

Additional file 1

	10	20	30	40	50	60	70	80	90																	
<i>Sparus a</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITVVG	TRPST	-TDKLG	NALT	-GVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD									
<i>Danio a</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	ILRAVMYI	IAQMLG	ATV	ASATV	LG	VS	SKGD	---	ALGN	QI	HTD	ISAG	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD					
<i>Anguilla anguilla a</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	MLKAVMYI	VAQMLG	ASV	ASG	ITVVG	VR	PEG	-VTA	LGLN	SLN	-KITPS	QGVG	VEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Anguilla japonica</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	MLKAVMYI	VAQMLG	SSV	ASG	ITVVG	VR	PQN	NTTL	LGLN	SLN	-KISPS	QGVG	VE	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Takifugu a</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITVVG	TRP	SD	-NEA	LGLN	SLN	-GVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD							
<i>Dicentrarchus</i>	---	GGHLN	PAVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITVVG	AR	PSG	-NLAL	LGLN	SLN	-NVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Tetraodon a</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITVVG	TRP	SE	-NTAL	LGLN	SLN	-NVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD							
<i>Centropristis</i>	---	DGGHN	PAVTLGL	LASCQIS	SVKATMYI	VAQMLG	SALASG	ITMYG	AR	PST	-TVAL	LGLN	SLN	-GVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Solea a</i>	HISGAHLNP	AVT	TIGLV	SCQIS	IFKAVMYI	IAQMLG	SALASG	ITMYG	AR	PSQ	-SSAL	LGLN	TLN	-GVTPA	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Gasterosteus a</i>	HISGAHLNP	AVT	TIGLV	SCQIS	IFKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITMYG	AR	PST	-TDA	LGLN	ALN	-GVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Oncorhynchus</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	ITVVG	TR	PEG	-NAAL	LGLN	ALN	-GVSAS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD							
<i>Oryzias</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	SVKAVMYI	VAQMLG	SALASG	IT	-GTRP	SN	-TSA	LGLN	SLN	-GVTPS	QGVG	IEL	LATFQ	LVL	CVI	AVTD							
<i>Pimephales</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	IFKAVMYI	VAQMLG	AA	LASG	ITVVG	VT	KG	---	VLGN	TIND	SISAG	QGVG	IEL	FATFQ	LVL	CVI	AVTD						
<i>Sparus b</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LVSQIS	ALRCVYI	IAQMLG	AV	ASATV	NGY	QAIG	---	SLGVN	ELN	-RVTKA	QGF	IE	EL	LAT	LQL	VLCV	AVTD						
<i>Solea b</i>	HISGAHLNP	AVT	TIGLV	SCQIS	ILRALFYI	IAQMLG	AV	ASAFV	N	AI	PEI	-IDS	LGVN	KLN	-GVSPS	QGF	AI	EL	LAT	LQL	VLCV	AVTD				
<i>Ictalurus</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LASCQIS	MC	RALVYI	IAQMLG	AV	ASG	ITVVG	TR	PSV	-VDS	LGLN	KLN	-GVS	LGGG	GF	IE	EL	LAT	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Takifugu b</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LVSQIS	VLRCVYI	IAQMLG	AV	ASATV	N	TF	GANT	---	PLGVN	ALN	-KVTPA	QGF	AI	EL	FAT	LQL	VLCV	AVTD					
<i>Danio b</i>	HISGAHLNP	AVT	TIGLV	SCQIS	FFRAFYI	IAQMLG	AV	ASG	ITM	FKV	SPDP	-DTT	LGLN	LG	NGV	KVG	GF	AI	EL	FAT	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Anguilla anguilla b</i>	HISGAHLNP	AVT	LATL	LSCQIS	SVRAFYI	IAQMLG	AV	ASG	ITVVG	VR	PNT	-TDS	LGVN	KLN	-GVAVA	QGF	IE	EL	LAT	LQL	VLCV	AVTD				
<i>Tetraodon b</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LVSQIS	FLRCVYI	IAQMLG	AV	ASATV	N	SFV	SGG	---	SLGVN	ALS	-RVTA	QGF	AI	EL	FFG	LAT	LQL	VLCV	AVTD				
<i>Gasterosteus b</i>	HISGAHLNP	AVT	LATL	LSCQIS	PLRALVYI	IAQMLG	AV	ASG	ITVVG	TR	PET	-THS	LGVN	KLN	-GVSPG	QGF	IE	EL	FFG	LAT	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Xenopus laevis</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	TQIS	KNS	LGLN	GL	SE	GIS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Xenopus tropicalis</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	TQIS	NNS	LGLN	GL	SE	NGV	SQGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Bufo a</i>	HISGAHLNP	AVT	VGCL	LSCQIS	ILKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGITS	N	VEN	NNTL	LGLN	GL	SE	NGV	SQGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD	
<i>Bufo b</i>	HISGAHLNP	AVT	W	-LSL	SCQIS	ILKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGITS	N	VEN	NNTL	LGLN	GL	SE	NGV	SQGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD
<i>Rana</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGITS	GL	ENNS	LGLN	GL	SE	NGV	SQGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD			
<i>Hyla</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	IFRALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Homo</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Rattus</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Bos</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Ovis</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Canis</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Mus</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKAVMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGIT	SS	LT	GN	SLGR	N	LAD	GVNS	QGG	L	GV	EL	IMV	TF	LQL	VLCV	AVTD		
<i>Gallus</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	ILKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGV	TSS	LP	NS	LGLN	AL	AK	GINAG	QGG	L	IE	IAT	LQL	VLCV	AVTD				
<i>Passer</i>	HISGAHLNP	AVTLGL	LSCQIS	IFKALMYI	IAQMLG	AV	ATAIL	SGV	TSS	LP	NS	LGLN	AL	SE	GINAG	QGG	L	IE	IAT	LQL	VLCV	AVTD				

	100	110	120	130	140	150	160
<i>Sparus a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILN	FTNHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL		
<i>Danio a</i>	KRRR	-DVSGSAPLAIGLSVCLGHLTAISFTGC	GINPARTFGPAMIRLDFANHWYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Anguilla anguilla a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVALGHLTAISFTGC	GINPARSFGPAVILGDSHWWYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Anguilla japonica</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVALGHLTAISFTGC	GINPARSFGPALILGNFTNHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Takifugu a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNDFTNHWYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Dicentrarchus</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNDFTHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Tetraodon a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNDFTHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Centropristis</i>	KRRR	-DVSGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNDFTNHWYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Solea a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNNDNHWYVWVG				
<i>Gasterosteus a</i>	KRRR	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILSDFTNHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Oncorhynchus</i>	KRRH	-DVTGSAPLAIGLSVALGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALIMNDYTNHWYVWVGPMCGG	VAAALV----			
<i>Oryzias</i>	KRRR	-DVGGSAPLA-----CLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPALILNDFTHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Pimephales</i>	KRRR	-DVSGSAPLAIGLSVCLGHLTAISFTGC	GINPARSFGPAVILRDTNHVYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Sparus b</i>	KRRS	-DVGGSAPLAIGLSVCLGHFAAISFTGC	GINPARSFGPALIRSKMENHWYVVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Solea b</i>	KRRD	-VAGGAPLAIGLSVCLGHLAGIRYTGC	GINPARSFGPALILQSFDDHWYVWAGPMS	VAAALTYNYVL			
<i>Ictalurus</i>	KRRR	-NITVSAPFALGLSVVGHLAGFSYTGC	GINPARSFGPALVSVEFHVWVWAGPLCGG	VAAALTYDFVL			
<i>Takifugu b</i>	KRRN	-DIQGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPAVIRGKMENHWYVWVGPMCGG	VAAALTYEFLQ			
<i>Danio b</i>	KRRT	-DVSGSAPLAIGLSVCLGHLAAISYTGC	GINPARSFGPAVLVSEKHNHWYVITAPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Anguilla anguilla b</i>	KRRS	-DVTGSAPLAIGLSVCLGHAAIRYTGC	GINPARSFGPAVMRAFNHWYVYIGPTSGGL	VAAALTYDYL			
<i>Tetraodon b</i>	KRRN	-DLQGSAPLAIGLSVCLGHLAAISLTGC	GINPARSFGPAVIRKNNKMNHWYVWVGPMCGG	VAAALTYDFLL			
<i>Gasterosteus b</i>	KRRD	-VGGFAPLAVGLSVAL-----ISFTGC	GINPARSFGPALIQDSFNHVVYVWAGVAAALTYDYL				
<i>Xenopus laevis</i>	KRRN	-DVSGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVVAQFTNHWFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Xenopus tropicalis</i>	KRRN	-DVSGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVAKQFNHWIFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Bufo a</i>	KRRH	-DISGSIPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGMAVTKNFQYHWFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Bufo b</i>	KRRH	-DISGSIPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVTKNFQYHWFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Rana</i>	KRRH	-DVSGSVPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVLTKNFQYHWFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Hyla</i>	KRRR	-DVSGSVPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVAKNFQYHWFVWGPMTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Homo</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVITHNSNHWIFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Rattus</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVLTNRNSNHWIFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Bos</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVITHNFQYHWFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Ovis</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVITHNFQYHWFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Canis</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVITHNFQYHWFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Mus</i>	KRRR	-DLTGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSAVLTNRNSNHWIFVWGPFTGG	VAAALTYDFLL			
<i>Gallus</i>	KRRN	-DVSGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSALIANNFENHWIFVWGPITGG	VAAALTYDFLL			
<i>Passer</i>	KRRN	-DVSGSAPLAIGLSVALGHLTAIDYTGC	GINPARSFGSALIANNFENHWIFVWGPITGG	VAAALTYDFLL			