

Identificación bioinformática de Polimorfismos de Nucleótido Simple (PNSs) en genes candidatos para las características de la fibra en alpacas (*Vicugna pacos*)

Bioinformatic identification of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in candidate genes for fiber characteristics in alpacas (*Vicugna pacos*)

TRABAJOS ORIGINALES

Presentado: 31/07/2018
Aceptado: 03/02/2019
Publicado online: 30/03/2019

Correspondencia:

*Autor para correspondencia

1 Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina S/N, Lima 12.

2 University of Minnesota, St. Paul, MN 55108, United States.

Email AGFS: 20110366@lamolina.edu.pe

Email GAGR: gustavogr@lamolina.edu.pe

Email FAPLB: apl@umn.com

ORCID FAPdLB: 0000-0001-8645-553X

ORCID GAGR: 0000-0002-1896-0048

Alvaro Gonzalo Fernández Suárez*¹, Gustavo Augusto Gutiérrez Reynoso¹, Federico Abel Ponce de León Bravo²

1 Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú.

2 University of Minnesota, United States.

Citación:

Fernández Suárez A.G., G.A. Gutiérrez Reynoso, F.A. Ponce de León Bravo. 2019. Bioinformatic identification of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in candidate genes for fiber characteristics in alpacas (*Vicugna pacos*). Revista peruana de biología 26(1): 087 - 094 (Febrero 2019). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15911>

Palabras clave: Alpaca; bioinformática; polimorfismos de nucleótido simple; queratina; haplotipo.

Keywords: Alpaca; bioinformatics; single nucleotide polymorphisms; keratin; haplotype.

Resumen

El objetivo fue identificar y predecir la ubicación de polimorfismos de nucleótido simple (PNSs) en genes relacionados al crecimiento de la fibra. Se realizó el estudio con un total de 31 genes de queratina (*KRT9*, *KRT12*, *KRT13*, *KRT14*, *KRT16*, *KRT18*, *KRT20*, *KRT25*, *KRT1*, *KRT3*, *KRT5*, *KRT6a*, *KRT6b*, *KRT6c*, *KRT7*, *KRT8*, *KRT71*, *KRT80*, *KRT31*, *KRT32*, *KRT40*, *KRT81*, *KRT82*, *KRT10*, *KRT15*, *KRT17*, *KRT19*, *KRT2*, *KRT4*, *KRT79* y *KRT83*) asociados con las características de lana, fibra y pelo en ovinos, cabras y humanos respectivamente, cuyas secuencias fueron encontradas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Mediante el uso de bases de datos y herramientas bioinformáticas como el Conserved Domains Database, Spling, y MegaBlast se logró ubicar secuencias únicas para cada gen. Estas secuencias fueron comparadas con los genomas de referencia *Vicugna_pacos-2.0.2* y *Vi_pacos_V1.0*. Se identificaron 48 PNSs ubicados en las regiones intrónicas y exónicas de 22 genes. No se localizaron PNSs en o alrededor de los genes *KRT10*, *KRT15*, *KRT17*, *KRT19*, *KRT2*, *KRT4*, *KRT6b*, *KRT6c* y *KRT79*. El análisis comparativo entre las cuatro especies estudiadas permitió observar que los genes *KRT81*, *KRT6b* y *KRT6c* no están presentes en los genomas de referencia de alpaca, los genes *KRT31*, *KRT14*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT6b* y *KRT6c* no están presentes en el genoma de referencia de ovino y los genes *KRT31*, *KRT13*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT6b* y *KRT6c* no están presentes en el genoma de referencia de cabra.

Abstract

The objective was to identify and predict the location of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes related to fiber growth. The study was carried out with 31 keratin genes (*KRT9*, *KRT12*, *KRT13*, *KRT14*, *KRT16*, *KRT18*, *KRT20*, *KRT25*, *KRT1*, *KRT3*, *KRT5*, *KRT6a*, *KRT6b*, *KRT6c*, *KRT7*, *KRT8*, *KRT71*, *KRT80*, *KRT31*, *KRT32*, *KRT40*, *KRT81*, *KRT82*, *KRT10*, *KRT15*, *KRT17*, *KRT19*, *KRT2*, *KRT4*, *KRT79* y *KRT83*) associated with wool, fiber and hair characteristics in sheep, goat and human, respectively. These gene sequences were retrieved from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. Using databases and bioinformatics tools such as the Conserved Domains database, Spling and Megablast, unique sequences for each gene were identified. These sequences were compared to the reference genomes: *Vicugna_pacos-2.0.2* and *Vi_pacos_V1.0* to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs). In this manner, 48 SNPs were identified and localized in both intronic and exonic regions of 22 genes. We did not identify SNPs for *KRT10*, *KRT15*, *KRT17*, *KRT19*, *KRT2*, *KRT4*, *KRT6b*, *KRT6c* and *KRT79*. Comparative analysis among the four species studied allow to identify that sequences for *KRT81*, *KRT6b* and *KRT6c* genes are not present in the alpaca reference genomes. Similarly, genes *KRT31*, *KRT14*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT6b* and *KRT6c* are not present in the ovine reference genome and, genes *KRT31*, *KRT13*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT6b* and *KRT6c* are not present in the goat reference genome.

Journal home page: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/index>

© Los autores. Este artículo es publicado por la Revista Peruana de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citadas. Para uso comercial, por favor póngase en contacto con revistaperuana.biologia@unmsm.edu.pe.

Introducción

La alpaca es criada principalmente para la producción de fibra, siendo ésta apreciada por su finura, suavidad y la gran gama de tonalidades de colores naturales que se obtienen de ella. La industria textil considera que la fibra de alpaca es especial ya que los artículos que se confeccionan con ella son clasificados como artículos de lujo (Wang et al. 2003). Sin embargo, solo el 22% y 46% de la fibra ofertada en el mercado nacional son de calidad fina y semifina respectivamente (De los Ríos 2006), sugiriéndose que una de las vías para la mejora de su calidad sería a través del mejoramiento genético.

La principal proteína constituyente de las fibras de origen animal es la queratina, producida en los folículos pilosos de la piel (Zoccola 2014). Por tanto, sería importante identificar y conocer la función de los genes relacionados a la síntesis de queratina, así como la identificación de PNSs asociados a las características de calidad de fibra. Rogers (2004) menciona que el folículo piloso es una estructura muy conservada en los mamíferos. De la misma manera, Schweizer et al. (2006) indica que las secuencias de genes de queratina son conservadas en mamíferos. Por lo tanto, es de suponerse que el uso de las secuencias de genes ortólogos de ovinos, cabras y humanos facilitarían la identificación de secuencias similares en alpacas. De la misma manera la comparación de estas secuencias entre alpacas permitirá la identificación de marcadores moleculares genéticos.

El uso de marcadores moleculares como los PNSs puede ayudar a identificar regiones genómicas asociadas a las características de la fibra que pueden usarse para seleccionar animales superiores con los cuales se pueda lograr un mejoramiento genético acelerado y continuo.

Los PNSs son variaciones de un solo nucleótido en una secuencia, generalmente se originan de errores de replicación del ADN durante la división celular de las células germinales (Thavamanikumar et al. 2011). Según Ramensky et al. (2002) los PNSs son abundantes y están distribuidos a lo largo del genoma. Sin embargo, para ser usados como marcadores genéticos se requiere que uno de sus alelos esté presente en al menos el 1% de la población (Brookes 1999). Además, Brookes (1999) señala que los PNSs se caracterizan por ser estables genéticamente y poseer una baja tasa de mutación.

Se han realizado estudios para la identificación de polimorfismos de nucleótido simple en alpacas. Así, Foppiano (2016) ubicó 27 PNSs en genes de proteínas asociadas a la queratina (*KRTAP1-2*, *KRTAP6-1*, *KRTAP9-2*, *KRTAP11-1* y *KRTAP13-1*). Por otro lado, Delgado de la Flor (2014) realizó la caracterización de marcadores PNSs en el gen de Tricohialina para estudiar su posible asociación con el fenotipo Suri y Huacaya, reportando la ubicación de 2 PNSs que se encuentran en desequilibrio de ligamiento con el gen Tricohialina, pero no encontró asociación de esos PNSs con el fenotipo Suri o con el Huacaya. Por otro lado, Guzmán (2011) reportó PNSs para el gen *TLR4*, sin embargo, no encontró asociación entre animales sanos y

enfermos afectados por *Pasteurella multocida*. Diversos autores han reportado PNSs en la secuencia de genes relacionados a la expresión del color del vellón en alpacas (Cransberg y Munyard, 2011; Chandramohan et al., 2013; Guridi et al., 2011; Chandramohan et al., 2015) También Mamani et al. (2017) con el objetivo de desarrollar una micromatriz semi-densa de PNSs identificó 50,686 PNSs en alpacas a partir del genotipado de un panel de radiación celular híbrido alpaca/hámster con una micromatriz de alta densidad de bovino.

A fin de realizar estudios de asociación entre marcadores moleculares y funciones biológicas específicas, el presente trabajo tuvo el objetivo de identificar y predecir la ubicación de PNSs en genes candidatos relacionados al crecimiento y características de la fibra de alpacas. Los PNSs identificados podrían ser incluidos en una futura micromatriz de PNSs de alpaca.

Material y métodos

Se estudiaron 31 genes de queratina reportados para ovinos, cabras y humanos entre los cuales tenemos 12 genes del epitelio de tipo I (*KRT9*, *KRT10*, *KRT12*, *KRT13*, *KRT14*, *KRT15*, *KRT16*, *KRT17*, *KRT18*, *KRT19*, *KRT20* y *KRT25*), 13 genes del epitelio de tipo II (*KRT1*, *KRT2*, *KRT3*, *KRT4*, *KRT5*, *KRT6a*, *KRT6b*, *KRT6c*, *KRT7*, *KRT8*, *KRT71*, *KRT79* y *KRT80*), 3 genes de la fibra de tipo I (*KRT31*, *KRT32* y *KRT40*) y 3 genes de la fibra de tipo II (*KRT81*, *KRT82* y *KRT83*) (Zhidong et al. 2006).

Se utilizó la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI, EEUU) para obtener las secuencias, número de exones y cromosoma al que pertenecen cada uno de estos genes. Las secuencias fueron obtenidas en formato FASTA. Una vez obtenida la secuencia para cada gen de interés se identificaron los exones que contenían secuencias que caracterizan los dominios de las superfamilias génicas (Conserved Domains Database, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) para eliminar estas secuencias comunes de las comparaciones a seguir. El filtrado de estas secuencias comunes nos asegura el poder identificar PNSs en regiones específicas para cada gen.

Una vez eliminadas las regiones compartidas con otros genes de cada superfamilia, se delimitaron los intrones, exones y las regiones no traducidas mediante el uso del programa Splign (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sutils/splign/splign.cgi>). Luego, utilizando el programa Mega Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) se compararon e identificaron zonas compartidas de genes ortólogos de ovino, caprino y humano con el genoma de referencia VicPac 2.0.2. Para la identificación de PNSs se alinearon y compararon las secuencias de los genes de interés con el Vicpac 2.0.2 y el Vi.Pacos 1.0 que representan dos genomas distintos de referencia de alpaca.

Resultados

Se identificaron un total de 48 PNSs de los cuales 14 PNSs se encuentran distribuidos en 8 genes de queratina de epitelio de tipo I (*KRT9*, *KRT12*, *KRT13*, *KRT14*, *KRT16*,

KRT18, KRT20, KRT25); 23 PNSs distribuidos en los 8 genes de queratina de epitelio de tipo II (*KRT1, KRT3, KRT5, KRT6a, KRT7, KRT8, KRT71, KRT80*); 4 PNSs en los genes de queratina de fibra de tipo I (*KRT31, KRT32, KRT40*) y 7 PNSs en los genes de queratina de fibra de tipo II (*KRT81, KRT82, KRT83*). En el Anexo 1 se presentan las secuencias de los 48 PNSs identificados. La nomenclatura usada para designar cada PNS incluye el acrónimo (UNALM) de la institución que identifico el PNS seguido del acrónimo correspondiente al gene (*KRT##*) y la localización del PNS ya sea en un exón seguido del número del exón (E#) o un intrón seguido por número del intrón (I#) y por último siete dígitos numerales consecutivos que enumera cada PNS.

Los genes *KRT6a, KRT6b* y *KRT6c* se encuentran ubicados en tres loci en el genoma de referencia del humano, sin embargo, en el genoma de alpaca (VicPac 2.0.2) solo se pudo ubicar una secuencia equivalente a la del gen *KRT6a* y la ausencia de secuencias equivalentes a los genes *KRT6b* y *KRT6c*. El análisis comparativo de secuencias génicas entre las cuatro especies estudiadas, indico que los genes *KRT25, KRT10, KRT12, KRT20, KRT40, KRT31, KRT32, KRT13, KRT15, KRT19, KRT9, KRT14, KRT16* y *KRT17* están ubicados en el cromosoma 17, 11 y 19 de humano, ovino y cabra respectivamente; y en alpaca se en-

cuentran en el scaffold 188 y 450 (Fig. 1). El scaffold 450 ha sido asignado a VPA16 q12-q13 (Mendoza 2018). Los genes *KRT31* y *KRT14* no están anotados en ovinos y los genes *KRT31* y *KRT13* no están anotados en cabras. Los genes *KRT80, KRT7, KRT81, KRT83, KRT82, KRT6a, KRT6b, KRT6c, KRT5, KRT71, KRT2, KRT1, KRT3, KRT4, KRT79, KRT8* y *KRT18* están ubicados en el cromosoma 12 q13, 3 q23, 5 q21 de humano, ovino y cabra respectivamente y el scaffold 36 en alpaca. Sin embargo, la orientación centrómero – telómero de este cluster es inversa en ovinos y en caprinos (Fig. 2). Este estudio comparativo nos permitió observar que los genes *KRT81, KRT83, KRT6b* y *KRT6c* no están anotados en ovinos y cabras y que el genoma referencial de alpaca (VicPac 2.0.2) no tiene secuencias y/o anotaciones para los genes *KRT6b* y *KRT6c*.

Los genes estudiados en los que se han identificado PNSs se encuentran en los scaffold 450, 188 y 36 del Vicpac 2.0.2 y las distancias entre ellos dentro de cada scaffold varían entre dieciséis mil a cien mil pares de bases. Se predicen posibles haplotipos que se encontrarían en la población de alpacas. En el scaffold 450, los posibles PNSs de los genes *KRT31, KRT32, KRT13, KRT9, KRT14* y *KRT16* formaron dos haplotipos, el 5'CTGAAG3' y el 5'TCAGGA3'. De la misma manera, en el scaffold 188 los posibles PNSs de los genes *KRT25, KRT12, KRT20* y

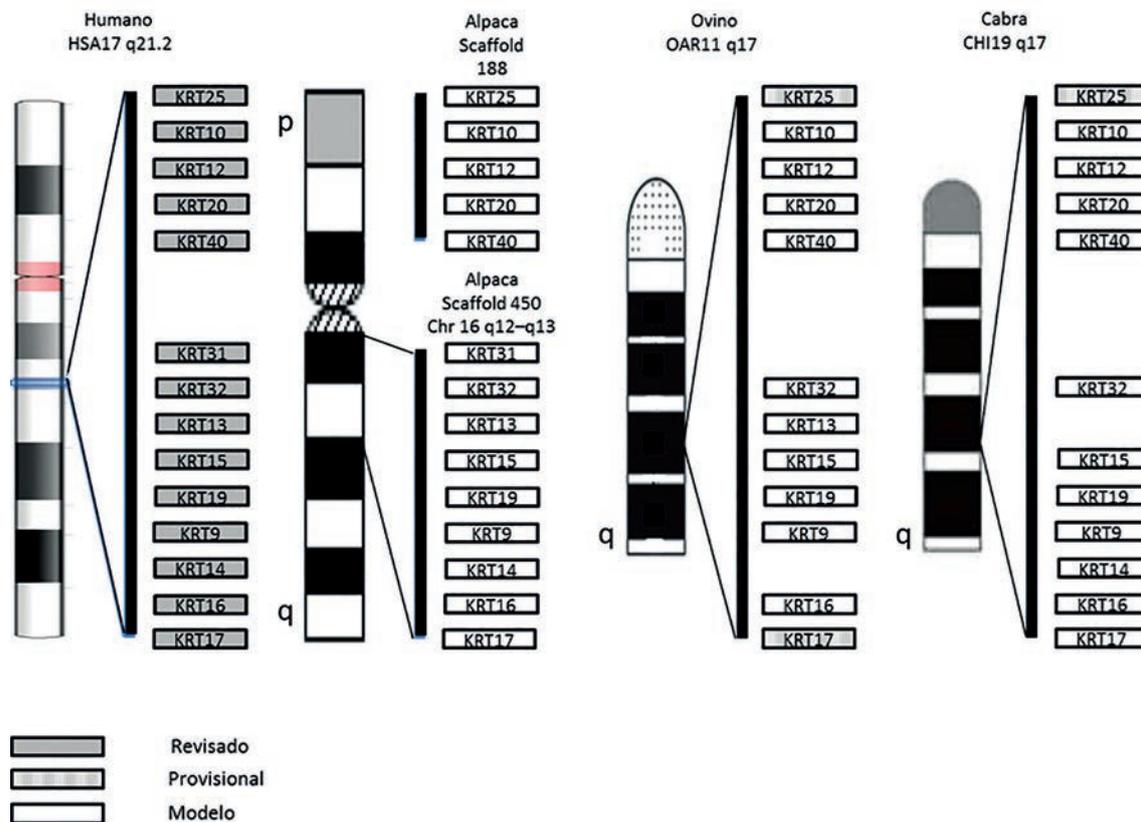


Figura 1. Representación comparativa de localización cromosómica del cluster de genes de queratina flanqueados por los genes *KRT25* y *KRT17*. Se observa la conservación del ordenamiento en tándem de este cluster de genes en las especies estudiadas y la sintenia que existe entre los cromosomas representados. No se tiene conocimiento de a que cromosoma de alpaca pertenece el scaffold 188. Nótese la ausencia del gen *KRT31* en ovino y cabra, del *KRT13* en cabra y del *KRT14* en ovino. Los ideogramas se obtuvieron del NCBI (humano), Avila et. al. 2014 (alpaca), Goldammer et. al. 2009 (ovino) y Schibler et. al. 2009 (cabra). p= brazo corto del cromosoma. q= brazo largo del cromosoma. El estado de referencia para cada gen esta descrito en el NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>).

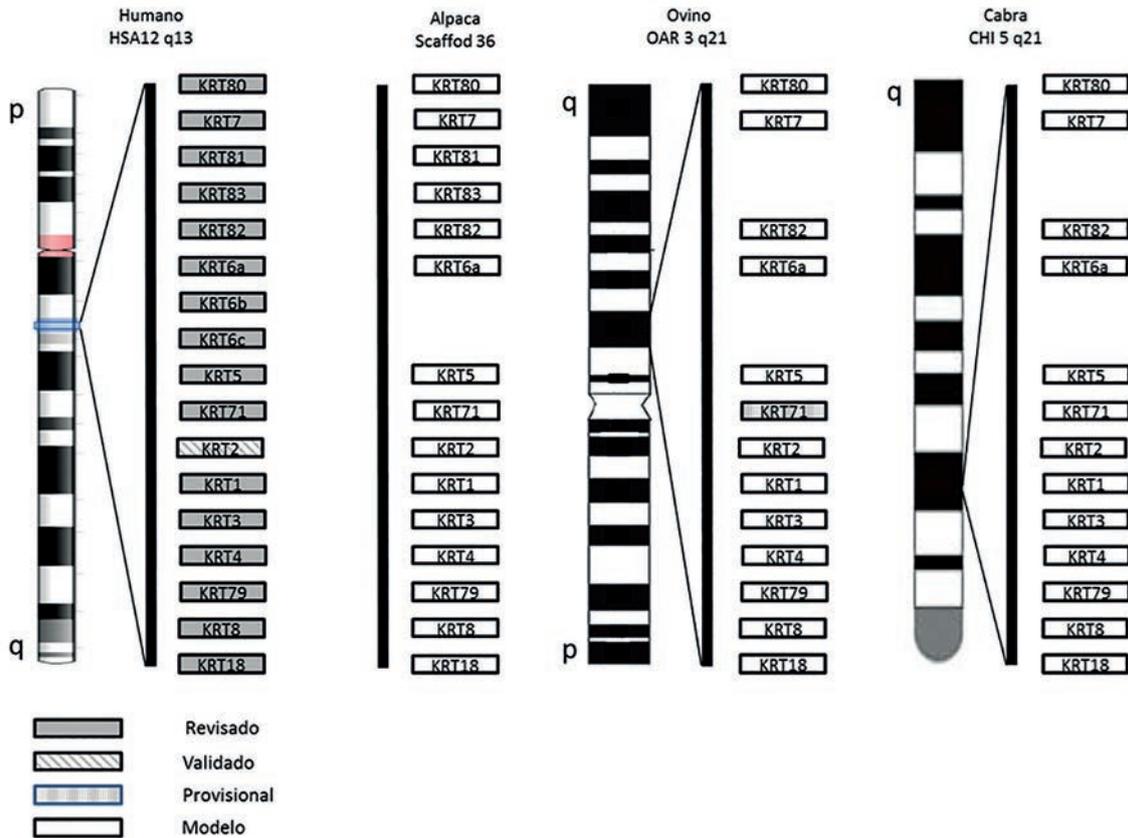


Figura 2. Representación comparativa de localización cromosómica del cluster de genes de queratina flanqueados por los genes *KRT80* y *KRT18*. Se observa la conservación del ordenamiento en tándem de este cluster de genes en las especies estudiadas y la sintenia que existe entre los cromosomas representados. Los cromosomas de ovino y cabra están representados en forma inversa para mantener la correspondencia que existe entre estos genes y que corresponde a una inversión del bloque cromosómico. No se tiene conocimiento de a que cromosoma de alpaca pertenece el scaffold 36. Nótese la ausencia de los genes *KRT6b* y *KRT6c* en alpaca, ovino y cabra y de los genes *KRT81* y *KRT83* en ovino y cabra. Los ideogramas se obtuvieron del NCBI (humano), Avila et. al. 2014 (alpaca), Goldammer et. al. 2009 (ovino) y Schibler et. al. 2009 (cabra). p= brazo corto del cromosoma. q= brazo largo del cromosoma. El estado de referencia para cada gen esta descrito en el NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21091/>).

KRT40 formaron dos haplotipos, 5'TAGT3' y 5'CTAC3'. Así mismo, en el scaffold 36, los posibles PNSs de los genes *KRT80*, *KRT7*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT82*, *KRT6a*, *KRT5*, *KRT71*, *KRT1*, *KRT3*, *KRT8* y *KRT18*, formaron dos haplotipos, 5'CACTAAAGAGCC3' y 5'TGTTAGGAGATA3'.

Discusión

Pariset et al. (2006) identificó un PNS en el exón 6 del gen *KRT1* en ovinos. En el presente trabajo se identificaron en alpaca 3 PNSs en el gen *KRT1*, 2 en el intrón 2 y 1 en el exón 9. En ovinos Sulayman et al. (2018) identificó PNSs en los genes *KRT27*, *KRT31*, *KRT36*, *KRT38*, *KRT81* y *KRT85* y encontró que el gen *KRT31* esta significativamente asociado al diámetro de lana, por ello, sería importante utilizar los dos PNSs reportados en este estudio para el gen *KRT31* de la alpaca, porque también podrían estar asociados con el diámetro de fibra.

Schweizer et al. (2006) indica que la secuencia de los genes de queratina es conservada en los mamíferos. Pero, no todos los genes están presentes en las distintas especies. Los 31 genes de queratina utilizados para este trabajo fueron ubicados en su totalidad en humanos, los genes

KRT6b, *KRT6c*, *KRT31*, *KRT81* y *KRT83* no están presentes y/o anotados para ovino y cabra en sus genomas referenciales en el NCBI y los genes *KRT6a*, *KRT6b*, *KRT6c* y *KRT81* no están presentes y/o anotados en el Vicpac 2.0.2. Sin embargo, en el presente trabajo fueron ubicadas dos secuencias similares a los genes *KRT6a* y *KRT81* en alpaca que aún no están anotadas en el VicPac 2.0.2. El gen *KRT6a* está ubicado entre el nucleótido 10536432 y el 10539642 del scaffold 36 y el gen *KRT81* está ubicado entre el nucleótido 10411693 y el 10419541 del scaffold 36, por ello podemos concluir que estos genes existen en alpaca.

Hesse et al. (2004) desarrolló un análisis de cluster de genes de queratina en humanos y ratas identificando clusters de queratinas de tipo I en el cromosoma 17 y 10 respectivamente, con un total de 27 genes y 4 pseudogenes en humanos. También ubico un cluster de queratinas de tipo II en el cromosoma 12 y otro en el cromosoma 7 de humanos y ratas respectivamente, con un total de 26 genes y 5 pseudogenes en humanos. En el presente trabajo se identificó un cluster de 12 genes de queratinas en el scaffold 36, de 4 genes en el scaffold 188 y 6 genes en el scaffold 450. Mendoza (2018) ubicó mediante hibrida-

ción fluorescente *in situ* (FISH) que el gen *KRT15* está ubicado en el cromosoma 16 q12-q13 en alpaca al igual que el scaffold 450, en consecuencia, los PNSs y genes ubicados en este scaffold se encuentran en el cromosoma 16 de alpaca (Fig. 1). Además, cabe la posibilidad de que el número de clusters y/o genes dentro de cluster sea mayor a lo reportado en el presente estudio, debido a que solo se consideraron 31 genes de queratina en este análisis.

Desde que los PNSs predichos conforman haplotipos de PNSs, estos serán segregados conjuntamente, dada que la posibilidad de que exista una recombinación haplotípica es baja, la probabilidad de que dos individuos no emparentados posean el mismo haplotipo también es baja. Por lo cual el uso de estos haplotipos para estudios de asociación a características fenotípicas de la fibra es recomendable. En especial el haplotipo encontrado en el scaffold 450 que incluye el gen *KRT31* relacionado con finura de lana (Sulayman et al. 2018), en alpaca podría ser suficiente para identificar asociación entre estos genes y caracteres de la fibra desde que se analice una muestra adecuada de animales, facilitando de esta manera la implementación de selección asistida por marcadores moleculares.

De los 31 genes, en 9 genes (*KRT10*, *KRT15*, *KRT17*, *KRT19*, *KRT2*, *KRT4*, *KRT6b*, *KRT6c* y *KRT79*) no se pudo identificar ningún PNS exónico o intrónico. El gen *KRT10* se encuentra en el scaffold 188 alineado en tandem con los genes *KRT25*, *KRT12*, *KRT20* y *KRT40* (Fig. 1). Los genes *KRT15*, *KRT19* y *KRT17* se encuentran en el scaffold 450 alineados en tandem con los genes *KRT31*, *KRT32*, *KRT13*, *KRT9*, *KRT14* y *KRT16* (Fig. 1). Los genes *KRT2*, *KRT4* y *KRT79* se encuentran en el scaffold 36 y están alineados en tandem con los genes *KRT80*, *KRT7*, *KRT81*, *KRT83*, *KRT82*, *KRT6a*, *KRT5*, *KRT71*, *KRT1*, *KRT3*, *KRT8* y *KRT18* (Fig. 2).

En conclusión, se logró ubicar un total de 48 PNSs, los cuales después de su validación *in vitro* podrán ser usados para realizar pruebas de asociación entre las características de la fibra y PNSs. Además, se pudo ratificar que los genes de queratina son genes conservados entre especies y que su distribución y ordenamiento en tándem en el genoma es muy similar entre especies. También se identificó que el cluster flanqueado por los genes *KRT80* y *KRT18* es conservado en las cuatro especies estudiadas pero que se encuentra invertido, con referencia al humano, en ovinos y cabras. Como no se conoce la localización cromosómica de este cluster en alpacas no se puede indicar su orientación con respecto al humano.

Literatura citada

- Avila F. 2014. Comparative mapping of the alpaca genome. Doctoral dissertation, Texas A & M University. Available electronically from <http://hdl.handle.net/1969.1/153632>.
- Brookes A.J. 1999. The essence of SNPs. *Gene* 234:177-186. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X).
- Chandramohan B., C. Renieri, V. La Manna & A. La Terza. 2013. The alpaca agouti gene: genomic locus, transcripts and causative mutations of eumelanin and pheomelanin coat color. *Gene* 521(2):303-10. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.060>
- Chandramohan B., C. Renieri, V. La Manna & A. La Terza. 2015. The alpaca melanocortin 1 receptor: gene mutations, transcripts, and relative levels of expression in ventral skin biopsies. *The Scientific World Journal* <https://doi.org/10.1155/2015/265751>
- Cransberg R. & K. Munyard. 2011. Polymorphisms detected in the tyrosinase and *matp* (*slc45a2*) genes did not explain coat colour dilution in a sample of Alpaca (*Vicugna pacos*). *Small Ruminant Research* 95(2-3):92-96. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.10.004>
- De Los Ríos E. 2006. Producción textil de fibras de camélidos sudamericanos en el área altoandina de Bolivia, Ecuador y Perú. Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (UNIDO). (http://infoalpacos.com.pe/wp-content/uploads/2015/05/58563_camelidos_final.pdf)
- Delgado De La Flor, I. 2014. Caracterización de nuevos marcadores genéticos microsatélites e identificación de SNP en el gen de Tricohialina en alpacas (*Vicugna pacos*). Tesis Magister en Bioquímica y Biología Molecular. Lima, Perú, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Foppiano F. 2016. Caracterización de marcadores genéticos en genes que codifican a proteínas asociadas a queratina y evaluación de la asociación del gen *KRTAP11-1* al diámetro de fibra en alpaca (*Vicugna pacos*) siguiendo una aproximación de gen candidato. Tesis Magister en Bioquímica y Biología Molecular. Lima, Perú, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Goldammer T., GP. Di Meo, G. Luhken G., C. Drogemuller, CH. Wu, J. Kijas, BP. Dalrymple, FW. Nicholas, JF. Maddox, L. Iannuzzi & NE. Cockett. 2009. Molecular Cytogenetics and Gene Mapping in Sheep (*ovis aries*, 2n=54). *Cytogenetic and Genome Research* 126(1-2):63-76. <https://doi.org/10.1159/000245907>.
- Guridi M., B. Soret, L. Alfonso & A. Arana. 2011. Single nucleotide polymorphisms in the Melanocortin 1 Receptor gene are linked with lightness of fibre colour in Peruvian Alpaca (*Vicugna pacos*). *Animal Genetics*. 42(6):679-82. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02205.x>.
- Guzmán K. 2011. Identificación de polimorfismos del gen *tlr4* en crías de alpacas con cuadros de neumonías por *Pasteurella multocida*. Tesis EAP medicina veterinaria. Lima, Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Hesse M., A. Zimek, K. Weber, & T. Magin. 2004. Comprehensive analysis of keratin gene clusters in humans and rodents. *European Journal of Cell Biology* 83:19-26. <https://doi.org/10.1078/0171-9335-00354>.
- Mamani C., G. Gutierrez & F.A. Ponce de León 2017. Identificación de polimorfismos de nucleótido simple en alpaca (*Vicugna pacos*) usando un panel de células híbridas irradiadas alpaca/hámster. *Revista RICBA* 1(2): 92-95. <http://dx.doi.org/10.25127/ricba.20171.242>.
- Mendoza M. 2018. localización de genes y marcadores moleculares de alpaca (*vicugna pacos*) mediante la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (fish). Tesis para optar el grado de magister en producción animal. Lima, Perú, Universidad Agraria la Molina.
- Pariset L., I. Cappuccio, P. Ajmone-Marsan, M. Bruford, S. Dunner, O. Cortes, G. Erhardt, E. Prinzenberg, K. Gutscher, S. Joost, I. Pinto-Juma Nijman, J. Lenstra, T. Perez, A. Valentini & E. Consortium. 2006. Characterization of 37 Breed-Specific Single-Nucleotide Polymorphisms

in Sheep. *Journal of Heredity* 2006;97(5):531-534. DOI: 10.1093/jhered/esl020

Ramensky V., P. Bork & S. Sunyaev. 2002. Human non-synonymous SNPs: server and survey. *Nucleic Acids Research* 30:3894-3900.

Rogers G. 2004. Hair follicle differentiation and regulation. *The International Journal of Developmental Biology*. 48:163-170. <https://doi.org/10.1387/ijdb.021587gr>.

Schibler L., Di Meo GP, Cribru EP & Lannuzzi L. 2009. Molecular cytogenetics and comparative mapping in goats (*Capra hircus*, 2n=60). *Cytogenetic and Genome Research*. 126:77-85. <https://doi.org/10.1159/000245908>.

Schweizer J., P. Bowden, P. Coulombe, E. Lane, L. Magin, M. Omary, D. Parry, M. Rogers & M. Wright. 2006. New consensus nomenclature for mammalian keratins. *Journal of Cell Biology*. 174: 169-174. <https://doi.org/10.1083/jcb.20060316>.

Sulayman A., M. Tursun, Y. Sulaiman, X. Huang, K. Tian, Y. Tian, X. Xu, X. Fu, A. Mamat, & H. Tulafu. 2018. Association analysis of polymorphisms in six keratin genes with wool traits in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 31:775-783. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0349>

Thavamanikumar S., L.J. Mcmanus, J.F.G. Tibbits & G. Bossinger. 2011. The significance of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *Eucalyptus globulus* breeding programs. *Australian Forestry*. 74: 23-29. <https://doi.org/10.1080/00049158.2011.10676342>

Wang X., L. Wang & X. Liu. 2003. The Quality and Processing Performance of Alpaca Fibres: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Publication N° 03/128: 132 pág. (<https://www.agrifutures.com.au/wp-content/uploads/publications/03-128.pdf>)

Zoccola, M. 2014. Fibras proteicas: pelos finos (camélidos y cabra). Identificación, caracterización, clasificación y acondicionamiento. INTI, UE. Cuaderno tecnológico N° 14. Proyecto mejora de las economías regionales y Desarrollo local. (<http://infoalpacos.com.pe/wp-content/uploads/2017/02/cuadernillo14.pdf>)

Zhidong, Y., J. Wildermoth, O. Wallace, S. Gordon, N. Maqbool, P. Maclean, A. Nixon, & A. Pearson. 2011. Annotation of sheep keratin intermediate filament genes and their patterns of expression. *Experimental Dermatology*, 20: 582-588. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2011.01274.x>

Agradecimientos:

Los autores desean expresar su agradecimiento a:
 – Mg. Sci. Mayra Mendoza, Mg. Sci. Marcos Calderón y Mg. Sci. Manuel More.
 – Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-CONCYTEC.
 – Programa Nacional de Innovación Agraria-PNIA.
 – Programa de Mejoramiento Animal, Universidad Nacional Agraria La Molina-UNALM.
 – Minnesota Supercomputing Institute (MSI), University of Minnesota.

Rol de los autores:

FAPLB, GAGR: realizaron el diseño experimental y orientaron el análisis bioinformático; AGFS: realizo el análisis bioinformático y redacto el manuscrito; FAPLB, GAGR, AGFS revisaron y aprobaron el manuscrito.

Conflicto de intereses:

Los autores no incurrir en conflictos de intereses.

Fuentes de financiamiento:

El presente trabajo es parte de los proyectos 125-015 FONDECYT, proyecto 028-2016 PNIA, Hatch project MIN-16-103 y del VLIR-UOS a través del programa IUC-UNALM.

Aspectos éticos / legales:

Este trabajo no involucró colecta o preservación de especímenes, y no usó técnicas invasivas para su desarrollo.
 Este trabajo no incurrió en ningún problema legal.

Anexo 1. Secuencia y ubicación de los polimorfismos de nucleótido simple (en rojo)

Gen	Polimorfismos de Nucleótido Simple (PNS)	Secuencia	Posición del nucleótido polimórfico	
			Vicap 2.0.2	Vi.pacos 1.0
KRT9	UNALM_KRT9_I6_0000001	ATAGAGGCAGCTGGGAAAGCTCCTGTACACAAGGG TCTGATGGATTGCGG(A/G)TTTCTTCCCTCCATGGG GGGAACCTCAGGGCATTGGGCTTTGGGAAAGG	165364	1059074
	UNALM_KRT9_I6_0000002	TAGGAGGACTCACATTACATTGGGCTTCTGTCCG GGTTCATTCTGTGTA(T/C)ATATATGTGAGGTAC TCATTTTCATCTGTGTTTCTCTCAGTCAGTC	165149	1059291
KRT12	UNALM_KRT12_E7_0000003	TCATTCCAGAAAGCATCATGCAATATCCTCTCCTTT GTTTTCTTTACAGTG(A/T)CTTTGGATGAAAGTTCAT ACGTGATGACAGCTCCAAATCTCAAGCACCA	3304201	183235
	UNALM_KRT12_I6_0000004	GATAAAAGATCATAGAATGCTGAGCTGAACAACGG CACCACAGAGAGGCA(C/T)ACTGCGGCTCAGTACTA GAAAAACCAACCGCTCCAGTTCTGGTATCAGTG	3304644	182812
KRT13	UNALM_KRT13_E1_0000005	GCATCCACTCTGGGCAAGAGCCACAGTCTCCGGAC AGCTCAGGCCA(G/A)GCTCCCACTGCACCTGTGCTC TCTCCATCTCACTCTCACCATGAGCTGTC	114067	1109551
KRT14	UNALM_KRT14_I1_0000006	CTCACACCACTGGCAACTTCAGATTCCCAGACAGGA CAGCCTCCAGCCCC(A/G)GACCCTTCTTAGCTC TGAATGCCCGAGTGGAGCCGATCCATGAGAA	181196	1043369
	UNALM_KRT14_I1_0000007	TCTGGGCCCTGATCCTCAGACCATGAGAGACCAG GGATTCTACCCTTA(C/T)GTTGTACAGAGGAAGAA GTTGAGACTTTGGGCTGTCTGCCCAAGGTCACA	181061	1043504

(Continúa ...)

Gen	Polimorfismos de Nucleótido Simple (PNS)	Secuencia	Posición del nucleótido polimórfico	
			Vicpac 2.0.2	Vi.pacos 1.0
KRT16	UNALM_KRT16_E8_0000008	CTCCCGAAGGCTGCTGCATCACGCCCTGTCTCCAC CACGGCTCCAGCC(G/A)TCTTCCTCCCTCCAC TGGGGCAGGCTAATAAAGCTGACTGTCTGGT	199924	1025063
	UNALM_KRT16_I1_0000009	CACTAGAATTGATGGCAGAAGGTCCCTTTTCAGCA TCAAGGCATCTGAG(T/C)GGGCCTGGTACCCTGAAT CTCTTATTCCCTGCAAGCATTCTTTGCACTCA	201980	1023007
	UNALM_KRT16_I1_0000010	AGCTTCTCTCAGCCTCGGGCCAGGATGGGGTGGT GGAGATGTGGGGTGC(G/A)TCCTCTACACATGCTGA GCTGGGTGGAGAAGGCATCCAGGCTGTTGGG	201880	1023107
KRT18	UNALM_KRT18_E1_0000011	AGCTACGCGCCGCGACCAGTCAAGCAGCGGGCCAG CGTCTATGCAGGCGC(C/A)GGGGCTCGGGATCGCG GATCTCCGTGTCCGCTCCACAGCTCCCGGGG	10882719	6755426
	UNALM_KRT18_I1_0000012	GGACAGGACTTCTAGTAGTGTCTCACTTCCAGACA GGCCAGCCAGCAGG(G/A)GCCTGGAAGGAGGGGAG CTGGAGACTGGCAGCACGGGAATTTGGGGCTG	10883569	6756276
KRT20	UNALM_KRT20_I2_0000013	AGCTGTTCTCATAAATGCTTCTACACTAGGGCTTC CTCATCCTGAATTC(G/A)TATAACGCATTGGTACTAA AGAGTCTTTGTGGTTAGAAAGTAACGTTT	3319318	168201
KRT25	UNALM_KRT25_I1_0000014	ACGTTTATTCTAAATGTTCTTTCTTTCTTCACTG AATTCGAAAAACA(T/C)TGATCACTTCACTTGT GATTTCTCAAGGAATTTCAATTTAGCATTGG	3221301	263799
KRT1	UNALM_KRT1_I2_0000015	CGGAACAAGTAAGGATAACTGGCTGGGTAGCTCTTG ACTTTCGTCTAAA(A/G)TATTTGTGAAAATGGCAA GCTAAGACTATGAACAGGATGTAACAGTAAC	10710296	6584703
	UNALM_KRT1_I2_0000016	AGAAAGCTAGATTTCAAGGCCTCACCTCTGAATCT CCTAATCACTTCT(A/G)ATTCCTTGCAGGTATGAGGA TGAGATCAATAAGCGGACAAATGCGGAGA	10710033	6584441
	UNALM_KRT1_E9_0000017	CCTTGACAGTGTGAGCACCCAGCCACACAGCGTCAGT GGAAGCAGTAGCC(A/G)TGGAGCGGTGTTATAGCT CTGGCGGGCGGGCGGCTACAGCTACAGCT	10707413	6581820
KRT3	UNALM_KRT3_I5_0000018	TCATTTAAACAAGTGTCTTGAAGCACTCGAGGCA GGTAGATGTTAGG(G/A)ACAGAGAAAACAGTCAGGC AAAGTGCATTAAACATCTCACCTCCTCTTA	10757446	6631593
	UNALM_KRT3_I1_0000019	TACTATTTCAAGTTATTTTAAAGGTGTGTTTAGTAGC TTGGAATAAAGT(A/G)TTGCTTGAAGGCAAACCA ACCCATGACTACTGAGATTAATATCTCT	10761376	6635523
KRT5	UNALM_KRT5_I7_0000020	TTTGATAAGTGCAGCTTCTCCTCACTACAGGGTA TAAACACATGCAC(A/G)GGGGCCACTATCTGTG CATGATGGTTATGCATCATTAATCCAATGATC	10579110	6457455
	UNALM_KRT5_I7_0000021	CATGCTTCCCTATAATGGGTGGAGGAGAGTGAGAA TGATAATTTCTT(C/T)GATAACCTGTTCTAGGTC AAGTCTTCTCTTGGGACGCTCTCCAGAG	10578638	6456983
KRT6a	UNALM_KRT6a_E1_0000022	TGGGGTCTGCCGCTCTGGCTCAGCAGCATCTCGGTG TCCCGCTCCAGGG(A/G)CAGTGGTGGCCTGGCTGGA GTGTGTGGAGGAGCTGGCTTTGGCAGC	10539642	6419498
	UNALM_KRT6a_E9_0000023	GCCTTAGGAAGTGGCCTCAGCTCCACCGGGGGCAGC AGTTTACCATTA(A/G)TACACTGCCACCTCCTCT CCAGCAGGAAGAGTACAAGCA	10536432	6416289
KRT7	UNALM_KRT7_I2_0000024	AGGCTGAGCTCCAGGCTCAGGCTGAAGGAGGACCTG GAAGGGGATGCAGG(A/G)AAGGGTCTGAGTGAGCT ACTGGGAGCTCCTCTGCACACCTCTGGG	10341890	6224591
	UNALM_KRT7_I6_0000025	CCACTGGAATTTCAAATGCCTTAAAGCAGGGACC CTGTCTGTGCTG(G/A)TTCCTGCTCCTCCCTGCC AGCACCTCACTCATGGTCAGGGCACAGGTT	10347856	6230555
KRT8	UNALM_KRT8_I1_0000026	CTGGCTCGGAGAAGGGAAGCAACTCAAATATGCA GCTCAGGTCAGTAG(C/T)AGTGTGGCTAAATCCTA GGTCTTCTGGCCAAGGCTCTCCAGGATGTAG	10849155	6721914
KRT71	UNALM_KRT71_E9_0000027	GTGTTCAAGGAAAAAGGGGCTGGAGGGTAAATGACC AGGCGAGGCATCC(A/C)CACCCACCTGGCTGTC TCGGGCTCATTCTGAGTGGACCAAGTGCAAC	10608649	6486672
	UNALM_KRT71_I1_0000028	CTAGTGAGTTTCTGGCCAGTGGGCCACATAGCA TGGGGAGGTCTGT(C/T)GTCCATCTTGTCCGTGTG ATATGCTTGTCTAGGGAAGATGGTTCTGAG	10614973	6492995

(Continúa...)

Gen	Polimorfismos de Nucleótido Simple (PNS)	Secuencia	Posición del nucleótido polimórfico	
			Vicpac 2.0.2	Vi.pacos 1.0
KRT71	UNALM_KRT71_I1_0000029	TTCACCCACCTCAGGTGGTTGTGTGAGGGGTAAGGAGA AGACATGGGG(T/A)GAGCTATTTGTCCAGCCCCAGGGAGT- GACAGGTGTGACTGTTCCCTGG	10614493	6492515
	UNALM_KRT71_I8_0000030	ACCTAAAACGTAGAATCTGTGGACCGTAGAGGGCC TTAGTTACACCTTG(C/T)GTGTGTAGATGAGCAATCT AAGGACCAGAGAGGGAAAAAAGTTGCTGAG	10610044	6488067
	UNALM_KRT71_I8_0000031	GGCTAAGAATTCAATCAGAGCTTCTGAAAGATGCCA TCTGTAGAACGGCT(G/A)GCAGGACGGAGAGGTCCG AGGGTGGGAAGTTTAGGAAAAAGAAAGCTAAT	10609658	6487681
KRT80	UNALM_KRT80_I2_0000032	ACACACACACACGGTCCAGGATAGGTTA(C/T)GGAGA- CACTTTCCAGGAGCCAATGGCCATGGGCTGCTCAGGGCCT- CATC	10286153	6170154
	UNALM_KRT80_I2_0000033	GCAGCCTCCAGGCAACCCCTGCCCTCACCTCC AGGGACACAGGCTGG(A/C)GAGAGAGCCAGGGGT TGCCGAGGTCTCCAGTCCCAAGTGTATCTGGG	10286104	6170045
	UNALM_KRT80_I2_0000034	ATCCTGGCTCAGTGATTATATGAACCTGAGGTTCC TTATCCCTTATGC(C/T)TCAATGCGGAGAATAGG ACACCTAGTCTACTGGCCTGTTGTGAGGATTAT	10285557	6169558
	UNALM_KRT80_I2_0000035	CAAATGCTACCTAAGGCCTGGGCTAGAAGCACCC CTAGAGAGCCTTGTCT(G/A)GAACACCCCATGCC ACCCACCCCAACATGGTGACCAAGGAAGCCCC	10284818	6168819
	UNALM_KRT80_I2_0000036	GATCTCTGTTAAGTTCACCTGAAGATCAACCAAAA CCCTTCATCAGGAGA(A/G)CCCCAAAGGGCAGC TGGCCATGGAGCTCAGAGCCCTGCTGGCTCCAGGG	10284845	6168546
	UNALM_KRT80_I2_0000037	CTTCCTTTCCAGGGGCGATGCTTACAGCCTGGAT GCTAGTGGGACGGAC(C/T)GGGACGCAAGCAGGGG CTAGGGGTGGCCTTCTCAGAGGCTCGCAGCT	10284415	6168416
KRT31	UNALM_KRT31_E1_0000038	CCCAGCTGTCACGGCTGCACCCTGCCGGGGCCTGCAACA TCCCGCCAA(C/T)GTGAGCAGCTGCAACTGGTTCTGCGA- GGGCTCCTCAATGG	15383	1189494
	UNALM_KRT31_I6_0000039	ACATTTTATAATACCGTGTGTGTAGAGGGTATATT TGCACATGCTACT(T/C)ATCTGGTCTTGCAATTA CCACCAGGTAGGTAGGATCAGTATTCTCT	50377	1172398
KRT32	UNALM_KRT32_I5_0000040	CCAGCTGTCACGGCTGCACCCTGCCGGGGCCTGC AACATCCCCGCAA(T/C)GTGAGCAGCTGCAACTGG TTCTGCGAGGGCTCCTCAAT	67473	1189494
KRT40	UNALM_KRT40_I5_0000041	CATCATATCTAAAACAAAGATATTCAAACCTGCGT TCTACAACATCTC(T/C)AGCTTTCCAGGATCCACA CCTAACCGGATCCTTCACTACACCACTCT	3401161	86190
KRT81	UNALM_KRT81_E9_0000042	GCCTGTGCGCGCCCTGCGGCCAGCTCAACACCCTGTGGAG GGGGTTCC(A/T)GCAGCCTGGGAGGTGTAGGCAGCCCC- CAGGGAGAGCCAGAGAGGGCCCC	10411693	6293279
	UNALM_KRT81_I6_0000043	GAGTCCTTGGTTGTGTTACTCAGGGAGACCCAGGT GATGAAGGGGAGAG(G/A)CCCTGTTCTGGGGTGAT CCCAGCTGGTGGGAGAGACTGGATACATATA	10413467	6295053
KRT82	UNALM_KRT82_I5_0000044	GAAATAGATTGCCTGTGGATGACACCAGGGTTCTA TGCTACCATCGGAA(T/A)ACAGGCTCCTTCTAGCT TTCCATTCTGCCATTCTTAATGCATTGCTTTAA	10486832	6368593
KRT83	UNALM_KRT83_I1_0000045	TTCATTGACAAGGTAGGTGCTTGTGATCTCACCTTT CCTGAACTCCATTC(G/A)TGCTCAGAACTCAGTCT GGCACTGAGGCAGAAGTCAAGAAAGGCCCAT	10417746	6299330
	UNALM_KRT83_I1_0000046	CCATGTACAGTGGTTGAGGGGCCAGGGGAGAAGG ATTCATTGCAGAAGC(A/C)GTCTGGGACGAAGGG GGACTCTCTGAACCAACCTTGAGAGAAGTCATC	10417097	6298683
	UNALM_KRT83_I1_0000047	GAAAATCAAATTTGAGTTCTGCCATCGTGAGATCT CAGGCAGTCAGGGAA(C/T)CTCCCAGGCCTTCGA TTCTCATCTGTAATGAGGGGTTTGGAAACACA	10416768	6298354
	UNALM_KRT83_I1_0000048	AAATCCTCATAGCGAGGGCGGCACTCTGCACAGGG GCTAAGTGCTATGCT(C/T)GAGGACACATTATTA ACAAGCGGCAGCAGAGTCTGGCCTCAGCACGGCTT	10416468	6298054