

10 20 30 40 50 60 70 80 90

Achinensia/1-430 MRKERNRREEREERE...GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

A. officinalis_MCA4/1-417GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

A. precatorius_MCA5/like/1-420MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

A. rufa_MCA5/1-421GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

A. yangbiense_hypothetical/1-419MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

B. hispidula_MCA4/1-418GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Cannuum_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Carabica_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Caryocarpus_subsp. argyropema_MCA4/1-432GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. caeli_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. caustalis_hypothetical/1-429MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. baccatum_MCA4/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. canephora_unnamed/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. fangiana_hypothetical/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. jiliniensis_hypothetical/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. jiliniensis_hypothetical_1/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. maxia_MCA4/1-424MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. melo_MCA4/1-422GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. melo_var. makuwa_MCA4/1-422GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. mozhata_MCA4/1-424GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. papaya_MCA5/1-417GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. pepo_subsp. pepo_MCA4/1-424GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. sativus_MCA5/1-422GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. sinensis_MCA5/1-422GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Daorota_subsp. sativus_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

D. zibethinus_MCA4/1-415MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Coampestis_unnamed/1-429MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

E. guttata_MCA4/1-415MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

H. brasiliensis_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

C. copulans_Peptidase/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

H. impetiginosus_hypothetical/1-435MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

H. umbratica_MCA5/1-414MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

I. trifida_MCA4/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

J. souzae_MCA5/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

J. microparpa_KJ.regia_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

J. regia_MCA4/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

K/1-416MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

L. albus_sutaiwei/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

L. languatfolius_MCA5/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

L. chinensis_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

M. cordata_Peptidase/1-420MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

M. notabilis_MCA4/1-433MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

M. truncatula_MCA5/1-413MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. attenuata_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. benthamiana_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. sinensis_hypothetical/1-425MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. sylvatica_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. tabacum_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

N. tomentosifomis_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Coelopaea_subsp. europaea_hypothetical/1-423MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Coelopaea_var. sylvatica_MCA4/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. alba_MCA4/1-421MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. alba_MCA5/1-420MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. andersonii_Caspae-like/1-431MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. deltoides_hypothetical/1-425MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. euphratica_MCA4/1-422MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. zonniferum_MCA4/1-407MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. tomentosum_hypothetical/1-424MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. trichocarpa_MCA4/1-423MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. vera_MCA4/1-417MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

P. putida_hybrid_MCA2/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

R. argentea_MCA4/1-419MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

R. communis_MCA4/1-420MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

R. sinaii_hypothetical/1-438GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. brachiata_hypothetical/1-423MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. commersonii_hypothetical/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. demissus_Peptidase/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. dumii_hypothetical/1-432MLPAT.....EERTHTTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. indicum_MCA4/1-422MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. lycopersicum_MCA1/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. pennellii_MCA4/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. szechowensis_MCA4/1-417MTKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

S. tuberosum_MCA4/1-417MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

T. cacao_MCA4/1-414MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

T. pratense_MCA4/1-413MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

T. sinense_hypothetical/1-418GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

T. wilfordii_MCA4/1-418MAKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

V. nipa_MCA5/1-425GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

V. nipa_MCA5/1-425GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

V. vinifera_MCA5/1-425GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF

Z. jujuba_MCA5/1-423GKKAALLIGINYPGKAEKGGVNDVKRMYSCLVERYGFREDDITVLIDTDDSYTPTGKNIIRKALSLLRSADDDF



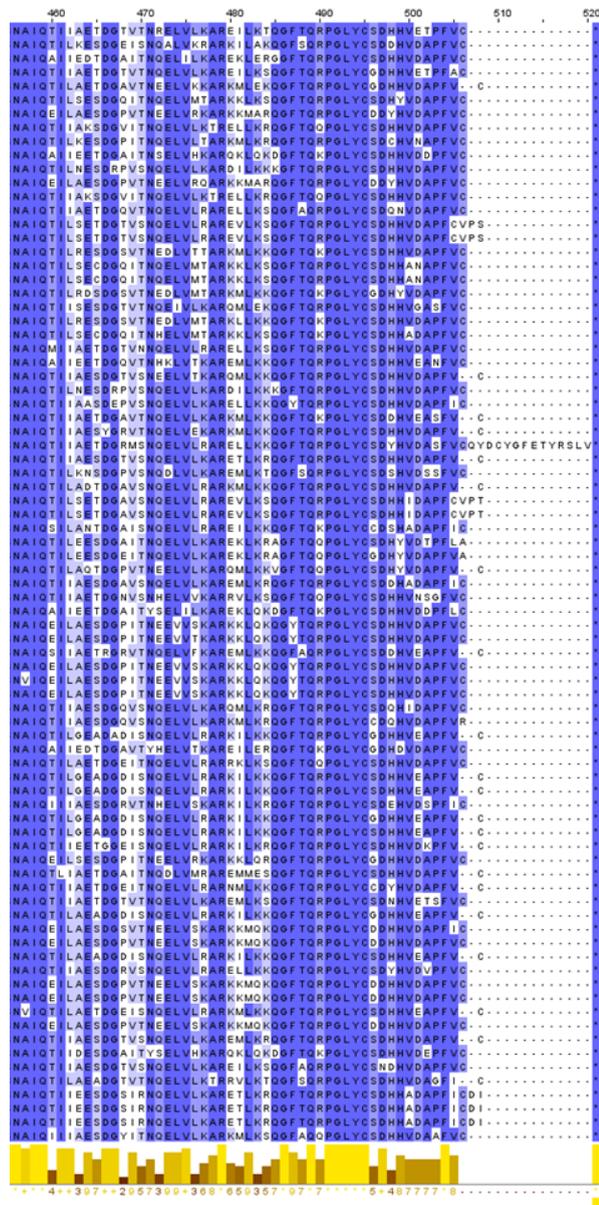


Figura S2. Alineamiento múltiple entre NbMCA4 y 81 homólogas. El gráfico amarillo indica el nivel de conservación de los aminoácidos, al igual que la mayor intensidad en el color azul. Se indica el género y especie de cada proteína.



Figura S3. Alineamiento de a pares entre NbMCA4 y su homóloga con estructura conocida, AtMCA4 (Código PDB 6W8S).

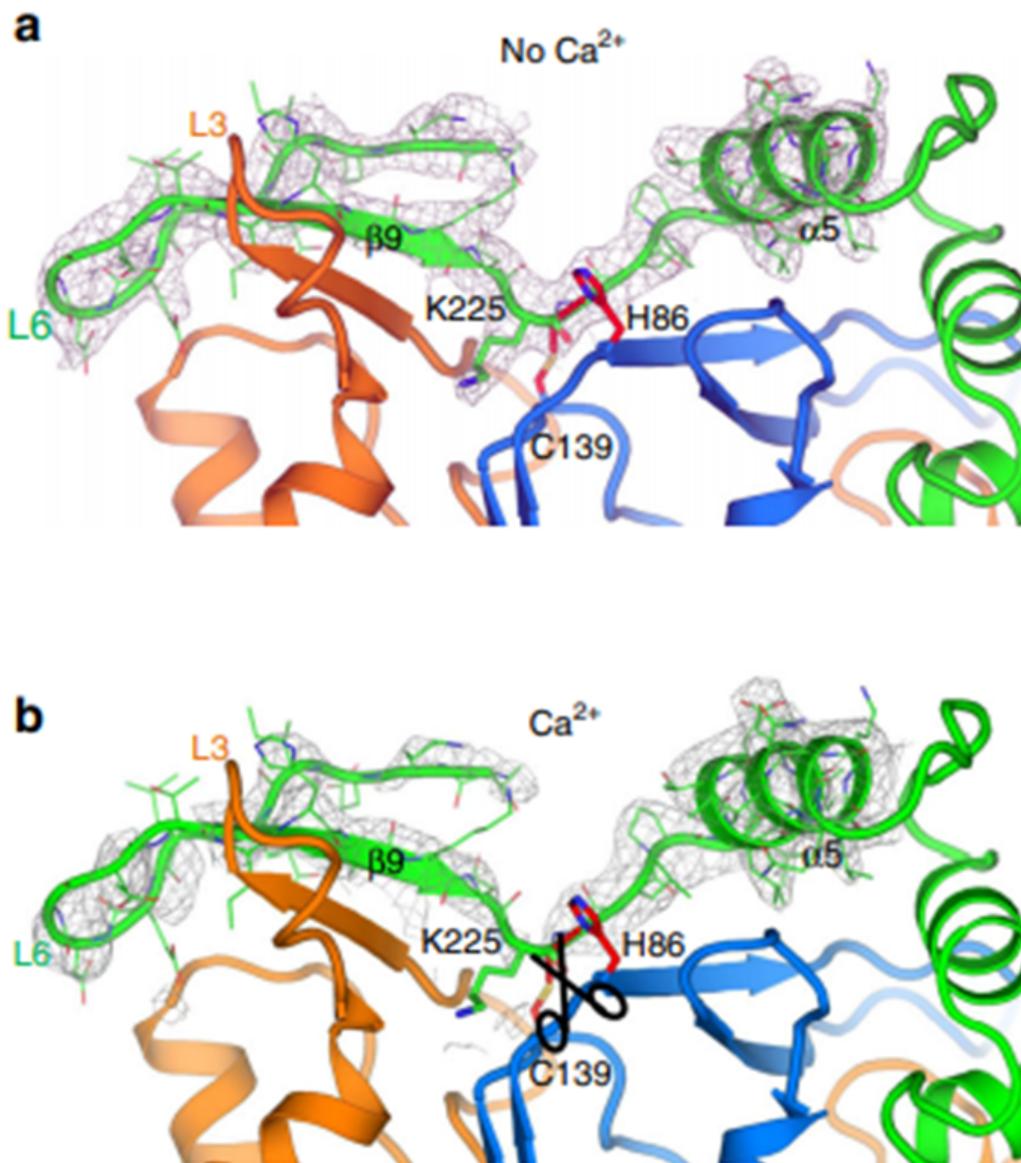


Figura S4. Estructura cristalizada de la proteína AtMCA4 con los residuos del sitio activo (H86 y C139) y el sitio de clivaje (K225) marcados. a. Proteína no tratada. B. Microcristales de la proteína tratada con Ca²⁺, activando el clivaje en K225. Imagen original tomada de Zhu et al. 2020.