagatcatca	gcgtgcagaa	1860
gcgctgcctc	aacgtctacg	cccagcccat	ctaccagaag	cggttcacgg	acatggccaa	1920
gaagtgtctc	ccggacatgc	tcaagtacat	cctcgccata	gagtccatcc	tggctcgaggt	1980
cgaggggccc	gtcctgcagg	agttccagct	gatccaagat	ctcgagtaca	agtcggtcca	2040
gagaggccgc	gagaatttga	tgtactacat	gtcaagctat	tggctggccc	acccagagat	2100
acgcgatcag	agccagcagt	tactcctcct	cacgctgcag	gaccaatgct	ggggcaataa	2160
ccactttag	gctggcgctc	cgcgggcacc	tcgaatctgc	ggagccacat	acgagagtct	2220
cagtgcgaaa	gttcatgaaa	aaaa				2244

<210> 185

<211> 2243

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 185

cgtggaggag	catgttgaca	gaatcttgaa	tgttgttgcc	agtgggtgag	aacaccggac	60
cctctttaag	gatattgatc	gacacatcag	taccgtgttc	aaggcgagg	catttgccct	120
gcagccaagt	ttcgttgagg	acactggctg	tggcgacggg	agcctgctca	tacatatcta	180
tgaacataac	aaacagcaca	caccccgggg	gaaagtgttc	gatcagttcc	ctctgacgat	240
ggctggcggt	gacctcaatg	aggatccgag	agtgacaaca	gctgtgaatc	tgagcaagca	300
gggctgcccc	cacgtgtgca	tctctggcga	tgtgggtaag	cctgcggaga	tacttgccgc	360
gctgaagaag	aagaagggtg	acgcgtcgag	gacgcttcac	gtccgctcct	tcctagacca	420
cgaccgtact	tacatcccac	cggtcatgag	aataaggaga	gagagcagca	cagccagggt	480
tgcccgcact	cagatggcag	actttgtgca	tctggacaag	cgtggaaagc	ccatcacggc	540
tctggagctg	tttgcatccc	tgggtggaaca	ttttgaaaga	tgggctgatg	cgctggagggt	600
ctccttcgga	ctgtgtgtgc	tggaggttat	gatgctggat	gtgcccacga	cgcagcgctg	660
gttcaacgac	tgcgtgtcct	tccctctgga	cttcgtccag	tgtctttcgc	ggcagtacat	720
gggtatcggg	gcggcattta	caatgggagc	tgccatggcg	ggcctcctgc	ctgctggactt	780
ccgcgcccgt	gagacgtatc	ctgagcatgg	gaggtacaac	cgaatgttga	gccagcacct	840
gggtcaagagg	ccgttcaggc	tgcgccttgc	agagggttgc	gacctccaga	gcctcgttca	900
tgtcgaagag	ctggcatggc	ccaagcagat	gcagggaagc	ctggagggtgc	tccgcagacg	960
actggaggcg	tccccacca	ccaacctggg	ctgcgagctg	gagggcaggg	tcgttgccgt	1020
gctttacatg	caacggatcg	agagtcttgc	cgctcctcga	ggggtgcagt	tcattggacgt	1080
atcgtctgag	cactccccca	ggggtcgtct	gctgcagctc	atctcgatag	cggtccatcc	1140
ggacttttga	ggcatgaatc	tgggcccaga	gctgtaggag	tttggccttc	acttggtcgc	1200
gttgagacag	accatcgaga	gggtcatcgg	tgtcacaagg	tgagcaagg	agtttcggca	1260
gtacgatggc	cccatgagtg	agtacgtcaa	tgcgcacttc	tctggggccc	ggaccgacag	1320
cacgctggac	ttccactcct	ccgcgggagc	gcagttcgtc	cgcttggtgg	agggcttccg	1380
ccccgaggac	accgacaacg	gcggcacagg	agtggtcacg	gcctacgaca	tcaggagggg	1440
tctgcccagg	gaggcggtcg	cgggcgcgcc	cccgcagcag	ccgcggccga	ggacgaagggt	1500
cccctcgctg	cagctgggtc	aggacgtcat	gaccagcate	ggctaccccc	ccaacctcaa	1560
tgacctcacc	aagggtctct	tcgactacgg	catggactcc	ctggagctcg	tccgcatccg	1620
gaacaagctg	agcctcgccc	tgagacgga	gtcccccgcg	acgtgctcct	tcgacttccc	1680
caccgtgcac	gacctcgtgg	agcggctgga	ccaggaccgg	gcccccgagt	ccgatgagga	1740
ggaggagggt	cgggaggagg	ccaaggccac	ggccagagcc	ccggccaagg	ccaaggccct	1800
ggccaagggg	ggcgaggcga	cccagcgctt	cgggccctcg	gagatcatca	gcgtgcagaa	1860
gcgctgcctc	aacgtctacg	cccagcccat	ctaccagaag	cggttcacgg	acatggccaa	1920
gaagtgtctc	ccggacatgc	tcaagtacat	cctcgccata	gagtcacatc	tggctgagggt	1980
cgaggggcgg	gtcctgcagg	agttccagct	gatccaagat	ctcgagtaca	agtcggtcca	2040
gagaggccgc	gagaatttga	tgtactacat	gtcaagctat	tggctggccc	acccagagat	2100
acgcgatcag	agccagcagt	tactcctcct	cacgctgcag	gaccagtgtc	ggggcaataa	2160
ccactttag	gctggcgctc	cgcgggcacc	tcgaatctgc	ggagccacat	acgagagtct	2220
cagtgcgaaa	aaaaaaaaaa	aaa				2243

<210> 186

<211> 2238

<212> ADN

<213> Alexandrium fundyense

<400> 186

cgtggaggag	catgttgaca	gaatcttgaa	tgttgttgcc	agtgggtgag	aacaccggac	60
cctctttaag	gatattgatc	gacacatcag	taccgtgttc	aaggcgagg	cgtttgccct	120
gcagccaagt	ttcgttgagg	acactggctg	tggcgacggg	agcctgctca	tacatatcta	180
tgaacataac	aaacagcaca	caccccgggg	gaaagtgttc	gatcagttcc	ctctgacgat	240
ggctggcggt	gacctcaatg	aggatccgag	agtgacaaca	gctgtgaatc	tgagcaagca	300
gggctgcccc	cacgtgtgca	tctctggcga	tgtgggtaag	cctgcggaga	tacttgccgc	360
gctgaagaag	aagaagggtg	acgcgtcgag	gacgcttcac	gtccgcccct	tcctagacca	420
cgaccgtact	tacatcccac	cggtcatgag	aataaggaga	gagagcagca	cagccagggt	480
tgcccgcact	cagatggcag	actttgtgca	tctggacaag	cgtggaaagc	ccatcacggc	540
tctggagctg	tttgcatccc	tgggtggaaca	ttttgaaaga	tgggctgatg	cgctggagggt	600
ctccttcgga	ctgtgtgtgc	tggaggttat	gatgctggat	gtgcccacga	cgcagcgctg	660

gttcaacgac	tgcgtgtect	tccctctgga	cttcgtccag	tgtctttcgc	ggcagtacat	720
ggtatcgcg	gcgcgattta	caatgggagc	tgccatggcg	ggcctcctgc	ctgcggactt	780
cgcgccctg	gagcgtatc	ctgagcatgg	gaggtacaac	cgaatgttga	gccagacct	840
ggtcaagag	ccgttcaggc	tgcgccttgc	agaggttgcc	gacctccaga	gctcgttca	900
tgtcgaagag	ctggcatggc	ccaagcagat	gcagggaagc	ctggagggtgc	tccgcagacg	960
actggaggcg	tccccacca	ccaacctggt	ctgcgagctg	gagggcaggg	tcgttgccgt	1020
gctttacatg	caacggatcg	agagctctgc	cgctcctcat	gggggtgcagt	tcatggacgt	1080
atcgcttgcg	cactccccca	ggggctgctc	gctgcagctc	atctcgatag	cggtccatcc	1140
ggacttttca	ggcatgaatc	tgggcccga	gctgaaggag	tttggccttc	acttggctcg	1200
gttgacacg	accatcgaga	gggtcatcgg	tgtcacaagg	tgcagcaagg	agtttcggca	1260
gtacgatggc	cccactagct	agtacgtcaa	tgcgcacttc	tctggggccc	ggaccgacag	1320
cacgctggac	tccactcctc	ccgcccaggc	cgagttcgtc	cgcttgggtg	agggcttcgc	1380
cccggaggac	accgacaacg	gcggcacagg	agtggctatc	gcctacgaca	tcaggaggcg	1440
tctgcccagg	gaggtggctg	cgggcgcgcc	cccagcagg	ccgcccgga	ggacgaagg	1500
cccctcgctg	cagctgggtc	aggacgtcat	gaccagcatc	ggctaccccc	ccaacctcaa	1560
tgacctcacc	aagggtcttc	tcgactacgg	catggactcc	ctggaagccc	tccgcatacc	1620
gaacaagctg	agctctgcgc	tgcacagcga	gctcccgcg	acgctgctcc	tcgactccc	1680
caccgtgcac	gacctcgctg	agcggctgga	caggagccgg	gccccagagt	ccgatgagga	1740
ggaggaggtg	cgggaggagg	ccaaggccac	ggccagagcc	ccggccaagg	ccaaggccct	1800
ggccaagggc	ggcgaggcga	cccagcgctt	cgggtcctcg	gagatcatca	gcgtgcagaa	1860
gcgctgcttc	aacgtctacg	cccagcccat	ctaccagaag	cggttcacgg	acatggccaa	1920
gaagtgcctc	cgcgacatcg	tcaagtatcat	cctcgccata	gagtcatacc	tggctgagg	1980
cgagggggccg	gtcctgcagg	agttccagtt	gatccaagat	ctcgagtaca	agtcgggtcca	2040
gagaggccgc	gagaatttga	tgtactacat	gtcaagccat	tggctggccc	accagagat	2100
acgcgatcag	agccagcagt	tactcctcct	cacgctgcag	accagtgtctg	gggcaataac	2160
cacttgtagc	ctggcgctcc	gcgggcacct	cgaatctgcg	gagccacata	cgagagtctc	2220
agtcgcaaaa	aaaaaaa					2238

<210> 187
<211> 295
<212> ADN
<213> Alexandrium fundyense

<400> 187							
cgtggaggag	catgttgaca	gaatcttgaa	tgttggtggc	agtggtgcg	aacaccggac	60	
cctctttaag	gatatgatgc	gacacatcag	taccgtgttc	aaggcgagg	catttgcctt	120	
gcagccaatt	ttcgttgttg	acactggctg	tggcgacggg	agcctgctca	tacatatcta	180	
tgaacatatc	aaacagcaca	caccgcggg	gaagtgctt	gctcagttcc	ctctgacgat	240	
gtgcggcggt	gacctcaatg	aggatccgcg	agtgacaaca	gctgtgaatc	taagc	295	

<210> 188
<211> 315
<212> ADN
<213> *Alexandrium fundyense*

<400> 188									
gaatcttgaa	tgttgtttggc	agtgggtgcgc	aacaccgggac	cctctttaag	gatatgatgc				60
gacacatcag	taccgtgttc	aagggcgggg	catttgcctt	gcagccaagt	ttcgttgttg				120
acactggctg	tggcgacggg	agcctgtctc	tacatatcta	tgaacatatc	aaacagcaca				180
caccccgggg	gaaagtgtt	gatcagttcc	ctctgacgat	ggtcggcggt	gacctcaatg				240
aggatccgcg	ggtgacaaca	gctgtgaatc	tgagcaagca	gggcgtcccg	cacgtggtca				300
tctctggcga	tgtgg								315

<210> 189
<211> 293
<212> ADN
<213> *Alexandrium fundyense*

<400> 189

	tgggtgcgcaa caccggaccc tctttaagga tatgatgcga cacatcagta ccgtgttcaa	60
	gggcgaggca tttgccttgc agccaagttt cgttggtggac actggctgtg gcgacgggag	120
	cctgctcata catatctatg aacatatcaa acagcacaca ccccggggga aagtgttga	180
	tcagttccct ctgacgatgg tcggcggtga cctcaatgag gatccgcgag tgacaacagc	240
	tgtgaatctg agcaagcagg gcgtcccga cgtgggtcatc tctggcgatg tgg	293
	<210> 190	
	<211> 293	
5	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 190	
	tgggtgcgcaa caccggaccc tctttaagga tatgatgcga cacatcagta ccgtgttcaa	60
	gggcgaggca tttgccttgc agccaagttt cgttggtggac actggctgtg gcgacgggag	120
	cctgctcata catatctatg aacatatcaa acagcacaca ccccggggga aagtgttga	180
	tcagttccct ctgacgatgg tcggcggtga cctcaatgag gatccgcgag tgacaacggc	240
10	tgtggatctg agcaagcagg gcgtcccga cgtgggtcatc tctggcgatg tgg	293
	<210> 191	
	<211> 282	
	<212> ADN	
15	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 191	
	accggaccct ctttaaggat atgatgcgac acatcagtac cgtgttcaag ggcgaggcat	60
	ttgccttgca gccaaagttt gttgtggaca ctagctgtgg cgacgggagc ctgctcatc	120
	atatctatga acatatcaaa cagcacacac cccgggggaa agtgcttgat cagttccctc	180
	tgacgatggt cgacgttgac ctcaatgagg atccgcgagt gacaacagct gtgaatctga	240
	gcaagcaggg cgtcccgcac gtggtcatct ctggcgatgt gg	282
	<210> 192	
20	<211> 961	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 192	
	gagtgagtac gtcaatgcgc acttctcttg ggccccgacc gacagcacgc tggacttcca	60
	ctcctccgcc ggagcgagc tcttccgctt ggtggagggc ttccgccccg aggacaccga	120
	caacggcggc acaggagtgg tcatcgccca cgacatcagg agggctctgc ccagggaggc	180
	ggctgcgggc gcgccccga gcaggccgcc gccgaggacg aaggctccct cgctgcagct	240
	ggtccaggac gtcatgacca gcatcggtta ccccccaac ctcaatgacc tcaccaaggg	300
	cttcttcgac tacggcatgg actccctgga gctcgtccgc atccggaaca agctgagcct	360
	cgccctgcag acggagctcc ccgcgacgct gctcctcgac ttccccaccg tgcacgacct	420
	cgtggagcgg ctggaccagg accgggcccc cgagtccgat gaggaggagg aggtacggga	480
	ggaggccaag gccacggcca gagccccggc caaggccaag gccctggcca agggcgggca	540
	ggcgaccag cgcttcgggc cctcggagat catcagcgtg cagaagcgt gcctcaacgt	600
	ctacgccag cccatctacc agaagcgggt cacggacatg gccaaagagt gcttcccga	660
	catgctcaag tacatcctcg ccatagagtc catcctggtc gaggtcgagg ggccggtcct	720
	gcaggagtgc cagctgatcc aagatctcga gtacaagtcg gtccagagag gccgcgagaa	780
	tttgatgtac tacatgtcaa gctattggct ggccccacca gagatacgcg atcagagcca	840
	gcagttactc ctctcacgc tgcagaccag tgctggggcc ataaccactt gtaggctggc	900
25	gctccgcggg cacctcgaat ctgcggagcc acatacgaga gtctcagtgc gaaaaaaaaa	960
	a	961
	<210> 193	
	<211> 975	
	<212> ADN	
30	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 193	

```

agtgagtacg tcaatgcgca cttctctggg gcccggaaccg acagcacgct ggacttccac 60
tcctccgccg gagcgagtt cgtccgcttg gtggagggt tccgccccga ggacaccgac 120
aacggcgcca caggagtggg catcgcttac gacatcagga gggctctgcc caggaggcg 180
gctgcgggag cgccccgag caggccgccc ccgaggacga aggtcccctc gctgcagctg 240
gtccaggacg tcatgaccag catcggttac ccccccaacc tcaatgacct caccaagggc 300
ttcttcgact acggcatgga ctccctggag ctctcgcgca tccggaacaa gctgagcctc 360
gccctgcaga cggagctccc cgcgacgctg ctccctcgact tccccaccgt gcacgacctc 420
gtggagcgcc tggaccagga ccgggcccccc gagtccgatg aggaggagga ggtgcgggag 480
gaggccaagg ccacggccag agccccggcc aaggccaagg ccctggccaa gggcgggcag 540
gcgacccagc gcttcgggccc ctcgagatc atcagcgtgc agaagcgctg cctcaacgtc 600
tacgcccagc ccatctacca gaagcggttc acggacatgg ccaagaagtg cttccccgac 660
atgctcaagt acatcctcgc catagagtcc atcctggctg aggtcgaggg gccggtcctg 720
caggagtccc agctgatcca agatctcgag tacaagtcgg tccagagagg ccgcgagaat 780
ttgatgtact acatgtcaag ctattggctg gccacccag agatacgga tcagagccag 840
cagttactcc tcctcacgct gcagaccag tgctggggca ataaccactt gtaggctggc 900
gctccgaggc cactcgaat ctgaggagcc acatacgaga gtcccagtgc gaaaaaaca 960
caaaaaaaaa aaaaaa 975

```

<210> 194
 <211> 966
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 194
agtgagtacg tcaatgcgca cttctctggg gcccggaaccg acagcacgct ggacttccac 60
tcctccgccg gagcgagtt cgtccgcttg gtggagggt tccgccccga ggacaccgac 120
aacggcgcca caggagtggg catcgcttac gacatcagga gggctctgcc caggaggcg 180
gctgcgggag cgccccgag caggccgccc ccgaggacga aggtcccctc gctgcagctg 240
gtccaggacg tcatgaccag catcggttac ccccccaacc tcaatgacct caccaagggc 300
ttcttcgact acggcatgga ctccctggag ctctcgcgca tctggaacaa gctgagcctc 360
gccctgcaga cggagctccc cgcgacgctg ctccctcgact tccccaccgt gcacgacctc 420
gtggagcgcc tggaccagga ccgggcccccc gagtccgatg aggaggagga ggtgcgggag 480
gaggccaagg ccacggccag agccccggcc aaggccaagg ccctggccaa gggcgggcag 540
gcgacccagc gcttcgggccc ctcgagatc atcagcgtgc agaagcgctg cctcaacgtc 600
tacgcccagc ccatctacca gaagcggttc acggacatgg ccaagaagtg cttccccgac 660
atgctcaagt acatcctcgc catagagtcc atcctggctg aggtcgaggg gccggtcctg 720
caggagtccc agctgatcca agatctcgag tacaagtcgg tccagagagg ccgcgagaat 780
ttgatgtact acatgtcaag ctattggctg gccacccag agatacgga tcagagccag 840
cagttactcc tcctcacgct gcagaccag tgctggggca taaccacttg taggctggcg 900
ctccgagggc acctcgaatc tgaggagcca catacgagag tctcagtgcg aaaaaaaaaa 966
aaaaaa

```

<210> 195
 <211> 350
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 195
gcggttcacg gacatggcca agaagtgctt cccggacatg ctcaagtaca tcctcgccat 60
agagtccatc ctggctcgagg tcgaggggccc ggtcctgcag gatttccagc tgatccaaga 120
tctcgagtac aagtcggtcc agagaggccc cgagaatttg atgtactaca tgtcaagcta 180
ttggctggcc caccagaga tacgcatca gagccagcag ttactcctcc tcacgctgca 240
ggaccagtgc tggggcaata accacttgta ggctggcgct ccgcgggcac ctgcaatctg 300
cggagccaca tacgagagtc tcagtgcgaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 350

```

<210> 196
 <211> 358
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 196

	gcggttcacg gacatggcca agaagtgctt cccggacatg ctcaagtaca tcctcgccat	60
	agagtccatc ctggctcgagg tcgaggggcc ggtcctgcag gaggttccagc tgatccaaga	120
	tctcgagtac aagtcggtcc agagaggccg cgagaatttg atgtactaca tgtcaagcta	180
	ttggctggcc caccagaga tacgcgatca gagccagcag ttactcctcc tcacgctgca	240
	ggaccagtgc tggggcaata accacttgta ggctggcgct ccgcgggcac ctcgaatctg	300
	cggagccaca tacgagagtc ccagtgcgaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa	358
	<210> 197	
	<211> 344	
	<212> ADN	
5	<213> Alexandrium fundyense	
	<400> 197	
	gcggttcacg gacatggcca agaagtgctt cccggacatg ctcaagtaca tcctcgccat	60
	agagtccatc ctggctcgagg tcgaggggcc ggtcctgcag gaggttccagc tgatccaaga	120
	tctcgagtac aagtcggtcc agagaggccg cgagaatttg atgtactaca tgtcaagcta	180
	ttggctggcc caccagaga tacgcgatca gagccagcag ttactcctcc tcacgctgca	240
	ggaccagtgc tggggccata accacttgta ggctggcgct ccgcgggcac ctcgaatctg	300
	cggagccaca tacgagagtc tcagtgcgaa aaaaaaaaaa aaaa	344
10	<210> 198	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Secuencia cebador	
	<400> 198	
20	ctgagcaagg cgtcaattc	20
	<210> 199	
	<211> 20	
	<212> ADN	
25	<213> Secuencia artificial	
	<220>	
	<223> Secuencia cebador	
30	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (8)..(8)	
	<223> "m" = a o c	
35	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (19)..(19)	
	<223> "r" = g o a	
40	<400> 199	
	tacagatmgg ccctgtgarc	20
	<210> 200	
	<211> 23	
45	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
5	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> (8)..(8)		
	<223> "m" = a o c		
10	<400> 200		
	tgcagcgmtg ctactcctac tac	23	
	<210> 201		
	<211> 20		
	<212> ADN		
15	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
20	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> (11)..(11)		
	<223> "y" = t o c		
25	<400> 201		
	ggtcgtggc yaggaaggag	20	
	<210> 202		
	<211> 22		
30	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
35	<400> 202		
	atgctcaaca tgggagtcac cc	22	
	<210> 203		
40	<211> 23		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
45	<223> Secuencia cebador		
	<400> 203		
	gggtccagta gatgttgacg atg	23	
50	<210> 204		
	<211> 23		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
55	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<220>		
	<221> misc_feature		

	<222> (15)..(15) <223> "k" = g o t	
5	<400> 204 gtagtaggag tagckacgct gca	23
10	<210> 205 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
15	<220> <223> Secuencia cebador	
20	<220> <221> misc_feature <222> (10)..(10) <223> "r" = g o a	
25	<400> 205 ctccttctr gaccacgacc	20
30	<210> 206 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
35	<220> <223> Secuencia cebador	
40	<400> 206 ggatgactcc catgttgagc at	22
45	<210> 207 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
50	<220> <223> Secuencia cebador	
55	<400> 207 catcgtcaac atctactgga ccc	23
	<210> 208 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia artificial	
	<220> <223> Secuencia cebador	
	<400> 208 ggcaagtatc tccgcaggct tac	23
	<210> 209 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia artificial	

	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
5	<400> 209		
	cgtaggaggag catgttgaca gaatc	25	
	<210> 210		
	<211> 24		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
15	<400> 210		
	actcgacagg ccggcagtac agat	24	
	<210> 211		
20	<211> 18		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
25	<223> Secuencia cebador		
	<400> 211		
	tgagcaggca cgcagtcc	18	
30	<210> 212		
	<211> 25		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
35	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<400> 212		
40	ggctcgtatg ttgtgtggaa ttgtg	25	
	<210> 213		
	<211> 24		
	<212> ADN		
45	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<400> 213		
50	agtcacgacg ttgtaaaacg acgg	24	
	<210> 214		
	<211> 10		
	<212> PRT		
55	<213> Alexandrium fundyense		
	<400> 214		
	Val Asp Thr Gly Cys Gly Asp Gly Ser Leu		
	1 5 10		

5 <210> 215
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

 <400> 215
 Val Asp Ala Ser Arg Thr Leu His Val Arg
 1 5 10

 10 <210> 216
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

 15 <400> 216
 Leu Glu Val Ser Phe Gly Leu Cys Val Leu
 1 5 10

 20 <210> 217
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

 <400> 217
 Val Val Asp Thr Gly Cys Gly Asp Gly
 1 5

 25 <210> 218
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

 30 <400> 218
 Val Asp Pro Ser Arg Ser Leu His Val
 1 5

 35 <210> 219
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Alexandrium fundyense

 <400> 219
 Leu Gln Gly Ser Phe Gly Leu Cys Met Leu
 1 5 10

 40 <210> 220
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Secuencia cebador

 50 <400> 220
 ttgatcctgc cagtagtcat atgcttg 27

 <210> 221

	<211> 24		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia artificial		
5	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<400> 221		
10	cctgttacg acttcctt cctc	24	
	<210> 222		
	<211> 20		
	<212> ADN		
15	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<400> 222		
20	cctcagtgag attgtagtgc	20	
	<210> 223		
	<211> 22		
	<212> ADN		
25	<213> Secuencia artificial		
	<220>		
	<223> Secuencia cebador		
	<400> 223		
30	gtgcaaaggt aatcaaatgt cc	22	
	<210> 224		
	<211> 769		
35	<212> ADN		
	<213> Alexandrium tamarense		
	<400> 224		
	gcgggttcct cctcctgtac ataaacgccc acgactgcgt gcagacggcc gccaggctct	60	
	gcaagaaggc cgccaccgtg gtgcgcctga agcacaacga cacggaacag cccgagcaca	120	
	tgtctctcgtc gatcccgagc ggggcccaga tcacctacgt gtgcgacggc gtgtactcca	180	
	cggacgaaga gctcgcgcac ttgcccgcga tatgtgcttg tttgaggccg cgcggggcca	240	
	agatactcgt agacgactcg catggctgcg gcgttcttg cgcgaacccc aactcggagc	300	
	aaccctcagg gtatggtggc ggcggcgtca tcgagtactt cgggctggac tacgcggaga	360	
	acaacatcat ctacgccggg cagctgagca aggcgttcaa ttcgcccggc ggattcgtca	420	
	gctgtgcgcg cgagaccgac aaaaatttcg gcgttctgaa cttggccaaa aactcgaaca	480	
	cactcgtggt cacagggccg atctgtactg ccggcctgtc gaggcgaaa acaaccttcg	540	
	acctcaacgc cgcgaggggg gaccttcaac gcaagcggct tctggcggct accctcgaaa	600	
	ttctgcgagg ggctcaaggc gctcgggtgc cccacacct accacgagtg ccccatcgtc	660	
	aatacggggg gggaaacacac aagctacgca agcgcttctg ggtgagccat aggcgctccc	720	
	gtggcccaca aatataacag gaaaccaccg ccacttctc tgctattca	769	
40	<210> 225		
	<211> 558		
	<212> ADN		
	<213> Alexandrium catenella		
45	<400> 225		

ttggtcgtgg	tccaggaagg	agcgacgtg	gagggccttg	gtagggcca	ccccctccg	60
tccgaggacc	tccatgatgt	cgccgggctc	gccgacgtcc	ccgaacagca	ccaggagagg	120
gaccgcgtgc	cggtcaggt	tgagctccgt	cgccacctcg	agagtccttg	ttgaagtcaa	180
cgccgacat	ggtgagcgga	tgctcgctcg	agcgtccttc	ccgcgcggcg	tggtgctctt	240
cacgtgctcg	tagatgcgcc	tgagcaaacg	cccgctcgccg	cacccagtg	tccacgacga	300
acgccggctg	cgacgcgaag	tccccgcccg	cgaagaccga	gtcaatcagc	cgacgaggt	360
ccgggaagaa	cgtttggtgc	tgacccccgc	tgcccaccac	gttcagcgtc	cggtggacgt	420
ggacctcctg	ctcatgcgag	tcccgcccg	cgccggcgaa	ccccagccg	ggattctcga	480
agaggatagc	ggtcaagggtg	gttggtccagc	attggggcgt	aggaggtcgg	gacgtagtag	540
gagtagcacc	gctgcaaa					558

<210> 226
 <211> 773
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

<400> 226						
cagctatgac	catgattacg	ccaagctatt	taggtgacac	tatagaatac	tcaagctatg	60
catccaacgc	gttgggagct	ctcccatatg	gtcgacctgc	aggcggcacg	cgaattcact	120
agtgatttgc	agcgatgcta	ctcctactac	gtcccgacct	cctacgcccc	actgctggac	180
aggtaccacc	gcacccctctt	cgagaatccc	ggctgggggt	tcgcccggcg	cgccggggac	240
tcgcaggagc	aggaggtcca	cgtccaccgg	acgctgaacg	tggtgggcag	cggggcgcag	300
caccagacgc	tcttcacgga	cctcgtgcgg	ctcattgact	cggtcttcgc	gggcggggac	360

ttcgctgcgc	agccggcggt	cgctcgtggac	acgggggtgcg	gcgacggccg	cttgctcagg	420
cgcatctacg	agcacgtgaa	gagcaacacg	ccgcgcggga	aggcgctcgc	cgagcaccgc	480
ctcacgatgg	tcggcgctga	cttcaacaag	gactctcggg	tgccgacgga	gctcaacctg	540
agcaggcacg	cggtcccga	cctggtgctg	ttcggagacg	tcggcaagcc	cgccgacatc	600
atggagatcc	tcggacggag	cggggtggac	ccgagcaggt	ccctccacgt	gcgctccttc	660
ctagaccacg	accaatcgaa	ttcccgccgc	cgccatggcg	gccgggagca	tcgacgctcg	720
ggcccaattc	gccctatagt	gagtcgtatt	acaattcact	ggccgctcgtt	tta	773

<210> 227
 <211> 555
 <212> ADN
 <213> Alexandrium sp.

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (126)..(127)
 <223> "n" = a, c, t o g

<400> 227						
tttgacgga	tgctactcct	actacgtccc	tgctccttac	tcgccgatgc	tgtcgaacct	60
gaacactatc	ctccacgagg	acgccggctg	gggcttcgcc	gacgacgggc	tcgtgcgcgc	120
atgggnngcc	gaggtccacg	tgaaccgcac	gctgaacgtc	gtcggcagcg	gcctgcagca	180
ccaaaagtcc	ttccagcacc	tcgtgcagca	gatcagcgcc	atctttgagg	gcgaggactt	240
cacctcgacg	ccatcgttcg	tcgtcgacac	tggcagcggc	gacgggactc	tacttaggca	300
gatctacgag	cacgtgaagt	cgatgacgcc	tcgaggacgt	cacctgagcc	agcatccgct	360
gacctgggta	ggtgttgact	tcagcgagga	gtccagagcc	gcgacctccc	gcaacctgag	420
ccaccacgcc	atccctcaca	tggtgctctt	cggggacatt	ggcgagcccg	cttgagatca	480
cggcgtgcgc	tggaaggaa	gggtgtcgac	cttgcgaaag	tgctgcacgt	gcgctccttc	540
ctggaccacg	accca					555

<210> 228
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>

	<223> Secuencia cebador					
	<400> 228					
5	cttgcccgcc atatgtgctt		20			
	<210> 229					
	<211> 20					
	<212> ADN					
10	<213> Secuencia artificial					
	<220>					
	<223> Secuencia cebador					
	<400> 229					
15	gcccggcgta gatgatgttg		20			
	<210> 230					
	<211> 579					
	<212> ADN					
20	<213> Alexandrium minutum					
	<400> 230					
	ttccagggtc	gcctcaagaa	gccgcttgcg	ctgacgggtcc	ccctcgga	agttgaggtc 60
	gagggtcgtc	ttcgcaactcg	acaggccggc	agtacagatc	ggccctgtga	acacgagcgt 120
	gttcgagttc	ttggccaagt	tcagaatgcc	gaacttctcg	tcggtctcgc	gtgcgcagcc 180
	cacgaatccg	ccgggcgaat	tgaacgcctt	gctcagctgc	ccggcgtaga	tgatgttggt 240
	ctccgcgtag	tccagcccga	agtacttgac	gacgccggcg	ccgccatatc	cgaagggttg 300
	ctccgagtcg	gggttgccgc	caagaacgcc	gcaaccgtgc	gagtcgtcca	cgagtatctt 360
	ggccccgcgc	ggcctcaaac	aagcacatat	ggcgggcaag	tcggcgagct	ctccgtccgt 420
	ggagtagacg	ccgtcgaca	cgtaggtgat	gtcggccccc	tccgggatcg	acgagagcac 480
	gcgctcgagc	tgctccgtgt	cgttgtgctt	caggcgcacg	acggtgactc	ccttcttgca 540
	gagcctggct gccgtctgca cgcagtcgtg ggcgtttat					579
25	<210> 231					
	<211> 670					
	<212> ADN					
30	<213> Alexandrium minutum					
	<220>					
	<221> misc_feature					
	<222> (557)..(557)					
35	<223> "s" = g o c					
	<400> 231					
	gggaaccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccctga	gcccctcgca	aaattccagg 60
	gtcgctcaa	gaagccgctt	gcgctgacgg	tccccctcgg	caaagttgag	gtcgaggggtc 120
	gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagac	atcggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag 180
	ttcttgccca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcggtct	cgcgtgcgca	gcccacgaat 240
	ccgcggggcg	aattgaacgc	cttgetcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgcg 300
	tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacggcg	ccgccgccat	atccgaaggg	ttgctccgag 360
	tcgggggttg	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgcgagtcgt	ccacgagtat	cttggtcccg 420
	cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtgcggca	gctctccgtc	cgtggagtag 480
	acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctccggga	tcgacgagag	cacgcgctcg 540
	agctgctccg	tgctgttggt	cttcaggcgc	acgacgggtga	ctcccttctt	gcagagsetg 600
	gctgccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	atgtccagga	ggaggaaccc	gctctcgccc 660
	gccaggctcg					670
	<210> 232					
40	<211> 632					

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 232

gggaacccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	aaattccagg	60
gtcgccctcaa	gaagccgctt	gcgctgacgg	tccccctcgg	caaagttgag	gtcgaggggtc	120
gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagag	atcgggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag	180
ttcttggcca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcgggtct	cgcgtgcgca	gcccacgaat	240
ccgccggggcg	aattgaacgc	cttgctcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgcg	300
tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacgccc	ccgccgccat	atccgaagg	ttgctccgag	360
tcgggggttgc	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgcgagtcgt	ccacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtcggcga	gctctccgtc	cgtggagtag	480
acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctccggga	tcgacgagag	cacgcgctcg	540
agctgctccg	tgctggtgtg	cttcaggcgc	acgacggtga	ctcccttctt	gcagagcctg	600
gckgccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	at			632

5

<210> 233

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 233

gggaacccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	aaattccagg	60
gtcgccctcaa	gaagccgctt	gcgctgacgg	tccccctcgg	caaagttgag	gtcgaggggtc	120
gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagag	atcgggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag	180
ttcttggcca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcgggtct	cgcgtgcgca	gcccacgaat	240
ccgccggggcg	aattgaacgc	cttgctcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgcg	300
tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacgccc	ccgccgccat	atccgaagg	ttgctccgag	360
tcgggggttgc	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgcgagtcgt	ccacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtcggcga	gctctccgtc	cgtggagtag	480
acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctccggga	tcgacgagag	cacgcgctcg	540
agctgctccg	tgctggtgtg	cttcaggcgc	acgacggtga	ctcccttctt	gcagagcctg	600
gctgccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	atgtccagga	ggaggaaccc	gctctcgccc	660
gccaggtcgc						670

15

<210> 234

<211> 636

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 234

gggaacccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	aaattccagg	60
gtcgccctcaa	gaagccgctt	gcgctgacgg	tccccctcgg	caaagttgag	gtcgaggggtc	120
gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagag	atcgggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag	180
ttcttggcca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcgggtct	cgcgtgcgca	gcccacgaat	240
ccgccggggcg	aattgaacgc	cttgctcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgcg	300
tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacgccc	ccgccgccat	atccgaagg	ttgctccgag	360
tcgggggttgc	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgcgagtcgt	ccacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtcggcga	gctctccgtc	cgtggagtag	480
acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctccggga	tcgacgagag	cacgcgctcg	540
agctgctccg	tgctggtgtg	cttcaggcgc	acgacggtga	ctcccttctt	gcagagcctg	600
gctgccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	atgtcc			636

<210> 235

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 235

25

```

gggaacccgt ggtaggtgtg ggggcacccg agcgccttga gcccctcgca aaattccagg 60
gtcgctctca gaagccgctt gcgctgacgg tccccctcgg caaagttagg gtcgaggggtc 120
gtcttcgcac tcgacaggcc ggcagtagac atcgccctcg tgaacacgag cgtgttcgag 180
ttcttggcca agttcagaat gccgaacttc tcgtcgggtc cgcgtgcgca gccacgaat 240
ccgcccggcg aattgaacgc cttgctcagc tgcccggcgt agatgatgtt gttctccgag 300
tagtccagcc cgaagtactt gacgacgcc cgcgcgccat atccgaaggg ttgctccgag 360
tcgggggttg ggccaagaac gccgcaaccg tgcgagtcgt ccacgagtat cttggccccg 420
cgccgctca aacaagcaca tatggcgggc aagtcggcga gctctccgtc cgtggagtag 480
acccgctgc acacstaggt gatgtcggcc ccctcsggga tcgacgagag cagcgctcr 540
agctgctccg tgctgttgtg cttcaggcgc acgacggtga ckccttctt gcagagcctg 600
gctgctgtct gcacgcagtc gtgggcgttt atgtccagga ggaggaascc gctctcgccc 660
gccaggctcg 670

```

<210> 236

<211> 670

5

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

<400> 236

```

gggaacccgt ggtaggtgtg ggggcacccg agcgccttga gcccctcgca aaattcgagg 60
gtcgcmctca gaagccgctt gcgctgamgg tccccctcgg craarttagg gtcgaggggtc 120
gtcttcgcac tcgacaggcc ggcagtagac atcgccctcg tgaacacgag cgtgttcgag 180
ttcttggcca agttcagaat gccgaacttc tcgtcgggtc cgcgtgcgca rccsacgaat 240
ccgcccggcg aattgaacgc cttgctcagc tgcccggcgt agatgatgtt gttctccgag 300
tagtccagcc cgaagtactt gacgacgcc cgcgcgccat atccgaaggg ttgctccgag 360
tcgggggttry ggccaagaac gccgcaaccg tgmagtcgt ccacgagtat cttggccccg 420
cgccgctca aacaagcaca tayggcgggc aagtcggcga gctytccstc ygtggagtag 480
acccgctgc acacstaggt gatgtcggcc ccctcsggga tygacgagag cagcgctcr 540
agstgstccg tgctgttgtg cttcaggcgc acgacggtga ckccttctt gcagagcctg 600
gctgctgtct gcacgcagtc gtgggcgttt atgtccagga ggaggaascc gctctcgccc 660
gccaggctcg 670

```

10

<210> 237

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

15

<400> 237

```

gggaacccgt ggtaggtgtg ggggcacccg agcgccttga gcccctcgca aaattcgagg 60
gtcgcmctca gaagccgctt gcgctgamgg tccccctcgg craarttagg gtcgaggggtc 120
gtcttcgcac tcgacaggcc ggcagtagac atcgccctcg tgaacacgag cgtgttcgag 180
ttcttggcca agttcakaat gccgaacttc tcgtcgggtc cgcgtgcgca rccsacgaat 240
ccgcccggcg aattgaacgc cttgctcagc tgcccggcgt agatgatgtt gttctccgag 300

```

```

tagtccagcc cgaagtactt gacgacgcc cgcgcgccat atccgaaggg ttgctccgag 360
tcgggggttry ggccaagaac gccgcaaccg tgmagtcgt ccacgagtat cttggccccg 420
cgccgctca aacaagcaca tayggcgggc aagtcggcga gctctccgtc cgtggagtag 480
acccgctgc acacstaggt gatgtcggcc ccctcsggga tcgacgagag cagcgctcr 540
agstgstccg tgtygttgtg cttcaggcgc acgacggtga ckccttctt gcagagcctg 600
gctgctgtct gcacgcagtc gtgggcgttt atgtccagga ggaggaascc gctctcgccc 660
gccaggctcg 670

```

20

<210> 238

<211> 670

<212> ADN

<213> Alexandrium minutum

25

<400> 238

gggaacccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	aaattcsagg	60
gtcgcmctcaa	gaagccgctt	gcgctgamgg	tccccctcgg	craarttgag	gtcgagggtc	120
gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagag	atcgggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag	180
ttcttggcca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcgggtst	cgcgtgcgca	rccsacgaat	240
ccgcccggg	aattgaacgc	cttgctcarg	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgag	300
tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacgccc	ccgcccgcct	atccgaagg	ttgctccgag	360
tcgggggttry	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgagagtcgt	ccacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtcggcga	gctctccgtc	cgtggagtag	480
acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctcsggga	tcgacgagag	cacgcgctcr	540
agctgctccg	tgctgttgtg	cttcaggcgc	acgacggtga	ckcccttctt	gcagagcctg	600
gcggctgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	atgtccagga	ggaggaascc	gctctcgccc	660
gccagggtcgc						670

<210> 239
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium minutum

gggaacccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	aaattccagg	60
gtcgccctcaa	gaagccgctt	gcgctgacgg	tccccctcgg	caaagttgag	gtcgagggtc	120
gtcttcgcac	tcgacaggcc	ggcagtagag	atcgggccctg	tgaacacgag	cgtgttcgag	180
ttcttggcca	agttcagaat	gccgaacttc	tcgtcgggtct	cgcgtgcgca	gcccacgaat	240
ccgcccggg	aattgaacgc	cttgctcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgag	300
tagtccagcc	cgaagtactt	gacgacgccc	ccgcccgcct	atccgaagg	ttgctccgag	360
tcgggggttgc	ggccaagaac	gccgcaaccg	tgcgagtcgt	ccacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	tatggcgggc	aagtcggcga	gctctccgtc	cgtggagtag	480
acgccgtcgc	acacgtaggt	gatgtcggcc	ccctcsggga	tcgacgagag	cacgcgctcg	540
agctgctccg	tgctgttgtg	cttcaggcgc	acgacggtga	ctcccttctt	gcagagcctg	600
gctgccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgttt	atgtccagga	ggaggaaccc	gctctcgccc	660
gccagggtcgc						670

<210> 240
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium catenella

gggaagccgt	ggtaggtgtg	ggggcaccgg	agcgccttga	gcccctcgca	gaactcgagg	60
gtcgccckcca	gragccgcyt	gcgctgaagg	tccccctcgg	cggcggttag	gtccagggtc	120
gtctyggc	tcgacaggcc	ggcggtacag	atcgggccctg	tgaacacgag	ygtgttcgag	180
ttcttsgcca	agttcaggat	gccgaacttc	tcgtcgggtct	cgcgcgcgca	gcccacgaat	240
ccgcccggg	agttgaacgc	cttgctcagc	tgcccggcgt	agatgatgtt	gttctccgag	300
tagtccagcc	cgaagtactc	gacgacgccc	ccgcccgcct	acccgagggg	ttgctccgag	360
tcwgggttkc	ggccaagaac	gccgcagccr	tgcgagtcgt	cyacgagtat	cttggccccg	420
cgcggcctca	aacaagcaca	katggcgggc	aagtcsgcga	gctctccgtc	ygtggagtag	480
acgccgtcgc	asacgtaggt	gatgtcggcc	ccctcsggga	tcgasgagag	caygcgctcg	540
agctgctccg	ygctgttgtg	cttcaggcgc	acsacggtgr	cgcccttctt	gcagagcctg	600
gcggccgtct	gcacgcagtc	gtgggcgtkt	atgtccasga	ggaggaaccc	gctctcgccc	660
gcgagggtcgc						670

<210> 241
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

<400> 241

```

gggaacccgt ggtaggtgtg ggggcacccg agcgccttga gcccctcgca gaattcgagg 60
gtcgcccgcca gaagccgctt gcgctgaagg tccccctcgg cggcggttgag gtcgaggggtc 120
gtcwtcgcac tcgacaggcc ggcagtagag atcggccctg tgaacacgag tgtgttcgag 180
ttcttggcca agttcagaat gccgaacttc tcgtcgggtc cgcgcgcaca gccgacgaat 240
ccgccgggagc aattgaacgc cttgctcagc tgcccgccgt agatgatgtt gttctccgcg 300
tagtccagcc cgaagtactc gacgacgccg ccgccaccat acccgaaggg ttgctccgag 360
tcgggggttgc ggccaagaac gccgcagcca tgcgagtcgt ctacgagtat cttggccccg 420
cgcggcctca aacaagcaca tatggcgggc aagtcggcga gctctccgtc cgtggagtac 480
acgccgtcgc acacgtaggt gatgtcggcc ccctgcggga tcgacgagag catgtgctcg 540
agctgctccg cgtcgttgtg cytcaggcgc accacggtgg cgccttctt gcagagcctg 600
gcgcccgctc gcacgcagtc gtggcggtt atgtccagga ggaggaaccc gctctcgccc 660
acgaggtcgc

```

<210> 242
 <211> 670
 <212> ADN
 <213> Alexandrium fundyense

```

<400> 242
gggaacccgt ggtaggtgtg ggggcacccg agcgccttga gcccctcgca gaattcgagg 60
gtcgcccgcca gaagccgctt gcgctgaagg tccccctcgg cggcggttgag gtcgaggggtc 120
gtcwtcgcac tcgacaggcc ggcagtagag atcggccctg tgaacacgag tgtgttcgag 180
ttcttggcca agttcagaat gccgaacttc tcgtcgggtc cgcgcgcaca gccgacgaat 240
ccgccgggagc aattgaacgc cttgctcagc tgcccgccgt agatgatgtt gttctccgcg 300
tagtccagcc cgaagtactc gacgacgccg ccgccaccat acccgaaggg ttgctccgag 360
tcgggggttgc ggccaagaac gccgcagcca tgcgagtcgt ctacgagtat cttggccccg 420
cgcggcctca aacaagcaca tatggcgggc aagtcggcga gctctccgtc cgtggagtac 480
acgccgtcgc acacgtaggt gatgtcggcc ccctgcggga tcgacgagag catgtgctcg 540
agctgctccg cgtcgttgtg cytcaggcgc accacggtgg cgccttctt gcagagcctg 600
gcgcccgctc gcacgcagtc gtggcggtt atgtccagga ggaggaaccc gctctcgccc 660
acgaggtcgc

```

<210> 243
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia cebador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> "r" = g o a

<400> 243
 grctacgcgg agaacaacat 20

<210> 244
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Secuencia cebador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> "y" = t o c

	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (12)..(12)	
5	<223> "k" = g o t	
	<400> 244	
	cgagygtgtt ckagttcttg	21
10	<210> 245	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
15	<220>	
	<223> Secuencia sonda	
20	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (14)..(14)	
	<223> "s" = g o c	
	<400> 245	
	ccggcggatt cgtsrgctg	19
25	<210> 246	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Secuencia artificial	
30	<220>	
	<223> Secuencia sonda	
35	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (13)..(13)	
	<223> "y" = t o c	
40	<400> 246	
	caaggcggtc aaytcgcccg	20
45	<210> 247	
	<211> 1319	
	<212> ADN	
	<213> Alexandrium tamarense	
	<400> 247	

tcgcgctagt	cagtggtgat	gacgctgcat	acactgcggt	gaacagatgt	ccgctcaggc	60
aatcaaaatg	ccgaataata	gtgttcgctc	gtcaaaactaa	agatccactg	tcgattgaac	120
gcccgcttca	gtgatcgcg	gagaagagtc	tctgctgcag	tcgtccgagc	aggaagtatt	180
gagaggcgcc	gaccaccaat	actcaaggag	gtgcgcccga	tacgagatcg	ggggctgtaa	240
gcgggggtcc	gtcaaaaagt	ctacgcctat	gtttgtttta	ggaggatcct	gcaccccgcg	300
gcctcaaaca	caacaaatag	gggcggcaat	tgttcacttg	tttgtcccgg	ggtaccaccc	360
gtacctatgt	agggacctcg	cccccatg	agaaaaacaa	aagcattgcc	tgggtttttg	420
cgggggggtg	ttccccgggc	ccccaccggg	gggccccttt	tttcagaacc	ccggcggggc	480
cgttttcccc	cccccttttg	ggtttttttt	tttttcaaaa	accaatcatc	ccggaacctt	540
gtgggcgaga	gcgggttcct	cctcctgtac	ataaacgccc	acgactgcgt	gcagacggcc	600
gccaggtctt	gcaagaagg	cgccaccgtg	gtgcgcctga	agcacaacga	cacggaacag	660
cccagacaca	tgctctcgtc	gatcccgag	ggggccgaca	tcacctacgt	gtgcgacggc	720
gtgtactcca	cggacgaaga	gctcgccgac	ttgcccggca	tatgtgcttg	tttgaggccg	780
cgcggggcca	agatactcgt	agacgactcg	catggctgcg	gcgttcttgg	ccgcaacccc	840
aactcggagc	aacccctcgg	gtatggtggc	ggcggcgcta	tcgagtactt	cgggctggac	900
tacgcggaga	acaacatcat	ctacgccggg	cagctgagca	aggcgttcaa	ttcgcccggc	960
ggattcgtca	gctgtgcg	cgagaccgac	aaaaatttcg	gcgttctgaa	cttgggccaaa	1020
aactcgaaca	cactcgtggt	cacagggccg	atctgtactg	ccggcctgtc	gagtgcgaaa	1080
acaaccttcg	acctcaacgc	cgccgagggg	gaccttcaac	gcaagcggct	tctggcggct	1140
accctcgaaa	ttctgcgagg	ggctcaaggc	gctcgggtgc	ccccacacct	accacgagtg	1200
ccccatcgtc	aatacggggg	gggaacacac	aagctacgca	agcgtttctg	ggtgagccat	1260
aggcgctccc	gtggcccaca	aatataacag	gaaaccaccg	cccacttctc	tgctatttca	1319

REIVINDICACIONES

1. Un método para detectar un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, comprendiendo el método:
 5 obtener una muestra para su uso en el método; y
 analizar la muestra para detectar la presencia de uno o más de un polinucleótido de dominio catalítico de saxitoxina A de dinoflagelado o un polipéptido codificado por dicho polinucleótido;
 en el que:
 10 el dominio catalítico de saxitoxina se selecciona de: dominio catalítico de saxitoxina A4 o un fragmento de un dominio catalítico de saxitoxina A4; y
 la presencia de dicho polinucleótido o polipéptido indica la presencia de un dinoflagelado productor de saxitoxina en la muestra.
- 15 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos de saxitoxina A seleccionada de las expuestas en cualquiera de las SEQ ID NOS: 230-242 o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.
3. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina
 20 A4 o fragmento de la misma comprende los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.
4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho análisis
 25 comprende:
 (i) amplificación de polinucleótidos de la muestra mediante reacción en cadena de la polimerasa; o
 (ii) amplificación de polinucleótidos de la muestra mediante reacción en cadena de la polimerasa utilizando uno o más cebadores que comprenden una secuencia expuesta en cualquiera de las SEQ ID NOS: 198-199, 228-229 y 243-244, o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.
 30
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos del dominio catalítico de saxitoxina A4 como se expone en los residuos 947-1281 de la SEQ ID NO: 4, o un fragmento o variante de la misma.
 35
6. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el dinoflagelado productor de saxitoxina es:
 (i) del género *Alexandrium*, *Pyrodinium* o *Gymnodinium*; y/o
 40 (ii) se selecciona del grupo que consiste en *A. catenella*, *A. fundyense*, *A. lusitanicum*, *A. minutum*, *A. ostenfeldii*, *A. tamarense*, *G. catenatum* y *P. bahamense* var *compressum*.
7. Uso de un kit para la detección de un dinoflagelado productor de saxitoxina en una muestra, comprendiendo el kit al menos un agente para detectar la presencia de un polinucleótido de dominio catalítico de saxitoxina A de dinoflagelado o un polipéptido codificado por dicho polinucleótido, en el que el dominio catalítico de saxitoxina se selecciona de: dominio catalítico de saxitoxina A4, o un fragmento de un dominio catalítico de saxitoxina A4.
 45
8. Uso de un kit de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el agente se une específicamente a un polinucleótido que comprende una secuencia de nucleótidos de saxitoxina A seleccionada de las expuestas en una cualquiera de las SEQ ID NOS: 230-242 o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.
 50
9. Uso de un kit de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la secuencia del dominio catalítico de saxitoxina A4 o fragmento de la misma comprende los nucleótidos 3115-4121 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, los nucleótidos 3597-3721 de la secuencia de polinucleótidos indicada en la SEQ ID NO: 3, o un fragmento o variante de cualquiera de las secuencias.
 55
10. Uso de un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que el agente es un cebador, sonda o anticuerpo.

11. Uso de un kit de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en el que el agente es un cebador que comprende una secuencia expuesta en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 198-199, 228-229 y 243-244, o un fragmento o variante de una cualquiera de esas secuencias.

5

12. Uso de un kit de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el agente se une específicamente a una secuencia de aminoácidos del dominio catalítico de saxitoxina A4 como se expone en los residuos 947-1281 de la SEQ ID NO: 4, o un fragmento o variante de la misma.

1/14

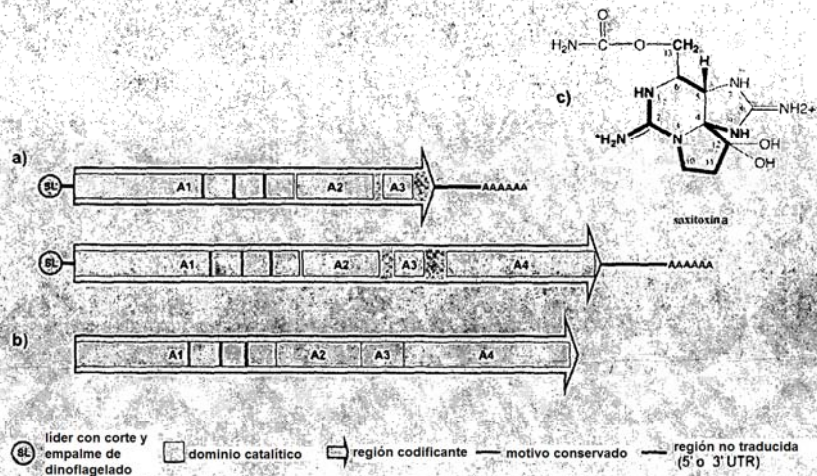


FIGURA 1

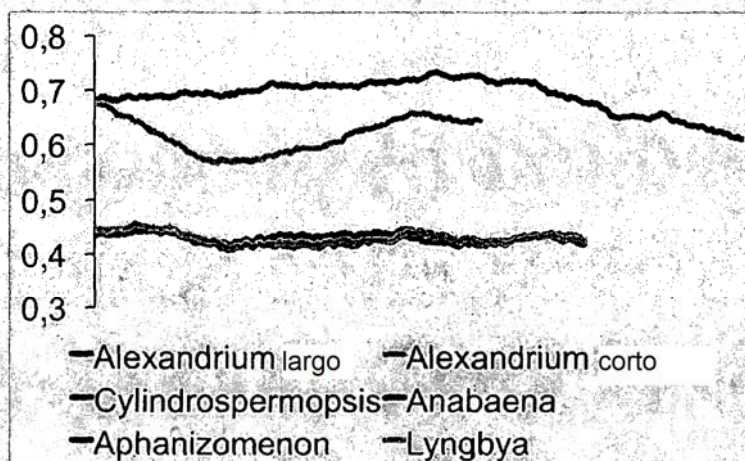
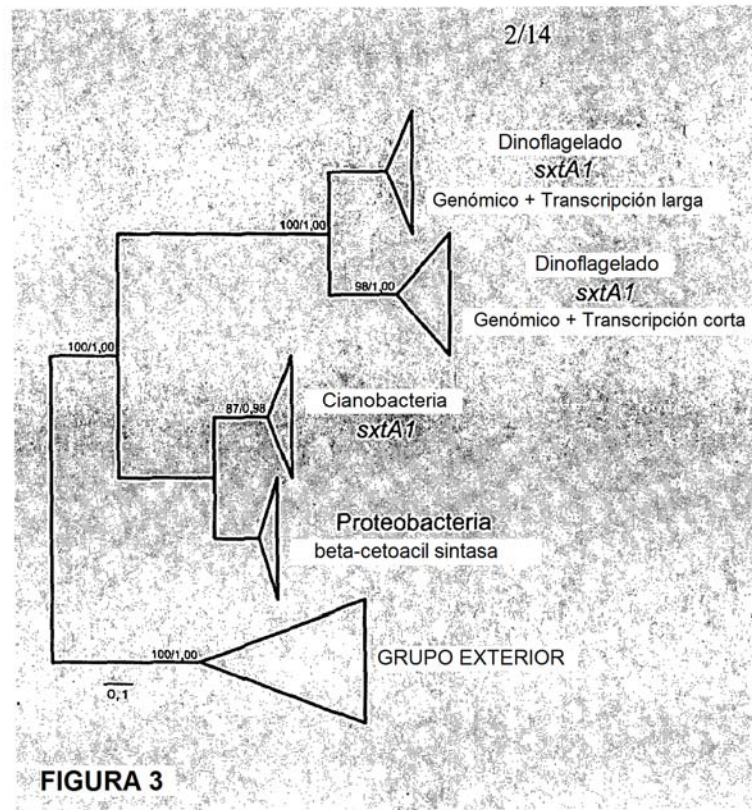


FIGURA 2



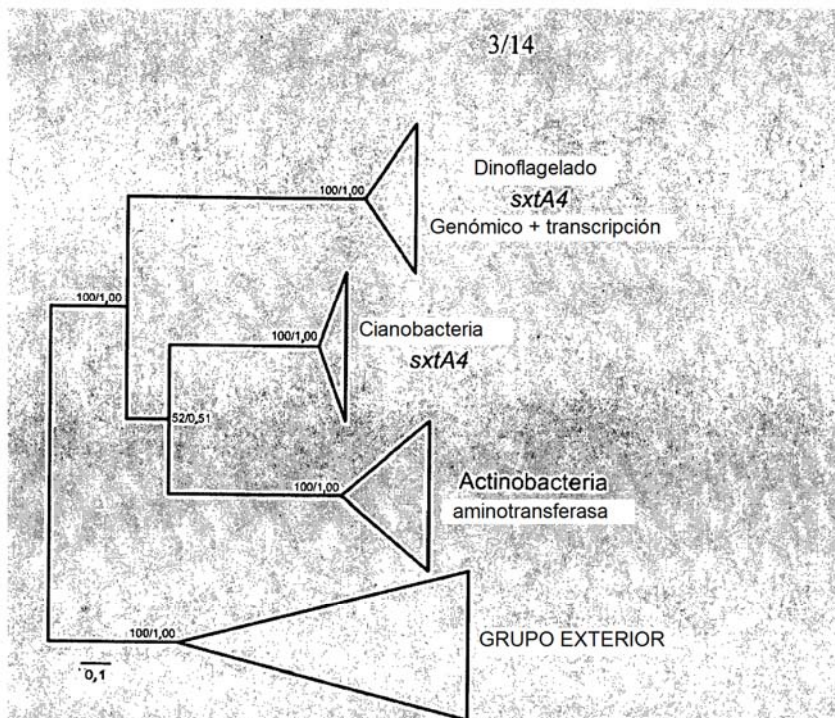


FIGURA 4A

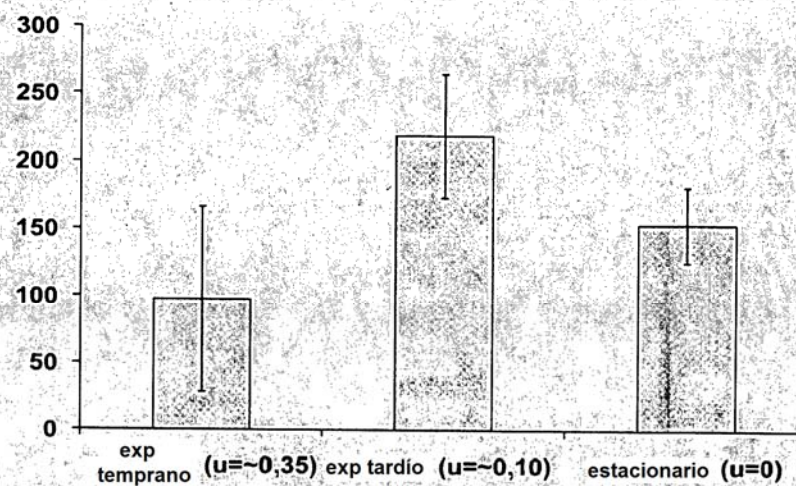


FIGURA 4B

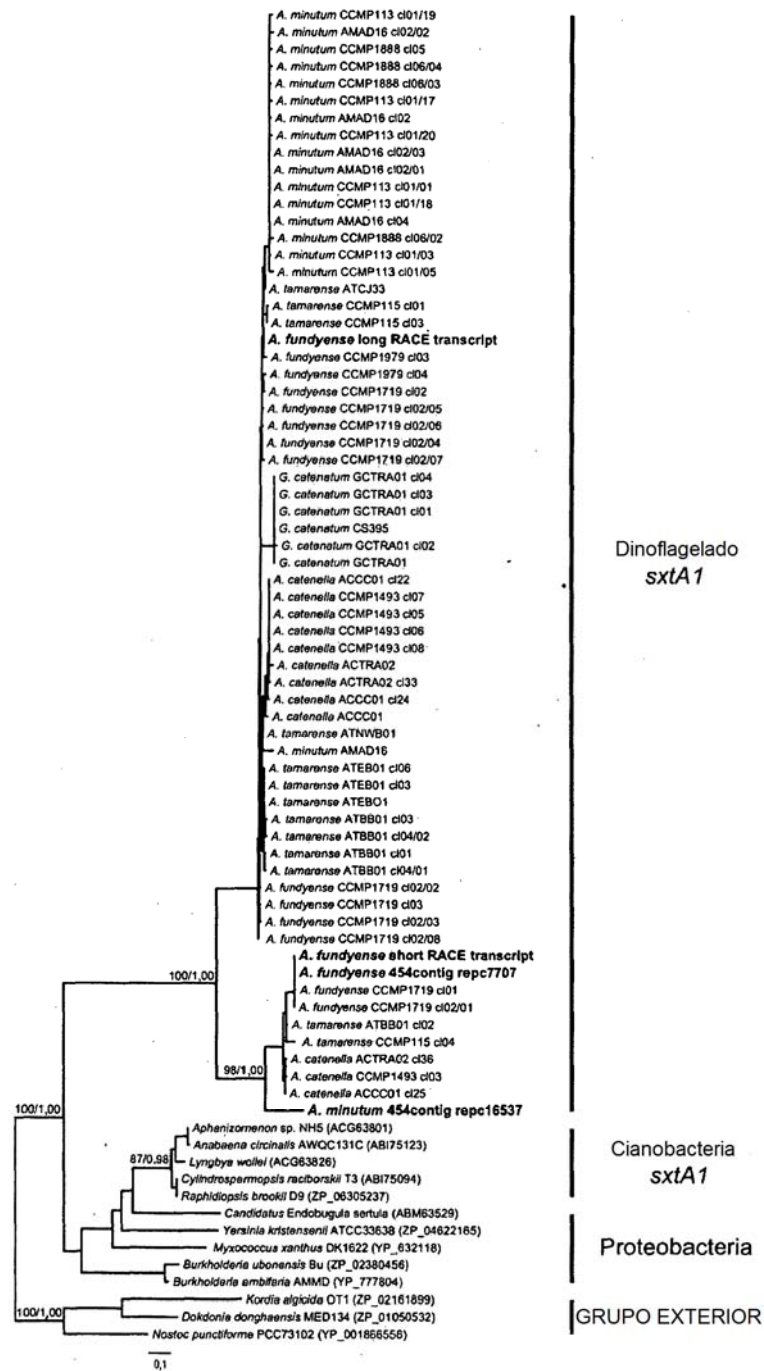


FIGURA 5

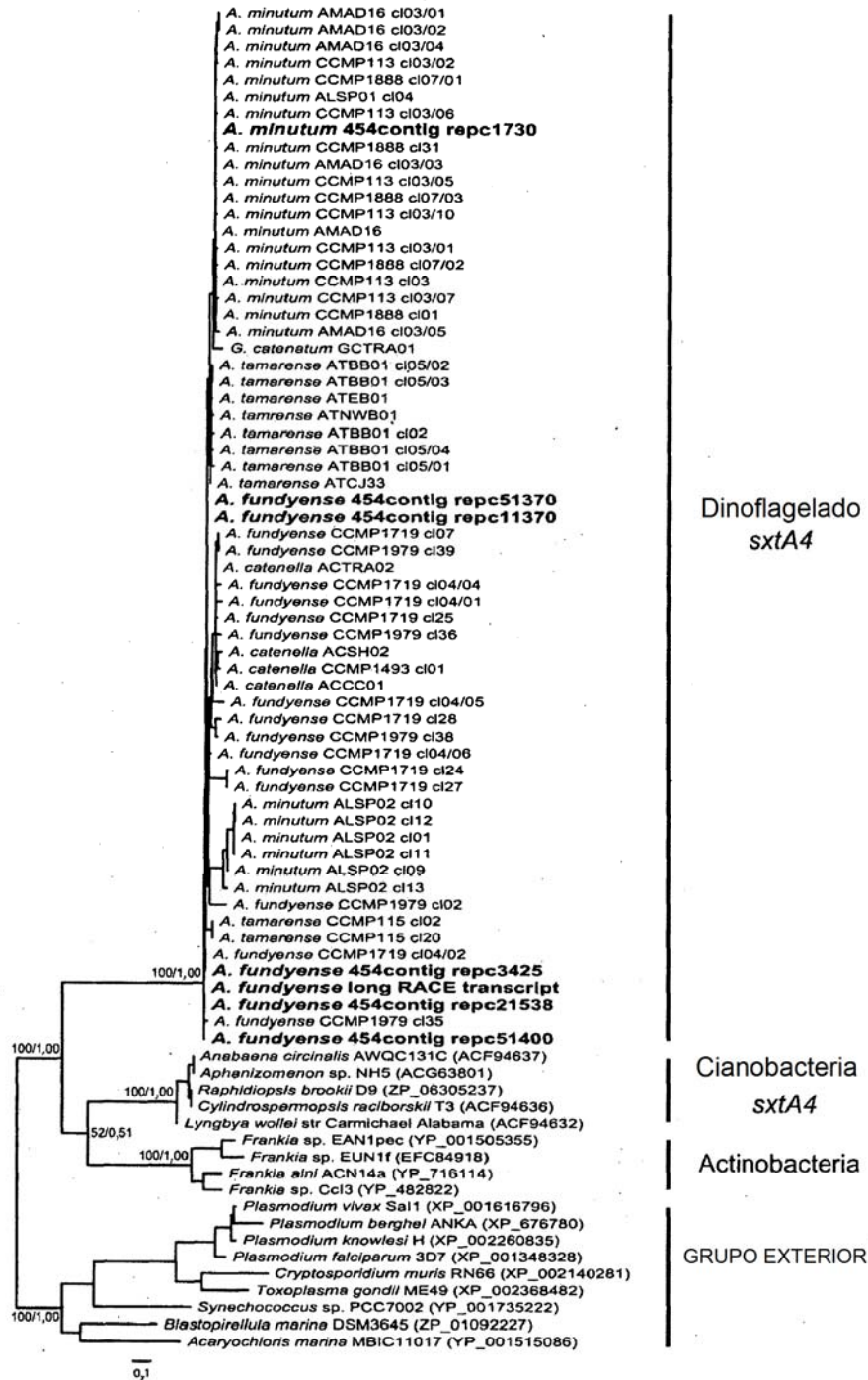


FIGURA 6

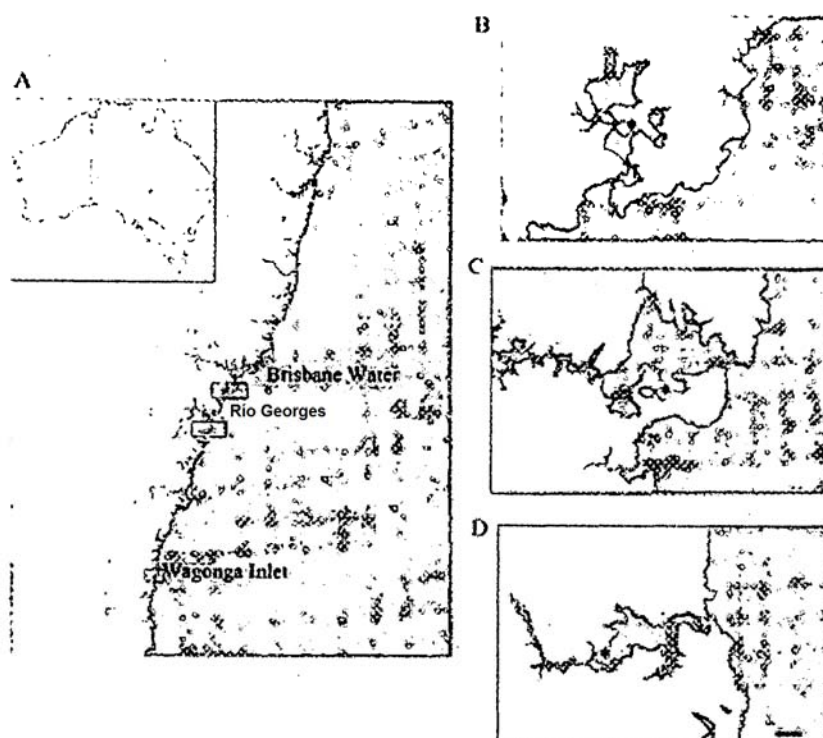


FIGURA 7

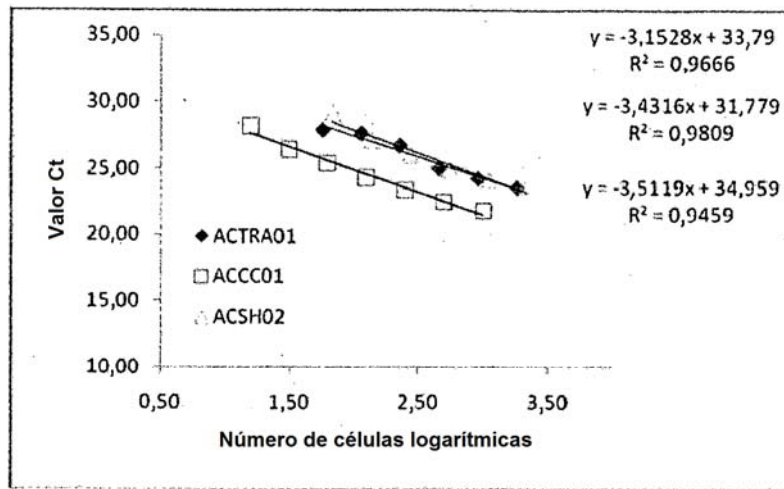


FIGURA 8

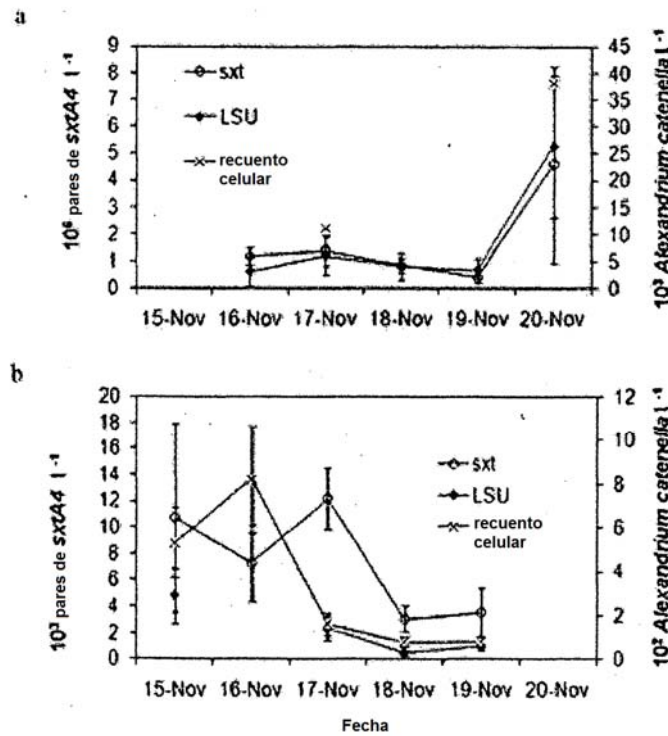


FIGURA 9

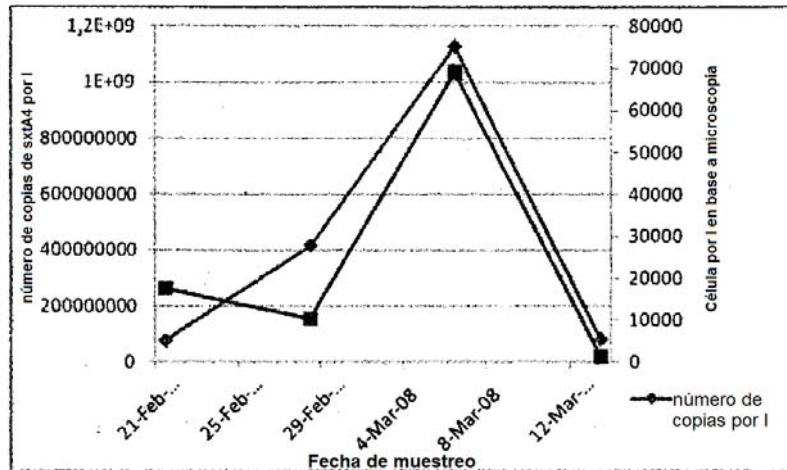


FIGURA 10

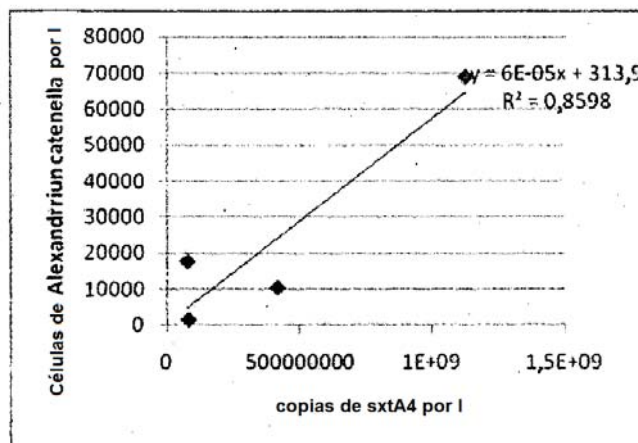


FIGURA 11

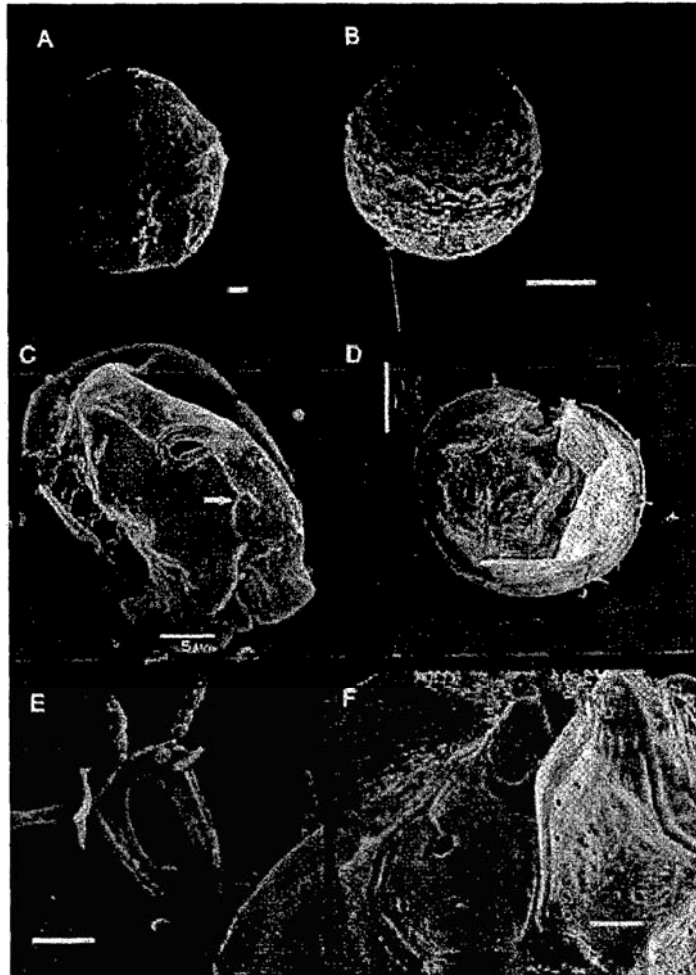


FIGURA 12

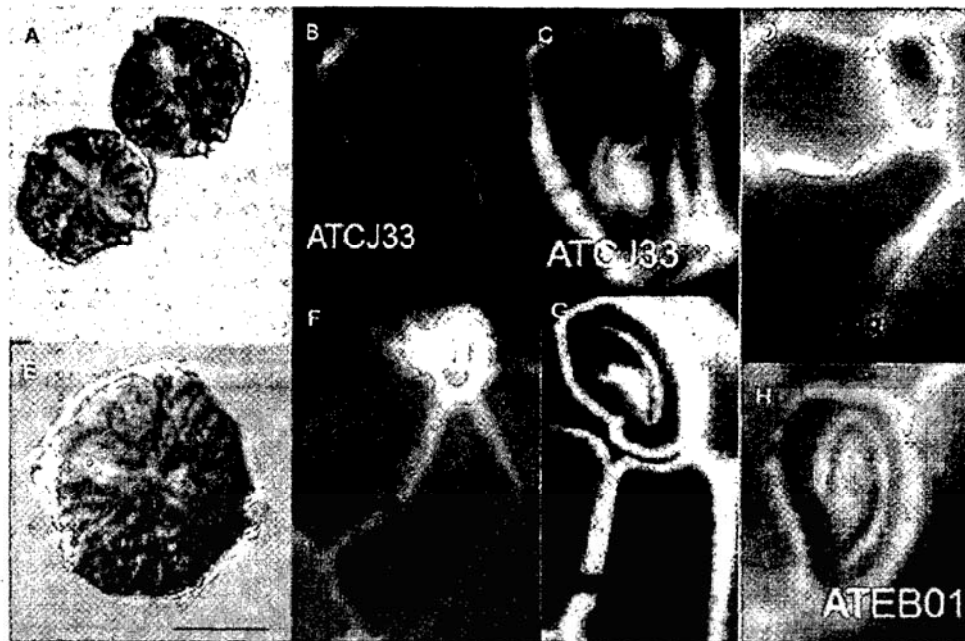


FIGURA 13

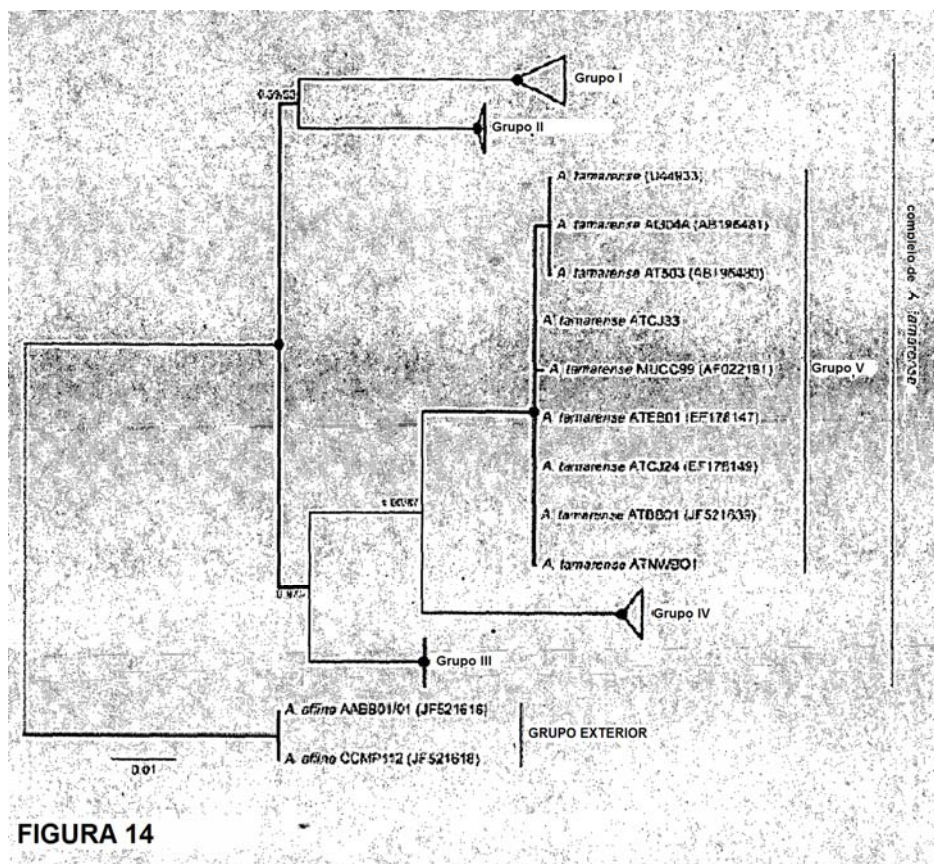


FIGURA 14

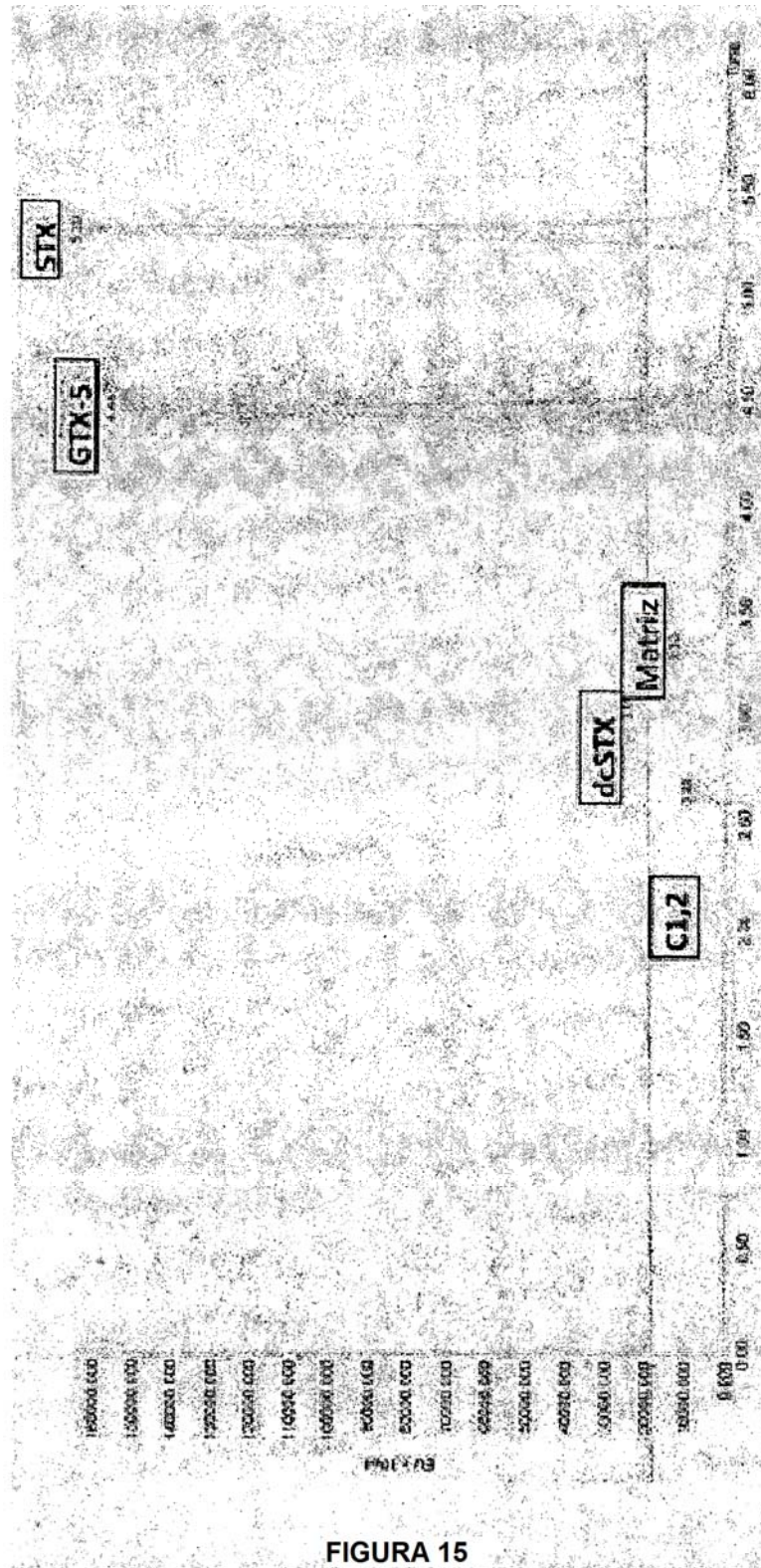


FIGURA 15

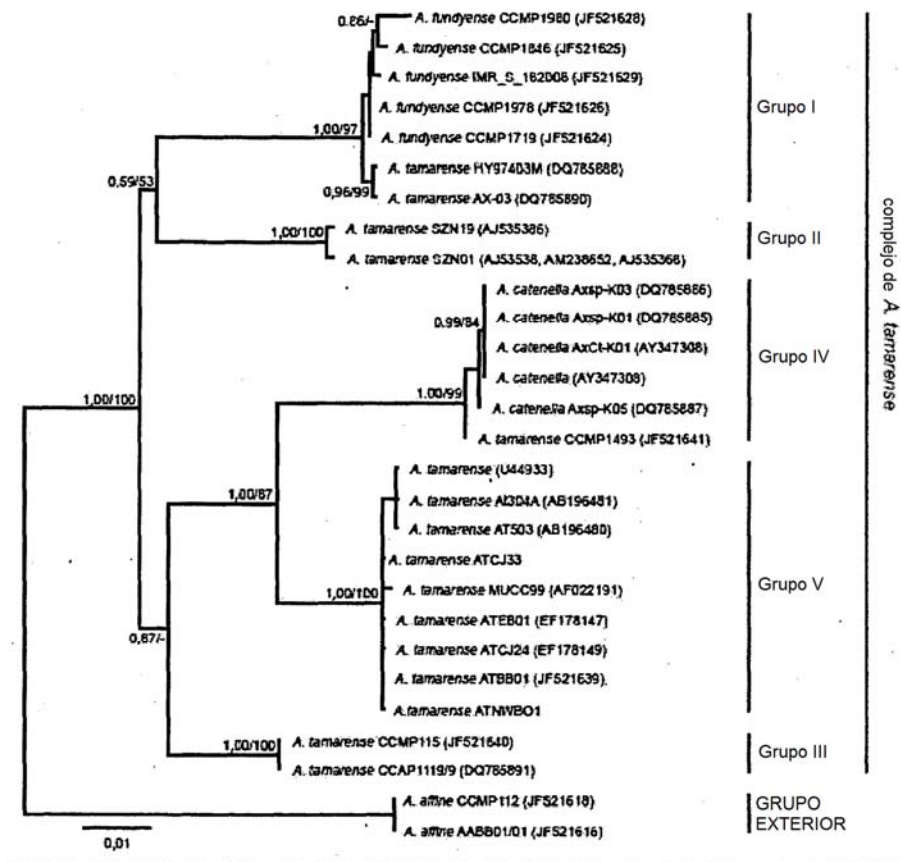


FIGURA 16

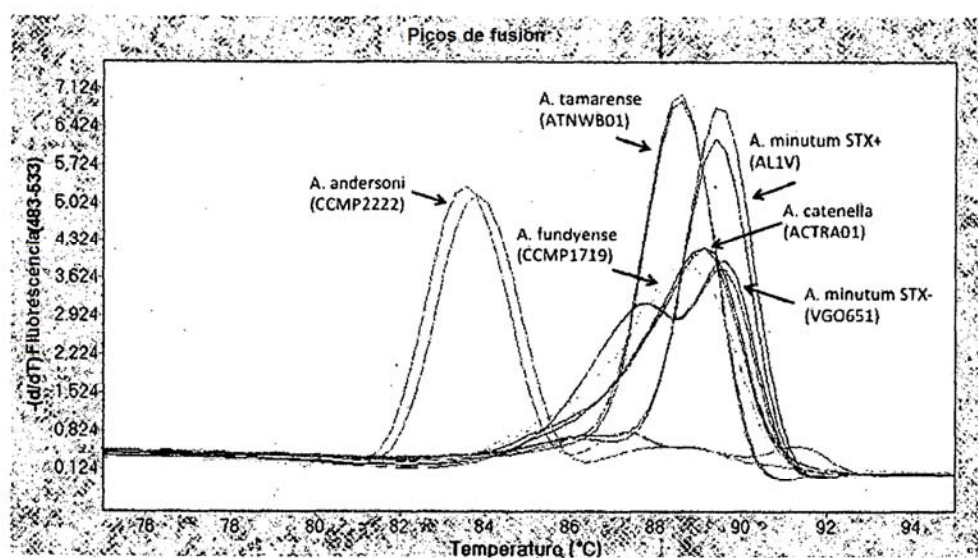


FIGURA 17