Desarrollo de herramientas que contribuyan al diagnóstico de la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis*

Estudiante: Paula Tucci
Directora Académica: Dra. Mónica Marín
Co-tutor Académico: Dr. Gualberto González-Sapienza
Asesor externo: Dr. Carlos Rivas Chetto

Tribunal: Dra. Adriana Parodi, Dr. Otto Pritsch, Dra. Andrea Villarino.

Agradecimientos

A la Sección Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, por darme el lugar para la realización de la mayoría de esta Tesis. En especial, a mi tutora Mónica Marín por creer en este proyecto y motivarme siempre, a Mario Señorale, Victoria Veroli, Fernanda Cabrera-Cabrera y Marcos Davyt.

A la Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (CHLA-EP) por brindarme acceso a las cepas de referencia, a las muestras y a los datos necesarios. En particular, a Carlos Rivas Chetto, Cecilia Coitinho y María Noel Bentancor, por su generosa colaboración.

A mi co-tutor Gualberto González, por el asesoramiento general, la ayuda para la obtención de anticuerpos y la corrección minuciosa y detallada de todo lo que le envié.

A la Unidad de Bioquímica y Proteómica Analítica del Institut Pasteur de Montevideo, donde Madelón Portela y Rosario Durán me enseñaron y acompañaron en todo lo que necesité en relación a las técnicas proteómicas.

A Pía Fernández y al Laboratorio de Biotecnología de la Universidad ORT por la gran ayuda con los diferentes experimentos de ELISA.

A ATGen y su gente, por los años de colaboración y experiencias compartidas.

A la ANII, a la Comisión Académica de Posgrado de la UDELAR y a la Comisión de Posgrado en Biotecnología por la financiación recibida para la ejecución de este proyecto de Tesis.

A la Facultad de Ciencias por todos los años de aprendizaje y las diferentes etapas vividas.

A Gonzalo por su apoyo incondicional, a Mateo y Lorenzo que crecieron acompañando esta tesis, a mis amigas por bancarme, y a toda mi familia una vez más y para siempre.

Gracias.

cap COMISIÓN ACADÉMICA DE POSGRADO

ANII AGENCIA NACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN ***8***

ABREVIACIONES ***10***

INTRODUCCIÓN ***13***

M*ycobacterium tuberculosis* **13**

Descripción filogenética 13

Complejo Mycobacterium tuberculosis 17

La importancia de la Tuberculosis **19**

Situación epidemiológica de la TB a nivel mundial 20

Situación epidemiológica de la TB en Uruguay 22

Biología de la infección por *M. tuberculosis* **25**

Mecanismos de supervivencia 27

Diagnóstico **31**

Tuberculosis latente 31

Tuberculosis activa 32

Diagnóstico radiológico 33

Diagnóstico de laboratorio 33

- Microscopía / Baciloscopía 34
- Métodos basados en cultivo 36
  - Identificación de especies 37
  - Test de sensibilidad a drogas 38
- Diagnóstico serológico 40
- Métodos moleculares 40
  - Line-probe Assay (LPA) 41
  - PCR tiempo real en sistemas automatizados 42
  - Amplificación isotérmica (LAMP) 44
  - Secuenciación masiva 44

Oportunidades de nuevos desarrollos para el diagnóstico de la TB activa **46**

Biomarcadores derivados del patógeno **49**

Biomarcadores derivados del hospedero **52**

HIPÓTESIS ***54***

OBJETIVOS ***55***

Objetivo general **55**

Objetivos específicos **55**

PLAN DE TRABAJO ***56***

MATERIALES Y METODOS ***57***

Principales materiales utilizados **57**

Proteínas y antígenos 57

Anticuerpos primarios 57
Anticuerpos secundarios y conjugados 58

Cepas de micobacterias y condiciones de crecimiento 58

Preparación de las proteínas del sobrenadante de cultivo 59

Preparación de extracto de *E. coli* 59

Muestras clínicas 59
Orinas de voluntarios sanos (orN) 59
Orinas de pacientes tuberculosis pulmonar (orTB) 60
Líquidos pleurales (LP) 61

Generación de antisueros y anticuerpos policlonales 62
Protocolo de inmunización 62
Purificación de Inmunoglobulinas 62
Evaluación de los anticuerpos purificados 63
Obtención del par de anticuerpos para el ELISA de captura (sándwich) 63
Depleción de anticuerpos con proteínas de *E. coli* 64

Seguimiento de la reactividad de los sueros y anticuerpos policlonales 64
Western blot para evaluación de sueros y anticuerpos 64
ELISA para evaluación de sueros y anticuerpos 65

Generación de resinas de afinidad 65

Purificación de las muestras con resinas de afinidad 66

Análisis electroforético de las muestras 66
Electroforesis 1D 66
Electroforesis 2D 67
Western blot 67

Métodos basados en ELISA para detección de antígenos de *M. tuberculosis* 68
ELISA de captura (sándwich) 68
ELISA directo 69
ELISA competitivo 70

ELISA indirecto para detección de anticuerpos contra *M. tuberculosis* 70

Identificación de proteínas por MALDI-TOF/TOF. 71

Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa en tándem 71
Preparación de las muestras 71
1) Proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* 72
2) Muestras de orinas enriquecidas en proteínas de bajo peso molecular 72
3) Muestras de líquidos pleurales con separación electroforética 73
Condiciones de la corrida de LC MS/MS 73

Análisis de los datos de LC MS/MS 74
Sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* 74
Análisis y procesamiento de los datos crudos 74
Análisis de las proteínas y estimación de su abundancia 74
Predicción de la presencia de péptido señal y de hélices transmembrana. 75
Procesamiento de datos crudos para búsqueda de péptidos con O-glicosilación 75

Análisis de O-glicosilación de proteínas 76
Análisis proteómico comparativo 76
Validación de la O-glicosilación 76
Muestras de orina 77
Análisis y procesamiento de los datos crudos 77
Análisis y clasificación ontológica de las proteínas identificadas 77
Muestras de líquido pleural 78
Análisis y procesamiento de los datos crudos 78
Análisis y clasificación ontológica de las proteínas identificadas 78

***RESULTADOS Y DISCUSIÓN* 79**

CAPÍTULO 1 - Identificación y caracterización de las principales proteínas secretadas y/o expresadas por *M. tuberculosis* en cultivo 79
Fundamento y resumen de la estrategia experimental 79
Evaluación de la calidad de las muestras de proteínas del sobrenadante de cultivo (CFP) 82
Caracterización de las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* utilizando LC MS/MS 86
Clasificación de las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB por medio de análisis cuali-cuantitativo 89
Predicción bioinformática de la presencia de péptido señal 93
Análisis integrativo con estudios proteómicos previos 95
Análisis de O-glicosilación de las proteínas del CFP de *M. tuberculosis* 104
Clasificación de las proteínas O-glicosiladas en el sobrenadante de cultivo de MTB 106
Validación de la O-glicosilación y de la asignación del sitio de glicosilación 109
Nuevas proteínas O-glicosiladas identificadas en este trabajo 115
Capítulo 1: Conclusiones y perspectivas 119

CAPÍTULO 2 - Desarrollo de herramientas para la detección y purificación de antígenos de MTB. 122
Caracterización de extracto de orina de voluntarios sanos (orN) 122
Generación de antisueros policlonales 123
Purificación de inmunoglobulinas 125
Obtención y control de anticuerpos anti-TB 127
Evaluación de reactividad de los anticuerpos anti-TB 129
Puesta a punto de ELISA de captura (sándwich) 132
Puesta a punto de ELISA directo 136
Puesta a punto de ELISA competitivo 139
Capítulo 2: Conclusiones y perspectivas 142

CAPÍTULO 3 - Identificación de marcadores de la infección activa por *M. tuberculosis* en muestras clínicas. 144
Búsqueda de biomarcadores en orina por electroforesis y MALDI-TOF 145
Búsqueda de biomarcadores en orina usando métodos de purificación y pre- enriquecimiento. 148
Detección de biomarcadores en orina mediante metodologías basadas en ELISA 152
Búsqueda de proteínas derivadas de M. tuberculosis por LC MS/MS 155
Preparación y control de calidad de las muestras para LC MS/MS 155
Análisis proteómico por medio de LC MS/MS 157
Análisis de las proteínas derivadas del paciente identificadas por LC MS/MS 162
Clasificación ontológica de las proteínas derivadas del paciente 166
Líquidos pleurales: Búsqueda y análisis de biomarcadores 172

Análisis de los líquidos pleurales por ELISA 172
Preparación y control de calidad de las muestras para LC MS/MS 174
Análisis proteómico por medio de LC MS/MS 175
Clasificación ontológica de las proteínas derivadas del paciente 176
Capítulo 3: Conclusiones y perspectivas 181

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS GENERALES 189

ANEXOS 193

Anexo 1 Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis 193

Anexo 2 Integrative proteomic and glycoproteomic profiling of *Mycobacterium tuberculosis* culture filtrate 194

Anexo 3 Proteínas de *M. avium* identificadas en el sobrenadante de cultivo por espectrometría de masas MALDI-TOF 195

Anexo 4 Lista de proteínas comunes identificadas en el sobrenante de cultivo de MTB ordenada según el valor NSAF 196

Anexo 5 Proteinas en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv con péptido señal predicho con la herramienta SignalP 5.0 197

Anexo 6 Proteinas compartidas y particulares identificadas en el análisis proteómico integrativo del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv 198

Anexo 7 Lista de proteínas identificadas en el CFP de esta tesis y en las 3 fracciones evaluadas por de Souza *et al.*, 2011 [234]. 199

Anexo 8 Proteínas identificadas en el CFP de *M. tuberculosis* sin anotación proteómica en la base de datos Mycobrowser (Release 3 (2018-06-05)) 200

Anexo 9 Péptidos correspondientes a la identificación de proteínas sin evidencia previa a nivel de expresión 201

Anexo 10 Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv 202

Anexo 11 Algunas proteínas en las que se evidencia la presencia de péptidos equivalentes glicosilados y no glicosilados. 203

Anexo 12 Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv (Lipoproteínas) 205

Anexo 13 Comparación del sitio de O-glicosilación con la literatura disponible 206

Anexo 14 Análisis de los datos crudos de Albrethsen et al., 2013 209

Anexo 15 Identificación en Mascot de la proteína transposasa de *M. tuberculosis* 210

Anexo 16 Búsquedas en blastP de los péptidos de *M. tuberculosis* identificados por LC MS/MS 211

Anexo 17 Proteínas derivadas del paciente identificadas en las muestras de orina 213

Anexo 18 Análisis la categoría Función molecular de proteínas específicas de muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar. 214

Anexo 19 Análisis de las 4 proteínas de unión a calcio S100 identificadas en orinas de pacientes con TB pulmonar. _____ 215

Anexo 20 Núcleos comunes de proteínas identificadas en los grupos de muestras de líquido pleural _____ 216

REFERENCIAS _____ 217

RESUMEN

A pesar de ser objeto de una intensa investigación, la tuberculosis (TB) es actualmente una de las 10 principales causas de muertes a nivel mundial, y la primera causa debido a un agente infeccioso. Las mejoras en el tratamiento y diagnóstico de la tuberculosis, junto con el desarrollo de una vacuna más eficaz, se encuentran entre los mayores desafíos para el control de esta enfermedad.

En particular, en relación al diagnóstico de la tuberculosis activa se ha vuelto imprescindible contar con métodos complementarios al algoritmo diagnóstico actual, que permitan aumentar la detección precoz de casos, previniendo de esta forma el contagio y la evolución a formas avanzadas de la enfermedad. En este contexto hay un creciente interés relacionado con la identificación en muestras clínicas de moléculas derivadas de *M. tuberculosis* o del hospedero, que sean indicativas de la tuberculosis activa, sea ésta pulmonar o extrapulmonar. Se espera que la identificación y validación de biomarcadores de este tipo permita generar reactivos de diagnóstico que puedan ser utilizados en el primer nivel de asistencia.

En este trabajo, nos propusimos expandir el conocimiento sobre los potenciales biomarcadores de la TB activa, con la visión final de colaborar en el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico.

En primer lugar, estudiamos las proteínas que son secretadas o que aparecen por degradación celular de la bacteria usando como modelo las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis.* Utilizando técnicas de nano-HPLC acoplada a espectrometría de masas en tándem realizamos una comprensiva caracterización proteómica y glicoproteómica que permitió identificar 1314 proteínas, observando que las proteínas más abundantes pertenecen a la región extracelular y/o al compartimento de la pared celular, y que están clasificadas en las categorías virulencia, desintoxicación y adaptación, y procesos de la pared celular. Complementando este análisis, identificamos 46 proteínas que presentaban eventos de O-glicosilación, de las cuales 33 no tenían evidencia previa de estar glicosiladas.

En segundo lugar, generamos y purificamos anticuerpos policlonales contra antígenos del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*. Estos anticuerpos se utilizaron para diseñar resinas de afinidad y para la puesta a punto de 3 formatos de ELISA diferentes (ELISA de captura, ELISA directo y ELISA competitivo) que fueron luego utilizados en el *screening* de biomarcadores de *M. tuberculosis* en muestras de orina y líquidos pleurales. Si bien en algunos casos se obtuvieron resultados diferenciales respecto a las muestras control, esta primera exploración evidenció las dificultades que presenta la inmunodetección de componentes de la bacteria en estas matrices, y por tanto la necesidad de desarrollos futuros para abordarla.

Finalmente, empleamos diferentes metodologías con el objetivo de identificar biomarcadores de la infección activa por *M. tuberculosis* en muestras clínicas de pacientes con TB. Mediante técnicas inmunocromatográficas y espectrometrías de masas MALDI-TOF identificamos 2 proteínas de *Mycobacterium* - la proteína de *cold-shock* A y la transposasa-, en una muestra de orina de un paciente con TB activa. Por medio de una aproximación proteómica de *shotgun*

basada en nano-HPLC acoplado con espectrometría de masas en tándem, logramos identificar 3 proteínas de *M. tuberculosis*: Cyp130, MoaE1 y DinB2 en una muestra de orina de otro de los pacientes con TB pulmonar activa. Estas proteínas derivadas del patógeno, que hasta nuestro conocimiento no han sido reportadas previamente en muestras de pacientes con tuberculosis, podrían potencialmente ser biomarcadores asociados con la enfermedad. Esta última metodología proteómica nos permitió además evaluar comparativamente las proteínas derivadas del paciente en las diferentes muestras clínicas evaluadas. De esta forma describimos que algunas proteínas están sobrerrepresentadas en las muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar confirmada, sugiriendo la posibilidad de definir un patrón proteómico asociado a la tuberculosis.

Se espera que estos hallazgos contribuyan con la investigación sobre biomarcadores de utilidad diagnóstica, factores de virulencia y candidatos a vacunas, y proporcionen pistas para comprender la patogénesis y las estrategias de supervivencia adoptadas por *M. tuberculosis*.

ABREVIACIONES

1D:	1 dimensión
2D:	2 dimensiones
Abs:	Absorbancia
A.I.F.:	Adyuvante incompleto de Freund
BAAR:	Bacilos ácido-alcohol resistentes
BCA:	Ácido bicinconínico
BCG:	Bacilo Calmette Guérin
CCB:	Azul de Coomassie coloidal
CIT:	Citoplasma
CF:	Sobrenadante de cultivo
cf:	concentración final
CFR:	Tasa de casos fatales (*Case fatality ratio*)
CFP:	Proteínas del sobrenadante de cultivo (*Culture filtrate proteins*)
CHEA:	Comisión Honoraria de Experimentación Animal
CHLA-EP:	Comisión Honoraria de Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes
circARNs:	ARNs circulares
Cód.:	Código del producto
CRI:	Indicador colorimétrico redox (*Colorimetric redox indicator*)
CSIs:	*Conserved signature indels*
CSPs:	*Conserved signature proteins*
CV:	Volumen de columna
DR-TB:	*M. tuberculosis* resistente a drogas
DST:	Test de sensibilidad a drogas (*Drug susceptibility testing*)
ELISA:	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)
Fc:	Fracción constante de inmunoglobulinas
FCB:	Fibrocolonoscopía
FDR:	Tasa de descubrimiento falso (*False discovery rate*)
FPLC:	Cromatografía líquida de proteínas a alta velocidad (*Fast protein liquid chromatography*)
GO:	Ontología génica (*Gene Ontology*)
HRP:	Peroxidasa de rábano (*Horseradish peroxidase*)
H&L:	Cadenas pesada y liviana de inmunoglobulinas
IFN-γ:	Interferón gamma
Ig:	Inmunoglobulina
IgG:	Inmunoglobulina G
IGRA:	Ensayo de liberación de interferón gamma (*Interferon gamma release assay*)
INH:	Isoniacida
IP:	Institut Pasteur
LAM:	Lipoarabinomanano
LAMP:	Amplificación isotérmica mediada por bucle (*Loop-mediated isothermal amplification*)

LBA:	Lavado broncoalveolar
LTBI:	Infección tuberculosa latente
LC MS/MS:	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa en tándem
LCR:	Líquido cefalorraquídeo
LOD:	Límite de detección
LPA:	Ensayo con sondas en línea (*Line-probe assay*)
MALDI:	Desorción/ionización láser asistida por matriz (*Matrix-assisted laser desorption/ionization*)
MB:	Membrana
MDR-TB:	*M. tuberculosis* resistente a rifampicina e isoniacida
MGIT:	Tubo indicador de crecimiento micobacteriano (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*)
miARNs:	micro ARNs
MODS:	*Microscopic observation of drug susceptibility*
MPF:	Fracción de proteínas de membrana (*Membrane protein fraction*)
MPM:	Marcador de peso molecular
MS:	Espectrometría de masas
MS/MS:	Espectrometría de masas en tándem
MSP:	Ministerio de Salud Pública
MTB:	*Mycobacterium tuberculosis*
MTBC:	Complejo *Mycobacterium tuberculosis*
NGS:	Secuenciación masiva (*Next generation sequencing*)
NSAF:	Factor normalizado de abundancia de espectros (*Normalized spectral abundance factor*)
NRA:	Prueba de la enzima nitrato reductasa
NTM:	Micobacterias no tuberculosis (*Nontuberculous mycobacteria*)
OMS:	Organización mundial de la salud
O.N.:	*Overnight*
PBMCs:	Células mononucleares de sangre periférica
PC:	Pared celular
PBS:	Buffer fosfato salino
PBST:	PBS, Tween 20 0.05%
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
pI:	Punto isoeléctrico
PM:	peso molecular
POC:	*Point of care*
PPD:	Derivado proteico purificado (*Protein purified derivative*)
PTMs:	Modificaciones postraduccionales
RD:	Regiones de diferenciación
RIF:	Rifampicina
RIF-TB:	*M. tuberculosis* resistente a rifampicina
rpm:	Revoluciones por minuto
RPT:	Rifapentina
Rx:	Radiografía rayos X
SDS-PAGE:	*Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*

SIDA:	Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida
SNPs:	Polimorfismo de nucleótido simple (*Single nucleotide polymorphism*)
T7SS:	Sistema de secreción tipo VII
T.A.:	Temperatura ambiente
TAT:	*Twin-arginine translocasa*
TB:	Tuberculosis
TBS:	Tris buffer salino
TBST:	TBS, Tween 20 0.05%
TOF:	Detector de Tiempo de vuelo (*Time of flight*)
TST:	Test cutáneo de la tuberculina (*Tuberculin skin test*)
UByPA:	Unidad de bioquímica y proteómica analítica
ufc:	Unidades formadoras de colonias
VIH:	Virus de inmunodeficiencia humana
WCL:	Lisado celular (*Whole cell lysate*)
XDR-TB:	*M. tuberculosis* extensamente resistente a drogas

INTRODUCCIÓN

Mycobacterium tuberculosis

La tuberculosis es considerada una de las enfermedades infecciosas más importantes en la historia de la humanidad. Esta enfermedad constituyó la principal causa de muerte en Europa y Estados Unidos en el siglo XIX y se manifestó repetidamente en forma de extensas epidemias. Aún hoy, a pesar de los avances de la medicina y a los esfuerzos para erradicarla, representa la enfermedad infecciosa con la mayor mortalidad a nivel mundial [1]. El agente causante de esta enfermedad, el bacilo tuberculoso, fue descubierto y aislado por Robert Koch en 1882, quien describió a la tuberculosis como la primera enfermedad infecciosa causada por un patógeno bacteriano [2]. Posteriormente, el bacilo descubierto por Koch fue nombrado *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Mycobacterium tuberculosis pertenece al género *Mycobacterium*, en el que se incluyen una cantidad creciente de especies diferentes. Al momento de la escritura de esta tesis, 198 especies pertenecientes a este género presentan nomenclatura válida consensuada [3]. *Mycobacterium* constituye el único género dentro de la familia *Mycobacteriaceae*, que a su vez pertenece al orden Corynebacteriales, a la clase Actinobacteria y al *phylum* Actinobacteria [4]. La familia *Mycobacteriaceae* está bien definida a nivel del árbol filogenético basado en el ARNr 16S y también por la presencia de una compleja pared celular que contiene ácidos micólicos de alto peso molecular (entre 60 y 90 átomos de carbono) [4].

M. tuberculosis no se clasifica actualmente en relación a su comportamiento frente a la tinción Gram, ya que su pared celular tiene características tanto de las bacterias Gram positivas como negativas. Los análisis filogenéticos basados en secuenciación de genomas han mostrado que estaría más relacionada a las bacterias Gram negativas, lo que además estaría apoyado por los análisis comparativos de los genes ortólogos de producción y conversión energética [5].

Descripción filogenética

Las micobacterias son bacilos, pequeños, con forma de varilla, que muy ocasionalmente se ramifican. Son microorganismos aeróbicos o microaerofílicos, generalmente no móviles y no esporulantes, que contienen arabinosa, galactosa y ácido meso diaminopimélico en su pared celular [1]. Presentan la característica de ser ácido-alcohol resistentes (*acid-alcohol fast*), es decir, resistentes a la decoloración con ácidos en procedimientos de tinción microbiológica, debido al alto contenido en ácidos micólicos de su pared celular [1]. El contenido de bases GC de su genoma está entre 62 y 70%, con la excepción de *Mycobacterium leprae* que tiene un contenido GC de 58% [1].

Al género *Mycobacterium* pertenecen organismos que son parásitos obligados, saprófitos y patógenos oportunistas, algunos de los cuales son microorganismos patógenos, causante de graves enfermedades tanto en el hombre como en animales domésticos y salvajes. Se destacan por su importancia sanitaria en humanos *M. tuberculosis* y *M. leprae*, agentes causantes de la tuberculosis y la lepra, respectivamente. Adicionalmente, muchas especies de este género

habitan ambientes muy diversos, incluyendo cuerpos de agua, suelo y fluidos metalúrgicos [6]. Estas especies raramente son aisladas de humanos o animales [7].

Las especies dentro del género *Mycobacterium* son distinguidas tradicionalmente por características fenotípicas que son evaluadas por medio de test bioquímicos y pruebas de cultivo. Como ejemplo, una primera característica a evaluar es la tasa de crecimiento, ya que generalmente las especies de crecimiento lento son las causantes de enfermedades en humanos o animales [8]. Sin embargo, en algunos casos las pruebas fenotípicas no son suficientes y la identificación precisa de la especie requiere de aproximaciones filogenéticas [1,8]. En este sentido, el análisis filogenético basado en la secuencia del gen del ARNr 16S es muy utilizado [9–11], aunque también se han realizado análisis basados en otras secuencias, como por ejemplo la secuencia del espaciador 16S-23S [12] y otros genes *housekeeping* incluyendo *hsp65* [13], *gyrB* [14], *rpoB* [15] y *gyrA* [16]. Estos análisis han mostrado que el grupo de bacterias de crecimiento lento (requieren más de 7 días para formar colonias) y el grupo de bacterias de crecimiento rápido (requieren menos de 7 días para formar colonias), se agrupan en ramas diferentes del árbol filogenético [11]. Esto puede observarse en la Figura 1, que muestra un análisis filogenético basado en la secuencia del gen del ARNr 16S, donde también se evidencia que las cepas de crecimiento rápido (Figura 1, *cluster* B) presentan una ramificación más profunda que las cepas de crecimiento lento (Figura 1, *cluster* A) y serían ancestros de estas últimas [11].

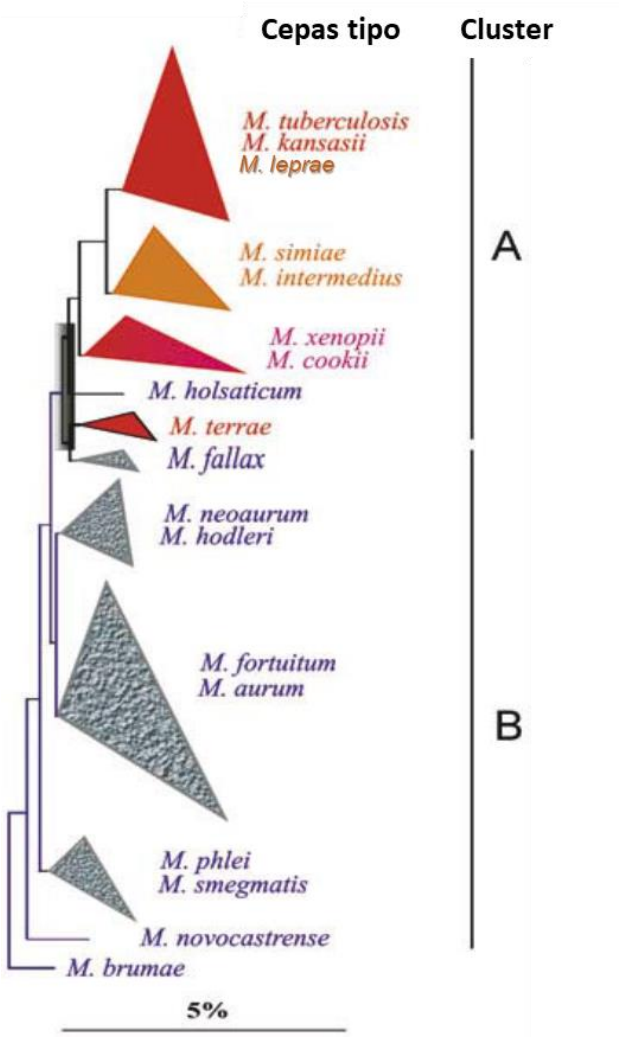


Figura 1. Relaciones filogenéticas entre cepas del género *Mycobacterium*.
Gráfico esquemático del análisis por unión de vecinos de la secuencia del gen del ARNr 16S de cepas tipo pertenecientes al género *Mycobacterium*. Los triángulos rojo y amarillo representan cepas de crecimiento lento, mientras que el triángulo gris identifica cepas de crecimiento rápido. Barra: 5% de diferencia de secuencia. *Cluster* A: Cepas de crecimiento lento, *Cluster* B: Cepas de crecimiento rápido. Figura adaptada de Referencia [11].

A pesar de que la discriminación inicial entre las cepas de crecimiento lento y las cepas de crecimiento rápido es generalmente aceptada y de que los resultados de los estudios filogenéticos han proporcionado una visión valiosa sobre la relación entre los miembros del género *Mycobacterium*, existen ciertas limitaciones en los métodos utilizados para discernir confiablemente entre ambos grupos y, en particular, entre grupos de micobacterias de crecimiento rápido [15]. En vista del conocimiento creciente sobre la diversidad existente entre las especies de micobacterias y la importancia clínica de muchos miembros de este género, se han publicado métodos basados en análisis de secuencias de genomas completos, para la construcción de árboles filogenéticos más robustos, que brindan una mayor resolución para identificar relaciones taxonómicas [17].

Estos análisis permite determinar con mejor precisión la relación entre los organismos, ya que la utilización de la genómica comparativa permite identificar además marcadores moleculares que son compartidos por organismos evolutivamente relacionados [18]. Dos tipos de marcadores moleculares que han mostrado utilidad en estudios evolutivos o taxonómicos son los denominados CSIs (*conserved signature indels*) y CSPs (*conserved signature proteins*). CSIs son inserciones o deleciones de aminoácidos de largo definido presentes en posiciones determinadas dentro de regiones específicas en una región conservada en especies evolutivamente relacionadas, mientras que CSPs son proteínas cuyos homólogos se han encontrado exclusivamente en grupos de organismos relacionados [6,18]. En un estudio reciente basado en el análisis genómico comparativo de 150 especies micobacterianas se construyeron árboles filogenéticos que permitieron identificar 172 marcadores moleculares específicos, incluyendo CSIs y CSPs, que están compartidos, ya sea por todos los miembros del género *Mycobacterium* o por distintos clados en este género [6]. Basado en este análisis se propuso la división de especies en el género *Mycobacterium* en 5 clados monofiléticos principales, llamados clado "*Tuberculosis-Simiae*", clado "*Terrae"*, clado "*Triviale*", clado "*Fortuitum-Vaccae*" y clado "*Abscessus-Chelonae*" [6]. La Figura 2 muestra un árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en proteínas *core* de los genomas de las especies del género *Mycobacterium*, donde se observa que 3 de los clados mencionados corresponden a especies de crecimiento lento y los otros 2 clados, a especies de crecimiento rápido. El clado *"Tuberculosis-Simiae"*, de crecimiento lento, incluye la mayoría de las especies clínicamente importantes, incluyendo *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. avium*, *M. kansasii* y *M. simiae* [6].

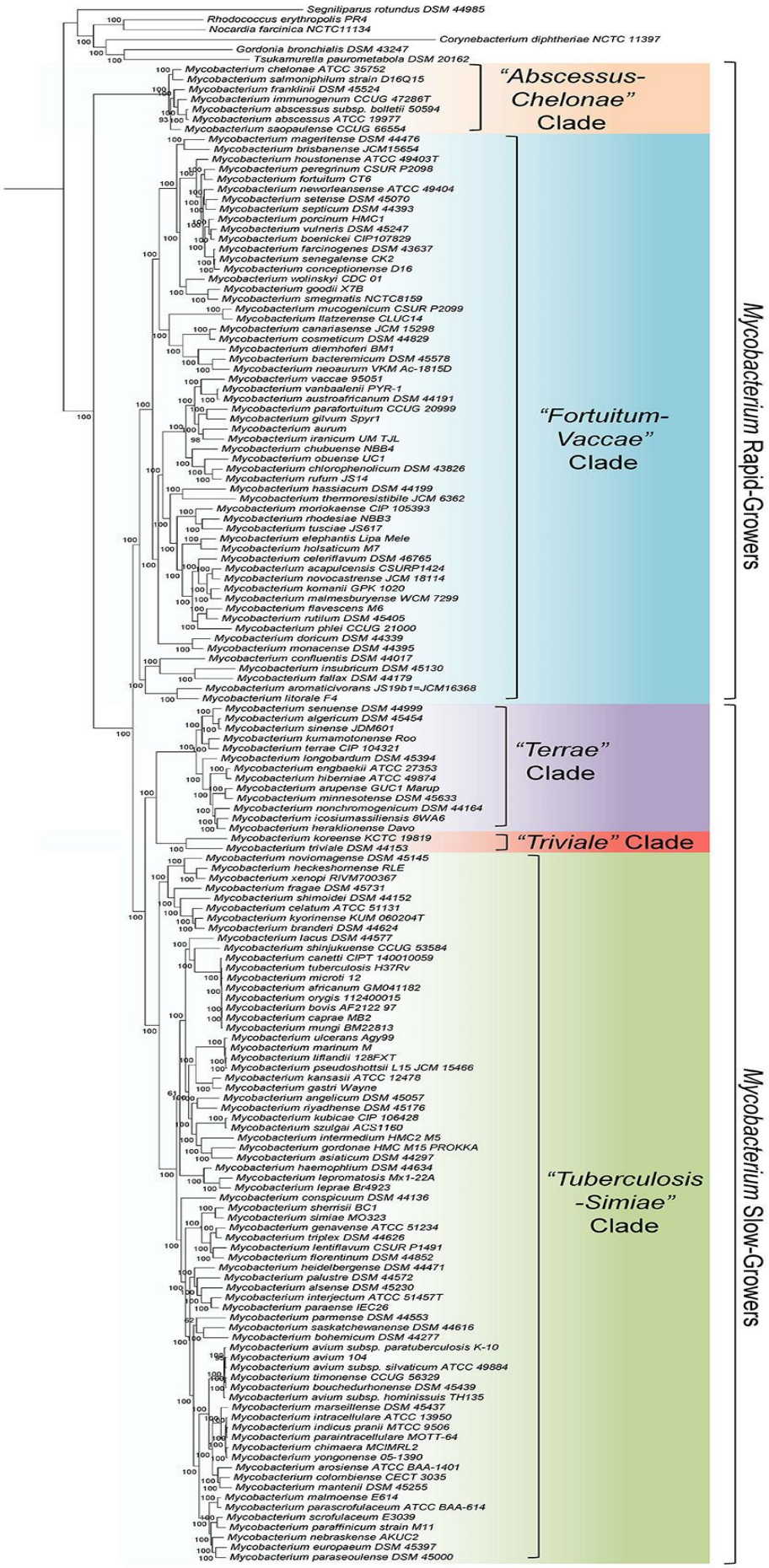

Segniliparus rotundus DSM 44985
Rhodococcus erythropolis PR4
Nocardia farcinica NCTC11134
Corynebacterium diphtheriae NCTC 11397
Gordonia bronchialis DSM 43247
Tsukamurella paurometabola DSM 20162
Mycobacterium chelonae ATCC 35752
Mycobacterium salmoniphilum strain D16Q15
Mycobacterium franklinii DSM 45524
Mycobacterium immunogenum CCUG 47286T
Mycobacterium abscessus subsp. bolletii 50594
Mycobacterium abscessus ATCC 19977
Mycobacterium saopaulense CCUG 66554
"Abscessus-Chelonae" Clade
Mycobacterium magentense DSM 44476
Mycobacterium brisbanense JCM15654
Mycobacterium houstonense ATCC 49403T
Mycobacterium peregrinum CSUR P2098
Mycobacterium fortuitum CT6
Mycobacterium neworleansense ATCC 49404
Mycobacterium setense DSM 45070
Mycobacterium septicum DSM 44393
Mycobacterium porcinum HMC1
Mycobacterium vulneris DSM 45247
Mycobacterium boenickei CIP107829
Mycobacterium farcinogenes DSM 43637
Mycobacterium senegalense CK2
Mycobacterium conceptionense D16
Mycobacterium wolinskyi CDC 01
Mycobacterium goodii X7B
Mycobacterium smegmatis NCTC8159
Mycobacterium mucogenicum CSUR P2099
Mycobacterium llatzerense CLUC14
Mycobacterium canariasense JCM 15298
Mycobacterium cosmeticum DSM 44829
Mycobacterium diemhoferi BM1
Mycobacterium bacteremicum DSM 45578
Mycobacterium neoaurum VKM Ac-1815D
Mycobacterium vaccae 95051
Mycobacterium vanbaalenii PYR-1
Mycobacterium austroafricanum DSM 44191
Mycobacterium parafortuitum CCUG 20999
Mycobacterium gilvum Spyr1
Mycobacterium aurum
Mycobacterium iranicum UM TJL
Mycobacterium chubuense NBB4
Mycobacterium obuense UC1
Mycobacterium chlorophenolicum DSM 43826
Mycobacterium rufum JS14
Mycobacterium hassiacum DSM 44199
Mycobacterium thermoresistibile JCM 6362
Mycobacterium moriokaense CIP 105393
Mycobacterium rhodesiae NBB3
Mycobacterium tusciae JS617
Mycobacterium elephantis Lipa Mele
Mycobacterium holsaticum M7
Mycobacterium celeriflavum DSM 46765
Mycobacterium acapulcensis CSURP1424
Mycobacterium novocastrense JCM 18114
Mycobacterium komanii GPK 1020
Mycobacterium malmesburyense WCM 7299
Mycobacterium flavescens M6
Mycobacterium rutilum DSM 45405
Mycobacterium phlei CCUG 21000
Mycobacterium doricum DSM 44339
Mycobacterium monacense DSM 44395
Mycobacterium confluentis DSM 44017
Mycobacterium insubricum DSM 45130
Mycobacterium fallax DSM 44179
Mycobacterium aromaticivorans JS19b1=JCM16368
Mycobacterium litorale F4
"Fortuitum-Vaccae" Clade
Mycobacterium senuense DSM 44999
Mycobacterium algericum DSM 45454
Mycobacterium sinense JDM601
Mycobacterium kumamotonense Roo
Mycobacterium terrae CIP 104321
Mycobacterium longobardum DSM 45394
Mycobacterium engbaekii ATCC 27353
Mycobacterium hiberniae ATCC 49874
Mycobacterium arupense GUC1 Marup
Mycobacterium minnesotense DSM 45633
Mycobacterium nonchromogenicum DSM 44164
Mycobacterium icosiumassiliensis 8WA6
Mycobacterium heraklionense Davo
"Terrae" Clade
Mycobacterium koreense KCTC 19819
Mycobacterium triviale DSM 44153
"Triviale" Clade
Mycobacterium noviomagense DSM 45145
Mycobacterium heckeshornense RLE
Mycobacterium xenopi RIVM700367
Mycobacterium fragae DSM 45731
Mycobacterium shimoidei DSM 44152
Mycobacterium celatum ATCC 51131
Mycobacterium kyorinense KUM 060204T
Mycobacterium branderi DSM 44624
Mycobacterium lacus DSM 44577
Mycobacterium shinjukuense CCUG 53584
Mycobacterium canetti CIPT 140010059
Mycobacterium tuberculosis H37Rv
Mycobacterium microti 12
Mycobacterium africanum GM041182
Mycobacterium orygis 112400015
Mycobacterium bovis AF2122 97
Mycobacterium caprae MB2
Mycobacterium mungi BM22813
Mycobacterium ulcerans Agy99
Mycobacterium marinum M
Mycobacterium liflandii 128FXT
Mycobacterium pseudoshottsii L15 JCM 15466
Mycobacterium kansasii ATCC 12478
Mycobacterium gastri Wayne
Mycobacterium angelicum DSM 45057
Mycobacterium riyadhense DSM 45176
Mycobacterium kubicae CIP 106428
Mycobacterium szulgai ACS1180
Mycobacterium intermedium HMC2 M5
Mycobacterium gordonae HMC M15 PROKKA
Mycobacterium asiaticum DSM 44297
Mycobacterium haemophilum DSM 44634
Mycobacterium lepromatosis Mx1-22A
Mycobacterium leprae Br4923
Mycobacterium conspicuum DSM 44136
Mycobacterium sherrisii BC1
Mycobacterium simiae MO323
Mycobacterium genavense ATCC 51234
Mycobacterium triplex DSM 44626
Mycobacterium terrifiavum CSUR P1491
Mycobacterium florentinum DSM 44852
Mycobacterium heidelbergense DSM 44471
Mycobacterium palustre DSM 44572
Mycobacterium alsense DSM 45230
Mycobacterium interjectum ATCC 51457T
Mycobacterium paraense IEC26
Mycobacterium parmense DSM 44553
Mycobacterium saskatchewanense DSM 44616
Mycobacterium bohemicum DSM 44277
Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis K-10
Mycobacterium avium 104
Mycobacterium avium subsp. silvaticum ATCC 49884
Mycobacterium timonense CCUG 56329
Mycobacterium bouchedurhonense DSM 45439
Mycobacterium avium subsp. hominissuis TH135
Mycobacterium marseillense DSM 45437
Mycobacterium intracellulare ATCC 13950
Mycobacterium indicus pranii MTCC 9506
Mycobacterium paraintracellulare MOTT-64
Mycobacterium chimaera MCIMRL2
Mycobacterium yongonense 05-1390
Mycobacterium arosiense ATCC BAA-1401
Mycobacterium colombiense CECT 3035
Mycobacterium mantenii DSM 45255
Mycobacterium malmoense E614
Mycobacterium parascrofulaceum ATCC BAA-614
Mycobacterium scrofulaceum E3039
Mycobacterium paraffinicum strain M11
Mycobacterium nebraskense AKUC2
Mycobacterium europaeum DSM 45397
Mycobacterium paraseoulense DSM 45000
"Tuberculosis -Simiae" Clade
Mycobacterium Rapid-Growers
Mycobacterium Slow-Growers

Figura 2. Relaciones filogenéticas entre especies del género *Mycobacterium* basadas en análisis de genómica comparativa.
Análisis de árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en 1941 proteínas *core* del género *Mycobacterium*. Se identifican los 5 clados principales, así como los *clusters* de especies de crecimiento lento y de crecimiento rápido. El árbol se generó utilizando las secuencias de especies Corynebacteriales como grupo externo. Imagen tomada y adaptada de Referencia [6].

Independientemente de estos estudios taxonómicos y el conocimiento cada vez más preciso de las interrelaciones entre las distintas especies, el género *Mycobacterium* para fines de diagnóstico y tratamiento se subdivide en 3 grupos principales: (1) El complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), integrado por las bacterias que causan tuberculosis en los humanos y otros animales (detallado en la próxima sección), (2) *M. leprae* que causa la enfermedad de Hansen (lepra) y (3) *Mycobacterium* no tuberculosis (NTM) que son todas las otras micobacterias, que se encuentran generalmente en el medio ambiente, y tienen escasa capacidad patógena. No obstante, en situaciones de inmunodeficiencia, algunas especies del grupo NTM son capaces de producir enfermedades pulmonares, similares a la tuberculosis, linfoadenitis, enfermedades en la piel y en algunos casos, enfermedades diseminadas. A este último grupo pertenecen más de 120 especies, entre ellas: el complejo MAC (*M. avium, M. intracellulare*), *M. kansasii*, *M. xenopi* y *M. fortuitum* [1].

Complejo Mycobacterium tuberculosis

El Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) consiste en un grupo de especies micobacterianas altamente relacionadas (99.9% de identidad de secuencia nucleotídica) que son los agentes causantes de la tuberculosis (TB) en un amplio rango de especies de mamíferos. Son patógenos intracelulares estrictos, que presentan generalmente especificidad de hospedero. Las especies que principalmente afectan humanos son *M. tuberculosis*, *M. africanum* y *M. canetti*, mientras que las otras afectan hospederos animales domésticos o salvajes, por ejemplo *M. bovis* (bovinos), *M. caprae* (ovinos y caprinos), *M. microti* (roedores), *M. pinnipedii* (focas y leones marinos), entre otras. Aunque no es muy frecuente, algunas especies que presentan principalmente hospederos animales han sido reportadas como causantes de zoonosis en humanos [19].

M. tuberculosis no tiene otro nicho ecológico además del humano, por lo que se plantea que ha existido una coevolución entre ambas especies, que ha derivado en una infección que induce una inmunidad parcial, en la cual el hospedero sobrevive la mayor parte del tiempo infectado con el patógeno, aumentando sus posibilidades de diseminación a otros hospederos [20].

Resulta interesante que los miembros de este complejo muestren una similaridad tan alta a nivel de sus genomas, pero que difieran tanto a nivel del hospedero que infectan, sus fenotipos y su patogenicidad. Es particularmente llamativo el hecho que algunos miembros infecten exclusivamente a los humanos o roedores, mientras que otros como *M. bovis* muestren una amplio espectro de hospederos potenciales [21]. Los análisis genómicos iniciales sugirieron que los miembros de este complejo evolucionaron de un antepasado común a partir de procesos sucesivos de deleciones e inserciones génicas, resultando en la especiación actual de las diferentes especies y sus diferencias en su patogenicidad. En particular, se describieron 14

regiones de diferenciación, denominadas (RD1 a RD14), que presentan un tamaño entre 2 y 12.7 Kb, que están ausentes en la cepa vacunal Calmette-Guérin Pasteur (*M. bovis* atenuada) en relación a la cepa *M. tuberculosis* H37Rv [22,23]. En comparación con la cepa *M. bovis*, todas las cepas BCG vacunales carecen de la región de diferenciación RD1, la que presumiblemente se perdió durante la atenuación por subcultivos consecutivos entre los años 1908 y 1921 [21]. Esta región tiene un largo de 9.5 kb y comprende 9 genes, incluyendo los genes que codifican la proteínas de secreción ESAT-6 (Rv3875) y CFP-10 (Rv3874) [24]. La región RD2, un segmento de ADN de 10.7 kb de largo que contiene el gen que codifica para la proteína inmunogénica Mpt64 (Rv1980c), está conservado en todas las cepas virulentas de laboratorio y aislados clínicos testeados, mientras que está ausente en las subespecies derivadas de la cepa vacunal original BCG Pasteur, que fueron subcultivadas luego del año 1925 [21]. Otras regiones de diferenciación se perdieron en los subcultivos consecutivos de la cepa vacunal [23]. Estos estudios iniciales sugirieron que estos eventos de deleciones génicas, fueron importantes en la evolución de los miembros del complejo, así como en su adaptación a los diferentes hospederos, además de brindar claves para la identificación de los genes relacionados con la patogenicidad.

Las secuenciación de genomas completos, en combinación con técnicas de cribado fenotípico, han proporcionado datos adicionales sobre la evolución de *M. tuberculosis* y el resto de los miembros del MTBC [25,26]. Estudios recientes han encontrado evidencia genómica que indica que MTBC probablemente haya emergido como un grupo clonal único derivado de un pool de cepas micobacterianas recombinogénicas similares a las cepas existentes de *M. canetti* [27]. En la Figura 3 se muestra la relación entre linajes del MTBC, utilizando *M. canetti* como grupo externo [26]. Puede observarse en esta figura que MTBC está integrado por 7 linajes muy relacionados con *M. tuberculosis* (L1– L4, L7) y con *M. africanum* (L5–L6) que causan tuberculosis en humanos, así como varias cepas adaptadas a hospederos animales que se ramifican próximas al linaje L6 de *M. africanum*. Por otro lado, se plantea que los linajes más ancestrales de los miembros del MTBC que afectan humanos son *M. africanum* L5 y L6, y *M. tuberculosis* L1 y L7 que divergieron previo a que ocurra la deleción de la región genómica TbD1 (Figura 3). Luego de esta deleción emergieron los linajes modernos, correspondientes a *M. tuberculosis* L2 (Beijing), L3 (Dehli/CAS) y L4 (T, Haarlem, LAM, S, X), a los que pertenecen las cepas que presentan mayor diseminación geográfica en la actualidad [26]. La cepa de laboratorio *M. tuberculosis* H37Rv utilizada en esta tesis, es una cepa virulenta, perteneciente al linaje 4 del complejo MTB [25].

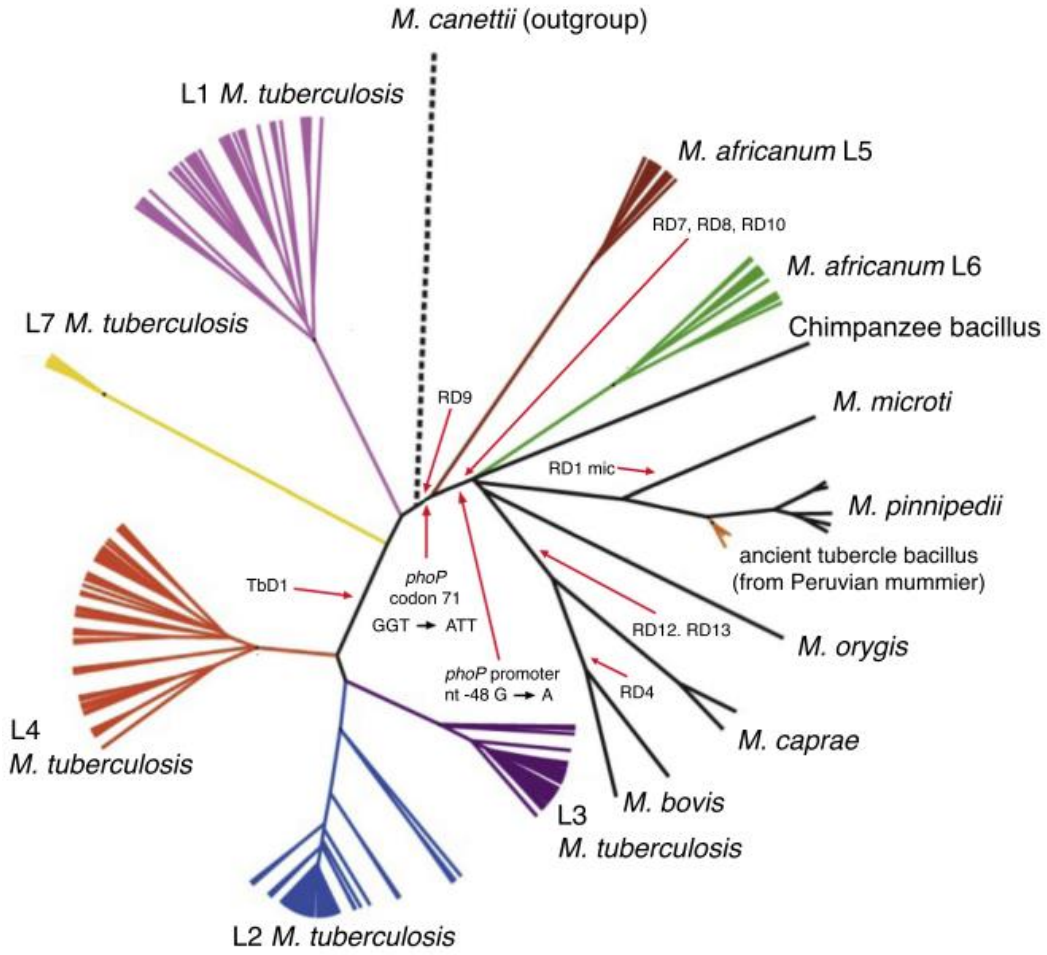


Figura 3. Relaciones filogenéticas entre diferentes especies del MTBC.
Análisis de árbol filogenético basado en SNPs de 261 genomas micobacterianos, utilizando *M. canetti* como grupo externo. Se incluye información de los puntos donde se plantea que ocurrieron las deleciones de regiones de diferenciación (RD) y las mutaciones del sistema de 2 componentes PhoP/PhoR. Figura tomada de la referencia [26].

La importancia de la Tuberculosis

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa producida por alguno de los miembros del MTBC, principalmente *M. tuberculosis*. Típicamente afecta los pulmones (tuberculosis pulmonar) pero puede afectar también otros órganos y tejidos, como el tracto gastrointestinal, el sistema nervioso central, los nódulos linfáticos, entre otros (tuberculosis extrapulmonar). El mecanismo de transmisión más importante, causa de la enorme mayoría de los contagios, es la vía aerógena, a través de gotitas infectivas, expulsadas mediante maniobras de espiración forzada (tos, risa, canto, estornudo). Durante la infección activa, MTB genera lesiones pulmonares, lo que fomenta su diseminación eficiente a otros individuos a través de aerosoles que transportan bacilos hacia el exterior que pueden permanecer suspendidos en el aire desde algunos minutos hasta varias horas. Otras vías de transmisión de la infección tuberculosa son absolutamente excepcionales [28].

Una vez infectado con esta bacteria, el individuo tiene riesgo de desarrollar tuberculosis activa durante los dos primeros años, pero puede permanecer con infección tuberculosa latente (LTBI),

representando un reservorio del microorganismo, durante el resto de su vida. Se ha estimado recientemente que habría 25% de la población mundial con LTBI, es decir 1.7 billones de personas [29]. En general, en el entorno de un 10% de estas personas desarrollará TB activa durante su vida y de ellos aproximadamente la mitad lo hará durante los primeros años post-infección [30]. Si la persona infectada presenta concomitantemente una depresión de su sistema inmunitario (malnutrición, quimioterapia y principalmente VIH), u otros factores de riesgo como tabaquismo, alcoholismo o diabetes, la probabilidad de desarrollar la enfermedad aumenta [31].

Situación epidemiológica de la TB a nivel mundial

Según el Informe Mundial sobre la Tuberculosis de la organización mundial de la salud (OMS) publicado en el año 2019, un estimado de 10 millones de personas desarrollaron TB activa en el año 2018 [32]. Este informe mostró que hay casos de TB en todos los países y en todos los grupos etarios, pero la distribución no es homogénea, siendo mucho más alta la incidencia en la región del sudeste asiático (44%) y en África (24%), mientras que Europa y América se presentan en conjunto 6% de los casos, aproximadamente 3% en cada región. Además, en el año 2018 se estimaron que 89% de los casos eran adultos (≥15 años), 57% hombres, 8.6% personas con VIH (72% en África), y dos tercios de los casos se presentaban en 8 países: India (27%), China (9%), Indonesia (8%), las Filipinas (6%), Pakistán (6%), Nigeria (4%), Bangladesh (4%) y Sudáfrica (3%). [32]. En la Figura 4 se muestra la distribución mundial en 2018 de la incidencia de TB, definida como los casos nuevos y recaídas de TB reportados en ese año.

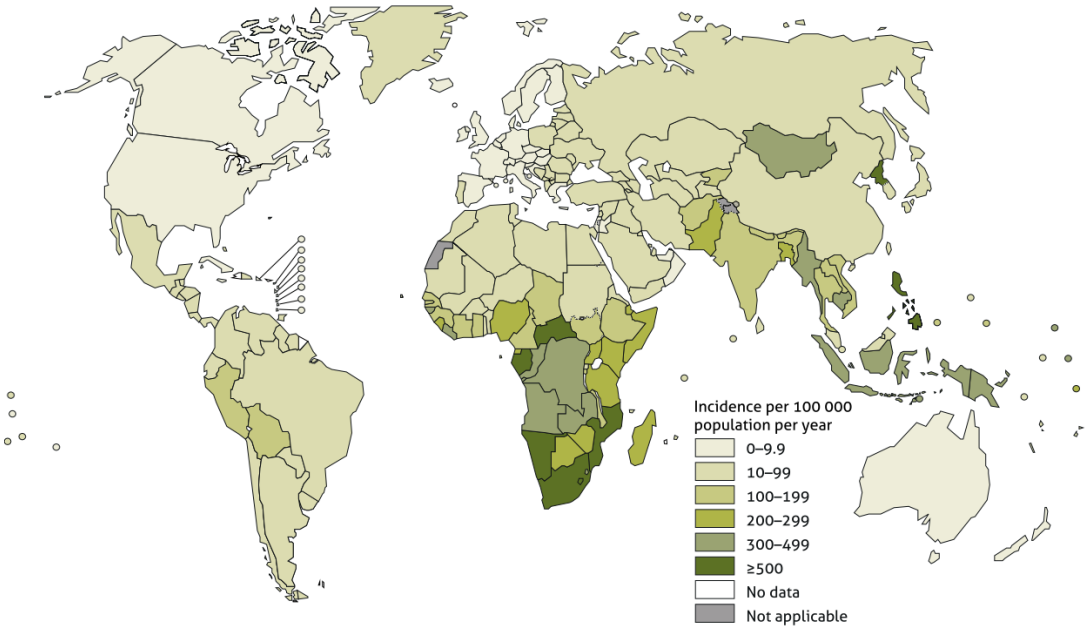


Figura 4. **Estimación de la tasa de incidencia de tuberculosis a nivel mundial en 2018.**
Se muestra por medio de una escala de colores de intensidad creciente la tasa de incidencia cada 100.000 habitantes estimada por la OMS en cada país. Figura tomada de referencia [32].

En relación a la mortalidad asociada a esta enfermedad, TB es actualmente una de las 10 primeras causas de muertes en general, y la primera causa de muerte debido a un agente infeccioso (superando al VIH), habiendo causado en 2018 un estimado de 1.2 millones de

muertes entre pacientes VIH negativos y 251 mil muertes entre pacientes VIH positivos, es decir un número superior a 4.000 muertes diarias [32].

Este dato es llamativo ya que es una enfermedad mayormente curable, si es detectada a tiempo y tratada con fármacos específicos. A pesar de que el diagnóstico y el tratamiento evitan millones de muertes cada año, existen aún brechas importantes y persistentes relacionadas con esta infección que deben ser resueltas [31]. En primer lugar, el alto número de personas con infección latente, habla sobre la necesidad de contar con nuevos métodos diagnósticos y mejores vacunas [29]. Por otro lado, la alta mortalidad causada por la enfermedad requiere ser abordada con métodos diagnósticos más rápidos y tratamientos más eficientes. La coinfección con VIH, especialmente en la región africana sub-sahariana, así como el incremento de reportes de casos debidos a TB multirresistentes a drogas (MDR), generan desafíos adicionales al control de esta epidemia [25]. Según cifras de la OMS en 2018 hubo 484.000 casos resistentes a rifampicina, droga antituberculosa de primera línea. De ellos el 78% eran cepas multirresistente (MDR-TB), es decir resistentes a rifampicina e isoniacida [32]. Por otra parte, las cepas extensivamente resistente a drogas (XDR-TB), definidas como cepas MDR-TB que también son resistentes a al menos una droga en las siguientes 2 clases usadas para el tratamiento de MDR-TB, representan aproximadamente el 8.5% de las cepas MDR-TB [31]. La alta prevalencia de las cepas de MTB resistentes a drogas ha agravado el manejo de la enfermedad y ha aumentado considerablemente la mortalidad asociada a la tuberculosis entre los pacientes inmunocomprometidos [19].

A pesar de lo anteriormente expuesto, a causa de los esfuerzos globales, y los distintos planes de control de la enfermedad implementados, el número de casos ha disminuido anualmente de forma sostenida, tanto en términos absolutos como en relación *per cápita*. La Figura 5 muestra esta tendencia decreciente tanto en los valores de incidencia como de mortalidad asociada a esta enfermedad. Esta tendencia debería acelerarse en los próximos años para alcanzar los objetivos de reducción de casos y muertes definidos por la Estrategia End TB de la OMS [31,33]. Esta estrategia plantea disminuir en un 95% la mortalidad, y reducir en 90% la cantidad de casos nuevos anuales para el año 2035, en comparación con los valores del año 2015. Para lograrlo se necesita mejorar la prestación de servicios sanitarios y la prevención de TB, así como consolidar avances tecnológicos que permitan llegar a dichos objetivos. En relación a estos avances tecnológicos, las prioridades incluyen el desarrollo de vacunas que disminuyan el riesgo de contraer la infección, de nuevos tratamientos, en base a vacunas o drogas, que frenen el desarrollo de la enfermedad en las personas con LTBI, de reactivos de diagnóstico que puedan ser utilizados en el punto de atención (POC: *point of care)*, y de tratamientos más simples y cortos para tratar la tuberculosis cuando se desarrolle la enfermedad [31]. Para el control de esta enfermedad se requiere prestar especial atención en sectores socio-económicos comprometidos donde el acceso a la salud es limitado y el relevamiento de nuevos casos de TB es incompleto.

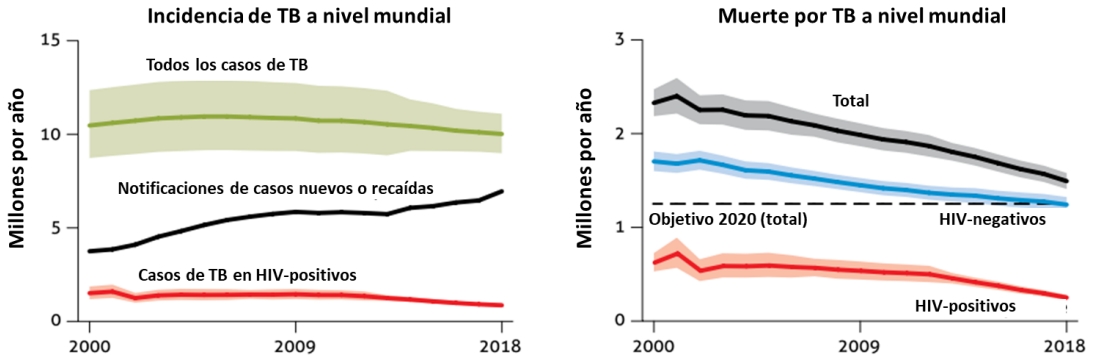


Figura 5. Tendencias globales en las estimaciones de incidencia de TB y de muertes por TB entre el año 2000 y 2018.
Cada gráfica está identificada en la parte inferior. Se muestran los intervalos de incertidumbre en los datos estimados como áreas sombreadas. Figura adaptada de Referencia [32].

Situación epidemiológica de la TB en Uruguay

En Uruguay, en el inicio de la década de los 80, se implementó el Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PNC-TB), logrando un abatimiento notorio de la TB desde la década del 80 hasta fines de la década de los 90, pasando de una tasa de incidencia de 60 a 25 cada 100.000 habitantes hacia fines de dicha década, lo que planteó la posibilidad de ingresar a una situación cercana a la eliminación de la enfermedad como problema sanitario.

Sin embargo, a partir del 2000 se comienza a observar una estabilización de las cifras y un posterior ascenso progresivo del número de casos notificados. La incidencia de la TB en nuestro país registra un aumento progresivo en los últimos 10 años (Figura 6A), alcanzando en 2015 una cifra de 909 casos (casos nuevos y recaídas), lo que corresponde a una tasa de incidencia de 26,2 casos cada 100000 habitantes [34]. Esta tendencia ha traído como consecuencia que Uruguay no integre actualmente el grupo de países con menores tasas de incidencia (Figura 4) [31]. Es importante mencionar que si bien en nuestro país se han reportado algunos casos de tuberculosis pulmonar producida por *M. bovis* [35], la inmensa mayoría de los casos de la enfermedad es producida por *M. tuberculosis* [28].

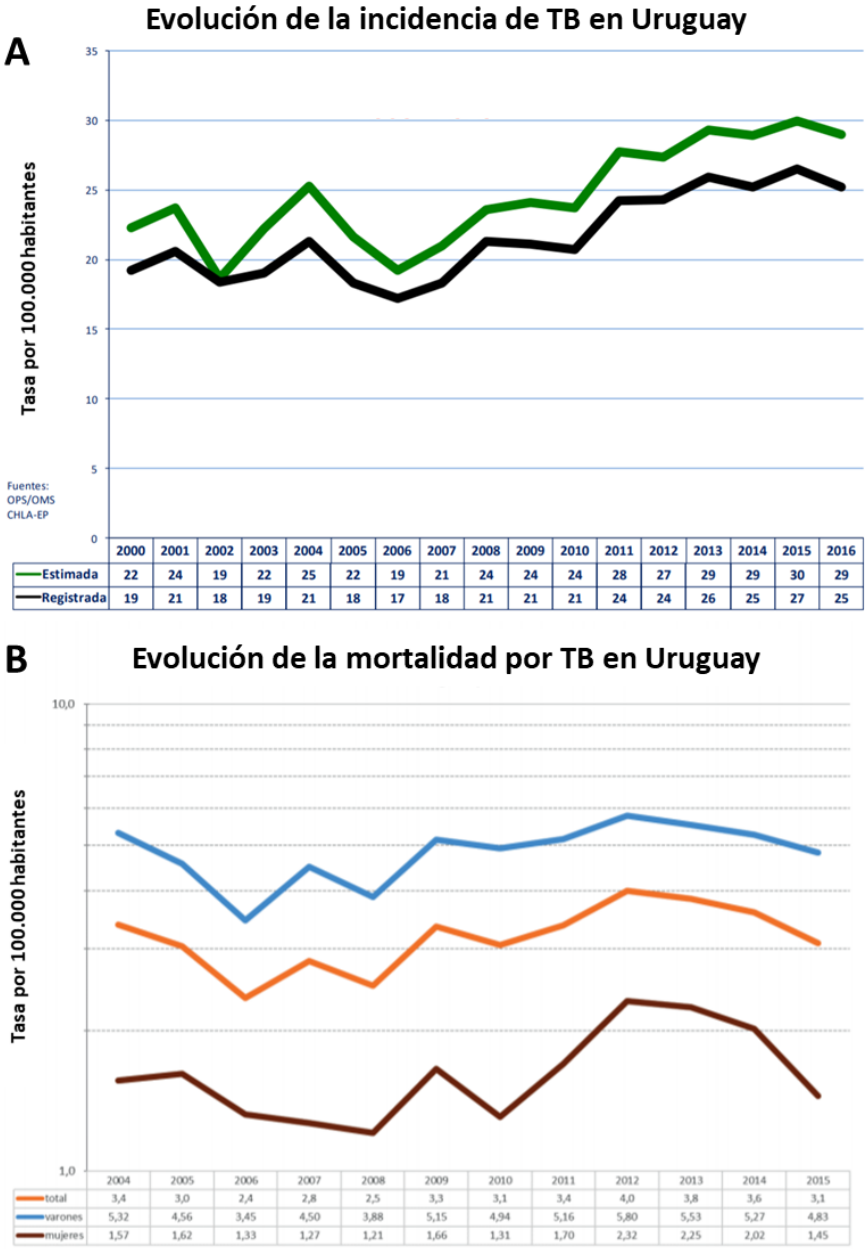


Figura 6. Evolución de la tuberculosis en Uruguay. A: Evolución de la incidencia de TB entre los años 2000 y 2016 en Uruguay. B: Evolución de la mortalidad por TB en Uruguay entre 2004 y 2015, discrimando entre la población general, hombres y mujeres. Registro Nacional de Tuberculosis. Departamento de Tuberculosis. CHLA-EP, Uruguay. Figura adaptada de la Referencia [34].

Según datos de la Comisión Honoraria de Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (CHLA-EP), la prevalencia es más alta en Montevideo que en el resto del país, seguido por los departamentos de Soriano, Maldonado y Paysandú en orden decreciente. En relación a la distribución etaria el 65% de los casos se registran entre 20 y 60 años, y en esta franja, particularmente en jóvenes (25 a 44 años), lo cual traduce una alta tasa de trasmisión de la infección en la población [34].

La tasa de mortalidad mostró una tendencia al aumento entre 2004 y 2012, y en los últimos años ha comenzado a descender lentamente (Figura 6B). Las principales causas de la mortalidad son

las formas avanzadas pulmonares en el momento del diagnóstico y la coinfección VIH/TB [34]. En sus informes y presentaciones, actualizados de forma regular y disponibles en la página http://www.chlaep.org.uy/, la CHLA-EP reportó que en el período 2000-2018 se registró un aumento gradual y sostenido en los casos de coinfección VIH/TB, así como una tasa de letalidad en esta población que es del entorno del doble que la población con TB sin VIH (19.1% en pacientes VIH/TB vs 9.1% en pacientes TB sin VIH). Además de las personas con VIH y los contactos de los convivientes, que dada la transmisión de la enfermedad por vía aerógena son más vulnerables al contagio, un grupo de riesgo particularmente importante en nuestro país son las personas privadas de libertad. Para esta población la tasa de incidencia es casi 30 veces más alta que la población general, habiéndose registrado un aumento sostenido de los casos de TB en establecimientos de reclusión en los últimos 20 años.

Un factor que incide sobre la situación de esta enfermedad en nuestro país, es el retardo en su diagnóstico, lo cual da lugar a formas avanzadas de la enfermedad. Este hecho favorece el desarrollo de lesiones potencialmente mortales, o gravemente incapacitantes, y, además, prolonga el tiempo durante el cual el enfermo transmite la infección a sus convivientes. La tasa de letalidad por TB comprobada en los últimos años, así como el enlentecimiento del descenso de la incidencia de la enfermedad, podría atribuirse en parte al retraso en el diagnóstico [28].

El Programa Nacional de Tuberculosis implementado por la CHLA-EP, a través de su programa de descentralización supervisada, busca controlar y disminuir la incidencia de esta enfermedad abordando el problema en los distintos sectores de la población (población general, contactos convivientes, personas con VIH, personas privadas de libertad). Los objetivos son mejorar el diagnóstico precoz de la enfermedad, realizar tratamientos preventivos y continuar apoyando el programa de vacunación con BCG. También se busca generar más oportunidades para realizar el tratamiento y promover la adherencia al mismo; mientras que en paralelo se pretende mejorar la accesibilidad de la población a las medidas de control. Por último, desde este Programa se apoya y se colabora en realización de investigación científica nacional en tuberculosis.

En relación a la vacunación, poco después de haber sido desarrollada la cepa vacunal de *M. bovis* atenuada por Calmette y Guérin en Francia, el Dr. Moreau obtuvo la cepa BCG (Bacilo Calmette-Guérin) en el Instituto Pasteur de Paris y la trajo a Uruguay. En 1926 se aprobó un decreto para la fabricación nacional de la vacuna y en 1927 se creó el Dispensario Profiláctico contra la TB en la infancia, incluyendo un laboratorio de producción de vacuna. Se utilizó primeramente la vacuna oral pasándose luego a la multipuntura y luego a la vacunación por vía intradérmica en dos dosis y desde el año 1993 en una dosis a los recién nacidos. Actualmente ya no se realiza la producción nacional de vacuna BCG líquida, pero si se almacena la vacuna liofilizada en el Laboratorio Albert Calmette, dependiente de la CHLA-EP. La CHLA-EP es un organismo público no estatal, que además del Programa de Tuberculosis, desde 1987 se encarga de los aspectos operativos del Programa Nacional de Inmunizaciones [36]. La eficacia y efectividad de la vacunación con BCG ha mostrado que varía considerablemente entre estudios y tipo de población. La OMS ha concluido en base a los estudios disponibles que la vacuna disponible es segura y muestra una moderada efectividad frente a la tuberculosis pulmonar en la vacunación neonatal (54 a 82%) y una elevada efectividad (72 a 90%) frente a formas graves de la

enfermedad como la tuberculosis meníngea o miliar (diseminada), por lo que recomienda su aplicación en una única dosis, con alcance universal o no, dependiendo de la incidencia de TB en el país [37]. En Uruguay se sigue el esquema que se aplica actualmente en la mayoría de los países del mundo, es decir, por la administración de una única dosis de BCG de forma universal a todos los recién nacidos, lo más cerca posible al nacimiento. En el último reporte mundial de la OMS que incluye datos de vacunación en Uruguay, se estimaba que esta vacunación obligatoria alcanzaba a más del 90% de los recién nacidos en el año 2015 [38].

Biología de la infección por M. tuberculosis

Como se mencionó antes la vía más común de contagio entre personas se da a través de aerosoles infectivos conteniendo *M. tuberculosis*, los que al ser inhalados atraviesan la boca, o las fosas nasales, la parte superior del tracto respiratorio y los bronquios, hasta llegar a los alvéolos pulmonares (Figura 7). A lo largo de la vía aérea se encuentra la mucosa respiratoria que forma la primera línea de defensa contra MTB [39]. La mucosa respiratoria contiene una capa de células epiteliales de las vías respiratorias, que forman una barrera de defensa innata. Estas células exponen receptores que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos. Luego que estos receptores reconocen al patógeno se desencadena la producción de citoquinas y moléculas efectoras, como IFN-γ, TNF-α y granzimas, factores que contribuirían a la eliminación temprana de MTB [39].

Los bacilos que pasan estas barreras, pueden alcanzar los alvéolos pulmonares. Los alvéolos están formados por una capa delgada de células epiteliales de tipo I y una pequeña cantidad de células epiteliales de tipo II en las uniones celulares. Estas células de tipo II secretan una variedad de sustancias antimicrobianas, incluyendo el surfactante pulmonar. Los alvéolos contienen además macrófagos alveolares y células dendríticas como principales fagocitos residentes. Asimismo, en situaciones de inflamación, a través de la vascularización alveolar se reclutan neutrófilos y células NK que refuerzan la defensa inmunitaria [39]. En los alvéolos el patógeno es principalmente fagocitado por macrófagos alveolares y células dendríticas (Figura 7) [39,40]. Los análisis de muestras de pacientes con TB pulmonar han mostrado que también los neutrófilos fagocitan las células de MTB [41]. Por otro lado, la infección de las células epiteliales de tipo II ha sido extensamente estudiada, y la evidencia emergente indica que el epitelio alveolar constituye un reservorio para MTB, jugando un rol importante en la progresión a la fase activa de la enfermedad, mediante la secreción de mediadores inmunes [42].

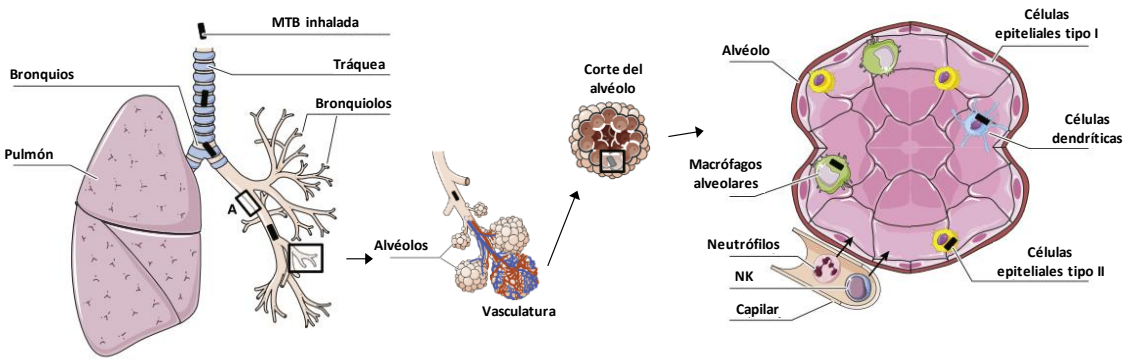


Figura 7. Ingreso de MTB al sistema respiratorio.
MTB está representada como varillas negras. Se muestra el ingreso luego de la inhalación, pasando por la tráquea, los bronquios, bronquiolos y llegando a los alvéolos. Figura adaptada de Referencia [39].

La infección estudiada en modelos murinos de infección por aerosoles infectivos y el estudio de los principales tipos celulares infectados en pulmón por medio de citometría de flujo mostró que probablemente los macrófagos alveolares sean las células inicialmente infectadas por MTB. Luego de algunos días de replicación en los macrófagos alveolares las bacterias son liberadas y fagocitadas por neutrófilos, macrófagos intersticiales y células dendríticas. La bacteria pasa por rondas de replicación en estas células reclutadas, promoviendo la expansión de la población bacteriana y la diseminación a otras células fagocíticas adicionales. A los 17-19 días post infección los neutrófilos son la población celular principalmente infectada y a partir del día 21 post infección las células dendríticas infectadas son el tipo de célula predominante [43]. Las células dendríticas transportan la bacteria a los nódulos linfáticos locales, donde presentan antígenos de la bacteria que activan células T vírgenes iniciando la respuesta adaptativa. En ocasiones, este transporte contribuye a la diseminación del patógeno a otros tejidos linfoides o no linfoides [43], pero es fundamental para generar una respuesta de células T efectoras, principalmente células T CD4+ de tipo 1 (Th1). Estas células, especialmente a través de la secreción de INF-γ, cumplen un rol esencial en la respuesta inmune protectora contra MTB, como queda evidenciado en el caso de pacientes con VIH con severa disminución de células T CD4+ Th1 [44]. Si bien otras células como las células T CD8+, células *natural killers* (NK), y células T $\gamma\delta$, son capaces de secretar INF-γ, las mismas no pueden compensar la ausencia de las células T CD4+ Th1 [45].

Para poder desarrollar una respuesta inmune protectora, luego de su activación en los nódulos linfáticos, las células T CD4+ Th1 deben dirigirse a los tejidos infectados donde reconocen péptidos de MTB presentados en las moléculas de MHC de clase II de los macrófagos. Este reconocimiento promueve la secreción de citoquinas (IFN-γ, TNF-α) y la expresión de ligandos de superficie, los que activan los mecanismos antimicrobianos intracelulares que llevan a la muerte del patógeno. Cuando este mecanismo es sobrepasado por la capacidad de evasión del MTB, las células T se acumulan en torno a acúmulos de macrófagos en distintos estados de diferenciación. El resultado es la formación de granulomas, donde quedan encapsulan las células infectadas, lo que si bien puede contener la diseminación de la infección, dificulta el control inmunológico de la misma (Figura 8) [20]. De esta forma MTB puede establecer una infección crónica, de por vida, a pesar de enfrentarse a la respuesta inmunológica específica del paciente.

Esta persistencia extraordinaria está basada el despliegue de varios mecanismos de supervivencia complementarios que le permiten permanecer y multiplicarse en las células del sistema inmune, como se discute más abajo [43].

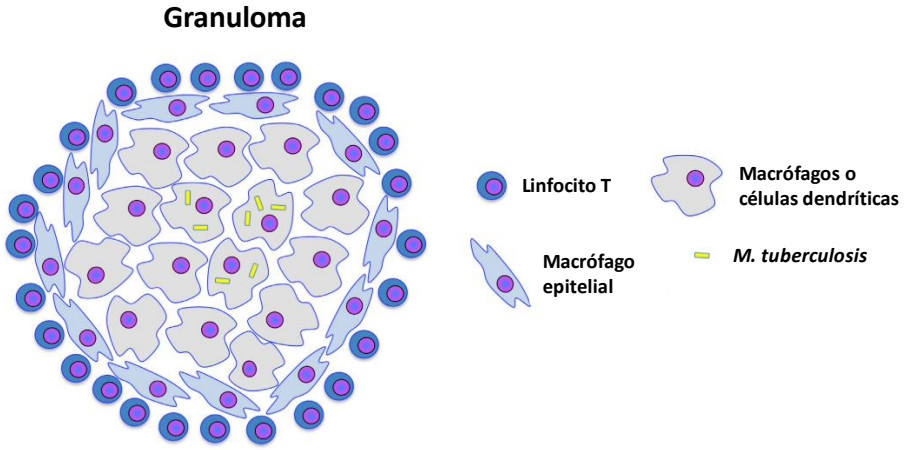


Figura 8. Granulomas en la infección por M. tuberculosis.
Los granulomas presentan un núcleo de macrófagos, infectados y no infectados, rodeado por macrófagos que sufren transformación tipo epitelial. Las células T previamente señalizadas en los nódulos linfáticos son reclutadas hacia los granulomas, pero permanecen en la periferia del mismo por diferentes mecanismos que restringen el contacto de estas células con las células infectadas de la región central. Figura adaptada de Referencia [20].

En los pulmones, la formación de granulomas se traduce en las lesiones inflamatorias crónicas que son las marcas patológicas distintivas de la tuberculosis. Se postula que estas lesiones pulmonares son probablemente muy permisivas para el patógeno, permitiendo la replicación bacteriana en células fagocíticas donde se acumula el patógeno y se controla su diseminación [46]. Ha sido demostrado en modelos de primates (macacos) que los granulomas asociados a la tuberculosis contienen diferentes tipos de macrófagos, con características fenotípicas y funcionales diferentes, tanto antinflamatorias como proinflamatorias, según la región del granuloma donde se encuentren [47]. *M. tuberculosis* se aprovecha del sistema inmune del hospedero, a través de la generación de lesiones inflamatorias crónicas en el pulmón, donde existiría un balance entre las respuestas antimicrobianas y antinflamatorias, que hasta cierto punto limita la infección, pero no consigue resolverla completamente [20,47].

Mecanismos de supervivencia

Como se describió previamente, MTB presenta interesantes mecanismos de supervivencia, que dificultan su eliminación por el sistema inmune, así como el tratamiento farmacológico efectivo. Se destacan principalmente: (1) la modulación de la respuesta inmune a través de la reprogramación de los macrófagos luego de la infección/fagocitosis primaria para evitar su propia destrucción, (2) el confinamiento de la infección y las células inmunes en granulomas muy bien organizados (Figura 8) y (3) la capacidad de apagar su metabolismo central, para

ingresar a un estado de dormancia en el que permanece resistente frente a la defensa inmunológica del hospedero y al tratamiento con drogas [48–50].

La modulación de la respuesta inmune comienza luego que MTB es internalizada por fagocitosis clásica. A partir de la interacción inicial entre los receptores extracelulares especializados expresados por las células fagocíticas y las secuencias ligando específicas del patógeno, se activan vías de señalización que inducen la modificación de la membrana celular de forma de rodear al patógeno. Luego la membrana celular se sella envolviendo a la bacteria y forma una estructura vacuolar conocida como fagosoma temprano. Esta estructura sufre un proceso de maduración durante el cual se fusiona con lisosomas (fusión P-L), convirtiéndose en un fagolisosoma o endosoma tardío. Luego de la internalización de los fagosomas, éstos se acidifican mediante bombas de protones vacuolares (v-ATPasas) que llevan el pH desde la neutralidad hasta un valor cercano a 5.0 [51]. Luego de la fusión P-L, el microambiente ácido en el fagolisosoma es óptimo para la degradación del patógeno por enzimas líticas lisosomales [52]. La muerte de MTB en los macrófagos, activados por estímulos proinflamatorios como el IFN-γ, depende de múltiples factores entre los que se destacan la producción de óxido nítrico, el bajo pH del lisosoma y la exposición a péptidos antimicrobianos por el proceso de autofagia celular [53,54].

La internalización de MTB al macrófago, a diferencia de lo esperado, representa una importante estrategia de supervivencia para el patógeno, ya que MTB ha desarrollado estrategias para frenar o retrasar los procesos de fagocitosis en prácticamente todos los niveles [52]. Así, las vacuolas en las que reside MTB tienen un pH levemente ácido (pH 6.3 a 6.5) y exhiben una mínima adquisición de enzimas líticas lisosomales [54,55]. Por otro lado, a pesar de la exposición a especies reactivas citotóxicas dentro del fagosoma (radicales libres y oxidantes), MTB se vale de varios sistemas antioxidantes bacterianos (SOD, KatG, MshR, entre otros) para detoxificar estas especies reactivas [56]. Los mecanismos de evasión de la respuesta inmune reportados para MTB son: la inhibición de la maduración y acidificación del fagosoma [52,55] y la fusión P-L [49], la inhibición de la apoptosis celular [57] y del mecanismo de autofagia [58]. Una estrategia adicional descrita más recientemente es el escape de MTB de los fagolisosomas al citosol de macrófagos no apoptóticos [59]. Este mecanismo se observó tanto en MTB como en *M. leprae* pero no en la cepa vacunal (*M. bovis* BCG), encontrándose que era dependiente de la secreción de las proteínas micobacterianas CFP-10 y ESAT-6 [59]. Finalmente, MTB interfiere con la respuesta inmune por medio de la modulación de la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de las células fagocíticas infectadas [48].

La composición única de la pared celular micobacteriana le permite al bacilo entrar a los macrófagos empleando diferentes tipos de receptores presentes en la célula hospedera (por ejemplo receptores para Fc, del complemento (CR), de manosa, etc.) [40,50]. En particular, el receptor de manosa, que reconoce el lipoarabinomanano (LAM) de la superficie micobacteriana es importante para lograr una fagocitosis eficiente de la bacteria [60]. Ha sido reportado que el tipo de receptor celular utilizado por MTB para entrar a la célula hospedera incide sobre las vías de señalización activadas, lo que puede tener diferentes consecuencias en relación al desenlace del fagosoma, tanto en las etapas de maduración, como en la modulación de su microambiente interno [52].

El conocimiento de los factores de la micobacteria involucrados en contrarrestar el ataque de los macrófagos es cada vez mayor. Estos factores incluyen componentes de la pared celular como el LAM, factores de virulencia secretados como la quinasa PknG, la fosfatasa SapM, las proteínas del sistema de secreción ESX1 (sistema de secreción tipo VII, T7SS), la translocasa de proteínas SecA2, la oxidorreductasa NuoG, la proteasa resistente al ácido MarP, entre otras [60]. Valiéndose de estos factores de virulencia, MTB despliega múltiples estrategias complementarias que garantizan su supervivencia, replicación y persistencia en las células fagocíticas del hospedero.

Como se mencionó previamente, luego del ingreso del patógeno a los alvéolos, la respuesta inmunológica proinflamatoria desarrollada por el hospedero en el sitio de la infección estimula la formación de granulomas, estructura celular característica que evita el acceso de linfocitos T efectores en los nódulos linfáticos [48]. En la mayoría de los individuos el patógeno es controlado en esta etapa por el sistema inmune y no se disemina más, estableciéndose la tuberculosis latente. Los granulomas humanos exhiben alta plasticidad y se distinguen 3 tipos que se esquematizan en la Figura 9: (1) granulomas sólidos que contienen MTB y prevalecen durante la LTBI, (2) granulomas necróticos que son típicos de las primeras etapas de la TB activa y (3) granulomas caseosos que se observan durante las etapas finales o severas de la enfermedad [50]. La maduración de los granulomas entre los estados sólido, necrótico y caseoso ocurre a diferentes velocidades y generalmente todas las lesiones coexisten durante la TB activa.

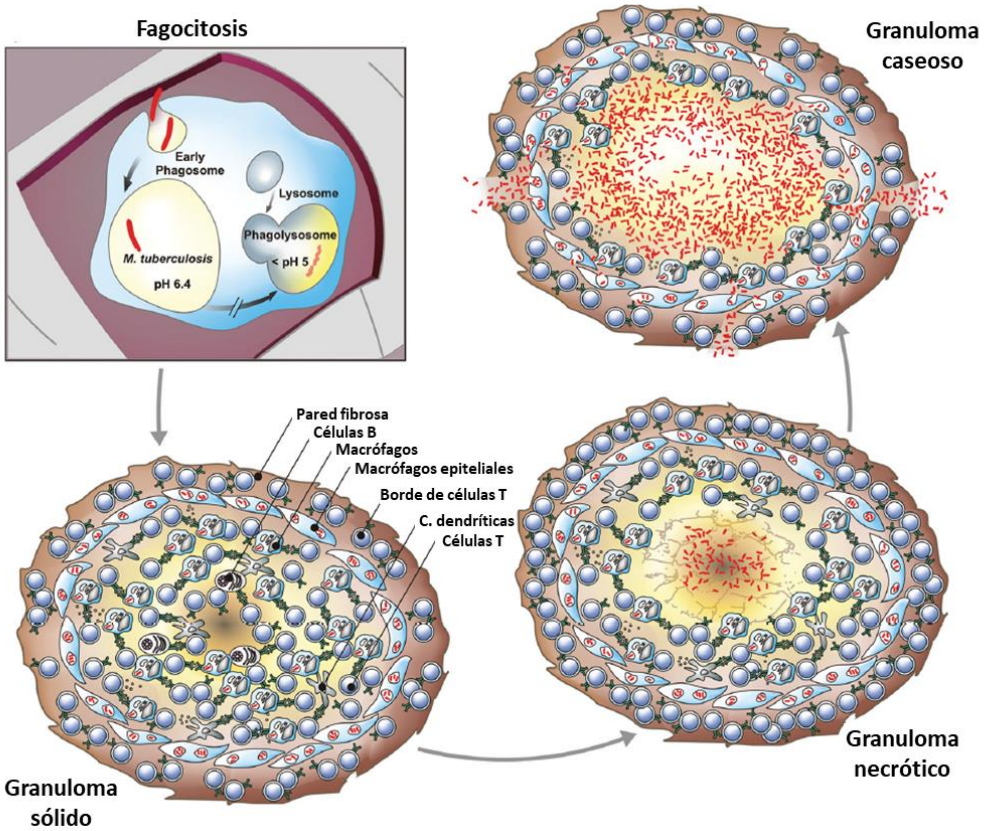


Figura 9. Evolución de granulomas durante la infección.
Se muestran las distintas etapas de la evolución de los granulomas durante la infección tuberculosa. MTB está representada como varillas rojas, los distintos tipos celulares se indican en la figura. Figura adaptada de la Referencia [50].

Durante su permanencia en los granulomas, MTB se adapta a los diferentes microambientes a los que se enfrenta [50]. La interacción entre MTB y su célula hospedera es muy compleja y casi simbiótica. La actividad metabólica y la fisiología del patógeno y la célula hospedera están determinadas por esa coexistencia. En los granulomas sólidos hipóxicos, MTB entra en un estado metabólico prácticamente inactivo, no replicativo, que se denomina dormancia, en el que es resistente a la mayoría de las drogas [61]. Al mismo tiempo, MTB manipula a los macrófagos para acumular lípidos que le son requeridos para sostener la dormancia por varias décadas [48].

Los datos recientes, revisados en la referencia [54], indican que MTB ha evolucionado para montar respuestas multigenéticas coordinadas, a través de la activación o represión de regulones, de forma de realinear su fisiología según las diferentes señales ambientales a las que se expone en la célula hospedera. En particular, la adaptación a los cambios en la disponibilidad de oxígeno en los granulomas está mediado por el regulón DosR que controla 48 genes co-regulados [62,63] que gobiernan el cambio metabólico de MTB, de aeróbico a anaeróbico, asegurando la supervivencia del bacilo durante la dormancia inducida por hipoxia y controla la reversión a la replicación en caso de reexposición al oxígeno [64].

Por medio de estos cambios metabólicos coordinados, la bacteria se mantiene viable en todas las etapas de la evolución de los granulomas, censando las señales medioambientales. Así, en caso que la salud del hospedero se deteriore, por ejemplo, por estados de desnutrición o coinfección con otros patógenos (VIH, entre otros), el *pool* de MTB en los granulomas sólidos sale del estado de dormancia, característico de la tuberculosis latente, y se activa, probablemente por la secreción de Rpfs (*resucitation promoting factors*), volviéndose metabólicamente activo y replicativo [65]. Los macrófagos del granuloma comienzan a morirse, generándose el granuloma necrótico, compuesto por detritos celulares sólidos, el que es también hipóxico [50]. Se postula que el escape de MTB del fagosoma y su liberación al citoplasma celular [59], que está mediado por el sistema de formación de poros y regulado por proteínas del sistema de secreción ESX1, precipita la muerte por necrosis de los macrófagos infectados [66,67].

La replicación extracelular de MTB da lugar a la formación de granulomas caseosos, en los que el centro se licua, perdiendo su estructura y dando lugar a la formación de cavidades. En las lesiones cavitarias, se restablece el alto contenido de oxígeno. Además, el material caseoso proporciona una fuente fértil de nutrientes que promueven el crecimiento del patógeno hasta algunos billones de organismos. Finalmente, MTB encuentra el acceso a los capilares sanguíneos y al espacio alveolar allanando el camino no sólo para la diseminación a otros órganos sino también para la transmisión a otros individuos a través de aerosoles infectivos [50,60].

Cada vez se acumula más evidencia sobre la coexistencia de diferentes estados de MTB en los individuos infectados. En la TB activa, probablemente sólo unos pocos bacilos durmientes coexisten con un alto número de bacilos metabólicamente activos. Probablemente también durante la LTBI, además de los bacilos durmientes, estén presentes algunos MTB metabólicamente activos. La presencia en la TB activa de un pool de MTB en estado de

dormancia, y por lo tanto fenotípicamente resistente a drogas, explicaría en parte el largo tiempo de tratamiento requerido para tratar la tuberculosis activa [50].

Estas estrategias de supervivencia, específicas para cada etapa de la infección, hacen que MTB sea un patógeno tan exitoso, como se describió previamente. Como consecuencia, el hospedero logra establecer una inmunidad parcial, viviendo infectado un largo período de tiempo con el patógeno, que de esa forma sobrevive y se transmite. Un dato particular e inusual es que la gran mayoría de los antígenos de MTB que presentan epítopes para células T no exhiben diversidad de secuencia, un mecanismo de evasión de la respuesta inmune ampliamente utilizado por bacterias, virus y parásitos [68]. Esto podría indicar una selección positiva de estos epítopes, justificando el hecho de que en parte su estrategia de supervivencia se beneficie del reconocimiento de las células T del hospedero [69,70]. Los mecanismos particulares de MTB de evasión de la respuesta inmune tienen consecuencias importantes en el diseño de vacunas eficaces contra la tuberculosis [20]. Además, estos mecanismos pueden también ser responsables del bajo desempeño logrado por las herramientas de diagnóstico inmunológico [71,72], como se describirá en la próxima sección.

Diagnóstico

El diagnóstico de la tuberculosis es complejo ya que las manifestaciones de la enfermedad son variadas (TB latente vs. TB activa) así como también las localizaciones (TB pulmonar vs. TB extrapulmonar). Adicionalmente, en pacientes inmunocomprometidos es importante discriminar la presencia de bacilos MTBC o NTM, porque el tratamiento es diferente en un caso u otro. El panorama es aún más complejo si se agrega la necesidad cada vez mayor de detectar la presencia de organismos resistentes a drogas: multirresistentes (MDR-TB) o extensamente resistentes (XDR-TB).

Tuberculosis latente

La *infección tuberculosa* o *TB latente* (LTBI) se define como un estado de respuesta inmunológica persistente a la estimulación con antígenos de *M. tuberculosis* sin evidencia de manifestaciones clínicas de TB activa [73]. Supone un contacto previo o actual con el bacilo sin la existencia de signos clínicos y/o radiológicos de afectación orgánica, y sin evidencias de la presencia del germen en estudios bacteriológicos seriados de muestras de secreciones y/o productos provenientes de distintas localizaciones (esputos, líquido pleural, etc.) [28].

Para disminuir la carga global de esta enfermedad, un punto clave es el diagnóstico sistemático de la LTBI, en aquellas personas con mayores riesgos de progresar a enfermedad tuberculosa activa, de forma de comenzar la administración del tratamiento preventivo de la LTBI. Este tratamiento tiene diferentes regímenes, según el tipo de paciente y la incidencia de la enfermedad en el país, y se basa en el uso de isoniacida (INH), rifapentina (RPT) o rifampicina (RIF) [73].

No hay un test *gold standard* para la identificación de la LTBI en humanos [73]. En el laboratorio se utilizan 2 métodos inmunológicos, lo que están incluidos en los lineamientos de la OMS: la

prueba cutánea de tuberculina o método de Mantoux (TST por sus siglas en inglés) y el ensayo de liberación de interferón-γ (IGRA) [73].

El test de la tuberculina se basa la inyección subcutánea del derivado proteico purificado (PPD) obtenido de cultivos de *M. tuberculosis* en la cara anterior del antebrazo. En pacientes positivos, genera una reacción de hipersensibilidad retardada mediada por células T sensibilizadas, provocando una induración cutánea que se mide para evaluar si su diámetro supera el *cutoff* establecido de acuerdo al tipo de población [74]. Este test tiene una especificidad baja debido a que muestra reactividad cruzada contra antígenos de micobacterias no tuberculosis y con la cepa vacunal BCG [75].

Los test IGRAs son test que se realizan en muestras de sangre, por medio de los que se mide la respuesta inmune celular en respuesta a antígenos tuberculosos específicos a través de la cuantificación *in vitro* de interferón-γ liberado por células T $CD4^+$ [75]. Los test IGRAS actuales incluyen como antígenos estimuladores a péptidos derivados del antígeno de secreción temprano (ESAT-6 o EsxA) y la proteína de filtrado de cultivo CFP10 (EsxB). Ambos antígenos están localizados en la región de diferenciación 1 (RD1), la cual está ausente en BCG y en la mayoría de las micobacterias no tuberculosas por lo que estos test son más específicos que el TST [24,76]. Los test comerciales T-SPOT.TB (Oxford Immunotec International) y QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Qiagen) usan ESAT-6 y CFP10, mientras que el último utiliza además el antígeno TB7.7 (Rv2654c) [77].

Ninguno de estos test puede diferenciar entre la LTBI y la TB activa, y ambos muestran baja sensibilidad en pacientes inmunocomprometidos y un bajo valor predictivo en estudios prospectivos de progresión de LTBI a TB activa [78,79]. Debido a las limitaciones de estos ensayos, hay nuevos test en evaluación. Un test cutáneo basado en los antígenos específicos de *M. tuberculosis* ESAT-6 y CFP10 (C-Tb Skin test, Stantens Serum Institut), que tiene un perfil de seguridad similar al TST, una exactitud similar a los test IGRAs y una mayor sensibilidad en caso de personas con VIH, está en ensayos clínicos de fase 3 en adultos y niños [80]. Por otro lado, dado que ESAT-6 es un antígeno crítico en las nuevas vacunas en evaluación contra la tuberculosis, su inclusión en los test IGRA puede provocar que estos se vuelvan inespecíficos en el diagnóstico de la LTBI en pacientes que sean vacunados con ESAT-6 en el futuro. Por ello se han evaluado nuevos antígenos para sustituir el uso de ESAT-6 en los test IGRA, lo que ha permitido identificar péptidos altamente inmunogénicos derivados de las proteínas asociadas al sistema de secreción ESX-1: EspC (Rv3615c) y EspF (Rv3865) y de una proteína de función desconocida Rv2348c, que en conjunto con CFP10 mostraron una liberación de IFN-γ y de la proteína inducida por interferón IP-10 comparable al reactivo que incluye ESAT-6, así como un desempeño diagnóstico equivalente [81]. Dado que el diagnóstico de la LTBI es crítico para el control de la tuberculosis, la OMS recomendó en 2018 la investigación en nuevos test que muestren mejores valores predictivos [73].

Tuberculosis activa

La *enfermedad tuberculosa* o *TB activa*, presupone la existencia de signos clínicos y/o radiológicos de afectación orgánica y sobre todo (como diagnóstico de certeza o *gold standard*)

la identificación del bacilo mediante el cultivo de *M. tuberculosis* [28]. A pesar de que si se realiza el diagnóstico a tiempo y se sigue el tratamiento correcto, la mayoría de las personas que desarrollan la enfermedad pueden ser curadas, la tasa de casos fatales (CFR: *case fatality ratio*), definida como la cantidad de personas con TB que mueren por la enfermedad era 16% a nivel mundial en el año 2018, aún por encima de la meta del 10% fijada para 2020 por la OMS [31]. El acceso al diagnóstico de TB es un prerrequisito para el inicio del tratamiento y, a pesar de que éste ha aumentado en los últimos 25 años, está aún por debajo de las metas establecidas [31]. El acceso inequitativo al diagnóstico y al tratamiento determinan que esta tasa sea menor al 10% en la mayoría de los países de altos recursos y mayor al 20% en la mayoría de los países de bajos recursos [31]. Los retrasos en el diagnóstico se deben a factores multicausales, que implican demoras atribuibles al paciente y/o al sistema de salud, y representan aún un desafío mayor en los países con bajos y medianos ingresos [82].

Diagnóstico radiológico

La radiografía de tórax tiene una alta sensibilidad para la detección de la TB pulmonar y, por lo tanto, es una herramienta valiosa para identificar la TB como diagnóstico diferencial de pacientes, en caso que se identifique cualquier anomalía que sea compatible con la enfermedad. Sin embargo, esta técnica tiene poca especificidad, ya que, si bien hay anomalías bastante específicas de la TB pulmonar, como por ejemplo la presencia de cavidades, muchas anomalías que son compatibles con TB pulmonar también se ven en varias otras patologías pulmonares. Los nuevos desarrollos basados en radiografías digitales de tórax con detección asistida por computadora han hecho que esta prueba sea recomendada por la OMS para la clasificación, la asistencia en el diagnóstico y el screening de TB activa en algunas poblaciones, como los niños, las personas viviendo con VIH, los contactos de pacientes con TB, entre otros [83].

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio estándar de la TB activa se basa en la detección directa del patógeno mediante la detección por microscopía de bacilos ácido-alcohol resistentes en la muestra analizada (tinción de Ziehl-Neelsen), por medio de técnicas de cultivo en un medio apropiado (técnica estándar actual), o a través de métodos rápidos de detección basados en biología molecular [84]. Adicionalmente, la evaluación de la susceptibilidad a drogas se realiza tanto a través de métodos fenotípicos, que involucran el cultivo de *M. tuberculosis* en presencia de drogas anti-TB y la determinación de sensibilidad o resistencia a las mismas, como por medio de métodos genotípicos basados en la identificación de mutaciones moleculares específicas asociadas con la resistencia a fármacos específicos [84].

En la mayoría de los países hay 3 niveles de servicios de laboratorios implicados en el diagnóstico de TB, donde se realizan diferentes tipos de test diagnósticos según la característica de los procedimientos técnicos y la infraestructura del laboratorio. Estos son el nivel periférico, el nivel intermedio y el nivel central. El nivel periférico es el primer nivel de asistencia, el nivel intermedio se refiere a laboratorio regionales y el nivel central lo constituyen los laboratorios de referencia, donde se realiza el seguimiento de tratamientos, las actividades de vigilancia, el desarrollo y provisión de métodos y estándares de referencia y la supervisión de laboratorios en la red [84]. En Uruguay, el Departamento de Laboratorio de la CHLA-EP es el laboratorio de referencia, el cual procesa más del 95% de las muestras clínicas que se obtienen en todo el

territorio). Este laboratorio posee dos áreas separadas físicamente (el área de bacteriología y el área de biología molecular) y cuenta con capacidades para realizar técnicas bacteriológicas, microscopía, cultivo rápido automatizados, identificación bacteriana preliminar, pruebas de sensibilidad a fármacos antituberculosos, pruebas de diagnóstico molecular, identificación de las especies halladas, estudios de las mutaciones más frecuentes de resistencia a isoniacida y rifampicina, estudios de epidemiología molecular para determinar familias genéticas circulantes entre la población general y los grupos de alto riesgo, brotes epidémicos, diferenciación entre fracasos de tratamiento o recaídas. El algoritmo de diagnóstico de la tuberculosis pulmonar en Uruguay se resume en la Figura 10. Las técnicas que se mencionan se describirán en detalle en las siguientes secciones.

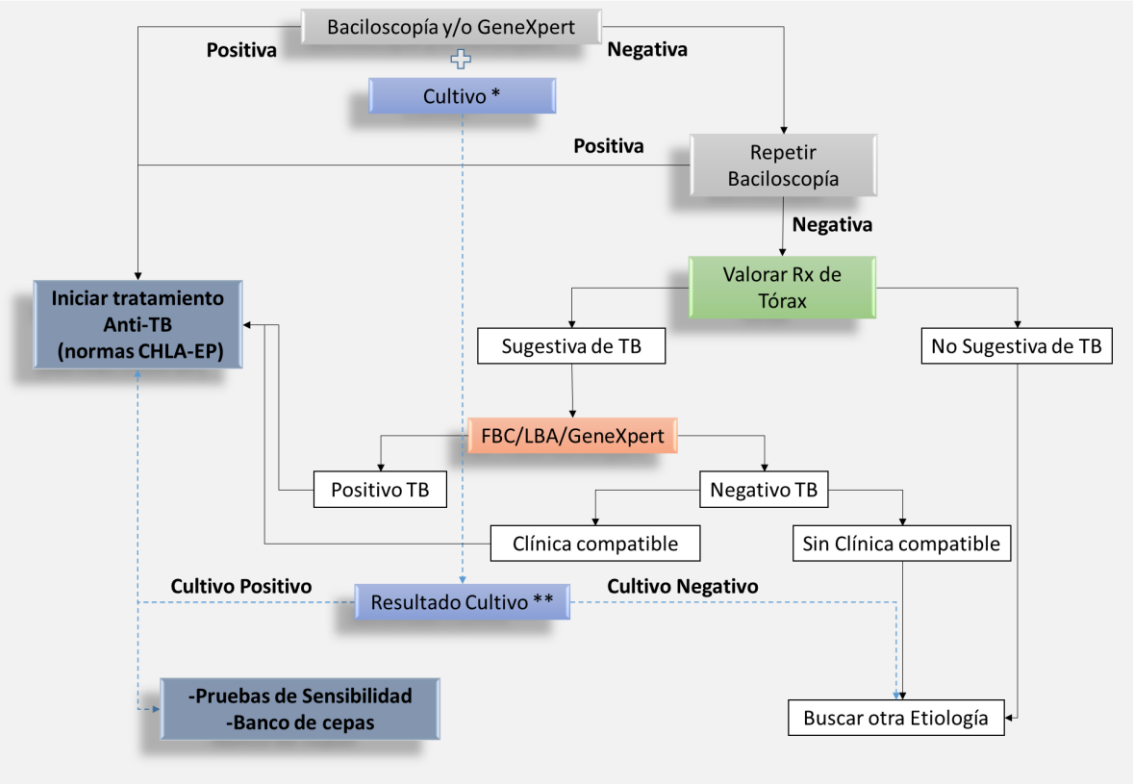


Figura 10. Algoritmo diagnóstico de Tuberculosis pulmonar en Uruguay.
Este algoritmo está adaptado de la Referencia [34] y fue confirmado por la Dra. Cecilia Coitinho Azevedo (Directora Técnica del Laboratorio de la CHLA-EP). De cada paciente se analizan 2 muestras seriadas por baciloscopía. * En Uruguay se realiza cultivo de todas las muestras independiente del resultado de la baciloscopía. ** En el caso de cultivos positivos se realiza extracción de ADN para estudios de resistencia e identificación (LPA, Secuenciación). ** Los cultivos son considerados negativos luego de 2 meses sin crecimiento bacteriano. Protocolo de inclusión en GeneXpert directo: LCR, todas las muestras de VIH y menores de 15, biopsias de ganglio, muestras obtenidas mediante métodos invasivos, sospecha de MDR-TB o RIF-TB. Rx: Radiografía, FCB/LBA: Fibrocolonoscopía con lavado broncoalveolar en caso de no obtención buena muestra por expectoración espontánea.

- ***Microscopía / Baciloscopía***

La gruesa pared celular de las micobacterias contiene ácidos grasos de cadena larga que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos. Esta tinción, denominada de Ziehl-Neelsen por los investigadores que la

describieron, es un método diferencial, rápido y económico de visualizar al microscopio bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR).

Si bien tiene una especificidad alta (entre 95 y 98%), la sensibilidad es baja y variable, mostrando según el estudio un valor entre 20 y 80% en el caso del análisis en esputo [85]. Las muestras de esputo de pacientes con TB pulmonar, especialmente aquellos con enfermedad cavitaria y avanzada, generalmente contienen suficiente cantidad de BAAR (mayor a 5000 bacilos por mL) como para ser detectados por microscopía [84]. Como la eliminación de los bacilos en el esputo no es constante, es conveniente analizar más de una muestra para el diagnóstico de la tuberculosis. La primera muestra puede detectar aproximadamente el 80% de los casos positivos, la segunda agrega un 15% y la tercera un 5% más [86]. En países que tienen laboratorios sometidos a evaluaciones externas de calidad y que cuentan con microscopios de buena calidad, la OMS para facilitar el diagnóstico ha recomendado la examinación de sólo dos muestras [87]. En estos casos, el diagnóstico de la TB se define si el paciente tiene al menos 1 baciloscopía positiva [84].

La muestra más examinada es el esputo, sin embargo, dado que la enfermedad puede manifestarse en otros órganos, puede requerirse la investigación de muestras muy variadas, como orina, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, líquido ascítico, sangre, pus de cavidades abiertas, biopsias [86]. La sensibilidad de la técnica es menor en las muestras de TB extrapulmonar, o en caso de TB pulmonar en niños o en personas con VIH [84].

Es una técnica muy dependiente de las habilidades del analista, del número de muestras diarias a analizar y de las prácticas del laboratorio. Además, el resultado de una baciloscopía positiva no permite distinguir entre micobacterias pertenecientes al MTBC o al grupo de NTM, así como tampoco permite identificar microorganismos viables de no viables ni distinguir cepas sensibles o resistentes a drogas [84]. A pesar de su baja sensibilidad, y de las limitaciones previamente descritas, en países en desarrollo esta técnica es el procedimiento primario para el diagnóstico de TB [85], dado que puede ser aplicada tanto en laboratorios de nivel periférico como regionales o centrales, sin requerirse los altos niveles de bioseguridad que son necesarios para las metodologías basadas en cultivo [84].

Además de la tinción clásica de Ziehl-Neelsen que utiliza como colorante una solución de fucsina básica fenicada y los frotis se visualizan en microscopio de luz convencional, se puede realizar la tinción con fluorocromos (auramina O o auramina-rodamina) basado en el mismo principio de la ácido-alcohol resistencia. La microscopía de fluorescencia es 10% más sensible que la microscopía convencional de Ziehl-Neelsen y la examinación de los frotis teñidos lleva menos tiempo [88]. Sin embargo, el costo de los microscopios de fluorescencia (FM) y la necesidad del mantenimiento regular de las lámparas de mercurio ha limitado su incorporación en países con bajos recursos. El uso de lámparas LED adaptadas para la microscopía de fluorescencia, dieron lugar a microscopios LED-FM económicos y robustos, que requieren menos energía, pueden ser operados con baterías y muestran una sensibilidad mayor que la técnica de Ziehl-Neelsen [89]. Por este motivo, la OMS recomendó cambiar los microscopios de fluorescencia convencionales por LED-FM y que esta microscopía sea considerada como una alternativa a la microscopía Ziehl-Neelsen de luz convencional en todos los entornos, dando prioridad a los laboratorios de alto

volumen [88]. En la Figura 11 se muestran imágenes que ejemplifican como se visualizan las micobacterias con ambas tinciones.

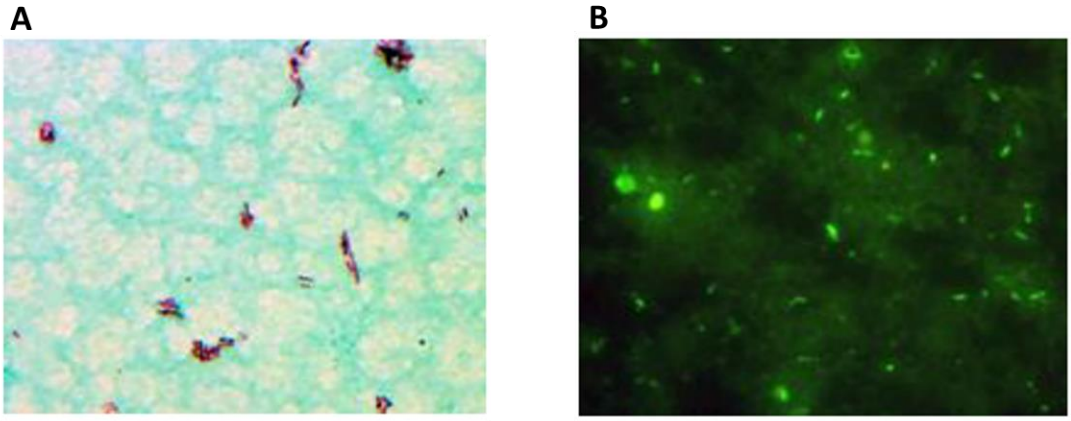


Figura 11. Microscopía de esputo.
A) Tinción de Ziehl-Neelsen, magnificación 1000X, en microscopio de luz convencional. B) Tinción con auramina, magnificación 250X, en microscopio de fluorescencia. Figuras adaptadas de Referencia [90].

- ***Métodos basados en cultivo***

El cultivo es actualmente la técnica *gold standard* para el diagnóstico de laboratorio de la tuberculosis, ya que el diagnóstico definitivo requiere la identificación de *M. tuberculosis* en una muestra derivada del paciente. Los métodos basados en cultivo en medio líquido son capaces de detectar entre 10 y 100 bacilos de *M. tuberculosis* por mililitro de muestra [71]. Mediante el cultivo es posible incrementar la confirmación del diagnóstico de tuberculosis sea pulmonar o extrapulmonar. Si bien estas cifras están condicionadas por la situación epidemiológica, en general se estima que, si se considera el total de casos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar confirmado bacteriológicamente, la baciloscopia detecta el 70-80% y el cultivo el 20-30% el restante. Entre los casos con tuberculosis extrapulmonar el aporte del cultivo al diagnóstico es muy variable según la localización de la patología [91].

El cultivo es un proceso prolongado que comienza con la recolección de muestras clínicas apropiadas y su transporte al laboratorio, la descontaminación de muestras clínicas por medio del tratamiento con N acetilcisteína-hidróxido de sodio (NALC-NaOH) para eliminar la flora contaminante, la inoculación y la incubación de medios apropiados, la detección de crecimiento y la identificación de micobacterias. *M. tuberculosis* es un organismo microaerofílico cuya temperatura óptima de incubación es 37°C [92]. Los medios de cultivo tradicionales de las micobacterias patógenas se incuban en promedio entre 3 a 6 semanas para confirmar o descartar un resultado, debido a que se tratan de microorganismos de crecimiento lento. En la revisión publicada por Asmar & Drancourt, fue resumida la literatura describiendo los avances técnicos relacionados con cada uno de las etapas del cultivo, incluyendo toma y almacenamiento de la muestra, descontaminación de la muestra, tipos de medios de cultivo y detección del crecimiento [92]. En ese trabajo fue propuesto un protocolo optimizado basado en cultivo y microscopía que permitiría el diagnóstico de rutina de la tuberculosis pulmonar en solamente 5 días [92].

Uno de los avances fundamentales consistió en el desarrollo de medios de cultivo optimizados, como el tubo indicador de crecimiento micobacteriano (MGIT; BD Diagnostics, USA) basado en el medio líquido Middlebrook 7H9, conteniendo un indicador fluorescente que emite luz UV a 365nm cuando se consume el oxígeno disuelto del medio como consecuencia del crecimiento micobacteriano. Este tipo de tubos se utiliza en los sistemas BACTEC MGIT (BD Diagnostics) en laboratorios de gran número de muestras ya que la detección es completamente automatizada, reduce el tiempo de obtención de un resultado positivo a 2 semanas y tiene una sensibilidad hasta 10% mayor que el medio sólido inclinado Löwenstein-Jensen o las placas de agar Middlebrook 7H10 o 7H11 [93–95]. Otros sistemas similares aprobados por FDA son BacT/ALERT 3D (bioMerieux, Francia) [96] y VersaTREK 528 (Thermo Fischer Scientific, USA) previamente llamado ESP culture system II [97,98].

Luego de contar con un cultivo positivo obtenido a partir de una muestra clínica, sea a partir de métodos automatizados o no, se pueden realizar investigaciones adicionales del microorganismo, incluyendo pruebas bioquímicas, ensayos de especiación rápidos para discriminar si se trata de bacteria MTBC o NTM, test para definir el genotipo de la cepa aislada y test de sensibilidad a drogas (DST, *drug susceptibility testing*) [71]. Los métodos basados en cultivo también se utilizan para monitorear el tratamiento de pacientes con cepas MDR-TB [84].

Las ventajas de estos métodos es que la identificación de *M. tuberculosis* en cultivo constituye el diagnóstico definitivo de la TB y que presenta una mayor sensibilidad, lo que permite aumentar significativamente el número de casos identificados en comparación con la microscopía. Asimismo, luego del cultivo se obtienen los aislados para los métodos DST convencionales. Las desventajas de estos métodos es que el cultivo es más complejo y caro que la microscopía, y los resultados pueden tardar varias semanas. Por otro lado, la aplicación de estas técnicas requiere una infraestructura de laboratorio con niveles de bioseguridad apropiados para procesar las muestras y realizar el cultivo, que no está en la actualidad universalmente disponible en los países con alta carga de TB [84].

- *Identificación de especies*

La diferenciación entre bacterias pertenecientes al complejo MTBC o al grupo de micobacterias no tuberculosas es importante ya que hay un número creciente de aislados clínicos correspondientes a estas últimas. Las NTM son patógenos oportunistas que pueden causar patologías diseminadas severas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. El manejo y el tratamiento son diferentes en el caso de bacterias pertenecientes al MTBC que en el caso de otras micobacterias [99]. Ensayos inmunocromatográficos rápidos, por ejemplo, Capilia™ TB-Neo Assay (TAUNS Laboratories, Numazu, Japan), basados en la detección de antígeno Mpt64 permiten discriminar bacterias pertenecientes al MTBC de micobacterias NTM [100]. Esta proteína es uno de los principales antígenos secretados al medio de cultivo, codificada por el gen Rv1980c, ubicado en la región de diferenciación 2 (RD2), específica del MTBC, que incluye genes desde Rv1978 a Rv1988 [101]. Este test puede ser usado con material derivado de tubos de cultivo líquido positivos, o a partir de colonias crecidas en medio sólido, dando un resultado confirmatorio en 15 minutos [90]. La mayoría de las cepas del MTBC pueden ser identificadas correctamente con este método, aunque se han reportado resultados falsos negativos en cepas MTBC, que portan mutaciones en el gen codificante para el antígeno Mpt64 [102].

La diferenciación de especies dentro del MTBC puede lograrse por métodos fenotípicos [85] o genotípicos [101]. De la misma forma la diferenciación de especies NTM puede lograrse por ambos tipos de métodos [103]. Dentro de los test fenotípicos, muchos de los cuales aplican tanto a MTBC como NTM, se incluyen pruebas bioquímicas como los test de producción de pigmentos, de determinación de la velocidad de crecimiento, el test de reducción de niacina y de nitrato, la prueba de catalasa, el test de consumo de hierro, el test de reducción de potasio telurito, el test de hidrólisis de Tween 80 y la prueba de la arilsulfatasa [85]. En esta batería de test la presencia de pigmentación y la morfología lisa de las colonias excluyen rápidamente que el aislamiento pertenezca al complejo de *M. tuberculosis*, ya que estos presentan colonias no pigmentadas y rugosas [103]. En relación a los métodos genotípicos, la identificación de las regiones de diferenciación (RD), presentes en *M. tuberculosis* y ausentes en *M. bovis* and *M. bovis* BCG y otros miembros del MTBC, permitió el desarrollo de métodos rápidos basados en la PCR para determinar la presencia o ausencia de estas regiones específicas del genoma de forma de lograr una identificación precisa de los miembros individuales de este complejo [104]. Estos métodos se desarrollarán en la sección Métodos moleculares.

- *Test de sensibilidad a drogas*

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* deberían realizarse al primer aislamiento que se obtenga de un nuevo paciente, en casos de sospecha de fracaso terapéutico y ante recidivas de la enfermedad. Deberían testearse todos los fármacos de primera línea (isoniacida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomicina), ya que proporcionan información sobre el esquema terapéutico actualmente recomendado para la mayoría de los pacientes. Los fármacos de segunda línea tradicionales (amikacina, capreomicina, clofazimina, cicloserina, etionamida, kanamicina y PAS) y los nuevos, como las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino), el linezolid y, en determinado casos, la rifabutina, deberían ser evaluados en algunas situaciones, y en particular si la cepa aislada es resistente a los fármacos de primera línea [105]. Los métodos basados en cultivo son ampliamente utilizados para determinar la susceptibilidad a drogas, ya que determinan la resistencia de forma independiente al mecanismo molecular responsable de la misma, a diferencia de los métodos genotípicos [71]. Estos métodos se basan en la inoculación de la muestra clínica descontaminada o la cepa aislada en un medio conteniendo concentraciones específicas de drogas anti-TB [71]. En general el inóculo para estos ensayos deriva de un cultivo puro previo (método indirecto), aunque en algunas situaciones se puede realizar a partir de una muestra clínica descontaminada (método directo). Esto último, si bien reduce el tiempo de obtención de un resultado, puede tener un riesgo mayor de contaminación [71].

Hay diferentes metodologías basadas en medios sólidos. El método de las proporciones múltiples descrito por Canetti, Rist y Grosset en 1963 permite determinar la proporción de bacilos resistentes presentes en un cultivo. La resistencia del microorganismo se considera clínicamente significativa cuando la población bacteriana resistente supera el 1%. Es el método más exacto y el que menos falsos resultados proporciona, por lo que es la metodología *gold standard* para determinación de la susceptibilidad a drogas y la más utilizada en todo el mundo [105]. Otros métodos DST basados en cultivos sólidos se describen en la Referencia [105].

Los sistemas de cultivo rápido automatizado BACTEC™ MGIT 960 (Becton-Dickinson Diagnostics) y VersaTREK® (Thermo Scientific), permiten analizar las concentraciones críticas iniciales y secundarias para los fármacos de primera línea [105]. La detección de cepas MDR-TB es confiable con estos sistemas, sin embargo, existen algunas discrepancias interlaboratorios con la estreptomicina, el etambutol y la pirazinamida [105].

Estos métodos de cultivo líquido han sido ratificados por la OMS como *gold standard* para la detección rápida de MDR-TB. Sin embargo, debido a su complejidad técnica, costo y requerimientos de infraestructura, no han sido aún adoptados globalmente. Existen varios métodos no comerciales basados en cultivo, cuya evidencia fue revisada por este organismo y en el caso de 3 de ellos fue recomendada su utilización en laboratorios de referencia y bajo protocolos de laboratorio rigurosos, mientras se desarrollan las capacidades para realizar métodos de automatizados de cultivo líquido para detección de sensibilidad a drogas, o métodos genotípicos (que se desarrollarán más adelante) [106]. Estos métodos son: a) la prueba de la nitrato reductasa (NRA) que se basa en la capacidad del complejo *M. tuberculosis* para reducir los nitratos a nitritos empleando tubos de Löwenstein-Jensen con y sin fármacos que incorporan KNO_3 y un indicador que genera una reacción colorimétrica, b) la observación microscópica de la sensibilidad a los fármacos (*microscopic-observation drug-susceptibility*, MODS) que se basa en la detección precoz con la ayuda de un microscopio de luz invertida, del factor de acordonamiento (*cord factor*) que exhibe el complejo *M. tuberculosis* y c) la prueba de microtitulación con resazurina (*colorimetric redox indicator*, CRI) que es un método indirecto basado en la detección de cambios de color en el medio de cultivo debidos la reducción de la resazurina (indicador redox) como consecuencia del crecimiento de *M. tuberculosis* [90]. La OMS recomendó las pruebas NRA, MODS y CRI basada en la evidencia experimental disponible, ya que son técnicas sencillas y baratas, con valores de sensibilidad y especificidad superiores al 95%, que pueden emplearse para el cribado rápido, de las resistencias a la isoniacida y la rifampicina en países con bajos recursos [106].

Otra técnica adicional para determinar sensibilidad a drogas está basada en el uso de micobacteriófagos, los que, al añadirse a un cultivo en presencia de antibiótico, infectarán únicamente las micobacterias viables, que serán las resistentes. Se han aplicado en las pruebas de sensibilidad a la isoniacida y rifampicina, pero podrían presentar problemas de sensibilidad, especificidad y una alta tasa de contaminaciones [105]. Se han descrito varios métodos de diagnóstico basados en fagos, incluyendo el ensayo comercial FASTPlaque™ que utiliza la reproducción dependiente de *M. tuberculosis* del fago D29 y la visualización de placas sobre un cultivo de *M. smegmatis,* que tiene crecimiento rápido [107]. Estos ensayos se han adaptado para determinar la resistencia en cultivo a rifampicina y otros antibióticos comúnmente utilizados. La utilización de fluoromicobacteriófagos, es decir fagos conteniendo un gen reportero fluorescente, se está evaluando también para el diagnóstico rápido de la sensibilidad a drogas, en métodos basados en la visualización por microscopía de fluorescencia o citometría de flujo. Así, un fluoromicobacteriófago con el gen $mCherry_{bomb}$ se utilizó en muestras de esputo de pacientes TB presuntivos, para el diagnóstico de *M. tuberculosis* (sensibilidad 91.98%, especificidad 98.96%) y para evaluar la resistencia a la rifampicina (sensibilidad y especificidad 100%) [108].

- ***Diagnóstico serológico***

El diagnóstico serológico de la enfermedad tuberculosa se ha intentado desde hace más de 100 años, comenzando por pruebas de aglutinación con preparaciones celulares de *M. tuberculosis* o *M. bovis* BCG y en la actualidad utilizando antígenos nativos o recombinantes, altamente purificados [71]. Estos test intentan el diagnóstico de la tuberculosis activa, por medio de la detección de la respuesta de anticuerpos circulantes contra *M. tuberculosis*, a diferencia de los test utilizados para el diagnóstico de la tuberculosis latente que detectan de la respuesta inmune celular (TST o IGRA). Los antígenos comúnmente utilizados en estos ensayos son Psts1 (38kDa antigen, Rv0934), el Antígeno 60 que es un complejo de antígenos presente en el citoplasma de las micobacterias, el lipoarabinomanano (LAM), miembros del complejo del antígeno 85 (FbpA Rv3804c, FbpB Rv1886c, FbpC Rv0129c), los antígenos MPT32 (Apa Rv1860) y MPT51 (FbpD Rv3803c), entre otros [71,109,110].

Por medio de la interrogación del proteoma de *M. tuberculosis* (aprox. 4.000 proteínas) con más de 500 sueros de pacientes con sospecha de TB en países donde la TB es endémica, se verificó que aproximadamente 10% del proteoma bacteriano genera respuesta de anticuerpos [111]. Este inmunoproteoma está compuesto, predominantemente, por proteínas asociadas a membrana y proteínas secretadas. Por medio de análisis adicionales se verificó que durante la infección activa la respuesta de anticuerpos se focalizaba diferencialmente en proteínas extracelulares, que representaban el 0.5% del proteoma (EspB, FbpA, EsxB, Apa, FbpA, PstS1, MPT64, entre otras). Además, se vio que en los distintos sueros la respuesta de anticuerpos variaba en relación a la proteína blanco reconocida y que el nivel de respuesta se correlacionaba con la carga bacilar [111]. Estos resultados indicarían que a medida que la carga bacilar aumenta con el progreso de la enfermedad, los bacilos metabólicamente activos secretan una cantidad creciente de proteínas, las que se convierten en los blancos preferidos de la respuesta inmune humoral [112].

Los test serológicos son muy utilizados en otras enfermedades infecciosas, sin embargo en el caso de la TB un análisis sistemático del desempeño de varios test serológicos comerciales ha evidenciado que, tanto para cuadros clínicos pulmonares como no pulmonares, estos test no permiten un diagnóstico confiable, mostrando valores variables de sensibilidad y especificidad y una alta proporción de resultados falsos-positivos y falsos-negativos [72,113]. Debido a esta situación, un comité de expertos de la OMS publicó una norma que recomienda no utilizar estas pruebas para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar y/o extrapulmonar [114].

Se ha reportado que la exactitud de estos test podría mejorar si se utiliza combinación de antígenos inmunogénicos, utilizados individualmente [109,115] o como proteínas de fusión con múltiples epítopes [116], sumado a la detección de múltiples clases de anticuerpos (IgG más IgA o IgM) [115]. Sin embargo, hasta el momento, no hay recomendaciones favorables sobre test comerciales de este tipo, por lo que continúa siendo un desafío importante el desarrollo exitoso de un test serológico que permita el diagnóstico inequívoco de la TB activa.

- ***Métodos moleculares***

Los métodos moleculares se están volviendo cada vez más relevantes para el diagnóstico y la identificación de las micobacterias. Complementan el diagnóstico basado en cultivo, al ser

utilizados ya sea de forma directa en muestras clínicas, o para la rápida e inequívoca identificación de especies a partir de material obtenido de un cultivo positivo [90]. Entre las ventajas que cuentan estos métodos es que son rápidos y permiten puede aumentar el número de muestras procesadas de forma estandarizada. Además, para la utilización de estas metodologías no se requiere de medidas de bioseguridad tan estrictas, en caso que no impliquen el cultivo bacteriológico previo [84,90]. Tienen una alta especificidad y sensibilidad y pueden ser adoptados como un método para la identificación genotípica de la resistencia a fármacos [84,90]. La mayoría de los avances en los últimos años han sido en el área de los test basados en ADN, tanto para la detección de la presencia de *M. tuberculosis* como para screening rápido de la resistencia a rifampicina [117].

El objetivo a mediano plazo debería ser utilizar estos métodos moleculares incluyendo *Line-probe assays* (LPAs), GeneXpert MTB/RIF, y otras plataformas moleculares avaladas o recomendadas por la OMS, para una aproximación rápida inicial de cepas resistentes a rifampicina (RIF-TB) [84]. Si bien el valor predictivo positivo de los métodos moleculares disponibles en el mercado es muy alto y cercano al 100%, el valor predictivo negativo es menor, del orden del 85%, por lo que por ahora no es posible reemplazar completamente el uso de medios de cultivo, y menos aún en países de bajos ingresos y alta carga de TB [118]. Por lo tanto, se plantea que estos métodos rápidos no pueden reemplazar aún a la totalidad a los métodos estándar de detección de micobacterias y sus patrones de susceptibilidad a drogas, sino que deberían ser utilizados para complementar la evaluación diagnóstica [90]. A continuación, se describen algunos de ellos.

- *Line-probe Assay (LPA)*

El ensayo con sondas en línea (*Line-probe assay*, LPA) se basa en la extracción de ADN a partir de cultivos líquidos o sólidos, y en algunos casos directamente a partir de muestras clínicas, seguido por la amplificación de regiones de ADN específicas por medio de PCR utilizando *primers* biotinilados y por la hibridación de los productos de PCR marcados sobre membranas con sondas de oligonucleótidos inmovilizados las que son reveladas colorimétricamente [84,90]. Por ejemplo, hay una versión de este ensayo para la detección e identificación simultánea del género *Mycobacterium* y de 16 especies micobacterianas diferentes (INNO-LiPA® MYCOBACTERIA v2, Fujirebio Europe, Bélgica). Este test se basa en la diferencias de nucleótidos que existen en la región espaciadora 16S-23S rRNA y puede ser utilizado tanto a partir de cultivos líquidos como sólidos [119]. Estos métodos genotípicos de identificación de especie son más rápidos que los métodos fenotípicos tradicionales.

Otros reactivos basados en la misma metodología de LPA se utilizan para detección genotípica de resistencia a antibióticos, por ejemplo, Genotype MTBDRplusV1, MTBDRplusV2 (Hain LifeScience, Alemania) y NTM+MDRTB (Nipro Europe Group, Bélgica). En estos casos se amplifica por PCR la región determinante de la resistencia; es decir el gen *rpoB* en el caso de la rifampicina y los genes *inhA* y *katG* en el caso de la isoniacida, y estos productos se hibridan sobre una membrana que contiene oligonucleótidos específicos de las secuencias salvaje y mutadas responsables de la resistencia a dichas drogas (Figura 12)[120]. En este caso los oligonucléotidos contienen las mutaciones conocidas involucradas en la resistencia a drogas. Un meta-análisis reciente, incorporando 74 análisis independientes sobre estos test LPA y más de 20.000

muestras, mostró que para la resistencia a RIF la sensibilidad y especificidad conjuntas, son 96.7% (95.6–97.5%) y 98.8% (98.2–99.2%), respectivamente. En el caso de la resistencia INH, la sensibilidad y especificad conjunta fueron de 90.2% (88.2–91.9%) y 99.2% (98.7–99.5%). Los resultados fueron similares tanto si se trata del análisis directo (desde la muestra) o indirecto (desde el cultivo) y en los distintos métodos LPA evaluados [120].

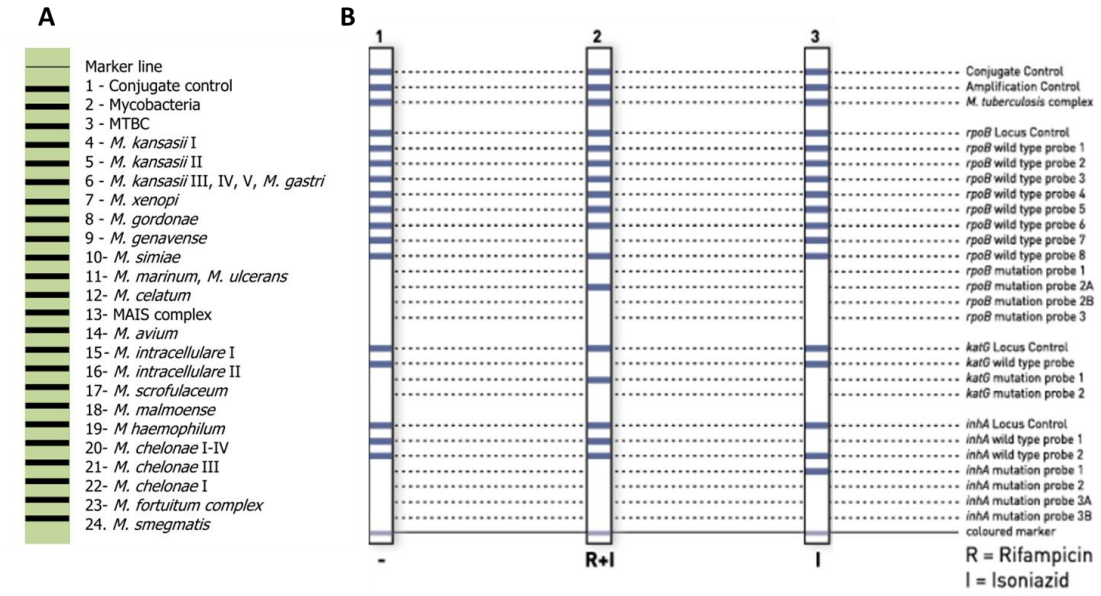


Figura 12. Guía de interpretación de test LPA.
A) INNO-LiPA® Mycobacteria v2 (Fujirebio Europe, Bélgica). **B)** GenoType MTBDR*plus* VER 2.0 (Hain LifeScience, Alemania). Figuras tomadas de las páginas web de los fabricantes de cada reactivo.

Las ventajas de los métodos LPAs moleculares es que permiten una detección rápida de la resistencia a RIF, sóla o en combinación con INH y fueron avalados por la OMS en 2008, debido a su alta sensibilidad y especificidad. Además se han desarrollado nuevos reactivos indicados para la identifcación genotípica de la resistencia las drogas anti-TB de segunda línea (mutaciones en los genes *gyrA* y *gyrB* en el caso fluoroquinolonas y en los genes *rrs* y *eis* en el caso de aminoglucósidos), los que fueron avalados por la OMS en 2017 para la detección de la resistencia a estas drogas en el caso de cepas RIF-TB o MDR-TB (GenoType MTBDRsl, Hain LifeScience, Alemania) [121]. Además, es una tecnología que permite el procesamiento de un alto número de muestras simultáneamente. Entre las desventajas de estos métodos la principal es que no eliminan completamente la necesidad de los métodos DST fenotípicos convencionales basados en cultivo. En particular, los métodos LPA se basan en la detección de las mutaciones conocidas y más comunes de la resistencia a los fármacos utilizados, y en particular, en el caso de las drogas anti tuberculosas segunda línea se ha visto que existe resistencia cruzada incompleta entre las mismas por lo que el ensayo no permite determinar la resistencia específica a una droga inyectable de segunda línea [122]. Por otro lado, la OMS las recomienda principalmente para muestras de esputo de pacientes con baciloscopías positivas o de aislados de cultivo [84].

- *PCR tiempo real en sistemas automatizados*

El principal de estos test automatizados es el ensayo Xpert MTB/RIF, que utiliza la plataforma multipropósito GeneXpert (Cepheid, CA, USA). Este ensayo se basa en cartuchos de uso único en los que se lleva a cabo de forma integrada el procesamiento de la muestra, la lisis y extracción del ADN bacteriano, la amplificación por PCR en tiempo real y la detección. El ensayo puede ser

realizado directamente sobre esputo, sedimento de esputo procesado o muestras extrapulmonares obtenidas de adultos y niños [84]. Este sistema automatizado y cerrado posibilita el diagnóstico molecular en menos de 2 horas y puede ser aplicado en laboratorios de nivel periférico tanto para la detección de la TB activa como para la predicción de resistencia a rifampicina [90]. Los resultados obtenidos indican la presencia o ausencia de ADN del complejo *M. tuberculosis* con una estimación semicuantitativa de la carga bacilar y la presencia o ausencia de las mutaciones más comunes asociadas a la resistencia a RIF [90].

Xpert MTB/RIF muestra una alta sensibilidad promedio en muestras baciloscopía y cultivo positivas (98%), una sensibilidad menor en muestras baciloscopía negativas / cultivo positivas y en muestras derivadas de pacientes con VIH [123] y una sensibilidad de 77.3% y especificidad de 98.2% en muestras extrapulmonares [124]. En relación a la detección de resistencia a rifampicina, este sistema tiene una sensibilidad de 95% y una especificidad del 98% al compararlo contra métodos estándar fenotípicos de determinación de resistencia [84].

La tecnología fue recomendada por la OMS en 2010 y en el año 2013 se actualizó la recomendación para contemplar su uso en la detección de TB pulmonar y extrapulmonar así como la resistencia a rifampicina en adultos y niños [123]. Una nueva versión de cartuchos denominada Xpert MTB/RIF Ultra, se desarrolló con el objetivo de mejorar la sensibilidad de la primera versión. En este caso se utiliza un mayor volumen de muestra en la reacción de PCR, un programa de PCR más rápido, se modifican los genes blancos para la detección de TB incluyendo dos genes multicopia IS*6110* e IS*1081* además de la amplificación de la región determinante de la resistencia a rifampicina del gen *rpoB* y se pasa de un diseño *semi-nested* de la primera versión a *nested* en la versión Ultra. De esta forma el límite de detección analítico de la versión Ultra fue determinado en 15.6 ufc/mL versus 112.6 ufc/mL de la versión anterior para *M. tuberculosis* H37Rv [125]. Este límite de detección es similar al del cultivo líquido. El desempeño diagnóstico de la versión Xpert MTB/RIF Ultra fue evaluado en un estudio multicéntrico de no inferioridad contra la versión Xpert MTB/RIF, mostrando un aumento de sensibilidad de 5% en muestras de esputo baciloscopía y cultivo positivas, de 17% en muestras baciloscopía negativas / cultivo positivas y 12% en pacientes infectados con VIH [126]. También se observó una mayor sensibilidad en muestras pediátricas, extrapulmonares (particularmente líquido céfalo raquídeo). Este estudio también mostró que el aumento en la sensibilidad fue acompañado por una disminución en la especificidad para la detección de TB por lo que se plantearon recomendaciones de uso, según el tipo de paciente y la situación epidemiológica del país [126]. En base a este estudio, esta versión fue avalada por la OMS en 2017 [126].

A pesar de que el acceso a este método es restringido, el análisis en el tiempo ha mostrado una incorporación exponencial de esta tecnología en muchos países con alta carga de la enfermedad [117,127]. Una de las limitaciones de este sistema para ser un verdadero sistema de punto de uso (*point of care*, POC) es que requieren suministro de energía eléctrica ininterrumpido para el funcionamiento del equipo. En ese sentido en 2015, Cepheid anunció el desarrollo de una versión nueva del sistema GeneXpert, portátil y operado por baterías. Sin embargo, el lanzamiento de esta tecnología se ha visto demorado debido a desafíos técnicos aún no resueltos [117]. Otras de las restricciones para su uso son el elevado costo del equipo y de los cartuchos, así como la necesidad de realizar servicios de calibración y mantenimiento anuales.

Otros test moleculares comerciales basados en la PCR en tiempo real son Anyplex II MTB/MDR/XDR [128], FluoroType MTBDR [129], entre otros. Mediante estas aproximaciones se pueden determinar las mutaciones más comunes relacionadas con la resistencia a rifampicina, isoniacida, fluoroquinolona y drogas inyectables de segunda línea.

- *Amplificación isotérmica (LAMP)*

La amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP, *loop-mediated isothermal amplification*) es un método simple, rápido, específico y costo-efectivo, caracterizado por el uso de 4 (o 6) cebadores específicos que reconocen 6 (u 8) regiones diferentes del gen blanco. El reconocimiento de la secuencia blanco por estos cebadores desencadena el desplazamiento de la hebra de ADN y la elongación por medio de una ADN polimerasa. Esta reacción ocurre a una temperatura constante (65°C), sin ser necesarias las rondas de desnaturalización, hibridación y elongación que caracterizan a la PCR. Debido al diseño de estos cebadores durante el desplazamiento del ADN molde se generan bucles de ADN doble cadena y concatámeros de varios tamaños que pueden ser detectados por medio de SYBR *green* u otros métodos. Tiene una alta eficiencia de amplificación, logrando que el ADN blanco sea amplificado entre 10^9-10^{10} veces en 15-60 minutos. Como molde se utilizan secuencias conservadas del complejo MTB, por ejemplo del gen *gyrB* [130] o *mpt64* [131].

El test LAMP comercial denominado TB-LAMP (Eiken Chemical Co., Ltd) fue avalado por la OMS en el año 2016 [132]. Este test puede ser utilizado en muestras de esputo sin descontaminar (LAMP directo) con una sensibilidad del 98.2% en muestras baciloscopía y cultivo positivas y del 55.6% en muestras baciloscopía negativas, cultivo positivas [133]. La OMS recomendó en base a la evidencia que este test de LAMP podría ser utilizado como reemplazo de la microscopía de esputo para el diagnóstico de la TB pulmonar en adultos con signos y síntomas consistentes con TB pulmonar, y como prueba adicional a la microscopía de esputo en caso que presenten baciloscopía negativa. Su uso es principalmente recomendado para laboratorios periféricos, donde no esté disponible el ensayo Xpert MTB/RIF [132].

- *Secuenciación masiva*

Desde el punto de vista de la vigilancia epidemiológica varios métodos están disponibles actualmente para genotipar las cepas identificadas, en el caso de un brote, en una población particular, o con fines de investigación. Las más importantes son las técnicas llamadas *spoligotyping*, MIRU-VNTR e IS*6110* RFPL, las cuales se focalizan en el estudio de regiones genéticas altamente variables [90]. Estos métodos están fuera del alcance de esta tesis ya que no son utilizados para el diagnóstico de la tuberculosis.

Otro método cada vez más utilizado para la evaluación epidemiológica es la secuenciación masiva (NGS, *next generation sequencing*). Este método, a su vez, se está convirtiendo en una opción cada vez más atractiva para la detección de la resistencia a las drogas antituberculosas [134]. Las metodologías previamente mencionadas para determinación de la sensibilidad a drogas (LPA y PCR) son metodologías que están limitadas a la detección de las mutaciones más comunes, las que son seleccionadas de forma previa durante el diseño. Es por ello que pueden dar lugar a resultados equivocados o parciales, por ejemplo se ha descrito la presencia de falsos

positivos debido a la imposibilidad de discriminar mutaciones relacionadas con la resistencia, de mutaciones no relacionadas con la misma [135].

En el caso de la secuenciación masiva, se pueden identificar de forma inequívoca las mutaciones específicas en el genoma de *M. tuberculosis* (SNPs) asociadas con la resistencia a drogas, por medio de la secuenciación completa de los genes asociados a resistencia [136]. Esta aproximación se ha evaluado que puede reemplazar los test fenotípicos de resistencia a drogas, en principio para las 4 drogas de primera línea: isoniacida, rifampicina, etambutol y pirazinamida [137]. La secuenciación puede ser del genoma completo (WGS, *whole genome sequencing*) (≅4.4Mb en el caso de esta bacteria), o de secuencias dirigidas (*targeted NGS*) [136,138]. Como ventajas está el hecho de que esta tecnología es suficientemente sensible para aplicarse directamente a muestras clínicas, y en la medida que se vayan confirmando cada vez más correlaciones entre la resistencia genotípica y fenotípica es probable que las técnicas basadas en NGS se conviertan en los métodos preferidos de determinación de la resistencia a drogas en la próxima década [117]. Las principales aplicaciones de la secuenciación masiva de *M. tuberculosis* se muestran en la Figura 13.

Las técnicas de NGS tienen un gran potencial para rápidamente diagnosticar TB resistentes a drogas (DR-TB) en los laboratorios centrales de referencia, al superar varios de los desafíos de los test fenotípicos convencionales y de otros métodos moleculares restringidos a secuencias específicas. Sin embargo la adopción de esta tecnología para el diagnóstico de DR-TB se ha visto limitada por su alto costo, la necesidad de integrar el flujo de trabajo en laboratorios ya existentes, la capacitación técnica para la utilización de la tecnología, y la necesidad de contar con expertos para la interpretación clínica de los datos de secuenciación [138].

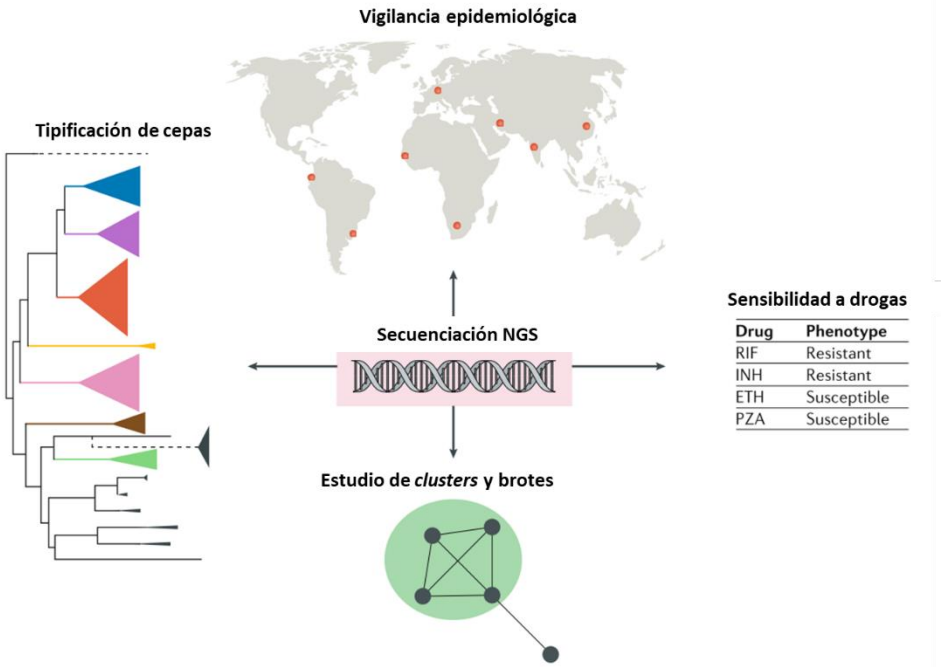


Figura 13. Secuenciación masiva de *M. tuberculosis*.
Las principales aplicaciones de la secuenciación masiva de *M. tuberculosis* incluyen la vigilancia epidemiológica, la determinación de especies y subespecies, la determinación de patrones de resistencia a drogas y la identificación de *clusters* de transmisión y de brotes epidemiológicos. ETH, etambutol; INH, isoniacida; PZA, pirazinamida; RIF, rifampicina. Figura adaptada de Referencia [136].

Oportunidades de nuevos desarrollos para el diagnóstico de la TB activa

El diagnóstico de la tuberculosis activa es crítico logar el control de la enfermedad. Como fue visto previamente, los métodos basados en cultivo así como la mayoría de los métodos moleculares de detección y/o caracterización de las micobacterias requieren infraestructura específica y personal altamente entrenado para su ejecución, lo que limita la disponibilidad de estos métodos a laboratorios especializados de nivel central, con medidas adecuadas de bioseguridad [84,90]. En el caso del GeneXpert MTB/RIF (Cepheid Inc., USA) su alto costo además es una barrera importante para la popularización de esta tecnología fuera de laboratorios de referencia, sobre todo en países con alta prevalencia de TB [72].

Para alcanzar los objetivos de reducción de casos y muertes definidos por la Estrategia End TB de la OMS, es crítico contar con reactivos de diagnóstico que puedan ser utilizados en el punto de atención (POC), es decir en laboratorios periféricos, asistenciales, con bajo nivel de infraestructura [31]. Para lograrlo es necesario desarrollar nuevas pruebas de diagnóstico, comparables al cultivo en términos de precisión, que permitan un diagnóstico rápido, simple y económico de la tuberculosis y la resistencia a fármacos fuera del entorno de un laboratorio convencional. Disponer de un test de estas características permitiría aumentar la detección precoz de casos y al ser diagnosticados los pacientes comenzarían antes con el tratamiento específico, previniendo el contagio a contactos y convivientes. Cuando se comenzó con esta tesis no se contaba con ningún *POC test* en el nivel periférico para el diagnóstico de TB que estuviera recomendado por la OMS y se había generado en los años precedentes un interés creciente y una disponibilidad de financiación a nivel internacional con el fin de lograr este objetivo en el año 2015 [139]. Se consideraba que contar con este test de uso a nivel periférico podría representar un importante avance en el diagnóstico y el control global de la TB [140,141].

Las limitantes para el desarrollo de verdaderos *POC test* para el diagnóstico de la tuberculosis son las brechas de conocimiento relacionadas principalmente con la biología del hospedero y el patógeno, y las limitaciones en las tecnologías de detección [142]. Como *M. tuberculosis* causa un variado cuadro clínico, y tiene una interacción compleja y altamente evolucionada con el sistema inmune, los conceptos básicos de la biología del patógeno y de la interacción hospedero-patógeno no están completamente elucidados [142]. Tampoco resulta claro que la enfermedad genere una respuesta sistemática de anticuerpos específicos protectivos, a diferencia de otras enfermedades infecciosas [142,143]. Entre los mecanismos de supervivencia de MTB se destacan la capacidad de modular la respuesta inmune del hospedero y el confinamiento de la infección y las células inmunes en granulomas [48,49]. Estas características de la biología de la infección han enlentecido los intentos de evaluar la respuesta inmune de los pacientes por medio de test serológicos, como por ejemplo reactivos de diagnóstico basados en ELISA o en inmunocromatografía, los que son podrían constituir una alternativa interesante, sobre todo en países de bajos recursos. En base a la evidencia disponible, como ya se mencionó, el uso de estos test para el diagnóstico de la TB activa fue desaconsejado por la OMS [114].

La falla de las aproximaciones basadas en la respuesta de anticuerpos ha estimulado fuertemente el interés en el desarrollo de métodos rápidos de detección de antígeno [118]. La

detección de antígenos micobacterianos es una aproximación atractiva para el diagnóstico al ser independiente de la respuesta inmune, y representar potencialmente una correlación directa con la carga de bacterias, por lo que podrían ser utilizados tanto para el diagnóstico como para el monitoreo del tratamiento [118]. Asimismo, los test de detección de antígeno tendrían el potencial de discriminar la tuberculosis latente de la activa, asumiendo que durante la TB activa circulen antígenos derivados del patógeno en cantidades detectables. Para el desarrollo de este tipo de sistemas de detección resulta crítico identificar marcadores biológicos presentes en muestras clínicas y valorar la concentración de estos marcadores de la infección por *M. tuberculosis* en diferentes matrices, como orina, suero, esputo, etc. La orina, en particular, constituye una muestra muy práctica para un test de punto de atención, particularmente en el caso de niños, los que generalmente no producen esputo y deben ser sometidos a lavados gástricos para investigar la presencia de tuberculosis pulmonar [144]. Adicionalmente, el análisis de muestras de orina podría facilitar el diagnóstico de TB en pacientes coinfectados con VIH, los que normalmente tienen una baja carga de bacterias en su esputo, y en pacientes con tuberculosis extrapulmonar [118]. Es por ello, que una de las prioridades de la OMS es el desarrollo de una prueba rápida simple, de bajo costo, que detecte uno o más biomarcadores y que pueda implementarse en el primer punto de contacto del paciente con el sistema de salud, como prueba de clasificación para identificar rápidamente a las personas que deben luego ser derivadas para pruebas confirmatorias [145]. Sin embargo, es importante mencionar que la tuberculosis es única entre las enfermedades infecciosas, en relación a la dificultad de identificar biomarcadores específicos de la infección, a pesar de la investigación activa en el área.

El primer ejemplo de estos test de detección de antígeno son los que se basan en la detección del lipoarabinomanano (LAM), un lipopolisacárido fosforilado que compone la pared celular de todas las bacterias del género *Mycobacterium* [146,147]. En base a esta molécula se desarrollaron sistemas de ELISA de captura para muestras de esputo [148] y orina [149,150]. Los test de detección de LAM en orina fueron los primeros en pasar de la investigación al estado comercial, debido a los resultados iniciales promisorios [149,150], que sugerían que si era utilizado en conjunto con la microscopía de esputo podía ayudar a diagnosticar a pacientes con baciloscopías negativas [151]. Posteriormente, se realizó el desarrollo comercial de un test de inmunocromatografía rápido (*lateral flow test*) para la detección de LAM en orina (Determine TB LAM Ag, Alere Inc.) [151]. Este test se basa en la detección de LAM por medio de una tira reactiva donde se han depositado anticuerpos de captura anti-LAM. Este método de detección de LAM en orina, cumple con la definición de un test de punto de uso, ya que es simple, económico, permite un resultado cualitativo (si/no) de la tuberculosis activa en 30 minutos y utiliza una muestra de fácil obtención [117,152]. Si bien este kit ha mostrado una baja sensibilidad diagnóstica en el caso de pacientes de TB no seleccionados, su valor diagnóstico aumenta en el caso de pacientes inmunosuprimidos coinfectados con VIH [152–154]. Como la TB pulmonar asociada con VIH es preocupante en varios países donde ambas enfermedades tienen alta carga, este kit serviría para establecer un diagnóstico y un tratamiento rápido en esta población de alto riesgo. De hecho, se evidenció una disminución en la mortalidad cuando se utilizó como un test adicional al diagnóstico rutinario para definir el tratamiento anti-TB en pacientes hospitalizados con VIH y recuentos de CD4 de menos de 200 células por µL [155,156]. En base a la evidencia reunida, la OMS recomienda el uso de este test para todos los pacientes hospitalizados, que tienen VIH y recuentos de CD4+ menores a 100 células por µL [157].

Además de la baja sensibilidad, este test muestra una especificidad relativamente baja (≅90%) [157], lo que podría deberse a que hace uso de anticuerpos anti-LAM que reaccionan de forma cruzada con la mayoría de las micobacterias, incluyendo *M. avium* and *M. leprae* [146]. Hay en desarrollo otros ensayos basados en la detección de LAM por medio del uso de nuevos anticuerpos monoclonales que contra este antígeno, que buscan aumentar la sensibilidad y la especificidad de la técnica, con el fin de ser aplicados también en pacientes VIH negativos [158]. En dicho *screening*, el mejor par de anticuerpos monoclonales tienen como blanco un epítopo del LAM que está modificado con una 5-metiltio-d-xilofuranosa (MTX) terminal, que es específico del complejo *M. tuberculosis* y no muestra reactividad cruzada con las micobacterias de crecimiento rápido ni otras bacterias [158].

Es importante resaltar que, a pesar de la disponibilidad de nuevos métodos diagnósticos avalados por la evidencia, una etapa crítica es la implementación clínica. El impacto de los nuevos test de diagnóstico depende del grado de su introducción y aceptación en los servicios de salud, lo que a su vez depende de las decisiones de las agencias técnicas internacionales y de los programas nacionales de lucha contra la tuberculosis [140]. Los métodos diagnósticos avalados hasta la fecha por la OMS, junto con sus usos previstos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Tecnologías avaladas por OMS para del diagnóstico de la tuberculosis desde el año 2007

Tecnología	Metodología	Año	Detección de TB activa	Sensibilidad a drogas	Detección de TB latente
Métodos comerciales de cultivo líquido, identificación rápida de especies, DST fenotípicos	Cultivo Fenotípico	2007	✓	✓	
LPA para detección de resistencia a drogas de primera línea	Molecular Genotípico	2008		✓	
Microscopía de fluorescencia LED	Microscopía	2010	✓		
Xpert MTB/RIF	Molecular Genotípico	2010	✓	✓	
Test no comerciales para detección de sensibilidad a drogas (MODS, CRI, NRA)	Fenotípico	2010		✓	
LAMP (*Loop-mediated amplification test*)	Molecular	2016	✓		
Test rápido de detección de LAM en orina	Detección de antígeno	2016	✓		
LPA para detección de resistencia a drogas de segunda línea	Molecular Genotípico	2016		✓	
Xpert MTB/RIF Ultra	Molecular Genotípico	2017	✓	✓	
Test de tuberculina	Respuesta inmune celular (*in vivo*)	2018			✓
Test IGRA (ensayo de liberación de interferón γ)	Respuesta inmune celular (*in vitro*)	2018			✓

Biomarcadores derivados del patógeno

Un biomarcador se define como un parámetro que, al ser medido de forma objetiva, sirve de indicador de un proceso normal o patológico, o de una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica [159–161]. En la práctica clínica, los biomarcadores permiten la estratificación de cada paciente de forma de permitir el desarrollo de intervenciones dirigidas, que podrían no producir beneficios a todos los pacientes [160].

En una enfermedad infecciosa los biomarcadores pueden ser tanto derivados del patógeno como del hospedero [159]. El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es un ejemplo de la utilidad de los biomarcadores tanto para el diagnóstico inicial de la enfermedad, como para la evaluación del estado de la enfermedad y su progresión. Luego de la infección con VIH, la detección del ADN proviral, así como del antígeno p24, se utilizan para establecer un diagnóstico temprano. Para evaluar la progresión de la infección y la eficacia del tratamiento, la carga viral se va evaluando periódicamente a través de la cuantificación de ARN viral. Una vez que se detecta inmunosupresión, la evolución de la enfermedad es monitoreada por medio del recuento de linfocitos CD4+ [162]. En este caso el conocimiento de la dinámica viral y de la respuesta inmune del hospedero durante la enfermedad ha permitido el desarrollo de test diagnósticos precisos. En el caso de la tuberculosis estos temas básicos no están aún dilucidados.

M. tuberculosis durante la infección activa, se replica y libera múltiples proteínas y productos secundarios hacia el ambiente extracelular. Para que las moléculas derivadas del patógeno sean consideradas como biomarcadores de la enfermedad, estas deben alcanzar las muestras clínicas a ensayar (esputo, orina, sangre, saliva, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural) en niveles detectables [163]. A su vez, para ser biomarcadores diagnósticos de valor, estos antígenos deben poder ser detectados de forma específica y consistente en muestras clínicas de los pacientes con TB activa.

Un ejemplo de estas moléculas, que como se ha descrito, puede detectarse en esputo, suero y orina de los pacientes con TB activa, es el LAM, un lipopolisacárido de la pared celular del patógeno [117,164]. La presencia de LAM en orina en el caso de pacientes con TB pulmonar, indica que este antígeno es liberado por *M. tuberculosis* en los tejidos infectados del pulmón, desde donde alcanza la circulación sanguínea y termina siendo eliminado por la orina. La orina es una muestra muy práctica para ser utilizada en un test de diagnóstico, ya que es más segura de manipular que el esputo y más fácil de colectar, tanto en niños como en adultos. Además, en el caso de tuberculosis extrapulmonar, la detección de biomarcadores específicos en orina podría prevenir el uso de métodos invasivos de obtención de la muestra [165]. Debido a lo anterior y a la posibilidad de desarrollar métodos simples de detección de antígeno que sirvan para establecer el diagnóstico directo de la TB, se han realizado grandes esfuerzos para identificar y validar biomarcadores derivados de MTB que sean excretados en la orina de pacientes con TB activa [164–167].

Como parte de esta tesis se revisaron y resumieron los datos publicados en relación a los biomarcadores proteicos derivados de *M. tuberculosis* y su potencial uso en el diagnóstico de la tuberculosis activa [168]. Este trabajo, que fue publicado en la revista Frontiers in Microbiology,

adjunta en el Anexo 1. En la Tabla 2 se presenta el resumen de estos resultados y se incluye información posterior a la publicación de dicha revisión.

Tabla 2. Principales biomarcadores proteicos evaluados para el diagnóstico directo de *M. tuberculosis*.

Gen	Locus (Rv)	Proteína (nomenclatura alternativa)	Función	Evidencia diagnóstica
Apa	Rv1860	Alanine Proline rich secreted protein APA (Immunogenic protein MPT32) (45-kDa Glycoprotein)	Desconocida (podría mediar la unión de la bacteria a la célula hospedera)	Testeada en esputo y suero de pacientes con TB activa [169,170].
esxA	Rv3875	6 kDa Early secretory antigen target EsxA (ESAT-6).	Desconocida. Provoca la secreción de altos niveles de IFN-γ a partir de células memoria efectoras durante la primera fase de la respuesta inmune protectiva. Proteína exportada, cotranscripta con Rv3874 (10 kDa culture filtrate antigen EsxB)	Detectada en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con tuberculosis meníngea [171]. Detectada en orina y suero de pacientes con TB [164,172–174].
esxB	Rv3874	10 kDa culture filtrate antigen EsxB (LHP) (CFP10)	Desconocida. Proteína exportada, cotranscripta con Rv3875 (6kDa Early secretory antigen target EsxA ESAT-6)	Detectada en suero de pacientes con TB pulmonar y/o extra-pulmonar [167,172–174].
fbpA	Rv3804c	Secreted Antigen 85-A FbpA (Mycolyl Transferase 85A) (Fibronectin-Binding Protein A) (Antigen 85 Complex A)	Involucradas en el agregado de ácidos micólicos al arabinogalactano de la pared celular. Las proteínas del complejo del antígeno 85 son responsables de la alta afinidad de las micobacterias a la fibronectina. Poseen actividad micoliltransferasa, requerida para la biogénesis de trehalosa dimicolato (TDM) o factor de cuerda (*cord factor*), una estructura requerida para mantener la integridad de la pared celular.	Proteínas del complejo del Antígeno 85 han sido detectadas en muestras de esputo [175] y suero [170,176,177] de pacientes con TB.
fbpB	Rv1886c	Secreted Antigen 85-B FbpB (Mycolyl Transferase 85B) (Fibronectin-Binding Protein B) (Antigen 85 Complex B)		
fbpD	Rv3803c	Secreted MPT51/MPB51 Antigen Protein FbpD (MPT51/MPB51 Antigen 85 Complex C) (Mycolyl Transferase 85C) (Fibronectin-Binding Protein C)		
glcB	Rv1837c	Malate synthase G (GlcB)	Involucrada en el ciclo del glioxilato, una alternativa al ciclo del ácido tricarboxílico.	Evaluada con resultados promisorios en LCR de pacientes con tuberculosis meníngea [178].
groEL2	Rv0440	60 kDa chaperonin 2 GroEL2 (protein CPN60-2) (GroEL protein 2) (65 kDa antigen) (heat shock protein 65) (cell wall protein A) (antigen A)	Chaperona que evita el plegamiento incorrecto y promueve el replegamiento y ensamblaje adecuado de los polipéptidos desplegados en condiciones de estrés.	Ha mostrado un buen desempeño diagnóstico en ELISA de captura utilizando muestras de suero de pacientes con TB [179].
hspX	Rv2031c	Heat Shock Protein HspX (Alpha-Crystallin Homolog) (14 kDa Antigen) (16 kDa Antigen) (HSP16.3)	Proteína de respuesta a estrés inducida por anoxia. Se propone que participa en el mantenimiento de la viabilidad durante infecciones latentes y asintomáticas, así como en la replicación durante la infección inicial. Regulada por el sistema regulador de dos componentes DesR/DesV, en respuesta a una señal hipóxica.	Ensayada con resultados promisorios en LCR de pacientes con TB meníngea [178].

Gen	Locus (Rv)	Proteína (nomenclatura alternativa)	Función	Evidencia diagnóstica
moeX	Rv1681	Possible molybdopterin biosynthesis protein MoeX	Involucrada en la biosíntesis del cofactor de molibdeno.	Identificada por espectrometría de masas en orina de pacientes con TB activa [180].
mpt64	Rv1980c	24 kDa Immunogenic protein MPT64 (Antigen MPT64/MPB64).	Proteína secretada de función desconocida, específica del complejo *M. tuberculosis*. Uno de los principales antígenos secretados al medio de cultivo.	Se dispone de ensayos inmunocromatográficos rápidos para la identificación del MTBC en cultivos utilizando anticuerpos anti-MPB64 [100,181]. Detectada en exosomas de pacientes con TB [182].
mshD	Rv0819	GCN5-related N-acetyltransferase, MshD	Involucrada en la biosíntesis del Micotiol	Detectada en suero de pacientes con TB [183].
pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (Immunodominant 38 kDa Protein) (Protein Antigen B).	Participa en el transporte activo de fosfato inorgánico a través de la membrana (importación).	Fue evaluada en LCR de pacientes con TB meníngea [178]
TB31.7	Rv2623	Universal stress protein family protein TB31.7.	Regula el crecimiento de las micobacterias y la entrada a la fase crónica de la infección.	Biomarcador potencial para el diagnóstico de tuberculosis latente y activa en el caso de la infección meníngea. Evaluada en LCR [184].

Nota: La tabla incluye datos de estas proteínas derivados de TB Genomes Databases [185]*, TuberculList* [186] *y Mycobrowser* [187]*.*

Las proteínas testeadas, resumidas en la Tabla 2, han sido frecuentemente detectadas por electroforesis 2D y espectrometría de masas, tanto en extractos totales como en sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* [188–190]. Si bien hasta el momento se han realizado ensayos clínicos de algunos test de detección de antígeno, que utilizan los antígenos bacterianos proteicos anteriormente descritos, no se cuenta con un sistema de diagnóstico comercial que haya mostrado un nivel de sensibilidad y especificidad adecuado para sustituir los métodos tradicionales en la práctica clínica [151,165]. En los últimos años, se han realizado varias aproximaciones proteómicas para descubrir nuevos biomarcadores en muestras clínicas de TB activa utilizando metodologías de alto rendimiento basadas en espectrometría de masa [167,191–193]. Se han identificado algunas proteínas y péptidos en estos trabajos proteómicos, pero aún no han sido validados como biomarcadores de uso diagnóstico. Por otro lado, también se están ensayando tecnologías más sensibles de detección de antígeno de forma de alcanzar un menor límite de detección de las proteínas y moléculas específicas secretadas por MTB durante la infección activa [164,194].

Además del LAM y de las proteínas detalladas en la Tabla 2, otros biomarcadores derivados de *M. tuberculosis* que se han evidenciado en diferentes muestras clínicas son: ácidos micólicos en muestras de esputo[195], el glucolípido fenólico PGL-Tb [196], metabolitos volátiles específicos de MTB en el aliento exhalado [197], ADN transrenal (tr-DNA) específico de MTB en orina [197] y ARNs pequeños derivados de *M. tuberculosis* circulantes en suero de pacientes con tuberculosis activa [198]. Sin embargo, los métodos de detección de estos marcadores deben

aún ser mejorados para lograr los niveles de sensibilidad y especificidad requeridos para aplicarse en el diagnóstico de la tuberculosis.

Biomarcadores derivados del hospedero

Los biomarcadores diagnósticos pueden ser también derivados del hospedero. Hay varios candidatos promisorios identificados que podría relacionarse con el riesgo de contraer la infección, con el riesgo de desarrollar la enfermedad, con la probabilidad de responder favorablemente al tratamiento, o con la predisposición a estar protegido contra la infección [195]. La mayoría de los biomarcadores derivados del hospedero en estudio consisten en marcadores celulares transcriptómicos, proteómicos o metabolómicos, o una combinación de dichos marcadores constituyen una firma o huella molecular [195,199].

La mayoría de los biomarcadores de la tuberculosis activa están asociados con la respuesta inmune del hospedero. Por medio de la plataforma de Luminex se describió una firma molecular de TB basada en los niveles relativos de 7 marcadores en suero: proteína C-reactiva, transtiretina, IFN-γ, factor H del complemento, la apolipoproteína-A1, la proteína 10 inducible por IFN-γ (IP-10) y la proteína amiloide sérica A [200]. Estos marcadores son representativos de las respuestas inflamatorias y de la inmunidad innata. A pesar de la información disponible y su análisis sistemático [201], no se encuentra validada una firma molecular predictiva de la enfermedad, ni hay un test basado en estos biomarcadores disponible comercialmente [117].

Los miARNs (micro ARNs) derivados del hospedero, ya sea celulares, libres en suero o asociados a exosomas, han sido postulados como posibles marcadores de valor diagnóstico y pronóstico en diversas patologías [202]. Diferentes trabajos mostraron la presencia miARNs circulantes en líquido pleural de pacientes con tuberculosis pleural [203], así como en suero [204] y en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) [205] de pacientes con TB activa y latente. Estos miARNs muestran un patrón de expresión diferencial, según la manifestación de la enfermedad, por lo que fueron postulados como posibles biomarcadores con valor diagnóstico.

Trabajos recientes mostraron la presencia de ARN circulares (circARNs) en suero de pacientes con TB activa. Aunque su función es aún desconocida, se ha evidenciado que algunos de ellos muestran niveles significativamente aumentados en pacientes con TB activa, por lo que se han postulado como posibles blancos para el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico de la enfermedad [206].

Los datos publicados respecto al potencial rol de los ARNs pequeños (miARN, circARN, etc.) circulantes en suero o plasma como nuevos marcadores diagnósticos de TB son alentadores. Sin embargo, estos resultados son aún preliminares y se requieren nuevas pruebas para determinar si pueden convertirse en biomarcadores de utilidad, por ejemplo, que permitan diagnosticar la progresión de LTBI a TB activa o la respuesta a la terapia. Además, se deben superar algunas dificultades tecnológicas actuales. Por ejemplo, es necesario establecer métodos costo eficientes para su aislamiento y metodologías estandarizadas de análisis, para implementar nuevas herramientas diagnósticas basadas en estas moléculas [207].

Gracias a la aparición de potentes plataformas tecnológicas y bioinformáticas, se han realizado avances significativos en el descubrimiento y primera validación de los biomarcadores derivados del hospedero, pero se necesitan estudios en cohortes clínicas bien caracterizadas para refinar y mejorar los perfiles moleculares que se han descrito y dirigir su desarrollo hacia la generación herramientas de diagnóstico de utilidad clínica.

HIPÓTESIS

El diagnóstico de la tuberculosis activa es un punto crítico para el control de la enfermedad. Disponer de un test de punto de atención que pueda utilizarse en muestras clínicas de fácil recolección como la orina, y sea complementario con el algoritmo diagnóstico actual, permitiría aumentar la detección precoz de casos, y comenzar más tempranamente con el tratamiento específico, disminuyendo el tiempo de contagio y previniendo la evolución a formas avanzadas de la enfermedad.

Como se ha comentado, la detección de anticuerpos contra MTB tiene hasta el momento un limitado valor diagnóstico, muy probablemente debido a los mecanismos de evasión de la inmunidad que ha desarrollado la bacteria. Es por esta razón, que ha generado gran interés la posibilidad de identificar en muestras clínicas, moléculas derivadas de *M. tuberculosis* o del hospedero que sean indicativas de la tuberculosis activa, sea ésta pulmonar o extrapulmonar. La identificación y validación de biomarcadores de este tipo permitiría evaluar el estado de la enfermedad de forma directa. Además, si estos biomarcadores mostraran una correlación con la carga real de bacterias podrían ser utilizados tanto en el diagnóstico como en el monitoreo de la eficacia del tratamiento.

En este sentido, los test de detección de antígeno son particularmente atractivos ya que podrían ser utilizados con una variedad de muestras clínicas (esputo, sangre, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural). Como *M. tuberculosis* puede afectar múltiples órganos y sistemas, los biomarcadores de la infección podrían estar presentes en los fluidos que rodean estos órganos afectados, así como también alcanzar la circulación y ser eliminados por la orina. En el caso de moléculas derivadas del patógeno, postulamos que estos biomarcadores corresponderían a proteínas y moléculas secretadas, y/o que muestren un alto nivel de expresión. Es por ello que en este trabajo nos centramos en el estudio y la estimación de la abundancia de las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*. Además, dado que las técnicas basadas en espectrometría de masas han mostrado que los eventos de O-glicosilación son frecuentes en las proteínas secretadas o expuestas por MTB en la pared celular, proponemos que la identificación de dicha modificación postraduccional sea relevante para el diseño de herramientas diagnósticas basadas en la detección de antígenos.

Si bien se han descrito varios biomarcadores con potencial utilidad en el caso del diagnóstico de la tuberculosis activa, únicamente el lipopolisacárido LAM ha pasado a ser utilizado en la práctica clínica. Por lo tanto, consideramos que la caracterización de las moléculas que por secreción o daño se generen durante la TB activa, es clave para contribuir a identificar nuevos biomarcadores que permitan el desarrollo de métodos diagnósticos basados en la detección de los mismos. Estos métodos podrían eventualmente adaptarse para ser utilizados en el punto de atención (POC). Asimismo, también consideramos importante profundizar en la identificación de biomarcadores derivados del paciente, de forma de conocer más sobre la biología de la interacción hospedero-patógeno e intentar definir una firma molecular característica de esta enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

En este trabajo, nos propusimos contribuir a la generación de herramientas de bajo costo, rápidas, sensibles, y específicas para el diagnóstico de la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis*, que puedan ser utilizadas en laboratorios con infraestructura básica.

Para ello nos planteamos identificar y caracterizar los principales biomarcadores de la tuberculosis activa y poner a punto un sistema que permita evaluar la presencia de estos biomarcadores específicos en muestras clínicas de fácil recolección como orina, esputo o líquido pleural, basado en el uso de anticuerpos específicos.

Objetivos específicos

1. **Identificación y caracterización de las principales proteínas secretadas o expresadas por *M. tuberculosis* en cultivo**

    1.1. Obtención y caracterización de sobrenadantes de cultivo de *M. tuberculosis* (MTB) y de *M. avium*.
    1.2. Caracterización proteómica de sobrenadantes de cultivo de *M. tuberculosis*.
    1.3. Identificación de O-glicosilaciones en las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB.

2. **Desarrollo de herramientas técnicas para la detección específica de antígenos de MTB.**

    2.1. Generación de extracto proteico concentrado a partir de orina de voluntarios sanos (orN).
    2.2. Obtención y purificación de anticuerpos policlonales anti-MTB, anti-*M. avium* y anti-orN.
    2.3. Puesta a punto de métodos inmunoenzimáticos para la detección de antígenos específicos de MTB.

3. **Identificación de biomarcadores de la infección activa por *M. tuberculosis*, en muestras clínicas de fácil recolección.**

    3.1. Búsqueda de biomarcadores en muestras clínicas de pacientes con TB activa, por medio de *western blot* y análisis proteómico.
    3.2. Evaluación de metodologías de ELISA para la detección de antígenos de *M. tuberculosis* en muestras clínicas de pacientes con TB activa (orina, líquido pleural).

PLAN DE TRABAJO

En la Figura 14 se resume el plan de trabajo de este trabajo de tesis, según los objetivos específicos definidos.

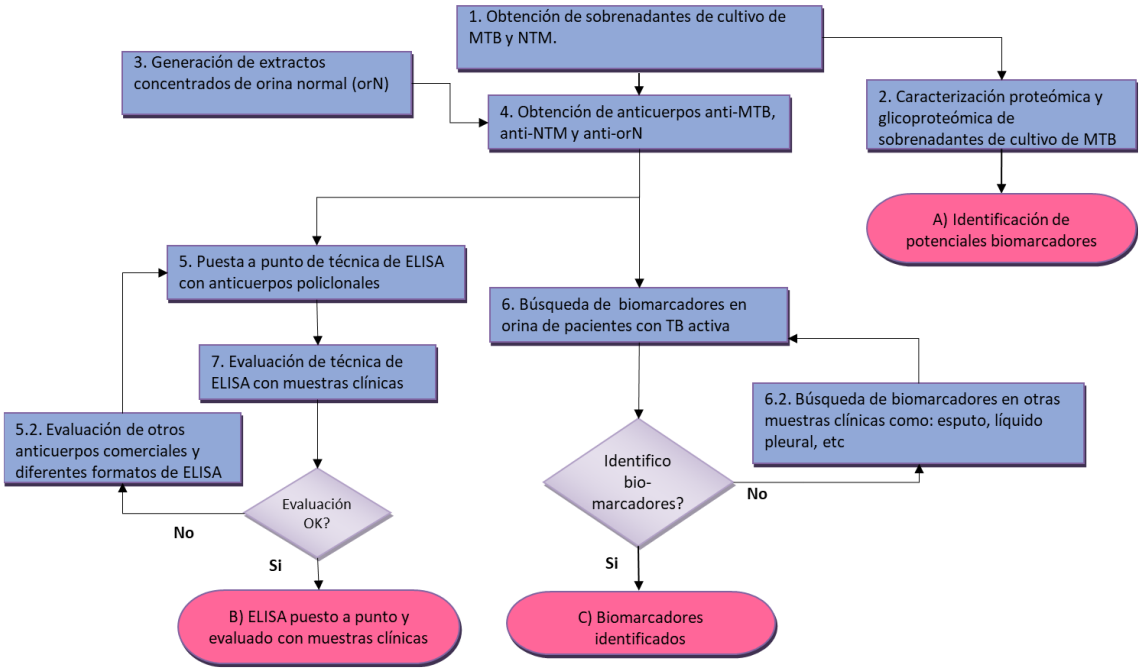


Figura 14. Plan de Trabajo de la tesis.
Se muestran los objetivos específicos (rectángulos con esquinas redondeadas), las actividades relacionadas con cada objetivo específico (rectángulos rectos) y los puntos críticos de decisiones (rombos) con sus actividades alternativas.

MATERIALES Y METODOS

Principales materiales utilizados

Se listan a continuación los principales materiales específicos utilizados, el resto de los reactivos se detallan en las secciones correspondientes. Los reactivos con los que se realizaron los buffers y soluciones son en todos los casos de calidad puro para análisis o superior.

Proteínas y antígenos

Los siguientes antígenos fueron obtenidos a través de un acuerdo de transferencia de material firmado con el repositorio BEI Resources (*Biodefense and Emerging Infections Research Resources Repository*), gestionado por ATCC (*American Type Culture Collection*) y financiado por NIAID (*National Institute of Alergy and Infectious Disease*) y NIH (*National Institute of Health*) [208].

- *M. tuberculosis* H37Rv *Culture Filtrate Proteins* (CFP) (Cód. NR-14825),
- *M. tuberculosis* H37Rv Lipoarabinomanano purificado (LAM) (Cód. NR-14848),
- Proteína MPT32/Apa (Rv1860) purificada a partir de sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv (Cód. NR-14862),
- Proteína ESAT-6 recombinante (Gen Rv3875 expresado en *E. coli* con cola de 6 histidinas) purificada por cromatografía de afinidad (Cód. NR-14868),
- Proteína Ag85A recombinante (Gen Rv3804 expresado en *E. coli* con cola de 6 histidinas) purificada por cromatografía de afinidad (Cód. NR-49427).

La proteína GlnA1 recombinante (Glutamina sintetasa A, Rv2220) fue gentilmente suministrada por Jessica Rossello (UByPA, Institut Pasteur de Montevideo).

Las proteínas recombinantes PtpA (Proteína fosfatasa en tirosina PtpA, Rv2234) y PtpB (Proteína fosfatasa en tirosina PtpB, Rv0153c), fueron gentilmente suministradas por Andrea Villarino (Sección Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UDELAR).

Anticuerpos primarios

Los siguientes anticuerpos fueron obtenidos a través de un acuerdo de transferencia de material firmado con el repositorio BEI Resources (*Biodefense and Emerging Infections Research Resources Repository*), gestionado por ATCC (*American Type Culture Collection*) y financiado por NIAID (National Institute of Alergy and Infectious Disease) y NIH (*National Institute of Health*) [208].

- Anti - *M. tuberculosis* CFP menos LAM (policlonal, hecho en conejo, Cód. NR-13809),
- Anti - *M. tuberculosis* LAM (monoclonal, clon murino CS-40, Cód. NR-13812),
- Anti - *M. tuberculosis* LAM (policlonal, hecho en conejo, Cód. NR-13821),
- Anti - *M. tuberculosis* CFP10 (Rv3874) (policlonal, hecho en conejo, Cód. NR-13801),
- Anti - *M. tuberculosis* MPT32 (Rv1860) (monoclonal, clon murino CS-93, Cód. NR-13817).
- Anti - *M. tuberculosis* MPT32 (Rv1860) (policlonal, hecho en conejo, Cód. NR-13812)

De la empresa Thermo Scientific se adquirieron los siguientes anticuerpos:

- Anti - *M. tuberculosis* PPD conjugado a biotina (policlonal, hecho en conejo, Cód. PA1-73136),
- Anti - *M. tuberculosis* ESAT-6 (Rv3875) (policlonal, hecho en conejo, Cód. PA119446),
- Anti - *M. tuberculosis* CFP-10 (Rv3874) (policlonal, hecho en conejo, PA119445).

De la empresa Santa Cruz se adquirió el anticuerpo:

- Anti - *M. tuberculosis* Ag85C (Rv0129c) (monoclonal, clon murino HYT 27, Cód. Sc-57611).

Anticuerpos secundarios y conjugados

Durante esta tesis se utilizaron diferentes anticuerpos secundarios y conjugados para las diferentes técnicas de inmunodetección:

- Anti - IgG de conejo, hecho en cabra, conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545)
- Anti - IgG de conejo (H&L), hecho en cabra, conjugado a HRP (Calbiochem, Cód. 401315)
- Anti - IgG de conejo, hecho en cabra, conjugado a HRP (Santa Cruz, Cód. sc-2004)
- Anti - IgG de ratón, hecho en cabra, conjugado a HRP (Santa Cruz, Cód. sc-2005)
- Anti - IgG de humano (Fc), hecho en cabra, conjugado a HRP (Meridian, G5G16-0482)
- Estreptavidina conjugada a HRP (Pierce, Cód. 21130)

Cepas de micobacterias y condiciones de crecimiento

Se utilizaron 2 cepas de colección gentilmente suministradas por el Dr. Carlos Rivas Chetto (CHLA-EP): (1) *Mycobacterium tuberculosis* (Zopf) Lehmann and Neumann (ATCC® 25618™), cepa: *M. tuberculosis* H37Rv, derivada por el Dr. William Steenken en el año 1934 de un aislado clínico (H37) obtenido en 1905 del paciente E.R. Baldwin con tuberculosis pulmonar [209] y (2) *Mycobacterium avium subsp. avium* Chester (ATCC® 25291™), cepa: Vet. 1387 [SSC 1336, TMC 724], serotipo: 2, aislada del hígado de un ave con lesiones típicas de la tuberculosis aviar [210]. Se inocularon medios sólidos inclinados Lowenstein Jensen con las cepas de colección los que se incubaron durante 2 a 3 semanas a 37°C, hasta observar un crecimiento denso. Se cosecharon las células y se transfirió, a un tubo con suero fisiológico, un volumen ajustado de forma de obtener una suspensión homogénea con una turbiedad comparable al patrón McFarland N°1, lo que equivale a una concentración aproximada de $3.0x10^7$ ufc/mL. Se realizaron diluciones decimales en base 10 en suero fisiológico y se inocularon 200 µL de la dilución 10^{-5} en tubos MGIT conteniendo 7 ml de medio Middlebrook 7H9 complementado con suplemento MGIT BD BACTEC conteniendo ácido oleico, albumina, dextrosa y catalasa (BD Diagnostics, USA). Los tubos MGIT se incubaron por 12 días a 37°C en equipo de detección automatizada de micobacterias BACTEC™ MGIT™ (BD Diagnostics, USA) hasta obtención de señal positiva. Las células fueron centrifugadas a 4000*xg* por 15 minutos a 4°C y lavadas 3 veces con buffer PBS frío. Las células se resuspendieron en 1 mL de buffer PBS frío y se inocularon en 250 mL de medio mínimo Sauton, un medio de cultivo definido y libre de proteínas, preparado como fue descrito previamente [189]. Los cultivos se incubaron durante 3 a 4 semanas a 37°C sin agitación, hasta observar turbidez inhomogénea en la forma de películas de microorganismos en la superficie del medio. Una vez verificado el crecimiento las células fueron centrifugadas a 4000*xg* por 30 minutos a 4°C y almacenadas a -20°C, y el sobrenadante de cultivo fue procesado como se describe en la próxima sección. Para obtener nuevas preparaciones se partió del pellet de bacterias almacenado a -20°C, el que se resuspendió en suero fisiológico y dicha suspensión se utilizó para inocular en una dilución 1/1000 nuevas preparaciones de medio mínimo Sauton, el que se incubó en idénticas condiciones a las que se describieron previamente. Al verificar el crecimiento (3 a 4 semanas), se obtuvieron nuevas muestras de sobrenadante de cultivo. En total se prepararon 4 muestras de proteínas de sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* y de *M. avium*.

Preparación de las proteínas del sobrenadante de cultivo

Luego de centrifugar las células de bacterias de los cultivos como se describió antes, el sobrenadante de cultivo (CF) fue filtrado a través de filtros de 0.2 µM de poro (Millipore, USA). Cada muestra de CF fue testeada para verificar la ausencia de micobacterias por medio de la inoculación de un tubo MGIT complementado con suplemento MGIT BD BACTEC (BD Diagnostics, USA) durante 42 días a 37°C en equipo BD BACTEC™ MGIT™ (BD Diagnostics, USA). Luego de verificarse la esterilidad de las muestras, las proteínas del sobrenadante de cultivo (CFP) se obtuvieron por concentración por ultrafiltración (factor de concentración 25 a 50 veces) del sobrenadante de cultivo filtrado, utilizando dispositivos de centrífuga Macrosep Advance Omega con membrana de 3kDa de corte límite de masa molecular (Pall Corporation, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de CFP se dializaron exhaustivamente contra PBS y la concentración de proteínas totales, antes y después de la concentración por ultrafiltración, se determinó por medio de la técnica de BCA, según instructivo del fabricante (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific, Cód. 23227). Las muestras de CFP se almacenaron a -20°C.

Preparación de extracto de E. coli

Se preparó un extracto de proteínas totales de *Escherichia coli* por medio del crecimiento de la cepa *E. coli* BL21 DE3 (Novagen, Cód. 69450) en 200 mL de medio de cultivo TB (*Terrific Broth*) durante 18 – 20 horas a 37.0 ± 1.0 ºC, con agitación de 220 rpm. Al finalizar el cultivo, se midió la Abs_{600nm} y las células fueron cosechadas por medio de centrifugación a 10.000*xg* por 30 minutos a 4°C. El pellet celular fue resuspendido en 100 mL de PBS y la suspensión celular fue lisada por medio de 3 pasajes a una presión de 1000 ± 100 bar en disruptor celular de alta presión (Panda 2K, Niro Soavi). El lisado fue centrifugado a 10.000*xg* por 30 minutos a 4°C y filtrado a través de filtros de 0.45 µM de poro (Millipore, USA). Se determinó la concentración de proteínas totales del extracto de *E. coli* por medio de la técnica de BCA, según instructivo del fabricante (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific, Cód. 23227). El extracto de proteínas de *E. coli* se almacenó a -20°C.

Muestras clínicas

Orinas de voluntarios sanos (orN)

Se dispuso de la primera orina de la mañana de 4 voluntarios sanos. Las muestras fueron tomadas en frasco estéril y al llegar al laboratorio se agregó azida de sodio a una concentración final de 0,05%. Las muestras se centrifugaron para precipitar células y restos celulares a 2000*xg* por 15 minutos a 4°C y con el sobrenadante se ensayaron diferentes protocolos de obtención de proteínas de orina para aplicación en técnicas proteómicas [211]. Se seleccionó la metodología de concentración del sobrenadante por ultrafiltración (factor de concentración 20 – 30 veces). Para ello se utilizó un dispositivo de centrífuga Vivaspin con membrana de 5kDa de corte límite de masa molecular (GE Healthcare, Suecia), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de orN concentradas se dializaron exhaustivamente contra PBS, se filtraron a través de filtros de 0.2 µM de poro (Millipore, USA). La concentración de proteínas totales antes y después de la concentración por ultrafiltración se determinó por medio de la técnica de Bradford [212]. Las muestras fueron caracterizadas por medio de electroforesis SDS-PAGE y algunas

bandas se seleccionaron para análisis por espectrometría MALDI-TOF, como se describe más abajo. Además de conservar las muestras individuales, se realizó un pool de los extractos concentrados de los 4 voluntarios sanos, obteniéndose una muestra con cantidad suficiente para la realización de las siguientes actividades. Las muestras de orN se almacenaron a -20°C.

Orinas de pacientes tuberculosis pulmonar (orTB)

Con respecto a la obtención de muestras clínicas, a través de la colaboración con la CHLA-EP, se obtuvieron muestras de orina de 8 pacientes con sospecha de TB pulmonar. Los pacientes fueron sometidos al algoritmo diagnóstico de la CHLA-EP (Figura 10), analizando las muestras de esputo por medio de cultivo bacteriológico y microscopía en todos los casos y por la metodología de GeneXpert (Cepheid, CA, USA) en el caso de 1 paciente que cumplía con el criterio de inclusión para el análisis por esa metodología. En 7 de 8 pacientes contamos con 3 muestras consecutivas de la primera orina de la mañana y en el paciente restante con una única muestra de primera orina (Tabla 3). Las muestras fueron tomadas en frasco estéril y al llegar al laboratorio se les agregó azida de sodio a una concentración final de 0,05%, y se almacenaron a -20°C.

Tabla 3. Muestras de orina de pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar

Paciente ID	Código del ensayo	TB en orina	Diagnóstico de laboratorio	Diagnóstico clínico	Volumen (mL)	Vt (mL)
1	571428 571458 571494	Negativa Negativa Negativa	Cultivo + Microscopía +	TB pulmonar confirmada	35 35 12	82
2	573049 573050 572951	Negativa Negativa Negativa	Cultivo + Microscopía + Bacilífero moderado	TB pulmonar confirmada	35 35 35	105
3	571474 571475 571513	Negativa Negativa Negativa	Cultivo + Microscopía +	TB pulmonar confirmada	25 35 45	105
4	546084 546085 546086	Negativa Negativa Negativa	Cultivo + Microscopía + Bacilífero +++	TB pulmonar confirmada	5 40 40	85
5	572985 572986 572987	Negativa Negativa Negativa	Cultivo - Microscopía - GeneXpert +	TB pulmonar confirmada	12 12 12	36
6	547174	Negativa	Cultivo + Microscopía +	TB pulmonar confirmada	35	35
7	572998 572999 573000	Negativa Negativa Negativa	Cultivo - Microscopía -	TB pulmonar no confirmada TB por clínica	35 35 50	120
8	571421 571470 571462	Negativa Negativa Negativa	Cultivo - Microscopía -	TB descartada por diagnóstico de laboratorio y clínico	35 35 35	105

Vt: Volumen total

Las orinas fueron testeadas bacteriológicamente para la presencia de TB por medio de la inoculación de un tubo MGIT complementado con suplemento MGIT BD BACTEC (BD

Diagnostics, USA) durante 42 días a 37°C en equipo BD BACTEC™ MGIT™ (BD Diagnostics, USA). Luego de verificarse la ausencia de MTB en las muestras, las muestras se centrifugaron para precipitar células y restos celulares a 2000*xg* por 15 minutos a 4°C. Las proteínas del sobrenadante (orTB) se obtuvieron por concentración por ultrafiltración (factor de concentración 5 a 20 veces), utilizando dispositivos de centrífuga Macrosep Advance Omega con membrana de 3kDa de corte límite de masa molecular (Pall Corporation, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de proteínas totales antes y después de la concentración por ultrafiltración se determinó por medio de la técnica de Bradford [212]. Las muestras de orTB se almacenaron a -20°C.

Líquidos pleurales (LP)

Por medio de la colaboración con la CHLA-EP, se obtuvieron muestras de líquidos pleurales de 9 pacientes con derrame pleural, los que fueron sometidos a una serie de pruebas diagnósticas para confirmar o descartar tuberculosis pleural: cultivo bacteriológico, microscopía y dosificación de la enzima adenosina deaminasa (ADA). Se establece según el resultado de esta última técnica que un nivel de adenosina deaminasa mayor a 40 UI/L en la muestra de líquido pleural es indicativo de tuberculosis pleural [213]. Las muestras disponibles se categorizaron en 3 grupos según el resultado del cultivo y de la técnica de ADA (Tabla 4). Las muestras fueron tomadas en frasco estéril y se almacenaron a -80°C. Las muestras se centrifugaron a 10000*xg* por 30 minutos a 4°C. El sobrenadante fue filtrado a través de filtros de 0.2 µM de poro (Millipore, USA) y posteriormente fue testeado para verificar la ausencia de MTB por medio de la inoculación de un tubo MGIT complementado con suplemento MGIT BD BACTEC (BD Diagnostics, USA) durante 42 días a 37°C en equipo BD BACTEC™ MGIT™ (BD Diagnostics, USA). Luego de verificarse la esterilidad de las muestras, la concentración de proteínas en el sobrenadante filtrado se determinó por medio de la técnica de BCA, según instructivo del fabricante (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific, Cód. 23227) y por medio de la técnica de Bradford [212]. Las muestras de líquidos pleurales (LP) se almacenaron a -20°C.

Tabla 4. Muestras de líquidos pleurales de pacientes con sospecha de tuberculosis pleural

Grupo	Código de ensayo	ADA (UI/L)	Microscopía	Cultivo	Datos clínicos	Vol. (mL)
Grupo 1 ADA - Cultivo -	651475	5 (-)	Negativo	Negativo	Crisis bronco pulmonar	1.6
	596785	12 (-)	Negativo	Negativo	Sin datos	2.1
	630596	12 (-)	Negativo	Negativo	Micosis Micobacteriosis atípicas	2.6
Grupo 2 ADA + Cultivo -	595502	157 (+)	Negativo	Negativo	Infección bacteriana inespecífica	1
	595273	150 (+)	Negativo	Negativo	Empiema pleural	1.8
	595406	71 (+)	Negativo	Negativo	Neumonía aguda comunitaria Derrame pleural BK	2
Grupo 3 ADA + Cultivo +	595297	150 (+)	Negativo	Positivo	Derrame pleural	2
	644341	118 (+)	Negativo	Positivo	Infección inespecífica Neumococo en orina Derrame paraneoplásico	1.2
	647809	83 (+)	Negativo	Positivo	Derrame pleural paraneumónico	1.7

Generación de antisueros y anticuerpos policlonales

Protocolo de inmunización

Se inmunizaron 5 conejos New Zealand White (peso 2-2.5 kg) por vía subcutánea con un *priming* con 100 µg de CFP de *M. tuberculosis* H37Rv (n=2), 100 µg de CFP de *M. avium* (n=2) o 100 µg del extracto de proteínas humanas provenientes de orina de voluntarios sanos (orN) (n=1), seguido de un *booster* de 100 µg de cada antígeno a los 15 días y dos *boosters* adicionales de 50 µg de cada antígeno cada 3 semanas. Como fue descrito previamente los antígenos utilizados en las inmunizaciones fueron sometidos a filtración esterilizante y, en el caso de los antígenos obtenidos por cultivo bacteriano, la ausencia de micobacterias fue confirmada por medio de cultivo microbiológico. Los antígenos se emulsionaron a 200 µg/mL en una suspensión 1:1 en Adyuvante incompleto de Freund (Sigma F5506). De cada conejo se tomó una muestra de sangre (1 a 2 mL) antes de inmunizar, para obtención de suero preinmune, y previo a cada *booster* se tomaron muestras de 2 a 3 mL de sangre de la vena marginal de la oreja, para obtener suero inmune de cada tiempo del protocolo. Al finalizar el protocolo los conejos fueron sangrados y se preparó aprox. 50 mL de suero hiperinmune de cada conejo, según protocolo estándar [214]. El protocolo fue presentado ante la CHEA y autorizado por el Consejo de Facultad de Química según Expediente Nº 101900-000717-14 de fecha 04/09/2014. El protocolo de inmunización se resume en la Tabla 5.

Tabla 5. Protocolo de inmunización

Día	Etapa	Antígeno	Adyuvante	Muestra
0	Priming	100 µg	A.I.F.	Si
15	1° booster	100 µg	A.I.F.	Si
39	2° booster	50 µg	A.I.F.	Si
60	3° booster	50 µg	A.I.F.	Si
82	Finalización	N.C.	N.C.	Sangrado

A.I.F. Adyuvante incompleto de Freund. N.C. No corresponde

La concentración de proteínas totales en los sueros se determinó por medio de la técnica de BCA, según instructivo del fabricante (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific, Cód. 23227).

Purificación de Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas totales (Igs) se purificaron a partir un volumen de los sueros inmunes, colectados el día 82 del protocolo de inmunización, así como de un pool de sueros preinmunes derivado de las muestras obtenidas al día 0 de los 5 conejos utilizados, correspondiente a 300 mg de proteínas, utilizando una columna pre-empaquetada HiTrap rProtein A FF de 1 mL (GE Healthcare) en el equipo de cromatografía automatizado (AKTA – FPLC, GE Healthcare). La cromatografía se realizó según las instrucciones del fabricante y la elución de las Igs se siguió mediante medida de la Abs_{280nm}. Brevemente, se filtró un volumen de suero correspondiente a 300 mg de proteínas totales a través de filtros de 0.2 µM de poro (Millipore, USA), se diluyó

hasta 15 mL de volumen final en buffer de *binding* (buffer fosfato 20 mM pH=7,0) y se inyectó por medio de *loop* de carga en 3 rondas de 5 mL en la columna, a un flujo de 1ml/minuto. Al mismo flujo se pasaron al menos 10 volúmenes de columna (CV) de buffer de *binding*, hasta verificar valor estable y cercano a cero de Abs_{280nm}. Luego se eluyeron las Igs con 5 a 10 CV de buffer de elución (buffer citrato 0,1 M pH=3,5). Las Igs eluidas se colectaron sobre un volumen 1/10 de buffer de neutralización (buffer fosfato 1M pH=8,5) y se almacenaron a -20°C.

Evaluación de los anticuerpos purificados

La purificación de las Igs se analizó mediante la separación por electroforesis SDS-PAGE de 1 a 5 µL de cada fracción, en gel al 8 o 10% de acrilamida. Las muestras de las distintas fracciones de la purificación se diluyeron en buffer de siembra reductor y no reductor para SDS-PAGE. Los geles se tiñeron con colorante azul de Coomassie. Todos estos procedimientos se realizaron siguiendo protocolos de laboratorio estándar [215]. El marcador de peso utilizado fue PageRuler Prestained Protein Ladder, 10 a 180 kDa (Thermo Scientific, Cód. 26616). Para preparar los geles se utilizó una solución comercial de acrilamida al 30% (29% acrilamida: 1% bisacrilamida) (Applichem, Cód. 4983). La concentración de proteínas de las Igs purificadas se analizó mediante la técnica de BCA, según instructivo del fabricante (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific, Cód. 23227).

Obtención del par de anticuerpos para el ELISA de captura (sándwich)

Se generó un *pool* con una fracción de los anticuerpos policlonales específicos contra el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* derivados de los 2 conejos inmunizados con este antígeno, purificados como se describió anteriormente. Una parte de este pool de Igs purificadas fue formulada con una concentración final de azida de sodio 0.05% y glicerol 50%, y almacenada a -20°C. Esto corresponde al anticuerpo policlonal anti-TB captura. Otra parte del pool fue conjugada a biotina utilizando el reactivo de conjugación sulfo-NHS-LC-biotina (Thermo Scientific, Cód. 21335), según las instrucciones del fabricante. Al finalizar el protocolo de conjugación se desaló el anticuerpo conjugado contra buffer PBS utilizando una columna de Sephadex G-25 pre-empaquetada (PD-10 Desalting Columns, GE Healthcare Life Sciences, Cód. 17-0851-01), se formuló con una concentración final de azida de sodio 0.05% y glicerol 30%, y se almacenó a -20°C. Esto corresponde al anticuerpo policlonal de detección conjugado a biotina, denominado anti-TB biotinilado. La concentración de proteínas del anti-TB captura y anti-TB biotinilado fue determinada mediante la técnica de BCA, como fue previamente descrito. La conjugación fue evaluada mediante la técnica de *dot blot*, realizando diluciones seriadas en base 10 (hasta la dilución 10^{-6}) del anticuerpo anti-TB biotinilado preparado, de un control positivo comercial (anti- *M. tuberculosis* biotinilado, Thermo Fischer Scientific, Cód. PA173136) y utilizando como control negativo la misma serie de diluciones del anti-TB captura. Luego de sembrar 1 µL de cada dilución en una membrana de nitrocelulosa (Amersham Protran 0.45 µM NC, GE Healthcare, Cód. 10600002), y dejar secar al aire durante 30 minutos, se procedió a bloquear O.N. a 4°C con TBST, leche descremada 5%. Se lavó la membrana 3 veces con TBS, Tween 20 0.05% (TBST), con agitación moderada durante 5 minutos y se incubó 1 hora con agitación moderada con una dilución 1/1000 de estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) en TBST. Luego de lavar igual que antes, las membranas se incubaron con Pierce™ ECL Western Blotting Substrate (Thermo Fischer Scientific, Cód. 32106), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las imágenes se adquirieron con la cámara Synoptics 4.2MP acoplada al equipo

G:Box Chemi XT4 (Syngene, Cambridge, UK), utilizando tiempos de exposición incrementales y acumulativos. Los resultados se visualizaron con el *Software* GenSys (V1.3.3.0).

Depleción de anticuerpos con proteínas de E. coli

Los anticuerpos anti-TB (captura y biotinilado) fueron depletados de la reactividad inespecífica contra proteínas de *E. coli* por medio del protocolo de precipitación que se describe a continuación. Brevemente, se mezclaron volúmenes iguales de cada anticuerpo y del extracto de *E. coli*, diluidos en PBS para obtener una relación de concentración de 10 a 1 y se incubaron con agitación moderada durante 2 horas a 37°C. Se centrifugaron los tubos a 10.000*xg* por 20 minutos a T.A. Al sobrenadante obtenido se agregó otro volumen de extracto de *E. coli*, con la mitad de concentración que la utilizada inicialmente, y se repitieron los pasos de incubación y centrifugación. Este procedimiento se repitió 2 veces más, utilizando cada vez una dilución con la mitad de concentración del extracto de *E. coli*, que el utilizado en el paso anterior. El último sobrenadante de cada reacción, correspondiente a los anticuerpos depletados, se almacenó a -20ºC.

Seguimiento de la reactividad de los sueros y anticuerpos policlonales

La reactividad de los sueros hiperinmunes y de los anticuerpos purificados y de los anticuerpos biotinilados fue evaluada por medio de las técnicas de *western blot* y ELISA como se describen a continuación.

Western blot para evaluación de sueros y anticuerpos

Las muestras de CFP de *M. tuberculosis*, CFP de *M. avium* y extracto de proteínas humanas orN utilizadas en el protocolo de inmunización fueron diluidas en buffer de siembra reductor para SDS-PAGE y se sembraron 5 µg de cada una en gel de 15% SDS-PAGE. Otras muestras utilizadas en la evaluación por *western blot* de los anticuerpos purificados fueron el lipoarabinomanano purificado (LAM), MPT32 (Apa, Rv1860) purificada a partir de sobrenadante de cultivo, ESAT-6 recombinante (EsxA, Rv3875), Ag85A recombinante (FbpA, Rv3804), GlnA1 recombinante (Rv2220) y las proteínas fosfatasas en tirosina PtpA (Rv 2234) y PtpB (Rv0153c). La procedencia de estas muestras se describió en la sección Proteínas y antígenos. Las diferentes muestras se separaron por electroforesis desnaturalizante y los geles fueron posteriormente transferidos a membrana de nitrocelulosa (Amersham Protran 0.45 µM NC, GE Healthcare, Cód. 10600002) por 2 horas a 200 mA. Las membranas fueron bloqueadas con TBS, Tween 20 0.05%, leche descremada 0.5% con agitación moderada, durante al menos 1 hora. Las membranas se cortaron según los carriles individuales, y se incubaron con los distintos sueros del protocolo de inmunización en dilución 1/500 en TBST con agitación moderada durante 1 hora. Posteriormente las membranas se lavaron 6 veces durante 5 minutos con TBST, con agitación moderada, y luego se incubaron con una dilución 1/5000 en TBST de anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545) con agitación moderada durante 1 hora. Luego de lavar igual que antes, las membranas se incubaron con Pierce™ ECL Western Blotting Substrate (Thermo Fischer Scientific, Cód. 32106), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las imágenes se adquirieron con la cámara Synoptics 4.2MP acoplada al equipo G:Box Chemi XT4 (Syngene, Cambridge, UK), utilizando tiempos de exposición incrementales y acumulativos. Los resultados se visualizaron con el *Software* GenSys (V1.3.3.0). En el caso de los anticuerpos purificados el procedimiento se realizó de igual manera, modificando según la señal obtenida la

dilución de los mismos (rango de concentración ensayado: 5000 a 25000 ng/mL). En el caso de los anticuerpos biotinilados el rango de dilución ensayado para los mismos fue de 500 a 4000 ng/mL, y el anticuerpo secundario se sustituyó por una dilución de estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) en TBST, en un rango de dilución entre 1/1000 y 1/4000.

ELISA para evaluación de sueros y anticuerpos

Se sensibilizaron placas de ELISA (Enhanced Binding, Thermo) O.N. a 4°C, con 100 µL por pozo de una solución de 1 µg/mL de antígeno (CFP de *M. tuberculosis*, CFP de *M. avium* o extracto de proteínas orN) en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6. Al otro día se descartó la solución de sensibilización, se lavaron las placas 3 veces con PBS, Tween 20 0.05% y se bloquearon con 200 µL por pozo de solución de bloqueo (PBS, Tween 20 1%) durante 1 hora a 37°C. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBS, Tween 20 0.05%. Los sueros obtenidos en el protocolo de inmunización y los anticuerpos purificados fueron diluidos en diluciones seriadas al décimo o al quinto (rango de dilución ensayado 1/100 a 1/100000) en PBS, Tween 20 0.05%. Se sembraron 100 µL por pozo de cada dilución y se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se descartaron las diluciones de los sueros y se lavaron las placas 3 veces con PBS, Tween 20 0.05%. Se sembraron 100 µL por pozo de una dilución 1/20000 del Anticuerpo secundario (Anti- IgG de conejo (H&L) – HRP (Calbiochem, Cód. 401315)) en PBS, Tween 20 0.05% y se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se descartó el anticuerpo secundario y se lavaron las placas 3 veces con PBS, Tween 20 0.05%. Se agregó 100 µL por pozo con solución estabilizada de sustrato con TMB y peróxido de hidrógeno (ATGen Diagnóstica) y se incubaron las placas por 20 minutos a T.A. Para frenar la reacción se agregaron 50 µL por pozo de H_2SO_4 2N. Se realizó la lectura de la Absorbancia a 450 nm, en lector de placas de ELISA (Multiskan EX, Thermo). En todas las incubaciones las placas se taparon para evitar la evaporación.

Generación de resinas de afinidad

Se generaron resinas de afinidad con los anticuerpos policlonales purificados anti-MTB y anti-orN. Para ello se evaluaron 2 resinas de agarosa pre-activada: agarosa activada con bromuro de cianógeno (CNBr-activated Sepharose 4 Fast Flow, GE) y agarosa activada con N-hidroxisuccinimida (NHS-activated Sepharose 4 Fast Flow, GE). En ambos casos se siguió un protocolo de acoplamiento de 5 mg de proteína por ml de resina, con los detalles que se describen a continuación.

En el caso del acoplamiento covalente a la agarosa-CNBr los 5 mg de anticuerpos purificados se dializaron O.N. a 4°C contra buffer de acoplamiento (NaHCO3 0.1M pH 8.3, NaCl 0.5M) y se agregaron a 1 mL de resina preparada según el procedimiento descrito por el proveedor. El *slurry* se incubó O.N. a 4°C con agitación moderada, luego de lo cual se volcó en columna vacía de volumen adecuado (Column PD-10, Empty, GE). Se dejó drenar la fracción no unida y se lavó con 5 CV de buffer de acoplamiento. Posteriormente se bloquearon los grupos reactivos disponibles con buffer Tris HCl 0.1M pH 8.0 O.N. a 4°C y luego se procedió al lavado de los ligandos no unidos por medio del agregado de 5 CV de buffer acetato (NaOAc 0.1M pH 4.0, NaCl 0.5M) seguido de 5 CV de buffer Tris HCl pH 8.0, NaCl 0.5M. Este procedimiento de lavado se repitió 3 veces, previo al almacenamiento de la columna con etanol 20% a 4°C. En el caso del acoplamiento covalente a la agarosa-NHS el protocolo utilizado fue muy similar, con la diferencia que el acoplamiento de las Igs dializadas con la resina se realizó durante 2 horas a temperatura ambiente y que se realizó 6 veces el protocolo de lavado de los ligandos no unidos. En ambos casos la unión de las

Igs y las rondas de lavado se evaluaron mediante la medida de la Abs_{280nm}. Adicionalmente, se realizó el seguimiento de las Igs ofrecidas, no unidas y lavadas mediante separación por electroforesis SDS-PAGE de 10 µL de cada fracción, en gel al 10% de acrilamida, en condiciones no reductoras.

Purificación de las muestras con resinas de afinidad

Las resinas de afinidad anti-orN generada por conjugación a CNBr o NHS se utilizaron para retener proteínas de orina y no retener las proteínas de MTB presentes en la muestra. Para ello, se equilibraron las columnas con 5 CV de buffer PBS y luego se sembró un volumen de muestra de orTB concentrada, correspondiente a aprox. 1 mg de proteína. Se agregó PBS para eluir las proteínas no unidas en un volumen total de 2 CV (*flowthrough*) y luego se agregó 1.5 CV de buffer de elución (Glicina 100 mM pH 2.5). Se reequilibró con 10 CV de PBS y luego se agregó el *flowthrough* de la cromatografía, repitiendo la elución de proteína no unidas con PBS y la elución de proteínas unidas con buffer de elución. Esto se hizo 4 veces en total y se fue monitoreando la cromatografía mediante medida de Abs_{280nm} hasta verificar que el valor se mantuviera estable tanto en el *flowthrough* como en el eluido. El *flowthrough* final se concentró hasta 20 veces, utilizando dispositivos de centrífuga Macrosep Advance Omega con membrana de 3kDa de corte límite de masa molecular (Pall Corporation, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las resinas de afinidad anti-MTB generada por conjugación a CNBr o NHS se utilizaron para retener proteínas MTB a partir de muestras de orina. Para ello, se equilibraron las columnas con 10 CV de buffer PBS y luego se sembró un volumen de muestra de orTB concentrada, correspondiente a aprox. 1 mg de proteína y se dejó interaccionar con la columna cerrada durante 30 minutos. Se agregó PBS para eluir las proteínas no unidas en un volumen total de 10 CV que se fue colectando en diferentes fracciones de 1 mL (*flowthrough* y lavado) y luego se agregaron 3 CV de buffer de elución (Glicina 100 mM pH 2.5) y se dejó interaccionar con la columna cerrada durante 10 minutos. Finalmente se colectó el eluido en diferentes fracciones de 1 mL sobre 100 µL de buffer Tris 1M pH 8.5 para neutralizar el pH del eluido. Se reequilibró con 10 CV de PBS y se controló que el pH fuera 7.5. La cromatografía fue monitoreada mediante medida de Abs_{280nm} hasta verificar que el valor se mantuviera estable tanto en el lavado como en el eluido. El eluido total se concentró entre 10 y 20 veces, utilizando dispositivos de centrífuga Macrosep Advance Omega con membrana de 3kDa de corte límite de masa molecular (Pall Corporation, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

En todos los casos previo a utilizar las columnas se realizó una corrida en blanco mediante el pasaje de 5 CV de PBS, 5 CV de buffer de elución y 5 CV de PBS hasta verificar que el valor del pH fuera de 7.5 y la Abs_{280nm} fuera estable y cercana a 0.

Las distintas fracciones de la purificación con resinas de afinidad de las muestras de orTB fueron analizadas mediante electroforesis 1D como se detalla más adelante.

Análisis electroforético de las muestras

Electroforesis 1D

Las diferentes muestras de CFP de *M. tuberculosis* y *M. avium,* así como las muestras de orina (orN y orTB) y de líquido pleural se analizaron por electroforesis en gel desnaturalizante (1D). Para ello se diluyeron en buffer de siembra reductor para SDS-PAGE y se sembraron en geles de SDS-PAGE al 15% de acrilamida, los que posteriormente fueron teñidos por medio de tinción de

nitrato de plata, o con colorante azul de Coomassie. Estas técnicas se realizaron siguiendo protocolos de laboratorio estándar [215]. Los marcadores de peso utilizados fueron PageRuler Prestained Protein Ladder, 10 a 180 kDa (Thermo Scientific, Cód. 26616), PageRuler™ Plus Prestained 10-250kDa (Thermo Scientific, Cód. 26619), PageRuler™ Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific, Cód. 26614) y ColorPlus™ Prestained Protein Ladder, Broad Range 7-175 kDa (NEB, Cód. P7709s). Para preparar los geles se utilizó una solución comercial de acrilamida al 30% (29% acrilamida: 1% bisacrilamida) (Applichem, Cód. 4983).

Electroforesis 2D

Se analizó por medio de electroforesis 2D una muestra compuesta, obtenida a partir del sobrenadante de 2 cultivos independientes de *M. tuberculosis*. También se analizaron por electroforesis 2D 3 muestras de orina de pacientes con TB pulmonar confirmada (orTB1, orTB2 y orTB3). En todos los casos se purificó y concentró un volumen de muestra correspondiente a 50 µg de proteínas usando el kit 2-D Clean-Up (GE Healthcare) y se resuspendieron en 125 µl de solución de rehidratación (urea 7M, tiourea 2M, CHAPS 2%, IPG Buffer 3-10 0,5%, DTT 20 mM, azul de bromofenol 0,002%). En todos los casos se corrieron en paralelo dos experimentos de 2D con las mimas condiciones, de forma de obtener un gel para tinción con plata y una membrana para análisis por *western blot*. Las proteínas en solución de rehidratación se sembraron en una tira IPG Strips 3-10 de 7 cm (GE Healthcare) por medio de rehidratación pasiva durante 12 horas. Las tiras fueron sometidas a la primera dimensión de separación (isoelectroenfoque) utilizando el sistema Ettan IPGphor 3 IEF (GE Healthcare) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los puentes disulfuro fueron reducidos con 10 mg/mL de ditiotreitol y posteriormente alquilados con 25 mg/mL de iodoacetamida. La segunda dimensión de separación (electroforesis SDS-PAGE) se realizó en geles de poliacrilamida al 15% de 10x10x0.1cm. Para el gel teñido con plata se siguió el mismo protocolo estándar que se describió previamente[215]. Para el análisis por *western blot* las proteínas del gel corrido en paralelo fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Amersham Protran 0.45 µM NC, GE Healthcare, Cód. 10600002) por 1 hora a 400 mA. Las membranas fueron bloqueadas con TBS (Tris-HCl 50 mM, NaCl 150 mM, pH=8), Tween 20 0.05%, leche descremada 0.5% con agitación moderada, durante al menos 1 hora.

Western blot

Se utilizaron los antisueros y anticuerpos policlonales generados (anti-MTB, anti-*M. avium* y anti-orN) para identificar bandas y *spots* inmunoreactivos en membranas de nitrocelulosa (Amersham Protran 0.45 µM NC, GE Healthcare, Cód. 10600002) obtenidas por transferencia, por 1 hora a 400 mA o 2 horas a 200 mA, de geles obtenidos por electroforesis desnaturalizante en 1D o en 2D de los diferentes tipos de muestras analizadas. Las membranas fueron bloqueadas con TBS, Tween 20 0.05%, leche descremada 0.5% con agitación moderada, durante al menos 1 hora. Posteriormente, las membranas se incubaron durante 1 hora a T.A. con agitación moderada con los antisueros y anticuerpos primarios correspondientes, diluidos a una concentración final de 10000 ng/mL en TBST. Luego, las membranas se lavaron 6 veces durante 5 minutos con TBST, con agitación moderada y luego se incubaron con una dilución 1/2500 en TBST de anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545), con agitación moderada durante 1 hora. Luego de lavar igual que antes, las membranas se incubaron SuperSignal™ West Pico PLUS Chemiluminescent Substrate (Thermo Fischer Scientific, Cód.

34577), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las imágenes se adquirieron con la cámara Synoptics 4.2MP acoplada al equipo G:Box Chemi XT4 (Syngene, Cambridge, UK), utilizando tiempos de exposición incrementales y acumulativos. Los resultados se visualizaron con el *Software* GenSys (V1.3.3.0). Para la detección de la proteína Ag85C en el sobrenadante de cultivo de MTB se siguió el mismo procedimiento que el descrito previamente con las siguientes diferencias: se utilizó como anticuerpo primario el anticuerpo monoclonal anti-Ag85C (HYT 27, Santa Cruz, Cód. Sc-57611) en dilución 1/200 en TBST y como anticuerpo secundario el anticuerpo anti–IgG de ratón conjugado a HRP (Santa Cruz, Cód. sc-2005) en dilución 1/2500 en TBST.

Métodos basados en ELISA para detección de antígenos de M. tuberculosis

Se ensayaron las siguientes metodologías de ELISA con el fin de evaluar la presencia de antígenos de MTB en las muestras cínicas (orinas y líquidos pleurales): ELISA de captura o sándwich, ELISA directo y ELISA competitivo. Cada metodología implicó una etapa de puesta a punto por lo que las diluciones de soluciones de sensibilización, de las muestras, del anticuerpo anti-TB captura, del anticuerpo anti-TB biotinilado y de la estreptavidina-HRP en muchos casos se expresan como un rango, según lo que fue ensayado. Por otro lado, se ensayaron diferentes buffers y aditivos en la etapa de bloqueo, en los lavados y para las diluciones de las muestras y del anticuerpo anti-TB biotinilado. En este caso, se detallan únicamente las condiciones seleccionadas. La curva de calibración y las muestras a analizar se ensayaron por triplicado en cada experimento de ELISA. En todos los casos se incluyó un blanco, correspondiente a la solución de dilución de las muestras. Cuando se analizaron muestras se incluyó un control de recuperación (*spike*) que se realizó agregando a una muestra negativa el estándar de TB a una concentración de 1000 ng/mL. Se calculó el % de recuperación del *spike* como el cociente entre el valor de concentración de la muestra con *spike* menos el valor de concentración de la misma muestra sin *spike*, y el valor de concentración teórico del *spike*. Este control se realiza para verificar que los componentes de la muestra a analizar no interfieran con la señal. En todas las incubaciones, tanto a 4°C, a T.A. como a 37°C, las placas se taparon con film para evitar la evaporación. En el caso del ELISA sándwich y directo el límite de detección (LOD) de la técnica se determinó mediante la interpolación o extrapolación en la curva de calibración obtenida de la media del blanco más 3 desviaciones estándar de dicha medida. En el caso del ELISA competitivo el LOD se calculó de igual forma, pero restando 3 desviaciones estándar al valor del blanco. A continuación, se detallan brevemente las 3 metodologías de ELISA directo ensayadas.

ELISA de captura (sándwich)

Se sensibilizaron placas de ELISA (Enhanced Binding, Thermo) O.N. a 4°C, con 50 µL por pozo de una solución de 8 µg/mL de anticuerpo anti-TB captura en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6. Al otro día se descartó la solución de sensibilización, se lavaron las placas 3 veces con agua MilliQ y se bloquearon con 300 µL por pozo de solución de bloqueo (PBS, BSA 1%, Tween 20 0.5%) durante 1 hora a 37°C. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBS, Tween 20 0.05% (PBST). Se preparó la curva de calibración realizando diluciones del Estándar de TB (proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*) en PBST, para lograr 8 puntos de concentraciones (rango ensayado entre 3000 ng/mL y 0 ng/mL). Se sembraron 50 µL por pozo de cada dilución de la curva. Las muestras (orN, orTB, LP y el extracto de *E. coli*) se diluyeron en PBST, ensayándose, según el caso concentraciones entre 300 ng/mL y

100 µg/mL, y se sembraron 50 µL por pozo. Luego de sembrar la curva y las muestras se incubaron las placas 2 horas a 37°C. Se descartaron las muestras y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se sembraron 50 µL por pozo de una dilución del anticuerpo anti-TB conjugado a biotina (tanto el anticuerpo biotinilado sin depletar como el depletado con proteínas de *E. coli*) en diluciones en el rango entre 100 y 2000 ng/mL en PBS, Tween 20 0.5%. Se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se descartó el anticuerpo biotinilado y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo de diluciones en el rango entre 1/2500 y 1/10000 de estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) en PBST y se incubaron las placas por 1 hora a T.A en oscuridad. Se descartó la estreptavidina-HRP y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo con solución estabilizada de sustrato con TMB (ATGen Diagnóstica) y se incubaron las placas por 30 minutos a T.A. en oscuridad. Para frenar la reacción se agregaron 25 µL por pozo de HCl 1N. Se realizó la lectura de la Absorbancia a 450 nm, en lector de placas de ELISA (Multiskan FC, Thermo Scientific). Para obtener la curva de calibración se graficó el valor de la Abs_{450nm} de cada punto de la curva en relación al logaritmo de la concentración del mismo. Se interpolaron los valores de Abs_{450nm} de las muestras utilizando la ecuación de la curva de calibración para obtener el valor de concentración de antígeno de TB en las muestras.

ELISA directo

Se sensibilizaron placas de ELISA (Enhanced Binding, Thermo) O.N. a 4°C, con 50 µL por pozo de una solución de 8 µg/mL o 20 µg/mL de cada muestra a analizar (orN, orTB y LP) en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6. En el caso de las proteínas recombinantes y antígenos disponibles, así como el extracto de *E. coli,* la solución de sensibilización se realizó a 1 µg/mL y el resto del procedimiento se realizó de la misma manera. Además, se preparó la curva de calibración realizando diluciones del Estándar de TB en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6, para lograr 8 puntos de concentraciones (rango ensayado entre 3000 ng/mL y 0 ng/mL) con la que sensibilizó de igual forma. Al otro día se descartaron las soluciones de sensibilización, se lavaron las placas 3 veces con agua MilliQ y se bloquearon con 300 µL por pozo de solución de bloqueo (PBS, BSA 1%, Tween 20 0.5%) durante 1 hora a 37°C. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se sembraron 50 µL por pozo de una dilución del anticuerpo anti-TB conjugado a biotina, tanto el anticuerpo biotinilado sin depletar como el depletado con proteínas de *E. coli*, en diluciones en el rango entre 1000 a 2000 ng/mL en PBS, Tween 20 0.5%. Se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se descartó el anticuerpo biotinilado y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo de una dilución 1/3750 de estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) en PBST y se incubaron las placas por 1 hora a T.A en oscuridad. Se descartó la estreptavidina-HRP y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo con solución estabilizada de sustrato con TMB (ATGen Diagnóstica) y se incubaron las placas por 30 minutos a T.A. en oscuridad. Para frenar la reacción se agregaron 25 µL por pozo de HCl 1N. Se realizó la lectura de la Absorbancia a 450 nm, en lector de placas de ELISA (Multiskan FC, Thermo Scientific). Para obtener la curva de calibración se graficó el valor de la Abs_{450nm} de cada punto de la curva en relación a la concentración del mismo. Para el análisis de las muestras se tomaron en cuenta los valores de Abs_{450nm} de cada pozo, al que se le sustrajo el valor del blanco y se graficaron según las categorías de muestras analizadas. Los rangos de los valores para cada categoría fueron comparados mediante el test de Mann-Whitney no paramétrico, no pareado, para un nivel de confianza del 95%. En el caso de las orinas, donde había un número mayor de muestras se determinó el promedio de los valores de las muestras

negativas (orN) y su desviación estándar y se determinó el valor de *cut-off* con el que comparar los valores de Abs_{450nm} de las muestras de los pacientes (orTB).

ELISA competitivo

En base al protocolo de la referencia [216] se realizaron las siguientes modificaciones. Brevemente, se sensibilizaron placas de ELISA (Enhanced Binding, Thermo) O.N. a 4°C, con 50 µL por pozo de una dilución a 0.5 o 1 µg/mL del Estándar de TB en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6. Al otro día se descartaron las soluciones de sensibilización, se lavaron las placas 3 veces con agua MilliQ y se bloquearon con 300 µL por pozo de solución de bloqueo (PBS, BSA 1%, Tween 20 0.5%) durante 1 hora a 37°C. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBST. En paralelo se prepararon las muestras a una concentración de 8 µg/mL y la curva de calibración por diluciones del Estándar de TB (8 diluciones en el rango entre 3000 ng/mL y 0 ng/mL) en PBST. A cada una de estas diluciones preparadas en tubos se agregó anticuerpo anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli* a una concentración final de 1000 ng/mL y se incubaron durante 1 hora a 37°C con agitación. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se sembraron 50 µL por pozo de las muestras incubadas con el anticuerpo anti-TB biotinilado y se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo de una dilución 1/3750 de estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) en PBST y se incubaron las placas por 1 hora a T.A en oscuridad. Se descartó la estreptavidina-HRP y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo con solución estabilizada de sustrato con TMB y peróxido de hidrógeno (ATGen Diagnóstica) y se incubaron las placas por 30 minutos a T.A. en oscuridad. Para frenar la reacción se agregaron 25 µL por pozo de HCl 1N. Se realizó la lectura de la Absorbancia a 450 nm, en lector de placas de ELISA (Multiskan FC, Thermo Scientific). Para obtener la curva de calibración se graficó el valor de la Abs_{450nm} de cada punto de la curva en relación al logaritmo de la concentración del mismo. Se interpolaron los valores de Abs_{450nm} de las muestras utilizando la ecuación de la curva de calibración para obtener el valor de concentración de antígeno de TB en las muestras. Los rangos de los valores para cada categoría fueron comparados mediante el test de Mann-Whitney, no pareado, para un nivel de confianza del 95%.

ELISA indirecto para detección de anticuerpos contra M. tuberculosis

Se analizaron las muestras de orina y líquidos pleurales por medio de un ELISA indirecto para evaluar la presencia de anticuerpos IgG contra *M. tuberculosis*. Para ello, se sensibilizaron placas de ELISA (Enhanced Binding, Thermo) O.N. a 4°C, con 50 µL por pozo de una solución de 10 µg/mL del Estándar de TB en buffer carbonato-bicarbonato 100mM pH=9.6. Al otro día se descartaron las soluciones de sensibilización, se lavaron las placas 3 veces con agua MilliQ y se bloquearon con 300 µL por pozo de solución de bloqueo (PBS, BSA 1%, Tween 20 0.5%) durante 1 hora a 37°C. Se descartó la solución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se sembraron 50 µL por pozo de una dilución de las muestras a analizar de 2 u 8 µg/mL en PBST, por triplicado. También se sembró el diluyente de las muestras por triplicado (blanco). Se incubaron las placas 1 hora a 37°C. Se descartaron las muestras y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo de una dilución 1/10000 del anticuerpo anti-IgG humana conjugado a HRP (Meridian, G5G16-0482) en PBS, Tween 20 0.5% y se incubaron las placas por 1 hora a T.A en oscuridad. Se descartó el anticuerpo secundario y se lavaron las placas 3 veces con PBST. Se agregó 50 µL por pozo con solución estabilizada de sustrato con TMB y peróxido

de hidrógeno (ATGen Diagnóstica) y se incubaron las placas por 60 minutos a T.A. en oscuridad. Para frenar la reacción se agregaron 25 µL por pozo de HCl 1N. Se realizó la lectura de la Absorbancia a 450 nm, en lector de placas de ELISA (Multiskan FC, Thermo Scientific). En todas las incubaciones las placas se taparon para evitar la evaporación. Para el análisis de las muestras se tomaron en cuenta los valores de Abs_{450nm} de cada pozo, al que se le sustrajo el valor del blanco.

Identificación de proteínas por MALDI-TOF/TOF.

Bandas y *spots* derivados de geles de electroforesis de 1D o 2D, ya sea de muestras clínicas o de sobrenadante de cultivo, fueron seleccionados para ser analizados por espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF, lo que se realizó en UByPA, Institut Pasteur de Montevideo. Las fracciones de gel seleccionadas fueron sometidas a alquilación de las cisteínas por incubación con agitación a 1000 rpm en bloque agitador (Thermomixer R, Eppendorf) durante 1 hora a 56°C con 10 mM de DTT (ditiotreitol), seguido de la incubación con agitación a 350 rpm en el mismo bloque agitador con 55 mM de IAA (iodoacetamida) por 45 minutos a T.A., como fue previamente descrito [217]. La digestión de las proteínas en el gel fue realizada por medio de la incubación O.N. a 37°C con 0.5 µg de tripsina (Sequencing grade, Promega, Cód. V5111) en buffer bicarbonato de amonio pH=8. Los péptidos se extrajeron del gel por medio de un protocolo estándar con 0.1% de TFA (ácido trifluoroacético) en 60% ACN (acetonitrilo) [217]. Las muestras se secaron por medio de vacío utilizando un concentrador CentriVap Vacuum Concentrator (Labconco), se resuspendieron en 0.1% de TFA y se desalaron usando una columna C18 de 10 µL (OMIX tips, Agilent). Los péptidos de eluyeron de la columna con la solución de matriz (ácido α-ciano-4-hidroxicinámico en 60% acetonitrilo y 0.1% TFA) directamente sobre la placa de muestra para el MALDI. La adquisición de espectros se realizó en el espectrómetro de masas 4800 MALDI TOF/TOF (Abi Sciex) operado en modo reflector positivo. Los valores de los espectros fueron calibrados externamente utilizando una mezcla de péptidos estándar (Applied Biosystems). Una vez obtenidos los resultados de los espectros de los péptidos, en el mismo equipo se realizó la fragmentación MS/MS de iones precursores seleccionados. Con los resultados obtenidos se realizó la búsqueda en la base de datos (NCBInr 20150912) utilizando el programa Mascot (http://www.matrixscience.com) y seteando los siguientes parámetros: taxonomía no restringida, enzima tripsina con un posible sitio de corte salteado, oxidación de las metioninas (MetOx) y carboamidometilación de las cisteínas como modificaciones variables, tolerancia en el valor de los péptidos 0.05 Da y en la fragmentación MS/MS 0.4 Da. Se utilizó como criterio de identificación positiva la obtención por medio del algoritmo de búsqueda de un *score* significativo ($p<0.05$) para la proteína y la identificación de al menos un péptido con *score* significativo ($p<0.05$) [218].

Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa en tándem

Preparación de las muestras

Se realizaron diferentes ensayos para analizar: 1) el perfil proteómico del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* (CFP) incluyendo la identificación péptidos con sitios de O-glicosilación, 2) los perfiles proteómicos de muestras de orina de pacientes con TB pulmonar confirmada (Tabla 3) y voluntarios sanos en muestras enriquecidas en proteínas de bajo peso molecular, 3) las posibles proteínas derivadas de MTB en una de las muestras de orina (orTB2)

a partir de una región del gel que muestra reactividad con los anticuerpos anti-TB, 4) el perfil proteómico de 2 regiones de peso molecular específico obtenidas mediante separación electroforética de los líquidos pleurales disponibles (Tabla 4). La preparación de las muestras para los distintos ensayos se describe a continuación.

1) <u>Proteínas del sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis</u>

Para el análisis proteómico de sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa *en tándem* (LC MS/MS), dos réplicas técnicas de 25 µg del *pool* de CFP se cargaron por carril en un gel de electroforesis de SDS-PAGE 15% de acrilamida que se migró a 20 mA, hasta que el frente de corrida llegó al final del gel. El gel se fijó con una solución de etanol 40%, acético 10% durante 30 minutos con agitación y posteriormente se tiñó con solución de Azul de Coomassie coloidal G-250 (20% etanol, 8% sulfato de amonio, 0.8% ácido fosfórico, 0.08% Cooomasie blue G-250), siguiendo un protocolo estándar previamente descrito [219]. Se cortaron 6 secciones de cada carril (12 en total) de forma de obtener una densidad de proteínas equivalente en cada sección. Cada sección de gel fue descolorada por medio de 2 lavados con 50% ACN en 0.1 M de bicarbonato de amonio pH=8 por 20 minutos a T.A y un lavado final con 30% de ACN en 0.1 M de bicarbonato de amonio pH=8 por 20 minutos a T.A. Cuando se verificó la decoloración se retiró la solución de lavado, se agregó 100% ACN y se dejó secar a T.A. Luego cada sección fue sometida a alquilación de las cisteínas, digestión con tripsina y extracción, secado por vacío y purificación de los péptidos como se describió en la preparación de las muestras para la espectrometría MALDI TOF/TOF, con la diferencia que la elución de los péptidos de la columna C18 de 10 µL (OMIX tips, Agilent) se realizó con 50% ACN, 0.1% TFA, directamente sobre los viales de inyección del Orbitrap (Thermo Fischer Scientific). Las muestras se secaron por medio de vacío utilizando un concentrador CentriVap Vacuum Concentrator (Labconco) y se resuspendieron en 20 µL de 0.1% ácido fórmico (FA) en agua MilliQ. De cada preparación se cargaron 9 µL por corrida y todas las preparaciones fueron cargadas al menos 1 vez.

2) <u>Muestras de orinas enriquecidas en proteínas de bajo peso molecular</u>

Se procesaron 3 orinas de voluntarios sanos y la identificada con el número 8 de la Tabla 3 (orTB8) como controles negativos y las 6 orinas de pacientes con TB pulmonar confirmada, identificadas con los números del 1 al 6 en la Tabla 3 (orTB1, orTB2, orTB3, orTB4, orTB5 y orTB6). 20 mL de las muestras se centrifugaron utilizando un concentrador de 50 kDa de corte y 15 mL de volumen máximo por ronda (Amicon Ultra-15, Millipore), según las instrucciones del fabricante. El *flowthrough* de la centrifugación se concentró y diafiltró contra buffer bicarbonato de amonio 10 mM pH=8 realizando varias rondas de dilución y concentración en dispositivos de centrífuga Macrosep Advance Omega con membrana de 3kDa de corte límite de masa molecular (Pall Corporation, USA), según las instrucciones del fabricante, hasta un volumen final de 250 a 350 µL. La concentración de proteínas de las muestras se analizó mediante la técnica de BCA, como fue previamente descrito. Para el análisis proteómico, se partió de un volumen correspondiente a 10 µg de muestra en todos los casos, salvo para las muestras orTB1 y orTB2, en las cuales se partió de 6 µg de proteínas, dado que no se disponía de más cantidad. Las muestras se concentraron a 50 µL por medio de vacío utilizando un concentrador CentriVap Vacuum Concentrator (Labconco) y fueron sometidas a alquilación de las cisteínas y digestión con tripsina como se describió en la sección anterior. Posteriormente, los péptidos se desalaron

usando una columna C18 de 10 µL (OMIX tips, Agilent) y se eluyeron con 50% ACN, 0.1% TFA. Luego se concentraron a sequedad por medio de vacío como se describió previamente y se resuspendieron en un volumen de 0.1% FA en agua MilliQ para llevar a una concentración de proteínas de 0.5 µg/µL. Se depositaron en los viales de inyección del Orbitrap (Thermo Fischer Scientific). De cada muestra se cargaron 9 µL por corrida, es decir 4.5 µg de proteína. Todas las muestras fueron corridas al menos 1 vez. Una de las muestras (orTB4) fue procesada en dos oportunidades más de la misma manera, de forma de lograr 2 inyecciones independientes adicionales de 9 µg cada una.

3) <u>Muestras de líquidos pleurales con separación electroforética</u>

Los 9 líquidos pleurales de la Tabla 4 se sometieron a separación electroforética para analizar por LC MS/MS la región entre 35 y 40 KDa, y la región menor a 25 kDa. Para ello, se cargaron 30 µg de la muestra por carril y se sometió a separación electroforética en gel de SDS-PAGE 15% de acrilamida, que se migró a 20 mA hasta que el frente de corrida llegó al final del gel. El gel se fijó y se tiñó con Azul de Coomassie coloidal G-250, de la misma forma que se describió previamente para el análisis proteómico de las muestras de CFP de *M. tuberculosis*. Se cortaron 2 secciones del cada carril, una en la región entre 35 y 40 kDa y otra correspondiente a la región menor a 25 kDa. Cada sección de gel fue decolorada y luego sometida a alquilación de las cisteínas, digestión con tripsina y extracción, secado por vacío, purificación y desalado de los péptidos como se describió para el análisis proteómico de las muestras de CFP de *M. tuberculosis*. La elución de los péptidos de la columna C18 de 10 µL (OMIX tips, Agilent) se realizó con 50% ACN, 0.1% TFA, directamente sobre los viales de inyección del Orbitrap (Thermo Fischer Scientific). Las muestras se secaron por medio de vacío utilizando un concentrador CentriVap Vacuum Concentrator (Labconco) y se resuspendieron en 13 µL 0.1% FA en agua MilliQ. De cada preparación se cargaron 10 µL por corrida.

Condiciones de la corrida de LC MS/MS

Los péptidos trípticos obtenidos de la preparación de las muestras fueron separados usando un cromatógrafo nano-HPLC (UltiMate 3000, Thermo Scientific) acoplado en línea con un espectrómetro de masa cuadrupolar Q-Exactive Plus hybrid quadrupole-Orbitrap (Thermo Fischer Scientific). La mezcla de péptidos se inyectó y concentró en una columna trampa C18 de fase reversa de 75 µm diámetro interno, 20 mm largo, 100 Å de poro y 3 µm de tamaño de partícula (Acclaim PepMap 100, Thermo Scientific) y se separó en una columna de 75 µm diámetro interno y 49 cm de largo empaquetada de forma casera con una resina C18 de fase reversa de 120 Å de poro y 3 µm de tamaño de partícula (Reprosil-Pur, Dr. Maisch). El flujo cromatográfico se fijó en 250 nL/min. La fase móvil inicial (A) consistió en 0.1% FA en agua calidad LC/MS (Water, Optima LC/MS grade, Fischer Chemicals). La elución de los péptidos se logró por medio de un gradiente de 105 minutos en los cuales se pasó de 5% a 55% de fase móvil de elución (B): 0.1% FA y 80% ACN en agua calidad LC/MS. El espectrómetro de masas se operó en modo de adquisición de masas dependiente de los datos, con cambio automático entre los *scans* de MS y MS/MS. Los *scans* de MS fueron adquiridos a una resolución de 70K, con un control automático de ganancia (AGC) objetivo de 1×10^6 iones con una relación de m/z entre 200 y 2000, y fueron analizados con un tiempo máximo de inyección de 100 milisegundos (ms). Se utilizó la disociación por colisión de alta energía (HCD, *Higher-energy collision dissociation*) para la fragmentación de los péptidos fijándose la energía de colisión normalizada en 30. Los

scans de MS/MS se adquirieron según un método dependiente de datos top12, con una resolución de 17.5K y un AGC de 1×10^5 iones, en un tiempo máximo de inyección de 50 ms y una ventana de selección de 2.0 m/z. Se aplicó una lista dinámica de exclusión con una duración de exclusión dinámica de 45 s.

Análisis de los datos de LC MS/MS

Dependiendo del tipo de muestra ensayado, los datos fueron procesados y analizados de forma diferente. A continuación, se detallan las principales características de estos análisis, según del tipo de muestra

Sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis

La metodología empleada en este caso fue publicada en la revista PlosOne [220] (Anexo 2). A continuación se realiza un resumen de la misma.

Análisis y procesamiento de los datos crudos

Los datos crudos obtenidos luego del análisis LC-MS/MS (archivos *.raw*) se analizaron por medio del protocolo de análisis del *software* PatternLab for proteomics 4.0 (http://www.patternlabforproteomics.org) [221]. Se generó una base de datos de búsqueda tomando como base el proteoma (3993 proteínas) de la cepa *M. tuberculosis* de referencia (ATCC 25618/H37Rv, UP000001584) descargado de Uniprot (Versión: marzo de 2017) (https://www.uniprot.org/proteomes/). Se generó además la base de datos reversa de este proteoma, incluyendo 123 contaminantes comunes usando la herramienta de generación de bases de datos del PatternLab. Los archivos crudos (*raw*) se buscaron contra la base de datos generada usando el motor de búsqueda Comet [222] (2016.01rev.3) integrado al PatternLab, con los siguientes parámetros: tolerancia de masa del precursor 40 ppm; enzima: tripsina, especificidad de la enzima: semi-específica, sitios de corte salteados: 2; modificación variable: oxidación de las metioninas, modificación fija: carbamidometilación de las cisteínas. Los espectros de péptidos que presentaban coincidencia fueron luego filtrados usando el módulo procesador de búsqueda del *software* PatternLab (SEPro) de forma de obtener una tasa de descubrimiento falso (FDR, *false discovery rate*) menor al 1% a nivel de la proteína [223]. Los resultados se post-procesaron para aceptar sólo péptidos con 6 o más residuos y proteínas identificadas con al menos 2 espectros peptídicos diferentes. Las proteínas se agruparon de acuerdo al criterio de máxima parsimonia para identificar *clusters* de proteínas con péptidos compartidos y consolidar la lista mínima de proteínas diferentes [224].

Análisis de las proteínas y estimación de su abundancia

Los recuentos de espectros de las proteínas identificadas en cada réplica técnica fueron comparados estadísticamente por medio del test de los signos con rango de Wilcoxon para muestras pareadas, para un nivel de confianza del 95%. Las proteínas identificadas en cada réplica se compararon por medio de la generación de un diagrama de Venn de áreas proporcionales (BioVenn [225]), generándose una lista de proteínas comunes con la que se realizaron todos los análisis posteriores. Con el código Uniprot derivado del análisis con el módulo SEPro, se obtuvo el peso molecular, el largo, la secuencia completa, el nombre del gen, así como el locus identificador específico de *M. tuberculosis* (Rv) usando la herramienta Retrieve/ID mapping Tool del sitio web de Uniprot (https://www.uniprot.org/uploadlists/)

[226]. Para estimar la abundancia de las proteínas en la lista de proteínas, se utilizó el factor normalizado de abundancia espectral (NSAF, *Normalized Spectral Abundance Factor*) calculado en el *sofware* PatternLab. Este factor se calcula dividiendo la suma de los recuentos de espectros para cada proteína entre su largo, de forma de obtener el factor de abundancia espectral individual, el que luego es normalizado considerando el valor de dicho factor para todas las proteínas identificadas en la muestra [227,228]. Las proteínas identificadas se ordenaron de acuerdo a su NSAF y se obtuvieron los valores de NSAF correspondientes a los percentiles 75, 90 y 95. Se generaron los grupos de proteínas pertenecientes a cada uno de estos percentiles, los que se identificaron como $P_{75\%}$, $P_{90\%}$ and $P_{95\%}$, respectivamente. Se realizó el análisis de ontología génica (GO, *Gene Ontology*) de las proteínas utilizando la herramienta de clasificación génica David Gene Functional Classification Tool [229,230], usando la base de datos de componente celular (*Cellular Component Ontology*) y las proteínas totales de *M. tuberculosis* H37Rv (NCBI:txid83332) como *background*. Con este análisis se identificaron las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$) para las proteínas totales y las correspondientes a los grupos $P_{75\%}$, $P_{90\%}$, $P_{95\%}$. La categoría funcional de las proteínas comunes se obtuvo a partir de la secuencia del genoma de *M. tuberculosis* H37Rv (Release 3, 2018-06-05) del sitio web de Mycobrowser (https://mycobrowser.epfl.ch/) [187].

Predicción de la presencia de péptido señal y de hélices transmembrana.

Para identificar proteínas potencialmente secretadas, se utilizó el servidor SignalP 5.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/) para detectar la presencia de secuencias señal N-terminal en el set de proteínas comunes. Se seleccionó como tipo de organismo las bacterias Gram positivas. Este servidor permite predecir a partir de las secuencias proteicas la presencia de péptidos señal en todo tipo de organismo y clasificarlos en 3 tipos de péptidos señal: Sec/SPI (SP), Sec/SPII (LIPO) y Tat/SPI (TAT) [231]. En el resultado se muestra la predicción de cada tipo de péptido señal para cada proteína, reportando aquel que presenta la mayor probabilidad de ocurrencia, o en su defecto la ausencia de péptido señal. Si se predice la presencia de un péptido señal, también se reporta el sitio potencial de clivaje.

La presencia de hélices transmembrana se predijo mediante la utilización del algoritmo TMHMM 2.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/) [232,233]. Este algoritmo, basado en un modelo oculto de Markov (*hidden Markov model*), predice la presencia y el número de hélices transmembrana en base a la secuencia de aminoácidos de las proteínas.

Procesamiento de datos crudos para búsqueda de péptidos con O-glicosilación

Para el análisis de O-glicosilación los archivos *raw* fueron buscados en la base de datos que se describió previamente utilizando los mismos parámetros de búsqueda y agregando las siguientes modificaciones variables en los aminoácidos serina (S) o treonina (T): Hex =162.052824 Da, Hex-Hex=324.1056 Da, Hex-Hex-Hex=486.1584 Da. La masa monoisotópica de las pérdidas neutras de cada modificación se agregó al motor de búsqueda Comet según los valores definidos en la base de datos pública de Unimod (http://www.unimod.org/). Las búsquedas se realizaron para cada O-glicosilación de forma independiente, permitiendo hasta un máximo de 2 modificaciones por péptido. Los espectros de péptidos identificados fueron filtrados y post-procesados usando el módulo de análisis SEPro, usando los mismos parámetros que se describieron antes y las proteínas identificadas fueron agrupadas de acuerdo al criterio de máxima parsimonia, que fue previamente descrito [224].

Análisis de O-glicosilación de proteínas

Las proteínas que contenían péptidos O-glicosilados en ambas réplicas fueron comparadas por medio de la generación de un diagrama de Venn de áreas proporcionales (BioVenn [225]). De esta forma se obtuvo una lista de proteínas glicosiladas en ambas réplicas, para cada una de las modificaciones postraduccionales analizadas (Hex, Hex-Hex, Hex-Hex-Hex). Posteriormente se realizó un análisis manual de las proteínas modificadas comunes a ambas réplicas de forma de identificar péptidos modificados comunes, así como también sitios de glicosilación comunes. Como resultado de este análisis se generó una lista de las proteínas modificadas comunes, es decir proteínas que presentan el mismo péptido con el mismo tipo de modificación, en ambas réplicas. Esta lista fue considerada para los análisis subsiguientes. Se realizó el análisis de ontología génica (GO, *Gene Ontology*) de las proteínas glicosiladas utilizando la herramienta de clasificación génica David Gene Functional Classification Tool [229,230], usando las bases de datos de componente celular (CC), procesos biológicos (BP) y funciones moleculares (MF) y las proteínas totales de *M. tuberculosis* H37Rv como *background*. Con este análisis se identificaron las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$) para las proteínas modificadas comunes.

Análisis proteómico comparativo

La comparación de las proteínas comunes obtenidas en este estudio en relación a las identificas en el sobrenadante de cultivo de MTB en otros estudios proteómicos [188,234,235] fue visualizada gráficamente mediante diagramas de Venn (Venny 2.1, BioinfoGP [236]). La mediana del valor NSAF de las proteínas identificadas en los 4 estudios, en 3, 2 o sólo en este estudio fue comparada estadísticamente mediante el test de Mann-Whitney no pareado. La abundancia relativa, determinada para las proteínas del sobrenadante de cultivo en esta tesis, fue comparada con la abundancia relativa de proteínas calculada para las proteínas de *M. tuberculosis* reportada en un estudio previo que utilizó para la cuantificación el índice de abundancia de proteínas exponencialmente modificado (emPAI) [234].

Validación de la O-glicosilación

El mismo flujo de trabajo analítico descrito anteriormente para el procesamiento de los datos crudos obtenidos del análisis LC-MS/MS, así como para la búsqueda de péptidos O-glicosilados, se realizó utilizando los archivos de datos brutos depositados en el servidor de acceso libre ProteomeXchange Consortium con el identificador del conjunto de datos PXD000111 [217]. Este análisis se realizó para validar los péptidos modificados identificados en nuestro trabajo contra réplicas biológicas adicionales obtenidas en un trabajo previo que caracterizó exhaustivamente las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv [217].

Además, se realizaron búsquedas en algunos escaneos relevantes correspondientes a péptidos glicosilados, extraídos del complemento Mass Spectra File Browser del *software* Patternlab for Proteomics, en la utilidad MS/MS Ions Search del servidor Mascot (Matrix Science Limited [219]). La búsqueda se realizó contra la base de datos NCBIprot (AA) de todas las taxonomías. Los parámetros de búsqueda se definieron como tolerancia de masa peptídica: ± 10 ppm, tolerancia de masa MS / MS: ± 0.15 Da, enzima: tripsina, semi-específico, modificaciones fijas:

Carbamidometilo (C), modificaciones variables: Hex (ST), Hex (2) (ST), Hex (3) (ST), de acuerdo con el péptido buscado. Otros parámetros de búsqueda se establecieron según los valores predeterminados.

Muestras de orina

Análisis y procesamiento de los datos crudos

Los datos crudos obtenidos luego del análisis LC-MS/MS (archivos *.raw*) se analizaron por medio del protocolo de análisis del *software* PatternLab for proteomics 4.0 (http://www.patternlabforproteomics.org) [221]. Se generó una base de datos de búsqueda tomando como base el proteoma (3993 proteínas) de la cepa *M. tuberculosis* de referencia (ATCC 25618/H37Rv, UP000001584) sumada con el proteoma (71913 proteínas) de referencia de *Homo sapiens* (UP000005640), ambos descargados de Uniprot (Versión: marzo de 2017) (https://www.uniprot.org/proteomes/). Se generó además la base de datos reversa de estos proteomas, incluyendo 123 contaminantes comunes usando la herramienta de generación de bases de datos del PatternLab. Los archivos crudos (*raw*) se buscaron contra la base de datos generada usando el motor de búsqueda Comet [222] (2016.01rev.3) integrado al PatternLab, con los siguientes parámetros: tolerancia de masa del precursor 100 ppm; enzima: tripsina, especificidad de la enzima: semi-específica, sitios de corte salteados: 2; modificación variable: oxidación de las metioninas, modificación fija: carbamidometilación de las cisteínas. Los espectros de péptidos que presentaban coincidencia fueron luego filtrados usando el módulo procesador de búsqueda del *software* PatternLab (SEPro) de forma de obtener una tasa de descubrimiento falso (FDR, *false discovery rate*) menor al 1% a nivel de la proteína [223]. Los resultados se post-procesaron para aceptar sólo péptidos con 6 o más residuos. Las proteínas se agruparon de acuerdo al criterio de máxima parsimonia para identificar *clusters* de proteínas con péptidos compartidos y consolidar la lista mínima de proteínas diferentes [224].

Análisis y clasificación ontológica de las proteínas identificadas

Se generó un proyecto dentro del *sofware* PatternLab for Proteomics incluyendo las proteínas identificadas en los controles y en las muestras de pacientes con TB pulmonar confirmada, seleccionando en la generación del proyecto el análisis únicamente de proteínas agrupadas según el criterio de máxima parsimonia. Se generaron 2 grupos: grupo controles sanos y grupo pacientes con TB pulmonar. Las proteínas identificadas en cada grupo se compararon por medio de la utilidad de generación de diagramas de Venn de áreas proporcionales disponible en el programa PatternLab for Proteomics, obteniéndose la lista de proteínas comunes a cada grupo. Se realizó el análisis de ontología génica (GO-Slim Biological Process y GO-Slim Molecular Function) de las proteínas presentes en los grupos control y TB pulmonar, utilizando la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System [237]. Algunos IDs de proteínas que no son reconocidos por la aplicación se curan manualmente para sustituirlos por IDs actualizados, correspondientes a proteínas homólogas reconocidas por el programa. Se utilizó la base de datos de procesos biológicos y de funciones moleculares, y las proteínas totales de *H. sapiens* (referencia) como *background*. Con este análisis se identificaron las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$) para las proteínas comunes al grupo control y al grupo TB pulmonar. Para estimar la abundancia de las proteínas en la lista de proteínas de cada uno de los 2 grupos, se utilizó el recuento de espectros de péptidos totales visualizado en el

sofware PatternLab [221]. La abundancia de cada proteína identificada (según el criterio de máxima parsimonia), calculada como el promedio del recuento de espectros para dicha proteína en cada grupo, se comparó por medio de la utilidad ACFold del programa PatternLab [238]. Esta herramienta permite generar diagramas de dispersión del tipo Volcano Plot en el que se grafica las veces de cambio de una proteína individual (*fold change*) *versus* el valor de probabilidad *p* del cambio observado. Se utilizó la herramienta Clustergram (beta) del programa PatternLab para visualizar la asociación de las muestras en *clusters* jerárquicos.

Muestras de líquido pleural

Análisis y procesamiento de los datos crudos

Los datos crudos obtenidos luego del análisis LC-MS/MS (archivos *.raw*) se analizaron por medio del protocolo de análisis del *software* PatternLab for proteomics 4.0 (http://www.patternlabforproteomics.org) [221]. Se utilizó la base de datos generada para el análisis de las muestras de orina, conteniendo proteínas de *M. tuberculosis* y *Homo sapiens*, que se describió previamente. Los archivos crudos (*raw*) se buscaron contra la base de datos usando el motor de búsqueda Comet [222] (2016.01rev.3) integrado al PatternLab, con los siguientes parámetros: tolerancia de masa del precursor 40 ppm; enzima: tripsina, especificidad de la enzima: semi-específica, sitios de corte salteados: 2; modificación variable: oxidación de las metioninas, modificación fija: carbamidometilación de las cisteínas. Los espectros de péptidos que presentaban coincidencia fueron luego filtrados usando el módulo procesador de búsqueda del *software* PatternLab (SEPro) de forma de obtener una tasa de descubrimiento falso (FDR, *false discovery rate*) menor al 1% a nivel de la proteína [223]. Los resultados se post-procesaron para aceptar sólo péptidos con 6 o más residuos y sólo proteínas identificadas con 2 o más péptidos diferentes. Las proteínas se agruparon de acuerdo al criterio de máxima parsimonia para identificar *clusters* de proteínas con péptidos compartidos y consolidar la lista mínima de proteínas diferentes [224].

Análisis y clasificación ontológica de las proteínas identificadas

Se generó un proyecto dentro del *sofware* PatternLab for Proteomics para comparar las proteínas identificadas en las 3 muestras de cada uno de los grupos (Tabla 4). Además, se generó un análisis comparando las proteínas del Grupo 2 y 3, ya que ambos grupos tienen diagnóstico confirmado o presuntivo de TB pleural. Las proteínas identificadas en cada muestra o en cada grupo analizado se compararon por medio de la utilidad de generación de diagramas de Venn de áreas proporcionales disponible en el programa PatternLab for Proteomics, obteniéndose la lista de proteínas comunes. Se realizó el análisis de ontología génica (GO-Slim Biological Process) de las proteínas comunes en el análisis de los distintos grupos, utilizando la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System [237]. Algunos IDs de proteínas que no son reconocidos por la aplicación se curan manualmente para sustituirlos por IDs actualizados, correspondientes a proteínas homólogas reconocidas por el programa. Se utilizó la base de datos de procesos biológicos y las proteínas totales de *H. sapiens* (referencia) como *background*. Con este análisis se identificaron las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$) para las proteínas comunes en cada grupo y comunes al Grupo 2 y 3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 1 - Identificación y caracterización de las principales proteínas secretadas y/o expresadas por M. tuberculosis en cultivo

En esta sección se presenta la estrategia empleada y los resultados obtenidos en este primer capítulo de la tesis, los que quedaron plasmados en el manuscrito que se presenta en el Anexo 2 [220]. Se omiten de dicho manuscrito las secciones correspondientes al resumen, la introducción y los materiales y métodos, ya que fueron detallados en secciones previas de esta tesis. Por otro lado, algunas figuras de los resultados que se presentaban como suplementarias en el manuscrito se presentan en el texto de la tesis, mientras que otras tablas y figuras suplementarias se presentan en los anexos.

Fundamento y resumen de la estrategia experimental

Los componentes de la pared celular y las proteínas secretadas por MTB son las moléculas bacterianas más comúnmente propuestas como biomarcadores potenciales de la infección, así como responsables de la evasión y modulación de la respuesta inmune. Entre las proteínas secretadas se encuentran importantes antígenos reconocidos por el sistema inmune en fases tempranas de la infección, que estimulan la proliferación de células T y la liberación de IFN-γ por las células PBMCs, como Mpt64, ESAT-6, CFP-10 y el complejo del antígeno 85 (Ag85) [163]. Estos son también los principales antígenos proteicos evaluados para el diagnóstico directo de *M. tuberculosis*, como se mostró en la Tabla 2. Para que estas proteínas alcancen el espacio extracelular deben atravesar la compleja envoltura celular micobacteriana. Esta está integrada por la membrana citoplasmática, una gruesa pared celular compuesta por varios tipos de glicanos, lípidos y glicoproteínas, y una capa final denominada cápsula, que contiene principalmente proteínas y polisacáridos (Figura 15) [239,240]. Esta envoltura celular, gruesa, multicapa y extremadamente hidrofóbica, constituye una barrera de permeabilidad eficiente que juega un rol crucial en la resistencia intrínseca a drogas hidrofílicas y contribuye a la resiliencia del patógeno en las células infectadas [239,241–243]. Las proteínas secretadas por la bacteria, así como las proteínas, glicoproteínas y moléculas presentes en la pared celular interaccionan con el hospedero y juegan roles importantes en su patogenicidad, por lo que son blancos relevantes de la investigación científica, y candidatos para el desarrollo de drogas y de nuevas vacunas y técnicas diagnósticas [244,245].

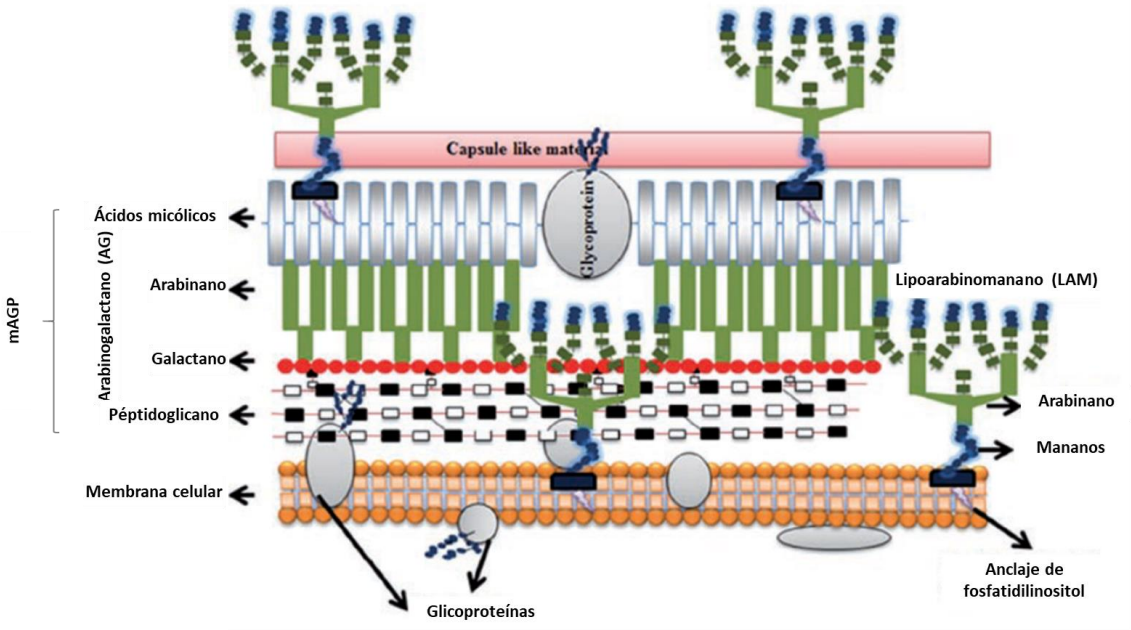


Figura 15. Esquema de la pared celular de *M. tuberculosis*.
Se esquematizan los distintos componentes de la pared celular. mAGP se denomina al complejo formado por los ácidos micólicos, el arabinogalactano y el peptidoglicano. Figura adaptada de Referencia [239].

Se conocen cuatro tipos distintos de vías para exportar proteínas en micobacterias: dos sistemas altamente conservados en bacterias Gram positivas y negativas (las vías Sec y Tat) y dos sistemas especializados que existen en micobacterias, corinebacterias y un subgrupo de bacterias Gram positivas: el sistema SecA2 y el sistema de secreción de tipo VII (T7SS) [240]. Los sistemas Sec, Tat y SecA2 son responsables de transportar proteínas a través de la membrana celular interna, siendo aún desconocidos los mecanismos secundarios por los cuales las proteínas transportadas alcanzan la cápsula y posteriormente el espacio extracelular [240].

La mayoría de proteínas exportadas son transportadas por la vía general de secreción Sec, en la forma de proteínas desplegadas, a través del reconocimiento de un péptido señal N-terminal en la preproteína naciente por medio de la ATPasa SecA [246], SecA1 en el caso de las micobacterias [234,240,247]. Así la proteína es llevada al canal de la membrana interna formado por las proteínas SecYEG a través de la cual es exportada por medio de ciclos repetidos de unión e hidrólisis de ATP [247]. Otros componentes de membrana (SecD, SecF y YajC) aumentan la eficiencia de la translocación. Durante la translocación a través de la membrana, el péptido señal es clivado por la peptidasa señal (SP), y la proteína exportada se pliega en su conformación madura [247]. En relación al sistema SecA2, lo que se sabe es que en este caso el reconocimiento de las proteínas es dependiente de la ATPasa SecA2, una segunda proteína SecA, homóloga a SecA1, y no esencial en la mayoría de las bacterias [248]. Este sistema también utilizaría el canal SecYEG para la translocación de la proteína desnaturalizada, la que seguiría los mismos pasos que los descritos para el sistema Sec [240]. Si bien varias proteínas exportadas por el sistema SecA2 presentan péptido señal, se ha visto que ciertas proteínas exportadas por este sistema carecen del mismo [240,249]. A través del sistema Tat (*Twin-arginine translocase*) de translocación, a diferencia de los anteriores, se exportan generalmente proteínas plegadas, que contienen péptidos señal N-terminal, conteniendo un par de residuos arginina [250]. La proteína

integral de membrana TatC, en complejo con la proteína de membrana TatB, reconoce las proteínas sustrato de esta vía por medio de la unión al péptido señal [251]. Luego que la preproteína está unida la complejo TatBC, se reclutan homo-oligómeros de TatA hacia el complejo, la preproteína es trasportada a través de la membrana y el péptido señal es clivado por la peptidasa señal [240].

Por último, el sistema T7SS consiste en 4 proteínas que forman el complejo de secreción EccBCDE, de las cuales EccC es una ATPasa. En este sistema interviene también la proteasa de serina MycP, que se asocia al complejo y es esencial para la secreción exitosa [240]. Los sustratos de este sistema (proteínas Esx y PE-PPE) se secretan como heterodímeros, que presentan en uno de los miembros del dímero, una señal de secreción C-terminal conservada que incluye un motivo YxxxD/E, es decir un residuo tirosina seguido de 3 residuos no definidos y un residuo con carga negativa D o E [251]. Además de este motivo conservado, se ha observado otro elemento adicional requerido para la secreción, ubicado *downstream* del motivo YxxxD/E y compuesto por aproximadamente 7 aminoácidos hidrofóbicos [252]. Los sustratos de la vía T7SS son las proteínas secretadas más abundantes, indicando que este sistema es muy eficiente para promover el transporte a través de la pared celular micobacteriana [253]. Además, por medio de este sistema de secreción, que presenta 5 sistemas homólogos denominados ESX-1 al 5, se exportan múltiples factores de virulencia. Este los sustratos del sistema ESX-1 se destacan las proteínas EsxA (ESAT-6) co-secretada junto con EsxB (CFP-10), que se ha visto son en parte responsables de la habilidad de este patógeno de subvertir la respuesta inmune del hospedero [254,255]. Por otra parte, las proteínas pertenecientes a las familias PE y PPE secretadas por estos sistemas T7SS, principalmente a través del sistema ESX-5 [240,256], son proteínas acídicas, ricas en glicina, con un motivo amino-terminal incluyendo prolina-(prolina)-glutamato. Son específicas de las micobacterias y se encuentran significativamente expandidas en micobacterias patogénicas de crecimiento lento [253,257]. Por este motivo, este grupo de proteínas tendría un rol importante, aunque aún poco claro, en la patofisiología y la virulencia de MTB [258,259].

Un tema adicional a considerar, en relación a las proteínas secretadas o expuestas por el patógeno en la pared celular, es que las técnicas basadas en espectrometría de masas han evidenciado la ocurrencia de múltiples modificaciones postraduccionales (PTMs) en los proteomas procariotas [260]. Estas PTMs, principalmente glicosilación, lipidación y fosforilación, están involucradas en la señalización celular, la respuesta al estrés, la adaptación a ambientes cambiantes, la regulación de proteínas tóxicas o dañadas, la localización de proteínas y las interacciones hospedero-patógeno. En MTB, se ha visto que los eventos de O-glicosilación son frecuentes [261] y que esta modificación se encuentra muchas veces asociada con la lipidación, en el caso de lipoproteínas de membrana [262]. El proceso de O-glicosilación, que fue propuesto como asociado a la vía de secreción dependiente de Sec, involucra la transferencia de una molécula glicosídica al oxígeno aceptor hidroxílico del residuo Ser o Thr aceptor, lo que es catalizado por la enzima O-manosiltransferasa (Rv1002c) [263]. Luego, se van agregando azúcares adicionales de a uno, en un proceso que en *M. smegmatis* es catalizado por la manosiltransferasa PimE (codificada por el gen *Msmeg_5149*, homólogo al gen Rv1159 en *M. tuberculosis*) [264]. Las cepas deficientes en el gen Rv1002c se muestran altamente atenuadas en ratones inmunocomprometidos, lo que sugiere que la O-glicosilación sería esencial para la virulencia de MTB [264]. A pesar de la importancia de esta PTM en la virulencia de MTB, el

conocimiento sobre este tema aún es muy limitado. Se ha reportado, utilizando extractos celulares totales de MTB, que los eventos de glicosilación de proteínas son frecuentes y se ha sugerido que diferencias en el patrón de glicosilación podrían explicar la diversidad fenotípica y la virulencia diferencial entre miembros del complejo *M. tuberculosis* [261]. En el caso de proteínas secretadas o asociadas a la pared celular, sobrerrepresentadas en el sobrenadante de cultivo de este patógeno, hay algunos reportes previos que han descrito la presencia de algunas proteínas glicosiladas [262,265,266].

En el marco del objetivo general de esta tesis, focalizado en la generación de herramientas de para el diagnóstico de la infección activa por *M. tuberculosis*, basadas en la detección de biomarcadores específicos derivados del patógeno en muestras clínicas, se propone como una primera etapa realizar la caracterización proteómica exhaustiva de las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB. Esto se fundamenta en el hecho de que la caracterización cualitativa y cuantitativa de estas proteínas, así como la identificación de las principales modificaciones postraduccionales, es de relevancia para el diseño de herramientas diagnósticas basadas en la detección de antígenos.

Con este objetivo se realizó un análisis tipo *shotgun* de las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* basado en nano-HPLC acoplado con espectrometría de masas en *tándem* (MS/MS). Asimismo, con el fin de obtener una aproximación cuantitativa de las proteínas identificadas, se realizó la cuantificación relativa de cada proteína en base a los recuentos de espectros correspondientes, normalizados en relación al número de espectros totales y al largo de cada proteína individual. Se seleccionó para el estudio la cepa de *M. tuberculosis* H37Rv, que es un aislado de un paciente con tuberculosis pulmonar y una de las cepas de laboratorio mejor caracterizadas y más estudiadas. Se trata de una cepa virulenta, perteneciente al linaje 4 del complejo MTB (Figura 3) [25], que se ha utilizado mucho para entender los mecanismos bioquímicos y moleculares asociados con la virulencia, la patogenicidad y la persistencia de este patógeno [267]. Finalmente, con el propósito de validar e integrar nuestros resultados, realizamos un análisis comparativo exhaustivo tanto a nivel de la identificación proteómica y glicoproteómica, como en relación al nivel de expresión de las proteínas identificadas, con trabajos previos que han abordado este tema utilizando aproximaciones diferentes y complementarias.

Evaluación de la calidad de las muestras de proteínas del sobrenadante de cultivo (CFP)

El último repique del cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv y *M. avium* se realizó en medio mínimo Sauton, que es un medio definido, libre de proteínas, compatible con el análisis proteómico posterior [189]. Se obtuvieron 4 preparaciones de proteínas del sobrenadante de cultivo (CFP) de cada cepa, las que se cuantificaron por BCA y evaluaron por electroforesis en gel. Los patrones electroforéticos de las 4 preparaciones fueron similares por lo que preparó una muestra compuesta (*pool*) a partir de las 4 preparaciones, la que además se concentró por ultrafiltración. Por medio de la cuantificación verificamos que contábamos con cantidad suficiente de cada muestra como para realizar el resto de las actividades (aprox. 3mg de proteína total de cada cepa).

El análisis por electroforesis en 1D SDS-PAGE de las CFP obtenidas de cada cepa mostró en un patrón de varias proteínas en el rango entre 10 kDa y 100 kDa (Figura 16). A pesar de que las CFP de *M. avium* no se utilizaron en este capítulo de la tesis, su preparación y análisis se realizó en paralelo con las CFP de *M. tuberculosis*, por lo que los resultados relativos a esta preparación se muestran también en la Figura 16. Algunas bandas de la muestra compuesta de *M. tuberculosis* y de *M. avium* se seleccionaron para ser analizadas por espectrometría de masas (Figura 16A). Además, por medio de la metodología de *western blot* se verificó la presencia en la muestra de sobrenadante de cultivo *M. tuberculosis* de la proteína FbpC o Ag85C (Figura 16B, Rv0129c, peso molecular esperado 30-32kDa). Esta proteína pertenece al complejo del antígeno 85 (Ag85), que es un complejo de 3 proteínas inmunodominantes de pared celular, que se encuentran de forma predominante en cultivos de MTB con crecimiento activo [268]. De forma similar se verificó que el CFP de *M. tuberculosis* presentaba una banda específica entre 10 y 15 kDa reconocida por un anticuerpo anti CFP10 policlonal, indicando que este antígeno de secreción está presente en la muestra (resultado que no se muestra).

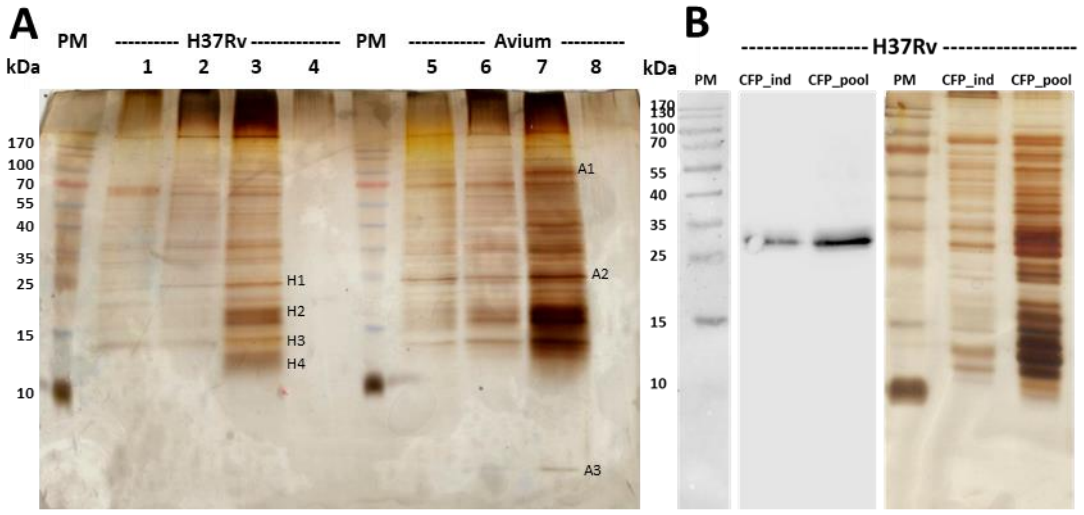


Figura 16. Análisis de las muestras de CFP de *M. tuberculosis* y *M. avium* por electroforesis 1D, tinción con nitrato de plata y *western blot*

Panel A) Carriles 1 al 4: CFP de *M. tuberculosis*, carril 1: Lote 1 (siembra 1.8 µg (15µL)), carril 2: Lote 2 (siembra 2.1 µg (15µL)), carril 3: muestra compuesta y concentrada por ultrafiltración (siembra 12 µg (15µL)), carril 4: muestra del filtrado de la ultrafiltración (15 µL). Carriles 5 a 8: CFP de *M. avium*, carril 5: Lote 1 (siembra 4.5 µg (15µL)), carril 6: Lote 2 (siembra 7.4 µg (15µL)), carril 7: muestra compuesta y concentrada por ultrafiltración (siembra 24 µg (15µL)), carril 8: muestra del filtrado de la ultrafiltración (15 µL). Las bandas seleccionadas para análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF se indican como H1, H2, H3 y H4 en el caso de *M. tuberculosis* y A1, A2 y A3 en el caso de *M. avium*. **Panel B)** CFP_ind y CFP_pool: CFP de *M. tuberculosis*: Lote 1 (siembra 1.8 µg (15µL)) y muestra compuesta y concentrada por ultrafiltración (siembra 12 µg (15µL)). Izquierda: Western blot Anti-Ag85C (Santa Cruz, sc-57611) Dil 1/200. Anticuerpo secundario anti-IgG de ratón – HRP (Santa Cruz, sc-2005) Dil 1/2500. Derecha: Tinción con nitrato de plata. PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

La muestra compuesta de CFP de *M. tuberculosis* fue analizada por electroforesis en 2D. En este caso se realizaron 2 experimentos en paralelo, uno de los geles 2D se tiñó con nitrato de plata (Figura 17A) y otro se transfirió a una membrana de nitrocelulosa para la realización de la

inmunoidentificación por *western blot* de las proteínas reconocidas por el anticuerpos anti-MTB hecho en conejo (Figura 17B), cuya elaboración y control se detalla en el Capítulo 2 de esta tesis.

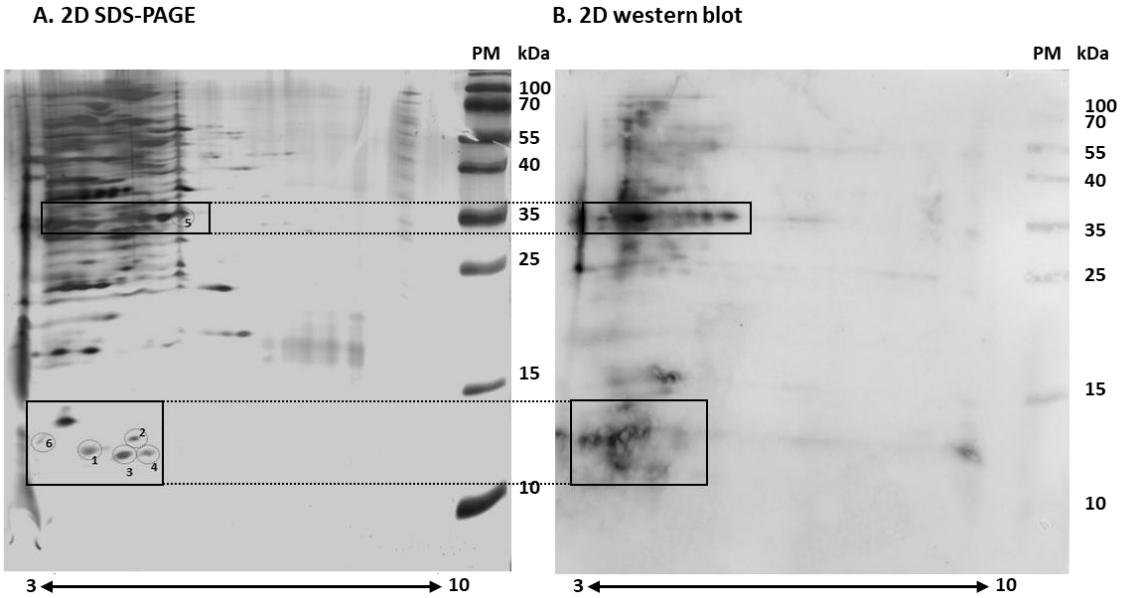


Figura 17. Análisis de las muestras de CFP de *M. tuberculosis* por electroforesis 2D.
A) *Tinción con nitrato de plata*. Se analizaron 50 µg de la muestra compuesta de CFP de *M. tuberculosis*. Los spots seleccionados para análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF se indican con números del 1 al 6. PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616). **B) *Western blot utilizando anticuerpo anti-MTB*.** Anticuerpo primario en concentración 10000 ng/mL, anticuerpo secundario anti-IgG de conejo conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545) en dilución 1/2500. La electroforesis 2D gel se realizó igual que en (A) y el gel se transfirió a membrana Amersham Protran 0.45 µM NC (GE Healthcare), la que se incubó con anticuerpo primario anti-MTB hecho en conejo. Las zonas inmunorreactivas se indican con un rectángulo en el gel 2D correspondiente. En el eje inferior se marca el gradiente de pH que se utilizó en la primera dimensión de separación.

Como se ve en la Figura 17A la mayoría de las proteínas detectadas presentan un punto isoeléctrico por debajo de 6.5, como ha sido previamente reportado por otros trabajos que han analizado el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv [188,189,269,270]. El análisis del *western blot* muestra que los spots inmunogénicos principales se encuentran en una región entre 10 y 15 kDa con pI entre 3 y 5, además de otra serie de spots en la zona entre 25 y 55 kDa y pI entre 3 y 5.5 (Figura 17B). Algunos spots correspondientes a zonas inmunorreactivas identificadas en el 2D *western blot* se seleccionaron en el gel 2D teñido con nitrato de plata para ser analizados por espectrometría de masas (Figura 17).

El análisis de espectrometría de masas MALDI TOF/TOF de las bandas del gel 1D y de los spots del gel 2D permitió identificar 12 proteínas diferentes de *M. tuberculosis* en la muestra de sobrenadante de cultivo (Tabla 6). El peso molecular de las proteínas de MTB identificadas mostró una buena correlación con el peso molecular relativo de la banda y/o spot seleccionado. Todas las proteínas identificadas (Tabla 6) fueron previamente identificadas por otros estudios proteómicos y la mayoría de ellas (11 de 12) fueron también identificadas en la fracción correspondiente al sobrenadante de cultivo en por lo menos un estudio proteómico anterior [187]. En relación a la electroforesis 2D las proteínas identificadas se buscaron en la base de datos de proteómica 2D del Instituto Max Planck, verificando la concordancia, tanto en peso

molecular como en punto isoeléctrico, con los reportes previos del sobrenadante de cultivo de la cepa H37Rv [269]. Interesa destacar que 3 proteínas fueron identificadas en al menos 4 diferentes bandas y/o *spots* indicando que las mismas estarían altamente representadas en la muestra de CFP. Estas son la proteína de shock térmico HspX (Rv2031c), el antígeno de filtrado de cultivo de 10 kDa EsxB (Rv3874) y un grupo de proteínas relacionadas e indistinguibles (proteínas ESAT-6 *like*). Las proteínas de este grupo tienen 98 aminoácidos de largo y difieren en únicamente 1 o 2 aminoácidos, por lo que la identificación inequívoca de las mismas no fue posible por medio de este análisis, ya que no se identificaron péptidos diferenciales. Estas proteínas se identificaron en una zona común del gel 2D (spots 1 al 4), sugiriendo que cada spot podría corresponder a una variante diferente.

Tabla 6. Proteínas de *M. tuberculosis* identificadas en el sobrenadante de cultivo por espectrometría de masas MALDI-TOF (MS/MS).

Banda/ spot	Proteína	Peso molecular	Gen (nombre)	Gen (locus)	Evidencia proteómica	Categoría funcional
H1	Proteína conservada con un dominio FHA, GarA	17,2 kDa	*garA*	**Rv1827**	CF, CIT, PC, MB.	Hipotéticas conservadas
H1	Adenilato quinasa Adk (ATP-AMP transfosforilasa)	20,0 kDa	*Adk*	**Rv0733**	CF, CIT, MB.	Metabolismo intermediario y respiración
H1	Superóxido dismutasa [FE] SodA	23,0 kDa	*sodA*	**Rv3846**	CF, CIT, MB.	Virulencia, detoxificación y adaptación.
H2	Proteína conservada TB18.6	18,6 kDa	TB18.6	**Rv2140c**	CF, MB.	Hipotéticas conservadas
H2	Probable tiol peroxidasa Tpx	16,8 kDa	*Tpx*	**Rv1932**	CF, CIT, MB.	Virulencia, detoxificación y adaptación.
H3	10 kDa Chaperonina GroES	10,8 kDa	*groES*	**Rv3418c**	CF, CIT, PC, MB.	Virulencia, detoxificación y adaptación.
H3/1/2/6	Proteína de shock térmico HspX	16,2 kDa	*hspX*	**Rv2031c**	CF, CIT, PC, MB.	Virulencia, detoxificación y adaptación.
H4/1/6	10 kDa Antígeno de filtrado de cultivo EsxB	10,8 kDa	*esxB*	**Rv3874**	CF, CIT, MB.	Pared celular y procesos celulares
1/2/3/4	Proteínas ESAT-6 *like* (La identificación puede corresponder a EsxJ, EsxK, EsxM, EsxP o EsxW)	≅ 10 kDa	*esxJ* *esxK* *esxM* *esxP* *esxW*	**Rv1038c** **Rv1197** **Rv1792** **Rv2347c** **Rv3620c**	CF*	Pared celular y procesos celulares
2	Tiorredoxina TrxC (TRX) (MPT46)	12.5 kDa	*trxC*	**Rv3914**	CF, CIT, PC, MB.	Metabolismo intermediario y respiración
5	Antígeno secretado 85-a FbpA (micolil transferasa 85A)	35.7 kDa	*fbpA*	**Rv3804c**	CF, CIT, PC, MB.	Metabolismo lipídico
6	Rv3747	13.5 kDa	Rv3747	**Rv3747**	MB	Hipotéticas conservadas

Notas: La identificación de la banda y/o spot corresponde con lo indicado en la electroforesis 1D (Figura 16) y la electroforesis 2D (Figura 17). CF: Sobrenadante de cultivo, CIT: citosol, PC: Pared celular, MB: Membrana, * En cuanto a la evidencia proteómica, EsxK, EsxM, EsxJ, EsxW fueron identificadas, mientras que EsxP no está reportada. La tabla fue completada con la información obtenida de la Referencia [187].

Los resultados de la Tabla 6 indican que la preparación de CFP de M. *tuberculosis* contiene una buena representación de proteínas derivadas este patógeno, mucha de las cuales fueron previamente identificadas como secretadas. Las proteínas reconocidas con los anticuerpos anti-MTB (HspX, EsxB y el antígeno secretado 85-a FbpA) son antígenos relevantes de MTB [186,187], previamente evidenciados como secretados por otros estudios [189,234]. En el caso del antígeno FbpA, además, habíamos evidenciado otro componente de este complejo (FbpC) por medio de *western blot* (Figura 17B). Varios de estos antígenos fueron postulados como biomarcadores derivados del patógeno con utilidad para el diagnóstico de la tuberculosis activa [168].

Las proteínas de *M. avium* identificadas por medio de esta estrategia se muestran en el Anexo 3. En este caso se logra la identificación de 6 proteínas de *M. avium* a partir de 2 de las 3 bandas seleccionadas y en el caso de la banda A3 únicamente se identifica de forma estadísticamente significativa a la queratina humana. También en este caso los pesos moleculares de las proteínas de *M. avium* identificadas coinciden con el peso molecular estimado para la banda seleccionada en el gel. Este resultado sirve para verificar que la preparación de CFP de *M. avium* es de buena calidad y presenta una buena representación de proteínas derivadas de esta micobacteria.

Caracterización de las proteínas del sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis utilizando LC MS/MS

La estrategia que se mostró previamente de electroforesis (1D o 2D) acoplada a MALDI TOF/TOF es una metodología proteómica laboriosa y de bajo desempeño, si se utiliza con el objetivo de realizar la identificación sensible y confiable de las proteínas presentes en una muestra compleja, como la analizada en esta tesis. Los resultados previos muestran también que este análisis generó varias identificaciones redundantes. Por lo tanto, luego de realizar la confirmación de la calidad de la muestra de CFP de *M. tuberculosis*, la misma se caracterizó por medio de un análisis de alto rendimiento utilizando un enfoque de proteómica *shotgun* cuantitativa, basado en un flujo de trabajo en el cual se acopla la separación de los péptidos derivados de la muestra por medio de una técnica de nano-HPLC y la identificación de los péptidos por espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

Las proteínas presentes en 2 réplicas técnicas de la muestra compuesta, previamente analizada, se resolvieron en un gel de SDS-PAGE y se seleccionaron 6 diferentes porciones de cada carril para el análisis por LC MS/MS, según se muestra en la Figura 18. Para definir como realizar las secciones en cada carril se buscó mantener una intensidad comparable de las bandas presentes en cada sección.

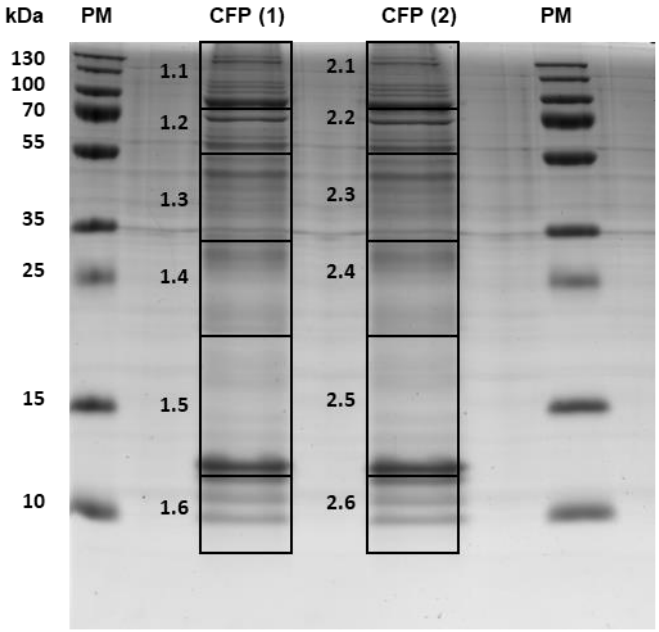


Figura 18. Análisis del sobrenadante de cultivo de MTB por cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

Análisis del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* por electroforesis en gel (SDS-PAGE 15%) y tinción con CCB G-250. Se sembraron 25µg de cada réplica técnica (CFP(1) and CFP(2)). Se indican y numeran las 6 secciones cortadas de cada carril, cada una de las cuales fue analizada de forma independiente por LC-MS/MS. PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

Las diferentes secciones de cada carril se analizaron de forma independiente por LC MS/MS, con el objetivo de simplificar cada muestra analizada. Para el siguiente análisis se procesaron los datos de cada réplica de forma conjunta, para obtener la cantidad de espectros y las proteínas totales presentes en la muestra. En la réplica CFP(1) se identificaron 1450 proteínas diferentes (correspondientes a 1427 proteínas de MTB, 19 proteínas contaminantes comunes y 4 secuencias reversas, lo que resulta en una tasa de descubrimiento falso (FDR) de 0.28%), mientras que en la réplica CFP(2) se identificaron 1453 proteínas diferentes (1429 proteínas de MTB, 18 contaminantes y 6 secuencias reversas (FDR 0.41%)). La comparación cualitativa de las listas de ambas réplicas mostró que 1314 proteínas de MTB (92%) son compartidas por ambas réplicas (Figura 19A). La comparación de los recuentos de espectros de las proteínas comunes mostró las dos réplicas técnicas que no presentan diferencias significativas (Figura 19B). La lista completa de 1314 proteínas comunes, la que fue utilizada para los análisis que se describen en las próximas secciones se presenta en el Anexo 4. El conjunto de datos obtenidos durante este análisis de espectrometría de masas (datos crudos y archivos de búsqueda) están disponibles públicamente en el repositorio MassIVE, con el código MSV000084184 (doi:10.25345/C5PW8Q) y fueron anunciados en ProteomeXchange PXD014964 (doi:10.25345/C5PW8Q).

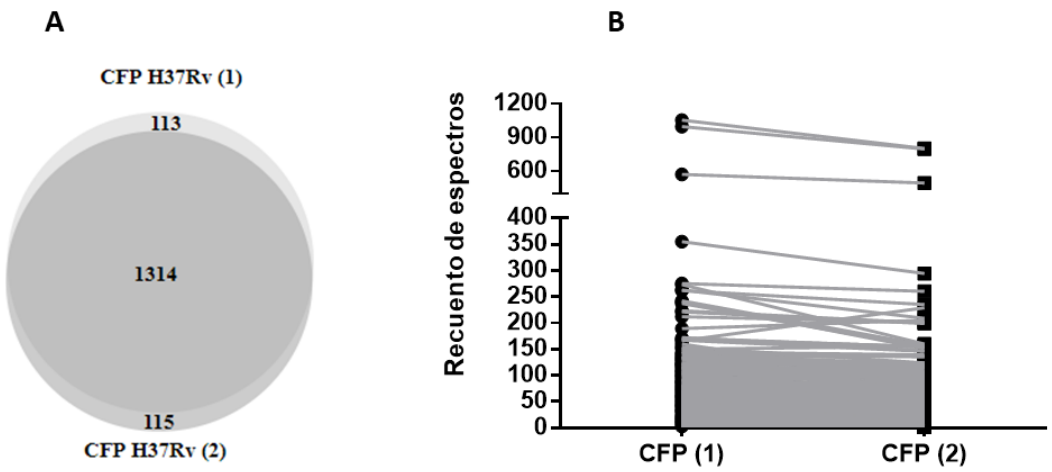


Figura 19. Comparación entre las réplicas de CFP de *M. tuberculosis*.
A) *Comparación de las proteínas identificadas*. Análisis comparativo de las proteínas identificadas en cada réplica por medio de Diagrama de Venn de áreas proporcionales (BioVenn, [225]). **B) *Comparación a nivel de recuentos de espectros obtenidos por LC MS/MS*.** Los recuentos de espectros de las proteínas comunes, identificadas en cada réplica técnica, fueron comparados estadísticamente por medio del test de los signos con rango de Wilcoxon para muestras pareadas, para un nivel de confianza del 95%. Las réplicas no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$).

Todas las proteínas detectadas por electroforesis en gel y MALDI-TOF/TOF (Tabla 6) fueron detectadas en ambas réplicas técnicas por medio de LC MS/MS. El análisis de las 1314 proteínas comunes identificadas muestra una distribución amplia de pesos moleculares, sin embargo la mayoría de las proteínas en el CF presentan bajo peso molecular (Figura 20, mediana 31.98 kDa, Q1 21.25 kDa, Q3 46.50 kDa), lo que es consistente con el perfil observado en la Figura 17 y la Figura 18. En el análisis realizado por Mattow *et al*. habían mostrado que la mayoría de spots de proteínas observados en la electroforesis bidimensional del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* se encontraban en el rango de pesos moleculares entre 6 y 70 kDa [189]. También consistente con nuestros resultados, las proteínas identificadas por el ensayo de LC-MS/MS realizado por Malen *et al.*, en una muestra de CFP de *M. tuberculosis* extensamente caracterizada mostró que la mayoría de las proteínas se encontraban en el rango entre 10 y 50 kDa, con un promedio de 31.0 kDa [188].

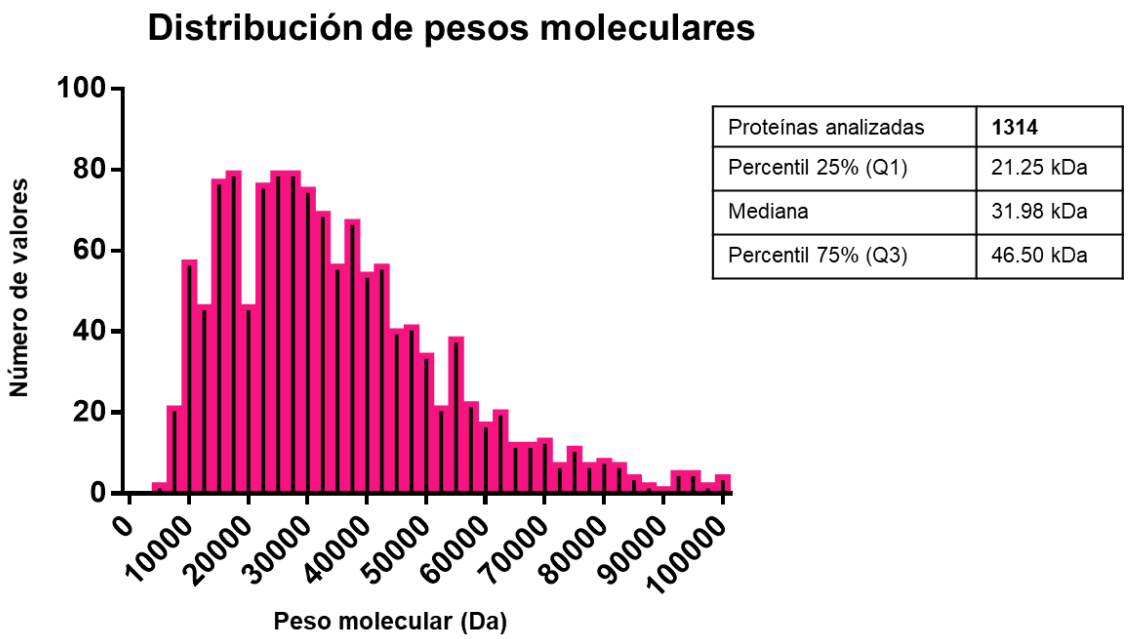


Figura 20. Distribución de pesos moleculares de las proteínas del CF de *M. tuberculosis*.
Se muestra la distribución de pesos moleculares teóricos de las proteínas comunes identificadas en el sobrenadante de cultivo de MTB.

Por lo tanto, los resultados presentados en esta sección muestran que la distribución de pesos moleculares de las proteínas identificadas en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*, preparado durante esta tesis, es comparable con los datos reportados por los trabajos publicados previos [188,189].

Clasificación de las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB por medio de análisis cuali-cuantitativo

En las técnicas proteómicas de alto rendimiento es común la utilización de métodos cuantitativos basados en el recuento de espectros de cada proteína para comparar diferencias entre condiciones y muestras en estudio [271]. De forma de considerar las variaciones muestra a muestra, y el hecho que las proteínas más largas tienden a presentar más identificaciones de péptidos que las proteínas más cortas, el software Patternlab for Proteomics se basa en el factor NSAF para normalizar el recuento de espectros [272]. El valor NSAF de una proteína particular se define como el número de total de espectros MS/MS que identifican una proteína (SpC), dividido entre el largo de la proteína (L) y normalizado por la suma del valor SpC/L de todas las proteínas identificadas en el experimento. Este factor ha mostrado proporcionar la cuantificación más reproducible al comparar replicas técnicas y biológicas [227].

Para clasificar las proteínas identificadas en la muestra de sobrenadante de cultivo de MTB se realizó un análisis ontológico cuali-cuantitativo, que tuvo en cuenta tanto el total de las proteínas identificadas en la lista como la abundancia de las mismas tomando en cuenta el valor NSAF promedio entre ambas réplicas, que como se mostró en la Figura 19B no presentan diferencias significativas. Para ello, la suma de los valores NSAF de ambas réplicas para cada proteína (Anexo 4, NSAF Total) se utilizó para ordenar la lista de proteínas comunes de acuerdo

a su abundancia relativa. Las proteínas se agruparon arbitrariamente en 3 subgrupos de acuerdo a su abundancia: las pertenecientes al percentil 95 (P95%, NSAF>0.00412), 90 (P90%, NSAF>0.00278) y 75 (P75%, NSAF>0.00146), consistiendo en 66, 132 y 329 proteínas, respectivamente. Además, se utilizó para el análisis de clasificación ontológica el grupo de las 1314 proteínas totales. Estos subgrupos fueron clasificados funcionalmente utilizando el análisis de Ontología Génica (componente celular) y se determinaron las categorías principales de términos enriquecidos (p<0.05) (Figura 21).

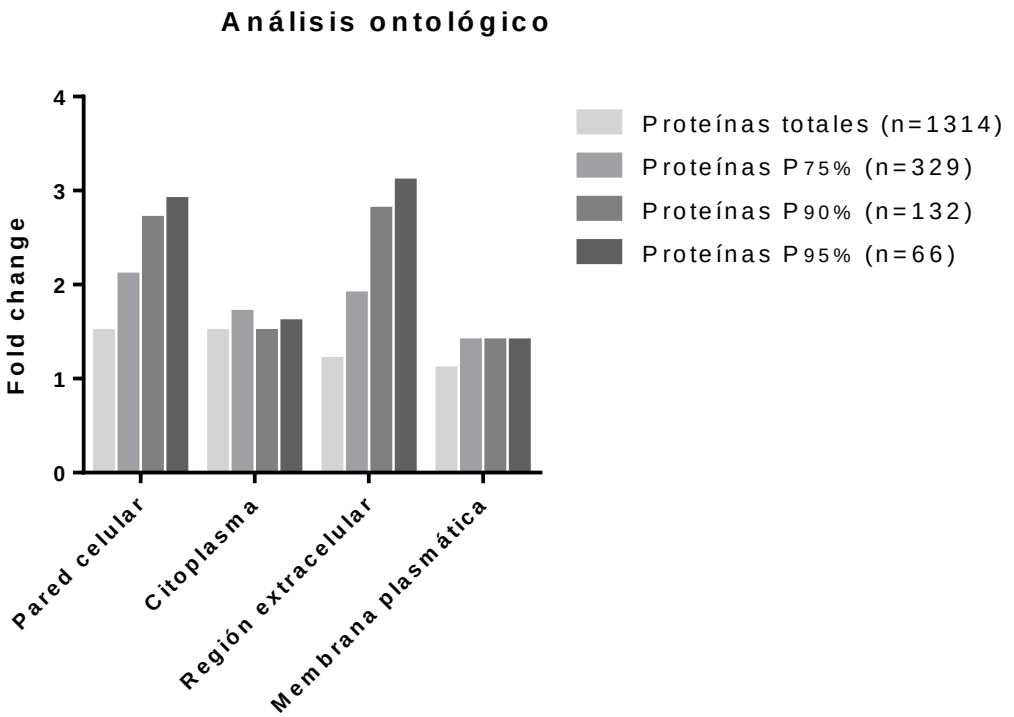


Figura 21. Clasificación cuali-cuantitativa según componente celular de las proteínas identificadas
Se grafica las veces de cambio (*fold change*) de las principales categorías de términos enriquecidos (p<0.05). Los datos se obtuvieron analizando las proteínas comunes a ambas réplicas con la herramienta David Gene Functional Classification Tool [229,230], la base de datos Componente celular y las proteínas totales de *M. tuberculosis* H37Rv (NCBI:txid83332) como *background*. Las proteínas se ordenaron de acuerdo a su valor de abundancia (NSAF) y se calcularon los percentiles 75, 90 y 95. Para cada lista de proteínas en los percentiles definidos (Proteínas P75%, P90% y P95%) se realizó el análisis de enriquecimiento de términos ontológicos de componente celular.

El análisis del grupo de proteínas totales muestra que las 4 categorías principales (pared celular, citoplasma, región extracelular y membrana plasmática) se encuentran enriquecidas de forma similar (*fold change* 1.5, 1.5, 1.2 y 1.1, respectivamente) con respecto a las proteínas totales de *M. tuberculosis* H37Rv utilizadas como *background*. Sin embargo, al considerar los subgrupos de proteínas más abundantes definidos en el análisis, las categorías pared celular y región extracelular muestran un aumento marcado en relación a su enriquecimiento relativo, y el valor de *fold change* aumenta de forma proporcional a la abundancia. Estas categorías alcanzan en el caso del grupo de proteínas P95% un valor de enriquecimiento de 2.9 (p=8.3e-18) y 3.1 (p=2.0e-8), respectivamente. Esta tendencia no se observó para las categorías citoplasma y membrana celular.

Estos resultados muestran que la muestra de CFP de *M. tuberculosis* preparada en esta tesis, además de contener proteínas extracelulares y de pared celular incluye algunas proteínas citoplasmáticas y de membrana. Sin embargo, esta observación se ve relativizada ya que algunas proteínas se clasifican con más de un término ontológico de componente celular, por lo que se puede obtener información redundante durante el análisis. También es importante aclarar que 394 proteínas de la lista analizada no tienen término ontológico de componente celular. Por lo dicho anteriormente, el análisis realizado considerando la abundancia de cada proteína según su valor de NSAF podría ser más indicativo de la composición real de la muestra. De esa forma, nuestro análisis indica que los subgrupos de proteínas más abundantes contienen principalmente proteínas clasificadas como de región extracelular o de pared celular.

En relación a la clasificación funcional de las proteínas se siguió una estrategia diferente, ya que el proteoma anotado de *M. tuberculosis* H37Rv se ha dividido en 12 categorías funcionales diferentes, lo que está disponible en la base de datos específica Mycobrowser [187]. De acuerdo a dicha clasificación funcional, las proteínas identificadas en este trabajo se distribuyen en 10 categorías funcionales (Figura 22). La mayoría de las proteínas identificadas están involucradas en funciones de metabolismo intermediario y respiración (35.9%). Sin embargo, cuando se toma en cuenta la abundancia promedio de las proteínas de cada categoría, se puede observar que la categoría funcional con mayor valor de NSAF promedio es virulencia, detoxificación y adaptación, seguido de la categoría pared celular y procesos celulares. En particular, las enzimas involucradas en la detoxificación de especies reactivas de oxígeno (KatG (Rv1908c), SodA (Rv3846) y TxP (Rv1932)), que participan en la resistencia de la bacteria al estrés oxidativo dentro de la célula hospedera [273,274], son algunas de las proteínas de la categoría virulencia, detoxificación y adaptación que pertenecen al subgrupo de proteínas P95%. Es importante destacar también, que relevantes proteínas secretadas como EsxB (Rv3874), EsxA (Rv3875), Mpt64 (Rv1980c), entre otras, pertenecen a la categoría pared celular y procesos celulares, y al subgrupo de proteínas más abundantes.

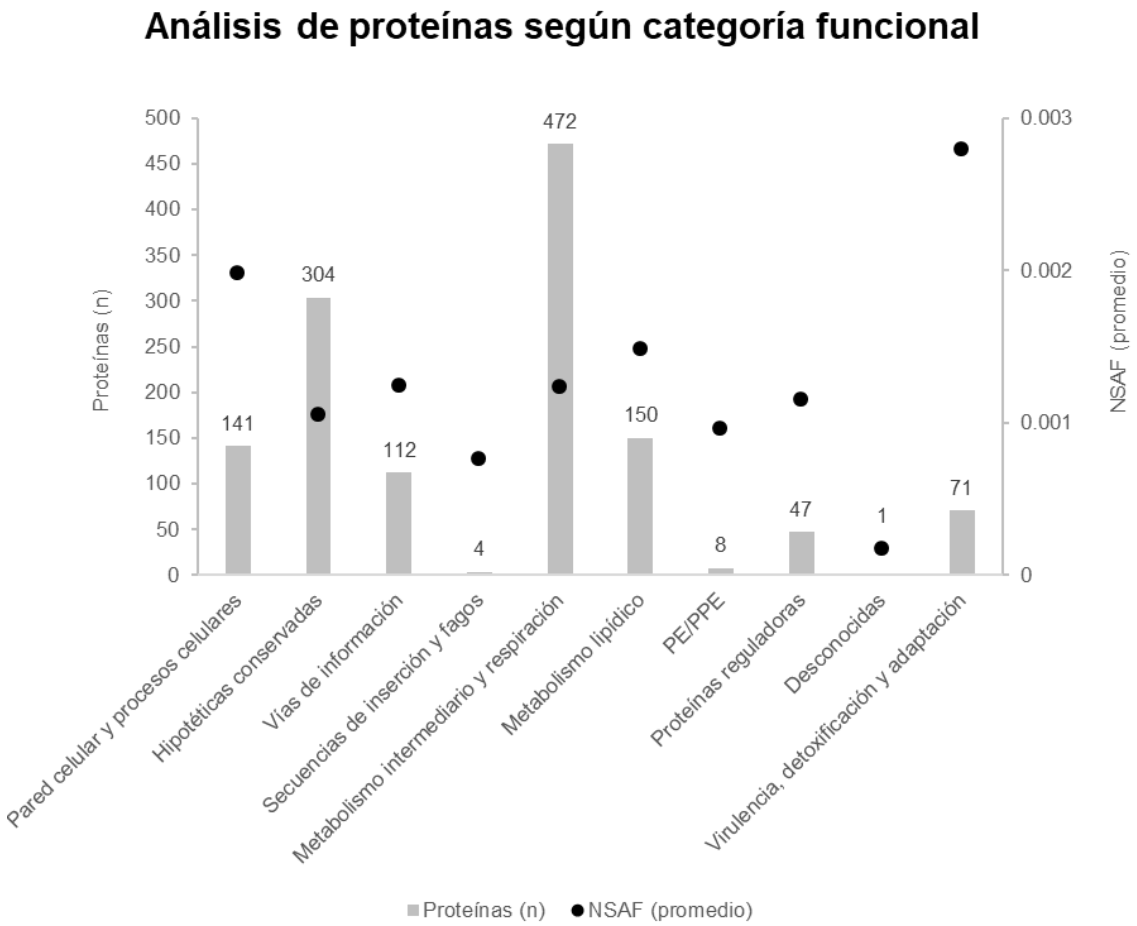


Figura 22. Categorías funcionales de las CFP de *M. tuberculosis*
Categorías funcionales de acuerdo a la base de datos de *M. tuberculosis* (Mycobrowser [187]). Las barras representan el número de proteínas en cada categoría funcional indicándose el número sobre cada barra (escala en eje izquierdo) y los puntos negros representan el valor de NSAF promedio de las proteínas de cada categoría (escala en eje derecho).

En resumen, este análisis cuali-cuantitativo de las proteínas identificadas por LC MS/MS sirvió para evidenciar que existe una correlación global de las proteínas con alta representación en el sobrenadante de cultivo con algunas vías claves relacionadas con la patogenicidad de MTB.

Finalmente, en el marco del objetivo general de esta tesis, relacionado con la búsqueda de biomarcadores derivados del patógeno en muestras clínicas, como contribución al desarrollo de herramientas para el diagnóstico de la TB activa, buscamos en la lista de proteínas a los 14 antígenos proteicos detectados en muestras clínicas (Tabla 2). De esta forma confirmamos la presencia de 13 de estas proteínas en el sobrenadante de cultivo de MTB. Estos biomarcadores exhiben en promedio un alto valor NSAF, lo que indica que tienen un alto nivel de expresión (Figura 23), estando 10 de ellos en el subgrupo P90%: GroEL2 (Rv0440), EsxB (Rv3874), EsxA (Rv3875), HspX (Rv2031c), FbpA (Rv3804c), FbpB (Rv1886c), Mpt64 (Rv1980c), PstS1 (Rv0934), GlcB (Rv1837c) y Apa (Rv1860). Esto demuestra que, como planteáramos en la hipótesis de trabajo, sobrenadante de cultivo ofrece una representación razonable de lo que se ha encontrado en muestras biológicas.

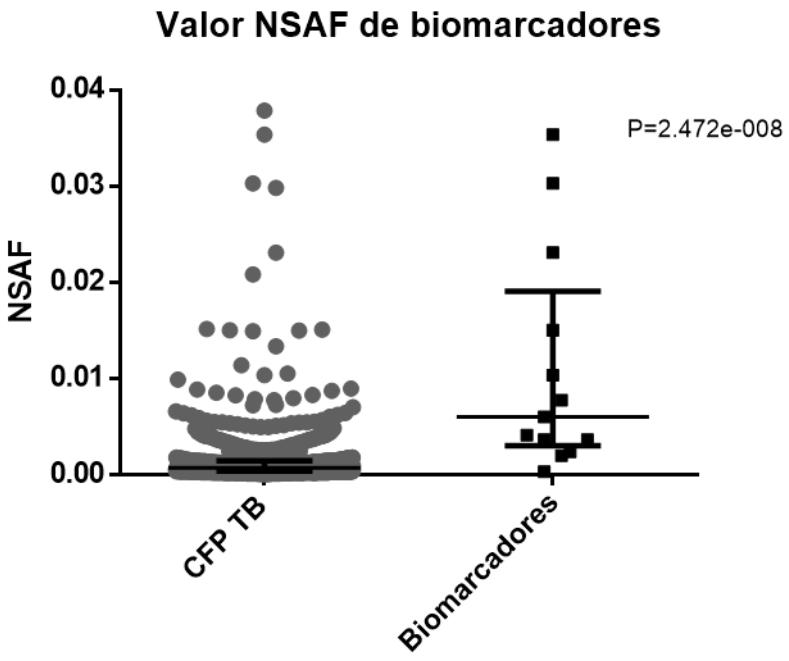


Figura 23. Comparación de la abundancia (NSAF) de los biomarcadores en el CFP de *M. tuberculosis*
Se comparan los valores de NSAF las proteínas totales en la muestra (CFP TB, n=1314) con los valores de NSAF de los biomarcadores derivados del patógeno identificados en la muestra (n=13). La comparación de la distribución de valores en ambos grupos con el test de Mann-Whitney muestra una diferencia estadísticamente significativa (valor *p* se indica en la gráfica).

Predicción bioinformática de la presencia de péptido señal

Los resultados que se muestran en la sección anterior dejan planteada la pregunta de si la presencia de algunas proteínas en la muestra de CFP se podría deber a cierto nivel de lisis bacteriana en combinación con un alto nivel de expresión y estabilidad extracelular de las proteínas, en lugar de responder a mecanismos de secreción específicos de proteínas. Por esta razón, utilizando el servidor SignalP 5.0 [231], se analizó el proteoma total de *M. tuberculosis*, encontrándose un total de 392 proteínas con un péptido señal de los 3 tipos analizados (207 SP, 113 LIPO y 72 TAT). De esas proteínas, en la muestra de CFP se identifican 140 (62 SP, 53 LIPO y 25 TAT), siendo muchas de ellas proteínas secretadas bien conocidas, en particular FbpA (Rv3804c), FbpB (Rv1886c), FbpC (Rv0129c), Apa (Rv1860), Mpt64 (Rv1980c), PstS1 (Rv0934) y LpqH (Rv3736) (Anexo 5). Comparando estos resultados con los publicados por Gomez *et al.*, donde se describe una estrategia bioinformática para la asignación de proteínas con péptido señal a partir de las proteínas predichas del genoma de MTB, vemos que hay una importante coincidencia en relación a las proteínas que se asignan con péptido señal tipo SP (208 del genoma completo en el referido estudio) [275]. De las 52 proteínas definidos por ellos como muy probablemente secretadas, es decir excluyendo proteínas integrales de membrana, identificamos 35 en la muestra de CFP, 31 de las cuales son asignadas por el servidor SignalP 5.0 como conteniendo péptido señal (26 SP, 2 LIPO y 3 TAT).

Esta aproximación bioinformática permite la identificación de proteínas que están dirigidas a las vías de secreción dependientes de la presencia de péptido señal. Como se describió al inicio de este capítulo, para exportar proteínas a través de su pared celular única, las micobacterias

utilizan además los sistemas de secreción ESX, pertenecientes al sistema de secreción de tipo VII (T7SS). Las proteínas exportadas por medio de estos sistemas, designados desde ESX-1 a ESX-5, tienen importantes funciones en la virulencia, la adquisición de hierro y la modificación de la pared celular [254]. El sistema ESX-1, el primero de los sistemas T7SS en ser descripto, es responsable de la secreción de EsxA (antígeno de secreción temprano de 6 kDa, ESAT-6, Rv3875) y EsxB (Rv3874) [276]. Como ya se mencionó, las proteínas exportadas por medio de los sistemas de secreción ESX, incluyendo las proteínas de las familias multigénicas PE y PPE, son proteínas secretadas por *M. tuberculosis* que no tienen péptidos de secreción N-terminal clásicos [253,255]. Por lo tanto, se buscaron en la lista de proteínas aquellas potencialmente exportadas por los sistemas de secreción T7, y se identificaron varias proteínas de la familia de ESTA-6, incluyendo EsxA (Rv3875), EsxB (Rv3874), EsxG (Rv0287), EsxI (Rv1037c), EsxK (Rv1197) agrupada con EsxP (Rv2347c) y EsxJ (Rv1038c), EsxL (Rv1198), EsxN (Rv1793) agrupada con EsxV (Rv3619c), EsxO (Rv2346c) y EsxW (Rv3620c) (Anexo 4). La presencia de péptido señal no fue predicha para ninguna de estas proteínas por medio del algoritmo SignalP 5.0 (Anexo 5). Además, varias proteínas pertenecientes al sistema de secreción ESX-1 fueron detectadas en el sobrenadante de cultivo de MTB, incluyendo EspA (Rv3616c), EspD (Rv3614c), EspC (Rv3615c) and EspB (Rv3881c) (Anexo 4). Ninguna de ella fue predicha como conteniendo péptido señal, pero todas ellas cuentan con evidencia experimental de ser secretadas [226]. También detectamos 8 proteínas de la familia multigénica PE - PPE en nuestra muestra, de las cuales 3 fueron predichas como conteniendo péptido señal, es decir, PE13 (Rv1195), PE5 (Rv0285) and PE15 (Rv1386) (Anexo 5) y 5 de ellas no tendrían péptido señal, en particular, PE25 (Rv2431c), PE31 (Rv3477), PPE41 (Rv2430c), PPE18 (Rv1196) and PPE60 (Rv3478). Sin embargo, es conocido que PE25 and PPE41 forman un heterodímero que es secretado por el sistema de secreción ESX-5 de *M. tuberculosis* [256].

En la muestra de CFP también están presentes varias proteínas sin péptido señal, muchas de ellas con una alta abundancia relativa, lo que puede indicar la existencia de algún grado de lisis bacteriana. De hecho, detectamos varios marcadores de autolisis, incluyendo GroEL (Rv0440), L-lactato deshidrogenasa (Rv1872c), isocitrato deshidrogenasa (Rv3339c) [277], glutamina sintetasa GlnA1 (Rv2220), superóxido dismutasa SodA (Rv3846), bacterioferritina Bfr (Rv1876) y malato deshidrogenasa Mdh (Rv1240) [278]. En particular, fue descrito que la presencia de SodA y GlnA1 en el sobrenadante de cultivo de MTB en crecimiento exponencial no está ligada a mecanismos específicos de secreción de proteínas sino a eventos de ruptura bacteriana y autolisis. Además, la abundancia extracelular de estas enzimas fue relacionada con sus altos niveles de expresión y estabilidad [278].

Como resumen de este análisis bioinformático, podemos concluir que varias proteínas identificadas en el sobrenadante de cultivo de MTB fueron predichas como conteniendo péptido señal. Además, en la muestra se evidenciaron varias proteínas relacionadas con el sistema de secreción de tipo VII. Estos datos confirman que muchas proteínas presentes en la muestra son efectivamente secretadas, tanto a través de sistemas basados en señales de secreción clásicas como no convencionales. Por otro lado, el algoritmo SignalP 5.0 resulta una aproximación interesante para predecir proteínas secretadas que incluyen señales de secreción clásicas, pero presenta limitaciones a la hora de analizar proteínas conteniendo señales de secreción no convencionales. Finalmente, fueron detectadas varias proteínas citoplasmáticas, lo que

evidencia cierto grado de lisis bacteriana asociada con altos niveles de expresión y estabilidad extracelular.

Análisis integrativo con estudios proteómicos previos

De forma de validar nuestros resultados, los comparamos con estudios previos que han utilizado aproximaciones diferentes y complementarias para caracterizar las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis H37Rv*. Para ello, seleccionamos estudios proteómicos relevantes que utilizaron una metodología similar de cultivo de MTB y de preparación de la muestra de CFP [188,234,235]. En el reporte de Malen *et al.* se caracterizó un sobrenadante de cultivo de MTB, considerablemente enriquecido en proteínas secretadas, con 2 aproximaciones complementarias: (i) electroforesis 2D combinada con espectrometría de masas MALDI-TOF y (ii) LC-MS/MS. De esta forma identificaron péptidos derivados de un total de 257 proteínas, de las cuales 254 tiene un identificador Rv anotado [188]. Posteriormente, de Souza *et al.* utilizando nano-LC en tándem con un espectrómetro de masas Orbitrap, realizaron el screening de proteínas presentes en sobrenadante de cultivo, fracción de membrana y lisado celular total de *M. tuberculosis*. Con esta aproximación identificaron 2182 proteínas en total, en las diferentes fracciones, específicamente 458 en CFP, 1447 en la fracción de membrana y 1880 en el lisado celular total [234]. En un reporte más reciente de Albrethsen *et al*. utilizaron LC-MS/MS para el análisis de una muestra separada por electroforesis para investigar los cambios en el proteoma del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv en fase de crecimiento logarítmico y luego de 6 semanas de escasez de nutrientes. En ese estudio se identificaron 1362 proteínas en las 6 muestras (3 réplicas de cultivo en fase de crecimiento logarítmico y 3 réplicas de cultivos con escasez de nutrientes) [235].

Por medio de la comparación de las proteínas identificadas en nuestro análisis y las identificadas en las muestras de sobrenadante de cultivo de los análisis proteómicos previamente descritos, se visualiza un grupo de 122 proteínas consistentemente detectadas (Figura 24). De estas, 41 pertenecen al subgrupo P90%, lo que indica que son proteínas con alta representación en el sobrenadante de cultivo (Anexo 6). Varias proteínas relevantes en términos de su implicancia en la virulencia, diseño de vacunas y de pruebas diagnósticas están incluidas en este grupo de proteínas compartidas (Anexo 6), incluyendo la chaperonina de 10kDa GroES (Rv3418c), las proteínas EsxB (Rv3874) y EsxA (Rv3875), la chaperona DnaK (Rv0350), las proteínas del complejo del antígeno 85 -85A (Rv3804c), 85B (Rv1886c) y 85C (Rv0129c)-, la enzima glutamina sintetasa GlnA1 (Rv2220), la proteína inmunogénica Mpt64 (Rv1980c), la proteína de unión a fosfato PstS1 (Rv0934), la proteína secretada rica en alanina y prolina Apa (Rv1860) y varias proteínas pertenecientes a la familia de ESAT-6 (EsxO Rv2346c, EsxL Rv1198, EsxG Rv0287). Además, es de interés mencionar que 1073 proteínas están compartidas entre nuestro análisis y la lista reportada por Albrethsen *et al.* [235], lo que representa el 81.7% de las proteínas que identificadas por nosotros y confirma una fuerte concordancia entre ambos estudios, los que adicionalmente son los que identifican el mayor número de proteínas en el CFP de *M. tuberculosis*.

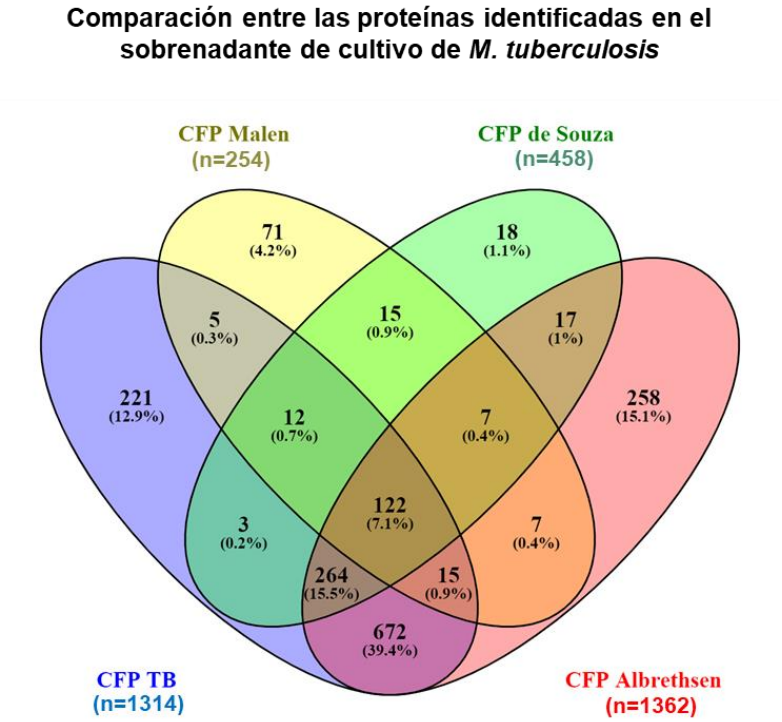


Figura 24. Comparación de la muestra de CFP de *M. tuberculosis* con estudios proteómicos previos
Análisis de la lista de proteínas identificadas en la muestra de CFP de *M. tuberculosis* (CFP TB: este estudio) *versus* otros estudios proteómicos relevantes del sobrenadante de cultivo de MTB, identificados como CPF Malen [188], CFP de Souza [234] y CFP Albrethsen [235] por medio de la comparación con diagramas de Venn [236].

En el grupo de proteínas compartidas el 50% fueron predichas como conteniendo algún tipo de péptido señal, mientras que en el grupo 221 proteínas particulares, es decir aquellas identificadas únicamente en este estudio, menos del 6% (n=13) de las proteínas incluirían señal de secreción (Figura 25).

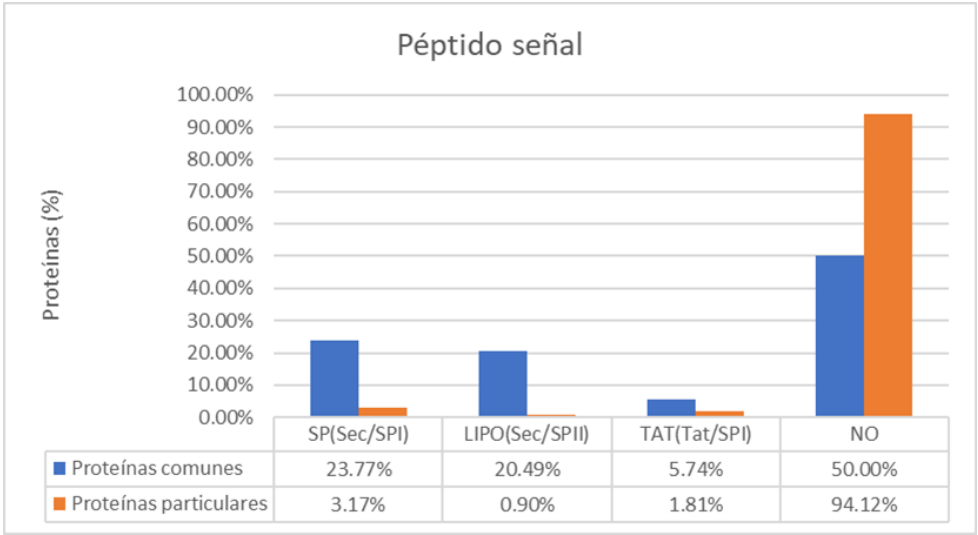


Figura 25. Predicción de la presencia de péptido señal en proteínas comunes y proteínas particulares
Análisis de la predicción de la presencia de péptido señal en la lista de proteínas identificadas en el grupo de proteínas comunes (identificadas en este estudio y los otros 3 estudios analizados [188,234,235] y las proteínas particulares (identificadas únicamente en este estudio).

Por otro lado, las proteínas particulares se clasifican mayoritariamente como relacionadas al metabolismo intermediario y la respiración (n=62), lo que podría indicar que muchas serían proteínas citoplasmáticas que se observan en la muestra de CFP debido a la lisis bacteriana. Sin embargo, de forma interesante, 18 proteínas particulares están clasificadas como relacionadas con la pared celular y los procesos celulares, incluyendo algunas proteínas de los sistemas T7SS. Esta última categoría es la que tiene el NSAF promedio más alto (Figura 26), consistente con su localización preferencial en el sobrenadante de cultivo.

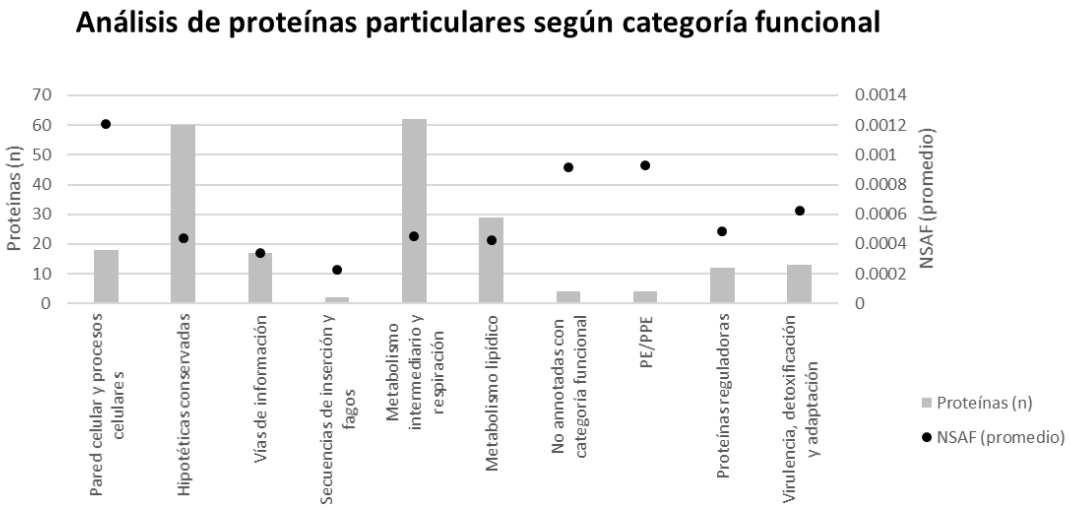


Figura 26. Categorías funcionales de las proteínas particulares en el CFP de *M. tuberculosis*
Categorías funcionales de las proteínas particulares (sólo identificadas en este trabajo) acuerdo a la base de datos de *M. tuberculosis* (Mycobrowser [187]). Las barras representan el número de proteínas en cada categoría funcional indicándose el número sobre cada barra (escala en eje izquierdo) y los puntos negros representan el valor de NSAF promedio de las proteínas de cada categoría (escala en eje derecho).

Posteriormente, se comparó la abundancia relativa de las proteínas que fueron identificadas en la muestra de sobrenadante de MTB analizada y estaban presentes en todos los estudios incluidos en el análisis comparativo (N=4), en 3 (N=3) o 2 (N=2) de ellos, o únicamente en este estudio (N=1). La Figura 27 muestra que las proteínas identificadas en los 4 estudios son en promedio más abundantes que las proteínas incluidas en los otros grupos analizados. Es más, las proteínas identificadas en al menos dos estudios (N=3 o N=2) son globalmente más abundantes que aquellas identificadas únicamente en el presente trabajo.

En conjunto, el hecho que la mayoría de las proteínas identificadas únicamente en este estudio no estén predichas como conteniendo péptido señal, sumado a que son poco abundantes, podría sugerir que nuestra metodología ha resultado más sensible que la aplicada en los estudios comparados, permitiendo identificar la presencia de proteínas poco comunes en el sobrenadante de cultivo, cuya presencia podría estar explicada por procesos de lisis bacteriana. En apoyo de esto último en la sección anterior se discutió sobre la identificación de marcadores de autolisis presentes en la muestra de sobrenadante de cultivo. Es importante notar que todos los marcadores de autolisis identificados por nosotros fueron también detectados en los otros estudios previos, lo que sugiere que la lisis bacteriana es una observación frecuente en el sobrenadante de cultivo de MTB. Por otro lado, en relación a la sensibilidad de la técnica, el número de proteínas identificadas en nuestro estudio es del orden del publicado por Albrethsen

et al. [235] y además, como se mencionó previamente, presentamos una fuerte coincidencia en relación a las identificaciones. Es interesante mencionar que en dicho estudio se realiza el análisis por LC-MS/MS del sobrenadante de cultivo de MTB el que previamente es fraccionado por medio de una corrida electroforética en 1 dimensión, de una forma similar a la realizada en esta tesis.

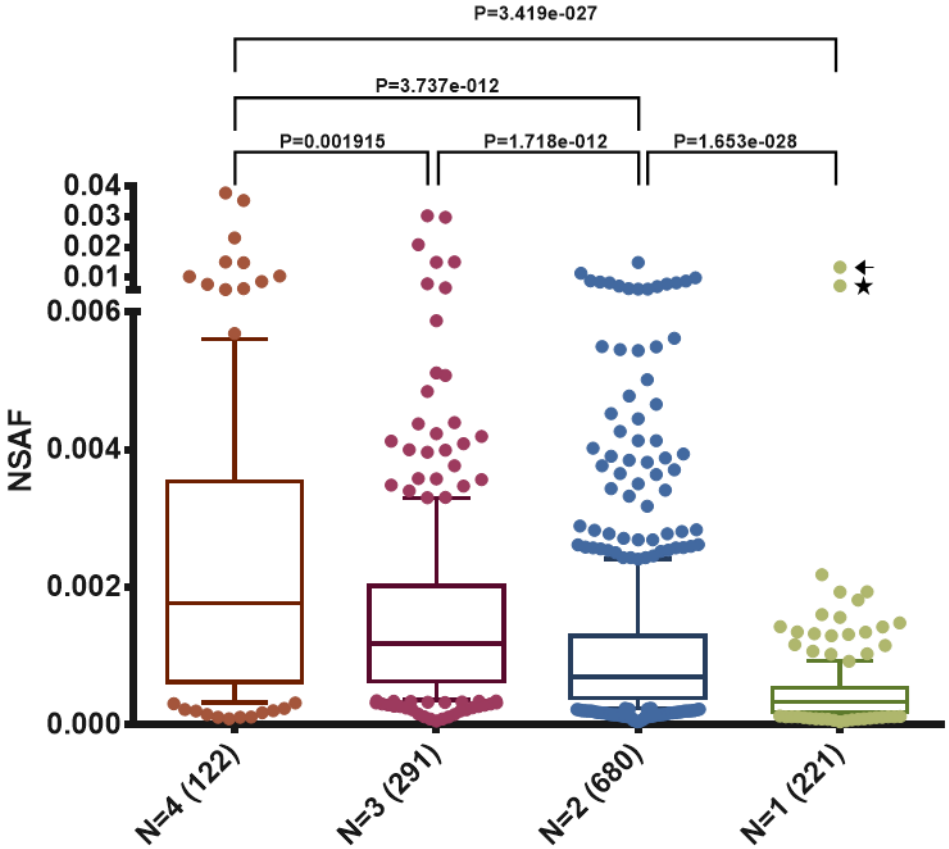


Figura 27. Cuantificación de la abundancia (NSAF) de las proteínas según el número de estudio
Se muestra la abundancia de las proteínas según las mismas se hayan identificado en los 4 estudios analizados (N=4) [188,234,235], en este estudio y 2 estudios adicionales (N=3), en este estudio y uno más (N=2) o únicamente en este estudio (N=1). La flecha indica la proteína Rv3620c (esxW) que fue identificada en otro estudio [189] no incluido en la comparación presentada en la Figura 24. La estrella indica la proteína Rv3118 (sseC1) que tiene una copia idéntica (Rv0814c, sseC2) que fue identificada por Albrethsen *et al.* [235]. Se muestra el valor estadístico p obtenido en la comparación de la mediana entre grupos, por medio del test de Mann-Whitney, indicándose con una línea los grupos comparados.

Se realizó un análisis comparativo adicional de nuestros datos con la aproximación proteómica cuantitativa publicada por de Souza *et al.* [234]. El algoritmo de cuantificación proteómica utilizado en esta tesis (NSAF), y el utilizado por el citado trabajo (emPAI) para cuantificar la representación molar porcentual de cada proteína, son métodos de estimación relativa de la abundancia de las proteínas en experimentos proteómicos de *shotgun* basados en el recuento de espectros [227]. Esta comparación nos permitió identificar un subgrupo de 299 proteínas que están presentes tanto en nuestro estudio como en las 3 fracciones analizadas en ese trabajo (CFP, fracción de membrana y lisado celular) [234]. Este subgrupo son proteínas altamente representadas, ya que constituyen el 43.2% del valor NSAF de nuestra muestra y el 29.2% del valor emPAI. Adicionalmente, 921 proteínas identificadas en la fracción de membrana y/o en el

lisado celular preparado por de Souza *et al.* [234], y representando el 13.3% del valor emPAI calculado, no fueron detectadas en el CFP preparado por ellos, ni el preparado en el marco de esta tesis. La comparación de los datos cuantitativos obtenidos en ambos trabajos se resume en la Figura 28 y en la Tabla 7.

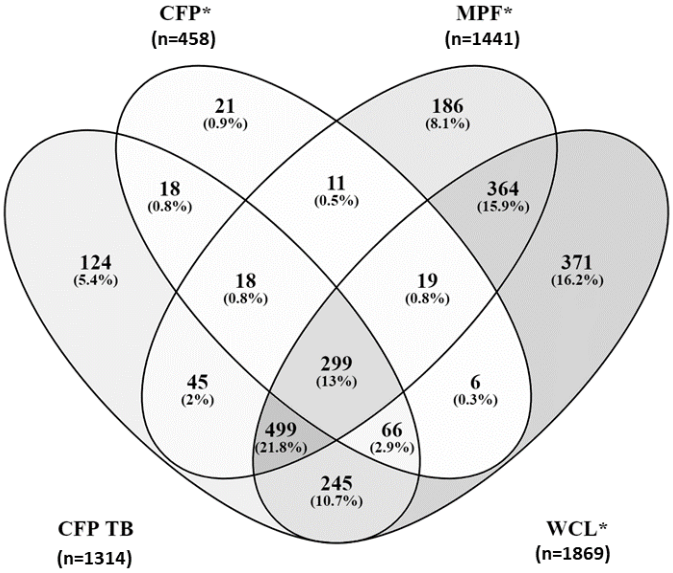


Figura 28. Comparación del CFP de *M. tuberculosis* con el estudio de de Souza *et al.* [234]
Comparación por medio de diagramas de Venn [236] de la lista de proteínas identificadas en la muestra de CFP de *M. tuberculosis* (CFP TB: este estudio) *versus* los datos obtenidos del trabajo de de Souza *et al.* [234]: CFP*: sobrenadante de cultivo, MPF*: fracción de proteínas de membrana, WCL*: lisado celular.

Tabla 7. Comparación de la abundancia normalizada de proteínas con el estudio de de Souza *et al.* [234]

ID	CFP TB	CFP*	MPF*	WCL*	N	NSAF_tot	NSAF %	emPAI_tot*	emPAI %*
1	✓	✓	✓	✓	299	0.784	43.2	78.38	29.2
2	✓	✓	✓		18	0.019	1.0	49.68	18.5
3	✓	✓		✓	66	0.074	4.1	17.71	6.6
4	✓	✓			18	0.012	0.6	1.15	0.4
5	✓		✓	✓	499	0.582	32.1	76.76	28.6
6	✓		✓		45	0.030	1.7	1.24	0.5
7	✓			✓	245	0.169	9.3	5.03	1.9
8	✓				124	0.144	8.0	-	-
8.1	✓				30	0.016	0.9	-	-
-		✓	✓	✓	19	-	-	1.53	0.6
-		✓	✓		11	-	-	0.29	0.1
-		✓		✓	6	-	-	0.60	0.2
-		✓			21	-	-	0.35	0.1
-			✓	✓	364	-	-	26.92	10.0
-			✓		186	-	-	5.49	2.0
-				✓	371	-	-	3.53	1.3

Notas: CFP TB: sobrenadante de cultivo preparado en este trabajo, *: datos obtenidos del trabajo de de Souza *et al.* [234]. MPF: fracción de proteínas de membrana, WCL: lisado celular. El ID indicado se utiliza para identificar en la Figura 29 el grupo de proteínas correspondiente. Se identifica con el ID 8.1 el grupo de las 30 proteínas sin evidencia proteómica previa a nivel de Mycobrowser [187]. Dicho grupo está incluido en el grupo identificado con ID 8.

Nos interesa destacar el hecho de que las 299 proteínas identificadas por este trabajo y en las 3 fracciones del trabajo publicado por de Souza *et al.* [234] sean ubicuas y abundantes, ya que esto las hace particularmente interesantes como potenciales biomarcadores. De hecho, de los 13 antígenos proteicos detectados en muestras clínicas cuya presencia detectáramos en el CFP de *M. tuberculosis* preparado en esta tesis (Tabla 2 y Figura 23), hay 10 en este grupo de proteínas ubicuas identificados con número 1 en la Tabla 7. Estos son los mismos que habíamos descrito que estaban en el percentil P90% en relación a su abundancia (NSAF>0.00278), es decir: GroEL2 (Rv0440), EsxB (Rv3874), EsxA (Rv3875), HspX (Rv2031c), FbpA (Rv3804c), FbpB (Rv1886c), Mpt64 (Rv1980c), PstS1 (Rv0934), GlcB (Rv1837c) y Apa (Rv1860). Se muestra en la Figura 29 la abundancia de cada grupo de proteína definido en la Tabla 7 y se indican con color rojo los valores que corresponden a los biomarcadores que se han reportado hasta la fecha. Los otros 3 biomarcadores identificados en el CFP, es decir Mpt51 (Rv3803c), la proteína de estrés Rv2623 y MshD (Rv0819) están presentes en los grupos identificados como 3, 6 y 7, respectivamente.

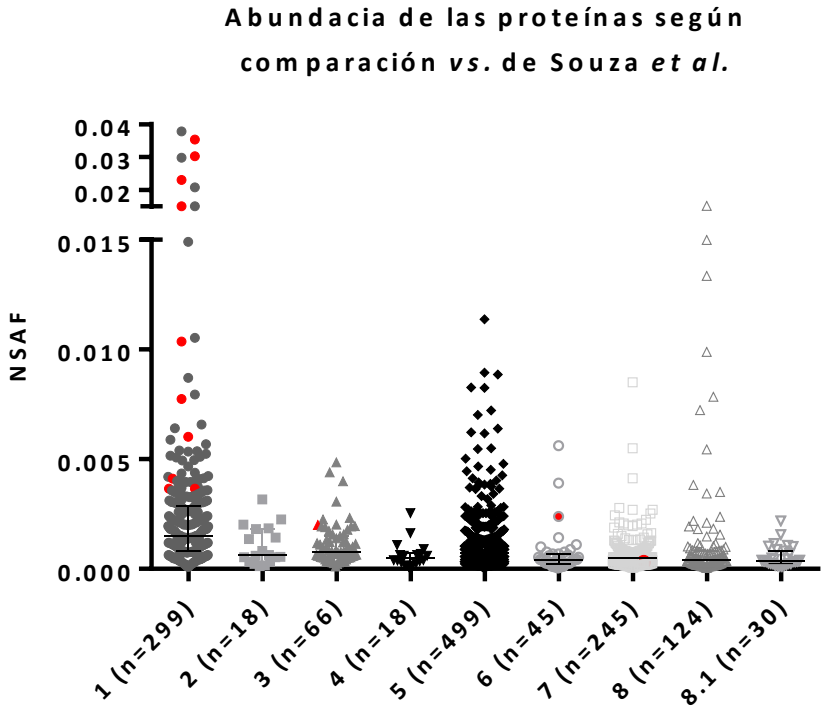


Figura 29. Abundancia (NSAF) de las proteínas según la comparación vs. de Souza *et al*. [234]**.**
Se muestra la abundancia de las proteínas según las mismas se hayan identificado en los diferentes grupos de proteínas identificados con ID en la Tabla 7. Se indican con color rojo en cada grupo las proteínas previamente identificadas como biomarcadores (Tabla 2).

Por tal motivo postulamos que es interesante profundizar el estudio de este grupo de 299 proteínas ubicas y abundantes, donde se encuentran varios biomarcadores conocidos y potencialmente otras proteínas de interés diagnóstico. Las mismas se listan en el Anexo 7, del que nos interesa resaltar que hay varias proteínas abundantes, que no han sido identificados hasta el momento como biomarcadores de la infección, entre las que destacamos a las chaperonas GroS (Rv3148c) y DnaK (Rv0350), a las proteínas EsxO (Rv2346c) y EsxL (Rv1198) relacionadas con ESAT-6, a la glutamina sintetasa GlnA1 (Rv2220), a la tiorredoxina TrxA

(Rv3914), a la proteína reguladora GarA (Rv1827) y a la catalasa-peroxidasa KatG (Rv1908c), todas ellas pertenecientes al subgrupo de proteínas en el percentil 95 (NSAF>0.00412).

En resumen, estos resultados muestran que la muestra de CFP preparada en la presente tesis exhibe una buena correlación con los estudios previos, tanto en términos de la composición proteómica cualitativa como en relación a la estimación cuantitativa de la abundancia de las proteínas identificadas. Las proteínas altamente representadas en nuestra muestra son: (i) frecuentemente identificadas en otros estudios del sobrenadante de cultivo de MTB, lo que confirma que nuestra muestra está enriquecida en proteínas que la bacteria secreta y (ii) detectadas de forma ubicua en diferentes fracciones celulares de *M. tuberculosis*, indicando que podrían representar proteínas con alto nivel de expresión.

Es importante destacar que por medio de este análisis integrativo logramos evidenciar 30 proteínas que no tienen evidencia proteómica reportada en la base de datos específica de micobacterias Mycobrowser (Release 3 (2018-06-05)) [187]. Estas proteínas, identificadas en la fila 8.1 de la Tabla 7 no son muy abundantes (Figura 29), lo que justifica el hecho que no hubieran sido detectadas previamente. La lista, que se presenta en el Anexo 8, está compuesta principalmente por proteínas clasificadas como hipotéticas conservadas. De estas nos interesa resaltar a la proteína EspG3 (Rv0289) asociada al sistema de secreción ESX-3, identificada con 4 péptidos únicos en la muestra CFP(1) y 5 péptidos únicos en la muestra CFP(2), y a la quinasa de histidinas DosT (Rv2027c) perteneciente al sistema sensor de 2 componentes, identificada con 2 péptidos únicos en cada réplica. La información obtenida durante esta tesis en este sentido se propone sea incluida en esta base de datos relevante para el estudio de MTB de forma de ser fácilmente accesible a la comunidad académica.

Finalmente, comparamos las proteínas del Anexo 8 con los resultados obtenidos en un estudio proteómico basado en la metodología de espectrometría de masas dirigida SWATH [279]. Dicha metodología permite la cuantificación absoluta de la concentración de proteínas en una muestra mediante la utilización de una librería específicamente diseñada para el ensayo, que incluye las coordinadas precisas de cada péptido y cada proteína a ser cuantificada [280]. La comparación que realizamos con los datos publicados en este trabajo, que reportó una cuantificación de 2458 proteínas en diferentes situaciones experimentales en varias muestras de MTB [279], nos permitió evidenciar en nuestra muestra 8 proteínas que, hasta lo que pudimos verificar, no tenían evidencia previa directa de expresión a nivel de proteína en MTB (Tabla 8). Todas ellas fueron identificadas con al menos 2 péptidos únicos (Anexo 9).

Tabla 8. Proteínas en el CFP de *M. tuberculosis* H37Rv sin evidencia previa directa de su expresión

Locus	Gen	Categoría funcional	Descripción	NSAF total
Rv0868c	moaD2	Metabolismo intermediario y respiración	Probable molybdenum cofactor biosynthesis protein D 2 MoaD2	0.00156396
Rv1344	mbtL	Metabolismo lipídico	Acyl carrier protein (ACP) MbtL	0.00115567
Rv2063A	mazF7	Virulencia, detoxificación, adaptación	Possible toxin MazF7	0.00103628
Rv2828c	Rv2828c	Hipotéticas conservadas	Conserved hypothetical protein	0.00102638
Rv1065	Rv1065	Hipotéticas conservadas	Conserved hypothetical protein	0.00032764
Rv0765c	Rv0765c	Metabolismo intermediario y respiración	Probable oxidoreductase	0.00023114
Rv1347c	mbtK	Metabolismo lipídico	Lysine N-acetyltransferase MbtK	0.00016895
Rv1148c	Rv1148c	Seqs de inserción y fagos	Conserved hypothetical protein	0.00011722

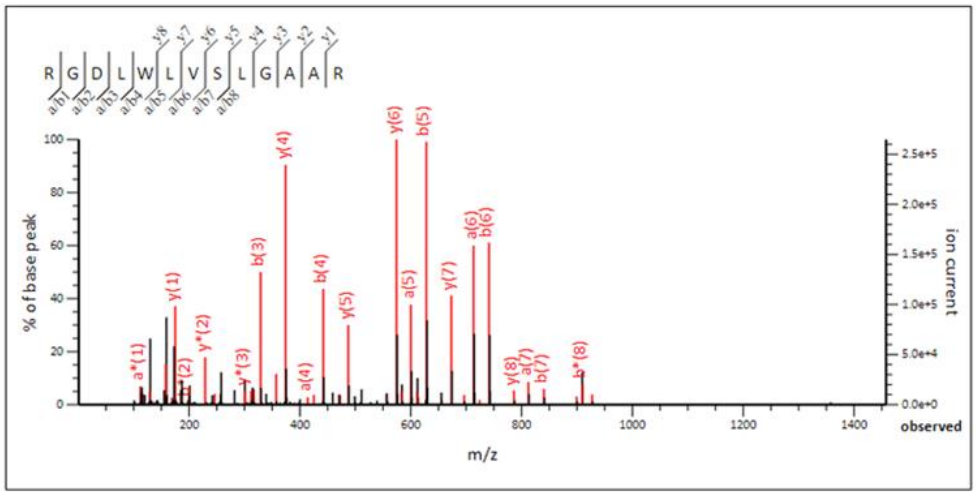
Los espectros de 2 péptidos únicos de la toxina MazF7 (Rv2063A), asignada a la categoría virulencia, detoxificación, adaptación, y su validación en la utilidad MS/MS Ions Search del servidor Mascot (Matrix Science Limited [281]), se presentan en la Figura 30. Los sistemas toxina-antitoxina (TA) están altamente conservados en los miembros del MTBC y se ha propuesto que juegan un rol importante en la virulencia [282]. Estos sistemas TA son mayoritariamente elementos genéticos bicistrónicos que comprenden un par de genes toxina y antitoxina. Por medio de búsquedas de homología fueron identificados 38 locus de genes TA putativos en *M. tuberculosis*, encontrándose además en la comparación con otros organismos procariotas, que los microorganismos de crecimiento lento tienen un número particularmente elevado de estos elementos [283]. En particular, las toxinas MazF, que presentan 9 homólogos en MTB, han mostrado que actúan como ribonucleasas e inhiben la síntesis de proteínas [284]. La actividad tóxica de la toxina MazF7, identificada por primera vez de forma nativa en nuestra muestra de sobrenadante, ha sido evaluada por medio de la sobreexpresión en *E. coli* [285], *M. smegmatis* [286] y *M. bovis* BCG [282]. En los primeros dos sistemas se ha verificado que su expresión inhibiría el crecimiento celular y la formación de colonias, y en el caso de *E. coli* se vio además que su efecto tóxico sería neutralizado por la coexpresión de su par antitoxina MazE7 (Rv2063), lo que llevó a postular que los genes Rv2063A y Rv2063 (par mazEF7) codificarían efectivamente un par funcional TA. Sin embargo, la sobreexpresión de esta toxina en *M. bovis* no provocó la inhibición del crecimiento celular [282]. En este caso fue postulado que las diferencias observadas en relación a los otros sistemas evaluados podrían deberse a diferencias en relación al sistema de expresión utilizado, que podrían afectar los niveles de transcripción y/o traducción del gen estudiado.

Como todas estas proteínas identificadas por primera vez en esta tesis, también la mazEF7 tiene un nivel bajo de expresión, estando ubicada en la posición 481 de la lista de 1314 proteínas comunes, ordenadas en cuanto a su valor NSAF. Sin embargo, estas identificaciones a nivel de proteína son útiles para la investigación en MTB ya que permiten verificar datos genómicos y evaluar niveles de expresión.

>Mycobacterium tuberculosis H37Rv|Rv2063A|mazF7
LAEPR**RGDLWLVSLGAAR**AGEPGKHRPAVVVSVDELLTGIDDELVVVVPVSSSRSRTPL
RPPVAPSEGVAADSVAVCRGVRAVARARLVERLGALKPATMR**AIENALTLILGLPTGPER**
GEAATHSPVRWTGGRDP

MS/MS Fragmentation of RGDLWLVSLGAAR
Found in WP_003410654.1 in NCBIprot, MULTISPECIES: mRNA interferase MazF7 [Mycobacterium]

Match to Query 1: 1412.787375 from(1413.794651,1+) index(2)
Data file Scans MazF7.txt



MS/MS Fragmentation of AIENALTLILGLPTGPER
Found in WP_003410654.1 in NCBIprot, MULTISPECIES: mRNA interferase MazF7 [Mycobacterium]

Match to Query 3: 1877.059714 from(1878.066990,1+) index(4)
Data file Scans MazF7.txt

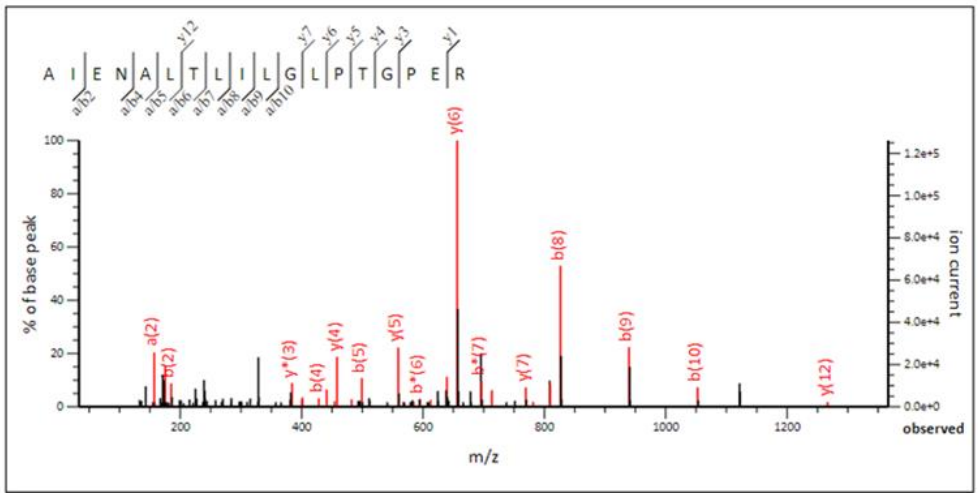


Figura 30. Espectros representativos de 2 péptidos únicos asignados a la toxina MazF7 (Rv2063A)
Se muestra la secuencia completa de la proteína y la asignación de iones correspondientes a 2 péptidos de esta proteína (indicados en rojo en la secuencia original), confirmados estadísticamente en la utilidad MS/MS Ions Search del servidor Mascot (Matrix Science Limited [281]).

Análisis de O-glicosilación de las proteínas del CFP de M. tuberculosis

En el marco del objetivo específico N°1, nos propusimos también identificar la presencia proteínas O-glicosiladas en el sobrenadante de cultivo de MTB preparado en esta tesis. Como se mencionó en la introducción de este capítulo, en MTB se ha evidenciado que los eventos de O-glicosilación de proteínas son frecuentes [261,262]. Asimismo, se postula que la O-glicosilación es esencial para la virulencia de MTB [264] y en esta tesis en particular queremos evaluar si la presencia de esta modificación postraduccional debería ser considerada para la identificación de los biomarcadores proteicos de la infección.

Considerando las proteínas secretadas o asociadas a la pared celular algunos reportes previos han descrito la presencia de varias proteínas glicosiladas, por medio de diferentes aproximaciones experimentales [262,265,266]. Por otro lado, recientemente, en el trabajo glicoproteómico de Birhanu *et al.*, reportaron que la O-glicosilación y en menor medida la N-glicosilación de proteínas, son modificaciones más frecuentes que lo que previamente se creía previamente [261]. Siendo que hasta el momento, solamente se ha validado de forma experimental, por métodos adicionales a la espectrometría de masas, la presencia de manosas en proteínas glicosiladas de *M. tuberculosis* [262,287], nos abocamos a la identificación de péptidos conteniendo este tipo de carbohidrato, es decir modificaciones que generan un aumento de masa molecular coincidente con la adición de mono o polihexosas, y en particular, de acuerdo a los reportes anteriores, hasta 3 hexosas por sitio de glicosilación [262,287].

En general, los trabajos previos se han valido del enriquecimiento de las proteínas glicosiladas debido su afinidad por la lecitina concanavalina A (conA), de forma de simplificar la muestra analizada [265,266]. En este trabajo analizamos la muestra de proteínas del sobrenadante, sin enriquecerla en proteínas glicosiladas, debido a que consideramos que la tecnología de nano LC MS/MS utilizada, al tener más de 4 órdenes de magnitud de rango dinámico y una sensibilidad del orden del fentogramo, nos iba a permitir la identificación directa de los péptidos modificados. Nos apoyamos también en el hecho de que una metodología similar había sido utilizada en el citado trabajo de Birhanu *et al.*, permitiendo la identificación de un gran número de eventos de glicosilación [261].

En cada réplica de sobrenadante de cultivo se detectaron varios eventos de O-glicosilación y luego de comparar los eventos identificados en ambas réplicas se definió el subgrupo de proteínas glicosiladas comunes que fue utilizado en los análisis siguientes. Este análisis permitió evidenciar la presencia de 69 eventos de glicosilación en 61 péptidos modificados, comunes a ambas réplicas (Tabla 9). Los péptidos O-glicosilados comunes fueron identificados en 167 *scans*, con al menos 1 *scan* por réplica y un máximo de 8 *scans* en el caso de la modificación Hex-Hex-Hex en la proteína secretada rica en alanina y prolina Apa (Rv1860) (Anexo 10). En varios casos, el péptido no modificado fue identificado además del péptido modificado, indicando que para algunas proteínas coexisten diferentes glicoformas, como fue previamente reportado en el caso de las lipoproteínas LprG (Rv1411c) [288] y LpqH (Rv3763) [289]. Evidencia de esto se muestra en el Anexo 11 para las algunas proteínas ejemplo: 1) Apa (Rv1860, modificación: Hex), 2) LprF (Rv1368, modificación: Hex), 3) LppO (Rv2290, modificación: Hex-Hex) y 4) Apa (Rv 1860, modificación: Hex-Hex-Hex). En el caso de Apa (Rv1860) el mismo péptido se encuentra sin glicosilación, con 1 hexosa, con 2 hexosas y con 3 hexosas (Anexo 10 y Anexo 11).

Tabla 9. Perfil de O-glicosilación en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*

Modificación		Hex	Hex-Hex	Hex-Hex-Hex
Replica # 1	**Péptido modificado (n)**	268	94	68
	Péptido FDR (%, n/N)	**0.15** (27/17879)	**0.13** (22/17513)	**0.14** (24/17635)
	Proteína modificada (n)	212	91	62
	Proteína FDR (%, n/N)	**0.94** (14/1494)	**0.95** (14/1467)	**1.00** (15/1505)
Replica # 2	**Péptido modificado (n)**	107	72	66
	Péptido FDR (%, n/N)	**0.13** (22/16603)	**0.15** (25/16614)	**0.12** (20/16716)
	Proteína modificada (n)	95	67	57
	Proteína FDR (%, n/N)	**0.99** (15/1509)	**0.99** (15/1511)	**0.99** (15/1515)
Análisis conjunto	**Proteínas modificadas comunes (n)**	36	23	15
	Péptidos modificados comunes (n)	29	17	15
	Eventos de modificación comunes (n)	35	18	16
	Proteínas con eventos de modificación comunes (n)	24	17	13

FDR: *False discovery rate*, n: número, N: total.

En resumen, se detectaron modificaciones por O-glicosilación en 46 proteínas diferentes del sobrenadante de cultivo de MTB (Figura 31), incluyendo 7 lipoproteínas, las que se presentan separadamente en el Anexo 12, debido a que frecuentemente los eventos de glicosilación se han visto asociados con la acetilación de proteínas [262]. Además, 7 proteínas presentaron más de una de las modificaciones buscadas, Apa (Rv1860) como se mencionó previamente, LpqH (Rv3763), LppO (Rv2290), FhaA (Rv0020c), LprF (Rv1368), DsbF (Rv1677) y DevR (Rv3133c) (Figura 31). De las 46 proteínas O-glicosiladas, 10 tienen evidencia previa de estar manosiladas, según lo que fue resumido en Mehaffy *et al.* [262] y 3 proteínas adicionales ((HtrA (Rv1223), DsbF (Rv1677) and Wag31 (Rv2145c)) se encontraron con el mismo tipo de modificación que la observada en esta tesis en el trabajo de Birhanu *et al.* [261].

Considerando las O-glicoproteínas ya conocidas resulta interesante subrayar el alto número de *scans* de péptidos modificados que presenta la proteína rica en alanina y prolina Apa (Rv1860), también denominada MPT32 o glicoproteína de 45kDa, que es una proteína manosilada de secreción extensamente caracterizada [287,290] y un potencial biomarcador con utilidad diagnóstica para la TB activa [169,170] (Tabla 2). Otro biomarcador evaluado en el diagnóstico directo de *M. tuberculosis* [178] y que aparece glicosilado tanto en nuestro análisis como en los trabajos previos [262] es la proteína periplásmica de unión a fosfato PstS1 (Rv0934), lo que apoya nuestro planteo de que es importante considerar esta modificación postraduccional en el marco de la búsqueda y caracterización de marcadores proteicos derivados del patógeno.

Las proteínas manosiladas podrían actuar como potenciales adhesinas, y fue demostrado que Apa se une a la proteína surfactante pulmonar humana (SP-A) y potencialmente también a otras lectinas del tipo C homólogas, pertenecientes al sistema inmune innato [291]. En este caso, se demostró además que la unión es dependiente de la presencia de las manosas, ya que la deglicosilación de la proteína purificada evitó la interacción con SP-A [291]. Otra proteína

largamente reconocida como glicosilada, la lipoproteína de 19 kDa LpqH (Rv3763), también mostró un importante número de péptidos modificados con Hex-Hex y Hex-Hex-Hex en nuestro análisis. Esta lipoproteína está expuesta en la envoltura celular y se ha postulado que es utilizada por la micobacteria para permitir su ingreso a los macrófagos a través de una interacción con los receptores de manosa (MRs) expuestos por estas células [292].

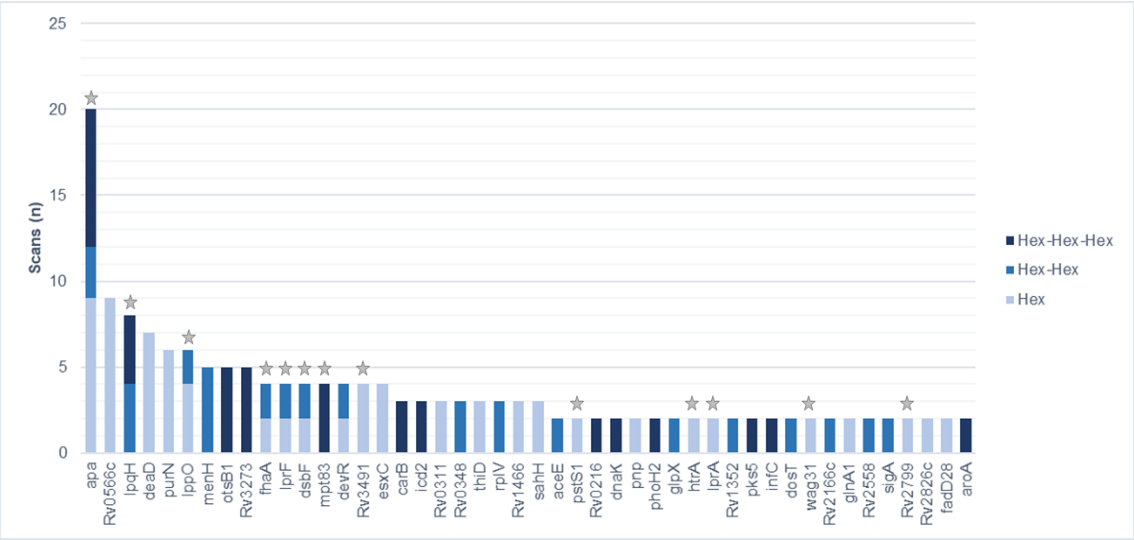


Figura 31. Proteínas O-glicosiladas en el sobrenadante de cultivo de MTB.
Número de *scans* de péptidos O-glicosilados identificados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB (n=46). Cada modificación analizada (Hex, Hex-Hex o Hex-Hex-Hex) se muestra en un color diferente. Se considera el número total de *scans* incluyendo ambas réplicas. Las proteínas con evidencia previa de estar glicosiladas se muestran con una estrella gris sobre la barra correspondiente (n=13).

Clasificación de las proteínas O-glicosiladas en el sobrenadante de cultivo de MTB

Como fue mencionado en la sección precedente, la glicosilación juega un rol significativo en los procesos adaptativos de MTB y, en particular, el reconocimiento entre el patógeno y su célula hospedera está mediado en parte por proteínas glicosiladas [291,292], como fue mencionado en la sección precedente. Para evaluar las asociaciones ontológicas de las 46 glicoproteínas identificadas en esta tesis se determinaron las principales categorías de términos ontológicos enriquecidos (Figura 32). Se obtuvo asociación estadísticamente significativa en relación a la categoría procesos biológicos con el término patogénesis, siendo algunas proteínas asignadas a esta categoría GlnA1 (Rv2220), LpqH (Rv3763), PstS1 (Rv0934) y DevR (Rv3133c). En relación a la categoría función molecular es significativa la asociación de las proteínas O-glicosiladas identificadas con el término unión a lípidos, estando asignadas a esta categoría las lipoproteínas LprA (Rv1270c) y LprF (Rv1368). Este análisis ontológico mostró también que la mayoría de las glicoproteínas identificadas se describen como localizadas en la pared celular y en la región extracelular (Figura 32), lo que es coincidente con la clasificación realizada en los subgrupos de proteínas más abundantes (Proteínas P75%, P90% y P95%) que mostraron un enriquecimiento creciente en estos mismos términos (Figura 21). Ente las proteínas clasificadas con estos términos de componente celular están la proteína ESAT-6 like EsxC (Rv3890c), la proteína de superficie celular MPT83 (Rv2873), Apa (Rv1860) y las lipoproteínas LppO (Rv2290), LprA (Rv1270c), LprF (Rv1368) y PstS1 (Rv0934).

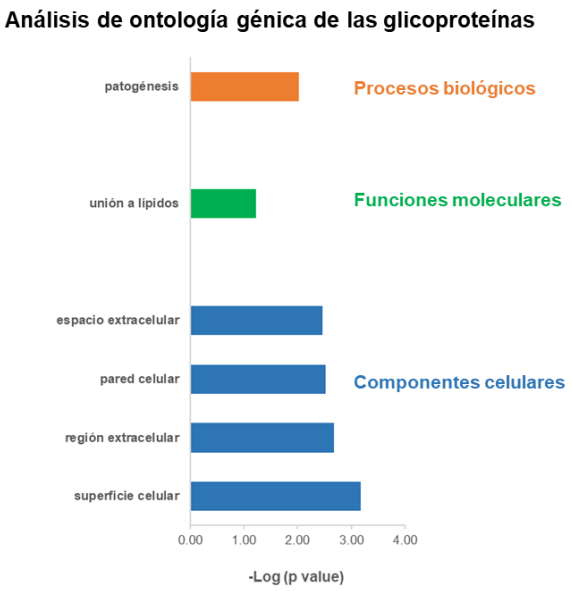


Figura 32. Clasificación de las proteínas O-glicosiladas en el sobrenadante de cultivo de MTB.
Análisis de ontología génica de las glicoproteínas del sobrenadante de cultivo de MTB. Se muestran las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$). Se analizaron las proteínas con glicosilaciones comunes en ambas réplicas utilizando la herramienta David Gene Functional Classification Tool [229,230], usando la base de datos Función Molecular, Procesos Biológicos y Componente celular y las proteínas totales de *M. tuberculosis* H37Rv como *background*.

La clasificación funcional según la base de datos Mycobrowser [35] mostró que las proteínas O-glicosiladas identificadas en este estudio están distribuidas en 7 categorías funcionales (Tabla 10). La mayoría de ellas están involucradas en las categorías metabolismo intermediario y respiración (n=15) y pared celular y procesos celulares (n=11). En particular, a esta última categoría pertenecen la mayoría de las proteínas O-glicosiladas previamente conocidas, referenciadas en la Tabla 10. En esta tabla además se resumen los resultados de las predicciones de presencia o ausencia de péptido señal, así como de número de hélices transmembrana en cada una de las potenciales proteínas O-glicosiladas identificadas en este trabajo.

La ocurrencia de algunas glicoproteínas de localización citoplasmática estaría asociada a la lisis celular parcial que se mencionó previamente. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la presencia de esta modificación en proteínas sin péptido señal, no es esperada, ya que la glicosilación se ha relacionado con la secreción de proteínas dependiente del sistema Sec [263]. No obstante, en coincidencia con nuestros resultados, algunas glicoproteínas sin péptido señal o hélices transmembrana fueron descritas previamente, de las cuales dos fueron también detectadas en nuestro estudio (Tabla 10) [261,266]. Por otro lado, fue sugerido que la deficiencia de proteína O-manosiltransferasa (Rv1002c) puede tener implicaciones más amplias en la fisiología y virulencia de las micobacterias, al combinar niveles disminuidos de proteínas glicosiladas inmunodominantes con vías celulares bacterianas alteradas, especialmente las relacionadas con la biosíntesis de aminoácidos y ácidos grasos [262].

Tabla 10. Categoría funcional de las proteínas O-glicosiladas identificadas en nuestro análisis

Categoría funcional	Proteína	Locus	Localización predicha de Hex[a]	¿Predicción de péptido señal?[b]	N° de hélices TMB[c]	Referencias[d]
Pared celular y procesos celulares	PstS1	Rv0934	S299	LIPO(Sec/SPII)		[266,293]
	LprA	Rv1270c	T40	LIPO(Sec/SPII)	1	[265,266]
	LprF	Rv1368	S50 & S53	LIPO(Sec/SPII)	1	[261,266]
	DsbF	Rv1677	T33 & T40	LIPO(Sec/SPII)		[261]
	Apa	Rv1860	T313, T315 & T316	SP(Sec/SPI)	1	[261,265,266]
	Wag31	Rv2145c	S192	NO		[261]
	LppO	Rv2290	T73 & T75	LIPO(Sec/SPII)		[261,265]
	Rv2799	Rv2799	T73	NO	1	[261,265,266]
	Mpt83	Rv2873	T49	LIPO(Sec/SPII)		[266,293]
	LpqH	Rv3763	S31, T34 & T35	LIPO(Sec/SPII)		[266,293]
	EsxC	Rv3890c	S35	NO		Este trabajo
Virulencia, detoxificación, adaptación	DnaK	Rv0350	T402	NO		Este trabajo
	OtsB1	Rv2006	T148 & S149	NO		Este trabajo
Vías de información	RplV	Rv0706	S43	NO		Este trabajo
	DeaD	Rv1253	T263 & T294	NO		Este trabajo
	InfC	Rv1641	S114	NO		Este trabajo
	SigA	Rv2703	S83	NO		Este trabajo
Metabolismo lipídico	Pks5	Rv1527c	T810	LIPO(Sec/SPII)		Este trabajo
	FadD28	Rv2941	T500	NO		Este trabajo
Proteínas reguladoras	FhaA	Rv0020c	S332 & S336	NO		[266]
	Rv0348	Rv0348	T115	NO		Este trabajo
	DosT	Rv2027c	S421	NO		Este trabajo
	DevR	Rv3133c	S148, T151 & T156	NO		Este trabajo
Metabolismo intermediario y respiración	Icd2	Rv0066c	S651	NO		Este trabajo
	Rv0216	Rv0216	S122	NO		Este trabajo
	ThiD	Rv0422c	T2	NO		Este trabajo
	PnP	Rv0535	T142	NO		Este trabajo
	MenH	Rv0558	S32	NO		Este trabajo
	PurN	Rv0956	S24	NO		Este trabajo
	PhoH2	Rv1095	T309	NO		Este trabajo
	GlpX	Rv1099c	S169	NO		Este trabajo
	HtrA	Rv1223	S212	NO	1	[261]
	CarB	Rv1384	T409	LIPO(Sec/SPII)		Este trabajo
	GlnA1	Rv2220	T36	NO		Este trabajo
	AceE	Rv2241	S32	NO		Este trabajo
	AroA	Rv3227	S349	NO		Este trabajo
	SahH	Rv3248c	T473	NO		Este trabajo
	Rv3273	Rv3273	S735	NO	10	Este trabajo
Hipotéticas conservadas	Rv0311	Rv0311	S10	NO		Este trabajo
	Rv0566c	Rv0566c	T52, S53 & T55	NO		Este trabajo
	Rv1352	Rv1352	T23	SP(Sec/SPI)	1	Este trabajo
	Rv1466	Rv1466	S5	NO		Este trabajo
	Rv2166c	Rv2166c	S39	NO		Este trabajo
	Rv2558	Rv2558	T82	NO		Este trabajo
	Rv2826c	Rv2826c	S192	NO		Este trabajo
	Rv3491	Rv3491	S167 & S176	SP(Sec/SPI)	1	[261,265,266]

Notas:

La categoría funcional se asignó de acuerdo a la base de datos de micobacterias (Mycobrowser [187]).

[a] Localización predicha de la O-glicosilación.
[b] Número de hélices transmembrana (TMB) predichas por el algoritmo TMHMM 2.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/).
[c] Péptido señal predicho por el algoritmo SignalP 5.0 (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/.
[d] Se referencias las proteínas con evidencia previa de O-glicosilación.

Como resumen de esta parte, nuestros datos indican que la variabilidad de sustratos relacionados con la vía de glicosilación en MTB es mayor de la esperada según la evidencia más reconocida de la asociación de este proceso con la vía de secreción Sec, un hecho también observado en MTB por Birnahu *et al.* [261] y en la caracterización del glicoproteoma del microorganismo Gram positivo relacionado *Streptomyces coelicolor* [294]. Por lo tanto, el estudio de esta modificación postraduccional es importante para tener un panorama completo de los factores de virulencia y potenciales biomarcadores de la infección.

Validación de la O-glicosilación y de la asignación del sitio de glicosilación

De las 46 glicoproteínas identificadas en el sobrenadante de cultivo, 9 habían sido identificadas como potenciales glicoproteínas por medio de una estrategia de captura basada en su afinidad a ConA realizada en el trabajo publicado por Gonzalez-Zamorano *et al.* [266]. Asimismo, 5 glicoproteínas identificadas en nuestro análisis (4 en común con Gonzalez-Zamorano *et al.*) fueron identificadas en el análisis glicoproteómico realizado por Smith, *et al.* [265]. Ambos estudios se realizaron también utilizando como muestra el sobrenadante de cultivo de MTB. Además, 9 proteínas se encontraron con el mismo tipo de modificación en el trabajo de Birhanu *et al.* [261], que se realizó utilizando proteínas de lisado celular total, de las cuales 3 proteínas son adicionales a las identificadas por los trabajos previamente citados. Las proteínas identificadas en nuestro análisis, con evidencia previa de glicosilación (13 en total), se encuentran referenciadas en la Tabla 10 e identificadas con una estrella gris en la Figura 31.

Además de compararse a nivel de la proteína identificada, se comparó también la asignación del sitio de glicosilación. En este punto, es importante notar que la asignación precisa del sitio de O-glicosilación es compleja debido al hecho que las energías de colisión utilizadas para la fragmentación peptídica causan generalmente la ruptura del enlace O-glicosídico, ya que este es un enlace más débil, dejando como resultado mayoritariamente fragmentos peptídicos no glicosilados. De cualquier manera, a pesar de esta limitaciones, de forma de aproximarnos a la localización del sitio de glicosilación, testeamos preliminarmente con nuestros datos el algoritmo XDScoring del *software* Patternlab for proteomics desarrollado para la localización estadística de los sitios de fosforilación en fosfopéptidos [295]. De esta manera, obtuvimos un valor *p* para cada sitio de glicosilación asignado, que se presenta en el Anexo 10.

En el análisis realizado por Smith *et al.* se realizó la asignación manual de los sitios de O-glicosilación luego de un análisis exhaustivo de los datos [265]. Nuestros resultados muestran una buena concordancia en el caso de las 5 proteínas glicosiladas en común con este estudio, es decir Apa (Rv1860), Rv2799, LprA (Rv1270c), LppO (Rv2290) y Rv3491, tanto en relación al péptido O-glicosilado identificado como en relación a la asignación del sitio de O-glicosilación (Anexo 13). Comparando nuestros resultados también con el análisis glicoproteómico de Birhanu *et al.* [261], de las 9 proteínas de nuestra lista identificadas con el mismo tipo de O-glicosilación, 5 presentaron un sitio de O-glicosilación igual al asignado en nuestro estudio

(Anexo 13). De estas proteínas, identificamos la misma modificación monohexosa y dihexosa en el caso de la lipoproteína conservada DsbF (Rv1677), confirmando que la glicosilación que ellos encontraron en el extracto celular total de MTB también está presente en el sobrenadante de cultivo. La región N-terminal en la que se presenta la glicosilación identificada en nuestro estudio corresponde a una secuencia con estructura potencial desordenada y no se encuentra en el modelo estructural disponible [296,297]. Es interesante presentar el espectro del péptido O-glicosilado de esta proteína, ya que esta proteína no había sido reportada en los análisis glicoproteómicos que se habían realizado previamente al sobrenadante de cultivo de MTB [265,266]. En la Figura 33 se muestra la confirmación en la utilidad MS/MS Ions Search del servidor Mascot [281] de un *scan* asignado a un péptido de esta proteína, modificado con 2 hexosas en la treonina 40.

Probable conserved lipoprotein DsbF (Rv1677)
Modificación: Hex-Hex

MATRIX SCIENCE **Mascot Search Results**

Peptide View

MS/MS Fragmentation of **SQPAVAPTGDAAAATQVPAGQTVPAQLQFSAK**
Found in **AFE16571.1** in **NCBIprot**, putative lipoprotein DSBF [Mycobacterium tuberculosis RGTB327]

Match to Query 4: 3401.680930 from(3402.688206,1+) index(1)
Data file Scans DsbF Hex-Hex Mascot.txt

171213_PT_H37Rv_1-5.sqt
Scan=14987 z=3

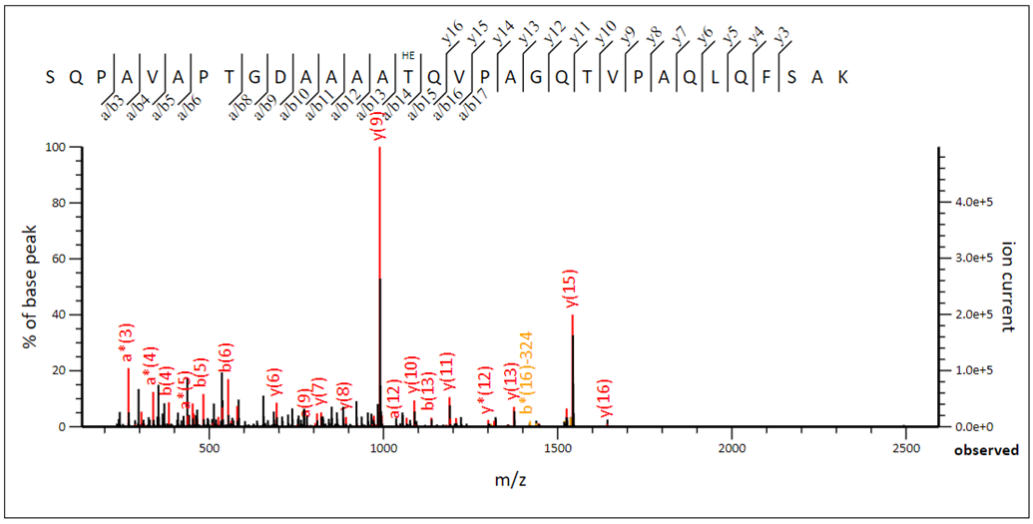


Figura 33. Espectro del péptido O-glicosilado de la probable lipoproteína conservada DsbF (Rv1677). Se muestra la verificación de un *scan* del péptido identificado con la modificación Hex-Hex en la treonina 40 de la lipoproteína conservada DsbF (Rv1677) confirmado en el servidor Mascot MS/MS Ions Search contra la base de datos NCBIprot (AA) [281]. HE: Hex-Hex.

Además, luego de comparar nuestros resultados con la asignación del sitio de O-glicosilación determinada por medio de un screening en *M. smegmatis* de secuencias peptídicas predichas por la red de algoritmos (NetOglyc) como potencialmente glicosiladas, las que fueron clonadas en un *cassette* de expresión y evaluadas mediante su reconocimiento por ConA [293], pudimos validar nuestra asignación del sitio de O-glicosilación para LpqH (Rv3763) y Mpt83 (Rv2873). Debido a la relevancia de estas dos proteínas en la virulencia de MTB y en la modulación de la respuesta inmune [298], el resultado de la validación manual de los espectros de péptidos para

Mpt83 y LpqH, incluyendo la identificación de iones coincidentes, se presentan en la Figura 34 y en la Figura 35, respectivamente.

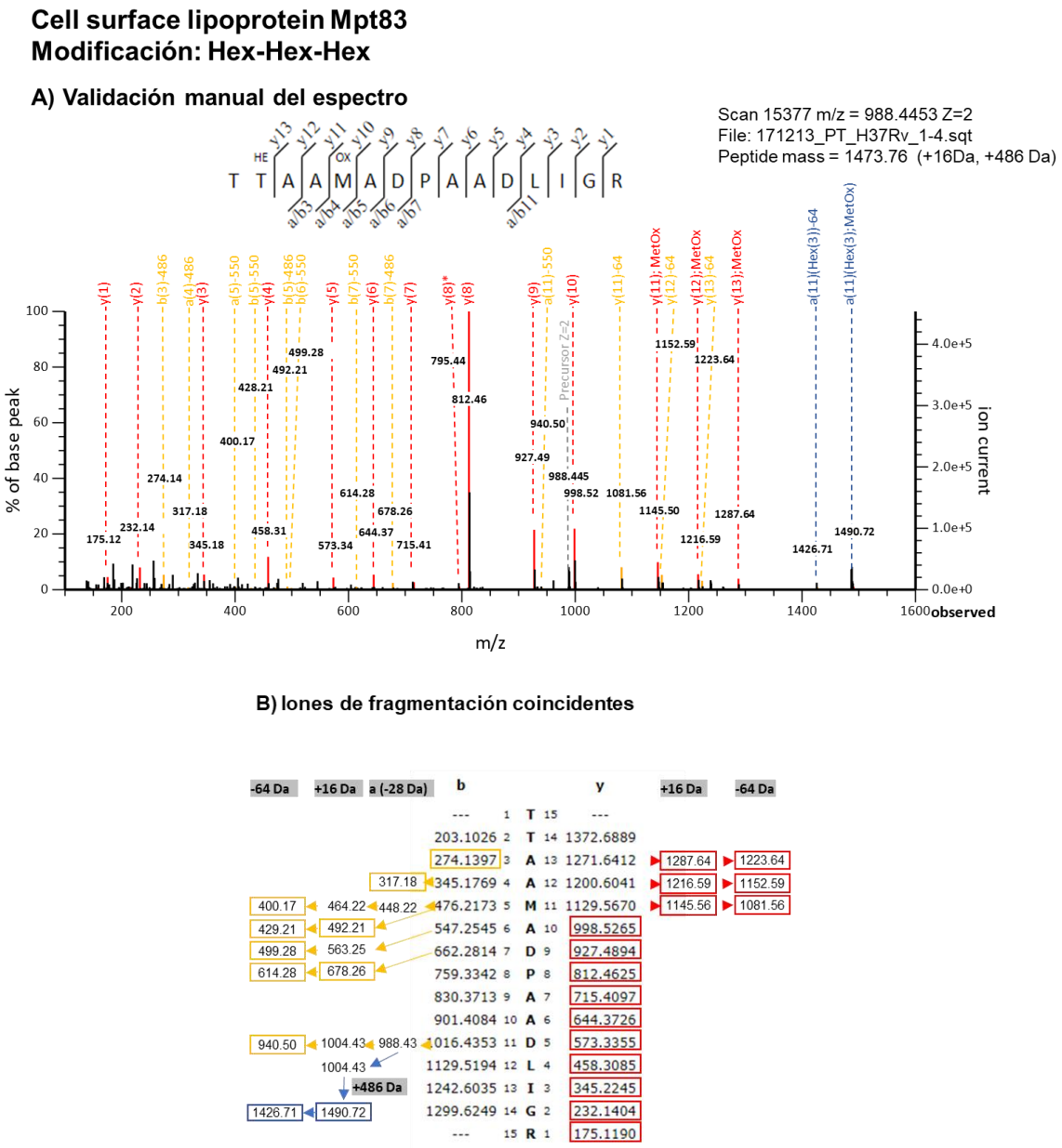
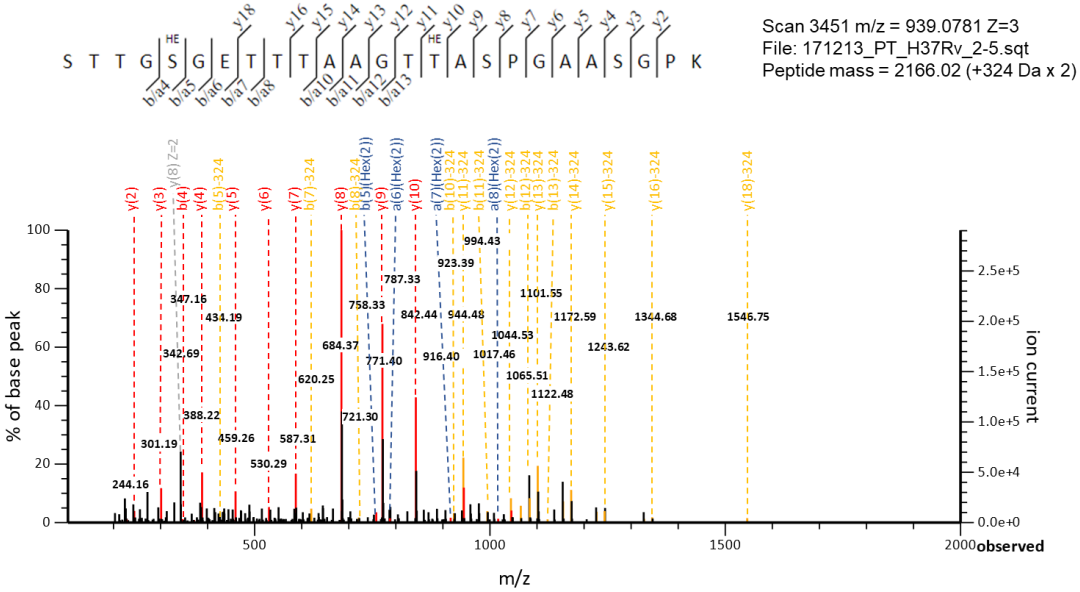


Figura 34. Validación de espectro de un glucopéptido de la proteína Mpt83 (Rv2873).
A) Espectro de fragmentación. Se muestra la fragmentación peptídica de un *scan* correspondiente al espectro de un glucopéptido de la lipoproteína de superficie Mpt83. HE= Hex-Hex-Hex. OX= Oxidación de metionina (MetOx). **B) Tabla con iones de fragmentación asignados.** Iones de fragmentación asignados por el servidor Mascot MS/MS Ions Search [281] y el *software* Patternlab for Proteomics [299]. Código de colores: rojo corresponde a iones no modificados, naranja: iones con pérdidas neutras, azul: iones que presentan la modificación, gris: ion precursor cargado (Z=2).

19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
Modificación: Hex-Hex

A) Validación manual del espectro



B) Iones de fragmentación coincidentes

+324 Da	a (-28 Da)	b				y
		---	1	S	25	---
		189.0870	2	T	24	2078.9836
		290.1347	3	T	23	1977.9360
		347.1561	4	G	22	1876.8883
758.33		434.1882	5	S	21	1819.8668
787.33	463.21	491.2096	6	G	20	1732.8348
916.40	592.25	620.2522	7	E	19	1675.8133
1017.46	693.30	721.2999	8	T	18	1546.7707
		822.3476	9	T	17	1445.7231
		923.3952	10	T	16	1344.6754
		994.4324	11	A	15	1243.6277
		1065.4695	12	A	14	1172.5906
		1122.4909	13	G	13	1101.5535
		1223.5386	14	T	12	1044.5320
		1324.5863	15	T	11	943.4843
		1395.6234	16	A	10	842.4367
		1482.6554	17	S	9	771.3995
		1579.7082	18	P	8	684.3675
		1636.7297	19	G	7	587.3148
		1707.7668	20	A	6	530.2933
		1778.8039	21	A	5	459.2562
		1865.8359	22	S	4	388.2191
		1922.8574	23	G	3	301.1870
		2019.9101	24	P	2	244.1656
		---	25	K	1	147.1128

Figura 35. Validación de espectro de un glucopéptido de la proteína LpqH (Rv3763).
A) Espectro de fragmentación. Se muestra la fragmentación peptídica de un *scan* correspondiente al espectro de un glucopéptido de la lipoproteína de 19 kDa LpqH. HE= Hex-Hex. **B) Tabla con iones de fragmentación asignados.** Iones de fragmentación asignados por el servidor Mascot MS/MS Ions Search [281] y el *software* Patternlab for Proteomics [299]. Código de colores: rojo corresponde a iones no modificados, amarillo: iones con pérdidas neutras, azul: iones que presentan la modificación, gris: ion de fragmentación cargado (Z=2).

A pesar de que ambas proteínas, tienen extensa evidencia de estar glicosiladas, debido a su interacción con ConA como proteínas nativas en el sobrenadante de cultivo de MTB [266] y en experimentos de expresión heteróloga en *M. smegmatis* [289,300,301], en esta tesis estamos presentando, según nuestro conocimiento actual, la primer evidencia de identificación glicoproteómica directa de péptidos O-glicosilados derivados de Mpt83 y LpqH en el sobrenadante de cultivo de MTB. Además, la asignación del sitio de O-glicosilación en nuestro análisis coincide con el (o los) sitio(s) de O-glicosilación propuesto(s) en el caso de la expresión heteróloga de LpqH de MTB en *M. smegmatis* [289], que evidenció la presencia de diferentes proteoformas conteniendo entre 1 y 9 hexosas en el péptido que comprendiendo entre los aminoácidos 27 al 51. La misma coincidencia de sitio de O-glicosilación ocurre en el caso de la expresión heteróloga de MBP83 (homóloga de *M. bovis* de la proteína Mpt83 de MTB) en *M. smegmatis* [301]. En este caso además, también coincide la identificación de la modificación debido a la adición de 3 hexosas, es decir un corrimiento de 486 Da en la masa molecular [301].

Como fuera mencionado antes, una proteína glicosilada interesante en términos de su rol propuesto como biomarcador de la infección activa es PstS1, una lipoproteína periplásmica involucrada en el transporte de fosfato a través de la membrana. Previamente fue identificada como una proteína que interactúa con ConA [266,293] y además su reconocida inmunoreactividad fue relacionada con la presencia de modificaciones debido a hexosas [302]. En este trabajo brindamos evidencia directa de su O-glicosilación en el sobrenadante de cultivo de MTB (Figura 36). Curiosamente, el sitio de O-glicosilación asignado por nuestra metodología (S299) es diferente tanto al propuesto por medio del *screening* con el *cassette* de expresión (T44, T45 y T52) [293], como en la versión de esta proteína recombinante, expresada en *P. pastoris* (S128, S140, T157, S365, S373 y/o S374) [302].

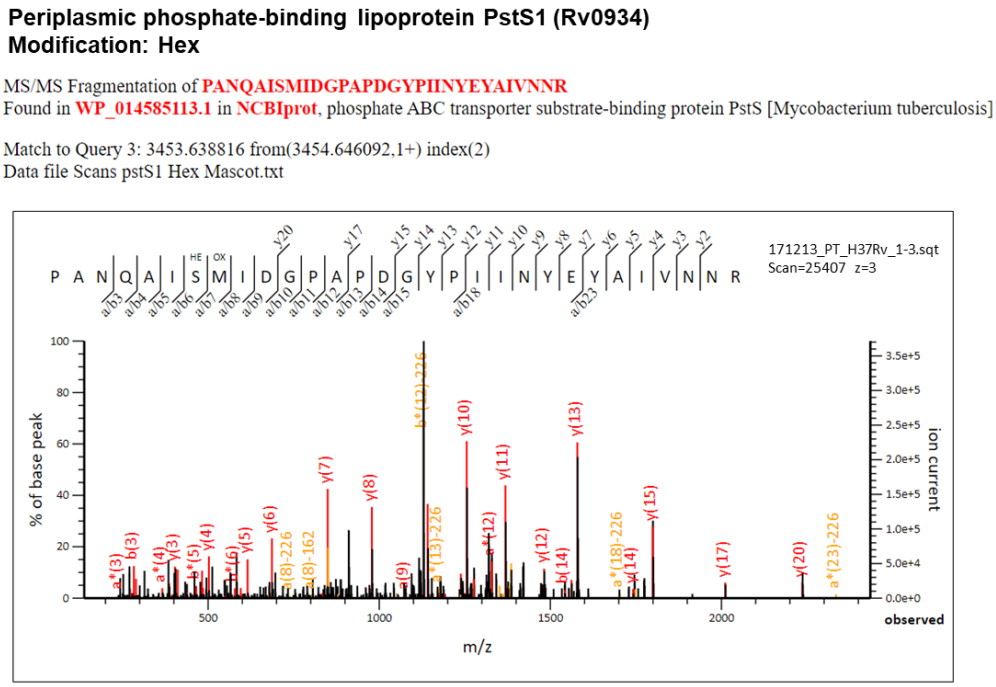


Figura 36. Espectro de péptido O-glicosilado de la lipoproteína periplásmica de unión a fosfato PstS1. Se muestra la verificación de un *scan* del péptido identificado con la modificación Hex en la serina 299 de la lipoproteína periplásmica PstS1 (Rv0934) confirmado en el servidor Mascot MS/MS Ions Search contra la base de datos NCBIprot (AA) [281]. HE=Hex.

Para continuar evaluando la reproducibilidad de nuestros resultados en relación a la presencia de péptidos glicosilados en el sobrenadante de cultivo de MTB, buscamos con nuestro mismo procedimiento, en los archivos crudos depositados por Albrethsen *et al*. [235] en el servidor de acceso libre ProteomeXchange Consortium. De esta forma y luego de realizar la comparación de las secuencias peptídicas glicosiladas, confirmamos la identificación de 17 péptidos modificados iguales a los detectados en nuestra muestra (38 *scans* individuales), correspondientes a 8 proteínas diferentes (Tabla 11). Los *scans* correspondientes a los péptidos comunes a nuestro análisis se muestran en el Anexo 14. De las proteínas glicosiladas identificadas en el análisis de los datos crudos del trabajo de Albrethsen *et al*. [235] y comunes a nuestro análisis, 7 ya tenían evidencia previa de estar glicosiladas (Tabla 11) mientras que la proteína SahH (Rv3248c) es identificada como glicosilada por primera vez en nuestro estudio. Se muestra en la Figura 37 un espectro representativo del péptido O-glicosilado de SahH, identificado por un aumento de 162 Da en su masa molecular. Esta proteína, que es una probable adenosilhomocisteína hidrolasa, fue identificada, junto con otras 2 proteínas de MTB, como potenciales ligandos de unión a la interleucina 8 humana [303]. En el mismo trabajo se reportó también que la unión de estas proteínas a la IL-8 estaría involucrada en la modulación de la unión y la entrada del patógeno a los neutrófilos [303]. Sin embargo, no se conocen hasta el momento los mecanismos que regulan la actividad de SahH, ni tampoco su grado de participación en la patogénesis de la tuberculosis.

Tabla 11. Proteínas glicosiladas identificadas en análisis de los datos crudos de Albrethsen *et al.* 2013.

Gen	Proteína	Locus	Referencias
lprA	Posible lipoproteína LprA	Rv1270c	[266], [265]
dsbF	Probable lipoproteína conservada DsbF	Rv1677	[261]
apa	Proteína secretada rica en Alanina y prolina Apa (proteína inmunogénica MPT32) (Glicoproteína de 45-kDa)	Rv1860	[266], [265] [261]
Rv2799	Probable proteína de membrana	Rv2799	[266], [265] [261]
mpt83	Lipoproteína de superficie celular Mpt83 (lipoproteína P23)	Rv2873	[266], [293]
sahH	Probable adenosilhomocisteína hidrolasa SahH (AhcY)	Rv3248c	Este trabajo
Rv3491	Proteína desconocida	Rv3491	[266], [265] [261]
lpqH	Antígeno lipoproteico de 19 kDa LpqH	Rv3763	[266], [293]

Probable adenosylhomocysteinase SahH (AhcY) (Rv3248c)
Modification: Hex

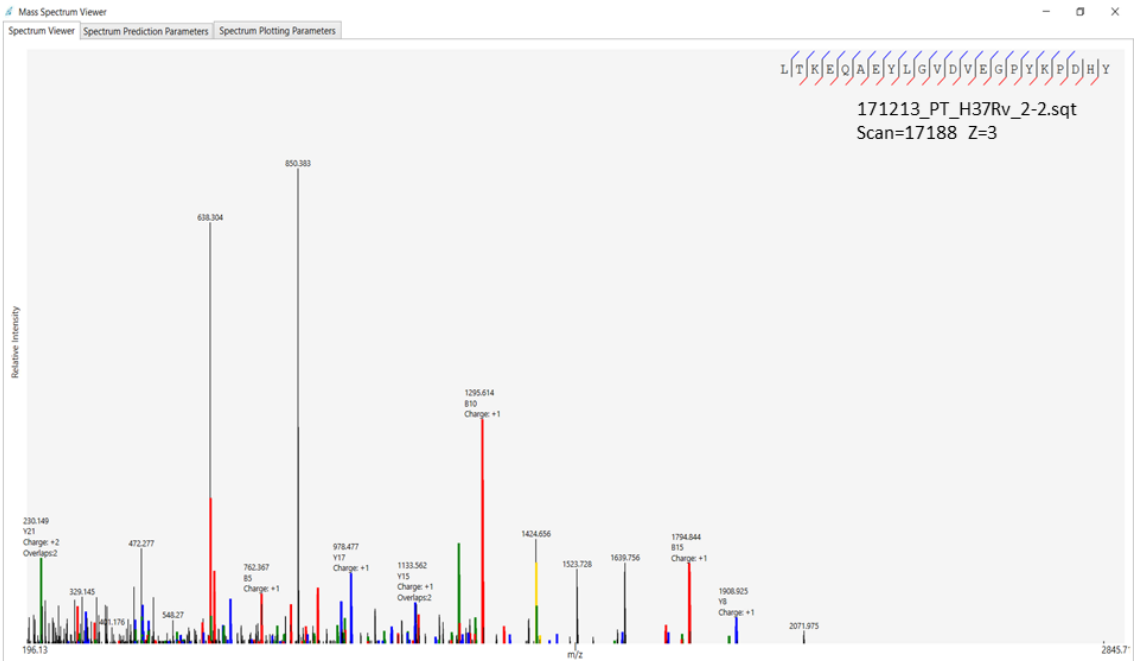


Figura 37. Espectro de péptido O-glicosilado de la probable adenosilhomocisteína hidrolasa SahH. Se muestra el espectro del péptido O-glicosilado (+162Da) de la probable adenosilhomocisteína hidrolasa SahH (Rv3248c) en la interfase de visualización del *software* Patternlab for Proteomics [299].

Estos resultados demuestran que nuestra herramienta de búsqueda y análisis de proteínas glicosiladas permite una buena identificación de las mismas, sin el requerimiento de pasar por una etapa de enriquecimiento de la muestra en proteínas glicosiladas, al mostrar una importante coincidencia con los reportes previos y permitir identificar péptidos glicosilados proteínas previamente propuestas como glicosiladas. Además, como algunas de estas proteínas son biomarcadores reportados de la TB activa, se justifica el análisis de esta PTM en relación a la identificación y caracterización de biomarcadores proteicos de la enfermedad.

Nuevas proteínas O-glicosiladas identificadas en este trabajo

Finalmente y seguramente dada la sensibilidad de la estrategia utilizada, logramos identificar 33 proteínas O-glicosiladas nuevas, incluyendo la proteína SahH mencionada previamente, con modificaciones covalentes debido al agregado de mono o multi-hexosas (Tabla 10). Varios *scans* relevantes correspondientes a péptidos glicosilados fueron confirmados estadísticamente en el servidor Mascot, con la utilidad MS/MS Ions Search [281], y algunos fueron validados manualmente. Por medio del número de *scan* de cada péptido modificado, detallado en el Anexo 12, se puede acceder a los espectros originales en los datos crudos depositados en la base de datos de acceso público MassIVE, con el código MSV000084184 (doi:10.25345/C5PW8Q). Además, en el trabajo publicado como resultado de esta tesis [220] (Figura suplementaria S5 Fig) se pueden visualizar varios de estos espectros correspondientes a péptidos modificados.

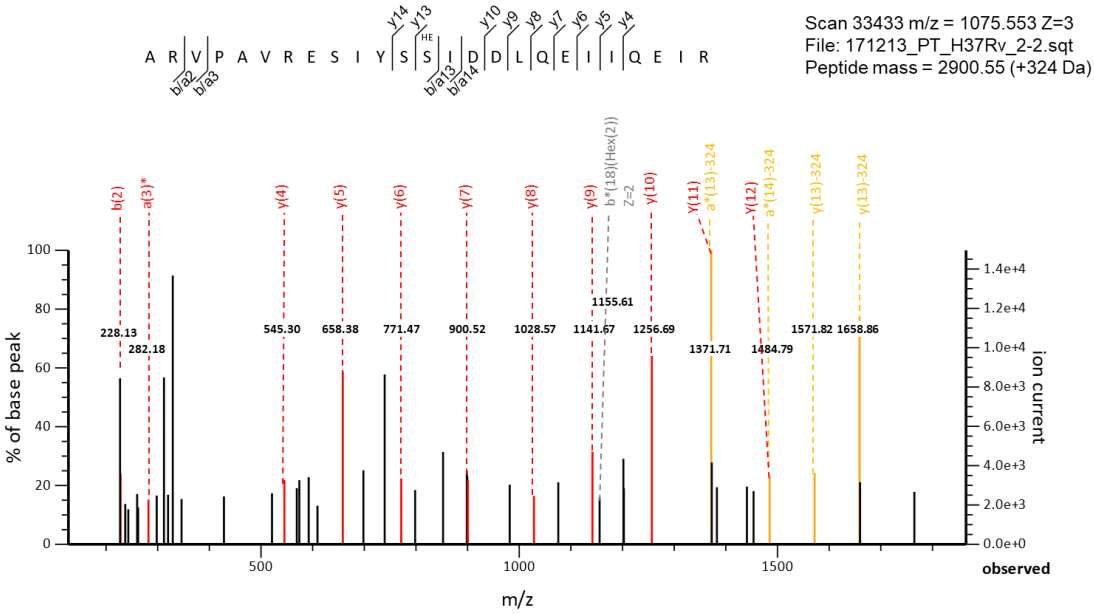
En la Figura 38 se muestra, como ejemplo, la validación de un péptido O-glicosilado de la proteína DosT (Rv2027c)). Nos resultó interesante profundizar en el estudio de esta proteína ya que fue identificada como O-glicosilada por primera vez en nuestro estudio y no contaba con

anotación proteómica previa en la base de datos Mycobrowser. Hasta nuestro conocimiento no se cuenta con la estructura de la región que presenta la glicosilación identificada en nuestro estudio [296]. DosT es una quinasa de histidinas del sistema sensor de hipoxia de 2 componentes DevRS/DosT, el cual es esencial para la entrada de la micobacteria al estado de dormancia y su sobrevivencia en este estado [304,305]. En el estudio glicoproteómico de Birhanu *et al*. esta proteína se describe conteniendo otros dos tipos de azúcares ligados a OH [261], pero la modificación debido al agregado de 2 moléculas de hexosa no había sido reportada previamente. DevR (Rv3133c), que es la proteína reguladora inducida por DosT en condiciones de hipoxia, también fue encontrada glicosilada en nuestro trabajo con 2 hexosas (+324Da), lo que se muestra en la Figura 39. Esta proteína es requerida para la sobrevivencia de MTB en condiciones de hipoxia y para la transición del metabolismo a condiciones normóxicas [64]. Se justifica a futuro el trabajo adicional para validar estas observaciones, ya que este sistema regulador de supervivencia en dormancia es un blanco atractivo para el tratamiento de la infección por *M. tuberculosis*.

En resumen, la comparación exhaustiva de los datos de O-glicosilación observados fue fundamental para validar los datos obtenidos, confirmando el conocimiento previo en relación a varias proteínas glicosiladas bien conocidas, así como para aportar datos nuevos en relación a potenciales proteínas O-glicosiladas presentes en el sobrenadante de cultivo, lo que consideramos aportará a la caracterización glicoproteómica de este patógeno relevante, así como al estudio de biomarcadores proteicos de valor diagnóstico.

Two component sensor histidine kinase DosT
Modificación: Hex-Hex

A) Validación manual del espectro



B) Iones de fragmentación coincidentes

a* (-17Da)	a (-28 Da)	b				y
		---	1	A	25	---
		228.1455	2	R	24	2829.5105
		327.2139	3	V	23	2673.4094
		424.2667	4	P	22	2574.3410
		495.3038	5	A	21	2477.2882
		594.3722	6	V	20	2406.2511
		750.4733	7	R	19	2307.1827
		879.5159	8	E	18	2151.0816
		966.5479	9	S	17	2022.0390
		1079.6320	10	I	16	1935.0069
		1242.6953	11	Y	15	1821.9229
		1329.7274	12	S	14	1658.8596
1371.71	1388.75	1416.7594	13	S	13	1571.8275
1484.79	1501.84	1529.8435	14	I	12	1484.7955
		1644.8704	15	D	11	1371.7114
		1759.8973	16	D	10	1256.6845
		1872.9814	17	L	9	1141.6575
		2001.0400	18	Q	8	1028.5735
		2130.0826	19	E	7	900.5149
		2243.1666	20	I	6	771.4723
		2356.2507	21	I	5	658.3883
		2484.3093	22	Q	4	545.3042
		2613.3519	23	E	3	417.2456
		2726.4359	24	I	2	288.2030
		---	25	R	1	175.1190

Figura 38. Validación de espectro de un glucopéptido de la proteína DosT (Rv2027c).
A) Espectro de fragmentación. Se muestra la fragmentación peptídica de un *scan* correspondiente al espectro de un glucopéptido de la quinasa de histidinas DosT (Rv2027c) perteneciente al sistema sensor de hipoxia de 2 componentes. HE= Hex-Hex. **B) Tabla con iones de fragmentación asignados.** Iones de fragmentación asignados por el servidor Mascot MS/MS Ions Search [281] y el *software* Patternlab for Proteomics [299]. Código de colores: rojo corresponde a iones no modificados, amarillo: iones con pérdidas neutras, gris: ion de fragmentación cargado (Z=2).

Two component transcriptional regulatory protein DevR (Rv3133c)
Modification: Hex-Hex

MS/MS Fragmentation of **LSGLTDQERTLLGLLSEGLTNKQIADR**
Found in **AFE17937.1** in **NCBIprot**, two component transcriptional regulatory protein [Mycobacterium tuberculosis RGTB327]

Match to Query 3: 3264.691184 from(3265.698460,1+) index(1)
Data file Scans DevR Hex-Hex Mascot.txt

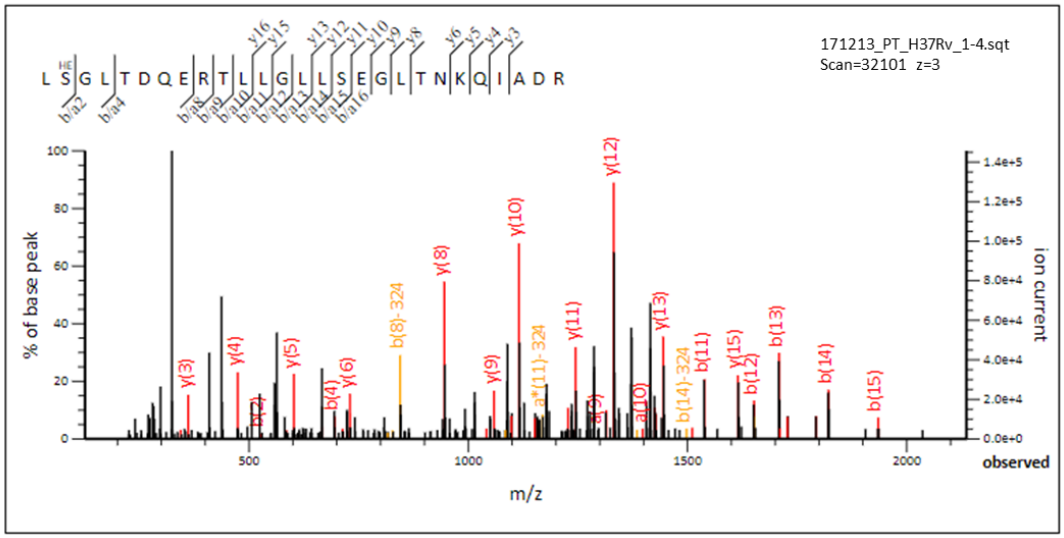


Figura 39. Espectro de péptido O-glicosilado de la proteína DevR (Rv3133c).
Se muestra la verificación de un *scan* del péptido identificado con la modificación Hex-Hex en la serina 148 de la proteína reguladora de la transcripción del sistema sensor de hipoxia de 2 componentes confirmado en el servidor Mascot MS/MS Ions Search contra la base de datos NCBIprot (AA) [281]. HE: Hex-Hex.

Capítulo 1: Conclusiones y perspectivas

Como se mencionaba al inicio de este capítulo, las proteínas de membrana y las proteínas exportadas por MTB son importantes para el mantenimiento y la sobrevida de la bacteria en las células infectadas. Siendo principales interactores en la interfase hospedero-patógeno, estas proteínas son clave en la patogénesis y en el establecimiento de la respuesta inmune, lo que las vuelve blancos relevantes de la investigación biomédica [244]. Consistentemente, varias proteínas identificadas en el sobrenadante de cultivo de MTB son propuestas como factores de virulencia clave [273], potenciales biomarcadores de la tuberculosis activa [168], o candidatos vacunales [306,307].

En este capítulo preparamos muestras de sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* y *M. avium*, con el fin de utilizarlos posteriormente en el resto de las actividades de la tesis. Las muestras fueron caracterizadas por diferentes métodos analíticos y en el caso del sobrenadante de cultivo de MTB, profundizamos el estudio por medio de la realización de un análisis proteómico tipo *shotgun*, con el fin de aportar conocimiento en relación a potenciales biomarcadores de utilidad diagnóstica. Nos planeamos que la caracterización cuali-cuantitativa de estas proteínas, así como la identificación de la presencia de O-glicosilaciones en las mismas sería importante para el diseño de herramientas diagnósticas basadas en la detección de antígenos. Adicionalmente, dada la riqueza de la información obtenida, se profundizó en algunos aspectos que van más allá de su potencial utilidad diagnóstica y que consideramos que pueden contribuir a entender mejor la biología y patogenicidad de esta bacteria.

En primer lugar, corroboramos que ambos sobrenadantes de cultivo estaban bien preparados y presentaban una buena representación de proteínas micobacterianas. Luego, por medio del análisis proteómico logramos una exhaustiva caracterización del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv, identificando 1314 proteínas diferentes. Es importante notar, dado el alto número de identificaciones reportadas en esta tesis, que se trata de un método muy sensible y como tal podría dar lugar a falsos positivos. Este hecho fue minimizado por medio de la utilización de un criterio de post-procesamiento que consideró únicamente proteínas identificadas por al menos 2 espectros.

Por medio de la integración de nuestros datos con estudios proteómicos previos, identificamos una lista de proteínas consistentemente detectadas, las que a su vez corresponden a proteínas de alta representación en el sobrenadante. Además, varias proteínas identificadas por nosotros han sido previamente detectadas en el sobrenadante de cultivo de MTB y también en otras fracciones celulares, como la fracción de membrana, o en el lisado celular total. Estos resultados podrían sugerir que hay dos vías complementarias que son responsables de nuestros resultados. Por un lado, la abundancia de ciertas proteínas en la muestra de CFP parecería estar realmente relacionada con los mecanismos específicos de secreción de proteínas, mientras que, por otro lado, existiría cierto grado de lisis bacteriana, en combinación con altos niveles de expresión y estabilidad extracelular de algunas proteínas. Esto último estaría apoyado por la presencia de algunas proteínas consideradas como marcadores citoplasmáticos. La identificación de un grupo de proteínas abundantes, y presentes de forma ubicua en las diferentes fracciones celulares de MTB, consiste un interesante hallazgo en relación a su postulación como potenciales

biomarcadores, lo que fue contrastado y corroborado con la información disponible hasta la fecha sobre biomarcadores de valor diagnóstico.

Es importante resaltar que el análisis ontológico de componentes celulares y el análisis integrativo realizado con los trabajos relevantes previos, confirman que nuestra muestra está enriquecida en proteínas que la bacteria secreta al espacio extracelular. Apoyando esto, mediante el algoritmo SignalP5.0, pudimos identificar varias proteínas con péptido señal de secreción N-terminal en la muestra de sobrenadante de cultivo de MTB, lo que indica que están dirigidas a las vías secretoras [308]. Además, están presentes varias proteínas que pertenecen a los sistemas de secreción ESX y a las familias de PE y PPE, que son secretadas por el sistema T7SS, pero carecen de señales de secreción clásicas [253].

Además, el análisis cuali-cuantitativo realizado mostró una correlación global entre las proteínas altamente secretadas y las vías relacionadas con la virulencia, la detoxificación y la adaptación. Este enfoque podría replicarse en el futuro para responder a preguntas relacionadas con la patogenicidad de MTB, en particular en relación a su virulencia, persistencia o resistencia a drogas. Por ejemplo, podría compararse la composición proteómica de diferentes condiciones *in vitro* de stress metabólico [235], modelos hipóxicos o no replicativos, modelos celulares de infección [309], diferentes cepas nativas [26] o mutantes, así como aislados clínicos relacionados con brotes epidémicos

Adicionalmente este análisis integrativo nos permitió detectar 30 proteínas que no tienen evidencia proteómica reportada en la base de datos específica de micobacterias Mycobrowser. Estos resultados representan un aporte a la información disponible en esta base de datos, en la que se organiza el conocimiento relacionados con los genes y las proteínas de MTB.

Por otro lado, dada la evidencia creciente en relación a la identificación de proteínas glicosiladas de MTB como antígenos inmunodominantes, con roles claves en la virulencia así como en las interacciones patógeno-hospedero [260,262], nos abocamos a evaluar esta modificación en las proteínas de la muestra. De esta forma describimos la identificación de 69 eventos de glicosilación, incluyendo modificaciones de hexosa y multi-hexosa, en 46 proteínas de MTB. En particular, identificamos varias lipoproteínas glicosiladas en el sobrenadante de cultivo. Se ha demostrado que las lipoproteínas desempeñan papeles clave en la adhesión a las células hospederas, la modulación de los procesos inflamatorios y la translocación de factores de virulencia en las células hospederas [310]. La creciente evidencia de la glicosilación de las lipoproteínas micobacterianas, incluidos los resultados presentados aquí, indica que esta PTM juega un papel importante en la función y regulación de este grupo de proteínas.

Junto con las lipoproteínas, otras glicoproteínas relevantes identificadas en este análisis se clasificaron ontológicamente como asociadas a procesos de patogénesis y relacionadas con la pared celular y el espacio extracelular. Al comparar las proteínas glicosiladas que identificamos con otros reportes previos [262,265,266], pudimos verificar una importante coincidencia a nivel del sitio de O-glicosilación asignado. En particular, y alineado con los objetivos de esta tesis, confirmamos que 2 biomarcadores conocidos de la tuberculosis activa están O-glicosilados: las proteínas Apa y PstS1. Además, dada la sensibilidad de la estrategia utilizada, logramos aportar

evidencia proteómica directa para varias proteínas glicosiladas conocidas, e identificar 33 proteínas O-glicosiladas nuevas, entre ellas dos proteínas pertenecientes al sistema sensor de hipoxia de 2 componentes DevRS/DosT, responsable de la adaptación a los cambios en la disponibilidad de oxígeno [62–64,305]. Es una información muy interesante y serán requeridos estudios funcionales adicionales para entender la relevancia de las nuevas glicoproteínas identificadas en la biología del patógeno, así como en sus potenciales implicancias en el diagnóstico de la TB activa. Adicionalmente, para comprender como esta modificación podría estar involucrada en la interacción de MTB con la célula hospedera, sería interesante replicar este estudio en modelos de macrófagos infectados.

Los datos de glicosilación de proteínas presentados aquí, incluida la coexistencia de glicoformas relacionadas que se evidencian en este trabajo, deben ser considerados para el diseño y la evaluación de pruebas diagnósticas basadas en anticuerpos dirigidos contra antígenos de *M. tuberculosis*. Además, como se informó para otros patógenos [311,312], la diversidad de patrones de glicosilación podría ser un mecanismo clave para proporcionar variabilidad antigénica lo que podría ser causante de la subversión inmune de este patógeno.

En conclusión, los resultados presentados en este capítulo proporcionan una evaluación integradora de las proteínas de filtrado de cultivo MTB, aportando evidencia de la expresión de algunas proteínas no detectadas previamente, y confirmando y ampliando la base de datos de proteínas O-glicosiladas. Esta información permite el planteo de nuevas preguntas sobre el papel de la O-glicosilación en la biología de MTB, así como contribuye a complementar el conocimiento de sus principales biomarcadores, factores de virulencia y candidatos a vacunas.

CAPÍTULO 2 - Desarrollo de herramientas para la detección y purificación de antígenos de MTB.

Una vez caracterizado el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* y verificada su composición cuali-cuantitativa a nivel proteómico, como se describe en el Capítulo 1, dicho sobrenadante se utilizó como antígeno para la generación de anticuerpos policlonales en conejos (anti-MTB). Estos anticuerpos fueron posteriormente utilizados para desarrollar herramientas para el diagnóstico de la infección activa por *M. tuberculosis* basadas en la detección de biomarcadores específicos derivados del patógeno en muestras clínicas.

De la misma forma, las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. avium*, obtenidas y caracterizadas como fue previamente descrito, y un extracto de proteínas de un pool de extractos concentrados de orinas de voluntarios sanos (orN), se utilizaron para obtener anticuerpos policlonales en conejos (anti-*M. avium* y anti-orN, respectivamente). Estos anticuerpos policlonales se utilizaron en diferentes etapas de la evaluación del reconocimiento de los anticuerpos específicos anti-MTB, para evaluar reacciones cruzadas y/o inespecíficas en las muestras clínicas.

En este capítulo se presentan los resultados relativos a la generación de anticuerpos policlonales y la evaluación de su reactividad por *western blot* y ELISA, utilizando diferentes antígenos propios o comerciales. Se comenzará con la descripción de la obtención y caracterización del extracto de orina de voluntarios sanos, ya que este antígeno no fue previamente descrito.

Caracterización de extracto de orina de voluntarios sanos (orN)

Se dispuso de la primera orina de la mañana de 4 voluntarios sanos. Las muestras se centrifugaron para bajar células y restos celulares, y los sobrenadantes se concentraron por ultrafiltración con una membrana de 5kDa de corte (factor de concentración 20 – 25 veces, factor de recuperación 70 – 90%). Las muestras fueron cuantificadas por Bradford y caracterizadas por medio de SDS-PAGE y 5 bandas fueron seleccionadas para análisis por espectrometría de masas (UByPA, IPMon) confirmándose que se trata de proteínas humanas presentes en muestras de orina (uromodulina, alfa-amilasa, alfa-microglobulina, sero-albúmina y una ribonucleasa) (Figura 40) [313,314]. En particular, la uromodulina, también denominada glicoproteína de Tamm-Horsfall (THP), es de las proteína más abundantes de la orina [315].

Además de conservar las muestras individuales, se realizó un *pool* de los extractos concentrados de los 4 voluntarios sanos, obteniéndose una cantidad de aprox. 5 mg de proteína total, suficiente para la realización de las siguientes actividades. Este pool se generó para evitar las variaciones individuales que podrían presentar las diferentes muestras individuales a nivel de las proteínas presentes, lo que se muestra por ejemplo en el gel de la Figura 40.

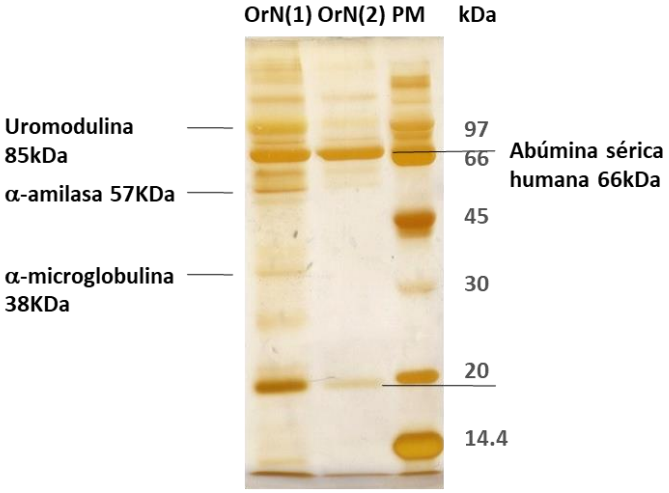


Figura 40. Análisis del extracto de orina de voluntarios sanos por electroforesis 1D.
SDS-PAGE 15% teñido con nitrado de plata. Carriles 1 y 2: OrN(1) y OrN(2): 15µL de extractos de proteínas de orina de 2 voluntarios sanos concentrados por ultrafiltración. Las bandas seleccionadas para análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF/TOF, así como la proteína identificada en cada caso se indican en la figura. PM: Marcador de peso molecular (LMW-SDS Marker Kit - GE Healthcare Life Sciences).

Generación de antisueros policlonales

Con los extractos concentrados de *M. tuberculosis*, *M. avium* y el extracto concentrado de orina de voluntarios sanos se inmunizaron 5 conejos: conejo 1: OrN (*pool* de orina de voluntarios sanos), conejos 2 y 3: Proteínas concentradas de *M. avium,* conejos 4 y 5: Proteínas concentradas de *M. tuberculosis*. El protocolo de inmunización consistió en un *priming* con 100 µg de antígeno, seguido de un *booster* inicial a los 15 días (100 µg), 2 *boosters* adicionales a los 39 y 60 días (50 µg cada uno), y el sangrado final a los 82 días de comenzado el protocolo (Tabla 5). En cada instancia de inmunización se tomaron muestras de sangre para la evaluación de los títulos de antisueros por ELISA y *western blot*. En la Figura 41 se muestra el reconocimiento por los antisueros producidos al tiempo final (día 82) de los antígenos utilizados en la inmunización.

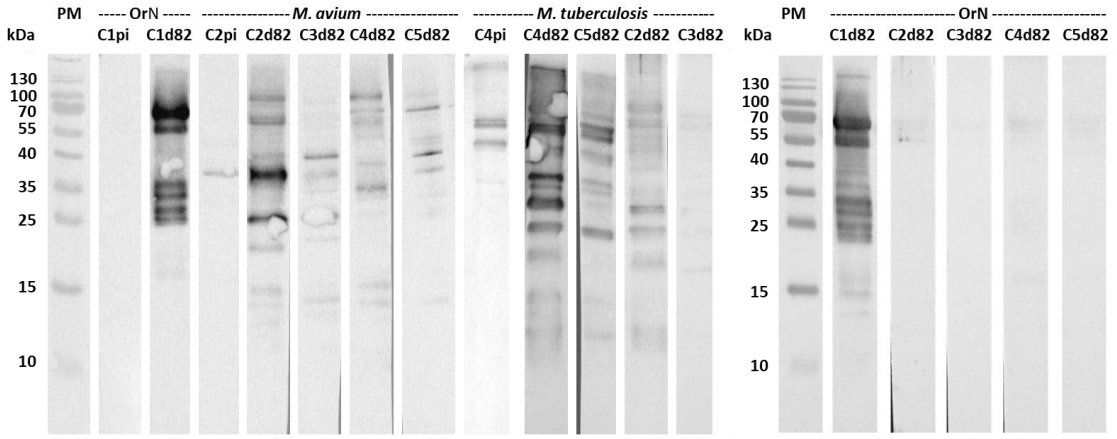


Figura 41. Evaluación de la reactividad de los antisueros generados en conejos por *western blot*.
Antígenos utilizados: OrN, *M. avium* y *M. tuberculosis*, según se indica en la parte superior de la figura. Antisueros utilizados: Se indican sobre cada carril. C1, C2, C3, C4 y C5 corresponden a los antisueros de los conejos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. pi: pre-inmune, d82: día 82. Antisueros en dilución 1/500. Anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545) en dilución 1/5000. PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

Como se muestra en la Figura 41 en todos los casos los antisueros del día 82 tienen un amplio reconocimiento de bandas de diferentes pesos moleculares de los extractos utilizados en la inmunización. En particular, el reconocimiento del antígeno orN es específico del antisuero obtenido por el sangrado del conejo C1 el día 82 del protocolo de inmunización, mientras que los otros 4 conejos del protocolo no reconocen este antígeno. Es importante este resultado, ya que para la búsqueda de biomarcadores en orina de pacientes con TB activa se utilizarán los antisueros derivados de los conejos inmunizados con sobrenadante de cultivo de MTB (conejos 4 y 5).

En el caso del antígeno de *M. avium* el reconocimiento principal se da por el antisuero del conejo 2, mientras que el conejo 3, también inmunizado con este antígeno muestra una reactividad menor, similar a la reactividad que muestran el conejo 4 y 5, inmunizados con el antígeno de MTB. Por su parte el antígeno de MTB es reconocido principalmente por los antisueros de los conejos 4 y 5, mientras que los antisueros de los conejos 2 y 3 - en menor medida -, que fueron inmunizados con el antígeno de *M. avium*, también lo reconocen. Por otro lado, el antisuero del conejo 1 no reconoce bandas en el antígeno de MTB ni de *M. avium* (resultado que no se muestra).

Complementando los resultados observados por *western blot* se realizó un ELISA para evaluar los títulos de las diferentes muestras obtenidas durante el protocolo de inmunización. Los mayores títulos de anticuerpos específicos se obtuvieron entre el día 39 y 60, salvo para el caso del conejo 3 en el cual recién se tuvo un título apreciable el día 82 del protocolo (Figura 42, Paneles A, B y C).

Con respecto a la especificidad del reconocimiento, confirmando los resultados del *western blot*, en el caso del conejo inmunizado con extractos de proteína de orina de voluntarios sanos no hay títulos apreciables por ELISA contra los antígenos micobacterianos (MTB o *M. avium*), mientras que en el caso de los cuatro conejos inmunizados con extractos concentrados de MTB o de *M. avium* no hay título detectable contra proteínas de orina de voluntarios (Figura 42, Paneles D, E y F). Con respecto a la reactividad entre las especies bacterianas, el suero hiperinmune del conejo 2 (*M. avium*) muestra alto título contra proteínas de MTB y el suero hiperinmune de los conejos 4 y 5 (MTB) muestran también alto título contra proteínas de *M. avium*. Esta reacción en el ELISA, que también se visualizó por *western blot* (Figura 41), se justifica por el hecho de que ambas especies presentan varias proteínas homólogas, que podrían ser las responsables de la reactividad cruzada.

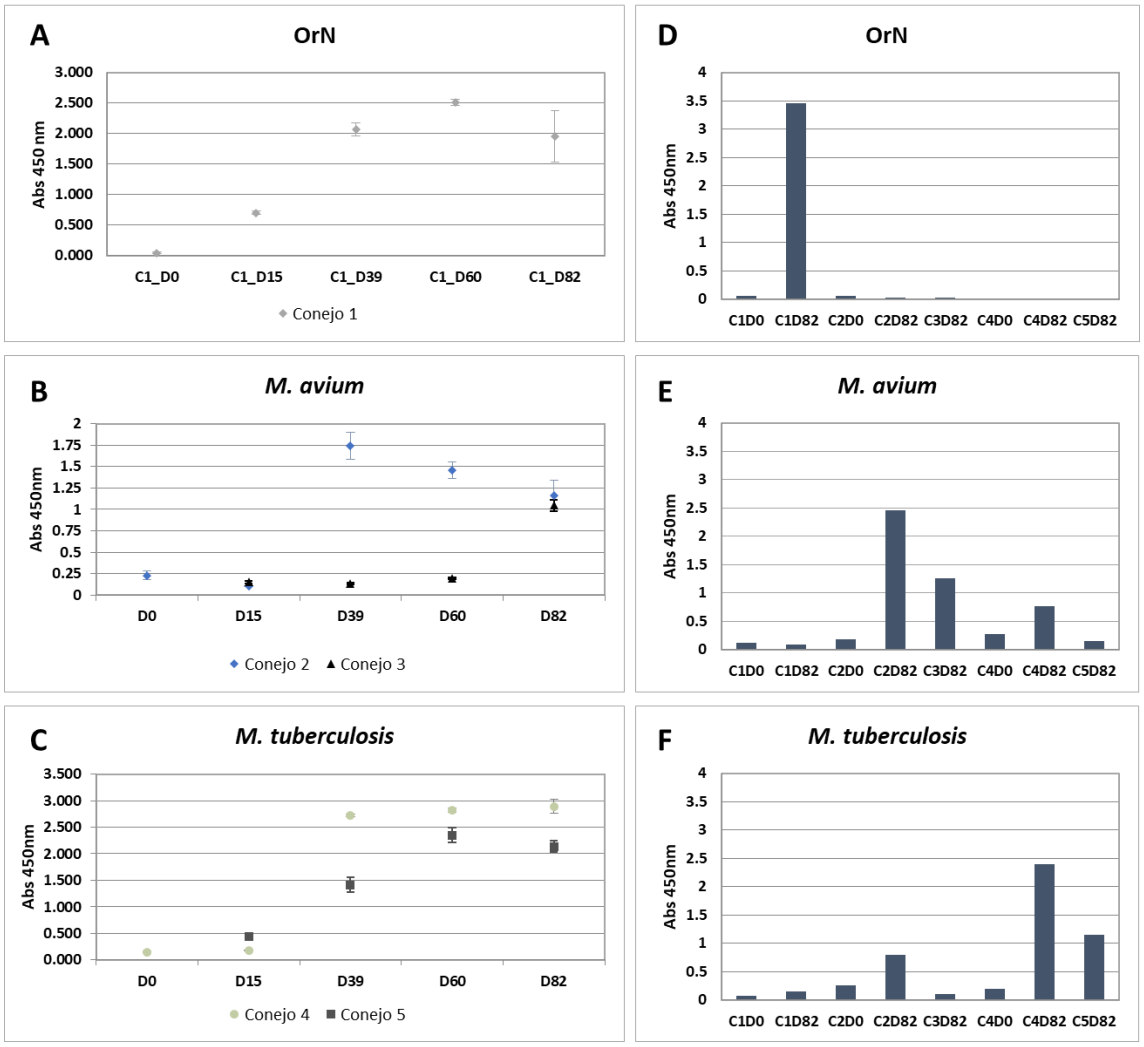


Figura 42. Evaluación de la reactividad de los antisueros generados en conejos por ELISA.
Antígenos utilizados: OrN, *M. avium* y *M. tuberculosis*, según se indica en la parte superior de cada gráfica. Antisueros utilizados: C1, C2, C3, C4 y C5 corresponden a los antisueros de los conejos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. DO, D15, D39, D60 y D82: día 0, 15, 39, 60 y 82 del protocolo de inmunización, respectivamente. **Paneles A, B y C)** Evolución de la reactividad de los antisueros específicos contra cada antígeno, en las muestras tomadas en diferentes tiempos. Dilución de los antisueros 1/2000. **Paneles D, E y F)** Evaluación de la reactividad específica y cruzada contra cada antígeno, de los distintos antisueros a tiempo 0 (pre-inmune) y a los 82 días del protocolo. Dilución de los antisueros 1/10000. En todos los casos se utilizó como secundario el Anticuerpo Anti- IgG de conejo– HRP (Calbiochem, Cód. 401315) en dilución 1/20000.

Purificación de inmunoglobulinas

De determinó la concentración de proteínas en los sueros hiperinmunes del día 82 del protocolo de inmunización y se purificaron las inmunoglobulinas (Igs) por cromatografía de afinidad con columna de proteína A (HiTrap rProtein A FF, 1 mL, GE) en el equipo de cromatografía FPLC automatizado (AKTA, GE Healthcare). El proceso de cromatografía y la elución de las Igs se siguió mediante medida de la Abs_{280nm} (Figura 43). Cada purificación partió de una muestra de suero equivalente a 300 mg de proteínas totales, de la que se recuperó entre 22 y 42 mg de IgGs (Tabla 12). Siguiendo el mismo protocolo también se purificó una muestra equivalente de suero pre-inmune (obtenido de estos conejos previo a la inmunización).

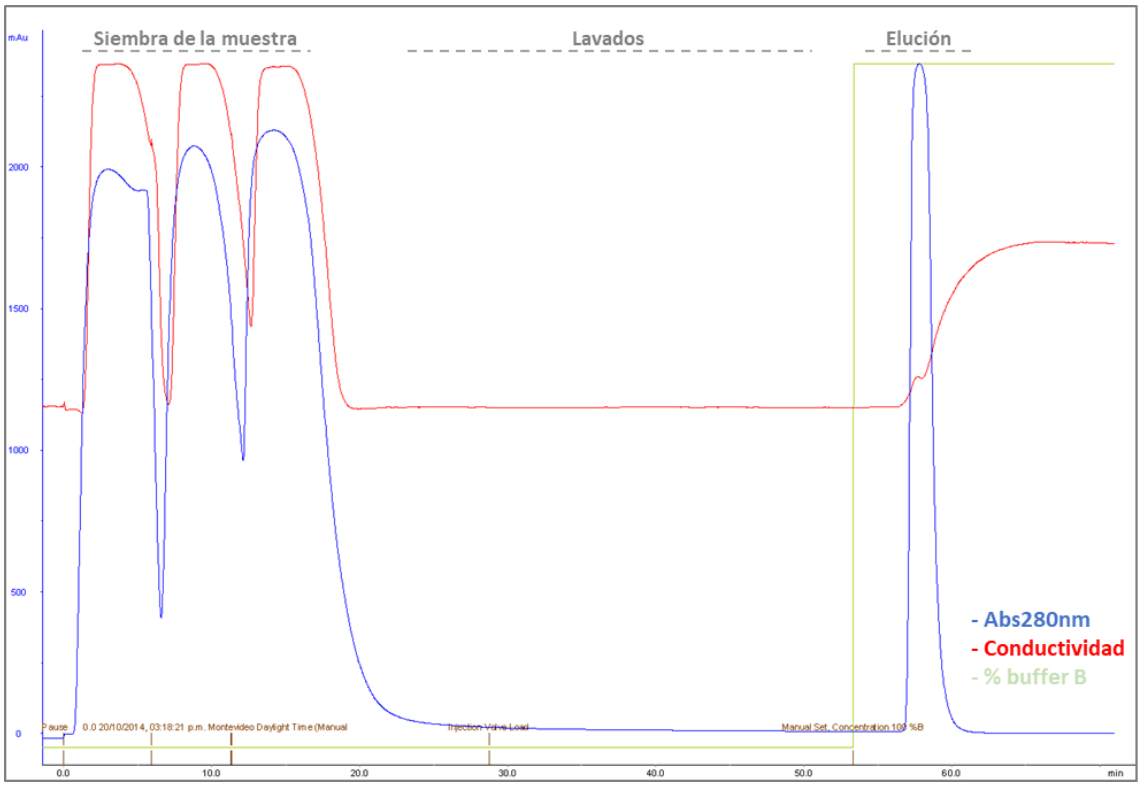


Figura 43. Cromatograma de la purificación de inmunoglobulinas a partir de sueros hiperinmunes. Se muestra el cromatograma como se obtiene en el cromatógrafo FPLC (AKTA, GE Healthcare). Se muestra un ejemplo que corresponde a la purificación del suero del conejo 3. Para la siembra de la muestra (volumen ≅ 15 mL) se utilizó un *loop* de 5 mL, repitiendo 3 veces el procedimiento de inyección.

Tabla 12. Resumen de las inmunoglobulinas purificadas por afinidad por proteína A.

Muestra	Conc. (mg/mL)	Volumen (mL)	Cantidad (mg)
IgGs pre-inmune	7,6	3,4	25,0
IgGs C1	6,8	3,3	22,4
IgGs C2	5,9	4,4	26,0
IgGs C3	8,2	5,2	42,6
IgGs C4	5,1	4,4	22,4
IgGs C5	5,4	4,4	23,8

La purificación de anticuerpos fue evaluada por medio de SDS-PAGE, observándose en todos los casos una buena recuperación de las inmunoglobulinas presentes en el suero y una alta pureza de las IgGs purificadas (Figura 44A). La reactividad de las IgGs purificadas fue evaluada por ELISA (Figura 44B) y por *western blot* (resultado que no se muestra), verificándose que se recupera en las IgGs derivadas de los conejos 1 y 2 la totalidad de la reactividad inicial en el suero, y en el caso de los restantes 3 conejos aproximadamente la mitad de la reacción inicial. Esto indica que las IgGs específicas han podido recuperarse con buen rendimiento, aunque el protocolo no fue totalmente reproducible en los sueros derivados de los 5 conejos. Este dato se tuvo en cuenta para las diluciones a realizar en los siguientes ensayos de inmunodetección.

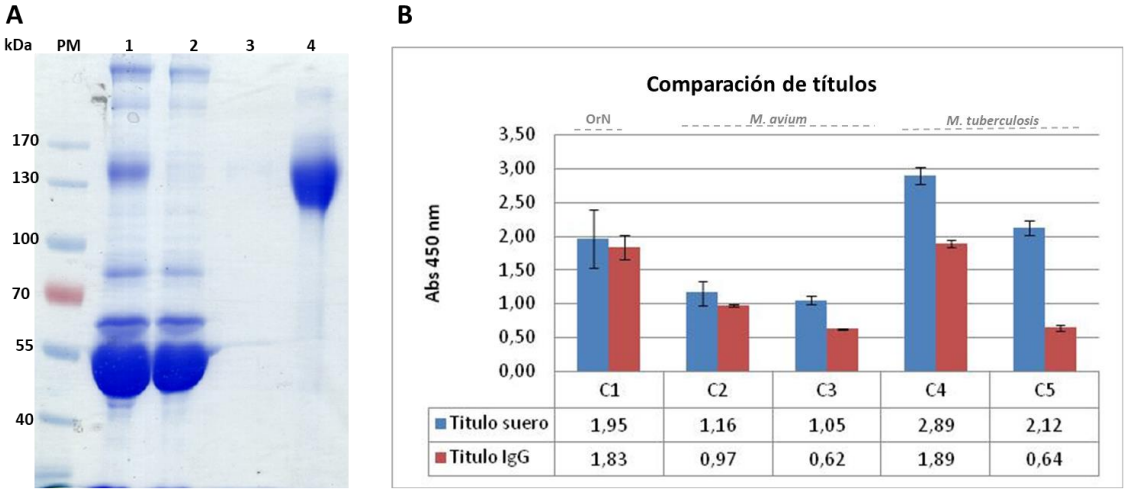


Figura 44. Evaluación de los anticuerpos purificados.

A) Evaluación de la purificación de anticuerpos a partir del suero de conejo 3 por cromatografía de afinidad con columna de proteína A. SDS-PAGE 8% buffer de siembra no reductor, tinción azul de Coomassie. PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616), 1: Suero 5µL, 2: Fracción no unida a la columna (percolado) 5µL, 3: carril no cargado, 4: Igs eluidas 5µL**. B) ELISA para la evaluación de la reactividad de las Igs purificadas por cromatografía de afinidad.** Antígenos utilizados: OrN, *M. avium* y *M. tuberculosis*, según se indica en la parte superior de cada gráfica. Antisueros/anticuerpos utilizados: C1, C2, C3, C4 y C5 corresponden a los antisueros y anticuerpos purificados de los conejos 1, 2, 3, 4 y 5 del día 82 del protocolo de inmunización, respectivamente. Dilución de los antisueros 1/2000. Concentración de los anticuerpos purificados entre 2500 y 4000 ng/mL.

Obtención y control de anticuerpos anti-TB

Una vez verificada la purificación de las Igs y la reactividad por ELISA y *western blot*, se generó un *pool* con una fracción de los anticuerpos policlonales específicos contra el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* derivados de los 2 conejos inmunizados con este antígeno (Igs C4 y Igs C5), purificados como se describió anteriormente. Una parte de este *pool* de Igs purificadas (anti-TB captura) fue formulada con azida de sodio 0.05%, glicerol 50% y almacenada en alícuotas a -20°C, a una concentración de 2.63 mg/mL.

Otra parte del *pool* fue conjugada a biotina y desalada contra buffer PBS, recuperándose el 84% de las Igs utilizadas en la conjugación. Este anticuerpo policlonal conjugado (anti-TB biotinilado) se formuló con azida de sodio 0.05%, glicerol 30% y se almacenó en alícuotas a -20°C, a una concentración de 1mg/mL. Se controló la conjugación a biotina del anticuerpo anti-TB biotinilado mediante la técnica de *dot blot* (Figura 45A), mostrando una reactividad apreciable hasta la mayor dilución ensayada (10^{-6}), correspondiente a 2 pg de anticuerpo, y similar al control positivo comercial incluido como control positivo en el ensayo. El control negativo, correspondiente al anticuerpo anti-TB captura (sin biotinilar) no muestra reactividad en ninguna de las diluciones ensayadas a pesar de haber depositado una cantidad de anticuerpo igual al anti-TB biotinilado, lo que fue controlado mediante la realización de una membrana adicional revelada con un anticuerpo secundario anti- IgG de conejo conjugado a HRP ((Figura 45B). De esta forma, verificamos que el protocolo permitió la conjugación eficiente a biotina del anticuerpo anti- *M. tuberculosis* policlonal.

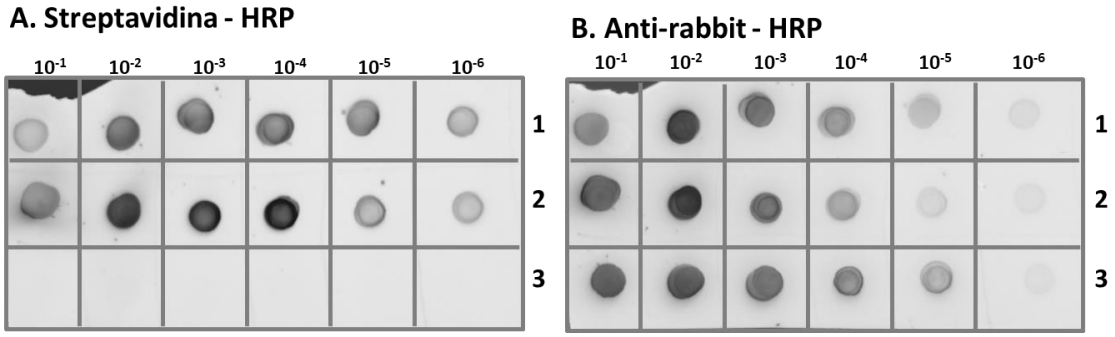


Figura 45. Evaluación de la conjugación de las Igs a biotina mediante *dot blot.*
A) Reconocimiento de anticuerpos con estreptavidina-HRP. **B)** Reconocimiento de anticuerpos con anti-IgG de conejo – HRP. Sobre las membranas se indican las diluciones de los anticuerpos realizadas (diluciones en base 10 desde 10^{-1} a 10^{-6}). A la izquierda de las membranas se indican los anticuerpos ensayados: 1) anti- *M. tuberculosis* biotinilado comercial (Thermo Fischer Scientific, Cód. PA1-73136), 2) anti-TB biotinilado y 3) anti-TB captura (sin biotina). Estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) dilución 1/1000. Anti-IgG de conejo - HRP (Santa Cruz, sc-2004) dilución 1/2500.

Luego de verificar que la conjugación de biotina había funcionado bien se realizaron algunos controles preliminares de los anticuerpos generados, observándose que mostraban reacción inespecífica contra un extracto de proteínas de *E. coli*. Por lo tanto, se procedió realizar la depleción de ambos anticuerpos (anti-TB captura y anti-TB biotinilado) mediante la incubación con el extracto de proteínas de *E. coli*. Posteriormente se verificó por medio de *dot blot* y *western blot* que la reactividad inespecífica contra estas proteínas hubiera disminuido luego de este procedimiento. Como se muestra como ejemplo en el caso del anti-TB biotinilado (Figura 46) se evidencia una disminución en esta reactividad inespecífica, a la vez que también podría estar disminuyendo la reactividad específica contra MTB, por lo que se define no continuar realizando rondas de depleción de estos anticuerpos anti-TB. Lograr la disminución de esta inespecificidad resultaba importante para la puesta a punto del inmunoensayo basado en la técnica de ELISA, debido a que sobre todo en muestras de orina la contaminación con proteínas de *E. coli* podría ser un problema.

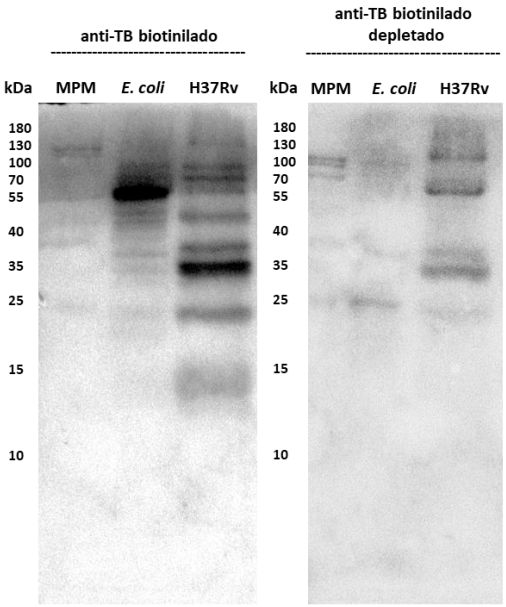


Figura 46. Evaluación de la depleción de la reactividad contra *E. coli* mediante *western blot.*
MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616), *E. coli*: 5 µg del extracto de *E. coli*, H37Rv: 5 µg del sobrenadante de cultivo de MTB. Membrana izquierda: anti-TB biotinilado sin depletar (concentración 500 ng/mL). Membrana derecha: anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli* (concentración 500 ng/mL). Estreptavidina-HRP (Pierce, Cód. 21130) dilución 1/4000. Anti-IgG de conejo - HRP (Santa Cruz, sc-2004, dilución 1/2500).

Evaluación de reactividad de los anticuerpos anti-TB

Adicionalmente se evaluó la reactividad de estos anticuerpos contra diferentes antígenos de *M. tuberculosis*, algunos de los cuales han sido propuestos como biomarcadores de la tuberculosis activa, incluyendo el lipoarabinomanano purificado (LAM), MPT32 (Apa, Rv1860) purificada a partir de sobrenadante de cultivo, ESAT-6 recombinante (EsxA, Rv3875), Ag85A recombinante (FbpA, Rv3804), GlnA1 recombinante (Rv2220) y las proteínas fosfatasas en tirosina PtpA (Rv2234) y PtpB (Rv0153c). El reconocimiento se evaluó por *dot blot* y *western blot*, realizándose en ambos casos el control del anticuerpo secundario (Figura 47).

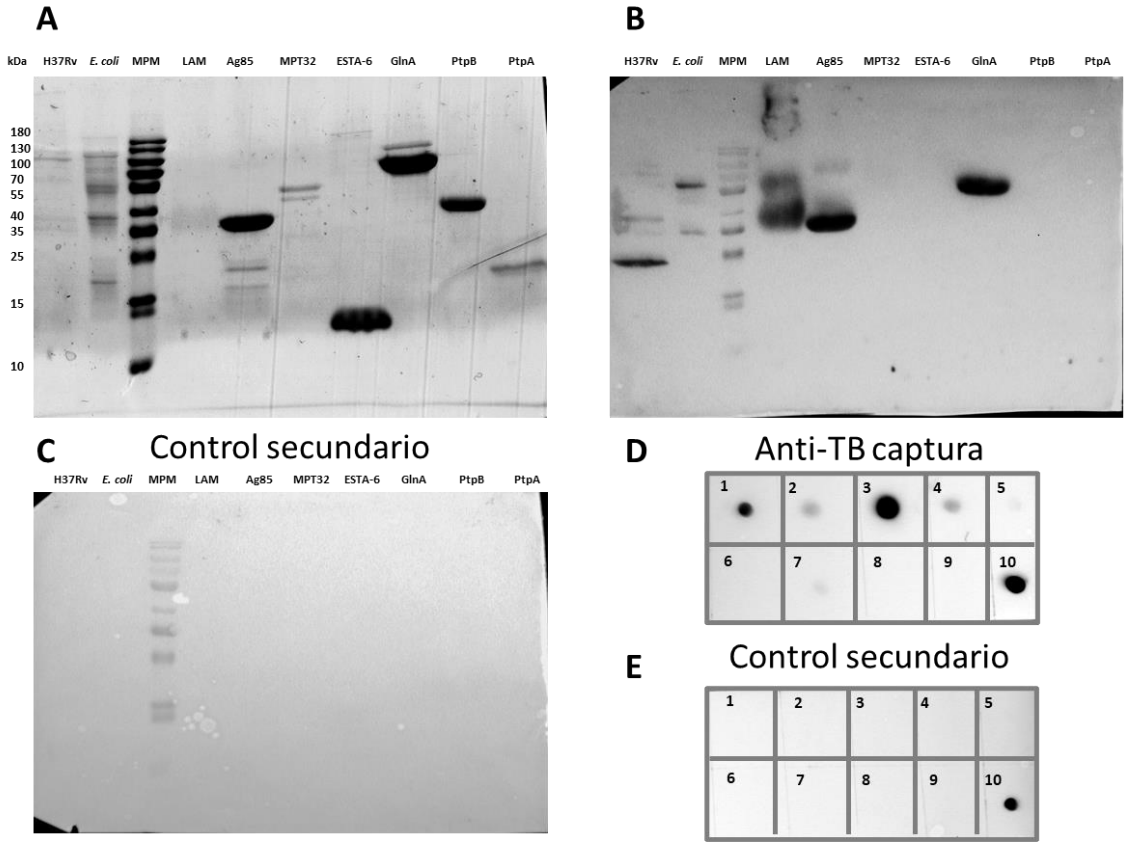


Figura 47. Evaluación de la reactividad del anticuerpo anti-TB contra diferentes antígenos.
A) SDS-PAGE 15%, tinción azul Coomassie. **B)** *Western blot*: membrana transferida a partir de gel equivalente al del panel A y revelada con anti-TB captura como primario y anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. **C)** *Western blot*: membrana transferida a partir de gel equivalente al del panel A y revelada sin anticuerpo primario y con anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. **A, B y C)** Se sembraron por carril: H37Rv: 5 µg del sobrenadante de cultivo de MTB, *E. coli*: 5 µg del extracto de *E. coli*, LAM, Ag85A, MPT32, ESAT-6, GlnA y PtpB: 10 µg de cada uno, PtpA: 4 µg. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616). **D)** *Dot blot* revelado utilizando anti-TB captura como primario y anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario **E)** *Dot blot* revelado sin anticuerpo primario y utilizando anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. **D y E)** Se sembraron 1) H37Rv 0.5 µg, 2) *E. coli* 0.5 µg, 3) LAM 1 µg, 4) Ag85A 1 µg, 5) MPT32 1 µg, 6) ESAT-6 1 µg, 7) GlnA 1 µg, 8) PtpB 1 µg, 9) PtpA 0.2 µg, 10) anti-TB captura (control) 1 µg. **B y D)** Anticuerpos anti-TB captura en concentración 10000 ng/mL. **B, C, D y E)** Anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado a HRP (Sigma, Cód. A0545) en dilución 1/5000.

Los antígenos recombinantes mostraron un PM aparente similar al teórico y en el caso de LAM y del antígeno nativo purificado MPT32 no se logró una buena visualización en la tinción con Coomassie (Figura 47A). Por medio de *western blot* se verificó un reconocimiento muy intenso con el anti-TB del Ag85A recombinante, de la GlnA recombinante y del antígeno LAM, a pesar que como se mencionó la tinción con Coomassie no había sido buena (Figura 47B). Este resultado fue similar a lo observado por medio de *dot blot* (Figura 47D). En ambas técnicas la ausencia de señal en el control del anticuerpo secundario mostró que el reconocimiento es específico del anti-TB captura (Figura 47 C y E). El *dot blot* mostró además un reconocimiento débil del antígeno nativo purificado MPT32 (Apa) (Figura 47D). Los antígenos proteicos reconocidos: Ag85A, GlnA1 y Apa, son proteínas abundantes en lista de proteínas del CFP de *M. tuberculosis* utilizada para generar el anticuerpo anti-TB captura, ubicados respectivamente en los lugares 15, 19 y 89 en orden de abundancia. En este caso el reconocimiento de la proteína Apa es muy débil, lo que puede explicarse por el hecho que, al tratarse de un extracto del sobrenadante enriquecido en este antígeno, la proteína específica no está en igual concentración que el resto de las proteínas recombinantes ensayadas (como se observó en la Figura 47A). Por otro lado, la proteína PtpA no está presente en la lista, lo que es coherente con la ausencia de reconocimiento del anticuerpo generado, y la proteína PtpB que tampoco es reconocida por el anti-TB captura, si bien está presente, es poco abundante (lugar n°873). Estas fosfatasas bacterianas han sido detectadas en el citoplasma de los macrófagos, en modelos de infección *in vitro*, e incluso en núcleo de dichas células en el caso de PtpA, e interfieren en varios niveles con la respuesta inmune adaptativa de la célula hospedera [316]. La baja o nula presencia de ambas fosfatasas en el sobrenadante de cultivo de MTB podría sugerir que, al tratarse de proteínas reguladoras, se expresan en un muy bajo nivel hasta que son inducidas factores presentes por la célula hospedera.

En el caso del LAM se probaron diferentes tinciones y adaptaciones de las mismas (plata, azul de Coomassie y Coomassie coloidal) encontrándose que la que mejor permitió detectar a esta molécula heterogénea fue la tinción con azul de Coomassie, desteñido con sucesivas incubaciones en agua destilada, en lugar de solución de desteñido (resultados que no se muestran). El antígeno se visualizó como una banda difusa entre 35 y 40 kDa, lo que está de acuerdo con la literatura [317] y el certificado de análisis del producto (Información del producto NR-14848, BEI Resources).

Lo que resulta más llamativo de estos resultados es la ausencia de reconocimiento por el anti-TB captura de la proteína ESAT-6 (EsxA), una proteína de secreción relevante y un biomarcador potencial de la TB activa (Tabla 2), que como fue visto previamente se encuentra presente en el lugar número 5 en orden de abundancia en la lista de proteínas del sobrenadante de cultivo preparado por nosotros. El control de esta proteína recombinante por Coomassie muestra que la proteína, a pesar de ser una proteína pequeña (9.9 kDa), se visualiza como una banda principal, del tamaño esperado y con buena intensidad (Figura 47A).

Al tratarse de una proteína importante ensayamos diferentes métodos para verificar que el anticuerpo generado fuera capaz de reconocerla, entre ellos el uso de anti-TB biotinilado (Figura 48). Así, en un ensayo de *western blot* que utilizó el anti-TB biotinilado y en el que se sembró el doble de cantidad de ESAT-6, la proteína pudo visualizarse como una banda difusa de peso

molecular esperado (Figura 48A). Los desafíos que nos presentó la detección de este antígeno podrían explicarse por el hecho de que su bajo peso molecular haya generado dificultades técnicas en ambos formatos de inmunoensayo, por ejemplo, debido a la utilización de una membrana de nitrocelulosa 0.45 µM de poro, la que no es recomendada para proteínas con un peso molecular menor de 20 kDa.

Finalmente, en el ensayo de *dot blot* (Figura 48B) con el anti-TB biotinilado pudieron visualizarse con diferente grado de intensidad todos los antígenos de *M. tuberculosis* evaluados, menos PtpA que como se mencionó previamente no fue detectada en el sobrenadante de cultivo de MTB. En este ensayo de *dot blot* se utilizó también el extracto de *M. avium* que también es reconocido por el anti-TB biotinilado, dada la reactividad cruzada que muestran los antisueros de los conejos 4 y 5, utilizados para la generación de los anticuerpos anti-TB (Figura 42).

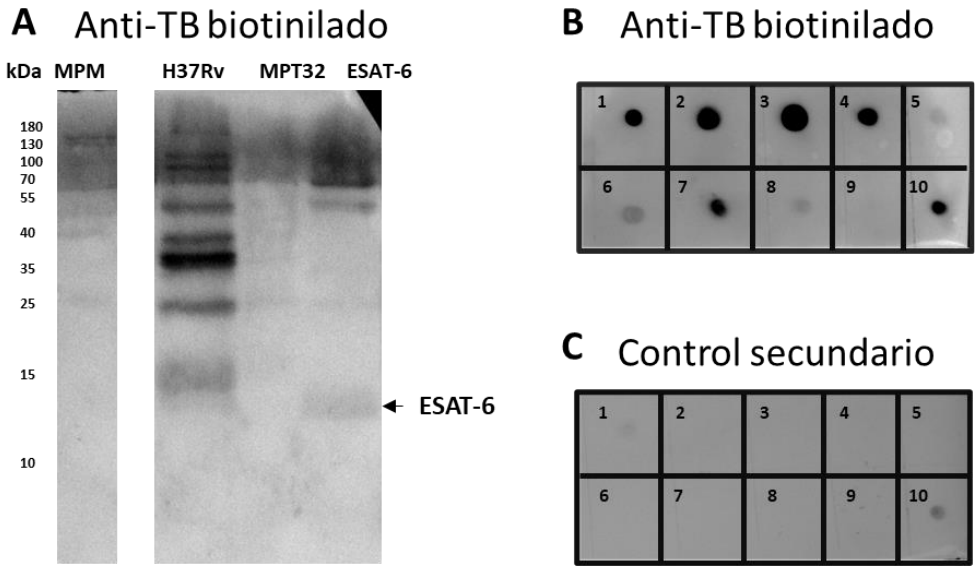


Figura 48. Evaluación de la reactividad del anticuerpo anti-TB biotinilado contra diferentes antígenos. **A)** *Western blot*. Membrana revelada con anti-TB biotinilado como primario y estreptavidina-HRP como secundario. Se sembraron por carril: H37Rv: 5 µg del sobrenadante de cultivo de MTB, MPT32 20 µg, ESAT-6 20 µg. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616). **B)** *Dot blot* revelado anti-TB biotinilado como primario y estreptavidina-HRP como secundario. **C)** *Dot blot* revelado sin anticuerpo primario y utilizando estreptavidina-HRP como secundario. **B y C)** Se sembraron 1) *M. avium* 0.5 µg, 2) H37Rv 0.5 µg, 3) LAM 1 µg, 4) Ag85A 1 µg, 5) MPT32 1 µg, 6) ESAT-6 1 µg, 7) GlnA 1 µg, 8) PtpB 1 µg, 9) PtpA 0.2 µg, 10) anti-TB captura (control) 1 µg. **A y B)** Anti-TB biotinilado a 5000 ng/mL. **A, B y C)** Estreptavidina-HRP en dilución 1/4000.

En este experimento también se evaluó utilizar mayor cantidad de MPT32 en el *western blot*, pero sólo se lograron intuir varias bandas tenues entre 55 y 25 kDa, ninguna de ellas mayoritaria (Figura 48A). En este caso, por medio de tinción con plata y mediante el uso del anticuerpo monoclonal anti-MPT32 pudo verificarse que la banda mayoritariamente reconocida tiene un PM aparente de aproximadamente 55 kDa (resultado que no se muestra), que podría corresponder a la banda principal de la tinción con Coomassie presentada previamente (Figura 47A). Este antígeno está altamente glicosilado en el sobrenadante de cultivo de MTB como mostramos en la Figura 31 y presenta diferentes glicoformas (Anexo 10 y Anexo 11), por lo que la presencia de varias bandas es esperada. De hecho, este antígeno se obtuvo por purificación

por medio de una resina de ConA de un sobrenadante de cultivo y en el certificado de análisis consta que se espera la presencia de 2 bandas, una de 45 kDa y otra de 42 kDa (Información del producto NR-14862, BEI Resources).

Finalmente, en los casos en que contábamos con anticuerpos específicos disponibles se realizaron ensayos de *western blot* o *dot blot* para confirmar las bandas o puntos identificados con los anticuerpos anti-TB desarrollados. Estos ensayos, que fueron realizados en paralelo con sus controles de anticuerpos secundarios, mostraron los resultados esperados en *dot blot* para los anticuerpos anti-MPT32 monoclonal (BEI Resources, Cód. NR-13817), anti-LAM monoclonal (BEI Resources, Cód. NR-13812) y anti-LAM policlonal (BEI Resources, Cód. NR-13821), y en *western blot* para el anticuerpo anti-MPT32 monoclonal (BEI Resources, Cód. NR-13817). El anti-ESAT-6 policlonal disponible (Thermo Scientific, Cód. PA119446) no mostró reactividad con la proteína ESAT-6 recombinante, lo mismo que los anti-LAM mencionados previamente no mostraron reconocimiento del LAM purificado por *western blot* (resultados que no se muestran). Los anticuerpos anti-TB (captura y biotinilado) reconocieron mejor todos los antígenos evaluados en paralelo, salvo el caso del MPT32, que los anticuerpos específicos disponibles.

En resumen, nuestros anticuerpos policlonales presentan una reactividad importante contra varios de los antígenos evaluados, varios de los cuales son biomarcadores de valor para el diagnóstico de la tuberculosis activa. En el caso de ESAT-6 la reactividad se pudo visualizar con mayor intensidad con el anti-TB biotinilado, lo que es esperable ya que este sistema de revelado permite una mayor amplificación de la señal. Es interesante resaltar también que la reactividad observada se correlaciona con la abundancia de las proteínas en el sobrenadante de cultivo de MTB.

Puesta a punto de ELISA de captura (sándwich)

Una vez que se generaron y controlaron los anticuerpos policlonales anti-TB como se describe en las secciones precedentes, el trabajo se centró en poner a punto el procedimiento para realizar un ELISA de captura que sirviera para detectar antígenos de MTB presentes en muestras clínicas. Asimismo, se buscó que este protocolo de ELISA permitiera cuantificar los antígenos de MTB potencialmente presentes, al incluir una curva de calibración basada en diferentes diluciones de las proteínas del sobrenadante de MTB. El formato de ELISA de captura se muestra en la Figura 49: los antígenos presentes en las muestras clínicas son capturadas por medio del anti-TB captura que se utilizó para sensibilizar la placa y luego otro epítopo del antígeno es reconocido por el anti-TB biotinilado. Al sándwich de anticuerpos conformado se une la estreptavidina conjugada a HRP, lo que posteriormente es revelado por medio de la incorporación del sustrato TMB.

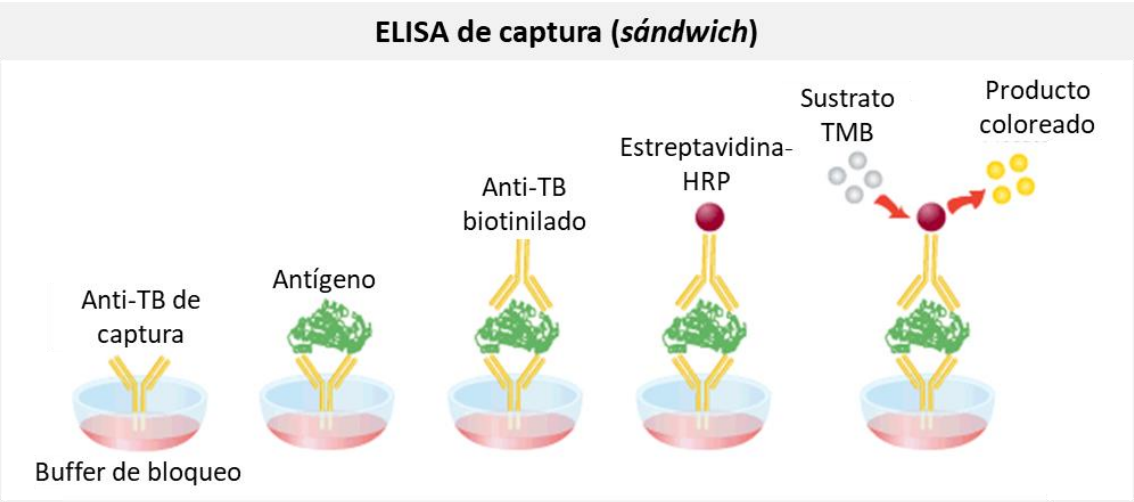


Figura 49. Esquema del ELISA de captura diseñado para la detección de antígenos de *M. tuberculosis*.

Durante la puesta a punto de esta metodología se ensayaron diferentes concentraciones del anti-TB captura utilizado en la sensibilización, de las proteínas del CFP de *M. tuberculosis* empleadas en la curva de calibración, del anticuerpo anti-TB biotinilado y de la estreptavidina-HRP. Además, se ensayaron diferentes buffers en la etapa de bloqueo, en los lavados y para las diluciones de las muestras y del anticuerpo anti-TB biotinilado. Por ejemplo, la selección de la concentración del anti-TB biotinilado se basó en la comparación de la señal obtenida en 4 diluciones diferentes, abarcando un rango entre 100 y 1000 ng/mL (Figura 50). Estos resultados sirvieron para definir que se usaría una concentración entre 500 y 1000 ng/mL de anti-TB biotinilado ya que estas condiciones permiten obtener señales intensas de Abs_{450nm} sin entrar en la zona de saturación del ensayo.

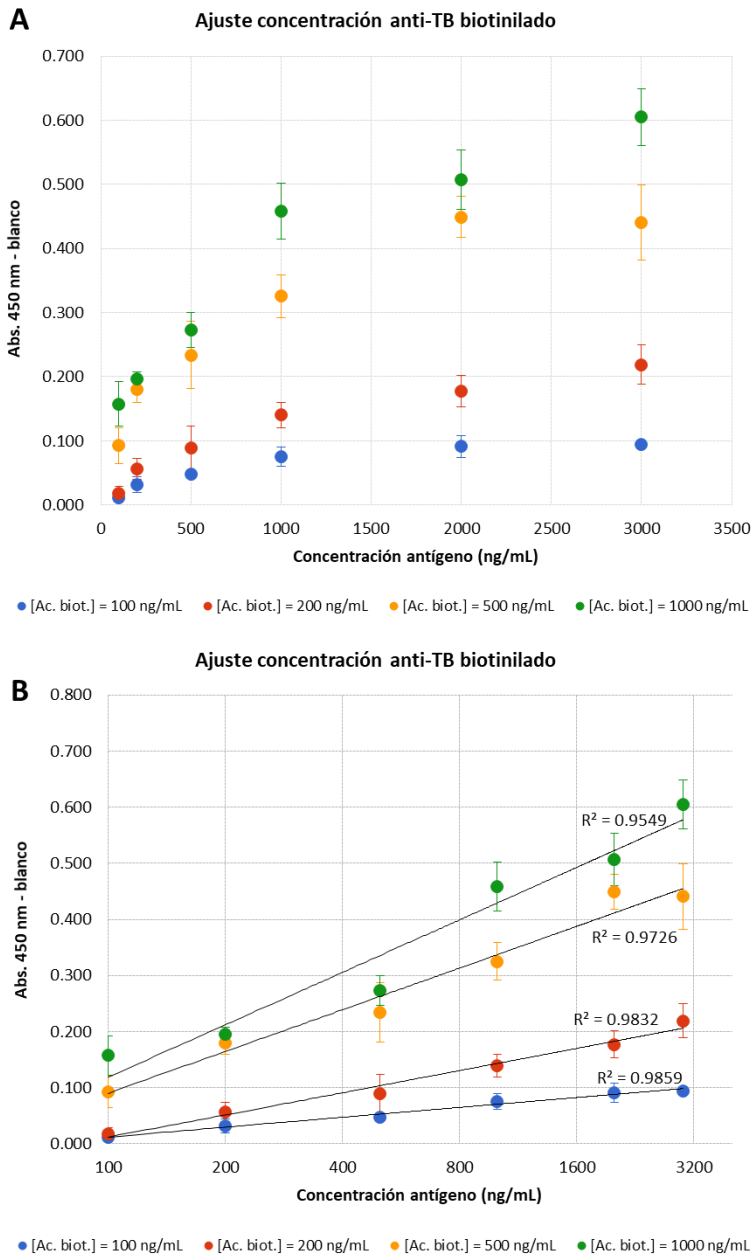


Figura 50. Ejemplo del ajuste de la concentración del anti-TB biotinilado.
Concentración de antígeno ensayado (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por triplicado). **A)** Se grafica el valor de la Abs_{450nm} de cada punto de la curva en relación la concentración del mismo. **B)** Representación semilogarítmica de los mismos datos que en el panel A. Dilución de estreptavidina-HRP 1/5000.

Una vez puesto a punto la concentración de anti-TB captura, anti-TB biotinilado y estreptavidina-HRP se probó el mismo protocolo utilizando un anticuerpo biotinilado policlonal hecho en conejo de la empresa Thermo Scientific (Cód. PA1-73136), generado utilizando PPD de *M. tuberculosis* como inmunógeno. Este anticuerpo lo habíamos empleado como control de la reacción de conjugación a biotina (Figura 45) y también habíamos comprobado por *western blot* que reconoce el CFP de *M. tuberculosis*, aunque mostrando un perfil de bandas diferente al anticuerpo anti-TB producido por nosotros (resultados que no se muestran). Por medio de un ELISA comparativo entre ambos anticuerpos conjugados a biotina se observó que el anti-TB biotinilado desarrollado por nosotros mostraba una mayor respuesta frente a las concentraciones ensayadas de la curva de calibración de sobrenadante de cultivo de MTB (Figura 51). Se calculó en este experimento el límite de detección (LOD) extrapolado en la curva de 36 ng/mL para nuestro anticuerpo y de 219 ng/mL para el anticuerpo biotinilado comercial. Además, dada la forma de la curva para el anticuerpo comercial seguramente la zona lineal de la respuesta se observe para mayores concentraciones del antígeno. Como la sensibilidad de este ensayo se consideraba un punto crítico se priorizó la utilización de anticuerpo conjugado que mostraba una señal más alta, es decir nuestro anti-TB biotinilado. Este resultado es esperado ya que para la obtención de este último anticuerpo utilizamos en la inmunización el CFP de MTB utilizado en la curva de calibración. Este antígeno puede diferir en relación a su composición cuali-cuantitativa con PPD utilizado como inmunógeno en la generación del anticuerpo biotinilado comercial, el que se obtiene mediante la extracción de proteínas a partir de cultivos de MTB inactivados por calor y está compuesto por una variedad de proteínas diferentes [318].

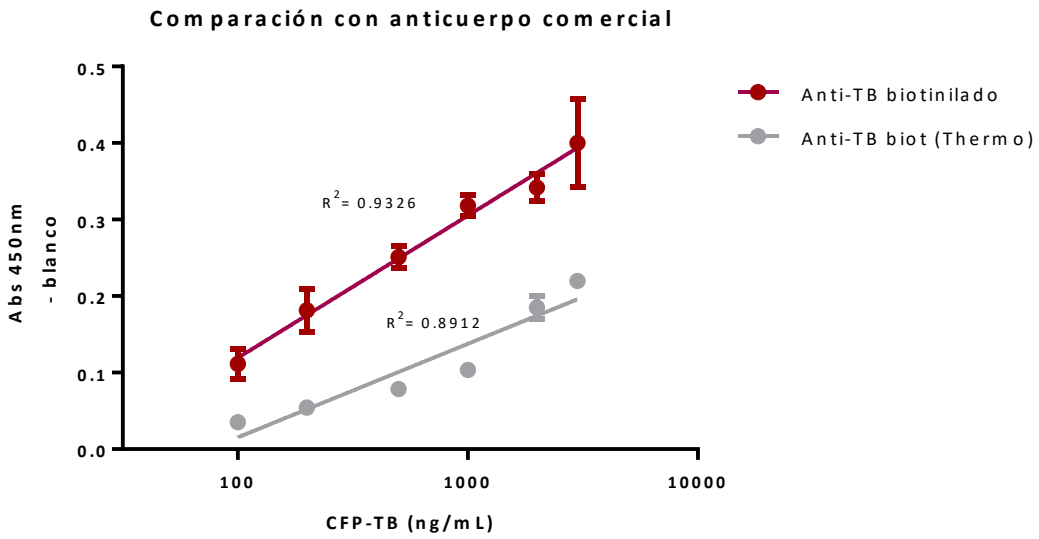


Figura 51. Comparación de la respuesta con anti-TB biotinilado comercial.
Curva de calibración del ELISA sándwich utilizando anti-TB biotinilado propio y anti-TB biotinilado comercial (Thermo Scientific, Cód. PA1-73136), analizados en el mismo experimento. Concentración de antígeno ensayado (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por triplicado). Concentración del anticuerpo conjugado a biotina en ambos casos 1000 ng/mL. Dilución de estreptavidina-HRP 1/5000.

En resumen, se puso a punto un ensayo de ELISA de captura utilizando los anticuerpos desarrollados en este trabajo, que es capaz de mostrar una respuesta con una proporcionalidad semilogarítmica frente a un rango de concentración entre 100 y 3000 ng/mL de antígeno y un límite de detección que según los diferentes experimentos se ubicó entre 30 y 50 ng/mL. Es importante notar que los resultados netos de absorbancia obtenidos no son muy altos, principalmente debido a que la señal del blanco es importante, lo que trató de optimizarse con diferentes soluciones de bloqueo, soluciones y procedimientos de lavado y mediante el agregado de aditivos a las soluciones de dilución del anti-TB biotinilado, por ejemplo, Igs preinmunes purificadas. Sin embargo, en determinadas condiciones que se alcanzaron valores del blanco más bajos, la señal también bajó mucho, por lo que finalmente se definió un protocolo basado únicamente en ajustes de la concentración del Tween 20 y de la BSA utilizados en las soluciones de lavado, de bloqueo y de dilución del anticuerpo biotinilado.

Dado los resultados variables mostrados para los ELISA de detección de antígenos para los distintos blancos evaluados, incluidos el principal candidato que es LAM [165], y el hecho que - hasta nuestro conocimiento - no hay consenso en relación a la concentración de antígenos circulantes derivados del microorganismo, postulamos que, para que este ensayo pueda tener una utilidad en el algoritmo diagnóstico, es crítico lograr una alta sensibilidad analítica, es decir una detección de muy bajas concentraciones de antígenos. En base a este requerimiento y a la baja relación señal/ruido exhibida por este ensayo de ELISA de captura, realizamos también la puesta a punto de otros formatos de ELISA, lo que se describe a continuación.

Puesta a punto de ELISA directo

El método de ELISA directo utiliza para la sensibilización los antígenos de la curva estándar y/o las muestras a evaluar, y para el revelado el mismo anticuerpo biotinilado en conjunto con la estreptavidina-HRP, de igual manera que el formato de ELISA de captura. Este método se ensayó para intentar disecar el ELISA sándwich previamente descrito al incluir únicamente la etapa relacionada con la detección de los antígenos, eliminado la etapa inicial de captura de los mismos por medio de los anticuerpos anti-TB (Figura 52).

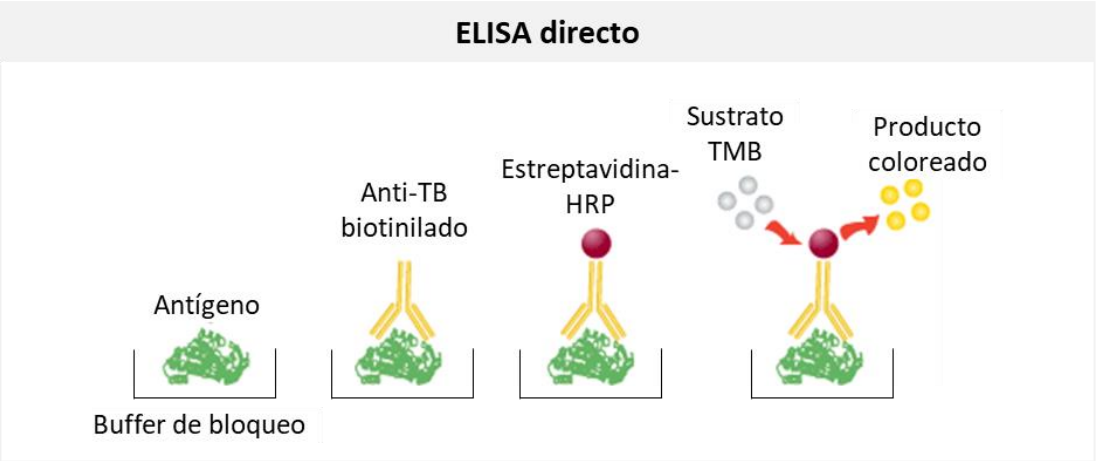


Figura 52. Esquema del ELISA directo diseñado para la detección de antígenos de *M. tuberculosis*.

La curva de calibración con el sobrenadante de cultivo de MTB mostró una relación lineal entre concentración y respuesta de Absorbancia a 450nm, con valores bajos del blanco (Figura 53A). En este caso se diseñó un ensayo para comparar el anti-TB biotinilado sin depletar y el mismo anticuerpo depletado contra proteínas de *E. coli*. De esta forma, observamos que el proceso de depleción no disminuye la reactividad específica contra proteínas de MTB (Figura 53A), pero sí disminuye de forma significativa el reconocimiento del extracto de proteínas de *E. coli* sembrado a una concentración de 2000 ng/mL, igual al punto de mayor concentración del estándar la curva (Figura 53B). También se analizó que el reconocimiento de las Igs preinmunes por ambos anticuerpos biotinilados es relativamente bajo (Figura 53B). La baja señal observada en esta última prueba nos lleva a postular que la alta señal observada en los blancos del ELISA sándwich no se debe a un reconocimiento inespecífico entre inmunoglobulinas.

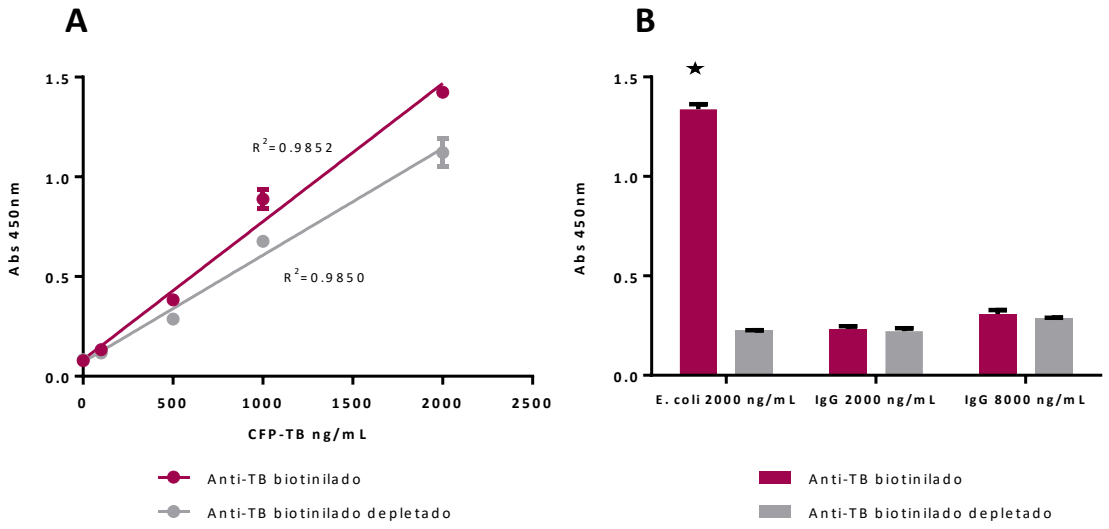


Figura 53. Evaluación del ELISA directo diseñado para la detección de antígenos de *M. tuberculosis*. **A)** Curva de calibración del ELISA directo utilizando anti-TB biotinilado y anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli*, analizados en el mismo experimento. Concentración de antígeno ensayado (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 100, 200, 500, 1000 y 2000 ng/mL (por triplicado). Concentración del anticuerpo conjugado a biotina en ambos casos 1000 ng/mL. **B)** Señales obtenidas para el extracto de *E. coli* a 2000 ng/mL, Igs preinmunes a 2000 y a 8000 ng/mL. La estrella indica que la comparación estadística por medio de *t* test no pareado es significativa ($p<0.0001$).

Las señales de Abs_{450nm} obtenidas por medio de este test son más altas que las obtenidas en el ELISA de captura y al tener un bajo valor del blanco, la curva muestra una respuesta más pronunciada. Por otro lado, se seleccionó para todos los experimentos posteriores el uso del anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli*, de forma de evitar reacciones cruzadas con este microorganismo, ya que como comentáramos antes proteínas derivadas de esta bacteria podrían estar presentes sobre todo en el caso de las muestras de orina.

El ensayo de ELISA directo utilizando el anti-TB biotinilado depletado muestra una respuesta lineal a una concentración entre 50 y 3000 ng/mL de antígeno CFP de *M. tuberculosis* (Figura 54A) y un límite de detección que se ubicó entre 10 y 50 ng/mL en los diferentes experimentos. Los antígenos disponibles de *M. tuberculosis*, que habían sido previamente testeados por *western blot* y *dot blot* (Figura 47), mostraron un resultado comparable a los resultados

anteriores mediante este ELISA directo, es decir, un importante reconocimiento del LAM, del Ag85A recombinante y de la GlnA1 recombinante, y un reconocimiento muy menor de la proteína MPT32 purificada, y casi nulo de las proteínas fosfatasas en tirosina PtpA y PtpB (Figura 54B). Es interesante notar como algunos antígenos individuales muestran una respuesta más potente, lo que podría deberse a que son más inmunogénicos y/o más abundantes en el sobrenadante de cultivo de MTB. En este sentido, como fue discutido previamente, la reactividad observada se correlaciona con la presencia y la abundancia relativa de cada proteína en el sobrenadante de cultivo de MTB utilizado en la inmunización.

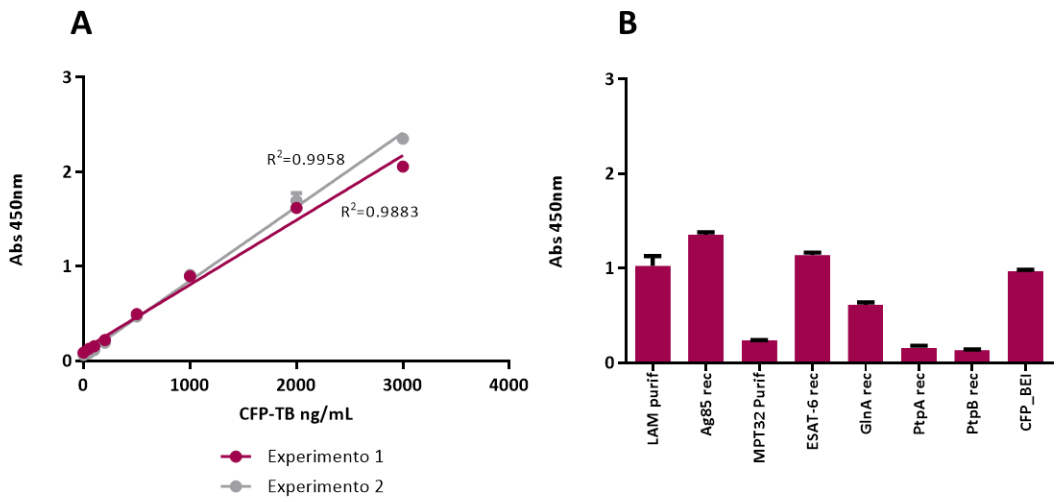


Figura 54. Evaluación del ELISA directo con diferentes antígenos de *M. tuberculosis*.
A) Curva de calibración del ELISA directo utilizando anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli* en dos experimentos independientes. Concentración de antígeno ensayado (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por triplicado). Concentración del anticuerpo anti-TB biotinilado 1000 ng/mL. **B)** Señales obtenidas para diferentes antígenos de *M. tuberculosis* a 1000 ng/mL en el experimento de la curva 1 del panel A.

Adicionalmente, es interesante notar que en este caso el reconocimiento de la proteína ESAT-6 recombinante es también muy importante, a diferencia de lo observado con los otros inmunoensayos de inmovilización en membrana (Figura 47), y coincidente con la abundancia de este antígeno en el sobrenadante de cultivo utilizado para obtener el anti-TB biotinilado (Figura 54B). Esto podría indicar que este tipo de ensayo es más sensible para detectar a este antígeno de bajo peso molecular. En este caso se agregó además un sobrenadante de cultivo suministrado por el BEI (CFP-BEI), el que mostró una señal comparable con el sobrenadante de cultivo utilizado como estándar evaluado en la misma concentración (Figura 54B).

Como resumen, el ELISA directo presentó una optimización más sencilla que el ELISA de captura, una señal de blanco más baja y una curva que mostró una relación entre señal y blanco más amplia para los puntos de la curva ensayados. El límite de detección estuvo también en el orden de lo obtenido para el ELISA de captura y los resultados obtenidos con los antígenos de *M. tuberculosis* disponibles mostraron un resultado coherente con su abundancia en el sobrenadante de cultivo de MTB utilizado para la generación del anti-TB biotinilado.

Puesta a punto de ELISA competitivo

Finalmente, se decidió probar un formato de ELISA competitivo para detectar antígenos de *M. tuberculosis*, tomando como base lo reportado en la literatura para la detección en suero del antígeno recombinante micotiol acetiltransferasa (Rv0819) de *M. tuberculosis* [183]. En este tipo de inmunoensayo las diferentes muestras son incubadas con el anticuerpo anti-TB biotinilado, el que se unirá los antígenos de MTB en las muestras, si estos estuvieran presentes. Luego de terminada esta incubación, se siembran las muestras en los pocillos previamente sensibilizados con una concentración definida del antígeno de MTB a evaluar (en nuestro caso el sobrenadante de cultivo). Los anticuerpos biotinilados libres se unirán al antígeno sensibilizado en la placa y posteriormente son revelados por el agregado de estreptavidina-HRP (Figura 55). En ese caso la curva de calibración muestra una respuesta de Abs_{450nm} que va decreciendo proporcionalmente al aumento de la concentración del estándar y de la misma manera, las muestras con mayor concentración de antígeno exhiben menores señales de Abs_{450nm} que las muestras con menos concentración de antígeno.

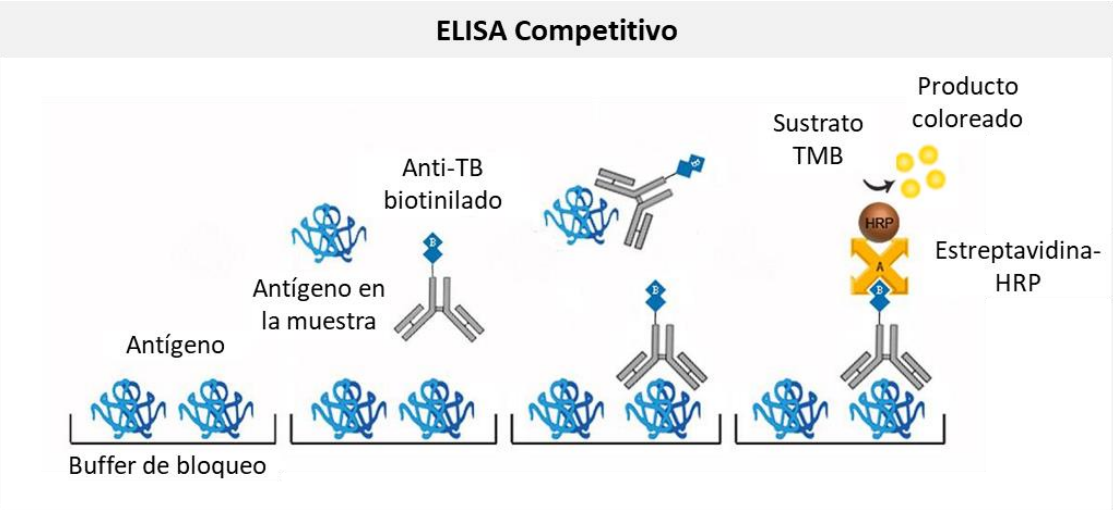


Figura 55. Esquema del ELISA competitivo diseñado para la detección de antígenos de *M. tuberculosis*.

La evaluación de la curva de calibración con el estándar de CFP de *M. tuberculosis* mostró el resultado esperado (Figura 56A), presentando una disminución de la señal a medida que aumenta la concentración de antígeno en la curva. Los resultados evidencian una respuesta de tipo semilogarítmica (Figura 56B), con un rango lineal entre 50 y 3000 ng/mL, lo que fue reproducible en los diferentes ensayos. En los experimentos de la Figura 56 el LOD fue de 32 ng/mL en el ensayo 1 y 23 ng/mL en el ensayo 2. Como comparación, en el caso del antígeno Rv0819 el límite de detección del ELISA competitivo desarrollado fue de 3500 ng/mL [183].

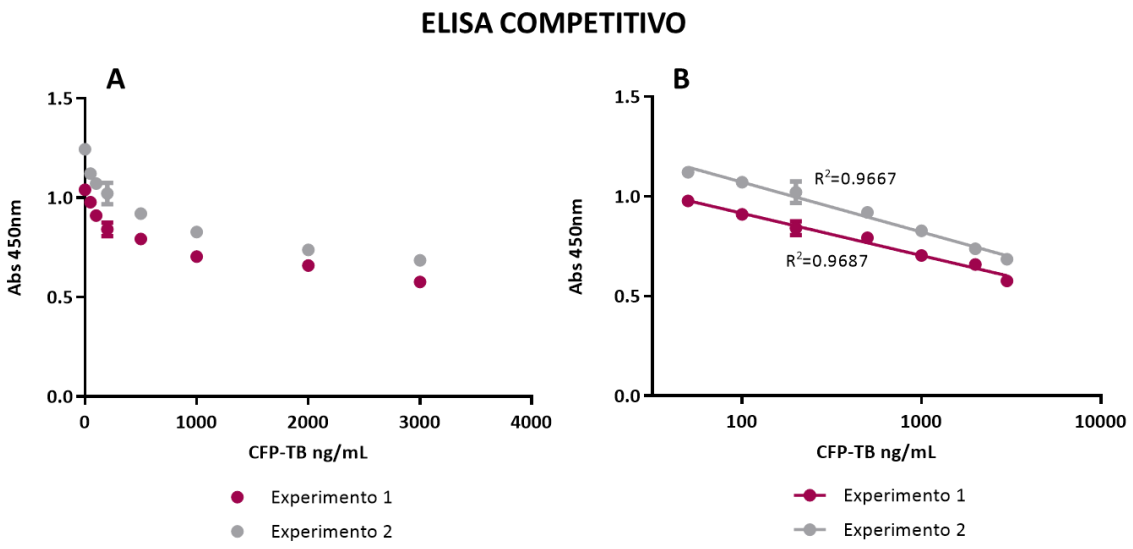


Figura 56. Curva de calibración del ELISA competitivo.
Curva de calibración del ELISA competitivo de dos experimentos independientes. Concentración de antígeno ensayado (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por triplicado). **A)** Se grafica el valor de la Abs_{450nm} de cada punto de la curva en relación a la concentración del mismo. **B)** Representación semilogarítmica de los mismos datos que en el panel A. El antígeno de *M. tuberculosis* fue sensibilizado en la placa a 1 µg/mL. Concentración final del anticuerpo anti-TB biotinilado depletado 1000 ng/mL.

Se evaluó con este formato el reconocimiento de los otros antígenos disponibles además del sobrenadante de cultivo de MTB. En el caso del sobrenadante de cultivo de MTB suministrado por BEI la curva siguió un comportamiento muy similar, indicando que este antígeno es reconocido por el anti-TB biotinilado y su presencia compite con la unión de este anticuerpo a nuestro antígeno sensibilizado en la placa (Figura 57). Ambas curvas tienen un comportamiento dosis-respuesta paralelo, con una pendiente similar y una diferencia menor en relación a su punto de corte con el eje Y. Por otro lado, para iguales concentraciones del extracto de *E. coli* no se observó relación entre el valor de Abs_{450nm} y la concentración del antígeno, indicando que para las concentraciones ensayadas no hay reconocimiento de los anticuerpos, lo que es esperado debido al proceso de depleción contra estas proteínas a las que fue sometido el anti-TB biotinilado.

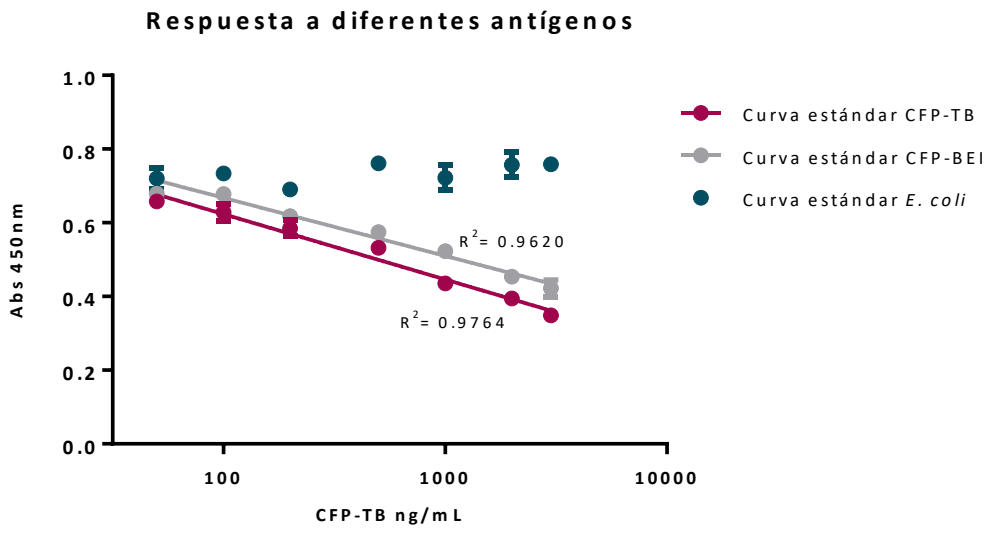


Figura 57. Evaluación del ELISA competitivo con diferentes antígenos.
Curva de calibración del ELISA competitivo para el estándar de TB (CFP-TB), para el sobrenadante de cultivo suministrado por el BEI (CFP-BEI) y para el extracto de proteínas de *E. coli***.** Concentración de antígeno ensayado en los puntos de la curva de calibración 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (en todos los casos y por duplicado). Antígeno de *M. tuberculosis* sensibilizado en la placa a 0.5 µg/mL. Concentración final del anticuerpo anti-TB biotinilado depletado 1000 ng/mL.

Finalmente, en relación a los otros antígenos de *M. tuberculosis* purificados o recombinantes disponibles, únicamente el antígeno MPT32, purificado a partir de sobrenadante de cultivo, mostró una disminución de la señal de Abs_{450nm}, con respecto al blanco, al utilizar una concentración de 3000 y 30.000 ng/mL (Figura 58). El resto de los antígenos ensayados por este método, incluyendo los recombinantes ESAT-6, Ag85A y GlnA1, y el antígeno LAM no mostraron disminución de la señal respecto al blanco aún a 30.000 ng/mL. Es importante recordar que el anti-TB biotinilado, según los resultados del ELISA directo (Figura 54) y *western blot* (Figura 47), reconocería estos antígenos de forma específica. En el diseño del ELISA competitivo estamos evaluando un anticuerpo policlonal que reconoce antígenos variados. Por lo tanto, lo que proponemos en este caso es que, a pesar de la captura de los anticuerpos específicos contra los antígenos ensayados, en el anti-TB biotinilado policlonal los anticuerpos contra el resto de antígenos están en exceso, lo que resulta en un reconocimiento incambiado del antígeno del CFP de *M. tuberculosis* utilizado en la sensibilización. El antígeno MPT32 es purificado a partir de un sobrenadante de cultivo por lo que la captura de anticuerpos podría ser más variada, explicando la disminución de la señal observada. Es por esto que seguramente este formato sirva para muestras clínicas si la presencia de antígenos de *M. tuberculosis* en la muestra es variada, similar al sobrenadante de cultivo y no está acotada a la presencia de algún antígeno mayoritario.

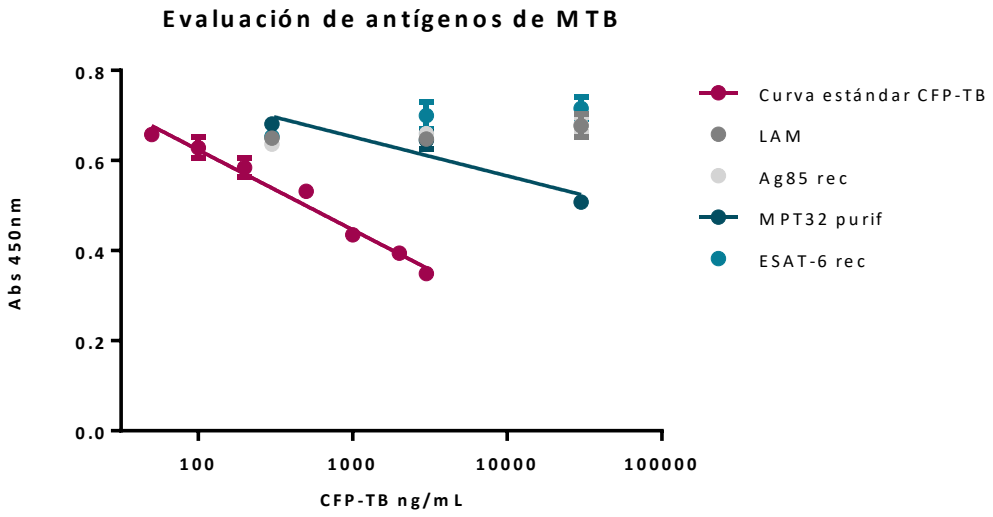


Figura 58. Evaluación del ELISA competitivo con diferentes antígenos de *M. tuberculosis*.
Concentración de antígeno ensayado en los puntos de la curva de calibración 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por duplicado). Antígenos de *M. tuberculosis* (LAM, Ag85A, MPT32 y ESAT-6) evaluados a 300, 3000 y 30000 ng/mL. Antígeno de *M. tuberculosis* sensibilizado en la placa a 0.5 µg/mL. Concentración final del anticuerpo anti-TB biotinilado depletado 1000 ng/mL.

Capítulo 2: Conclusiones y perspectivas

Como resultado de este capítulo se generaron y purificaron anticuerpos policlonales contra antígenos del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*, *M. avium* y el extracto de orina de voluntarios sanos (orN). Se obtuvieron buenos títulos de anticuerpos específicos en todos los casos, aunque observamos una variación importante entre los dos animales inmunizados con el sobrenadante de cultivo de *M. avium*. En relación a la especificidad del reconocimiento, el anticuerpo contra proteínas de orina de voluntarios sanos no reconoce de forma apreciable los antígenos micobacterianos (MTB o *M. avium*), mientras que los anticuerpos contra MTB o *M. avium* no muestran títulos detectables contra proteínas de orinas humanas. Estos resultados son importantes para el desarrollo de herramientas de detección de antígenos de MTB en muestras de orina de pacientes.

Los anticuerpos generados contra los extractos micobacterianos, anti-MTB y anti-*M. avium* mostraron reconocimiento cruzado al ser enfrentados a los antígenos derivados de *M. avium* y MTB, respectivamente, lo que estaría explicado por el hecho que ambas especies presentan varias proteínas homólogas. Lo que es más, el anticuerpo contra MTB reconoce también varias proteínas de un extracto de *E. coli*. Estos resultados nos llevaron a buscar un protocolo de depleción de la reactividad inespecífica que se focalizó en eliminar la reacción contra proteínas de *E. coli*, sin eliminar la reacción específica contra las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB. Si bien este procedimiento de depleción podría haberse realizado con proteínas de *M. avium*, pruebas preliminares nos llevaron a descartarlo debido a disminuciones importantes en los títulos específicos.

En el caso del anticuerpo anti-TB realizamos un protocolo de conjugación a biotina para poder utilizarlo la metodología de ELISA, de forma de amplificar la señal obtenida. Pudimos demostrar que el anticuerpo policlonal anti-TB, tanto no conjugado como conjugado a biotina, presenta una reactividad importante contra varios antígenos recombinantes o purificados de *M. tuberculosis*, varios de los cuales son biomarcadores de valor para el diagnóstico de la tuberculosis activa. De acuerdo a lo esperado, el nivel de reconocimiento de estos antígenos está correlacionado con el nivel de abundancia de las proteínas en el sobrenadante de cultivo de MTB utilizado como antígeno en el protocolo de inmunización.

En base a los resultados relacionados a las frecuentes glicosilaciones observadas en las proteínas de *M. tuberculosis* presentadas en el capítulo 1 de esta tesis, por ejemplo, el alto grado de glicosilación que muestra la proteína Apa (MPT32), nos interesa resaltar la importancia de haber generado anticuerpos policlonales contra antígenos bacterianos nativos, obtenidos a partir del cultivo de este microorganismo. La utilización de antígenos recombinantes, además de restringirse a una selección predefinida de candidatos, podría no ser representativa del verdadero status de las proteínas del patógeno circulantes en el paciente.

Como último punto a destacar, se pusieron a punto 3 formatos de ELISA para ser utilizados en el *screening* de biomarcadores de *M. tuberculosis* en muestras clínicas: ELISA de captura, ELISA directo y ELISA competitivo. Los 3 serían adecuados para la búsqueda y cuantificación de antígenos de MTB. No obstante, en el caso del ELISA competitivo es importante notar que al basarse en un anticuerpo policlonal el formato es adecuado si la presencia de antígenos de *M. tuberculosis* en la muestra es variada y no está acotada a la presencia de un antígeno mayoritario. En el promedio de las diferentes pruebas realizadas, las 3 metodologías basadas en ELISA mostraron un límite de detección que estimamos en el rango entre 10 y 50 ng/mL. Algunos resultados para tomar como referencia en relación a este punto son los reportados para la detección del antígeno de secreción de 10kDa (CFP-10) en sueros de pacientes con HIV y TB pulmonar (entre 50 y 1000 pmol/L, equivalente a 0.5 – 11 ng/mL) [319], así como para los ensayos diseñados para proteínas específicas como PstS1 (antígeno de 38 kDa), CFP-10 y ESAT-6 que lograron límites de detección de hasta 1 ng/mL, para algunos de los anticuerpos ensayados en el formato de ELISA quimioluminiscente [319]. Este mismo límite de detección fue alcanzado para un ELISA diseñado para detectar LAM en muestras de esputo [320]. Por lo tanto, el desempeño de las metodologías puestas a punto fue evaluado como aceptable para las pruebas siguientes de búsqueda de biomarcadores en muestras clínicas. En este punto interesa resaltar que valores de LOD reportados en este capítulo se refieren a ensayos realizados con buffer de dilución de las muestras, por lo que podrían modificarse en presencia de la matriz de análisis. Para el análisis de muestras clínicas se utilizará un control de % de recuperación del *spike* para evaluar si los componentes de la muestra a analizar interfieren con la señal, afectando también los valores de LOD calculados.

CAPÍTULO 3 - Identificación de marcadores de la infección activa por M. tuberculosis en muestras clínicas.

En este capítulo se describe la utilización de diferentes metodologías, en base a las herramientas desarrolladas previamente, con el objetivo de identificar marcadores de la infección activa por *M. tuberculosis* en muestras clínicas de pacientes con TB. La identificación de biomarcadores derivados del patógeno es clave para el desarrollo de métodos directos de detección de antígeno que puedan utilizarse en el punto de atención (POC) [118]. Se han descrito varios biomarcadores con potencial utilidad en el caso del diagnóstico de la tuberculosis activa, en particular proteínas y moléculas antigénicas secretadas por *M. tuberculosis* (Tabla 2). Sin embargo, como ya se mencionó, ha resultado de suma dificultad disponer de biomarcadores de la tuberculosis, que pasen a la etapa de validación clínica, y es una prioridad de la OMS la investigación y el desarrollo en esta área [145].

En relación al tipo de muestra clínica a utilizar en primer lugar nos plantemos centrar el estudio en orinas de pacientes con TB pulmonar, ya que es una muestra sencilla de ser obtenida en un laboratorio periférico, aún en niños o pacientes con dificultades para la generación de muestras de esputo de buena calidad. Adicionalmente, el análisis de muestras de orina podría facilitar el diagnóstico de TB en pacientes coinfectados con VIH, los que normalmente tienen una baja carga de bacterias en su esputo, y en pacientes con tuberculosis extrapulmonar [118].

Posteriormente, nos planteamos la búsqueda de biomarcadores de la infección en líquido pleural. Esta muestra se obtiene mediante el protocolo de toracocentesis, que es un método invasivo utilizado para drenar el líquido que se encuentra en el espacio entre el revestimiento externo de los pulmones y la pared torácica. La enfermedad pleural debida a *M. tuberculosis* se clasifica como extrapulmonar a pesar de la relación anatómica íntima entre la pleura y el parénquima pulmonar [321]. Es la forma más común de TB extrapulmonar, y debe considerarse en el caso de pacientes que presenten derrame pleural no diagnosticado [322]. Se cree que el derrame pleural tuberculoso es probablemente una manifestación de infección micobacteriana paucibacilar, que se adquiere por la presencia de lesiones iniciales del parénquima pulmonar [323]. La acumulación de líquido pleural se postula que es el resultado de una respuesta inmunológica de hipersensibilidad tardía a proteínas de *M. tuberculosis*, que fomenta la formación de líquido pleural y disminuye la eliminación del mismo [213,321,322]. Estos antígenos micobacterianos podrían acceder al espacio pleural por la ruptura de un foco caseoso pequeño y subpleural [321]. Es interesante también el hecho de que normalmente se presenta como una enfermedad aguda, que afecta principalmente a pacientes jóvenes e inmunocompetentes [213]. Finalmente, como en esta muestra la baciloscopía y el cultivo tienen un bajo rendimiento (5-10% y 25 a 30% respectivamente, según lo resumido en la Guía Nacional para el manejo de la Tuberculosis [34]), se utilizan técnicas enzimáticas complementarias y en algunos casos se efectúa una biopsia de la pleura que permite realizar cultivos y estudios histopatológicos. Por lo anteriormente expuesto, postulamos que estas muestras, a pesar de que se obtienen por procedimientos invasivos, podrían presentar una mayor concentración de proteínas derivadas del patógeno, lo que facilitaría su detección por los distintos métodos de análisis.

La estrategia metodológica aplicada para ambos tipos de muestras (orinas y líquidos pleurales) consistió en una primera evaluación mediante electroforesis en una o dos dimensiones, seguida de *western blot* con los anticuerpos anti-TB generados y la identificación de bandas o *spots* inmunoreactivos mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. Posteriormente, las muestras fueron también evaluadas utilizando los diferentes formatos de ELISA puestos a punto en el Capítulo 2. Finalmente, realizamos una evaluación mediante LC MS/MS de las muestras sometidas a diferentes procedimientos de separación, para intentar visualizar las proteínas presentes, ya sean estas derivadas del patógeno o del paciente. Esta última aproximación persiguió el objetivo de intentar definir perfiles proteómicos característicos asociados con la enfermedad tuberculosa activa.

Búsqueda de biomarcadores en orina por electroforesis y MALDI-TOF

A través de la colaboración con la CHLA-EP, disponemos actualmente de muestras de orina de 8 pacientes, 6 de ellos con diagnóstico de TB pulmonar confirmado por cultivo, microscopía o detección de ADN (GeneXpert), 1 de ellos con diagnóstico clínico sin confirmación de laboratorio (orTB7) y el restante con diagnóstico negativo de TB pulmonar tanto de laboratorio como clínico (orTB8). En 7 de 8 pacientes contamos con 3 muestras consecutivas de la primera orina de la mañana y en el paciente restante con una única muestra de primera orina. Cada muestra individual, de cada paciente, fue tratada separadamente e identificada como orTB1 a orTB8, según el ID identificado en la Tabla 3.

Las muestras de orina fueron concentradas por medio de un dispositivo de ultrafiltración entre 5 y 20 veces dependiendo de la muestra y se determinó la concentración de proteínas totales. Se obtuvieron valores de concentración entre 0.2 y 0.8 mg/mL, lo que resultaba suficiente para el análisis con las siguientes técnicas.

En primer lugar, las muestras concentradas fueron analizadas por SDS-PAGE (Figura 59A) y *western blot* utilizando IgGs anti-MTB (Figura 59B). En 1 de las muestras concentradas de orina (orTB2) se observó reactividad en este *western blot*, visualizándose algunas bandas específicas entre 7 y 46 kDa (se indican con flechas negras en la figura). Por otro lado, 2 muestras más (orTB1 y orTB3) muestran un reconocimiento difuso en una banda entre 23 y 30 kDa, indicada con una flecha negra. Estas 3 muestras corresponden a pacientes con diagnóstico de TB pulmonar confirmado por cultivo microbiológico. Por otro lado, no observamos reconocimiento de los anticuerpos en los carriles correspondientes a las muestras orTB4 y orTB7, también con diagnóstico de TB pulmonar, ni en el carril correspondiente a orTB8, que corresponde a un paciente que se descartó el diagnóstico de TB pulmonar. Los controles, positivo (CFP de *M. tuberculosis*) y negativo (orN), que mostraron el resultado esperado, se corrieron en el mismo gel, y el *western blot* se realizó con los mismos reactivos, en un recipiente separado. Se realizó también el control del anticuerpo secundario, que no mostró reconocimiento en ninguna de las muestras (resultado que no se muestra).

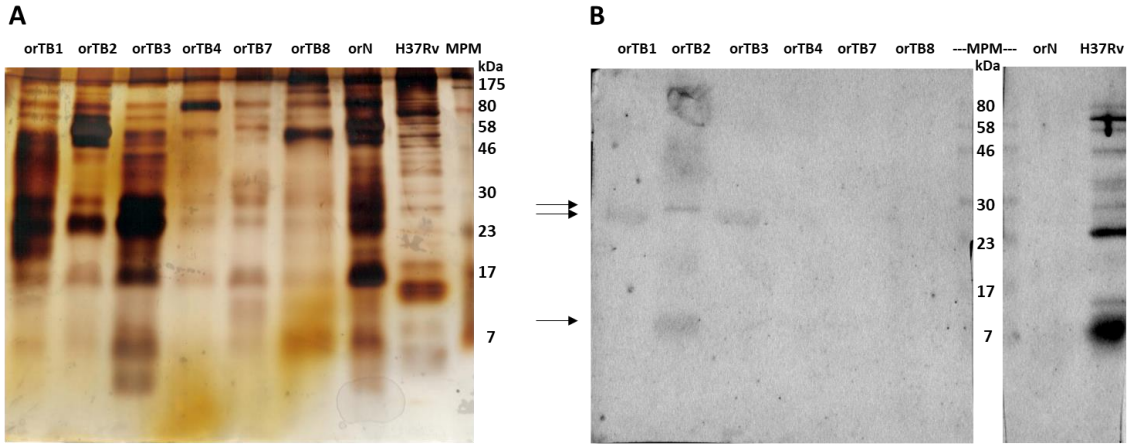


Figura 59. Evaluación de las muestras de orina con sospecha clínica de TB.
A) SDS-PAGE 15%, tinción nitrato de plata. **B)** *Western blot*: membrana transferida a partir de gel equivalente al del panel A y revelada con anti-TB captura como primario y anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. **A y B)** Se sembraron por carril: orTB1: 8.6 µg, orTB2: 4.3 µg, orTB3: 6.1 µg, orTB4: 8.6 µg, orTB7: 2.0 µg, orTB8: 5.5 µg, orN: 5.0 µg, H37Rv: 5.0 µg del sobrenadante de cultivo de MTB. Se indican con flechas las zonas donde se observa reactividad por *western blot*. MPM: PM: Marcador de peso molecular (NEB, Cód. P7709s).

Para intentar identificar las proteínas o antígenos que podrían estar reaccionando por *western blot* en estas 3 muestras se realizó electroforesis bidimensional (2D) en el Institut Pasteur de Montevideo (UByPA). Cada una de las muestras se analizó en paralelo en 2 geles de electroforesis 2D. Un gel fue teñido con nitrato de plata y el otro gel fue transferido a una membrana de nitrocelulosa para repetir el *western blot* anti-MTB sobre la muestra separada bidimensionalmente. En el caso de orTB2 el *western blot* 2D mostró reactividad en la zona identificada en el *western blot* en gel de electroforesis en 1 dimensión, es decir entre 25 y 35 kDa y en el entorno de 10 kDa y un punto isoeléctrico entre 4.5 y 3.5 (Figura 60B). Se seleccionaron spots en el gel teñido con plata, los que se señalan en la Figura 60A, para realizar la identificación de proteínas mediante espectrometría de masas MALDI-TOF. En el caso de orTB1 y orTB3, que también mostraron bandas reactivas en *western blot* 1D (Figura 59B), la tinción de los geles 2D quedó menos intensa y se ven menos spots definidos (Figura 61), a la vez que las membranas reveladas por *western blot* mostraron una reactividad muy difusa (resultado que no se muestra). Igualmente, a partir de los geles bidimensionales teñidos con plata, se seleccionaron algunos spots que fueron analizados mediante espectrometría de masas (Figura 61).

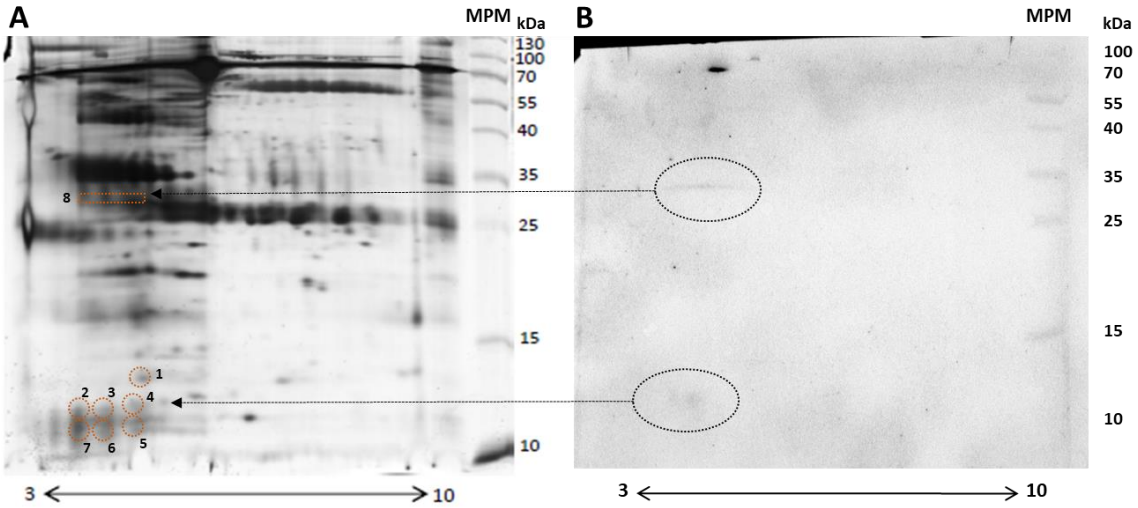


Figura 60. Análisis de la muestra orTB2 por electroforesis 2D.

A) Electroforesis 2D en gel de poliacrilamida, tinción nitrato de plata. **B)** *Western blot*: membrana transferida a partir de gel equivalente al del panel A y revelada con anti-TB captura como primario y anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. **A y B)** Se resolvió por electroforesis bidimensional 50 µg de la muestra orTB2. Se indican con un círculo rojo los spots seleccionados para análisis por espectrometría de masas y con círculo negro las regiones donde observamos reconocimiento del anticuerpo anti-TB. En el eje inferior se marca el gradiente de pH que se utilizó en la primera dimensión de separación. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

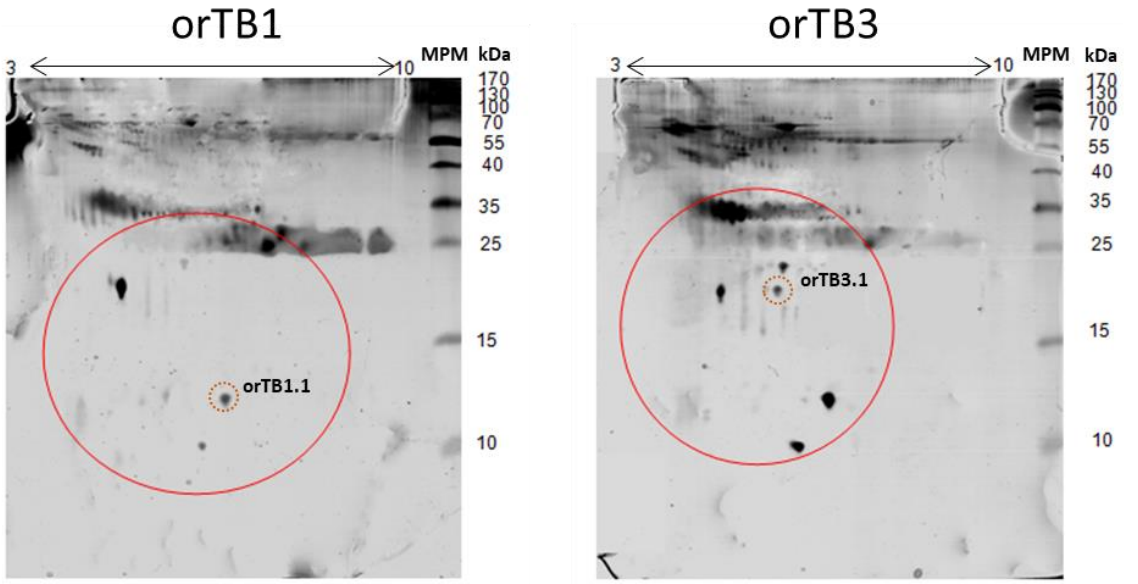


Figura 61. Análisis de las muestras orTB1 y orTB3 por electroforesis 2D.

Electroforesis 2D en gel de poliacrilamida con tinción nitrato de plata de 50 µg de las muestras orTB1 y orTB3. Se indica con un círculo de color rojo sólido la zona donde se observa reactividad por *western blot* (no mostrado). Se indica con un círculo de color rojo punteado el *spot* seleccionado, dentro de la zona más reactiva, para analizar por espectrometría de masas MALDI-TOF. En la zona superior del gel se marca el gradiente de pH que se utilizó en la primera dimensión de separación. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

Todos los spots candidatos fueron analizados por MS en el servicio de espectrometría de masas del Institut Pasteur de Montevideo. En el caso de orTB2 por medio de esta estrategia se analizaron 8 spots que permitieron identificar proteínas humanas de forma estadísticamente significativa, pero no así proteínas derivadas de *M. tuberculosis*. Entre estas proteínas humanas, además de IgG y queratina, se identificó la proteína humana Map19, una proteína de 19 kDa asociada a las lectinas de unión a mánanos [324]. En el caso de los spots derivados de las muestras orTB1 y orTB3 se identificaron, respectivamente, la beta-2-microglobulina humana, con un peso molecular de 12 kDa y también la proteína humana Map19. Es interesante notar que ha sido reportado que los niveles de la beta-2-microglobulina sérica está aumentada en pacientes con TB pulmonar [325] y que la proteína de *M. tuberculosis* ESAT-6 interactúa con ella para modular la respuesta inmune adaptativa del hospedero [326].

En resumen, la reactividad que observamos mediante *western blot* utilizando anticuerpos anti-TB, indicaría que las muestras de orina orTB1, orTB2 y orTB3, obtenidas de pacientes diagnosticados con TB pulmonar, podrían contener antígenos derivados de *M. tuberculosis*. Sin embargo, no logramos identificarlos por medio del análisis de los *spots* de geles 2D por espectrometría de masas MALDI-TOF.

Búsqueda de biomarcadores en orina usando métodos de purificación y pre-enriquecimiento.

Considerando estos resultados y teniendo en cuenta que las orinas son muestras complejas que contienen gran cantidad de proteínas derivadas del hospedero, nos propusimos facilitar la identificación de posibles proteínas o moléculas derivadas de *M. tuberculosis* por medio de la purificación de las muestras de orina de pacientes por medio de cromatografía de afinidad. La estrategia implicaba 2 opciones cromatográficas que podían utilizarse de forma independiente o combinada: (1) la utilización de resinas derivatizadas con anticuerpos anti-orN para depletar proteínas humanas de la muestra y quedarnos con un eluido con menor cantidad de proteínas para permitir una identificación más sencilla y (2) el uso de columnas de inmunoafinidad en las que acoplamos anticuerpos anti-MTB para capturar antígenos derivados del patógeno en las muestras clínicas.

Para generar las resinas de afinidad se utilizaron dos químicas de acoplamiento distintas: CNBr y NHS, logrando un acoplamiento satisfactorio en ambos casos. Sin embargo, en el caso de la resina de CNBr se evidenció, durante el uso, la presencia de anticuerpos derivados de la resina en las diferentes fracciones cromatográficas, lo que no fue detectado en el caso de la resina que utiliza NHS como molécula de inmovilización de los anticuerpos. Es decir, que en nuestras manos la química de acoplamiento a NHS resultó más estable.

En base a los resultados que obtuvimos en el análisis por *western blot* para la muestra orTB2 (Figura 59B), dicha muestra fue purificada mediante cromatografía de afinidad con ambas columnas desarrolladas. Adicionalmente, la muestra orTB8 fue purificada con la resina anti-MTB. Las fracciones de elución (*flowthrough* en el caso de anti-orN y eluido en el caso de anti-MTB) fueron concentradas hasta 20X con concentrador de tamaño de corte de 3kDa y analizadas por SDS-PAGE 1D y *western blot* anti-MTB. Las bandas candidatas fueron analizadas por

espectrometría de masas en el IP Montevideo. En la Figura 62 se muestra el seguimiento de la cromatografía de la muestra orTB2 utilizando la columna derivatizada con anticuerpos anti-orN (panel A), y de las muestras orTB2 y orTB8 utilizando la columna derivatizada con anticuerpos anti-MTB (panel B). Asimismo, se indican algunas de las bandas seleccionadas para su análisis por espectrometría de masas.

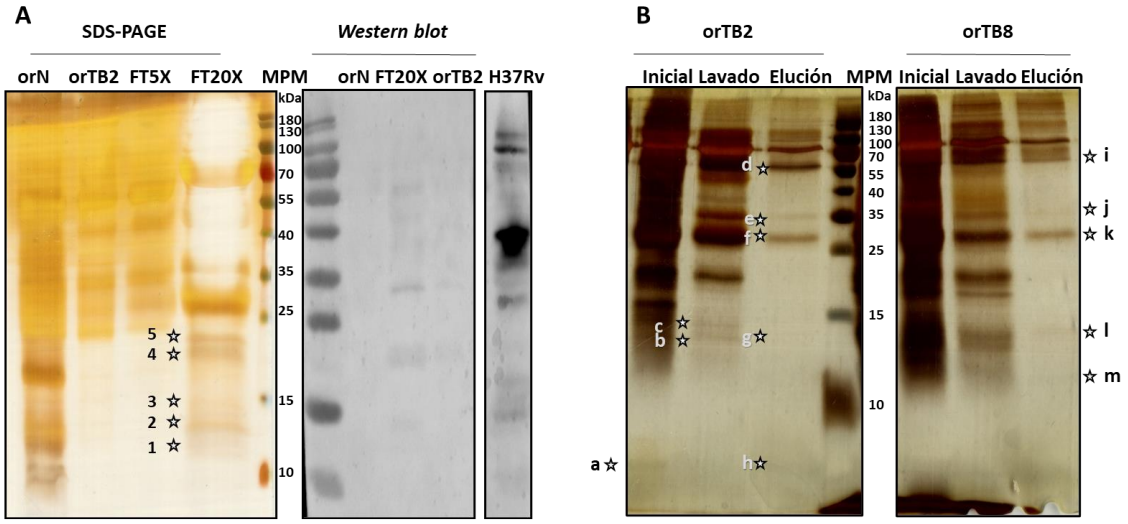


Figura 62. Seguimiento de la purificación mediante resinas de afinidad de muestras de orina de pacientes con sospecha clínica de TB y TB pulmonar confirmada.

A) Evaluación de la fracción FT resultante de la purificación por cromatografía de afinidad de la muestra orTB2 utilizando columna de agarosa-CNBr derivatizada con anticuerpos anti-orN. Izquierda: SDS-PAGE 15%, tinción nitrato de plata. Derecha: *western blot*: membrana transferida a partir de gel equivalente al del panel A y revelada con anti-TB captura como primario y anti-IgG de conejo conjugado a HRP como secundario. Se sembraron por carril: orN: 5.0 µg, orTB2: 4.3 µg, FT5X: *flowthrough* final concentrado 5 veces: 10 µL, FT20X: *flowthrough* final concentrado 20 veces: 10 µL, H37Rv: 5.0 µg del sobrenadante de cultivo de MTB. **B)** Evaluación de la fracción eluida resultante de la purificación por cromatografía de afinidad de las muestras orTB2 y orTB8 utilizando columna de agarosa-NHS derivatizada con anticuerpos anti-MTB. SDS-PAGE 15%, tinción nitrato de plata. Se sembraron por carril: orTB2 inicial: 10.4 µg, orTB2 lavado: 20 µL, orTB2 elución concentrada 10 veces: 20 µL, orTB8 inicial: 11.0 µg, orTB8 lavado: 20 µL, orTB8 elución concentrada 10 veces: 20 µL. Se indican y se numeran las bandas que fueron seleccionadas para análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

Por medio de esta metodología analizamos 34 bandas, de las cuales más del 80% pudieron ser identificadas estadísticamente, correspondiendo principalmente a proteínas derivadas de *Homo sapiens* (Inmunoglobulinas, albúmina, glicoproteínas, entre otras). Por otro lado, en dos de estas bandas fue posible identificar de forma estadísticamente significativa 2 péptidos derivados de 2 proteínas pertenecientes al género *Mycobacterium* (MULTISPECIES: *cold-shock protein* (CspA) [*Mycobacterium*], *score* =58, banda 1 del gel de la Figura 62A y *transposase Mycobacterium sp.*, *score*=57, banda F del gel de la Figura 62B). En el caso de la CspA se muestra la cobertura de la secuencia, así como el péptido identificado en la Figura 63, mientras que la identificación de la transposasa se muestra en el Anexo 15. Estas proteínas identificadas podrían potencialmente ser biomarcadores asociados con la infección activa, sin embargo, ninguna de las 2 ha sido previamente reportada como un biomarcador derivado del patógeno en muestras de pacientes con tuberculosis (Tabla 2). En este punto es interesante destacar que ambas proteínas fueron identificadas a partir de procesos de purificación de la muestra orTB2, lo que confirmaría que

esa muestra, tal como lo mostraba el *western blot* (Figura 59), efectivamente contiene antígenos derivados del patógeno.

MULTISPECIES: cold-shock protein [Mycobacterium]

Database:	**NCBInr**
Score:	**69**
Expect:	**0.062**
Nominal mass (Mr):	**7349**
Calculated pI:	**4.83**

This protein sequence matches the following other entries:

gi|400329028 from Mycobacterium colombiense CECT 3035
gi|625007793 from Mycobacterium tuberculosis TKK-01-0051
Sequence similarity is available as an NCBI BLAST search of gi|495052733 against nr.

Protein sequence coverage: 52%

Matched peptides shown in bold red.

1	**MAQGTVKWFN**	**GEKGFGFITP**	**DDGTKDLFVH**	**YSEIQGNGYR**	**SLDENQRVQF**
51	**EVEQGAKGPQ**	**AVGVSSV**			

Unformatted sequence string: 67 residues.

Start	End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Ions	Peptide
1	13	1495.7086	1494.7013	1494.7289	-0.0276	1	---	-.MAQGTVKWFNGEK.G
14	25	1254.5903	1253.5830	1253.5928	-0.0098	0	58	K.GFGFITPDDGTK.D
48	57	1134.5310	1133.5237	1133.5717	-0.0480	0	---	R.VQFEVEQGAK.G
48	57	1134.5330	1133.5257	1133.5717	-0.0460	0	---	R.VQFEVEQGAK.G
48	57	1134.5397	1133.5324	1133.5717	-0.0393	0	---	R.VQFEVEQGAK.G

Figura 63. Identificación en Mascot (Sequence Query) de la proteína CspA de *Mycobacterium.* Esta identificación se obtuvo a partir de la banda 1 de la Figura 62A.

La CspA es una proteína que se encontró en el sobrenadante de cultivo de MTB preparado y caracterizado en el Capítulo 1, en el lugar número 38 en cuanto a su abundancia relativa (Anexo 4). Es una proteína sobre-expresada en respuesta al estrés por bajas temperaturas, cuando actúa como chaperona de ARN impidiendo que el ARNm forme estructuras secundarias [327]. El péptido identificado de CspA (aminoácido 14 al 25) fue analizado mediante blastp utilizando la base de datos de proteínas no redundantes en todos los organismos y muestra un 100% de identidad con esta proteína de varias micobacterias incluyendo algunas pertenecientes al MTBC y algunas NTM, y sólo el 70% de la secuencia está presente en péptidos derivados del proteoma de *Homo sapiens*. También, con algunos aminoácidos de diferencia, se encuentra buena coincidencia con una proteína homóloga de enterobacterias. El análisis de alineamiento comparativo de esta proteína en micobacterias y enterobacterias se muestra en la Figura 64 mediante la representación de logos de secuencia [328], donde puede visualizarse que son bastante similares y que se presenta una secuencia consenso en la región correspondiente al péptido identificado, aunque existen algunas variaciones entre las diferentes micobacterias.

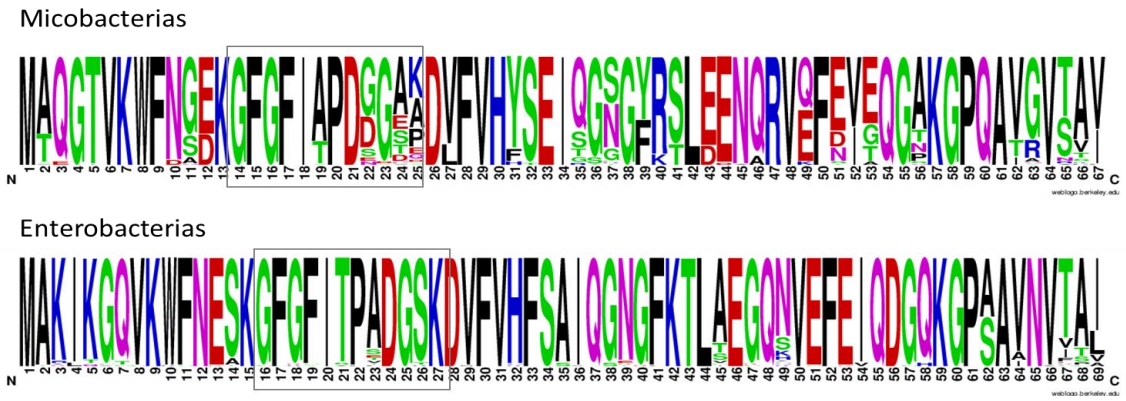


Figura 64. Representación mediante logos de secuencia de la cold-shock protein CspA.
Se alinearon secuencias de la CspA de diferentes micobacterias (panel superior) y enterobacterias (panel inferior) y se muestra el resultado mediante la aplicación WebLogo [328].

Por otro lado, la proteína homóloga a la transposasa identificada, es decir la posible transposasa Rv0922, requerida para la transposición del elemento de inserción IS1535 [187], no se encuentra en el sobrenadante de cultivo preparado por nosotros, ni en el resto de los sobrenadantes de cultivo que se revisaron durante el análisis presentado en el Capítulo 1 [188,234,235]. La revisión mediante blastp del péptido identificado muestra que presenta 100% de identidad de secuencia con una cepa única entre las micobacterias anotadas, por lo que podría tratarse de un error de anotación. Adicionalmente, en relación a la especificidad de la identificación, este péptido no muestra homología importante con péptidos derivados del proteoma de *Homo sapiens*.

En resumen, por medio de la estrategia de enriquecimiento por medio de resinas de afinidad y de la presentada en la sección anterior, se analizaron en total 43 spots o bandas a partir de geles teñidos con plata. Además de las 2 proteínas que podrían potencialmente derivar del patógeno, mayoritariamente se identificaron proteínas derivadas de *Homo sapiens*, principalmente inmunoglobulinas, ubiquitina y albúmina humana, así como algunas proteínas interesantes que presentamos en la Tabla 13. Este resultado valida la estrategia de electroforesis y MS utilizada, pero plantea un desafío experimental en relación a la búsqueda de proteínas de muy baja representación en muestras clínicas ya que, a pesar de las estrategias de purificación desarrolladas, identificamos mayoritariamente proteínas humanas relativamente abundantes.

Tabla 13. Principales proteínas identificadas en las muestras de orina de pacientes con TB pulmonar.

Proteína	PM (Da)	Gen	*Score* MS	Cobertura (%)	Función
Beta-2 microglobulina [*H. sapiens*]	13688	B2M	72*	24	Componente del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I. Involucrado en la presentación de antígenos al sistema inmune.
Mannose binding lectin-associated serine protease-2 related protein, Map19 [*H. sapiens*]	19492	MASP-2	279** 234** 262**	32 24 32	Proteasa sérica que juega un rol clave en la activación del sistema de complemento por vía de unión a manosa.
Human Complement Regulatory Protein Cd59 [*H. sapiens*]	8955	CD39	295** 115**	77 59	Proteína de unión al complemento que inhibe la lisis mediada por complemento.
Cold-shock protein [*Mycobacterium*, multispecies]	7349	cspA Rv3648c	69*	52	Chaperona de ARN que se induce a bajas temperaturas. Fue identificada en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv usando espectrometría de masas [189,235].
Transposase [*Mycobacterium* sp]	46463	Rv0922	61***	6[(i)]	Requerida para la transposición del elemento de inserción IS1535. Identificada por espectrometría de masas en pulmones de cobayos infectados con *M. tuberculosis* H37Rv al día 30 post-infección [329].

Notas de la tabla: Las proteínas fueron identificadas utilizando el motor de búsqueda Mascot Database Search, en la modalidad Sequence Query (Matrix Science). Con fondo blanco se muestran las proteínas derivadas del hospedero y con fondo gris las proteínas derivadas potencialmente de *M. tuberculosis*.

* En esta búsqueda un *Score* mayor a 67 es considerado significado.

** En esta búsqueda un *score* mayor a 92 es considerado significativo.

*** Peptide summary, un *score* mayor a 50 es considerado significativo.

[(i)] La identificación corresponde a un único péptido.

Detección de biomarcadores en orina mediante metodologías basadas en ELISA

Con el propósito de analizar las muestras de orina disponibles, incluyendo las muestras independientes de los pacientes y voluntarios, empleamos las diferentes metodologías de ELISA que pusieron a punto en el Capítulo 2. En relación a los controles negativos, analizamos 9 muestras de orina concentrada de individuos sin diagnóstico de TB, correspondientes a 2 muestras independientes de 3 de los voluntarios sanos, 2 muestras independientes de la muestra orTB8 y 1 muestra del restante voluntario sano. Para los pacientes con diagnóstico de TB pulmonar analizamos en total 13 muestras, que incluyeron 2 muestras independientes de los pacientes identificados como orTB1, orTB2, orTB3, orTB4, orTB5 y orTB7, y además la muestra disponible del paciente orTB6.

En todos los experimentos realizados incluimos la curva de calibración de estándar de TB y al menos un control de recuperación (*spike*) para evaluar si existe inhibición del reconocimiento de los anticuerpos por los componentes presentes en la muestra. Este control se preparó agregando una cantidad conocida del punto de la curva (estándar de TB) correspondiente a 1000 ng/mL a una de las muestras negativas. Es importante destacar que es una concentración relativamente alta del estándar, bastante superior al límite de detección determinado para los distintos ensayos. Esta concentración fue seleccionada por estar en la zona lineal de las diferentes curvas de calibración.

En el caso del ELISA sándwich tuvimos un % de recuperación del *spike* del entorno de 4 a 5%, a pesar de ensayar diferentes ajustes de las condiciones utilizadas. Por otro lado, los valores de absorbancia que mostraron todas las muestras, tanto positivas como negativas fueron similares o incluso inferiores al valor del blanco, habiéndose ensayado concentraciones de las muestras entre 8 y 100 µg/mL (resultados que no se muestran). La falta de respuesta en las muestras ensayadas podría indicar que las mismas no contienen antígenos de MTB. Sin embargo, la casi nula recuperación del *spike* de 1000 ng/mL de concentración indica que, a pesar de que tuvimos un comportamiento dosis – respuesta esperado para el estándar de TB en todas las curvas ensayadas con buffer (ver Figura 50 y Figura 51), los componentes presentes en las muestras inhibirían el reconocimiento de los antígenos por parte de los anticuerpos utilizados, al menos en este formato de ELISA. Este bajo valor de recuperación indica que existen diferencias entre la matriz de la muestra y el diluyente del estándar que afectan la respuesta en la señal [330], y aunque se ensayaron diferentes diluyentes, no logramos mejorar el % de recuperación del *spike* obtenido con este ensayo.

En el formato de ELISA directo se sensibilizaron los pocillos con todas las muestras de orina disponibles y se ensayaron diferentes concentraciones de proteínas en la sensibilización (entre 8 y 20 µg/mL) y diferentes diluciones del anti-TB biotinilado depletado contra proteínas de *E. coli*. Los valores de recuperación del *spike* estuvieron en este caso entre 50 y 70%, mejores que en el caso del ELISA sándwich, pero alejados del 100% teórico esperado. Además, en este caso los valores de Abs_{450nm} de las muestras positivas y negativas fueron en todos los casos superiores al blanco. Se determinó el valor *cut-off* de Abs_{450nm}, como el promedio más 3 desviaciones estándar de las absorbancias de los 9 controles negativos utilizados en el ensayo. Las muestras

que mostraban valores superiores a ese límite se consideraron positivas. Se realizaron varios ensayos y 2 de ellos se muestran en la Figura 65. En el caso del experimento resumido en la Figura 65, paneles A y B, se determinó que las 2 muestras de orTB2 son positivas y la muestra que le sigue en cuanto al valor de absorbancia fue una de las derivadas del paciente orTB4. La recuperación del *spike* en este caso fue del 68.6%. En el caso del experimento resumido en la Figura 65, paneles C y D, se determinó que las muestras positivas eran las mismas 2 muestras del paciente orTB2 y una de las muestras del paciente orTB4. En este caso, la segunda muestra de este paciente fue la siguiente muestra en relación al valor de absorbancia, y el % de recuperación del *spike* de 58.0%. En los distintos ensayos realizados estas 2 muestras fueron las únicas que se determinaron como positivas según los criterios establecidos, mientras que los valores de absorbancia de las restantes 5 muestras de pacientes con TB pulmonar no presentaron valores de Abs_{450nm} superiores al valor de *cut-off* establecido.

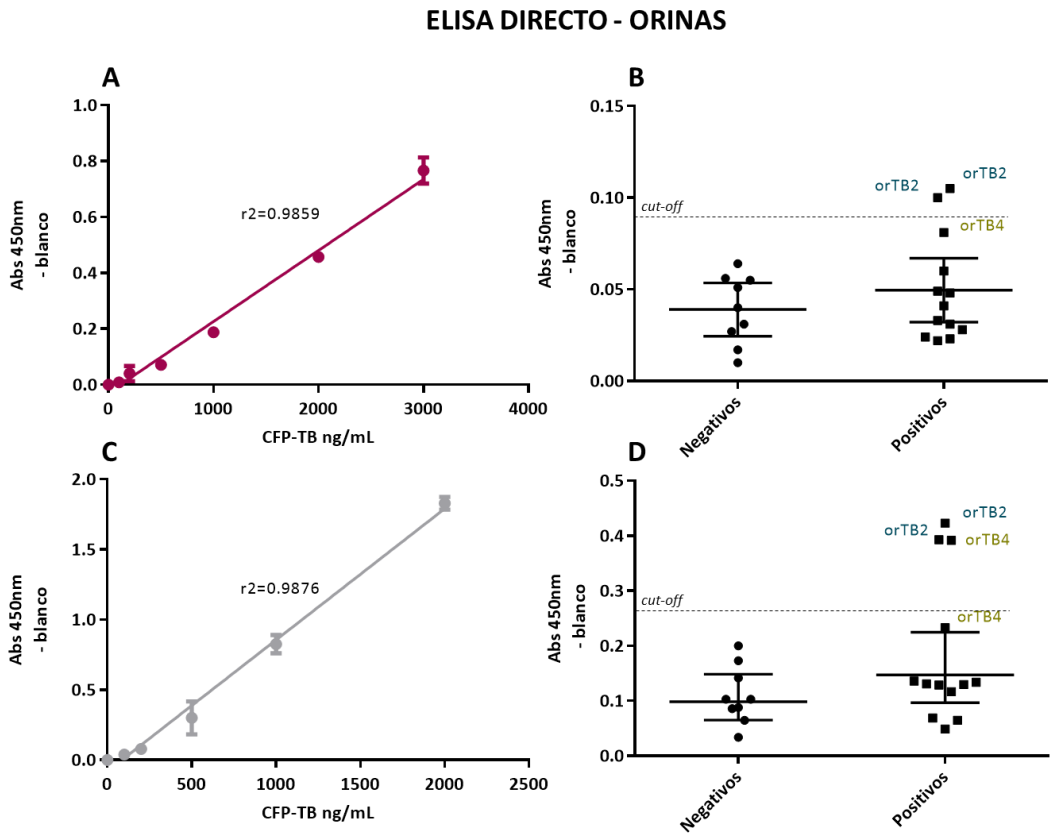


Figura 65. Evaluación de las muestras de orinas por medio de ELISA directo
Experimento 1 (paneles A y B) Muestras sembradas a 8 µg/mL, anti-TB biotinilado depletado 1500 ng/mL**.** **A:** Curva de calibración. Concentración de antígeno (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 0, 100, 200, 500, 1000, 2000 y 3000 ng/mL (por triplicado). **B:** Valor promedio de Abs_{450nm} de las muestras analizadas, cada una por triplicado. **Experimento 2 (paneles C y D)** Muestras sembradas a 8 µg/mL, anti-TB biotinilado depletado 2000 ng/mL. **A:** Curva de calibración. Concentración de antígeno (estándar de TB) en los puntos de la curva de calibración 0, 100, 200, 500, 1000 y 2000 (por triplicado). **B:** Valor promedio de Abs_{450nm} de las muestras analizadas, cada una por triplicado.

Finalmente, se ensayó el ELISA competitivo con 6 muestras, 3 positivas (orTB1, orTB2 y orTB4) y 3 muestras negativas (orTB8 y dos voluntarios sanos). Además, se realizó el control de recuperación del *spike* como se describió previamente. En este caso, el % de recuperación dio en las 2 pruebas realizadas 117.0 y 117.9%. Este valor, que se considera en un rango aceptable

si se encuentra entre 80 y 120% [330], indica que en este ensayo los componentes presentes en las muestras de orina no interfieren con la señal obtenida. Sin embargo, en este caso no logramos ver diferencias de Abs_{450nm} entre las muestras positivas y negativas ensayadas, mostrando todas ellas valores menores al blanco, lo esperado en este caso, pero muy similares entre sí (resultados que no se muestran). Una explicación que manejamos para este resultado es la posibilidad de que en el caso de las muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar haya anticuerpos contra los antígenos de MTB, que reconozcan a los antígenos presentes en las muestras o los utilizados para sensibilizar la placa, los que alterarían el reconocimiento en solución de estos antígenos por el anti-TB biotinilado.

Para probar si hay anticuerpos anti-MTB en las muestras de orina concentradas se puso a punto una metodología de ELISA indirecto. En este caso se sensibilizaron los pocillos con el antígeno del CFP de *M. tuberculosis* y se ensayaron diferentes muestras positivas y negativas a la misma concentración. De esta forma verificamos que tanto la muestra orTB1 como la muestra orTB2 tendrían un nivel de anticuerpos mayor al *cut-off* (Figura 66). Este resultado muestra que se pueden detectar anticuerpos anti-MTB en las muestras de orina concentrada y que, como proponíamos previamente, su presencia quizás podría estar interfiriendo en los resultados observados en el ELISA competitivo. Adicionalmente, los resultados observados para orTB1 y orTB2 que se repitieron en otros dos experimentos adicionales, son promisorios en cuanto a su utilidad diagnóstica, pero también es importante destacar que hay otras 4 muestras de orina de pacientes con TB pulmonar confirmada que no muestran anticuerpos anti-MTB. Se plantea que sería interesante intentar optimizar este ensayo y analizar otras muestras clínicas de pacientes con TB pulmonar y/o extrapulmonar.

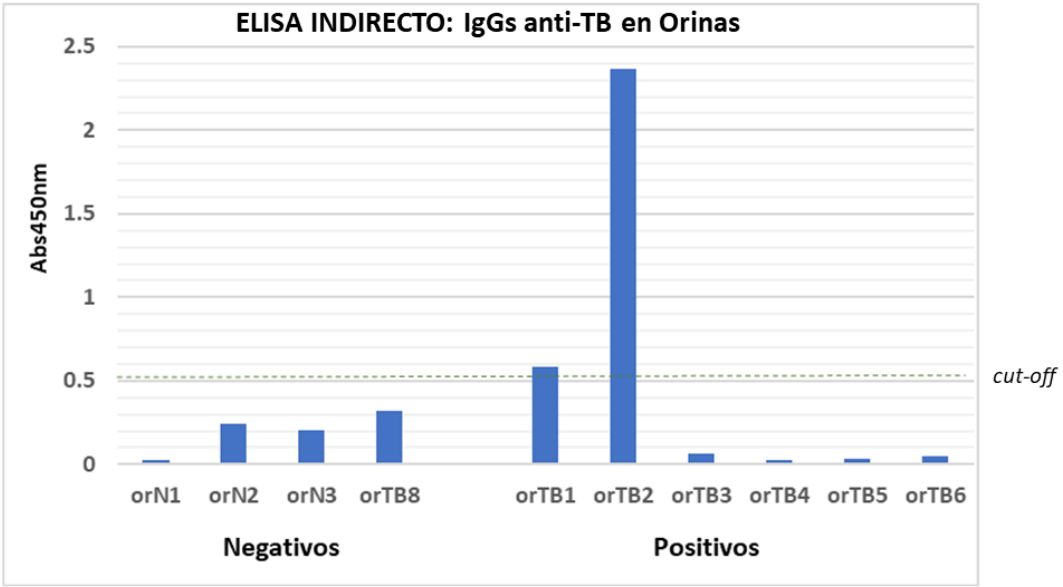


Figura 66. Evaluación de la presencia de anticuerpos contra *M. tuberculosis* en las muestras de orina
Se analizaron las muestras a 2 µg/mL. Se calculó el valor *cut-off* de Abs_{450nm} como el promedio más 3 desviaciones estándar de las absorbancias de los controles negativos.

En resumen, en esta sección hemos probado los distintos métodos de ELISA con las muestras de orina disponibles y en algunos casos se ensayaron 2 muestras independientes por paciente. El ELISA de captura no mostró un valor de recuperación del *spike* aceptable y tampoco mostró

valores detectables de Abs_{450nm} para las distintas muestras ensayadas. Como se comentó previamente este ensayo mostró señales altas del blanco, pero pese a haberse ensayado diferentes soluciones de bloqueo, así como varios aditivos para la dilución de las muestras y del anti-TB biotinilado, no conseguimos mejorar la relación señal/ruido. Debido a la baja recuperación del *spike*, postulamos que la matriz genera una importante interferencia en este ensayo, lo que a su vez es probable que genere un aumento del límite de detección determinado previamente. Este aumento en el LOD no es deseable ya que se debe alcanzar una alta sensibilidad analítica, para poder detectar muy bajas concentraciones de antígenos circulantes. En el caso del ELISA directo, por su parte, la recuperación del *spike* mostró un valor más alto, generalmente superior al 50%, y logramos evidenciar algunas diferencias entre las muestras positivas y negativas, siendo clasificadas como positivas orTB2 y orTB4 en los diferentes ensayos realizados. Finalmente, el ELISA competitivo mostró resultados aceptables para el valor de recuperación del *spike*, pero valores muy similares de Abs_{450nm} entre las muestras positivas y negativas. En este caso postulamos que quizás las muestras contengan anticuerpos que podrían interferir con el ensayo competitivo. Además, como habíamos descrito durante la puesta a punto, este método de ELISA mostró resultados que cuestionaron su factibilidad para el análisis planteado, como la falta de reconocimiento de los antígenos recombinantes ensayados (Figura 58). Estos resultados, que se explican seguramente debido al carácter poliespecífico del anticuerpo de detección, sumados al bajo desempeño exhibido con las muestras de orina ensayadas, apoyan que este formato no sería apropiado para el análisis de este tipo de muestras.

Finalmente, por medio de un ELISA indirecto observamos que en dos de las muestras de orina disponibles habría anticuerpos contra los antígenos de MTB, lo que constituye un resultado interesante. Sin embargo, consideramos que es necesario disponer de nuevas muestras para confirmar los resultados obtenidos. En particular, para la optimización del ELISA de detección de anticuerpos sería de mayor utilidad disponer de sueros de estos pacientes, ya que en dicha muestra los anticuerpos que reconozcan el antígeno CFP estarían en mayor concentración.

Búsqueda de proteínas derivadas de M. tuberculosis por LC MS/MS

De forma de aumentar el número de proteínas identificadas y lograr una aproximación comparativa cuali-cuantitativa de las muestras de orina, focalizada tanto en proteínas derivadas del *M. tuberculosis* como del paciente, realizamos una evaluación basada en LC MS/MS de las 6 muestras de orina de pacientes con TB pulmonar confirmada y de 4 muestras de orina de individuos sin TB pulmonar.

Preparación y control de calidad de las muestras para LC MS/MS

Las muestras seleccionadas se purificaron por medio de la utilización de concentradores de centrífuga de 50 kDa de corte, de manera de eliminar mayoritariamente proteínas de alto peso molecular abundantes en orina como la albúmina (66 kDa), las inmunoglobulinas (150 kDa) y la uromodulina (85 kDa). Dado que la distribución de peso molecular de las proteínas del sobrenadante de cultivo de MTB muestra que la mayoría presenta un peso molecular menor a 50 kDa (Figura 20), buscamos enriquecer las muestras en proteínas de bajo peso molecular para priorizar la identificación de proteínas derivadas de *M. tuberculosis*. Las muestras preparadas de esta manera se cuantificaron de forma de lograr inyecciones en el equipo de al menos 4.5 µg de

proteínas por corrida. En el proceso de purificación por medio de concentrador de centrífuga (Figura 67A) se ve que en el concentrado del dispositivo de 50 kDa (C1) la mayoría de las proteínas son mayores a 30-40 kDa y en el eluido concentrado (C2) menores a 30 kDa. En el gel de la Figura 67B se analizaron las muestras preparadas de esta manera, evidenciándose que hay algunas muestras (como orTB8) que presenta cierta degradación. De esta muestra se realizaron 2 preparaciones independientes que mostraron resultados muy similares, seleccionándose la muestra identificada en la figura como TB8b para el análisis por LC MS/MS.

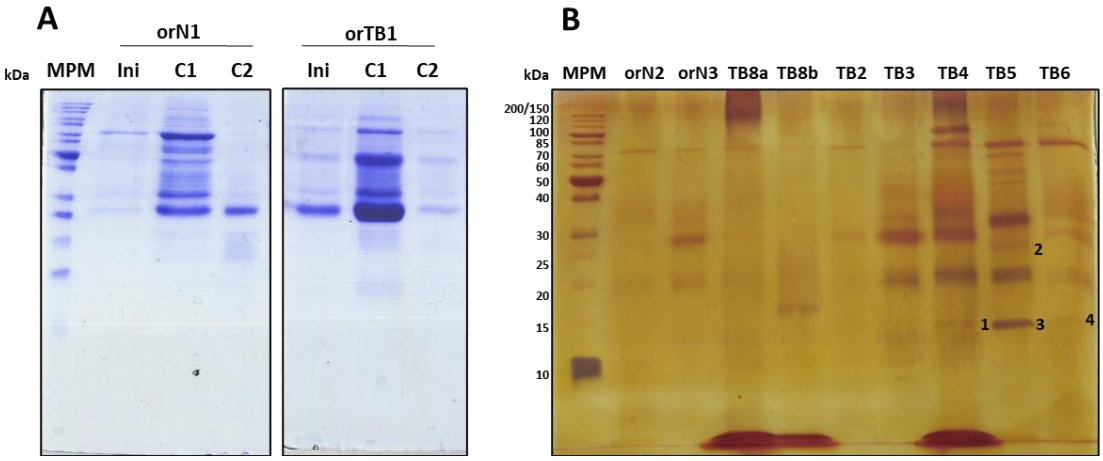


Figura 67. Purificación de las muestras de orina para análisis por LC MS/MS.
A) SDS-PAGE 15%, tinción con Coomassie. Se muestra el proceso de purificación para las muestras orN1 y orTB1 (Ini: muestra inicial, C1: concentrado con dispositivo de 50 kDa de corte, C2: *flowthrough* de la primera ronda de concentración, concentrado por dispositivo de 3 kDa de corte. **B)** SDS-PAGE 15%, tinción con nitrato de plata de la fracción C2 del resto de las muestras procesadas. Se sembraron en todos los casos 20 µL de muestra por carril. Se indican con números las bandas seleccionadas para analizar por espectrometría de masas MALDI-TOF. MPM: PM: Marcador de peso molecular (Thermo Scientific, Cód. 26614).

Adicionalmente, se analizaron por espectrometría algunas bandas que se identifican en la Figura 67B. Las proteínas identificadas (en algunos casos más de una proteína por banda) son todas de *Homo sapiens* y presentan un peso molecular consistente con el peso molecular aparente de la banda de la cual derivan (Tabla 14).

Tabla 14. Proteínas identificadas en las muestras de orina preparadas para LC MS/MS.

Banda	Locus	Peso molecular (Da)	*Score*	Proteína
1	NP_002954.2	11464	96	protein S100-A7 [Homo sapiens]
	NP_789793.1	11298	76	protein S100-A7A [Homo sapiens]
2	NP_000945.3	21015	79	prostaglandin-H2 D-isomerase precursor [Homo sapiens]
	NP_001624.1	38974	67	protein AMBP preproprotein [Homo sapiens]
3	NP_005204.1	11000	174	cystatin-A [Homo sapiens]
	NP_002954.2	11464	158	protein S100-A7 [Homo sapiens]
	NP_789793.1	11298	73	protein S100-A7A [Homo sapiens]
4	NP_002954.2	11464	80	protein S100-A7 [Homo sapiens]

Notas: En esta búsqueda un *score* mayor a 67 se considera significativo

Nos interesa realizar algunos comentarios en relación a las proteínas identificadas por MALDI-TOF, presentadas en la Tabla 14. La preproproteína precursora AMBP es clivada

proteolíticamente en proteínas con diferentes funciones: la alfa-microglobulina y dos inhibidores de tripsina: de cadena liviana inter-alfa y tripstatin [226]. La proteína alfa-microglobulina, que había sido identificada también en la orina de voluntarios sanos (Figura 40), une y degrada al grupo hemo y a los radicales libres liberados de la hemoglobina extracelular y los dirige a los riñones [331]. El resto de las proteínas identificadas en este análisis no las habíamos detectado previamente.

En particular, es interesante mencionar que en las bandas 1, 3 y 4, correspondientes a las muestras orTB4, orTB5 y orTB6, respectivamente, se detecta la proteína de unión a calcio S100-A7 (denominada también psoriasina). En las bandas 1 y 3 se detecta a la proteína relacionada S100-A7A, también llamada S100-A15 o koebnerisina. Como ambas proteínas son muy similares, verificamos que detectamos un péptido, ubicado entre los aminoácidos 51 y 61, que permite la identificación diferencial de las mismas (Figura 68). Estas 2 proteínas son codificadas por genes que mapean en el *cluster* de genes S100 localizado en el complejo de diferenciación epidérmica (cromosoma 1q21) [332]. Se trata de proteínas con actividad antimicrobiana, que constituyen la defensa inmune natural contra un amplio espectro de patógenos [333] y se han visto expresadas de forma constitutiva en la epidermis y sobre-expresadas en el caso de lesiones o inflamación de la piel como la psoriasis [332,334].

```
NP_002954.2_protein_S100-A7       MSNTQAERSIIGMIDMFHKYTRRDDKIEKPSLLTMMKENFPNFLSACDKKGTNYLADVFE 60
NP_789793.1_protein_S100-A7A      MSNTQAERSIIGMIDMFHKYTGRDGKIEKPSLLTMMKENFPNFLSACDKKGIHYLATVFE 60
                                  ******************** **.************************ :*** ***

NP_002954.2_protein_S100-A7       KKDKNEDKKIDFSEFLSLLGDIATDYHKQSHGAAPCSGGSQ  101
NP_789793.1_protein_S100-A7A      KKDKNEDKKIDFSEFLSLLGDIAADYHKQSHGAAPCSGGSQ  101
                                  **********************:*****************
```

Figura 68. Alineamiento de las secuencias de las proteínas S100-A7 y S100-A7A.
Se muestran las secuencias de ambas proteínas alineadas mediante la herramienta Clustal Omega [335], así como los diferentes péptidos que se utilizan para la identificación significativa en el motor de búsqueda Mascot Database Search (Matrix Science). Cada péptido diferente identificado se resalta con un color particular, mientras que en color negro se muestran las secuencias no identificadas. El péptido diferencial ubicado entre el aminoácido 51 y el 61 se identifica en ambas proteínas.

<u>Análisis proteómico por medio de LC MS/MS</u>

Las 10 muestras de orina enriquecidas en proteínas de bajo peso molecular fueron analizadas por medio de la estrategia proteómica de *shotgun* y al finalizar la corrida se procesaron los espectros utilizando la base de datos de proteínas totales de *M. tuberculosis* y *H. sapiens*. Las listas de proteínas se filtraron siguiendo el criterio de obtener una tasa de FDR menor al 1%. En este primer análisis permitimos la identificación de proteínas por medio de la presencia de un solo péptido único. Las proteínas obtenidas en cada muestra se agruparon según el criterio de máxima parsimonia, obteniéndose en el análisis los valores de espectros, péptidos, proteínas y proteínas según máxima parsimonia que se resumen en la Tabla 15. Como puede verse el número de proteínas identificadas es similar en todas las muestras, salvo para el caso de la muestra orTB8, que además presenta un FDR mayor al 1%. Esta muestra, como vimos antes,

presentó una importante degradación proteica a nivel del análisis electroforético, lo que podría explicar el bajo número de identificaciones obtenidas (Figura 67B).

Tabla 15. Análisis de espectros, péptidos y proteínas obtenidas en las muestras de orina por LC MS/MS.

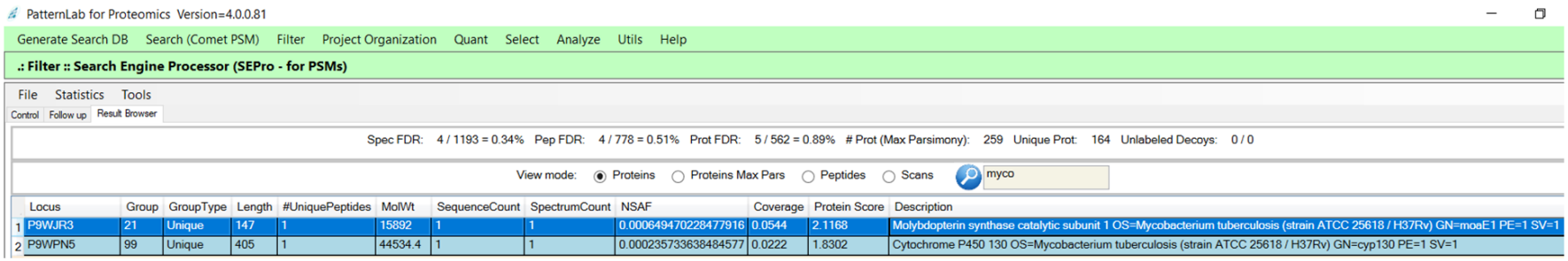
Grupo	Archivo	Espectros (FDR%)	Péptidos únicos	Pep (FDR %)	Prot (FDR %)	Proteínas MP
Controles	orN1.sepr	5 / 1161 = 0.43%	440	6 / 837 = 0.72%	4 / 624 = 0.64%	254
	orN2.sepr	2 / 545 = 0.37%	173	2 / 404 = 0.5%	4 / 403 = 0.99%	151
	orN3.sepr	1 / 1374 = 0.07%	416	6 / 894 = 0.67%	1 / 580 = 0.17%	260
	orTB8.sepr	1 / 189 = 0.53%	95	2 / 153 = 1.31%	2 / 119 = 1.68%	60
Pacientes	orTB1.sepr	1 / 692 = 0.14%	212	2 / 418 = 0.48%	1 / 320 = 0.31%	131
	orTB2.sepr	4 / 997 = 0.4%	311	4 / 679 = 0.59%	5 / 560 = 0.89%	226
	orTB3.sepr	4 / 732 = 0.55%	222	4 / 477 = 0.84%	3 / 355 = 0.85%	159
	orTB4.sepr	4 / 1193 = 0.34%	430	4 / 778 = 0.51%	5 / 562 = 0.89%	259
	orTB5.sepr	1 / 1014 = 0.1%	372	2 / 844 = 0.24%	1 / 438 = 0.23%	204
	orTB6.sepr	4 / 1040 = 0.38%	328	6 / 700 = 0.86%	4 / 557 = 0.72%	229

Notas de la tabla: En la columna espectros, Pep (péptidos) y Prot (proteínas) se muestra el número de identificaciones falsas (en secuencias reversas de la base de datos) y el número total, con los que se calcula el valor del FDR %. Proteínas MP se refiere al número de proteínas agrupadas según máxima parsimonia.

En el análisis de las proteínas de todas las muestras detectamos 2 péptidos derivados de M. tuberculosis (cepa ATCC 25618/H37Rv) en la orina identificada como orTB4 con un FDR de 0.89% (Figura 69). En este caso identificamos un péptido único derivado de la proteína del Citocromo P450 130 (cyp130, Rv1526c) de 44.6 kDa (Figura 69B) y un péptido único de la proteína Molibdopterina sintasa subunidad catalítica 1 (moaE1, Rv3119) de 15.9 kDa (Figura 69B). En el resto de las muestras de pacientes con TB pulmonar confirmada y de voluntarios sanos no identificamos péptidos derivados de M. tuberculosis por medio de esta estrategia. Se realizó un alineamiento del péptido LLLYGSANR del Citocromo Cyp130, por medio de blastP, que permitió establecer que la identidad de secuencia es 100% para dicha proteína en diferentes especies del género Mycobacterium, incluyendo MTBC, NTM, así como otras Actinobacterias relacionadas como Mycobacteroides, Mycolicibacterium y Rhodoccoccus (Anexo 16). En el caso del péptido AEAFDAAR de la proteína MoaE1 también los hits idénticos se dan principalmente con proteínas del género Mycobacterium y en particular pertenecientes al MTBC, aunque aparecen otras bacterias e incluso eucariotas que presentan proteínas con una secuencia idéntica (Anexo 16). De cualquier manera, se trata de algunos hits aislados y no corresponden en ninguno de los dos casos a proteínas humanas. Los alineamientos también se realizaron restringiendo la búsqueda al organismo *E. coli* (taxid:562) verificando que no hay hits que muestren identidad de secuencia.

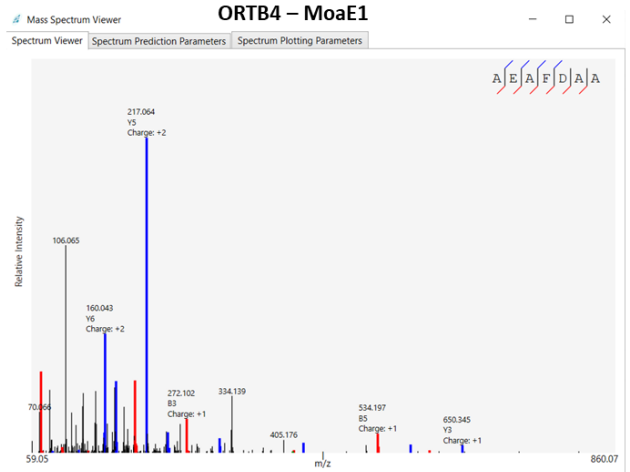
Para verificar estos hallazgos la muestra orTB4 se analizó en 2 réplicas técnicas independientes siguiendo la misma metodología de análisis y utilizando el doble de cantidad de proteína. En primer lugar, en el análisis de espectros, proteínas y péptidos vemos que en estas 2 réplicas adicionales logramos un mayor número de identificaciones, lo que sería esperable dada la mayor cantidad de muestra utilizada (Tabla 16). Las 3 réplicas mostraron una alta proporción de proteínas compartidas (Figura 70). En relación a las proteínas de *M. tuberculosis* presentes en las 3 réplicas, logramos identificar el péptido de la proteína Citocromo Cyp130 en todas ellas, mientras que en el Réplica 2 identificamos un péptido de la proteína ADN polimerasa IV 2 de *M. tuberculosis* (dinB2, Rv3056) de 37.6 kDa (Figura 71).

A

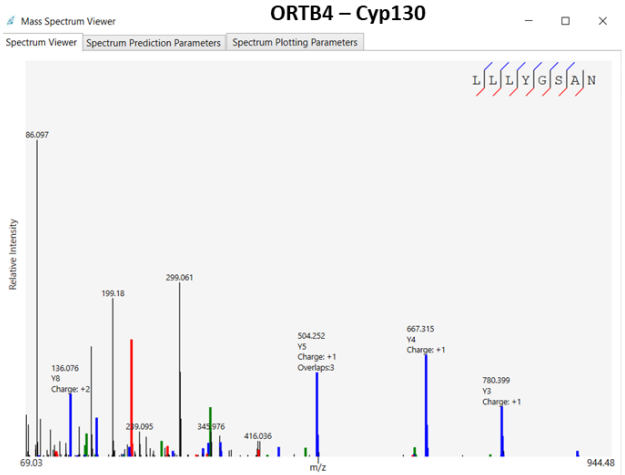


	Locus	Group	GroupType	Length	#UniquePeptides	MolWt	SequenceCount	SpectrumCount	NSAF	Coverage	Protein Score	Description
1	P9WJR3	21	Unique	147	1	15892	1	1	0.000649470228477916	0.0544	2.1168	Molybdopterin synthase catalytic subunit 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaE1 PE=1 SV=1
2	P9WPN5	99	Unique	405	1	44534.4	1	1	0.000235733638484577	0.0222	1.8302	Cytochrome P450 130 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cyp130 PE=1 SV=1

B



C



D

FileWithScanNoAndCharge	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
170403_Paula_Tucci_Tb4.sqt.11540.11540.2	True	850.408068	850.405358	3.18671	2.1168	1.2801341652915	0.1628	12	0.32347	R.AEAFDAAR.M

E

FileWithScanNoAndCharge	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
170403_Paula_Tucci_Tb4.sqt.7717.7717.2	True	1006.566316	1006.568006	-1.67898	1.8302	2.28278246569787	0.2772	12	0.21458	V.LLLYGSANR.D

Figura 69. Péptidos de *M. tuberculosis* identificados en la muestra orTB4.

A) Pantalla de la interfase SEPro donde se visualizan ambas proteínas identificadas a partir de 1 péptido único cada una. **B)** Visualización del espectro del péptido de la proteína MoaE1. **C)** Visualización del espectro del péptido de la proteína Cyp130. **D)** Secuencia y parámetros del péptido de la proteína MoaE1. **E)** Secuencia y parámetros del péptido de la proteína Cyp130.

Tabla 16. Análisis de espectros, péptidos y proteínas obtenidas en las muestras orTB4 por LC MS/MS.

Identificación	Archivo	Espectros (FDR %)	Pep (FDR %)	Prot (FDR %)	Proteínas MP
Replica 1	Replica 1.sepr	4 / 1193 = 0.34%	4 / 778 = 0.51%	5 / 562 = 0.89%	259
Replica 2	Replica 2.sepr	4 / 2290 = 0.17%	4 / 1549 = 0.26%	7 / 793 = 0.88%	384
Replica 3	Replica 3.sepr	7 / 2291 = 0.31%	7 / 1564 = 0.45%	7 / 791 = 0.88%	383

Notas de la tabla: En la columna espectros, Pep (péptidos) y Prot (proteínas) se muestra el número de identificaciones falsas (en secuencias reversas de la base de datos) y el número total con los que se calcula el valor del FDR %. Proteínas MP se refiere al número de proteínas agrupadas según máxima parsimonia.

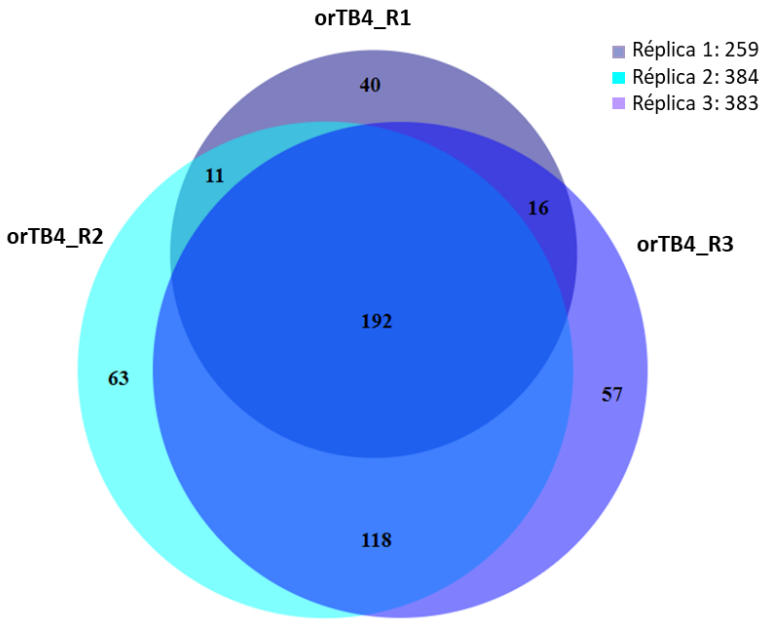


Figura 70. Comparación de las proteínas identificadas en las 3 réplicas de orTB4

Análisis comparativo de las proteínas identificadas en cada réplica de la muestra orTB4 por medio de Diagrama de Venn de áreas proporcionales (BioVenn, [225]).

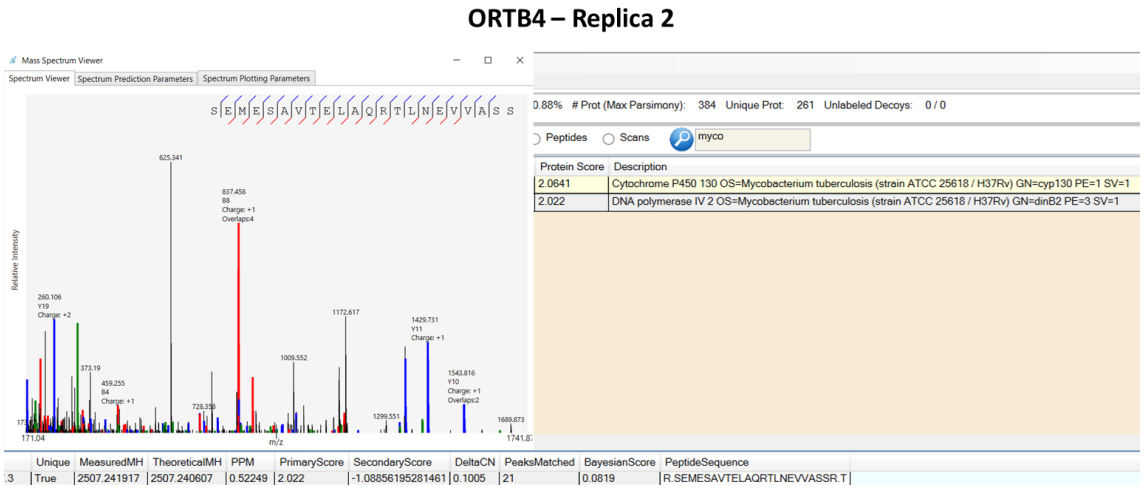


Figura 71. Péptidos de dinB2 de *M. tuberculosis* identificado en la muestra orTB4, réplica 2.

Pantalla de la interfase SEPro donde se visualizan las 2 proteínas de *M. tuberculosis* identificadas en orTB4, réplica 2 (dinB2 y cyp130) y visualización del espectro del péptido de la ADN polimerasa IV 2 (dinB2).

Se realizó un alineamiento del péptido SEMESAVTELAQRTLNEVVASSR de la ADN polimerasa IV 2 utilizando blastP, y se verificó que la identidad de secuencia es 100% para ADN polimerasa IV en diferentes especies del complejo de MTB y luego hay algunos hits con menores identidad de secuencia para otras Micobacterias y una especie del género Mycolicibacterium (Anexo 16). En este caso tampoco hay hits contra proteínas humanas. Como en los casos anteriores, los alineamientos en blastP restringiendo la búsqueda al organismo *E. coli* (taxid:562) no mostraron hits con identidad de secuencia del 100%.

El resumen de las 3 proteínas de *M. tuberculosis* identificadas en la muestra orTB4 por medio de esta estrategia se muestra en la Tabla 17. Es interesante mencionar que la presencia de péptidos derivados de Cyp130, MoaE1 o DinB2 no ha sido reportada previamente en muestras clínicas de pacientes con TB activa [336]. De estas proteínas solamente MoaE1 fue detectada en el sobrenadante de cultivo de MTB preparado por nosotros (en el lugar #688 en relación al orden abundancia) y esta misma proteína ha sido detectada en otros estudios proteómicos en el sobrenadante de cultivo [235] y en extractos celulares de MTB [234,279].

Tabla 17. Resumen de las proteínas de *M. tuberculosis* identificadas en la muestra orTB4 por LC MS/MS.

Uniprot	Réplica	Descripción	Función
P9WPN5	Replica 1 Replica 2 Replica 3	Citocromo P450 130 (cyp130, Rv1526c) *M. tuberculosis* (ATCC 25618 / H37Rv)	Pertenece a grupo de proteínas del Citocromo P450. Oxidan variedad de compuestos como esteroides, ácidos grasos, xenobióticos. Potencial blanco para el desarrollo de drogas. Ausente en cepas de *M. bovis* y *M. bovis* BCG.
P9WJR3	Replica 1	Molibdopterina sintasa subunidad catalítica 1 (moaE1, Rv3119) *M. tuberculosis* (ATCC 25618 / H37Rv)	Probable proteína involucrada en la biosíntesis del cofactor molibdeno. Identificado en CFP [235] y en extractos de proteínas totales de *M. tuberculosis* [234,279].
P9WNT1	Replica 2	ADN polimerasa IV 2 (dinB2, Rv3056) *M. tuberculosis* (ATCC 25618 / H37Rv)	Posible proteína inducida por el daño al ADN. Identificada en la fracción citosólica y en membrana celular por espectrometría de masas [337].

Como se ve en la Tabla 17, un péptido derivado de Cyp130, fue detectado en las 3 réplicas de esta muestra. CYP130 es una de las 20 enzimas del citocromo P450 de MTB y está clasificada funcionalmente como perteneciente al metabolismo intermediario y respiración [187]. Esta proteína, alojada en la región de diferenciación RD10 (según la nomenclatura de Behr [23]), no está presente en las cepas virulentas de *M. bovis*, ni en su contraparte no virulenta *M. bovis* BCG [338]. Esto sugiere que no sería esencial para el crecimiento de la bacteria, pero podría ser relevante para la virulencia y la infectividad en el hospedero humano [339]. Por otro lado, los resultados relacionados con el perfil de citoquinas secretados en respuesta a la exposición a péptidos sintéticos cubriendo las secuencias de la región RD10, sugieren que estos genes podrían mediar la protección contra MTB y por lo tanto podrían ser útiles en la búsqueda de nuevos candidatos vacunales [340].

La proteína MoaE1 identificada por nosotros, pertenece a la categoría metabolismo intermediario y respiración [187]. Encontramos como antecedente el hecho de que otra proteína de la misma familia, la proteína involucrada en la biosíntesis de molibdopterina MoeX

(Rv1681), fue identificada por espectrometría de masas en orina de paciente con tuberculosis activa [180]. Ambas proteínas intervienen en la vía de biosíntesis del cofactor molibdeno (MoCo), una molécula de pterina tricíclica que se une covalentemente al molibdato y es sintetizada *de novo* en MTB [341]. Este cofactor permite que diferentes molibdoenzimas aprovechen las propiedades redox del molibdeno para catalizar reacciones redox del metabolismo del carbono, nitrógeno y azufre, que podrían ser importantes para el crecimiento intracelular, la persistencia y la virulencia de MTB [341].

Finalmente, la ADN polimerasa IV, cuyo gen recibe el nombre de dinB2 o dinP y está ubicado en el locus Rv3056, pertenece a la familia Y de ADN polimerasas y está clasificada funcionalmente como relacionada a las vías de información [187]. Es una proteína ortóloga de la proteína DinP de *E. coli*, relacionada con la reparación del ADN. Se piensa que está involucrada en el metabolismo del ADN y en proteger a la bacteria frente a procesos de mutagénesis inducidos por daño del ADN. De esta manera se han realizado ensayos que muestran que DinB2 podría ayudar en la sobrevivencia de MTB en condiciones de deficiencia de dTTP y tener un rol en la resistencia de las células micobacterianas a las drogas que generan daño al ADN [342], como por ejemplo la isoniacida [343,344]. Previamente fue identificada en el citosol y en la fracción de membrana de *M. tuberculosis* H37Rv [337].

Por lo tanto, podemos concluir que en la orina orTB4 fuimos capaces de detectar 3 péptidos derivados de proteínas de MTB. Coincide con estos hallazgos, el hecho de que por medio de ELISA directo habíamos obtenido para esta muestra una señal que clasificamos como positiva, indicativa de que podría contener antígenos derivados del patógeno. Sin embargo, en el resto de las muestras no detectamos péptidos derivados de MTB, lo que resultó algo no esperado sobre todo en el caso de orTB2, donde habíamos logrado identificar 2 péptidos por medio de MALDI-TOF y además también había sido clasificada como positiva por medio del ELISA directo. Una posible explicación a estos resultados, es que el proceso de preparación de las muestras, utilizado para el enriquecimiento en proteínas de peso molecular menor a 50 kDa, podría haber generado una pérdida de algunas de las proteínas y antígenos, que fuimos previamente capaces de detectar por medio de otras técnicas.

Análisis de las proteínas derivadas del paciente identificadas por LC MS/MS

Como paso siguiente se realizó una evaluación de las proteínas derivadas del paciente en los datos obtenidos por medio de LC MS/MS. En este caso el objetivo fue buscar diferencias a nivel de las principales proteínas recuperadas en cada muestra y comparar las proteínas presentes en las muestras derivadas de pacientes en relación a las presentes en las muestras controles incluyendo la evaluación de su nivel de expresión. En este caso los resultados de las 10 muestras de orina enriquecidas en proteínas de bajo peso molecular se filtraron para identificar proteínas en base a la presencia de 2 péptidos independientes, para restringir el análisis a las proteínas más representadas en cada muestra. Al igual que en el análisis anterior, las proteínas obtenidas en cada muestra se agruparon según el criterio de máxima parsimonia, obteniéndose en el análisis los valores de espectros, péptidos, proteínas y proteínas según máxima parsimonia que se resumen en la Tabla 18. Como puede verse en este análisis el % de FDR es 0 en todos los casos, ya que se utiliza un criterio de filtración más exigente que el utilizado en el análisis

mostrado en la Tabla 15. Las listas de proteínas identificadas en cada muestra se presentan en el Anexo 17.

Tabla 18. Análisis de espectros, péptidos y proteínas obtenidas en las muestras de orina por LC MS/MS.

Grupo	Archivo	Espectros	Péptidos únicos	Pep FDR (%)	Prot FDR (%)	Proteínas MP
Controles	orN1.sepr	0 / 526 = 0%	120	0 / 300 = 0%	0 / 236 = 0%	82
	orN2.sepr	0 / 271 = 0%	74	0/ 178 = 0%	0 / 162 = 0%	50
	orN3.sepr	0 / 780 = 0%	203	0 / 413 = 0%	0 / 248 = 0%	96
	TB8.sepr	0 / 120 = 0%	62	0 / 90 = 0%	0 / 61 = 0%	23
Pacientes	TB1.sepr	0 / 527 = 0%	196	0 / 282 = 0%	0 / 123 = 0%	40
	orTB2.sepr	0 / 720 = 0%	290	0 / 458 = 0%	0 / 201 = 0%	70
	orTB3.sepr	0 / 342 = 0%	74	0 / 181 = 0%	0 / 183 = 0%	52
	orTB4.sepr	0 / 813 = 0%	217	0 / 483 = 0%	0 / 296 = 0%	121
	orTB5.sepr	0 / 988 = 0%	544	0 / 781 = 0%	0 / 229 = 0%	86
	orTB6.sepr	0 / 578 = 0%	139	0 / 335 = 0%	0 / 227 = 0%	82

Notas de la tabla: En la columna espectros, Pep (péptidos) y Prot (proteínas) se muestra el número de identificaciones falsas (en secuencias reversas de la base de datos) y el número total, con los que se calcula el valor del FDR %. Proteínas MP se refiere al número de proteínas agrupadas según máxima parsimonia.

Para un primer análisis se realizó una comparación entre las proteínas presentes en las muestras derivadas de pacientes contra aquellas presentes en los controles. Se analizó la señal total para cada proteína individual en cada grupo, calculada como el promedio de los recuentos de espectros que identifican dicha proteína en las diferentes muestras. Este análisis se muestra en un análisis general por grupos, donde se vio que ambos grupos mostraban un perfil comparable en relación al recuento de espectros totales, pero mostraban un perfil diferente a nivel de la comparación entre proteínas individuales (Figura 72).

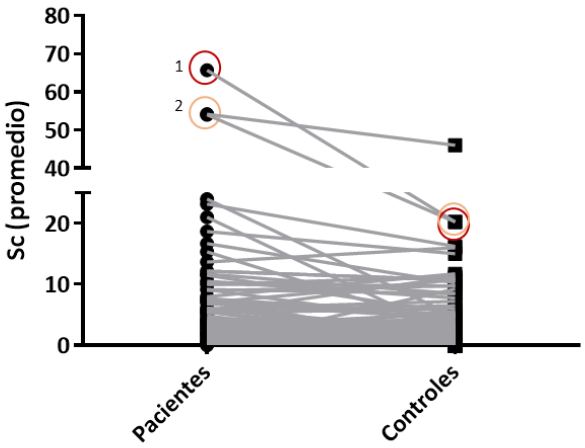


Figura 72. Comparación del recuento de espectros promedio entre pacientes y controles.
Los recuentos de espectros promedio (Sc promedio) de las proteínas identificadas en cada grupo, fueron comparados estadísticamente por medio del test de los signos con rango de Wilcoxon para muestras pareadas, para un nivel de confianza del 95% ($p=1.4x10^{-6}$). La proteína 1 es la proteína AMBP (P02760) y la identificada con el número 2 es la Seroalbúmina (P02768).

Por medio del programa ACFold incluido en el software PatternLab for Proteomics realizamos un gráfico de dispersión del tipo *Volcano plot* que comparó la abundancia de las proteínas

individuales en cada grupo (pacientes versus controles, Figura 73), evaluando el cambio a nivel del recuento de espectros promedio que presenta cada proteína y si este cambio es significativo [238]. Por medio de esta aproximación pudimos determinar que hay 4 proteínas que están sobrerrepresentadas en las muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar (Tabla 19), las que están señaladas con un círculo sombreado en la Figura 73.

Tabla 19. Proteínas sobrerrepresentadas en orina de pacientes con TB pulmonar confirmada.

ID	Fold change	p Value	Señal Pacientes	Señal Controles	Descripción
P25311	12.00	0.0001	21	1.75	Zinc-alpha-2-glycoprotein, *Homo sapiens.* Gen: AZGP1
P02760	3.24	0.0006	65.67	20.25	Protein AMBP, *Homo sapiens.* Gen: AMBP
P02763	5.05	0.0022	24	4.75	Alpha-1-acid glycoprotein 1, *Homo sapiens.* Gen: ORM1
P19652	5.56	0.007	15.3	2.75	Alpha-1-acid glycoprotein 2, *Homo sapiens*. Gen: ORM2

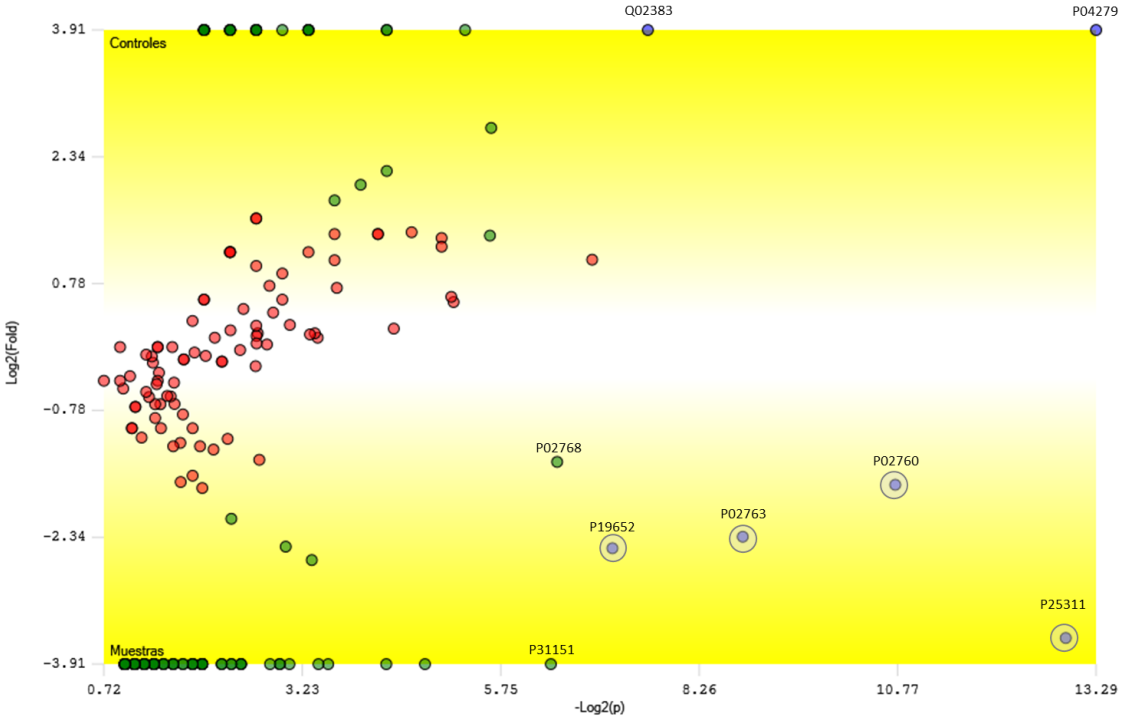


Figura 73. Comparación de la abundancia de las proteínas identificadas entre pacientes y controles. Se muestra el resultado generado en la interfase gráfica del programa ACFold. El gráfico muestra la distribución de las proteínas individuales identificadas tomando en cuenta el valor del log2(*fold change*) en las ordenadas y el valor de -log2(*p- value*) en las abscisas. La mitad superior corresponde a las proteínas sobrerrepresentadas en los controles (log2(*fold change*)>0) y el panel inferior a las proteínas sobrerrepresentadas en las muestras (log2(*fold change*)<0). Hay 6 proteínas (en azul) que satisfacen tanto el valor estadístico del test AC ($p \leq 0.01$) como el *cut-off* de *fold change* definido (≥2.5). Las proteínas en verde (n=141) cumplen el criterio de *fold change*, pero el valor del test AC indica que el cambio no es estadísticamente significativo. Las proteínas en rojo no satisfacen ninguno de los dos criterios, por lo que no muestran diferencias a nivel de expresión. Se marcan las 4 proteínas sobrerrepresentadas en los pacientes con un círculo sombreado y se indican sobre algunas de ellas los códigos de la base de datos UniProt.

La glicoproteína Zinc-alpha-2 está presente en las 6 muestras de pacientes con TB pulmonar, y en 2 muestras de los controles (orN1 y orN3). La proteína AMBP y la glicoproteína alfa-1-ácida 1 están presentes en las 10 muestras analizadas, mientras que la glicoproteína alfa-1-ácida 2 está presente en todas las muestras menos en orN2 y orTB3. Por otro lado, las dos proteínas subrepresentadas en los pacientes con TB pulmonar son la semenogelina 1 y 2 (P04279 y Q02383) que sólo están presentes en el control orTB8 y en ninguna otra muestra de los controles ni de los pacientes con TB pulmonar.

De este análisis es interesante mencionar a 2 proteínas sobrerrepresentadas en las muestras de pacientes, aunque estas no alcanzan el valor estadístico establecido. Estas son la seroalbúmina (P02768, fold change 2.67, p=0.0114) y la proteína de unión a calcio S100-A7 (P31151, fold change ∞, p=0.012). Ambos códigos se indican en la Figura 73. La seroalbúmina está presente en todas las muestras, pero muestra una caída importante en su abundancia en los controles, como se mostró en la Figura 72. La proteína S100-A7, que habíamos observado previamente en el análisis por MALDI-TOF (Figura 67), se detecta únicamente en las muestras de pacientes orTB4, orTB5 y orTB6. Esta proteína no se detecta en ninguno de los 4 controles.

Finalmente, se realizó una clusterización de las muestras mediante la utilidad Clustergram (beta) del programa PatternLab for Proteomics, donde se pudo observar que 4 de las muestras de pacientes (orTB2, orTB4, orTB5 y orTB6) tienen un mapa de calor similar entre sí para un análisis de 19 proteínas diferenciales (Figura 74). Las muestras controles por su parte también se agrupan entre sí en este mismo análisis. En la Tabla 20 se detallan los recuentos de espectro en cada muestra de las proteínas utilizadas para la generación de los *clusters* de la Figura 74.

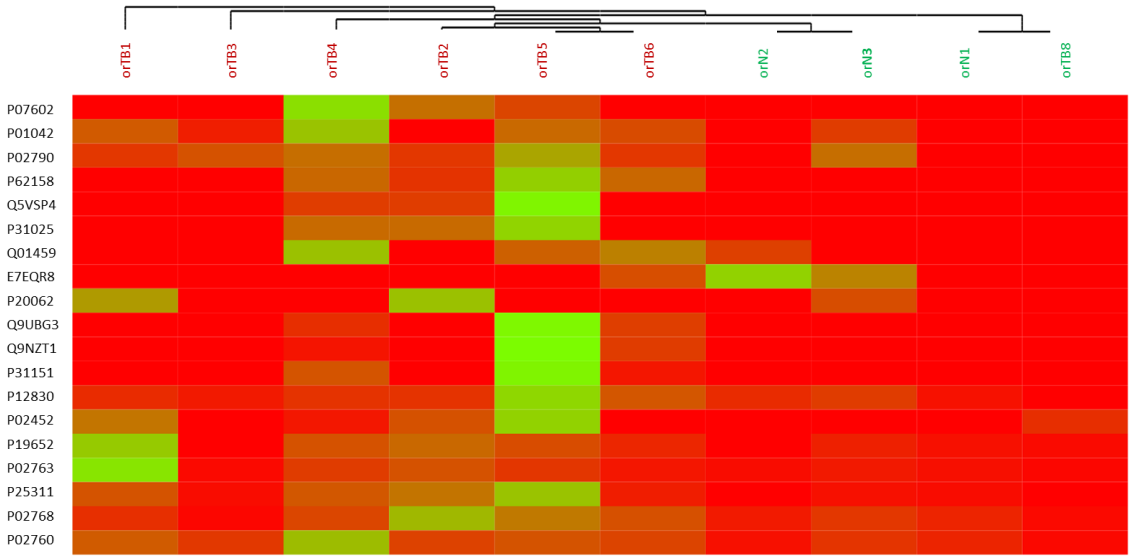


Figura 74. Análisis de *clusters* de expresión.
Se muestra el resultado generado en la interfase gráfica del programa Clustergram (beta) del software PatternLab for Proteomics. Cada columna corresponde a una muestra individual (ID) y cada fila a una proteína. Los recuentos de espectro se normalizan y se representan en escala de graduación de color: color verde cada vez más intenso aquellas proteínas que muestran aumento de expresión y color rojo las proteínas que muestran disminución de la expresión. Los parámetros utilizados fueron los siguientes: recuento de características= 3, rigurosidad en la selección de características= 0.79.

Tabla 20. Recuento de espectros en cada muestra de las proteínas utilizadas en el análisis de clusters

Fila	ID	orN1	orN2	orN3	orTB8	orTB1	orTB2	orTB3	orTB4	orTB5	orTB6	Gen	Proteína
1	P07602	0	0	0	0	0	8	0	16	5	0	PSAP	Prosaposin
2	P01042	0	0	4	0	6	0	2	13	7	5	KNG1	Kininogen-1
3	P02790	0	0	4	0	2	2	3	4	6	2	HPX	Hemopexin
4	P62158	0	0	0	0	0	2	0	4	8	4	CALM1	Calmodulin
5	Q5VSP4	0	0	0	0	0	2	0	2	8	0	LCN1P1	Putative lipocalin 1-like protein
6	P31025	0	0	0	0	0	2	0	2	4	0	LCN1	Lipocalin-1
7	Q01459	0	2	0	0	0	0	0	6	3	4	CTBS	Di-N-acetylchitobiase
8	E7EQR8	0	8	5	0	0	0	0	0	0	3	YIPF3	Protein YIPF3
9	P20062	0	0	2	0	4	5	0	0	0	0	TCN2	Transcobalamin-2
10	Q9UBG3	0	0	0	0	0	0	0	3	16	4	CRNN	Cornulin
11	Q9NZT1	0	0	0	0	0	0	0	2	25	6	CALM5	Calmodulin-like protein 5
12	P31151	0	0	0	0	0	0	0	11	32	3	S100A7	Protein S100A7
13	P12830	2	5	7	0	5	6	3	6	25	10	CDH1	Cadherin-1
14	P02452	0	0	0	4	10	7	0	2	18	0	COL1A1	Collagen alpha-1(I) chain
15	P19652	3	0	6	2	37	19	0	15	14	7	ORM2	Alpha-1-acid glycoprotein 2
16	P02763	5	4	8	2	72	26	3	19	17	7	ORM1	Alpha-1-acid glycoprotein 1
17	P25311	3	0	4	0	20	28	3	21	47	7	AZGP1	Zinc-alpha-2-glycoprotein
18	P02768	23	17	35	6	30	117	4	45	77	51	ALB	Serum albumin
19	P02760	26	12	37	6	65	47	40	134	59	49	AMBP	Protein AMBP

Nota de la tabla: Se sombrean en gris las muestras de pacientes con TB pulmonar confirmada.

Si bien este resultado de análisis de *clusters* es preliminar y requiere un mayor número de muestras y controles para su confirmación, nos indica que podría existir un patrón proteómico característico de la enfermedad tuberculosa pulmonar, que podría detectarse en muestras de orina, por lo que es interesante continuar profundizando en este sentido. Es importante recordar que en este caso no estamos evaluando la totalidad del proteoma de orina, ya que para este análisis las muestras fueron enriquecidas en las proteínas de bajo peso molecular, y que en el caso de la muestra orTB8, se identificó un muy bajo número de proteínas en relación al resto, lo que creemos que se debe a la existencia de una importante degradación proteica como se mencionó previamente. Por otro lado, también sería importante disponer de muestras de orina de otro tipo de enfermedades infecciosas para verificar si el perfil proteómico observado es específico de la tuberculosis o es común, por ejemplo, en otros procesos de infección bacteriana.

Clasificación ontológica de las proteínas derivadas del paciente

En base a los resultados obtenidos en la sección anterior nos interesó realizar una evaluación de enriquecimiento de términos ontológicos asociados a procesos biológicos, para evaluar si existe alguna vía clave inducida o reprimida en el caso de los pacientes con TB pulmonar confirmada. En una primera aproximación se analizaron todas las proteínas individuales identificadas en las muestras de pacientes con TB pulmonar (n=195) y todas las proteínas individuales identificadas en las muestras controles (n=123). Se realizó el análisis de enriquecimiento de términos ontológicos relacionados con procesos biológicos, identificándose las categorías principales de términos enriquecidos ($p<0.05$) para las proteínas presentes en el grupo control y en el grupo TB pulmonar que se muestran en la Tabla 21. Además, las vías sobre y subrepresentadas en el grupo TB pulmonar se muestran gráficamente en la Figura 75.

Tabla 21. Análisis ontológico de procesos biológicos (GO-Slim) de las proteínas presentes en cada grupo.

	***Homo sapiens* (Ref)**	**CONTROLES**				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
cell-matrix adhesion	83	6	0.49	12.13	+	2.90E-03
glycogen metabolic process	83	5	0.49	10.11	+	3.70E-02
↳polysaccharide metabolic process	173	7	1.03	6.79	+	2.14E-02
complement activation	131	6	0.78	7.68	+	3.56E-02
↳immune response	717	19	4.27	4.45	+	1.39E-05
↳immune system process	1269	23	7.56	3.04	+	4.12E-04
Proteolysis	598	14	3.56	3.93	+	3.55E-03
nucleobase-containing compound metabolic process	3160	4	18.83	0.21	-	3.82E-03

	Homo sapiens (Ref)	**PACIENTES TB PULMONAR**				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
blood coagulation	91	8	.87	9.22	+	7.97E-04
complement activation	131	9	1.25	7.20	+	1.41E-03
↳immune response	717	28	6.84	4.09	+	8.26E-08
↳immune system process	1269	41	12.10	3.39	+	1.41E-09
macrophage activation	**119**	**8**	**1.13**	**7.05**	**+**	**5.44E-03**
cell-cell adhesion	305	15	2.91	5.16	+	7.77E-05
↳cell adhesion	481	20	4.59	4.36	+	1.21E-05
↳biological adhesion	481	20	4.59	4.36	+	1.21E-05
Proteolysis	598	20	5.70	3.51	+	3.57E-04
cellular component movement	413	13	3.94	3.30	+	4.69E-02
nucleobase-containing compound metabolic process	3160	10	30.14	.33	-	1.52E-03
nitrogen compound metabolic process	2018	4	19.24	.21	-	3.99E-03
biosynthetic process	1521	1	14.51	< 0.2	-	1.16E-03

Notas de la tabla: Se seleccionó para el análisis GO-Slim Biological Process de la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System. Como background se seleccionaron las proteínas totales de *H. sapiens* (referencia). Con fondo gris y negritas se indican las vías que nos interesa resaltar.

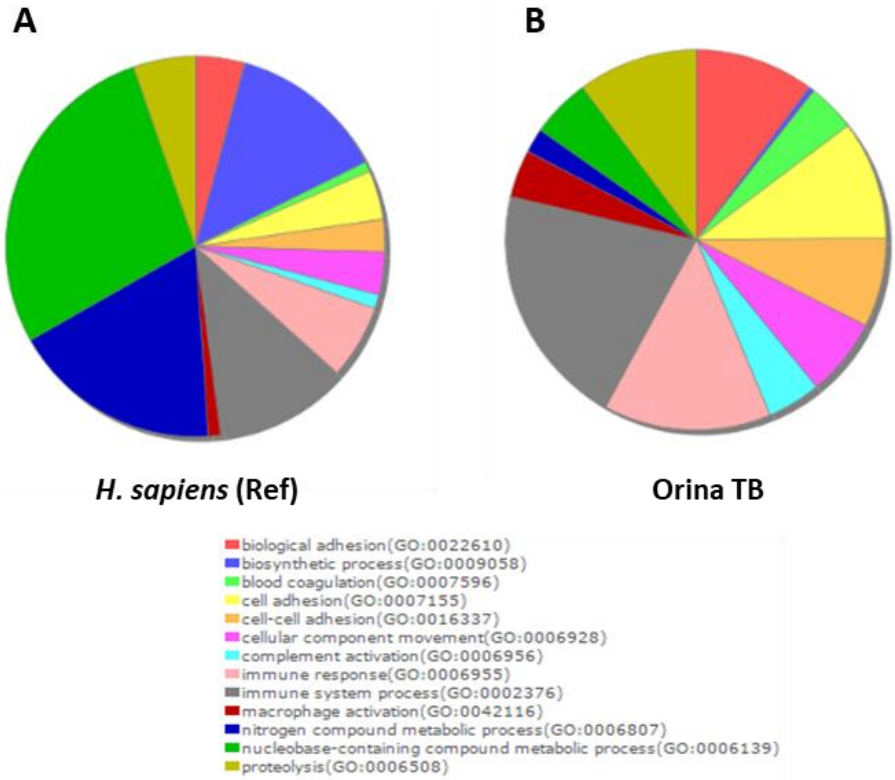


Figura 75. Procesos biológicos estadísticamente diferentes en grupo de pacientes con TB pulmonar. Representación de los procesos biológicos sobre o subrepresentados en: **A)** el proteoma humano de referencia y **B)** las proteínas identificadas en orinas del grupo de pacientes con TB pulmonar.

Por medio de este análisis se visualiza que hay varios procesos enriquecidos en ambos grupos (controles y pacientes) como por ejemplo la vía de activación del complemento, los procesos proteólisis y de adhesión celular. Sin embargo, algunos procesos están enriquecidos únicamente en las muestras de pacientes con TB y en particular es interesante resaltar el proceso relacionado con la activación de macrófagos, dado que la infección por *M. tuberculosis* se da principalmente en estas células. Este proceso, definido como un cambio en la morfología y conducta de los macrófagos debido a la exposición a citoquinas, ligandos celulares o factores solubles, presenta un enriquecimiento de 7.05 veces en los pacientes con TB con respecto al proteoma humano de referencia.

Las 8 proteínas presentes en las muestras de pacientes con TB pulmonar que se asocian a este proceso, así como las muestras en las que se encuentran se presentan en la Tabla 22. Es interesante mencionar a la Cornulina y a las proteínas de unión a Calcio S100A7 y S100A7A que se encuentran únicamente en muestras de pacientes con TB pulmonar y en ninguna de las muestras control. Además, estas 3 proteínas pertenecen a la clase de proteínas de señalización tipo calmodulina, que son proteínas que tienen la función principal de unir calcio, ya sea para almacenarlo o porque participan en las vías de señalización mediadas por este ion [237,345]. A esta categoría de proteínas de unión a calcio también pertenecen las proteínas Calmodulina (CALM1, P62158) y Calmodulina-like protein 5 (CALM5, Q9NZTI) que como se mostró en la Tabla 20 fueron identificadas en 4 y 3 muestras de pacientes con TB pulmonar, respectivamente, y en ninguna de las muestras control.

Tabla 22. Proteínas presentes en el término ontológico Macrophage activation (GO:0042116).

IDs	Proteína	Protein Class (PANTHER)	Controles	Pacientes
P02452	Collagen alpha-1(I) chain	-	orTB8	orTB1 orTB2 orTB4 orTB5
P05109	Protein S100-A8	calmodulin signaling molecule	-	orTB4
P09603	Macrophage colony-stimulating factor 1	cytokine	orN1 orN2 orN3	orTB1 orTB2 orTB3 orTB4 orTB5 orTB6
Q9UBG3	Cornulin	calmodulin signaling molecule	-	orTB4 orTB5 orTB6
P31151	Protein S100-A7	calmodulin signaling molecule	-	orTB4 orTB5 orTB6
Q86SG5	Protein S100-A7A	calmodulin signaling molecule	-	orTB4 orTB5
P02461	Collagen alpha-1(III) chain	-	orN2 orTB8	orTB5 orTB6
P12109	Collagen alpha-1(VI) chain	-	-	orTB6

En base a estos resultados, analizamos la categoría función molecular para las proteínas presentes únicamente en los pacientes con TB pulmonar, donde se encontró que la vía de unión a Calcio se ubica en el primer lugar de términos enriquecidos, confirmando que dichas vías de señalización serían importantes en el desarrollo de la enfermedad (Anexo 18). Además de las proteínas previamente mencionadas se encuentran en las muestras de los pacientes con TB pulmonar las proteínas de unión a calcio S100A8 y S100A9, las que fueron identificadas únicamente en la muestra orTB4. En el Anexo 19 se presenta el alineamiento de las 4 proteínas de unión a Ca^{2+} S100 identificadas en las muestras de pacientes con TB pulmonar.

Dado que algunas muestras, tanto de pacientes como de controles, presentaron un número variable de proteínas identificadas, quisimos estandarizar los resultados utilizando únicamente las muestras con cantidad equivalente de proteínas. Por este motivo seleccionamos del grupo controles las muestras orN1, orN2 y orN3, que presentaron en promedio 76.3 proteínas identificadas por máxima parsimonia y del grupo pacientes las muestras orTB2, orTB5 y orTB6, en las que se identificó en promedio 81.6 proteínas por máxima parsimonia (Tabla 18). Descartamos para este nuevo análisis las muestras orTB8, orTB1 y orTB3 dado que presentan un bajo número de identificaciones y la muestra orTB4 que presenta un número de identificaciones más alto que el promedio.

Se realizó el análisis de las proteínas comunes en cada grupo por medio de diagramas de Venn, encontrándose que 36 proteínas son comunes a las 3 muestras controles y 31 proteínas a las 3 muestras de pacientes con TB pulmonar (Figura 76). Además, 38 proteínas están presentes en 2 muestras controles y el mismo número de proteínas se encuentra compartido por 2 muestras de pacientes. De esta forma se generó una lista de proteínas presentes en al menos 2 muestras para cada grupo, consistente en 74 proteínas en el caso de los controles sanos y 69 proteínas en

el caso de los pacientes, que fue analizada mediante la asignación de términos ontológicos. Este estudio se presenta en la muestra que hay 8 vías sobrerrepresentadas en ambos grupos y el caso de los pacientes con TB pulmonar hay además 2 vías enriquecidas que se repiten con el análisis anterior y no se encuentran enriquecidas en los controles. Estas son la señalización mediada por calcio y la activación de macrófagos (Tabla 23).

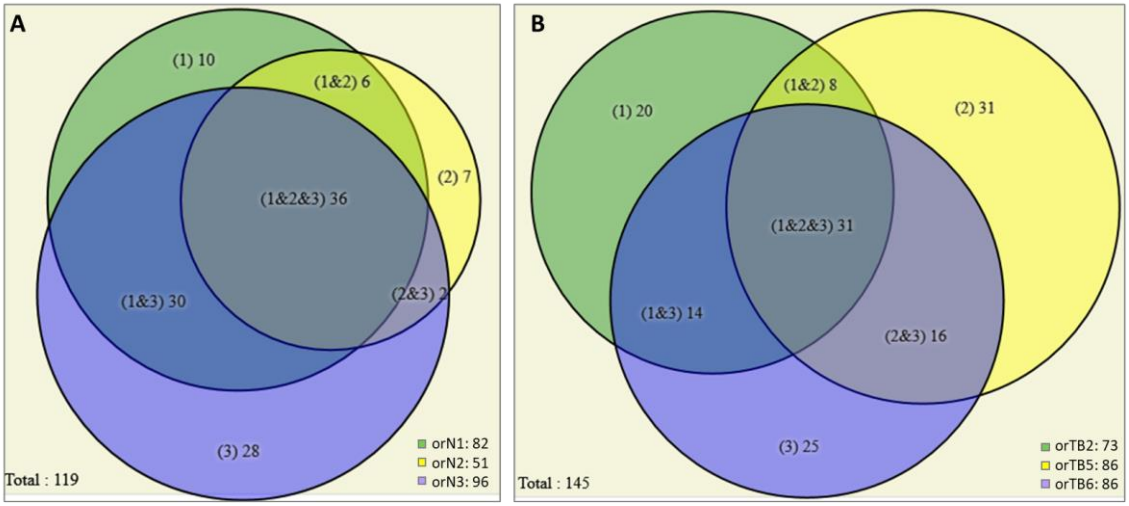


Figura 76. Comparación de proteínas compartidas entre los diferentes grupos.
Visualización por medio de diagramas de Venn de: **A)** las proteínas identificadas en las muestras de orina de los controles sanos: orN1, orN2 y orN3 y **B)** las proteínas identificadas en las muestras de orina de los pacientes con TB pulmonar: orTB2, orTB5 y orTB6. Se utiliza para generar este gráfico la herramienta para generación de diagramas de Venn de áreas proporcionales del *software* PatternLab for Proteomics [238].

Tabla 23. Análisis ontológico de procesos biológicos (GO-Slim) de las proteínas presentes en cada grupo.

	H. sapiens (Ref)	CONTROLES (n=3)				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
cell-matrix adhesion	83	5	.29	17.07	+	3.00E-03
glycogen metabolic process	83	5	.29	17.07	+	3.00E-03
cell recognition	103	6	.36	16.51	+	4.71E-04
Phagocytosis	116	6	.41	14.66	+	9.26E-04
↳ endocitosis	418	8	1.47	5.42	+	2.81E-02
complement activation	131	6	.46	12.98	+	1.84E-03
↳ immune response	717	12	2.53	4.74	+	1.87E-03
defense response to bacterium	137	6	.48	12.41	+	2.37E-03

	H. sapiens (Ref)	PACIENTES TB PULMONAR (n=3)				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
glycogen metabolic process	83	5	.27	18.86	+	1.84E-03
cell recognition	103	5	.33	15.19	+	5.16E-03
cell-matrix adhesion	83	4	.27	15.09	+	3.71E-02
calcium-mediated signaling	**83**	**4**	**.27**	**15.09**	**+**	**3.71E-02**
complement activation	131	6	.42	14.34	+	1.03E-03
↳ immune response	717	10	2.29	4.37	+	2.19E-02
phagocytosis	116	5	.37	13.49	+	9.06E-03
↳ endocitosis	418	8	1.34	5.99	+	1.37E-02
macrophage activation	**119**	**5**	**.38**	**13.15**	**+**	**1.02E-02**
defense response to bacterium	137	5	.44	11.42	+	1.98E-02

Notas de la tabla: Se seleccionó para el análisis GO-Slim Biological Process de la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System. Como background se seleccionaron las proteínas totales de *H. sapiens* (referencia). Con fondo gris y negritas se indican las vías que nos interesa resaltar.

En resumen, los resultados presentados en esta sección muestran que podría existir un perfil proteómico asociado con la enfermedad tuberculosa ligado a proteínas de la señalización mediada por Ca^{2+} como las proteínas S100A7, S100A7A, S100A8, S100A9, la calmodulina y la cornulina. Estas proteínas por su parte estarían relacionadas con procesos de activación de los macrófagos. Estos resultados son coincidentes con el análisis de *clusters* de diferenciación (Figura 74 y Tabla 20), que mostró patrones diferenciales de expresión para varias de estas proteínas, confirmando que el perfil proteómico característico de la enfermedad tuberculosa pulmonar podría ser detectable en muestras de orina. Sin embargo, es importante recordar que este estudio se basa en la evaluación de muestras enriquecidas en proteínas de peso molecular menor a 50 kDa, lo que podría haber generado un sesgo en la identificación de proteínas. El patrón completo debería observarse al analizar la totalidad de las proteínas presentes en las muestras de orina o en otras muestras, como por ejemplo suero, donde podría haber una mayor concentración de estos biomarcadores de la infección.

Líquidos pleurales: Búsqueda y análisis de biomarcadores

La orina era nuestra primer muestra candidata debido a su fácil recolección. A continuación, quisimos realizar una estrategia similar para la búsqueda de biomarcadores de la infección en líquido pleural. Esta muestra es obtenida por medio de un procedimiento médico invasivo, en caso de la sospecha de TB pleural. En este caso también nos interesaba evaluar tanto la presencia de proteínas derivadas de *M. tuberculosis*, como de potenciales biomarcadores derivados del paciente que pudieran ser indicativos de la enfermedad.

Por medio de la colaboración con la CHLA-EP, se obtuvieron muestras de líquidos pleurales de 9 pacientes con derrame pleural, los que fueron sometidos a una serie de pruebas diagnósticas para confirmar o descartar tuberculosis pleural: cultivo bacteriológico, microscopía y dosificación de la enzima adenosina deaminasa (ADA) [213]. Las muestras disponibles se categorizaron en 3 grupos según el resultado del cultivo y de la técnica de ADA: grupo 1: negativos para ambas técnicas, grupo 2: negativos para cultivo y positivos para ADA y grupo 3: positivo para ambas técnicas (Tabla 4). Si bien el diagnóstico definitivo de la tuberculosis pleural depende de la obtención de un resultado de cultivo positivo, se puede establecer un diagnóstico presuntivo con una certeza razonable por medio de la detección de un nivel elevado de la enzima ADA (>40 UI/L) en un contexto clínico adecuado [346]. ADA es una enzima predominante de los linfocitos T, que se presenta elevada en el caso de TB pleural y algunas otras patologías pleurales, las que el diagnóstico diferencial debe descartar por la clínica u otros parámetros paraclínicos [213]. Se trata de un ensayo económico y rápido, que ha mostrado en una sensibilidad del 92% y una especificidad del 90% para el diagnóstico de TB pleural [213,346].

En esta sección se describen brevemente los resultados obtenidos para estas muestras en los ensayos de ELISA directo e indirecto, desarrollados en el Capítulo 2 y mediante una estrategia de LC MS/MS que implicó un enriquecimiento en proteínas de bajo peso molecular a partir de una separación por electroforesis en gel de las diferentes muestras disponibles. Se realizaron también otras técnicas como *western blot* con los anticuerpos anti-TB generados, identificación de bandas y evaluación por MALDI-TOF, así como evaluación de estas muestras por los otros formatos de ELISA desarrollados, cuyos resultados no se mostrarán.

Análisis de los líquidos pleurales por ELISA

Por medio de la metodología de ELISA directo, desarrollado en el capítulo 2, analizamos las 9 muestras disponibles (Figura 77A), encontrando que los líquidos pleurales que son positivos en cultivo y también en la dosificación de ADA (grupo 3), muestran una señal significativamente más alta que el resto de las muestras, indicando que podrían contener antígenos de MTB (Figura 77B). En este caso se obtuvo un porcentaje de recuperación del *spike* de 41%. Este resultado, relativamente promisorio, se debería verificar con un mayor número de muestras.

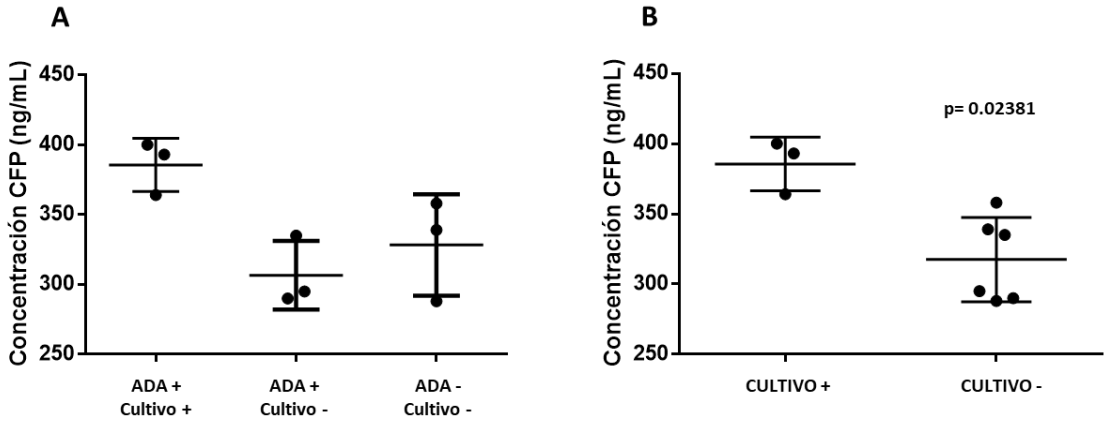


Figura 77. Evaluación de las muestras de líquido pleural por medio de ELISA directo
A y B) Valores de concentración interpolada en la curva de calibración con el estándar de CFP de las muestras de líquido pleural. Muestras sembradas a 8 µg/mL, anticuerpo anti-TB biotinilado (depletado) 2000 ng/mL. Prueba estadística de rangos Mann Whitney, no pareado, no paramétrico, de 2 colas.

En el caso del ELISA competitivo no encontramos diferencias significativas entre los grupos de muestras analizados (resultados que no se muestran), tal como había ocurrido con las muestras de orina. De la misma forma, el ELISA sándwich para estas muestras tuvo un comportamiento similar al observado con las orinas: una señal de las muestras igual o menor que el blanco, en todos los casos (resultados que no se muestran). Finalmente, al igual que en el caso de las orinas, se evaluó la presencia de anticuerpos anti-MTB en estos líquidos pleurales mediante ELISA indirecto, observándose que una de las muestras del grupo 3 (identificada con el código 595297) presenta una señal por encima del *cut-off* de detección, establecido con los resultados de Abs_{450nm} de las muestras del grupo 1 (Figura 78). Nuevamente en este caso, es necesario contar con un mayor número de muestras para confirmar si la detección de anticuerpos anti-TB en líquido pleural podría tener utilidad diagnóstica.

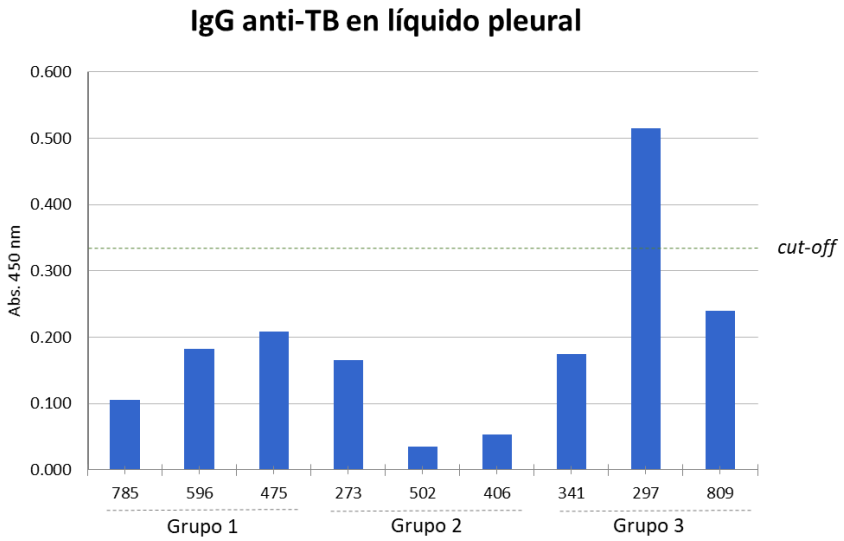


Figura 78. Evaluación de la presencia de anticuerpos contra *M. tuberculosis* en líquidos pleurales
Se analizaron las muestras a 8 µg/mL. Se calculó el valor *cut-off* de Abs_{450nm} como el promedio más 3 desviaciones estándar de las absorbancias de los controles negativos (Grupo 1). Se indican las 3 últimas cifras del código que identifica a cada muestra, según se detalla en la Tabla 4.

Preparación y control de calidad de las muestras para LC MS/MS

Los diferentes líquidos pleurales se analizaron por electroforesis desnaturalizante. En ese caso las muestras no requieren una etapa de concentración previo al análisis, ya que tienen una concentración de proteínas totales entre 20 y 80 mg/mL. En la Figura 79 se muestra la separación electroforética de las 9 muestras de líquidos pleurales, sembrando en este caso 30 µg por carril. Los carriles muestran un perfil similar de proteínas, con una importante presencia de albúmina (≅ 67 kDa) y de IgGs (cadena pesada 50 kDa, cadena liviana 25 kDa) en todas las muestras. Probamos diferentes ensayos de *western blot* con los anticuerpos anti-TB desarrollados y también con el anticuerpo contra *M. tuberculosis* suministrado por el repositorio BEI Resources, observándose en todos los casos varias bandas inespecíficas en las diferentes muestras que no muestran un patrón diferencial según el grupo al cual pertenezcan las muestras (resultados que no se muestran). El anticuerpo secundario (anti-IgG de conejo) no muestra reconocimiento de bandas, por lo que descartamos que la inespecificidad se deba al secundario y proponemos que más probablemente se deba a una interacción del anticuerpo primario con alguna(s) proteína(s) presente(s) en las muestras.

Se realizó el análisis de algunas bandas de bajo peso molecular (≤ 25 kDa) de la muestra 644341 del grupo 3, identificándose de forma estadísticamente significativa la proteína amiloide sérica A1 (SSA) de 13.5 kDa y la transtiretina de 15.9 kDa. La proteína SSA es una proteína de fase aguda, asociada a la inmunidad innata y la homeostasis lipídica, que está regulada positivamente en la inflamación [347]. La proteína extracelular transtiretina, por su parte, es responsable del transporte de la tiroxina y el complejo de proteínas de unión a retinol a las diversas partes del cuerpo. Estudios recientes han demostrado que la transtiretina se ha asociado con muchas otras funciones biológicas que están directa o indirectamente asociadas con el estrés oxidativo, por lo que se postula como un potencial biomarcador de las enfermedades humanas asociadas al estrés oxidativo [348].

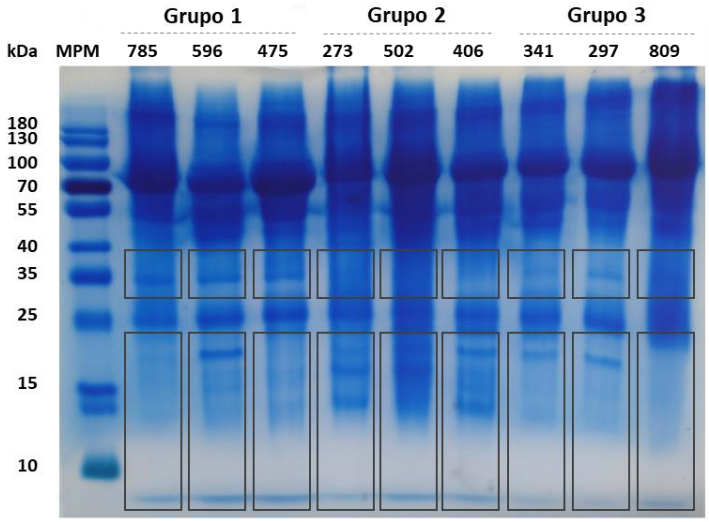


Figura 79. Evaluación por electroforesis SDS-PAGE de los líquidos pleurales con sospecha clínica de TB. SDS-PAGE 13.5%, tinción Coomassie G-250. Se sembraron por carril 30 µg de cada muestra. Se indican las 3 últimas cifras del código que identifica a cada muestra (Tabla 4). Se indican con rectángulos grises las zonas que fueron analizadas por LC MS/MS. MPM: Marcador de peso molecular (Thermo Fischer Scientific, Cód. 26616).

Análisis proteómico por medio de LC MS/MS

Siguiendo la estrategia empleada para las orinas, nos focalizamos en el análisis por medio de LC MS/MS de las proteínas de bajo peso molecular para tratar de identificar en esa zona proteínas derivadas del patógeno o del paciente, que fueran expresadas diferencialmente en la enfermedad tuberculosa. En este caso, el enriquecimiento y la selección de estas proteínas se dio por medio de la separación electroforética y recorte de los sectores de interés, que se representan con los rectángulos grises indicados en la Figura 79. La selección implicó un sector por debajo de 25 kDa donde está la banda correspondiente a la cadena liviana de las Igs y un sector entre 30 y 40 kDa. De esta forma buscábamos que proteínas en baja representación pudieran ser detectadas al no estar saturado el detector con señales de péptidos derivados de proteínas muy abundantes, de mayor peso molecular como la albúmina o las inmunoglobulinas.

En un primer análisis, se buscaron en los archivos crudos, proteínas que fueran identificas por 1 péptido único, utilizando la base de datos de proteínas de MTB y humanas. Se identificaron algunas proteínas *M. tuberculosis*, en 1 muestra del grupo 1, 1 muestra del grupo 2 y en dos muestras del grupo 3, todas ellas diferentes e identificadas con un péptido único. Sin embargo, el perfil de los espectros obtenidos de estos 4 péptidos no es de buena calidad, por lo que no se informan estos resultados en la tesis, dado que no los consideramos suficientemente confiables. Por lo tanto, consideramos que la estrategia utilizada no fue capaz de detectar proteínas derivadas del patógeno en estas muestras clínicas, en contraposición con lo que suponíamos al iniciar el análisis de las mismas. Sin embargo, nuestros resultados no descartan que pueda haber proteínas derivadas del patógeno en estas muestras. De hecho, los resultados obtenidos por la metodología de ELISA directo (Figura 77) indican que podría haber antígenos de *M. tuberculosis* en las muestras del grupo 3, los que quizás debido a la sensibilidad de la técnica o a la restricción del análisis a proteínas de bajo peso molecular no logramos detectar por LC-MS/MS.

Posteriormente, al igual que en el análisis de las muestras de orina, nos centramos en las proteínas derivadas del paciente de las 9 muestras de líquidos pleurales que fueran identificadas con al menos 2 péptidos independientes. Las proteínas obtenidas en cada muestra se agruparon según el criterio de máxima parsimonia, obteniéndose en el análisis los valores de espectros, péptidos, proteínas y proteínas según máxima parsimonia que se resumen en la Tabla 24. Como puede verse en esta tabla, el número de proteínas identificadas en cada grupo fue en promedio: 264 en el grupo 1, 426 en el grupo 2 y 280 en el grupo 3. A pesar de que hay 2 muestras del grupo 2 que muestran un número de proteínas sensiblemente superior al promedio general, no se encuentra diferencias significativas en el número de identificaciones en los 3 grupos, por lo que se incluyen todas las muestras para el análisis posterior.

Tabla 24. Espectros, péptidos y proteínas obtenidas en las muestras de líquidos pleurales por LC MS/MS.

Grupo	Archivo	Espectros	Péptidos únicos	Pep FDR (%)	Prot FDR (%)	Proteínas MP
Grupo 1 ADA - Cultivo -	1_785.sepr	0 / 4829 = 0%	1089	0 / 2651 = 0%	0 / 571 = 0%	263
	2_596.sepr	3 / 3811 = 0.08%	1157	2 / 2455 = 0.08%	6 / 635 = 0.94%	286
	3_475.sepr	1 / 4257 = 0.02%	1029	1 / 2548 = 0.04%	0 / 584 = 0%	244
Grupo 2 ADA + Cultivo -	4_273.sepr	0 / 6306 = 0%	1758	0 / 3808 = 0%	0 / 1133 = 0%	467
	5_502.sepr	0 / 5791 = 0%	1615	0 / 3716 = 0%	0 / 1218 = 0%	499
	6_406.sepr	0 / 3578 = 0%	1071	0 / 2406 = 0%	0 / 715 = 0%	313
Grupo 3 ADA + Cultivo +	7_341.sepr	0 / 2485 = 0%	693	0 / 1652 = 0%	0 / 478 = 0%	204
	8_297.sepr	0 / 4052 = 0%	1117	2 / 2673 = 0.07%	1 / 893 = 0.11%	339
	9_809.sepr	0 / 3698 = 0%	915	1 / 2148 = 0.05%	1 / 641 = 0.16%	297

Notas de la tabla: Las muestras de líquidos pleurales están identificadas con los 3 últimos números del código del ensayo. En la columna espectros, Pep (péptidos) y Prot (proteínas) se muestra el número de identificaciones falsas (en secuencias reversas de la base de datos) y el número total, con los que se calcula el valor del FDR %. Proteínas MP se refiere al número de proteínas agrupadas según máxima parsimonia.

Clasificación ontológica de las proteínas derivadas del paciente

Se compararon las proteínas identificadas por máxima parsimonia en cada muestra, generándose el núcleo de proteínas comunes a cada uno de los 3 grupos (Figura 80A, B y C). En el caso del grupo 1, son 202 proteínas comunes a las 3 muestras, entre las que hay 8 contaminantes, en el grupo 2 son 305 proteínas comunes y 9 contaminantes, y en el grupo 3 son 204 proteínas comunes y 9 contaminantes. Las proteínas comunes en cada grupo, excluyendo los contaminantes, se presentan ordenadas según el número de espectros de cada proteína en el Anexo 20. Se realizó el análisis de ontología génica (GO-Slim Biological Process) de las proteínas comunes en cada uno de los 3 grupos, utilizando la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System [237]. Se identificaron varias categorías de términos enriquecidos, compartidas por los 3 grupos, como activación del complemento, inmunidad mediada por células B, respuesta de defensa contra bacterias, fagocitosis, entre otras. Sin embargo, con este análisis no evidenciamos diferencias cualitativas en relación a las categorías enriquecidas.

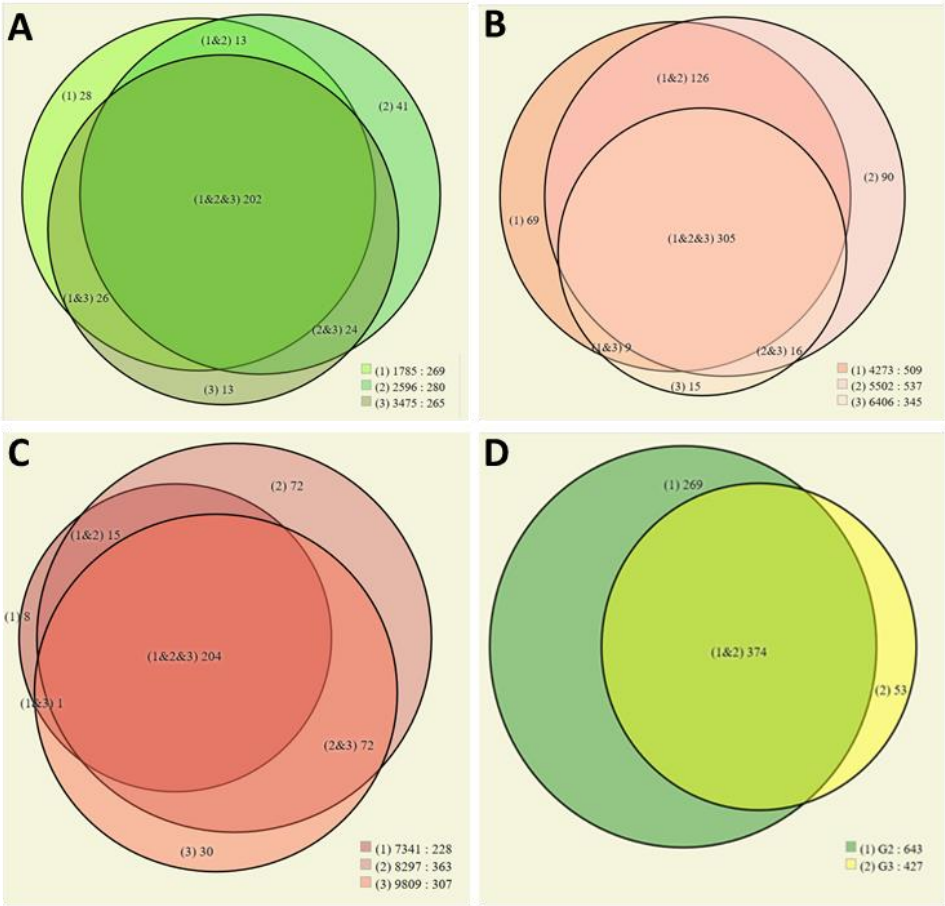


Figura 80. Comparación de proteínas compartidas entre los diferentes grupos.
Visualización por medio de diagramas de Venn de: **A)** las proteínas identificadas en las muestras de líquidos pleurales de los pacientes del grupo 1, **B)** las proteínas identificadas en las muestras de líquidos pleurales de los pacientes del grupo 2, **C)** las proteínas identificadas en las muestras de líquidos pleurales de los pacientes del grupo 3 y **D)** las proteínas totales identificadas en los líquidos pleurales de los pacientes del grupo 2 y del grupo 3. Se utiliza para generar este gráfico la herramienta para generación de diagramas de Venn de áreas proporcionales del *software* PatternLab for Proteomics [238].

Posteriormente, para evaluar si podíamos detectar diferencias en relación a las muestras del grupo 1, se generó un análisis de diagrama de Venn comparando las proteínas del Grupo 2 y 3, ya que ambos grupos tienen diagnóstico confirmado o presuntivo de TB pleural (Figura 80D). De las proteínas compartidas por estos dos grupos (n=374), luego de descartar los contaminantes y seleccionar las proteínas que estén al menos en 4 muestras, nos quedamos con una lista de 307 proteínas. Con esta lista se realizó el análisis de ontología génica (GO-Slim Biological Process), utilizando la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System [237]. Se identificaron varias categorías de términos enriquecidos ($p<0.05$), de las que se muestran en la Tabla 25 únicamente las categorías que tienen los menores *p-value*. Hay muchas de estas vías que se repiten con la evaluación de las proteínas pertenecientes al núcleo común de cada grupo. Nos interesa destacar 2 de estas vías: fagocitosis y proteólisis, ya que se repitieron en todos los análisis. Analizamos las proteínas que se asociaban con estas categorías y vimos que de las 24 proteínas que hay en la vía proteólisis en al menos 4 muestras de los grupos 2 y 3, hay 6 que no están en ninguna de las muestras del grupo 1. En la vía fagocitosis, por su parte, está la elastasa de neutrófilos (ELANE), en 5 de 6 muestras pertenecientes al grupo G2 y G3, y en ninguna de las 3 muestras del grupo 1. Esta proteína también está incluida en la vía proteólisis. Estas proteínas

diferenciales, presentes en los líquidos pleurales de pacientes del grupo 2 y 3, y no presentes en líquidos pleurales de pacientes del grupo 1, se detallan en la Tabla 26.

Tabla 25. Análisis ontológico de procesos biológicos (GO-Slim) de las proteínas presentes en G2 y G3.

	***H. sapiens* (Ref)**	**Grupo 2 + Grupo 3 (n=4)**				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
Complement activation	94	21	1.1	19.03	+	1.93E-19
B cell mediated immunity	94	21	1.1	19.03	+	1.93E-19
cell recognition	105	21	1.23	17.04	+	1.40E-18
defense response to bacterium	112	22	1.31	16.73	+	2.91E-19
response to biotic stimulus	144	22	1.69	13.02	+	3.37E-17
phagocytosis	182	22	2.14	10.3	+	2.83E-15
response to stress	653	31	7.67	4.04	+	9.81E-11
proteolysis	448	20	5.26	3.8	+	6.25E-07

Tabla 26. Proteínas diferenciales de las vías proteólisis y fagocitosis, presentes en los grupos 2 y 3 y ausentes en el grupo 1.

ID	**Archivo en el que se identifica**	**Muestras**	**Espectros totales**	**Descripción**
P25788	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\8_279\8_279.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	5	18	Proteasome subunit alpha type-3 OS=Homo sapiens GN=PSMA3 PE=1 SV=2: G3V4X5 Proteasome endopeptidase complex OS=Homo sapiens GN=PSMA3 PE=1 SV=1; MaxParsimony group: H0YJ03, G3V5N4, G3V3W4.
P08246	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\7_341\7_341.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	5	36	Neutrophil elastase OS=Homo sapiens GN=ELANE PE=1 SV=1
P25786	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\7_341\7_341.sepr \Grupo 3\8_279\8_279.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	6	22	Proteasome subunit alpha type-1 OS=Homo sapiens GN=PSMA1 PE=1 SV=1: F5GX11 Proteasome endopeptidase complex OS=Homo sapiens GN=PSMA1 PE=1 SV=1; MaxParsimony group: B4DEV8
O14818	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\7_341\7_341.sepr \Grupo 3\8_279\8_279.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	6	26	Proteasome subunit alpha type-7 OS=Homo sapiens GN=PSMA7 PE=1 SV=1; MaxParsimony group: Q8TAA3, H0Y586, F5GY34, A0A087WYS.
P28066	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\8_279\8_279.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	5	21	Proteasome subunit alpha type-5 OS=Homo sapiens GN=PSMA5 PE=1 SV=3
G3V5Z7	\Grupo 2\4_273\4_273.sepr \Grupo 2\5_502\5_502.sepr \Grupo 2\6_406\6_406.sepr \Grupo 3\8_279\8_279.sepr \Grupo 3\9_809\9_809.sepr	5	24	Proteasome subunit alpha type OS=Homo sapiens GN=PSMA6 PE=1 SV=1; MaxParsimony group: P60900, G3V295, G3V3I1, G3V3U4, H0YJC4, G3V2S7, G3V4S5

Los resultados de estas clasificaciones funcionales parecerían indicar que en las muestras de los grupos 2 y 3, con diagnóstico presuntivo o confirmado de TB pleural, hay una inducción en la vía proteolítica dependiente del proteasoma, y de las vías relacionadas con la fagocitosis. De hecho, en el análisis ontológico de todas las proteínas que no están presentes en el grupo 1 (n=468), independientemente de en cuantas muestras de los grupos 2 o 3 se encuentren, aparecen muchas vías que implican neutrófilos y granulocitos, como desgranulación y activación de neutrófilos, fagocitosis, exocitosis y endocitosis. Algunas de estas categorías ontológicas, relacionadas con las proteínas que no están presentes en el grupo 1 se muestran en la Tabla 27 (GO-Complete) y en la Tabla 28 (GO-Slim). Estas vías, que se repiten en los distintos análisis, parecen ser los hallazgos más consistentes en relación a las muestras de líquidos pleurales analizadas.

Tabla 27. Análisis ontológico de procesos biológicos (GO-Complete) de las proteínas que no están en las muestras del grupo 1.

	***H. sapiens* (Ref)**	**No Grupo 1**				
PANTHER GO Biological Process Complete	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
regulated exocytosis	691	90	15.37	5.86	+	9.32E-40
Exocytosis	777	94	17.28	5.44	+	3.50E-39
neutrophil mediated immunity	494	74	10.99	6.74	+	3.64E-36
neutrophil degranulation	483	72	10.74	6.7	+	4.67E-35
neutrophil activation involved in immune response	487	72	10.83	6.65	+	7.54E-35
neutrophil activation	495	72	11.01	6.54	+	1.94E-34
granulocyte activation	500	72	11.12	6.47	+	3.46E-34
leukocyte degranulation	505	72	11.23	6.41	+	6.15E-34

Tabla 28. Análisis ontológico de procesos biológicos (GO-Slim) de las proteínas que no están en las muestras del grupo 1.

	***H. sapiens* (Ref)**	**No Grupo 1**				
PANTHER GO-Slim Biological Process	**N°**	**N°**	**Expected**	**Fold Enrichment**	**+/-**	**P value**
protein folding	94	9	2.09	4.3	+	4.17E-04
mRNA splicing, via spliceosome	178	17	3.96	4.29	+	1.38E-06
Phagocytosis	182	17	4.05	4.2	+	1.82E-06
Endocytosis	378	23	8.41	2.74	+	2.64E-05
vesicle-mediated transport	761	34	16.93	2.01	+	1.73E-04
Exocytosis	173	12	3.85	3.12	+	7.68E-04
Proteolysis	448	26	9.96	2.61	+	1.73E-05

Finalmente, en relación a los procesos endocitosis y exocitosis de aquellas proteínas sólo presentes en los grupos 2 y 3 de muestras de líquidos pleurales, aparecen varias proteínas Rab (Tabla 29). Estas proteínas son una familia de GTPasas, conformada por más de 60 genes, que forman parte del sistema de formación y transporte de vesículas de membranas y coordinan etapas de transporte, como la formación de vesículas, la motilidad de las vesículas y orgánulos, y la unión de vesículas con membranas diana [349,350].

Tabla 29. Principales proteínas asociadas a los procesos endocitosis y exocitosis presentes sólo en grupos 2 y 3 de líquidos pleurales.

Uniprot ID	Gen	Proteína
P51148	RAB5C	Ras-related protein Rab-5C
P61026	RAB10	Ras-related protein Rab-10
P61006	RAB8A	Ras-related protein Rab-8A
Q92930	RAB8B	Ras-related protein Rab-8B
P61106	RAB14	Ras-related protein Rab-14
Q15907	RAB11B	Ras-related protein Rab-11B
P61019	RAB2A	Ras-related protein Rab-2A
Q13636	RAB31	Ras-related protein Rab-31
P61020	RAB5B	Ras-related protein Rab-5B
P62491	RAB11A	Ras-related protein Rab-11A
P08246	ELANE	Neutrophil elastase
P09496	CLTA	Clathrin light chain A
O60641	SNAP91	Clathrin coat assembly protein AP180

Como resumen de esta sección, podemos concluir que, si bien no logramos observar péptidos derivados de *M. tuberculosis* en las muestras de líquidos pleurales mediante la estrategia metodológica empleada, los resultados obtenidos presentan algunos hallazgos interesantes desde el punto de vista de la comprensión de la interacción hospedero-patógeno. En particular, el análisis diferencial de las proteínas del hospedero muestra un aumento de las vías relacionadas con la proteólisis dependiente del proteasoma y con los procesos de fagocitosis, exocitosis y endocitosis. En este sentido, la presencia de algunas proteínas diferenciales, como las relacionadas con la familia de GTPasas Rab, resulta sugestiva en relación a su posible implicancia en la enfermedad pleural.

Capítulo 3: Conclusiones y perspectivas

En este capítulo se emplearon diferentes metodologías, con el objetivo de identificar marcadores de la infección activa por *M. tuberculosis* en muestras clínicas de pacientes con TB. En primer lugar, nos planeamos realizar la evaluación de orinas de pacientes con TB pulmonar, ya que es una muestra sencilla de ser obtenida en un laboratorio periférico. Contábamos con muestras de 6 pacientes, con diagnóstico de laboratorio de TB pulmonar y de 5 de ellos teníamos 3 muestras independientes. Además, teníamos 3 muestras independientes de un paciente cuyo diagnóstico se realizó en base a la clínica ya que los métodos diagnósticos habían dado negativos, así como 3 muestras independientes de un paciente con diagnóstico negativo de TB pulmonar tanto de laboratorio como clínico. Finalmente contábamos con muestras de orina de 4 voluntarios sanos que se utilizaron como control.

Nuestra primera aproximación se basó en la realización de geles de electroforesis desnaturalizante, transferencia de los mismos y *western blot* utilizando de los anticuerpos anti-MTB generados en el capítulo 2. De esta forma, observamos reactividad en las muestras de orina orTB1, orTB2 y orTB3, obtenidas de pacientes diagnosticados con TB pulmonar, lo que indicaría que las muestras de estos pacientes podrían contener antígenos derivados de *M. tuberculosis*. Sin embargo, no logramos identificar proteínas derivadas de MTB por medio del análisis por espectrometría de masas MALDI-TOF en las bandas correspondientes seleccionadas en los geles de electroforesis de 1 dimensión, ni en los *spots* seleccionados a partir de la separación de estas muestras por electroforesis 2D.

Debido a estos resultados en una segunda etapa buscamos identificar posibles proteínas derivadas de *M. tuberculosis* por medio de la purificación de las muestras de orina de pacientes con TB utilizando técnicas de inmunocromatografía con resinas de afinidad. Se realizó el análisis electroforético de estas cromatografías y se analizaron varias bandas candidatas por espectrometría de masas MALDI-TOF, las que fueron mayoritariamente identificadas como proteínas humanas. Adicionalmente, conseguimos identificar en la muestra orTB2, de forma estadísticamente significativa 2 proteínas de *Mycobacterium*, la proteína de *cold-shock* A y la transposasa, que podrían potencialmente ser biomarcadores asociados con la infección activa. La CspA fue identificada en el sobrenadante de cultivo preparado por nosotros y también en el preparado por otros investigadores [189,235], mientras que la transposasa fue identificada por espectrometría de masas en pulmones de cobayos infectados con *M. tuberculosis* H37Rv 30 días post-infección [329]. Sin embargo, hasta nuestro conocimiento es la primera vez que estas proteínas se identifican en muestras de pacientes con tuberculosis, lo que verificamos asimismo mediante la revisión de la base de datos de biomarcadores de tuberculosis Bm2Dx [336]. Estos resultados dejan planteada la posibilidad de realizar una búsqueda específica de ambas proteínas en muestras clínicas, empleando anticuerpos monoclonales o policlonales específicos contra estas proteínas. Aproximaciones similares se han llevado a cabo, por ejemplo, para la detección de ESAT-6 en LCR [171], orina y suero [164], de proteínas del complejo del Ag85 en suero [177], del antígeno LAM en orina y suero [164] y de otra decena de proteínas postuladas como biomarcadores diagnósticos de la enfermedad que se detallaron en la Tabla 2.

Posteriormente, evaluamos los distintos métodos de ELISA desarrollados en el Capítulo 2 con las muestras de orina disponibles y en algunos casos se ensayaron 2 muestras independientes por

paciente. Los resultados obtenidos mostraron que el formato de ELISA de captura, que había mostrado una buena sensibilidad para la detección del antígeno CFP diluido en *buffer*, resultó afectado por la interferencia con los componentes de las muestras, a pesar de haberse ensayado diferentes modificaciones y ajustes del protocolo. Hipotetizamos que esta interferencia ocasione probablemente un corrimiento en la sensibilidad del ensayo al ser utilizado con muestras clínicas, lo que no es deseable ya que es importante lograr un método con alta sensibilidad analítica. Por su parte el ELISA competitivo tuvo un desempeño analítico adecuado mostrando resultados satisfactorios de recuperación del *spike*, pero no logró discriminar entre las muestras positivas y negativas. Únicamente el ELISA directo, que mostró un desempeño analítico aceptable, permitió evidenciar algunas diferencias en la señal de Abs_{450nm} entre las muestras positivas y negativas, siendo clasificadas como positivas orTB2 y orTB4 en los diferentes ensayos realizados. En el caso de orTB2 los resultados observados en ELISA son coincidentes a lo observado por *western blot* y son compatibles con la identificación de 2 potenciales biomarcadores de MTB en dicha muestra.

Adicionalmente, por medio de un ELISA indirecto verificamos que en dos de las muestras de orina -orTB1 y orTB2 - hay anticuerpos contra los antígenos del sobrenadante de cultivo de MTB, por lo que sería interesante disponer de muestras de sueros de estos pacientes, u otros pacientes con TB pulmonar activa, para evaluar si esta metodología podría tener utilidad diagnóstica. Como antecedente nos interesa mencionar el trabajo de Singh *et al.*, que mostró la presencia de anticuerpos anti- *M. tuberculosis* en orina de pacientes con TB, encontrando la mayor sensibilidad en la detección cuando se analizaron muestras pareadas de suero y orina [351]. Como se describió previamente, aproximadamente el 10% del proteoma bacteriano genera respuesta de anticuerpos, principalmente proteínas asociadas a membrana y proteínas secretadas (EspB, FbpA, EsxB, Apa, FbpA, PstS1, Mpt64, entre otras) [111]. En este punto es importante recordar que un análisis sistemático del desempeño de varios test serológicos comerciales mostró que los test disponibles no presentan un desempeño diagnóstico adecuado [72,113], por lo que la OMS ha recomendado no utilizar estas pruebas para el diagnóstico de la tuberculosis pulmonar y/o extrapulmonar [114]. Entre otras cosas, la heterogeneidad en las respuestas humorales de los pacientes con TB provoca que las pruebas basadas en anticuerpos requieran múltiples antígenos para lograr una alta sensibilidad [111,352]. En nuestro caso, al detectar la respuesta de anticuerpos contra el sobrenadante de cultivo abordamos en parte esta variabilidad de la respuesta de anticuerpos. Por otro lado, resaltamos el hecho de haber utilizado antígenos nativos, que como vimos en el primer capítulo presentan modificaciones postraduccionales auténticas, como la O-glicosilación. Una interesante estrategia descrita para mejorar el desempeño del diagnóstico serológico de la tuberculosis está basada en fusionar la secuencia de ADN de las principales proteínas antigénicas con el gen de la luciferasa de *Renilla reniformis* (Ruc), como enzima reportera, y expresar estas fusiones de forma transitoria en células de mamíferos. Estas fusiones Ruc-antígeno son reconocidos por los anticuerpos específicos en los sueros, y los complejos antígeno-anticuerpo son inmovilizados en perlas con proteína A/G y visualizados midiendo la producción de luz [353]. Esta aproximación mostró resultados promisorios en relación al diagnóstico de la tuberculosis pulmonar utilizando una combinación de 7 antígenos de MTB [354]. Nuestros resultados y los reportes citados, muestran que el diagnóstico de la tuberculosis basado en la detección de anticuerpos, aunque aún no

resuelto, es un área que vale la pena continuar explorando, incorporando seguramente métodos más sensibles de detección y una variedad bien caracterizada de antígenos inmunogénicos.

Para intentar aumentar el número de identificaciones, y lograr una aproximación comparativa más exhaustiva y eficiente de las diferentes muestras de orina, nos planteamos la ejecución de una aproximación proteómica tipo *shotgun* basada en nano-HPLC acoplado con espectrometría de masas MS/MS. Las muestras seleccionadas se purificaron previamente con concentradores de centrífuga de 50 kDa de corte, de manera de disminuir la presencia de proteínas de alto peso molecular. De esta forma, logramos identificar 3 proteínas de *M. tuberculosis* en la muestra orTB4: Cyp130, MoaE1 y DinB2. De estas, el mismo péptido de Cyp130 se encontró en 3 réplicas técnicas de la muestra orTB4. Esta proteína citocromo P450 Cyp130, está alojada en la región RD10, por lo que podría estar vinculada con la virulencia y la patogenicidad en el hospedero humano [339]. MoaE1, por su parte, fue detectada en el sobrenadante de cultivo de MTB preparado por nosotros y en el sobrenadante de cultivo [235] y en extractos celulares [234,279] de otros estudios proteómicos. La ADN polimerasa IV, o DinB2, fue identificada en el citosol y en la fracción de membrana de *M. tuberculosis* H37Rv [337], pero no en el CFP de cultivo preparado en esta tesis. Igual que en el caso de la aproximación por inmunocromatografía y MALDI-TOF realizada previamente, ninguna de estas proteínas ha sido reportada previamente en muestras clínicas de pacientes con TB activa, aunque resulta interesante mencionar que MoeX, una proteína de la familia de la proteína MoaE1 identificada por nosotros, se detectó en orinas de pacientes con TB activa [180]. Ambas proteínas intervienen en la vía de biosíntesis del cofactor molibdeno (MoCo), que interviene en reacciones redox importantes para el crecimiento intracelular, la persistencia y la virulencia de MTB [341]. En concordancia con estos hallazgos nos interesa resaltar el hecho de que la muestra orTB4 fue clasificada como positiva en el ELISA directo. Resta saber si la ausencia de detección de proteínas derivadas de MTB en las otras muestras analizadas se puede deber a que la técnica no es lo suficientemente sensible para la detección de péptidos en muy baja concentración, o al hecho de que el proceso de preparación de las muestras utilizado para el enriquecimiento en proteínas de peso molecular menor a 50 kDa pueda haber generado una pérdida de diferentes proteínas y antígenos.

La identificación de algunas proteínas de MTB en algunas de las muestras de orina de pacientes con TB pulmonar, así como los resultados del ELISA directo validan en cierto punto la hipótesis de trabajo y las estrategias metodológicas aplicadas para la identificación y detección de antígenos de *M. tuberculosis* en dichas muestras, pero parece claro según nuestros resultados que las moléculas y proteínas derivadas del patógeno que circulan durante la enfermedad están en muy baja cantidad y seguramente por debajo del límite de detección de los métodos evaluados durante esta tesis. Por otro lado, lo más probable es que se trate de varias proteínas y moléculas derivadas del patógeno, y no de un antígeno mayoritario, como mostraron nuestros resultados y las evidencias anteriores resumidas en la Tabla 2. Por lo tanto, el desafío experimental actual debería ser el desarrollo de métodos que mejoren significativamente la sensibilidad de las técnicas diagnósticas, por ejemplo inmunoensayos basados en plataformas de electroquimioluminiscencia [158,164] o tecnologías de LC-MS/MS de monitoreo de reacciones paralelas basadas en inmunoafinidad (iPRM) con anticuerpos específicos contra péptidos del patógeno [355]. De hecho, de una exhaustiva revisión de biomarcadores con utilidad en la detección de la TB activa, surge la necesidad actual de priorizar el desarrollo de

reactivos con alta afinidad de unión, que sean utilizados en plataforma altamente sensibles, de forma de lograr metodologías que permitan la detección de antígenos derivados del patógeno con una concentración por debajo de 10 picomolar, es decir menor de 0.5 ng/mL [356]. Adicionalmente, es bastante probable que la detección de biomarcadores derivados del patógeno pudiera favorecerse al utilizar otro tipo de muestra clínica con mayor concentración proteica, como suero o esputo, por ejemplo.

Para testear esta última alternativa nos planteamos el análisis de muestras de líquidos pleurales, sobre los que no se tiene tanta información, considerando que pudieran contener proteínas derivadas del patógeno en mayor concentración y por lo tanto fueran detectables por la metodología de LC MS/MS. En este sentido, tuvimos algunos resultados interesantes por ELISA directo en el grupo de líquidos pleurales con diagnóstico de TB pleural confirmado por cultivo y detectamos la presencia de anticuerpos anti-MTB por ELISA indirecto en una de dichas muestras, lo que apoya reportes previos que describieron la existencia en líquidos pleurales de IgA e IgG que reconocen antígenos micobacterianos recombinantes como Mpt64, EsxR y PPE59 [357]. Sin embargo, no fuimos capaces de detectar de forma confiable péptidos derivados de MTB en la región de bajo peso molecular seleccionada en los geles de acrilamida. Por lo tanto, también en este tipo de muestras podría ser necesario evaluar la totalidad de las proteínas presentes en la muestra y/o explorar estrategias metodológicas que logren un mayor nivel de sensibilidad, como las descritas en el párrafo anterior. Adicionalmente, la ausencia de detección de antígenos derivados del patógeno podría explicarse por el hecho de que la tuberculosis pleural tiene una naturaleza paucibacilar, en la cual el diagnóstico microscópico directo resuelve menos del 10% de los casos, el cultivo microbiológico es positivo entre 20 y 50% de los derrames pleurales tuberculosos [358] y las técnicas basadas en la amplificación de ADN tienen una baja sensibilidad [359]. De hecho, se postula que el derrame pleural se genera como consecuencia de la respuesta inmunológica causada por una infección micobacteriana dentro del espacio pleural, que se caracteriza por una respuesta inflamatoria neutrofílica rápida, seguida por una reacción inmune prolongada mediada por linfocitos que desencadena la formación de granulomas pleurales [323]. Por lo tanto, es plausible que, si bien esperábamos una mayor concentración de antígenos de MTB en estas muestras, los mismos se encuentren contenidos en las células del sistema inmune presentes en el derrame. Esta alternativa se podría explorar mediante el estudio de las células humanas presentes en el líquido pleural, o en vesículas derivadas de las mismas. Coincidente con esta hipótesis, una aproximación de este tipo permitió identificar de 3 proteínas derivadas de *M. tuberculosis* en células de líquidos pleurales, siendo estas FbpB, EsxB y la proteína conservada probablemente secretada Rv1269c [358]. En nuestro caso trabajamos con los líquidos pleurales centrifugados y filtrados por lo que las proteínas intracelulares no fueron analizadas.

Como etapa final realizamos la evaluación de las proteínas derivadas del paciente en los datos obtenidos de las muestras clínicas por medio de LC MS/MS. Si bien originalmente nos centramos en la evaluación de biomarcadores derivados del patógeno, debido a que serían más específicos de la enfermedad que los biomarcadores derivados del paciente, esta estrategia es ampliamente utilizada en la investigación de marcadores de la TB activa. En la revisión sistemática publicada en 2019 por MacLean *et al.* [356], que incluyó la evidencia reportada para biomarcadores derivados del patógeno y del hospedero, se vio que el 90% de los trabajos incluidos (909 de

1008) se refería a esta última categoría de biomarcadores, mientras que 37 de los 44 estudios que cumplían al menos 1 de los criterios de desempeño diagnóstico establecidos por la OMS (sensibilidad ≥80%, especificidad ≥98%) [360] estaban basados en los mismos.

Cuando aplicamos el análisis proteómico diferencial a las muestras de orina disponibles encontramos algunas proteínas que están sobrerrepresentadas en las muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar confirmada. Posteriormente, realizamos un análisis de *clusters* de expresión, que mostró que podría existir un patrón proteómico característico de la enfermedad tuberculosa pulmonar. Por medio de la evaluación de enriquecimiento de términos ontológicos, en las muestras de orina de pacientes con TB pulmonar encontramos algunos patrones proteómicos que podrían indicar que las vías de señalización mediadas por calcio y los procesos de activación de los macrófagos están sobrerrepresentados. Este perfil proteómico asociado con la enfermedad tuberculosa se caracteriza por un enriquecimiento relativo de las proteínas de señalización mediada por Ca^{2+} como las proteínas S100A7, S100A7A, S100A8, S100A9, la calmodulina y la cornulina.

Las proteínas de unión a Ca^{2+} han evolucionado a partir de un ancestro común y están implicadas en la regulación de los niveles intracelulares de Ca^{2+} y de numerosas vías de señalización mediada por dicho ion [361]. Hay algunas proteínas que tienen alta capacidad de unión al Ca^{2+}, que mantienen las reservas de este ion y lo liberan cuando es necesario, por ejemplo, la calsecuestrina y la calretinina. Además, hay proteínas de membrana como la bomba Ca^{2+}-ATPasa asociada con el retículo endoplásmico que regula la concentración citosólica de Ca^{2+}. Por su parte, la calmodulina, la troponina-C y la mayoría de las proteínas S100 son proteínas señalizadoras de Ca^{2+}. Todas tienen el motivo conservado de unión al calcio denominado mano EF (*EF-hand*), compuesto por entre 12 y 14 residuos [362], que mostramos en el Anexo 19 para las proteínas S100 identificadas específicamente en la orina de pacientes con TB pulmonar. Este dominio de mano EF, presenta una estructura de hélice-l*oop*-hélice característica, en la cual los aminoácidos conservados se encuentran en el *loop* y son los que coordinan al Ca^{2+} [363]. A diferencia de la calmodulina y la troponina-C, cuyas actividades están restringidas al medio intracelular, varias proteínas S100 actúan como reguladores intracelulares y como proteínas de señalización extracelulares, que pueden secretarse y / o liberarse para regular las actividades de las células diana de manera paracrina y autocrina [362].

Varias evidencias postulan la importancia del Ca^{2+} y las vías activadas por la calmodulina en la maduración del fagosoma [364,365]. Se ha visto que cuando los macrófagos contienen células de MTB muertas, se da un aumento en los niveles de Calcio, y se recluta la calmodulina (CAM) a la membrana de los fagosomas. El complejo CAM-Ca^{2+} estimula la autofosforilación de la proteína quinasa II dependiente de CAM (CaMKII), la que a su vez promueve la fusión fago-lisosomal (P-L) y la degradación de la bacteria. Por el contrario, la presencia de bacterias vivas inhibe este mecanismo debido a que no aumenta el Ca^{2+}, no se acumula CAM en la membrana y no se activa CAMKII resultando una inhibición de la fusión P-L [365]. Por lo tanto, la alteración de estas vías de señales dependientes de calmodulina sería en parte responsable de la sobrevivencia de *M. tuberculosis* en los macrófagos humanos. En este marco, la sobre-representación de esta vía en orina de pacientes con TB pulmonar podría ser indicativo del pasaje de un estado de latencia a la fase activa de la enfermedad.

Las proteínas S100, por su parte, son la mayor familia multigénica de proteínas de unión a calcio. Presentan una importante actividad antimicrobiana, por lo que entran en la categoría de péptidos antimicrobianos debido a su pequeño tamaño (9-13kDa), y constituyen la defensa inmune natural contra un amplio espectro de patógenos [333]. Se ha visto que la expresión de las proteínas de unión a calcio S100A7, S100A8 y S100A9 está aumentada por la presencia de citoquinas proinflamatorias, como la IL-1 [366], así como por la presencia de patrones moleculares bacterianos, como la proteína flagelina, reconocidos por el receptor Toll-like 5 (TLR5) de la célula blanco [367,368].

Como se desarrolló en la introducción de esta tesis, *M. tuberculosis*, como patógeno intracelular, es fagocitado principalmente por macrófagos alveolares en las vías respiratorias inferiores. Sin embargo, las células del epitelio respiratorio y alveolar son la amplia mayoría de las células que el patógeno contacta durante el ingreso a las vías respiratorias y durante las diferentes etapas de la enfermedad. Estas células epiteliales contribuyen de forma significativa a la respuesta inmune en los pulmones al censar patógenos intra y extracelulares, como virus y bacterias [369]. Las investigaciones utilizando líneas celulares humanas y murinas epiteliales han mostrado los mecanismos potenciales de reconocimiento y respuesta a la infección por MTB, incluyendo liberación de citoquinas y acciones antimicrobianas [370,371]. Recientemente, un estudio transcriptómico en líneas primarias humanas del epitelio de las vías respiratorias expuestas a un ambiente proinflamatorio desencadenado por su co-cultivo con una línea mieloide infectada con MTB, mostró la sobreexpresión de un panel de 70 genes, incluyendo citoquinas y péptidos antimicrobianos, entre ellos las proteínas de unión a Ca^{2+} S100A7, S100A7A y S100A12 [372]. Este estudio adicionalmente demostró que la proteína S100A7 es capaz de inhibir el crecimiento de MTB en cultivo, mostrando por primera vez su capacidad antimicrobiana contra dicho patógeno. De esta forma, los autores plantearon como hipótesis que las células del epitelio bronquioalveolar responden contra MTB, amplificando la respuesta inmunológica iniciada por los macrófagos infectados, por medio de mecanismos basados en efectores antimicrobianos [372]. A través de esta respuesta a las citoquinas derivadas de las células mieloides, las células epiteliales de las vías respiratorias probablemente cumplen un papel no redundante en la respuesta inmune innata del hospedero humano frente a la infección por MTB. La identificación diferencial de estas proteínas S100 en orinas derivadas de pacientes con TB pulmonar activa, confirmaría que los resultados obtenidos *in vitro* podrían estar efectivamente asociados a una respuesta antibacteriana desarrollada por el hospedero contra MTB *in vivo*.

Otra evidencia del rol de estas proteínas en la tuberculosis, es el hecho de que se ha visto la proteína de unión a calcio S100A9 presenta una elevada expresión en los neutrófilos que se agrupan en el área central de los granulomas ($S100A9^{+}$), tanto en modelos animales experimentales como en muestras de tejidos granulomatosos humanos [373]. Los autores propusieron que la proteína S100A9 expresada por estas células podría jugar diferentes roles en la formación de los granulomas, incluyendo el reclutamiento de neutrófilos de la sangre periférica, la construcción de un foco inflamatorio que permita el desarrollo del granuloma y la formación de un granuloma organizado con un centro de neutrófilos $S100A9^{+}$. Esta evidencia ha llevado a evaluar, con resultados positivos, la utilidad del fármaco oncológico tasquinimod, inhibidor de S100A9, en el bloqueo de la formación de granulomas [373]. S100A9 se expresa en

la mayoría de los tejidos como un complejo heterodimérico con S100A8 [374,375]. Se ha visto en modelos murinos de la enfermedad que los niveles de heterodímero S100A8/A9 aumentan luego de la infección con TB, disminuyen durante el tratamiento con antibióticos y aumentan en caso de reactivación de la enfermedad [376]. Al verificar esto en suero de pacientes antes y después del tratamiento, los autores sugirieron que monitorear los niveles de S100A8/A9 en suero podría ser un biomarcador subrogado potencial de la efectividad del tratamiento y la reactivación por TB [376].

En este punto es importante mencionar que la posible aplicación de estas proteínas como biomarcadores de la enfermedad tuberculosa queda sujeta a diferentes consideraciones. En primer lugar, a diferencia de las moléculas derivadas del patógeno, en este caso no serían marcadores específicos. Como fue mencionado previamente las proteínas S100A7 y S100A7A, se han visto en el caso de lesiones o inflamación de la piel como la psoriasis [332,334]. Por su parte, las proteínas S100A8, S100A9 y S100A12, se han encontrado en altas concentraciones en diferentes muestras clínicas, en diversas patologías inflamatorias tanto infecciosas como no infecciosas, como la artritis y las enfermedades inflamatorias crónicas pulmonares e intestinales [313,377]. De hecho, fue postulado que dichas proteínas serían indicadores más sensibles de la activación de las células fagocíticas que otros parámetros convencionales de inflamación y su utilidad diagnóstica se justificaría en casos de inflamaciones agudas o crónicas no infecciosas, para el monitoreo del grado de afectación y la respuesta al tratamiento de pacientes individuales [377]. Sin embargo, en coincidencia con nuestros resultados, la expresión de la proteína S100A9, se ha visto incrementada en suero de pacientes con TB pulmonar en comparación con voluntarios sanos, pacientes con pulmonía y pacientes con cáncer de pulmón, lo que ha permitido postularla, en combinación con las proteínas SOD3 y MMP9, como un biomarcador diagnóstico de la TB pulmonar [378]. En segundo lugar, ninguna de estas proteínas se encuentra en la totalidad de las muestras de orina de pacientes con TB pulmonar analizadas, aunque sí sólo se encuentran en estas muestras y no en las muestras control. Esto podría indicar que quizás este mecanismo sólo esté sobrerrepresentado en algún tipo de paciente o en alguna etapa de la enfermedad. En particular, la calmodulina se encuentra en las muestras orTB2, orTB4, orTB5 y orTB6, la proteína S100A7 y la cornulina se identificaron en las muestras orTB4, orTB5 y orTB6, la proteína S100A7A en las muestras orTB4 y orTB5 y las proteínas S100A8 y S100A9 sólo se detectaron en la muestra orTB4. Además, pese a que nosotros no las identificamos en los controles, todas ellas fueron reportadas en el análisis del proteoma de orina de un pool de 10 voluntarios sanos, que permitió identificar más de 1500 proteínas diferentes [314]. Por lo anteriormente expuesto, más que plantearnos que estos resultados puedan tener un valor diagnóstico independiente de otros test, consideramos probable que las aproximaciones basadas en la detección y/o cuantificación de biomarcadores derivados del paciente puedan complementar una batería de pruebas diagnósticas directas.

En cuanto a los líquidos pleurales, el análisis diferencial de las proteínas del hospedero muestra un aumento de las vías relacionadas con la proteólisis dependiente del proteasoma y con los procesos de fagocitosis, exocitosis y endocitosis, así como la presencia de algunas proteínas diferenciales que podrían ser interesantes en relación a su posible implicancia en la enfermedad pleural, en particular una serie de proteínas pertenecientes a la familia Rab. En relación a esta familia de proteínas, existen numerosas isoformas de Rab en las membranas de diferentes

compartimentos celulares (retículo endoplásmico, Golgi, endosomas, lisosomas, membrana plasmática, etc.), donde participan en el tráfico de membrana y en la señalización intracelular, a partir de la interacción con una variedad de proteínas efectoras. Son muy reconocidas por sus funciones cruciales en las vías endocíticas y exocíticas, y en las rutas secretoras reguladas donde controlan el tráfico anterógrado y retrógrado entre compartimentos para gestionar la entrega de carga y el reciclaje de membranas [379]. En este sentido hemos descrito previamente que *M. tuberculosis* emplea una amplia variedad de moduladores inmunes para invadir y proliferar en células fagocíticas profesionales, como macrófagos, neutrófilos, monocitos y células dendríticas, al inhibir la acidificación del fagosoma y el reclutamiento de las enzimas líticas lisosomales [52]. Ha sido observado *in vitro* que los fagosomas donde reside *M. tuberculosis* luego de la infección se caracterizan por la presencia de Rab5, Rab10, Rab22b y Rab23, y se postula que la permanencia de Rab5 en la membrana del fagosoma inhibe la maduración del mismo y la fusión al lisosoma [328]. Esta inhibición generaría fagosomas inmaduros en los cuales MTB es capaz de replicarse y persistir [379]. La identificación de varias proteínas Rab únicamente en muestras de líquidos pleurales pertenecientes a los grupos 2 y 3, es decir con diagnóstico presuntivo o confirmado de TB pleural, y ausentes en las muestras de los pacientes del grupo 1, que presentan derrame pleural debido a otros motivos, es un hallazgo interesante para continuar profundizando.

Por último, como describimos en la introducción, un estudio previo, que evaluó las firmas moleculares del hospedero como biomarcadores de utilidad diagnóstica, encontró que 7 proteínas séricas (la proteína C-reactiva, la transtirretina, el IFN-γ, el factor H del complemento, la apolipoproteína-A1, la proteína 10 inducible por interferón γ (IP-10) y la proteína amiloide sérica A) mostraban niveles que podrían ayudar a discriminar a los pacientes con enfermedad tuberculosa. Estos son marcadores no específicos y bien conocidos de la inmunidad innata y la inflamación, que se han estudiado también para otras enfermedades [200]. En nuestro estudio, estas proteínas se encuentran presentes en todos los líquidos pleurales evaluados y no muestran un nivel de expresión diferencial en los diferentes grupos de pacientes con TB pleural. En contraposición, la mayoría de estas proteínas no se encuentran en las muestras de orina evaluadas, estando presente únicamente el factor H del complemento en orTB4 y la apolipoproteína D en orTB4, orTB5 y orTB6. Por lo tanto, nuestro análisis de las muestras disponibles no permitió verificar estos resultados.

En este sentido, es importante recordar que en este caso no estamos evaluando la totalidad del proteoma de las muestras clínicas disponibles, sino que nos enfocamos en el análisis de proteínas de bajo peso molecular. Para complementar este trabajo, podría ser interesante analizar muestras sin enriquecimiento previo, así como disponer de un número mayor de muestras de TB y de otro tipo de enfermedades pulmonares para verificar si el perfil proteómico observado es específico de la tuberculosis o es común a otros procesos patológicos. La aproximación proteómica evaluada en esta tesis es de gran valor ya que constituye una metodología no sesgada de identificación de biomarcadores, tal como está recomendado actualmente para la evaluación de biomarcadores derivados del patógeno y del paciente con utilidad en el diagnóstico de la tuberculosis activa.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS GENERALES

Una meta para el control de la tuberculosis a nivel mundial es el desarrollo de una prueba rápida, simple, de bajo costo, que detecte uno o más biomarcadores y que pueda implementarse en el primer punto de contacto del paciente con el sistema de salud, de forma de identificar rápidamente aquellos pacientes que deben ser analizados por pruebas confirmatorias. Sin embargo, a pesar de la investigación activa en el área, debido a las características particulares de este patógeno intracelular, lograr este tipo de prueba diagnóstica continúa constituyendo un importante desafío tecnológico.

En este contexto nos planteamos contribuir con la identificación y caracterización de los principales biomarcadores de la TB activa en muestras clínicas, con la visión final de colaborar en el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico de la enfermedad. Nos centramos en 2 estrategias complementarias, por un lado, profundizar en el conocimiento de las proteínas derivadas del patógeno potencialmente presentes en muestras del paciente, y por otro lado abordar la identificación de biomarcadores derivados del hospedero que podrían constituir una firma molecular característica de la enfermedad. Ambas aproximaciones se diseñaron enmarcadas en el objetivo final de desarrollar herramientas para la identificación de dichos biomarcadores en muestras clínicas, las que se evaluaron en este trabajo en orinas y líquidos pleurales de pacientes con TB activa.

En una primera etapa se identificaron y caracterizaron las principales proteínas secretadas o expresadas por *M. tuberculosis* en cultivo, ya que según nuestra hipótesis de trabajo dichas proteínas corresponderían a biomarcadores de utilidad diagnóstica. Los principales resultados de esta etapa son la obtención y caracterización desde el punto de vista proteómico y glicoproteómico del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis*, y la evaluación cuali-cuantitativa de las proteínas presentes en dicho sobrenadante apoyada por un extenso trabajo comparativo e integrativo con el conocimiento previo disponible. De esta forma, identificamos 1314 proteínas en el sobrenadante de cultivo preparado, confirmando que posee una buena representación de proteínas micobacterianas secretadas y de membrana. Además, presentamos evidencia a nivel proteómico de proteínas no reportadas anteriormente. Mostramos que existe una correlación global de las proteínas con alta representación en el sobrenadante de cultivo con algunas vías claves relacionadas con la patogenicidad de MTB y detectamos entre estas proteínas abundantes a varios de los biomarcadores proteicos de la enfermedad evaluados hasta el momento, confirmando que sobrenadante de cultivo ofrece una representación razonable de lo que se ha encontrado en muestras biológicas. El análisis glicoproteómico permitió la identificación de 46 proteínas que presentaban eventos de O-glicosilación, exhibiendo una importante coincidencia con los reportes previos, e identificando péptidos glicosilados en proteínas que han sido anteriormente postuladas conteniendo dicha modificación postraduccional. Además, 2 biomarcadores conocidos de la tuberculosis activa están O-glicosilados - las proteínas Apa y PstS1-, lo que justifica el análisis de esta PTM para el diseño y la evaluación de pruebas diagnósticas basadas en anticuerpos dirigidos contra antígenos de *M. tuberculosis*. Este estudio también describe 33 proteínas O-glicosiladas nuevas, lo que es un interesante aporte en esta área de investigación actualmente en expansión.

Como perspectivas de esta primera sección, planteamos que este estudio podría replicarse para abordar cuestiones relacionadas con la patogenicidad, virulencia, persistencia o resistencia a drogas de *M. tuberculosis*, por medio del estudio proteómico comparativo de diferentes modelos experimentales, candidatos vacunales nuevos o aislados clínicos relacionados con brotes epidémicos. Por ejemplo, nosotros obtuvimos el sobrenadante de cultivo de una cepa de colección de *M. avium* y caracterizamos algunos de las principales proteínas, por lo que efectuar una evaluación proteómica y glicoproteómica comparativa entre ambas cepas podría aportar datos en relación a la biología de esta micobacteria no tuberculosa de crecimiento lento, que en determinadas condiciones de inmunosupresión o de enfermedades pulmonares subyacentes puede causar enfermedades en el ser humano. Adicionalmente el estudio de modificaciones debido a mono, di y trihexosas podría ampliarse a la evaluación de otras modificaciones postraduccionales de las que hay menor grado de evidencia en *M. tuberculosis*.

En una segunda parte del trabajo, generamos y purificamos anticuerpos policlonales contra los antígenos del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* y *M. avium*, y contra el extracto de orina de voluntarios sanos. Los anticuerpos mostraron títulos altos y una buena especificidad de reconocimiento. El reconocimiento de los anticuerpos anti-*M. tuberculosis* fue evaluado con una batería de antígenos recombinantes o purificados disponibles. Adicionalmente, se inmovilizaron estos anticuerpos en resinas de afinidad para generar herramientas de purificación de antígenos a partir de muestras clínicas. Finalmente, esta segunda etapa culminó con la puesta a punto de 3 formatos diferentes de ELISA - ELISA de captura, ELISA directo y ELISA competitivo -, que fueron utilizados luego en el *screening* de biomarcadores de *M. tuberculosis* en orina de pacientes con TB pulmonar y en líquidos pleurales de pacientes con sospecha de TB pleural.

Algunos resultados obtenidos con estos métodos inmunológicos, y en particular con el formato de ELISA directo, plantean un interesante punto de partida para el desarrollo de herramientas de diagnóstico de la enfermedad. Durante esta evaluación nos enfrentamos también a limitaciones del desempeño de estos métodos con las diferentes muestras clínicas disponibles, principalmente debido a interferencias de la matriz de análisis. Esta interferencia tuvo su mayor efecto en el formato de captura, que *a priori* es el test con mayor potencial para la detección de antígenos en muestras clínicas. Una posible perspectiva para mejorarlo sería la purificación de los anticuerpos policlonales mediante resinas de afinidad, que se generen inmovilizando los antígenos del sobrenadante de cultivo, para enriquecer la fracción de inmunoglobulinas específicas, o explorar la producción de anticuerpos monoclonales guiada por los resultados del análisis proteómico de la primera sección. Aunque en principio no constituye un formato con practicidad diagnóstica, los resultados del ELISA directo estarían apoyando la existencia de biomarcadores detectables en la orina y en los líquidos pleurales de los pacientes con TB, y podría utilizarse para realizar la evaluación de los anticuerpos policlonales monoespecíficos y para el *screening* durante la generación de anticuerpos monoclonales. Como un resultado adicional, en esta exploración de inmunoensayos obtuvimos resultados interesantes en un formato ELISA indirecto, basado en la detección de anticuerpos en las muestras clínicas contra el antígeno CFP de *M. tuberculosis*, mostrando el potencial que tendría este antígeno, o fracciones derivadas del mismo, para explorar nuevos desarrollos en la detección de anticuerpos en serología o en muestras de esputo. En el caso del ELISA indirecto, conocer él o los antígenos específicos reconocidos por los anticuerpos presentes en orina o líquido pleural sería

importante, por ejemplo, para evaluar anticuerpos monoclonales o policlonales diseñados contra los mismos.

Estas estrategias, sumadas a la exploración de métodos más sensibles de detección, justifican actividades adicionales en relación a la detección de biomarcadores o anticuerpos para el diagnóstico de TB. También resulta interesante la evaluación de los diferentes ELISA de detección de antígeno presentados en este trabajo, y en particular el ELISA de captura, para el seguimiento del sobrenadante del cultivo microbiológico de muestras clínicas, de forma de tener una confirmación más rápida del crecimiento. Una aproximación similar a este planteo es el método rápido de identificación de especies basado en la detección del antígeno Mpt64 en cultivos positivos (Capilia™ TB). Este tipo de desarrollo se podría plantear con los anticuerpos policlonales disponibles o con anticuerpos monoclonales desarrollados contra los antígenos más abundantes del sobrenadante de cultivo. Sería interesante, en este caso, que los antígenos seleccionados para la generación de anticuerpos permitieran además una discriminación entre las bacterias pertenecientes al MTBC y al grupo de NTM. En un análisis preliminar de nuestros resultados visualizamos que cumplirían con estas condiciones, por ejemplo, las proteínas PstS1 (Rv0934), PPE41 (Rv2430c), PE25 (Rv2431c) y EsxA (Rv3875), entre otras.

Finalmente, en la tercera sección de esta tesis, realizamos un análisis proteómico de las muestras clínicas de pacientes con TB activa, con el objetivo de identificar biomarcadores de enfermedad. Durante este análisis evaluamos 6 muestras de orina de pacientes con TB pulmonar confirmada por diagnóstico y 4 muestras de orina de voluntarios sanos. Centrando el estudio en las proteínas derivadas del patógeno, por medio de métodos de purificación inmunocromatográficos con las resinas de afinidad generadas identificamos en 1 muestra de orina 2 proteínas de *Mycobacterium*, la proteína de *cold-shock* A y la transposasa. Adicionalmente, mediante un análisis proteómico no sesgado de las proteínas de bajo peso molecular detectamos en otra muestra la presencia de péptidos de 3 proteínas de *M. tuberculosis*: Cyp130, MoaE1 y DinB2. Estas proteínas derivadas del patógeno, que hasta nuestro conocimiento no han sido identificadas previamente en muestras de pacientes con tuberculosis, podrían potencialmente ser biomarcadores asociados con la enfermedad, y en este sentido sería deseable confirmarlo con el análisis de un mayor número de muestras. Adicionalmente, surge la posibilidad de realizar una búsqueda específica de estos marcadores en muestras clínicas adicionales, sean orinas o de otro tipo, utilizando anticuerpos monoclonales o policlonales. En relación a este planteo, como parte final del trabajo, presentamos un análisis similar de 6 muestras de líquidos pleurales con diagnóstico de TB pleural confirmado por cultivo o por dosificación de la enzima ADA. Considerando que no logramos detectar proteínas derivadas del patógeno en dichas muestras, hipotetizamos que probablemente la concentración de estas proteínas esté por debajo de los límites de detección de las metodologías proteómicas evaluadas. En este punto, nos planteamos como perspectiva ampliar la evaluación presentada a la totalidad de las proteínas en las muestras, abarcando también las proteínas de alto peso molecular, por ejemplo, mediante una estrategia similar a la que empleamos en la evaluación del sobrenadante de cultivo de MTB. Por otro lado, sería interesante evaluar otro tipo de muestras, como esputo o suero, y como se ha comentado, continuar explorando muestras de orina para un número mayor de pacientes, ya que dicha muestra presenta varias ventajas y nuestro trabajo, al igual que otros previos, confirma que contiene proteínas derivadas de *M.*

tuberculosis. Una opción alternativa a explorar, debido a reportes previos alentadores, es la evaluación de proteínas derivadas de MTB en las células del paciente o en vesículas derivadas de estas.

Por otro lado, analizando la composición de proteínas derivadas del paciente en las muestras disponibles y comparándola entre grupos de pacientes y controles, encontramos que algunas proteínas están sobrerrepresentadas en los pacientes con TB pulmonar confirmada, planteando un patrón proteómico característico de la enfermedad tuberculosa pulmonar. En particular, en orinas, encontramos que las vías de señalización mediadas por calcio están aumentadas de forma significativa, específicamente, la calmodulina, la cornulina y las proteínas S100, pertenecientes a una familia multigénica de péptidos con actividad antimicrobiana reportada. El análisis de líquidos pleurales, por su parte, mostró un aumento de las vías relacionadas con la proteólisis dependiente del proteasoma y con los procesos de fagocitosis, exocitosis y endocitosis, y en particular, la presencia diferencial de varias proteínas de la familia Rab. Estos resultados indicarían la existencia de una firma molecular caracterizada por la presencia diferencial de ciertas proteínas derivadas del hospedero, que seguramente estén relacionadas con el proceso patológico desencadenado por *M. tuberculosis*, aunque su real significancia deberá establecerse mediante la comparación con el perfil encontrado en el contexto de otro tipo de patologías pulmonares, de carácter infeccioso o no, que pueden activar la inmunidad en forma similar. De todas formas, este análisis resulta también interesante desde el punto de vista del conocimiento de la respuesta del paciente frente al patógeno, y podría eventualmente utilizarse para complementar el resto de las pruebas diagnósticas directas.

En conclusión, se realizó una exhaustiva exploración, utilizando diferentes metodologías disponibles, para la búsqueda y detección de biomarcadores. Por un lado, herramientas de alto rendimiento como la técnica de nano HPLC acoplada a MS/MS, y por otro lado metodologías de alta sensibilidad, como los inmunoensayos. Estas aproximaciones nos permitieron identificar diferentes biomarcadores como potenciales indicadores de la TB activa, tanto derivados del patógeno como del paciente. Se espera que estos hallazgos contribuyan con la investigación sobre biomarcadores de utilidad diagnóstica, factores de virulencia y candidatos a vacunas, y proporcionen pistas para comprender la patogénesis y las estrategias de supervivencia adoptadas por *M. tuberculosis*.

ANEXOS

Anexo 1 Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis

Anexo 2 Integrative proteomic and glycoproteomic profiling of Mycobacterium tuberculosis culture filtrate

Anexo 3 Proteínas de M. avium identificadas en el sobrenadante de cultivo por espectrometría de masas MALDI-TOF

Banda	Proteína identificada	Peso molecular	Proteína (Uniprot)	*M. avium* (locus)	Función
A1	5-methyltetrahydropteroyl triglutamate-homocysteine methyltransferase metE [*M. avium*]	81,5 kDa	A0QC69	**MAV_1262**	Cataliza la transferencia de un grupo metilo de 5-metiltetrahidrofolato a homocisteína para formar metionina.
A1	Transketolase tkt [*M. avium*]	75,4 kDa	A0A0H3A5C4	**MAV_3327**	Cataliza la formación de ribosa 5-fosfato y xilulosa 5-fosfato.
A1	Malate synthase G glcB [*M. avium*]	80,3 kDa	A0QGM8	**MAV_2880**	Cataliza la formación de malato a partir de glioxilato y acetil-coA.
A2	Adenylate kinase adk [*M. avium*]	20,0 kDa	A0A0H3A021	**MAV_4433**	Involucrada en la homeostasis de la energía celular. Recicla el AMP de las células; convierte ATP y AMP en 2 moléculas de ADP.
A2	Alkylhydroperoxide reductase [*M. avium*]	21,6 kDa	A0A0H3A2I9	**MAV_2839**	Presenta dominio tiorredoxina. Se identifica por similaridad con otras proteínas de la familia.
A2	[Mn]-superoxide dismutase" [*M. avium*]	23,0 kDa	A0A0H2ZVN7	**MAV_0182**	Participa en la detoxificación de especies reactivas de oxígeno y radicales superóxido.
A3	Queratina [*H. sapiens*]	---	---	**---**	----------

Nota: La tabla se completó con datos obtenidos de las referencias [226,381].

Anexo 4 Lista de proteínas comunes identificadas en el sobrenante de cultivo de MTB ordenada según el valor NSAF

Anexo 5 Proteinas en el sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis H37Rv con péptido señal predicho con la herramienta SignalP 5.0

Anexo 6 Proteinas compartidas y particulares identificadas en el análisis proteómico integrativo del sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis H37Rv

Anexo 7 Lista de proteínas identificadas en el CFP de esta tesis y en las 3 fracciones evaluadas por de Souza et al., 2011 [234]***.***

Anexo 8 Proteínas identificadas en el CFP de M. tuberculosis sin anotación proteómica en la base de datos Mycobrowser (Release 3 (2018-06-05))

Anexo 9 Péptidos correspondientes a la identificación de proteínas sin evidencia previa a nivel de expresión

Anexo 10 Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis H37Rv

Anexo 11 Algunas proteínas en las que se evidencia la presencia de péptidos equivalentes glicosilados y no glicosilados.

Apa (Rv1860) Mod=Hex

PatternLab for Proteomics Version=4.1.1.13

Generate Search DB | Search (Comet PSM) | Filter | Project Organization | Quant | Select | Analyze | Utils | Help

.: Filter :: Search Engine Processor (SEPro - for PSMs)

File | Statistics | Tools

Control | Follow up | Result Browser

Spec FDR: 44 / 36033 = 0.12% Pep FDR: 27 / 17879 = 0.15% Prot FDR: 14 / 1494 = 0.94% # Prot (Max Parsimony): 1474 Unique Prot: 1473 Unlabeled Decoys: 0 / 0

View mode: Proteins | Proteins Max Pars | Peptides | Scans — alanine and pro

	anceCount	SpectrumCount	NSAF	Coverage	Protein Score	Description
1		84	0.00227426563649607	0.7262	292.4047	Alanine and proline-rich secreted protein Apa OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=apa PE=1 SV=1

	File Name	Scan No	Z	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
69	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20588	4	True	3133.529787	3132.549738	-7.43602	3.0849	5.15162298739723	0.36	38	0.5174	K.FSDPSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
70	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19457	3	True	4243.27512	4240.27647	-2.6866	4.4726	9.46523262160497	0.4967	35	0.56732	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPTTPTPQR.T
71	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19135	4	True	4242.275046	4240.27647	-1.91501	4.3682	7.61703184147197	0.4518	42	0.53736	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPTTPTPQR.T
72	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18825	3	True	4566.377537	4564.382118	-2.47045	3.0734	4.99377817702983	0.0469	26	0.3594	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR.T
73	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18776	4	True	4566.377585	4564.382118	-2.45994	3.3228	5.22320989406123	0.0531	32	0.33023	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR.T
74	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18850	4	True	4564.378265	4564.382118	-0.84415	2.7023	-0.928219302739429	0.0578	32	0.31426	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR.T
75	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19094	3	True	4402.327971	4402.329294	-0.30052	3.9087	9.61081793857331	0.1726	28	0.38789	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR.T
76	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19160	4	True	4405.340475	4402.329294	0.25673	4.0045	5.12941883008622	0.223	33	0.3666	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR.T
77	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	19370	4	True	4404.31655	4402.329294	-4.41476	2.9788	1.50058350752202	0.1886	33	0.34597	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR.T
78	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20710	2	True	2807.54051	2807.545427	-1.75135	3.3637	12.0287636305598	0.5994	21	0.79808	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPA.G
79	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20608	3	True	2807.539511	2807.545427	-2.10718	3.0844	6.91276782080568	0.38	19	0.65245	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPA.G
80	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18551	3	True	2784.421482	2783.422352	-1.51558	3.1142	5.27655587476652	0.3501	28	0.71765	D.PSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
81	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	14912	2	True	1589.80266	1589.807067	-2.77204	3.2521	11.4641353008008	0.5696	16	0.80322	D.PPFPGQPPPVANDTR.I
82	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	15140	2	True	1832.016145	1832.017729	-0.86462	3.2069	12.1610992798874	0.6047	21	0.81038	D.PNAPPPPVIAPNAPQPVR.I
83	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	15989	3	True	2663.412205	2662.409996	-0.4284	3.4855	8.37309284744248	0.4948	26	0.76474	D.PNAAPPPADPNAPPPPVIAPNAPQPVR.I
84	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	31022	3	True	3212.554295	3210.553092	-1.7111	4.1085	14.6433326418508	0.5379	28	0.79416	D.NPVGGFSFALPAGWVESDAAHFDYGSALLSK.T

LprF (Rv1368) Mod=Hex

PatternLab for Proteomics Version=4.1.1.13

Generate Search DB | Search (Comet PSM) | Filter | Project Organization | Quant | Select | Analyze | Utils | Help

.: Filter :: Search Engine Processor (SEPro - for PSMs)

File | Statistics | Tools

Control | Follow up | Result Browser

Spec FDR: 44 / 36033 = 0.12% Pep FDR: 27 / 17879 = 0.15% Prot FDR: 14 / 1494 = 0.94% # Prot (Max Parsimony): 1474 Unique Prot: 1473 Unlabeled Decoys: 0 / 0

View mode: Proteins | Proteins Max Pars | Peptides | Scans — lprf

	anceCount	SpectrumCount	NSAF	Coverage	Protein Score	Description
1		18	0.000606844279032202	0.6322	57.5418	Putative diacylated glycolipid transporter LprF OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lprF PE=1 SV=1

	File Name	Scan No	Z	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
3	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	22239	4	True	4216.116354	4213.12724	-4.96571	3.598	2.777400279237	0.2243	40	0.37338	K.GLHSVHVVVTVNNLSTLPFESVDADVTNQPGGNGQAVGNAK.V
4	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	17226	2	True	1417.766185	1417.768557	-1.67305	2.6259	7.754053639303626	0.5213	16	0.54237	K.IYDPGIILDKDR.G
5	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	17214	3	True	1417.766867	1417.768557	-1.19202	2.4377	5.11599580975408	0.3657	19	0.43355	K.IYDPGIILDKDR.G
6	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	21129	4	True	3093.67568	3092.685109	-4.13069	3.0991	4.24052707240018	0.3189	35	0.42083	K.IYDPGIILDKDRGLGAVVGQVQNPTIQGR.D
7	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	12961	3	True	2949.403721	2949.405879	-0.73167	3.4126	12.0909598384297	0.096	26	0.32854	K.KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)PSPEAQQILQDSSK.A
8	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	13266	3	True	2788.349278	2787.353055	-2.55599	3.0382	7.84680299797891	0.0764	29	0.31843	K.KPTTASSPSPGS(+162.052824)PSPEAQQILQDSSK.A
9	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	13707	3	True	2626.299839	2625.300231	-1.42482	3.8708	7.48045630646622	0.3047	31	0.42022	K.KPTTASSPSPGSPSPEAQQILQDSSK.A
10	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	8710	2	True	1334.666674	1334.669905	-2.42083	2.5707	6.67664355801875	0.4374	14	0.48627	K.RGGDYVSVGPAEK.I
11	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	23603	3	True	1893.068761	1893.069156	-0.20866	2.7493	6.46306945772069	0.4334	20	0.4939	K.VSGTIDAAVIDPIVPQLGK.G
12	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	23535	2	True	1893.064295	1893.069156	-2.56779	3.2671	9.83957422679248	0.525	17	0.56508	K.VSGTIDAAVIDPIVPQLGK.G
13	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	14269	2	True	1671.818256	1671.81842	-0.0981	3.0646	9.62585581593785	0.5693	17	0.79537	P.GSPSPEAQQILQDSSK.A
14	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	13027	2	True	1002.544191	1002.546602	-2.40488	1.6905	0.109814866007207	0.2561	12	0.35807	R.DAIDGLATVK.V
15	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	10611	2	True	1178.566698	1178.568794	-1.77843	1.4583	-0.157003748809665	0.1533	9	0.29922	R.GGDYVSVGPAEK.I
16	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	16227	2	True	1693.926806	1693.934393	-4.47894	3.4524	11.7537239515232	0.5277	17	0.5593	R.GLGAVVGQVQNPTIQGR.D
17	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	16305	3	True	1693.936341	1693.934393	1.14998	3.2621	9.66132599538616	0.5395	21	0.54928	R.GLGAVVGQVQNPTIQGR.D
18	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	28521	3	True	2433.346958	2433.350022	-1.25917	3.7486	8.2023824515762	0.4944	27	0.56355	R.LPITLWIVDTNASTPAPAANLVR.M

Anexo 11 Algunas proteínas en las que se evidencia la presencia de péptidos equivalentes glicosilados y no glicosilados.

LppO (Rv2290) Mod= Hex-Hex

PatternLab for Proteomics Version=4.1.1.13

Generate Search DB | Search (Comet PSM) | Filter | Project Organization | Quant | Select | Analyze | Utils | Help

.: Filter :: Search Engine Processor (SEPro - for PSMs)

File | Statistics | Tools

Control | Follow up | Result Browser

Spec FDR: 47 / 35750 = 0.13% Pep FDR: 22 / 17513 = 0.13% Prot FDR: 14 / 1467 = 0.95% # Prot (Max Parsimony): 1454 Unique Prot: 1453 Unlabeled Decoys: 0 / 0

View mode: Proteins | Proteins Max Pars | Peptides | Scans | lppo

	Coverage	Protein Score	Description
1	6801147621 0.386	12.924	Putative lipoprotein LppO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppO PE=1 SV=1

	File Name	Scan No	Z	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
1	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	13877	3	True	2610.249681	2610.250429	-0.28656	3.1995	10.404362845449	0.504	23	0.62307	K.IGSVDYQM(+15.994900)PYQPVQSPTQVEATR.Q
2	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	16352	3	True	2594.248692	2594.255529	-2.63545	2.0502	2.81842325858358	0.2536	17	0.40816	K.IGSVDYQMPYQPVQSPTQVEATR.Q
3	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3439	2	True	1660.735033	1660.739514	-2.6982	1.8711	6.2606520369236	0.3618	10	0.45859	R.TAT(+324.105600)PSESGTQTTR.V
4	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3796	2	True	1336.631226	1336.633914	-2.01103	2.1087	7.02428909523809	0.5115	12	0.57607	R.TATPSESGTQTTR.V
5	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	20182	3	True	3044.490025	3043.485466	0.39711	3.6945	8.62255370707406	0.4541	29	0.58379	R.VNAHDDSASVTLSLSDSTPPDVNGFGISLK.I

Apa (Rv1860) Mod=Hex-Hex-Hex

PatternLab for Proteomics Version=4.1.1.13

Generate Search DB | Search (Comet PSM) | Filter | Project Organization | Quant | Select | Analyze | Utils | Help

.: Filter :: Search Engine Processor (SEPro - for PSMs)

File | Statistics | Tools

Control | Follow up | Result Browser

Spec FDR: 49 / 36000 = 0.14% Pep FDR: 24 / 17635 = 0.14% Prot FDR: 15 / 1505 = 1% # Prot (Max Parsimony): 1487 Unique Prot: 1482 Unlabeled Decoys: 0 / 0

View mode: Proteins | Proteins Max Pars | Peptides | Scans | alan

	Coverage	Protein Score	Description
1	0.7262	290.7926	Alanine and proline-rich secreted protein Apa OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=apa PE=1 SV=1

	File Name	Scan No	Z	Unique	MeasuredMH	TheoreticalMH	PPM	PrimaryScore	SecondaryScore	DeltaCN	PeaksMatched	BayesianScore	PeptideSequence
4	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	14912	2	True	1589.80266	1589.807067	-2.77204	3.2521	9.63346041532307	0.5696	16	0.87783	D.PPFPGQPPPVANDTR.I
5	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18551	3	True	2784.421482	2783.422352	-1.51558	3.1142	7.05741605353654	0.4147	28	0.88319	D.PSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
6	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20710	2	True	2807.54051	2807.545427	-1.75135	3.3637	13.9582268601659	0.6612	21	0.88537	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPA.G
7	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20608	3	True	2807.539511	2807.545427	-2.10718	3.0844	6.13302811142977	0.4044	19	0.74689	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPA.G
8	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18664	4	True	4727.432272	4726.43487	-1.25819	3.8271	6.21460809842219	0.2129	40	0.45812	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
9	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18976	4	True	4729.443991	4726.43487	-0.19643	2.8751	0.632993257740198	0.1703	34	0.44238	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
10	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18680	3	True	4729.444676	4726.43487	-0.05159	2.9347	0.809680996815897	0.1332	24	0.43961	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
11	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18662	4	True	4729.442038	4726.43487	-0.60937	3.2876	3.21637894466961	0.2441	39	0.46967	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
12	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18970	3	True	4729.434055	4726.43487	-2.29732	2.8923	4.45675018086982	0.1416	27	0.43944	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
13	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	17848	4	True	4727.4186	4726.43487	-4.15026	2.5616	0.877070018720874	0.116	38	0.41738	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T
14	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19135	4	True	4242.275046	4240.27647	-1.91501	4.3682	8.58976388425107	0.4678	42	0.53825	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPTPTTPTPQR.T
15	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19457	3	True	4243.27512	4240.27647	-2.6866	4.4726	13.9399406363425	0.4594	35	0.52648	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPEAPAPAPAPAGEVAPTPTTPTPQR.T
16	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	20426	3	True	3133.547581	3132.549738	-1.75743	4.8469	17.0700135604756	0.6323	34	0.75078	K.FSDPSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
17	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	19127	4	True	3133.548727	3132.549738	-1.39171	3.7053	7.5752347127935	0.4352	30	0.59224	K.FSDPSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
18	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20066	2	True	3133.550585	3132.549738	-0.79877	4.7078	22.519033327572	0.6916	27	0.77766	K.FSDPSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W
19	171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20441	3	True	3133.533824	3132.549738	-6.14769	3.9926	11.9498812401698	0.5666	28	0.6711	K.FSDPSKPNGQIWTGVIGSPAANAPDAGPPQR.W

Anexo 12 Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de M. tuberculosis H37Rv (Lipoproteínas)

Anexo 13 Comparación del sitio de O-glicosilación con la literatura disponible

					¿Coincidencia en la identificación del péptido y el sitio de O-glicosilación?		
Gen	**Locus Rv**	**Proteína (MycoBrowser)**	**Péptido identificado (modificación)**	**Ubicación de la modificación**	**Smith 2014** [265]	**Birhanu 2019** [261]	**Herrmann 2000** [293]
Rv2799	Rv2799	Probable membrane protein	SPIVAT(+162.052824)TDPSPFDPCRDIPFDVIQR	T73	Si	Mismo péptido (T74)	No predicha
apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	T313	Si	No	Diferente a la predicción
			ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR	T315 & T316	Si	No	Diferente a la predicción
			ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+324.105600)PTTPTPQR	T313	Si	No	Diferente a la predicción
			ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	T313	Si	No	Diferente a la predicción
lprA	Rv1270c	Possible lipoprotein LprA	ASDTAAT(+162.052824)ASNGDAAM(+15.994900)LLK	T40	Si	Mismo péptido (S42)	No predicha
lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO	T(+162.052824)ATPSESGTQTTR	T73	Si	Mismo péptido (T75)	No predicha
			T(+162.052824)AT(+162.052824)PSESGTQTTR	T73 & T75	Si	Solamente T75	
			TAT(+324.105600)PSESGTQTTR	T75	Si	Si	
Rv3491	Rv3491	Unknown protein	QPFS(+162.052824)LQLIGPPPSPVQR	S167	Mismo péptido (S176)	Mismo péptido (S176)	No predicha
			LSKQPFSLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR	S176	Si	Si	
dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF	SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAAT(+162.052824)QVPAGQTVPAQLQFSAK	T33 & T40	No identificada	Si	Predicción NetOGly, no ensayada
			SQPAVAPTGDAAAAT(+324.105600)QVPAGQTVPAQLQFSAK	T40	No identificada	Si	

					¿Coincidencia en la identificación del péptido y el sitio de O-glicosilación?		
Gen	**Locus Rv**	**Proteína (MycoBrowser)**	**Péptido identificado (modificación)**	**Ubicación de la modificación**	**Smith 2014** [265]	**Birhanu 2019** [261]	**Herrmann 2000** [293]
wag31	Rv2145c	Diviva family protein Wag31	ERKHS(+162.052824)EIMGTINQQR	S192	No identificada	No	No predicha
htrA	Rv1223	Probable serine protease HtrA (DEGP protein)	KTAEVVDAFTTS(+162.052824)K	S212	No identificada	No	No predicha
lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	S31 & T34	No identificada	Si	T34 & T35 Predicción NetOGly y unión a ConA
			STTGSGETT(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	T35	No identificada	Si	
			STTGSGET(+486.158400)TTAAGTTASPGAASGPK	T34	No identificada	Si	
			STTGSGET(+486.158400)T(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	T34 & T35	No identificada	Si	
mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	T49	No identificada	No identificada	T49 predicción NetOGly y unión a ConA
pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (PstS1)	PANQAIS(+162.052824)M(+15.994900)IDGPAPDGYPIINYEYAIVNNR	S299	No identificada	No identificada	Diferente a la predicción
lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF	KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)PSPEAQQILQDSSK	S50 & S53	No identificada	Solamente S53	Predicción NetOGly, no ensayada
			KPTTASSPSPGS(+324.105600)PSPEAQQILQDSSK	S53	No identificada	Si	

Anexo 14 Análisis de los datos crudos de Albrethsen et al., 2013

Anexo 15 Identificación en Mascot de la proteína transposasa de M. tuberculosis

1. gi|1038038233 **Mass:** 46463 **Score:** 61 **Expect:** 66 **Matches:** 3

transposase [Mycobacterium sp. 852002-51296_SCH5728562-a]

Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Start	End	Miss	Ions	Peptide
922.4505	921.4432	921.4457	-0.0025	310 -	316	1	---	K.GWNRFDK.A
990.5262	989.5189	989.5328	-0.0139	113 -	120	1	---	R.MTVEKLNR.R
1201.6503	1200.6430	1200.6575	-0.0144	137 -	147	1	57	R.ASRSLDGQVIR.S

Anexo 16 Búsquedas en blastP de los péptidos de M. tuberculosis identificados por LC MS/MS

1) Péptido LLLYGSANR, proteína Cyp 130

Reports | Lineage | Organism | Taxonomy

100 sequences selected

Taxonomy	Number of hits	Number of Organisms	Description
⊟Bacteria	294	149	
. ⊟Terrabacteria group	292	148	
. . ⊟Actinobacteria	290	146	
. . . ⊟Actinobacteria	288	144	
. . . . ⊟Corynebacteriales	287	143	
. . . . . ⊟Mycobacteriaceae	1	138	Mycobacteriaceae hits
. . . . . ⊟Mycobacteroides	120	28	
. . . . . ⊞Mycobacteroides abscessus	40	22	Mycobacteroides abscessus hits
. . . . . Mycobacteroides saopaulense	3	1	Mycobacteroides saopaulense hits
. . . . . ⊞Mycobacteroides chelonae	8	2	Mycobacteroides chelonae hits
. . . . . Mycobacteroides salmoniphilum	7	1	Mycobacteroides salmoniphilum hits
. . . . . Mycobacteroides immunogenum	8	1	Mycobacteroides immunogenum hits
. . . . . Mycobacteroides franklinii	2	1	Mycobacteroides franklinii hits
. . . . . ⊟Mycobacterium	1	102	Mycobacterium hits
. . . . . ⊞Mycobacterium tuberculosis complex	60	57	
. . . . . ⊞Mycobacterium avium complex (MAC)	2	16	Mycobacterium avium complex (MAC) hits
. . . . . Mycobacterium paraseoulense	2	1	Mycobacterium paraseoulense hits
. . . . . ⊞unclassified Mycobacterium	3	13	unclassified Mycobacterium hits
. . . . . Mycobacterium bourgelatii	1	1	Mycobacterium bourgelatii hits
. . . . . ⊞Mycobacterium simiae complex	9	3	
. . . . . Mycobacterium marinum	3	1	Mycobacterium marinum hits
. . . . . Mycobacterium pseudokansasii	2	1	Mycobacterium pseudokansasii hits
. . . . . ⊞Mycobacterium kansasii	10	2	Mycobacterium kansasii hits
. . . . . ⊞Mycobacterium ulcerans	2	2	Mycobacterium ulcerans hits
. . . . . Mycobacterium innocens	1	1	Mycobacterium innocens hits
. . . . . Mycobacterium asiaticum	2	1	Mycobacterium asiaticum hits
. . . . . ⊞Mycobacterium gastri	2	2	Mycobacterium gastri hits
. . . . . Mycobacteriaceae bacterium	1	1	Mycobacteriaceae bacterium hits
. . . . . ⊞Mycolicibacterium	13	6	
. . . . . ⊞Rhodococcus	6	5	
. . . . Geodermatophilus sabuli	1	1	Geodermatophilus sabuli hits
. . . ⊞Ferrithrix	2	2	
. . ⊞Tolypothrix	2	2	
. Deltaproteobacteria bacterium	2	1	Deltaproteobacteria bacterium hits

2) Péptido RAEAFDAARM, proteína MoaE1

Reports | Lineage | Organism | Taxonomy

100 sequences selected

Taxonomy	Number of hits	Number of Organisms	Description
⊟cellular organisms	3496	1704	
. ⊟Bacteria	3491	1699	
. . ⊟Terrabacteria group	3476	1692	
. . . ⊟Mycobacteriaceae	3474	1691	
. . . . ⊟Mycobacterium	1	1691	Mycobacterium hits
. . . . . ⊟Mycobacterium tuberculosis complex	1	1689	Mycobacterium tuberculosis complex hits
. . . . . ⊞Mycobacterium tuberculosis	125	1681	Mycobacterium tuberculosis hits
. . . . . ⊞Mycobacterium canettii	3	6	Mycobacterium canettii hits
. . . . . Mycobacterium orygis 112400015	1	1	Mycobacterium orygis 112400015 hits
. . . . . Mycobacterium basiliense	2	1	Mycobacterium basiliense hits
. . . Streptococcus pneumoniae	2	1	Streptococcus pneumoniae hits
. . ⊟Proteobacteria	15	7	
. . . ⊟Pseudomonadales	11	4	
. . . . ⊞Azotobacter	10	3	
. . . . Pseudomonadales bacterium GWC1_66_9	1	1	Pseudomonadales bacterium GWC1_66_9 hits
. . . Bdellovibrionales bacterium	1	1	Bdellovibrionales bacterium hits
. . . Xanthobacteraceae bacterium	1	1	Xanthobacteraceae bacterium hits
. . . Minicystis rosea	2	1	Minicystis rosea hits
. ⊟Eukaryota	5	5	
. . ⊟Boletales	3	3	
. . . ⊟Rhizopogon	2	2	
. . . . Rhizopogon vinicolor AM-OR11-026	1	1	Rhizopogon vinicolor AM-OR11-026 hits
. . . . Rhizopogon vesiculosus	1	1	Rhizopogon vesiculosus hits
. . . Paxillus rubicundulus Ve08.2h10	1	1	Paxillus rubicundulus Ve08.2h10 hits
. . ⊟unclassified Phytomonas	2	2	
. . . Phytomonas sp. isolate EM1	1	1	Phytomonas sp. isolate EM1 hits
. . . Phytomonas sp. isolate Hart1	1	1	Phytomonas sp. isolate Hart1 hits

3) Péptido SEMESAVTELAQRTLNEVVASSR, proteína DinB2

Reports | **Lineage** | **Organism** | **Taxonomy**

100 sequences selected

Taxonomy	Number of hits	Number of Organisms	Description
⊟Mycobacteriaceae	1880	1704	
. ⊟Mycobacterium	1	1703	Mycobacterium hits
. . ⊟Mycobacterium tuberculosis complex	1804	1677	
. . . ⊞Mycobacterium tuberculosis	114	1668	Mycobacterium tuberculosis hits
. . . ⊞Mycobacterium canettii	5	6	Mycobacterium canettii hits
. . . ⊞Mycobacterium orygis	3	2	Mycobacterium orygis hits
. . . Mycobacterium decipiens	2	1	Mycobacterium decipiens hits
. . Mycobacterium shinjukuense	3	1	Mycobacterium shinjukuense hits
. . Mycobacterium lacus	3	1	Mycobacterium lacus hits
. . Mycobacterium gordonae	6	1	Mycobacterium gordonae hits
. . ⊞Mycobacterium simiae complex	12	5	
. . ⊞unclassified Mycobacterium	10	5	
. . Mycobacterium riyadhense	3	1	Mycobacterium riyadhense hits
. . ⊞Mycobacterium asiaticum	11	2	Mycobacterium asiaticum hits
. . Mycobacterium branderi	3	1	Mycobacterium branderi hits
. . Mycobacterium malmoense	3	1	Mycobacterium malmoense hits
. . Mycobacterium kyorinense	2	1	Mycobacterium kyorinense hits
. . Mycobacterium cookii	1	1	Mycobacterium cookii hits
. . Mycobacterium fragae	2	1	Mycobacterium fragae hits
. . ⊞Mycobacterium haemophilum	6	2	Mycobacterium haemophilum hits
. . Mycobacterium celatum	3	1	Mycobacterium celatum hits
. . Mycobacterium szulgai	2	1	Mycobacterium szulgai hits
. Mycolicibacterium chitae	3	1	Mycolicibacterium chitae hits

Anexo 17 Proteínas derivadas del paciente identificadas en las muestras de orina

Anexo 18 Análisis la categoría Función molecular de proteínas específicas de muestras derivadas de pacientes con TB pulmonar.

1) Términos enriquecidos

Category	Term	Count	%	P-Value	Benjamini
GOTERM_MF_DIRECT	calcium ion binding	25	25,3	5,5E-13	9,9E-11
GOTERM_MF_DIRECT	serine-type endopeptidase inhibitor activity	8	8,1	1,1E-6	9,4E-5
GOTERM_MF_DIRECT	protease binding	8	8,1	1,4E-6	8,2E-5
GOTERM_MF_DIRECT	serine-type endopeptidase activity	10	10,1	1,1E-5	5,0E-4
GOTERM_MF_DIRECT	heparin binding	8	8,1	2,9E-5	1,0E-3
GOTERM_MF_DIRECT	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity	5	5,1	3,5E-5	1,0E-3
GOTERM_MF_DIRECT	virus receptor activity	5	5,1	6,0E-4	1,5E-2
GOTERM_MF_DIRECT	peptidase activity	5	5,1	1,5E-3	3,4E-2
GOTERM_MF_DIRECT	integrin binding	5	5,1	2,7E-3	5,2E-2
GOTERM_MF_DIRECT	lipid binding	5	5,1	9,7E-3	1,6E-1

Notas de la tabla: Se seleccionó para el análisis GO-Slim Molecular Function de la herramienta de clasificación génica PANTHER Classification System. Como *background* se seleccionaron las proteínas totales de *H. sapiens* (referencia).

2) Proteínas de la categoría Unión al Calcio

UNIPROT_ACCESSION	GENE NAME
57124	CD248 molecule(CD248)
8826	IQ motif containing GTPase activating protein 1(IQGAP1)
6278	S100 calcium binding protein A7(S100A7)
338324	S100 calcium binding protein A7A(S100A7A)
6279	S100 calcium binding protein A8(S100A8)
6280	S100 calcium binding protein A9(S100A9)
53841	cadherin related family member 5(CDHR5)
793	calbindin 1(CALB1)
801	calmodulin 1(CALM1)
810	calmodulin like 3(CALML3)
51806	calmodulin like 5(CALML5)
2147	coagulation factor II, thrombin(F2)
49860	cornulin(CRNN)
1830	desmoglein 3(DSG3)
2200	fibrillin 1(FBN1)
2199	fibulin 2(FBLN2)
10516	fibulin 5(FBLN5)
57493	heart development protein with EGF like domains 1(HEG1)
83872	hemicentin 1(HMCN1)
4052	latent transforming growth factor beta binding protein 1(LTBP1)
4053	latent transforming growth factor beta binding protein 2(LTBP2)
3936	lymphocyte cytosolic protein 1(LCP1)
22915	multimerin 1(MMRN1)
5645	protease, serine 2(PRSS2)
7273	titin(TTN)

Anexo 19 Análisis de las 4 proteínas de unión a calcio S100 identificadas en orinas de pacientes con TB pulmonar.

1) Alineamiento de las 4 proteínas de unión a calcio S100

```
sp|P31151|S10A7_HUMAN_Protein_S100-A7      --MSNTQAERSIIGMIDMFHKYTRRD---DKIEKPSLLTMMKENFPNFLSACDKKGTNYL      55
sp|Q86SG5|S1A7A_HUMAN_Protein_S100-A7A     --MSNTQAERSIIGMIDMFHKYTGRD---GKIEKPSLLTMMKENFPNFLSACDKKGIHYL      55
sp|P05109|S10A8_HUMAN_Protein_S100-A8      ---MLTELEKALNSIIDVYHKYSLIKGNFHAVYRDDLKKLLETECPQYIRK-KG-----A      51
sp|P06702|S10A9_HUMAN_Protein_S100-A9      MTCKMSQLERNIETIINTFHQYSVKLGHPDTLNQGEFKELVRKDLQNFLKK-ENKNEKVI      59
                                                :: *: :  :*: :*:*:        : : .:  ::. :  :::   .

sp|P31151|S10A7_HUMAN_Protein_S100-A7      ADVFEKKDKNEDKKIDFSEFLSLLGDIATDYHKQSHGAAPCSGGSQ---------     101
sp|Q86SG5|S1A7A_HUMAN_Protein_S100-A7A     ATVFEKKDKNEDKKIDFSEFLSLLGDIAADYHKQSHGAAPCSGGSQ---------     101
sp|P05109|S10A8_HUMAN_Protein_S100-A8      DVWFKELDINTDGAVNFQEFLILVIKMGVAAHKKSHEESHKE-------------     93
sp|P06702|S10A9_HUMAN_Protein_S100-A9      EHIMEDLDTNADKQLSFEEFIMLMARLTWASHEKMHEGDEGPGHHHKPGLGEGTP     114
                                              ::. * * *  :.*.**: *:  :    *:: *
```

Alineamiento realizado utilizando la herramienta Clustal Omega [335]. Se marca el dominio de unión a calcio con un rectángulo con borde gris

2) Representación de logos secuencia del alineamiento entre el aminoácido 61 y el 100.

Representación mediante la herramienta WebLogo [328]. Se marca el dominio de unión a calcio con un rectángulo con borde gris

Anexo 20 Núcleos comunes de proteínas identificadas en los grupos de muestras de líquido pleural

REFERENCIAS

1. Rastogi N, Legrand E, Sola C. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. Rev Sci Tech. 2001 Apr;20(1):21–54.
2. Sakula A. Robert koch: centenary of the discovery of the tubercle bacillus, 1882. Can Vet J = La Rev Vet Can. 1983 Apr;24(4):127–31.
3. Parte AC. LPSN – List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. Int J Syst Evol Microbiol. 2018 Jun 1;68(6):1825–9.
4. Bernard K, Funke G. The Actinobacteria. Goodfellow M, Kampfer P, Busse H-J, Trujillo ME, Suzuki K, Ludwig W, et al., editors. Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology Volume 5. 2012. 245–289 p.
5. Fu LM, Fu-Liu CS. Is Mycobacterium tuberculosis a closer relative to Gram-positive or Gram-negative bacterial pathogens? Tuberculosis. 2002;82(2–3):85–90.
6. Gupta RS, Lo B, Son J. Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus Mycobacterium into an Emended Genus Mycobacterium and Four Novel Genera. Front Microbiol. 2018;9:67.
7. Tortoli E, Fedrizzi T, Meehan CJ, Trovato A, Grottola A, Giacobazzi E, et al. The new phylogeny of the genus Mycobacterium : The old and the news. Infect Genet Evol. 2017 Dec;56:19–25.
8. Shinnick TM, Good RC. Mycobacterial taxonomy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1994;13(11):884–901.
9. Stahl DA, Urbance JW. The Division between Fast-and Slow-Growing Species Corresponds to Natural Relationships among the Mycobacteria. Vol. 172, JOURNAL OF BACTERIOLOGY. 1990.
10. Tortoli E, Fedrizzi T, Pecorari M, Giacobazzi E, De Sanctis V, Bertorelli R, et al. The new phylogenesis of the genus Mycobacterium. Int J Mycobacteriology. 2015 Mar;4:77.
11. Hartmans S, De Bont JAM, Stackebrandt E. The Genus Mycobacterium—Nonmedical. The Prokaryotes. 2006. 889–918 p.
12. Roth A, Fischer M, Hamid ME, Michalke S, Ludwig W, Mauch H. Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences. J Clin Microbiol. 1998 Jan;36(1):139–47.
13. Kim H, Kim S-H, Shim T-S, Kim M, Bai G-H, Park Y-G, et al. Differentiation of Mycobacterium species by analysis of the heat-shock protein 65 gene (hsp65). Int J Syst Evol Microbiol. 2005 Jul 1;55(4):1649–56.
14. Kasai H, Ezaki T, Harayama S. Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria by their gyrB sequences. J Clin Microbiol. 2000 Jan;38(1):301–8.
15. Tortoli E. Phylogeny of the genus Mycobacterium: Many doubts, few certainties. Infect Genet Evol. 2012 Jun;12(4):827–31.
16. Guillemin I, Cambau E, Jarlier V. Sequences of conserved region in the A subunit of DNA gyrase from nine species of the genus Mycobacterium: phylogenetic analysis and implication for intrinsic susceptibility to quinolones. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Sep 1;39(9):2145–9.
17. Wu D, Hugenholtz P, Mavromatis K, Pukall R, Dalin E, Ivanova NN, et al. A phylogeny-driven genomic encyclopaedia of Bacteria and Archaea. Nature. 2009 Dec 24;462(7276):1056–60.
18. Gao B, Gupta RS. Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for the Main Clades of the Phylum Actinobacteria. Microbiol Mol Biol Rev. 2012;76:66–112.
19. Jagielski T, Minias A, van Ingen J, Rastogi N, Brzostek A, Żaczek A, et al. Methodological and Clinical Aspects of the Molecular Epidemiology of Mycobacterium tuberculosis and Other Mycobacteria. Clin Microbiol Rev. 2016 Apr 24;29(2):239–90.
20. Ernst JD. Mechanisms of M. tuberculosis Immune Evasion as Challenges to TB Vaccine Design. Cell Host Microbe. 2018 Jul;24(1):34–42.
21. Brosch R, Gordon S V., Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, et al. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Mar 19;99(6):3684–9.
22. Gordon S V., Brosch R, Billault A, Garnier T, Eiglmeier K, Cole ST. Identification of variable regions in the genomes of tubercle bacilli using bacterial artificial chromosome arrays. Mol Microbiol. 1999;32(3):643–55.

23. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. Science (80-). 1999 May 28;284(5419):1520–3.
24. Guinn KM, Hickey MJ, Mathur SK, Zakel KL, Grotzke JE, Lewinsohn DM, et al. Individual RD1-region genes are required for export of ESAT-6/CFP-10 and for virulence of Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol. 2004 Feb 23;51(2):359–70.
25. Brites D, Gagneux S. Strain Variation in the Mycobacterium tuberculosis Complex: Its Role in Biology, Epidemiology and Control. Adv Exp Med Biol. 2017;1019:1–26.
26. Orgeur M, Brosch R. Evolution of virulence in the Mycobacterium tuberculosis complex. Curr Opin Microbiol. 2018;41:68–75.
27. Supply P, Marceau M, Mangenot S, Roche D, Rouanet C, Khanna V, et al. Genomic analysis of smooth tubercle bacilli provides insights into ancestry and pathoadaptation of Mycobacterium tuberculosis. Nat Genet. 2013 Feb 6;45(2):172–9.
28. Rodríguez De Marco J. Tuberculosis pulmonar. Manual para el equipo técnico de atención primaria de Salud. Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enterfemades Prevalentes (CHLA-EP). Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. p. 1–16.
29. Houben RMGJ, Dodd PJ. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling. 2016;
30. Vynnycky E. Lifetime Risks, Incubation Period, and Serial Interval of Tuberculosis. Am J Epidemiol. 2000 Aug 1;152(3):247–63.
31. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. Geneva; 2018.
32. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2019. Geneva; 2019.
33. Floyd K, Glaziou P, Zumla A, Raviglione M. The global tuberculosis epidemic and progress in care, prevention, and research: an overview in year 3 of the End TB era. Lancet Respir Med. 2018;6(4):299–314.
34. Ministerio de Salud Pública; Comisión Honoraria para la lucha Antituberculosa y enfermedades prevalentes; Facultad de Medicina U. Guia Nacional para el manejo de la Tuberculosis. 3° Edición. 2016.
35. Rivas C, Greif G, Coitinho C, Araújo L, Laserra P, Robello C. Primeros casos de tuberculosis pulmonar por Mycobacterium bovis: una zoonosis reemergente en Uruguay. Rev Médica del Uruguay. 2012;28(3):209–14.
36. Rodríguez de Marco J, Sánchez D, Alvarez Goya M. El Control de la Tuberculosis en Uruguay 25 años de la Implantación del Programa Nacional de Control de la Tuberculosis. Montevideo; 2007.
37. World Health Organization. BCG vaccines: WHO position paper-Recommendations. Wkly Epidemiol Rec. 2018;(8):73–96.
38. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016. 2016.
39. Lerner TR, Borel S, Gutierrez MG. The innate immune response in human tuberculosis. Cell Microbiol. 2015 Sep;17(9):1277–85.
40. Bussi C, Gutierrez MG. Mycobacterium tuberculosis infection of host cells in space and time. FEMS Microbiol Rev. 2019 Mar 27;
41. Eum S-Y, Kong J-H, Hong M-S, Lee Y-J, Kim J-H, Hwang S-H, et al. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. Chest. 2010 Jan;137(1):122–8.
42. Scordo JM, Knoell DL, Torrelles JB. Alveolar Epithelial Cells in Mycobacterium tuberculosis Infection: Active Players or Innocent Bystanders? J Innate Immun. 2016;8(1):3–14.
43. Srivastava S, Ernst JD, Desvignes L. Beyond macrophages: the diversity of mononuclear cells in tuberculosis. Immunol Rev. 2014 Nov;262(1):179–92.
44. de Martino M, Lodi L, Galli L, Chiappini E. Immune Response to Mycobacterium tuberculosis: A Narrative Review. Front Pediatr. 2019 Aug 27;7.
45. Cooper AM. Cell-mediated immune responses in tuberculosis. Annu Rev Immunol. 2009;27:393–422.
46. Rubin EJ. The Granuloma in Tuberculosis — Friend or Foe? N Engl J Med. 2009 Jun 4;360(23):2471–3.
47. Mattila JT, Ojo OO, Kepka-Lenhart D, Marino S, Kim JH, Eum SY, et al. Microenvironments in

Tuberculous Granulomas Are Delineated by Distinct Populations of Macrophage Subsets and Expression of Nitric Oxide Synthase and Arginase Isoforms. J Immunol. 2013 Jul 15;191(2):773–84.

48. Zondervan N, van Dam J, Schaap P, Martins dos Santos V, Suarez-Diez M. Regulation of Three Virulence Strategies of Mycobacterium tuberculosis: A Success Story. Int J Mol Sci. 2018 Jan 24;19(2):347.
49. Meena LS, Rajni. Survival mechanisms of pathogenic Mycobacterium tuberculosis H37Rv. FEBS J. 2010 Jun;277(11):2416–27.
50. Gengenbacher M, Kaufmann SHE. Mycobacterium tuberculosis : success through dormancy. FEMS Microbiol Rev. 2012 May;36(3):514–32.
51. Yates RM, Hermetter A, Russell DG. The Kinetics of Phagosome Maturation as a Function of Phagosome/Lysosome Fusion and Acquisition of Hydrolytic Activity. Traffic. 2005 May;6(5):413–20.
52. Carranza C, Chavez-Galan L. Several Routes to the Same Destination: Inhibition of Phagosome-Lysosome Fusion by Mycobacterium tuberculosis. American Journal of the Medical Sciences. 2019.
53. Alonso S, Pethe K, Russell DG, Purdy GE. Lysosomal killing of Mycobacterium mediated by ubiquitin-derived peptides is enhanced by autophagy. Proc Natl Acad Sci. 2007 Apr 3;104(14):6031–6.
54. VanderVen BC, Huang L, Rohde KH, Russell DG. The Minimal Unit of Infection: Mycobacterium tuberculosis in the Macrophage. In: Tuberculosis and the Tubercle Bacillus, Second Edition. American Society of Microbiology; 2016. p. 635–52.
55. Sturgill-Koszycki S, Schlesinger PH, Chakraborty P, Haddix PL, Collins HL, Fok AK, et al. Lack of acidification in Mycobacterium phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase. Science. 1994 Feb 4;263(5147):678–81.
56. Piacenza L, Trujillo M, Radi R. Reactive species and pathogen antioxidant networks during phagocytosis. J Exp Med. 2019 Mar 4;216(3):501–16.
57. Velmurugan K, Chen B, Miller JL, Azogue S, Gurses S, Hsu T, et al. Mycobacterium tuberculosis nuoG Is a Virulence Gene That Inhibits Apoptosis of Infected Host Cells. PLoS Pathog. 2007 Jul;3(7):e110.
58. Ouimet M, Koster S, Sakowski E, Ramkhelawon B, van Solingen C, Oldebeken S, et al. Mycobacterium tuberculosis induces the miR-33 locus to reprogram autophagy and host lipid metabolism. Nat Immunol. 2016 Jun 18;17(6):677–86.
59. van der Wel N, Hava D, Houben D, Fluitsma D, van Zon M, Pierson J, et al. M. tuberculosis and M. leprae Translocate from the Phagolysosome to the Cytosol in Myeloid Cells. Cell. 2007 Jun 29;129(7):1287–98.
60. BoseDasgupta S, Pieters J. Macrophage-microbe interaction: lessons learned from the pathogen Mycobacterium tuberculosis. Semin Immunopathol. 2018 Nov 10;40(6):577–91.
61. Gomez JE, McKinney JD. M. tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance. Tuberculosis (Edinb). 2004;84(1–2):29–44.
62. Voskuil MI, Schnappinger D, Visconti KC, Harrell MI, Dolganov GM, Sherman DR, et al. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a Mycobacterium tuberculosis dormancy program. J Exp Med. 2003 Sep 1;198(5):705–13.
63. Chen T, He L, Deng W, Xie J. The Mycobacterium DosR regulon structure and diversity revealed by comparative genomic analysis. J Cell Biochem. 2013 Jan;114(1):1–6.
64. Leistikow RL, Morton RA, Bartek IL, Frimpong I, Wagner K, Voskuil MI. The Mycobacterium tuberculosis DosR Regulon Assists in Metabolic Homeostasis and Enables Rapid Recovery from Nonrespiring Dormancy. J Bacteriol. 2010 Mar 15;192(6):1662–70.
65. Kana BD, Gordhan BG, Downing KJ, Sung N, Vostroktunova G, Machowski EE, et al. The resuscitation-promoting factors of Mycobacterium tuberculosis are required for virulence and resuscitation from dormancy but are collectively dispensable for growth in vitro. Mol Microbiol. 2008 Feb;67(3):672–84.
66. Sani M, Houben ENG, Geurtsen J, Pierson J, de Punder K, van Zon M, et al. Direct visualization by cryo-EM of the mycobacterial capsular layer: a labile structure containing ESX-1-secreted proteins.

PLoS Pathog. 2010 Mar 5;6(3):e1000794.
67. Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R, et al. Phagosomal rupture by Mycobacterium tuberculosis results in toxicity and host cell death. PLoS Pathog. 2012 Feb;8(2):e1002507.
68. Deitsch KW, Lukehart SA, Stringer JR. Common strategies for antigenic variation by bacterial, fungal and protozoan pathogens. Nat Rev Microbiol. 2009 Jul 8;7(7):493–503.
69. Comas I, Chakravartti J, Small PM, Galagan J, Niemann S, Kremer K, et al. Human T cell epitopes of Mycobacterium tuberculosis are evolutionarily hyperconserved. Nat Genet. 2010 Jun 23;42(6):498–503.
70. Coscolla M, Copin R, Sutherland J, Gehre F, de Jong B, Owolabi O, et al. M. tuberculosis T Cell Epitope Analysis Reveals Paucity of Antigenic Variation and Identifies Rare Variable TB Antigens. Cell Host Microbe. 2015 Nov 11;18(5):538–48.
71. Chegou NN, Hoek KG, Kriel M, Warren RM, Victor TC, Walzl G. Tuberculosis assays: past, present and future. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011 Apr 10;9(4):457–69.
72. Steingart KR, Flores LL, Dendukuri N, Schiller I, Laal S, Ramsay A, et al. Commercial serological tests for the diagnosis of active pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: an updated systematic review and meta-analysis. PLoS Med. 2011;8(8):e1001062.
73. World Health Organization. Latent tuberculosis infection Updated and consolidated guidelines for programmatic management. 2018.
74. Nayak S, Acharjya B. Mantoux test and its interpretation. Indian Dermatol Online J. 2012 Jan;3(1):2–6.
75. Meier NR, Jacobsen M, Ottenhoff THM, Ritz N. A Systematic Review on Novel Mycobacterium tuberculosis Antigens and Their Discriminatory Potential for the Diagnosis of Latent and Active Tuberculosis. Front Immunol. 2018;9:2476.
76. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet. 2000;356:1099–104.
77. Peters B, Sette Daniel Park A, Taplitz R, Kwok WW, Magdalini Moutaftsi H, Coler R, et al. Dissecting Mechanisms of Immunodominance. J Immunol. 2012;
78. Pai M, Denkinger CM, Kik S V., Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma Interferon Release Assays for Detection of Mycobacterium tuberculosis Infection. Clin Microbiol Rev. 2014 Jan 1;27(1):3–20.
79. Sharma SK, Vashishtha R, Chauhan LS, Sreenivas V, Seth D. Comparison of TST and IGRA in Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in a High TB-Burden Setting. PLoS One. 2017;12(1):e0169539.
80. Aggerbeck H, Ruhwald M, Hoff ST, Borregaard B, Hellstrom E, Malahleha M, et al. C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial. Goletti D, editor. PLoS One. 2018 Sep 24;13(9):e0204554.
81. Ruhwald M, de Thurah L, Kuchaka D, Zaher MR, Salman AM, Abdel-Ghaffar A-R, et al. Introducing the ESAT-6 free IGRA, a companion diagnostic for TB vaccines based on ESAT-6. Sci Rep. 2017 May 7;7(1):45969.
82. Getnet F, Demissie M, Assefa N, Mengistie B, Worku A. Delay in diagnosis of pulmonary tuberculosis in low-and middle-income settings: systematic review and meta-analysis. BMC Pulm Med. 2017 Dec 13;17(1):202.
83. World Health Organization. Chest radiography in tuberculosis detection – summary of current WHO recommendations and guidance on programmatic approaches. 2016.
84. World Health Organization. Implementing Tuberculosis Diagnosis: Policy framework. 2015.
85. Azadi D, Motallebirad T, Ghaffari K, Shojaei H. Mycobacteriosis and Tuberculosis: Laboratory Diagnosis. Open Microbiol J. 2018;12:41–58.
86. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis: Parte I Baciloscopía. 2008.
87. World Health Organization. Proposed reduction of number of smears for the diagnosis of pulmonary TB: background document. 2007.
88. World Health Organization. Fluorescent light-emitting diode (LED) microscopy for diagnosis of tuberculosis Policy statement. 2011.

89. Cuevas LE, Al-Sonboli N, Lawson L, Yassin MA, Arbide I, Al-Aghbari N, et al. LED fluorescence microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a multi-country cross-sectional evaluation. PLoS Med. 2011 Jul;8(7):e1001057.

90. European Centre for Disease Prevention and Control. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union – Updated 2018. 2018.

91. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis: Parte 2 Cultivo. 2008.

92. Asmar S, Drancourt M. Rapid culture-based diagnosis of pulmonary tuberculosis in developed and developing countries. Front Microbiol. 2015 Nov 3;6:1184.

93. Somoskövi A, Ködmön C, Lantos A, Bártfai Z, Tamási L, Füzy J, et al. Comparison of recoveries of mycobacterium tuberculosis using the automated BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Löwenstein-Jensen medium. J Clin Microbiol. 2000 Jun;38(6):2395–7.

94. Lee J, Suo J, Lin C, Wang J, Lin T, Tsai Y, et al. Comparative evaluation of the BACTEC MGIT 960 system with solid medium for isolation of mycobacteria. Vol. 7, INT J TUBERC LUNG DIS. 2003.

95. Hanna BA, Ebrahimzadeh A, Elliott LB, Morgan MA, Novak SM, Rusch-Gerdes S, et al. Multicenter evaluation of the BACTEC MGIT 960 system for recovery of mycobacteria. J Clin Microbiol. 1999 Mar;37(3):748–52.

96. Kim S-C, Jeon B-Y, Kim J-S, Choi IH, Kim J, Woo J, et al. Performance of the BacT Alert 3D System Versus Solid Media for Recovery and Drug Susceptibility Testing of Mycobacterium tuberculosis in a Tertiary Hospital in Korea. Tuberc Respir Dis (Seoul). 2016 Oct;79(4):282–8.

97. Espasa M, Salvadó M, Vicente E, Tudó G, Alcaide F, Coll P, et al. Evaluation of the VersaTREK system compared to the Bactec MGIT 960 system for first-line drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol. 2012 Feb;50(2):488–91.

98. Woods GL, Fish G, Plaunt M, Murphy T. Clinical evaluation of difco ESP culture system II for growth and detection of mycobacteria. J Clin Microbiol. 1997 Jan;35(1):121–4.

99. Arora J, Kumar G, Verma AK, Bhalla M, Sarin R, Myneedu VP. Utility of MPT64 Antigen Detection for Rapid Confirmation of Mycobacterium tuberculosis Complex. J Glob Infect Dis. 2015;7(2):66–9.

100. Ramos A, Carvalho T, Ribeiro M, Guimarães JT. Capilia™ TB-Neo assay: a new tool for rapid distinction between tuberculous and non-tuberculous mycobacteria. Int J Tuberc Lung Dis. 2016 Jun 1;20(6):753–6.

101. Parkash O, Singh BP, Pai M. Regions of Differences Encoded Antigens as Targets for Immunodiagnosis of Tuberculosis in Humans. Scand J Immunol. 2009 Oct 1;70(4):345–57.

102. Hirano K, Aono A, Takahashi M, Abe C. Mutations including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB-negative Mycobacterium tuberculosis isolates. J Clin Microbiol. 2004 Jan;42(1):390–2.

103. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Nontuberculous Mycobacterial Diseases. Am J Respir Crit Care Med. 2007 Feb 15;175(4):367–416.

104. Parsons LM, Brosch R, Cole ST, Somoskövi A, Loder A, Bretzel G, et al. Rapid and simple approach for identification of Mycobacterium tuberculosis complex isolates by PCR-based genomic deletion analysis. J Clin Microbiol. 2002 Jul;40(7):2339–45.

105. Alcaide F, Esteban J, González-Martin J, Palacios JJ. Methods for determining the antimicrobial susceptibility of mycobacteria. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2017 Oct 1;35(8):529–35.

106. World Health Organization. Noncommercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening patients at risk for multidrug-resistant tuberculosis-Policy statement. 2010.

107. Wilson SM, Al-Suwaidi Z, McNerney R, Porter J, Drobniewski F. Evaluation of a new rapid bacteriophage-based method for the drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. Nat Med. 1997 Apr;3(4):465–8.

108. Rondón L, Urdániz E, Latini C, Payaslian F, Matteo M, Sosa EJ, et al. Fluoromycobacteriophages Can Detect Viable Mycobacterium tuberculosis and Determine Phenotypic Rifampicin Resistance in 3-5 Days From Sputum Collection. Front Microbiol. 2018;9:1471.

109. Steingart KR, Dendukuri N, Henry M, Schiller I, Nahid P, Hopewell PC, et al. Performance of purified antigens for serodiagnosis of pulmonary tuberculosis: a meta-analysis. Clin Vaccine Immunol.

2009;16(2):260–76.

110. Wang S, Wu J, Chen J, Gao Y, Zhang S, Zhou Z, et al. Evaluation of Mycobacterium tuberculosis-specific antibody responses for the discrimination of active and latent tuberculosis infection. Int J Infect Dis. 2018;70:1–9.

111. Kunnath-Velayudhan S, Salamon H, Wang H-Y, Davidow AL, Molina DM, Huynh VT, et al. Dynamic antibody responses to the Mycobacterium tuberculosis proteome. Proc Natl Acad Sci. 2010;107(33):14703–8.

112. Kunnath-Velayudhan S, Gennaro ML. Immunodiagnosis of Tuberculosis: a Dynamic View of Biomarker Discovery. Clin Microbiol Rev. 2011;24(4):792–805.

113. Steingart KR, Ramsay A, Dowdy DW, Pai M. Serological tests for the diagnosis of active tuberculosis: relevance for India. Indian J Med Res. 2012;135(5):695–702.

114. World Health Organization. Commercial serodiagnostic tests for diagnosis of tuberculosis: policy statement. Geneva WHO. 2011;

115. Awoniyi DO, Baumann R, Chegou NN, Kriel B, Jacobs R, Kidd M, et al. Detection of a combination of serum IgG and IgA antibodies against selected mycobacterial targets provides promising diagnostic signatures for active TB. Oncotarget. 2017 Jun 6;8(23):37525–37.

116. Houghton RL, Lodes MJ, Dillon DC, Reynolds LD, Day CH, McNeill PD, et al. Use of multiepitope polyproteins in serodiagnosis of active tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9(4):883–91.

117. Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. Lancet. 2019 Mar;

118. World Health Organization. Pathways to better diagnostics for tuberculosis A blueprint for the development of TB diagnostics By the New Diagnostics Working Group of the Stop TB Partnership. Geneva;

119. Tortoli E, Mariottini A, Mazzarelli G. Evaluation of INNO-LiPA MYCOBACTERIA v2: Improved reverse hybridization multiple DNA probe assay for mycobacterial identification. J Clin Microbiol. 2003 Sep;41(9):4418–20.

120. Nathavitharana RR, Cudahy PGT, Schumacher SG, Steingart KR, Pai M, Denkinger CM. Accuracy of line probe assays for the diagnosis of pulmonary and multidrug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2017;49(1).

121. World Health Organization. Molecular Line-probe assay for the detection of resistance to second-line anti-TB drugs (SL-LPA). 2016.

122. World Health Organization. The use of molecular Line Probe Assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. Expert group meeting report. Geneva; 2013.

123. World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. 2013.

124. Hillemann D, Rusch-Gerdes S, Boehme C, Richter E. Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. J Clin Microbiol. 2011;49(4):1202–5.

125. Chakravorty S, Simmons AM, Rowneki M, Parmar H, Cao Y, Ryan J, et al. The New Xpert MTB/RIF Ultra: Improving Detection of Mycobacterium tuberculosis and Resistance to Rifampin in an Assay Suitable for Point-of-Care Testing. MBio. 2017;8(4).

126. World Health Organization. WHO Meeting Report of a Technical Expert Consultation: Non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF. 2017.

127. Albert H, Nathavitharana RR, Isaacs C, Pai M, Denkinger CM, Boehme CC. Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better? Eur Respir J. 2016 Aug;48(2):516–25.

128. Molina-Moya B, Lacoma A, Prat C, Pimkina E, Diaz J, García-Sierra N, et al. Diagnostic accuracy study of multiplex PCR for detecting tuberculosis drug resistance. J Infect. 2015 Aug;71(2):220–30.

129. Hillemann D, Haasis C, Andres S, Behn T, Kranzer K. Validation of the FluoroType MTBDR Assay for Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates. Land GA, editor. J Clin Microbiol. 2018 Mar 28;56(6):e00072-18.

130. Boehme CC, Nabeta P, Henostroza G, Raqib R, Rahim Z, Gerhardt M, et al. Operational feasibility of using loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of pulmonary tuberculosis in microscopy centers of developing countries. J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):1936–40.

131. Sharma G, Tewari R, Dhatwalia SK, Yadav R, Behera D, Sethi S. A loop-mediated isothermal amplification assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Lett Appl Microbiol. 2019 Mar;68(3):219–25.
132. World Health Organization. The use of loop-mediated isothermal amplification (TB-LAMP) for the diagnosis of pulmonary tuberculosis POLICY GUIDANCE. 2016.
133. Mitarai S, Okumura M, Toyota E, Yoshiyama T, Aono A, Sejimo A, et al. Evaluation of a simple loop-mediated isothermal amplification test kit for the diagnosis of tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2011 Sep 1;15(9):1211–7.
134. Satta G, Lipman M, Smith GP, Arnold C, Kon OM, McHugh TD. Mycobacterium tuberculosis and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential? Clin Microbiol Infect. 2018 Jun 1;24(6):604–9.
135. Ajileye A, Alvarez N, Merker M, Walker TM, Akter S, Brown K, et al. Some Synonymous and Nonsynonymous gyrA Mutations in Mycobacterium tuberculosis Lead to Systematic False-Positive Fluoroquinolone Resistance Results with the Hain GenoType MTBDRsl Assays. Antimicrob Agents Chemother. 2017;61(4).
136. Meehan CJ, Goig GA, Kohl TA, Verboven L, Dippenaar A, Ezewudo M, et al. Whole genome sequencing of Mycobacterium tuberculosis: current standards and open issues. Nat Rev Microbiol. 2019;In press.
137. The CRyPTIC Consortium and the 100.000 Genomes Project. Prediction of Susceptibility to First-Line Tuberculosis Drugs by DNA Sequencing. N Engl J Med. 2018 Oct 11;379(15):1403–15.
138. World Health Organization. The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex: technical guide. Geneva; 2018.
139. World Health Organization. Global tuberculosis control 2011. Indian J Med Res. 2011;135(1):142.
140. Pai M, Minion J, Steingart K, Ramsay A. New and improved tuberculosis diagnostics: evidence, policy, practice, and impact. Curr Opin Pulm Med. 2010;16(3):271–84.
141. Pai NP, Pai M. Point-of-care diagnostics for HIV and tuberculosis: landscape, pipeline, and unmet needs. Discov Med. 2012;13(68):35–45.
142. Young DB, Perkins MD, Duncan K, Barry 3rd CE. Confronting the scientific obstacles to global control of tuberculosis. J Clin Invest. 2008;118(4):1255–65.
143. Lu LL, Chung AW, Rosebrock TR, Ghebremichael M, Yu WH, Grace PS, et al. A Functional Role for Antibodies in Tuberculosis. Cell. 2016 Oct 6;167(2):433-443.e14.
144. Peter J, Green C, Hoelscher M, Mwaba P, Zumla A, Dheda K. Urine for the diagnosis of tuberculosis: current approaches, clinical applicability, and new developments HHS Public Access. Curr Opin Pulm Med. 2010;16(3):262–70.
145. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2013. WHO Library; (WHO report).
146. Hunter SW, Gaylord H, Brennan PJ. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. J Biol Chem. 1986;261(26):12345–51.
147. Chan J, Fan XD, Hunter SW, Brennan PJ, Bloom BR. Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of Mycobacterium tuberculosis within macrophages. Infect Immun. 1991;59(5):1755–61.
148. Pereira Arias-Bouda LM, Nguyen LN, Ho LM, Kuijper S, Jansen HM, Kolk AH. Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples. J Clin Microbiol. 2000;38(6):2278–83.
149. Hamasur B, Bruchfeld J, Haile M, Pawlowski A, Bjorvatn B, Källenius G, et al. Rapid diagnosis of tuberculosis by detection of mycobacterial lipoarabinomannan in urine. J Microbiol Methods. 2001;45(1):41–52.
150. Boehme C, Molokova E, Minja F, Geis S, Loscher T, Maboko L, et al. Detection of mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen-capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2005;99(12):893–900.
151. Minion J, Leung E, Talbot E, Dheda K, Pai M, Menzies D. Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2011;38(6):1398–405.
152. Lawn SD, Dheda K, Kerkhoff AD, Peter JG, Dorman S, Boehme CC, et al. Determine TB-LAM lateral

flow urine antigen assay for HIV-associated tuberculosis: recommendations on the design and reporting of clinical studies. BMC Infect Dis. 2013;13:407.

153. Lawn SD, Kerkhoff AD, Vogt M, Wood R. Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2012;12(3):201–9.

154. Peter JG, Theron G, van Zyl-Smit R, Haripersad A, Mottay L, Kraus S, et al. Diagnostic accuracy of a urine LAM strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. Eur Respir J. 2012;40:1211–20.

155. Gupta-Wright A, Corbett EL, Oosterhout JJ van, Wilson D, Grint D, Alufandika-Moyo M, et al. Rapid urine-based screening for tuberculosis in HIV-positive patients admitted to hospital in Africa (STAMP): a pragmatic, multicentre, parallel-group, double-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2018 Jul 28;392(10144):292–301.

156. Peter JG, Zijenah LS, Chanda D, Clowes P, Lesosky M, Gina P, et al. Effect on mortality of point-of-care, urine-based lipoarabinomannan testing to guide tuberculosis treatment initiation in HIV-positive hospital inpatients: a pragmatic, parallel-group, multicountry, open-label, randomised controlled trial. Lancet. 2016 Mar 19;387(10024):1187–97.

157. World Health Organization. The use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for the diagnosis and screening of active tuberculosis in people living with HIV TB. 2015;

158. Sigal GB, Pinter A, Lowary TL, Kawasaki M, Li A, Mathew A, et al. A Novel Sensitive Immunoassay Targeting the 5-Methylthio-D-Xylofuranose–Lipoarabinomannan Epitope Meets the WHO's Performance Target for Tuberculosis Diagnosis. Miller MB, editor. J Clin Microbiol. 2018 Sep 26;56(12).

159. McNerney R, Maeurer M, Abubakar I, Marais B, McHugh TD, Ford N, et al. Tuberculosis diagnostics and biomarkers: needs, challenges, recent advances, and opportunities. J Infect Dis. 2012;205 Suppl:S147-58.

160. Wallis RS, Pai M, Menzies D, Doherty TM, Walzl G, Perkins MD, et al. Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice. Lancet. 2010;375(9729):1920–37.

161. Wallis RS, Wang C, Doherty TM, Onyebujoh P, Vahedi M, Laang H, et al. Biomarkers for tuberculosis disease activity, cure, and relapse. Lancet Infect Dis. 2010;10(2):68–9.

162. Constantine NT, Zink H. HIV testing technologies after two decades of evolution. Indian J Med Res. 2005;121(4):519–38.

163. Bekmurzayeva A, Sypabekova M, Kanayeva D. Tuberculosis diagnosis using immunodominant, secreted antigens of Mycobacterium tuberculosis. Tuberc. 2013;93(4):381–8.

164. Broger T, Tsionksy M, Mathew A, Lowary TL, Pinter A, Plisova T, et al. Sensitive electrochemiluminescence (ECL) immunoassays for detecting lipoarabinomannan (LAM) and ESAT-6 in urine and serum from tuberculosis patients. Wilkinson KA, editor. PLoS One. 2019 Apr 18;14(4):e0215443.

165. Flores LL, Steingart KR, Dendukuri N, Schiller I, Minion J, Pai M, et al. Systematic review and meta-analysis of antigen detection tests for the diagnosis of tuberculosis. Clin Vaccine Immunol. 2011;18(10):1616–27.

166. Choudhry V, Saxena RK. Detection of Mycobacterium tuberculosis antigens in urinary proteins of tuberculosis patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002;21(1):1–5.

167. Young BL, Mlamla Z, Gqamana PP, Smit S, Roberts T, Peter J, et al. The identification of tuberculosis biomarkers in human urine samples. Eur Respir J. 2014;43(6):1719–29.

168. Tucci P, González-Sapienza G, Marin M. Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis. Front Microbiol. 2014;5(OCT).

169. Chanteau S, Rasolofo V, Rasolonavalona T, Ramarokoto H, Horn C, Auregan G, et al. 45/47 kilodalton (APA) antigen capture and antibody detection assays for the diagnosis of tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2000;4(4):377–83.

170. Lee J, Kim SH, Choi DS, Lee JS, Kim DK, Go G, et al. Proteomic analysis of extracellular vesicles derived from Mycobacterium tuberculosis. Proteomics. 2015;15(19):3331–7.

171. Kashyap RS, Ramteke SS, Morey SH, Purohit HJ, Taori GM, Daginawala HF. Diagnostic value of early secreted antigenic target-6 for the diagnosis of tuberculous meningitis patients. Infection. 2009;37(6):508–13.

172. Liu C, Lyon CJ, Bu Y, Deng Z, Walters E, Li Y, et al. Clinical Evaluation of a Blood Assay to Diagnose Paucibacillary Tuberculosis via Bacterial Antigens. Clin Chem. 2018 May;64(5):791–800.

173. Liu C, Zhao Z, Fan J, Lyon CJ, Wu H-J, Nedelkov D, et al. Quantification of circulating *Mycobacterium tuberculosis* antigen peptides allows rapid diagnosis of active disease and treatment monitoring. Proc Natl Acad Sci. 2017 Apr 11;114(15):3969–74.

174. Tang XL, Zhou YX, Wu SM, Pan Q, Xia B, Zhang XL. CFP10 and ESAT6 aptamers as effective Mycobacterial antigen diagnostic reagents. J Infect. 2014;69(6).

175. Wallis RS, Perkins M, Phillips M, Joloba M, Demchuk B, Namale A, et al. Induction of the antigen 85 complex of Mycobacterium tuberculosis in sputum: a determinant of outcome in pulmonary tuberculosis treatment. J Infect Dis. 1998;178(4):1115–21.

176. Bentley-Hibbert SI, Quan X, Newman T, Huygen K, Godfrey HP. Pathophysiology of antigen 85 in patients with active tuberculosis: antigen 85 circulates as complexes with fibronectin and immunoglobulin G. Infect Immun. 1999 Feb;67(2):581–8.

177. Kashyap RS, Rajan AN, Ramteke SS, Agrawal VS, Kelkar SS, Purohit HJ, et al. Diagnosis of tuberculosis in an Indian population by an indirect ELISA protocol based on detection of Antigen 85 complex: a prospective cohort study. BMC Infect Dis. 2007;7:74.

178. Haldar S, Sankhyan N, Sharma N, Bansal A, Jain V, Gupta VK, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis GlcB or HspX Antigens or devR DNA impacts the rapid diagnosis of tuberculous meningitis in children. PLoS One. 2012;7(9):e44630.

179. Rajan AN, Kashyap RS, Purohit HJ, Taori GM, Daginawala HF. Serodiagnosis of tuberculosis based on the analysis of the 65 kD heat shock protein of Mycobacterium tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2007;11(7):792–7.

180. Pollock NR, Macovei L, Kanunfre K, Dhiman R, Restrepo BI, Zarate I, et al. Validation of Mycobacterium tuberculosis Rv1681 protein as a diagnostic marker of active pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol. 2013;51(5):1367–73.

181. Akyar I, Kocagoz T, Sinik G, Oktem S, Aytekin N, Kocagoz S. Lateral flow assay for rapid differentiation of Mycobacterium tuberculosis complex and 97 species of mycobacteria other than tuberculosis grown in Lowenstein-Jensen and TK-SLC medium. Indian J Med Microbiol. 2010;28(4):308–12.

182. Kruh-Garcia NA, Wolfe LM, Chaisson LH, Worodria WO, Nahid P, Schorey JS, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis Peptides in the Exosomes of Patients with Active and Latent M. tuberculosis Infection Using MRM-MS. Koomen JM, editor. PLoS One. 2014 Jul 31;9(7):e103811.

183. Zeitoun H, Bahey-El-Din M, Kassem MA, Aboushleib HM. Mycothiol acetyltransferase (Rv0819) of Mycobacterium tuberculosis is a potential biomarker for direct diagnosis of tuberculosis using patient serum specimens. Lett Appl Microbiol. 2017 Dec;65(6):504–11.

184. Jain RK, Nayak AR, Husain AA, Panchbhai MS, Chandak N, Purohit HJ, et al. Mycobacterial dormancy regulon protein Rv2623 as a novel biomarker for the diagnosis of latent and active tuberculous meningitis. Dis Markers. 2013;35(5):311–6.

185. Reddy TBK, Riley R, Wymore F, Montgomery P, DeCaprio D, Engels R, et al. TB database: an integrated platform for tuberculosis research. Nucleic Acids Res. 2009;37(suppl 1):D499–508.

186. Lew JM, Kapopoulou A, Jones LM, Cole ST. TubercuList - 10 years after. Tuberculosis (Edinb). 2011;91(1):1–7.

187. Kapopoulou A, Lew JM, Cole ST. The MycoBrowser portal: A comprehensive and manually annotated resource for mycobacterial genomes. Tuberculosis. 2011 Jan;91(1):8–13.

188. Malen H, Berven FS, Fladmark KE, Wiker HG. Comprehensive analysis of exported proteins from Mycobacterium tuberculosis H37Rv. Proteomics. 2007;7(10):1702–18.

189. Mattow J, Schaible UE, Schmidt F, Hagens K, Siejak F, Brestrich G, et al. Comparative proteome analysis of culture supernatant proteins from virulent Mycobacterium tuberculosis H37Rv and attenuated M. bovis BCG Copenhagen. Electrophoresis. 2003;24(19–20):3405–20.

190. Malen H, Softeland T, Wiker HG. Antigen analysis of Mycobacterium tuberculosis H37Rv culture filtrate proteins. Scand J Immunol. 2008;67(3):245–52.

191. Napolitano DR, Pollock N, Kashino SS, Rodrigues Jr. V, Campos-Neto A. Identification of Mycobacterium tuberculosis ornithine carboamyltransferase in urine as a possible molecular marker of active pulmonary tuberculosis. Clin Vaccine Immunol. 2008;15(4):638–43.

192. Kashino SS, Pollock N, Napolitano DR, Rodrigues Jr. V, Campos-Neto A. Identification and characterization of Mycobacterium tuberculosis antigens in urine of patients with active pulmonary tuberculosis: an innovative and alternative approach of antigen discovery of useful microbial molecules. Clin Exp Immunol. 2008;153(1):56–62.

193. López-Hernández Y, Patiño-Rodríguez O, García-Orta ST, Pinos-Rodríguez JM. Mass spectrometry applied to the identification of Mycobacterium tuberculosis and biomarker discovery. J Appl Microbiol. 2016;121(6):1485–97.

194. Mukundan H, Kumar S, Price DN, Ray SM, Lee Y-J, Min S, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis biomarkers in a sandwich immunoassay format using a waveguide-based optical biosensor. Tuberculosis. 2012 Sep;92(5):407–16.

195. Szewczyk R, Kowalski K, Janiszewska-Drobinska B, Druszczyńska M. Rapid method for Mycobacterium tuberculosis identification using electrospray ionization tandem mass spectrometry analysis of mycolic acids. Diagn Microbiol Infect Dis. 2013 Jul;76(3):298–305.

196. Cho SN, Shin JS, Daffe M, Chong Y, Kim SK, Kim JD. Production of monoclonal antibody to a phenolic glycolipid of Mycobacterium tuberculosis and its use in detection of the antigen in clinical isolates. J Clin Microbiol. 1992;30(12):3065–9.

197. Druszczynska M, Wawrocki S, Szewczyk R, Rudnicka W. Mycobacteria-derived biomarkers for tuberculosis diagnosis. Indian J Med Res. 2017 Dec;146(6):700–7.

198. Fu Y, Li W, Wu Z, Tao Y, Wang X, Wei J, et al. Detection of mycobacterial small RNA in the bacterial culture supernatant and plasma of patients with active tuberculosis. Biochem Biophys Res Commun. 2018 Sep 5;503(2):490–4.

199. Goletti D, Lee M-R, Wang J-Y, Walter N, Ottenhoff THM. Update on tuberculosis biomarkers: From correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. Respirology. 2018 May 1;23(5):455–66.

200. Chegou NN, Sutherland JS, Malherbe S, Crampin AC, Corstjens PLAM, Geluk A, et al. Diagnostic performance of a seven-marker serum protein biosignature for the diagnosis of active TB disease in African primary healthcare clinic attendees with signs and symptoms suggestive of TB. Thorax. 2016 Sep;71(9):785–94.

201. Togun TO, MacLean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. Hasnain SE, editor. PLoS One. 2018 Sep 13;13(9):e0204029.

202. Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. J Cell Physiol. 2016 Jan 1;231(1):25–30.

203. Wang Y, Xu Y-M, Zou Y-Q, Lin J, Huang B, Liu J, et al. Identification of differential expressed PE exosomal miRNA in lung adenocarcinoma, tuberculosis, and other benign lesions. Medicine (Baltimore). 2017 Nov;96(44):e8361.

204. Lv L, Li C, Zhang X, Ding N, Cao T, Jia X, et al. RNA Profiling Analysis of the Serum Exosomes Derived from Patients with Active and Latent Mycobacterium tuberculosis Infection. Front Microbiol. 2017;8:1051.

205. Wang C, Yang S, Sun G, Tang X, Lu S, Neyrolles O, et al. Comparative mirna expression profiles in individuals with latent and active tuberculosis. PLoS One. 2011;6(10).

206. Huang Z, Su R, Qing C, Peng Y, Luo Q, Li J. Plasma Circular RNAs hsa_circ_0001953 and hsa_circ_0009024 as Diagnostic Biomarkers for Active Tuberculosis. Front Microbiol. 2018;9:2010.

207. Hadifar S, Fateh A, Yousefi MH, Siadat SD, Vaziri F. Exosomes in tuberculosis: Still terra incognita? J Cell Physiol. 2019;234(3):2104–11.

208. Baker R, Peacock S. BEI Resources: Supporting antiviral research. Antiviral Res. 2008 Nov;80(2):102–6.

209. Franzblau SG, DeGroote MA, Cho SH, Andries K, Nuermberger E, Orme IM, et al. Comprehensive analysis of methods used for the evaluation of compounds against Mycobacterium tuberculosis. Tuberculosis. 2012 Nov 1;92(6):453–88.

210. Engbaek HC, Runyon EH, Karlson AG. Mycobacterium avium Chester Designation of the Neotype Strain. Vol. 21, International Association of Microbiological Societies. 1971.

211. Thongboonkerd V, Chutipongtanate S, Kanlaya R. Systematic evaluation of sample preparation methods for gel-based human urinary proteomics: quantity, quality, and variability. J Proteome

Res. 2006;5(1):183–91.
212. Bradford MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Vol. 72, ANALYTICAL BIOCHEMISTRY. 1976.
213. Zhai K, Lu Y, Shi H-Z. Tuberculous pleural effusion. J Thorac Dis. 2016 Jul;8(7):E486-94.
214. Howard GC, Kaser MR. Making and using antibodies : a practical handbook. Taylor & Francis/CRC Press; 2013.
215. Ausubel BR, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl FM. Current protocols in molecular biology. John Wiley and Sons, New York.; 1999.
216. Zeitoun H, Bahey-El-Din M, Kassem MA, Aboushleib HM. Mycothiol acetyltransferase (Rv0819) of *Mycobacterium tuberculosis* is a potential biomarker for direct diagnosis of tuberculosis using patient serum specimens. Lett Appl Microbiol. 2017 Dec;65(6):504–11.
217. Lima A, Duran R, Schujman GE, Marchissio MJ, Portela MM, Obal G, et al. Serine/threonine protein kinase PrkA of the human pathogen Listeria monocytogenes: biochemical characterization and identification of interacting partners through proteomic approaches. J Proteomics. 2011;74(9):1720–34.
218. Rossello J, Lima A, Gil M, Rodríguez Duarte J, Correa A, Carvalho PC, et al. The EAL-domain protein FcsR regulates flagella, chemotaxis and type III secretion system in Pseudomonas aeruginosa by a phosphodiesterase independent mechanism. Sci Rep. 2017 Dec 31;7(1):10281.
219. Steinberg TH. Chapter 31 Protein Gel Staining Methods. In 2009. p. 541–63.
220. Tucci P, Portela M, Rivas Chetto C, González-Sapienza G, Marín M. Integrative proteomic and glycoproteomic profiling of Mycobacterium tuberculosis culture filtrate. Neyrolles O, editor. PLoS One. 2020 Mar 3;15(3):e0221837.
221. Carvalho PC, Lima DB, Leprevost F V., Santos MDM, Fischer JSG, Aquino PF, et al. Integrated analysis of shotgun proteomic data with PatternLab for proteomics 4.0. Nat Protoc. 2016;11(1):102–17.
222. Eng JK, Hoopmann MR, Jahan TA, Egertson JD, Noble WS, MacCoss MJ. A Deeper Look into Comet—Implementation and Features. J Am Soc Mass Spectrom. 2015 Nov 27;26(11):1865–74.
223. Carvalho PC, Fischer JSG, Xu T, Cociorva D, Balbuena TS, Valente RH, et al. Search engine processor: Filtering and organizing peptide spectrum matches. Proteomics. 2012 Apr 1;12(7):944–9.
224. Zhang B, Chambers MC, Tabb DL. Proteomic Parsimony through Bipartite Graph Analysis Improves Accuracy and Transparency. J Proteome Res. 2007 Sep;6(9):3549–57.
225. Hulsen T, de Vlieg J, Alkema W. BioVenn – a web application for the comparison and visualization of biological lists using area-proportional Venn diagrams. BMC Genomics. 2008 Oct 16;9(1):488.
226. UniProt Consortium T. UniProt: the universal protein knowledgebase. Nucleic Acids Res. 2018 Mar 16;46(5):2699–2699.
227. McIlwain S, Mathews M, Bereman MS, Rubel EW, MacCoss MJ, Noble WS. Estimating relative abundances of proteins from shotgun proteomics data. BMC Bioinformatics. 2012;13:308.
228. Sudha D, Kohansal-Nodehi M, Kovuri P, Manda SS, Neriyanuri S, Gopal L, et al. Proteomic profiling of human intraschisis cavity fluid. Clin Proteomics. 2017;14(1):1–12.
229. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. Nucleic Acids Res. 2009 Jan;37(1):1–13.
230. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nat Protoc. 2009 Jan 1;4(1):44–57.
231. Almagro Armenteros JJ, Tsirigos KD, Sønderby CK, Petersen TN, Winther O, Brunak S, et al. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. Nat Biotechnol. 2019 Feb 18;
232. Krogh A, È rn Larsson B, von Heijne G, L Sonnhammer EL. Predicting Transmembrane Protein Topology with a Hidden Markov Model: Application to Complete Genomes. J Mol Biol. 2001;
233. Sonnhammer ELL, Von Heijne G, Krogh A. A hidden Markov model for predicting transmembrane helices in protein sequences. AAAI Press; 1998.
234. de Souza GA, Leversen NA, Malen H, Wiker HG. Bacterial proteins with cleaved or uncleaved signal peptides of the general secretory pathway. J Proteomics. 2011;75(2):502–10.
235. Albrethsen J, Agner J, Piersma SR, Højrup P, Pham T V., Weldingh K, et al. Proteomic Profiling of

Mycobacterium tuberculosis Identifies Nutrient-starvation-responsive Toxin–antitoxin Systems. Mol Cell Proteomics. 2013 May;12(5):1180–91.

236. Oliveros JC. Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams. [Internet]. 2007. Available from: http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html

237. Mi H, Muruganujan A, Ebert D, Huang X, Thomas PD. PANTHER version 14: More genomes, a new PANTHER GO-slim and improvements in enrichment analysis tools. Nucleic Acids Res. 2019;47(D1):D419–26.

238. Carvalho PC, Fischer JSG, Chen EI, Yates JR, Barbosa VC. PatternLab for proteomics: A tool for differential shotgun proteomics. BMC Bioinformatics. 2008 Jul 21;9:316.

239. Sonawane A, Mohanty S, Jagannathan L, Bekolay A, Banerjee S. Role of glycans and glycoproteins in disease development by Mycobacterium tuberculosis. Crit Rev Microbiol. 2012;38(3):250–66.

240. van Winden VJC, Houben ENG, Braunstein M. Protein Export into and across the Atypical Diderm Cell Envelope of Mycobacteria. Microbiol Spectr. 2019 Jul 5;7(4).

241. Niederweis M, Danilchanka O, Huff J, Hoffmann C, Engelhardt H. Mycobacterial outer membranes: in search of proteins. Trends Microbiol. 2010 Mar;18(3):109–16.

242. Chiaradia L, Lefebvre C, Parra J, Marcoux J, Burlet-Schiltz O, Etienne G, et al. Dissecting the mycobacterial cell envelope and defining the composition of the native mycomembrane. Sci Rep. 2017 Dec 1;7(1):1–12.

243. Vincent AT, Nyongesa S, Morneau I, Reed MB, Tocheva EI, Veyrier FJ. The mycobacterial cell envelope: A relict from the past or the result of recent evolution? Vol. 9, Frontiers in Microbiology. Frontiers Media S.A.; 2018.

244. Daffé M, Etienne G. The capsule of Mycobacterium tuberculosis and its implications for pathogenicity. Tuber Lung Dis. 1999 Jun;79(3):153–69.

245. Bell C, Smith GT, Sweredoski MJ, Hess S. Characterization of the Mycobacterium tuberculosis Proteome by Liquid Chromatography Mass Spectrometry-based Proteomics Techniques: A Comprehensive Resource for Tuberculosis Research. J Proteome Res. 2012 Jan 30;11(1):119–30.

246. Economou A, Wickner W. SecA promotes preprotein translocation by undergoing ATP-driven cycles of membrane insertion and deinsertion. Cell. 1994 Sep 9;78(5):835–43.

247. Feltcher ME, Sullivan JT, Braunstein M. Protein export systems of Mycobacterium tuberculosis: novel targets for drug development? Future Microbiol. 2010 Oct;5(10):1581–97.

248. Braunstein M, Brown AM, Kurtz S, Jacobs WR. Two Nonredundant SecA Homologues Function in Mycobacteria. J Bacteriol. 2001 Dec 15;183(24):6979–90.

249. Braunstein M, Espinosa BJ, Chan J, Belisle JT, R. Jacobs W. SecA2 functions in the secretion of superoxide dismutase A and in the virulence of Mycobacterium tuberculosis. Mol Microbiol. 2003 Apr 4;48(2):453–64.

250. Walsh G. Biopharmaceutical benchmarks 2018. Nat Biotechnol. 2018;36(12):1136–45.

251. Rollauer SE, Tarry MJ, Graham JE, Jääskeläinen M, Jäger F, Johnson S, et al. Structure of the TatC core of the twin-arginine protein transport system. Nature. 2012 Dec 2;492(7428):210–4.

252. Champion PAD, Stanley SA, Champion MM, Brown EJ, Cox JS. C-terminal signal sequence promotes virulence factor secretion in Mycobacterium tuberculosis. Science. 2006 Sep 15;313(5793):1632–6.

253. Abdallah AM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Luirink J, Gey van Pittius NC, Cox J, Appelmelk BJ, et al. Type VII secretion — mycobacteria show the way. Nat Rev Microbiol. 2007;5(11):883–91.

254. Solomonson M, Setiaputra D, Makepeace KAT, Lameignere E, Petrotchenko E V., Conrady DG, et al. Structure of EspB from the ESX-1 type VII secretion system and insights into its export mechanism. Structure. 2015;23(3):571–83.

255. Shah S, Briken V. Modular Organization of the ESX-5 Secretion System in Mycobacterium tuberculosis. Front Cell Infect Microbiol. 2016;6(May):1–7.

256. Korotkova N, Freire D, Phan TH, Ummels R, Creekmore CC, Evans TJ, et al. Structure of the Mycobacterium tuberculosis type VII secretion system chaperone EspG 5 in complex with PE25-PPE41 dimer. Mol Microbiol. 2014;94(2):367–82.

257. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature. 1998;393(6685):537–44.

258. Singh P, Rao RN, Reddy JRC, Prasad R, Kotturu SK, Ghosh S, et al. PE11, a PE/PPE family protein of Mycobacterium tuberculosis is involved in cell wall remodeling and virulence. Sci Rep. 2016 Feb 23;6.

259. Brennan MJ. The enigmatic PE/PPE multigene family of mycobacteria and tuberculosis vaccination. Vol. 85, Infection and Immunity. American Society for Microbiology; 2017.

260. van Els C, Corbière V, Smits K, van Gaans-van den Brink J, Poelen M, Mascart F, et al. Toward Understanding the Essence of Post-Translational Modifications for the Mycobacterium tuberculosis Immunoproteome. Front Immunol. 2014;5:361.

261. Birhanu AG, Yimer SA, Kalayou S, Riaz T, Zegeye ED, Holm-Hansen C, et al. Ample glycosylation in membrane and cell envelope proteins may explain the phenotypic diversity and virulence in the Mycobacterium tuberculosis complex. Sci Rep. 2019 Dec 27;9(1):2927.

262. Mehaffy C, Belisle JT, Dobos KM. Mycobacteria and their sweet proteins: An overview of protein glycosylation and lipoglycosylation in M. tuberculosis. Tuberculosis. 2019;115:1–13.

263. VanderVen BC, Harder JD, Crick DC, Belisle JT. Export-mediated assembly of mycobacterial glycoproteins parallels eukaryotic pathways. Science (80-). 2005 Aug 5;309(5736):941–3.

264. Liu C-F, Tonini L, Malaga W, Beau M, Stella A, Bouyssie D, et al. Bacterial protein-O-mannosylating enzyme is crucial for virulence of Mycobacterium tuberculosis. Proc Natl Acad Sci. 2013 Apr 16;110(16):6560–5.

265. Smith GT, Sweredoski MJ, Hess S. O-linked glycosylation sites profiling in Mycobacterium tuberculosis culture filtrate proteins. J Proteomics. 2014 Jan 31;97:296–306.

266. González-Zamorano M, Hernández GM, Xolalpa W, Parada C, Vallecillo AJ, Bigi F, et al. Mycobacterium tuberculosis glycoproteomics based on ConA-lectin affinity capture of mannosylated proteins. J Proteome Res. 2009;8(2):721–33.

267. Verma R, Pinto SM, Patil AH, Advani J, Subba P, Kumar M, et al. Quantitative Proteomic and Phosphoproteomic Analysis of H37Ra and H37Rv Strains of Mycobacterium tuberculosis. J Proteome Res. 2017 Apr 7;16(4):1632–45.

268. Tang X, Deng W, Xie J. Novel Insights into Mycobacterium Antigen Ag85 Biology and Implications in Countermeasures for M. tuberculosis. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2012;22(3):179–87.

269. Proteome 2D-PAGE Database - Home [Internet]. [cited 2019 Jan 23]. Available from: http://web.mpiib-berlin.mpg.de/cgi-bin/pdbs/2d-page/extern/index.cgi

270. Mattow J, Jungblut PR, Müller E-C, Kaufmann SHE. Identification of acidic, low molecular mass proteins of Mycobacterium tuberculosis strain H37Rv by matrix-assisted laser desorption/ionization and electrospray ionization mass spectrometry. Proteomics. 2001 Apr;1(4):494–507.

271. Wang M, You J, Bemis KG, Tegeler TJ, Brown DPG. Label-free mass spectrometry-based protein quantification technologies in proteomic analysis. Briefings Funct Genomics Proteomics. 2008 Jun 25;7(5):329–39.

272. Zybailov B, Mosley AL, Sardiu ME, Coleman MK, Florens L, Washburn MP. Statistical Analysis of Membrane Proteome Expression Changes in Saccharomyces cerevisiae. J Proteome Res. 2006 Sep;5(9):2339–47.

273. Forrellad MA, Klepp LI, Gioffré A, Sabio García J, Morbidoni HR, de la Paz Santangelo M, et al. Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. Virulence. 2013;4(1):3–66.

274. Nambi S, Long JE, Mishra BB, Baker R, Murphy KC, Olive AJ, et al. The Oxidative Stress Network of Mycobacterium tuberculosis Reveals Coordination between Radical Detoxification Systems. Cell Host Microbe. 2015 Jun 10;17(6):829–37.

275. Gomez M, Johnson S, Gennaro ML. Identification of secreted proteins of Mycobacterium tuberculosis by a bioinformatic approach. Infect Immun. 2000;68(4):2323–7.

276. Stanley SA, Raghavan S, Hwang WW, Cox JS. Acute infection and macrophage subversion by Mycobacterium tuberculosis require a specialized secretion system. Proc Natl Acad Sci. 2003 Oct 28;100(22):13001–6.

277. Andersen P, Askgaard D, Ljungqvist L, Bennedsen J, Heron I. Proteins released from Mycobacterium tuberculosis during growth. Infect Immun. 1991;59(6):1905–10.

278. Tullius M V., Harth G, Horwitz MA. High extracellular levels of Mycobacterium tuberculosis glutamine synthetase and superoxide dismutase in actively growing cultures are due to high

expression and extracellular stability rather than to a protein-specific export mechanism. Infect Immun. 2001;69(10):6348–63.

279. Schubert OT, Ludwig C, Kogadeeva M, Zimmermann M, Rosenberger G, Gengenbacher M, et al. Absolute proteome composition and dynamics during dormancy and resuscitation of mycobacterium tuberculosis. Cell Host Microbe. 2015;18(1):96–108.

280. Schubert OT, Gillet LC, Collins BC, Navarro P, Rosenberger G, Wolski WE, et al. Building high-quality assay libraries for targeted analysis of SWATH MS data. Nat Protoc. 2015 Mar 2;10(3):426–41.

281. Perkins DN, Pappin DJC, Creasy DM, Cottrell JS. Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. Electrophoresis. 1999 Dec 1;20(18):3551–67.

282. Tiwari P, Arora G, Singh M, Kidwai S, Narayan OP, Singh R. MazF ribonucleases promote Mycobacterium tuberculosis drug tolerance and virulence in guinea pigs. Nat Commun. 2015 May 22;6(1):6059.

283. Pandey DP, Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. Nucleic Acids Res. 2005;33(3):966–76.

284. Zhang Y, Zhang J, Hoeflich KP, Ikura M, Qing G, Inouye M. MazF cleaves cellular mRNAs specifically at ACA to block protein synthesis in Escherichia coli. Mol Cell. 2003;12(4):913–23.

285. Gupta A. Killing activity and rescue function of genome-wide toxin-antitoxin loci of Mycobacterium tuberculosis. FEMS Microbiol Lett. 2009 Jan;290(1):45–53.

286. Ramage HR, Connolly LE, Cox JS. Comprehensive functional analysis of Mycobacterium tuberculosis toxin-antitoxin systems: Implications for pathogenesis, stress responses, and evolution. PLoS Genet. 2009 Dec;5(12).

287. Dobos KM, Khoo KH, Swiderek KM, Brennan PJ, Belisle JT. Definition of the full extent of glycosylation of the 45-kilodalton glycoprotein of Mycobacterium tuberculosis. J Bacteriol. 1996 May;178(9):2498–506.

288. Alonso H, Parra J, Malaga W, Payros D, Liu C-F, Berrone C, et al. Protein O-mannosylation deficiency increases LprG-associated lipoarabinomannan release by Mycobacterium tuberculosis and enhances the TLR2-associated inflammatory response. Sci Rep. 2017 Dec 11;7(1):7913.

289. Parra J, Marcoux J, Poncin I, Canaan S, Herrmann JL, Nigou J, et al. Scrutiny of Mycobacterium tuberculosis 19 kDa antigen proteoforms provides new insights in the lipoglycoprotein biogenesis paradigm. Sci Rep. 2017 Mar 8;7.

290. Dobos KM, Swiderek K, Khoo KH, Brennan PJ, Belisle JT. Evidence for glycosylation sites on the 45-kilodalton glycoprotein of Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun. 1995 Aug;63(8):2846–53.

291. Ragas A, Roussel L, Puzo G, Rivière M. The Mycobacterium tuberculosis Cell-surface Glycoprotein Apa as a Potential Adhesin to Colonize Target Cells via the Innate Immune System Pulmonary C-type Lectin Surfactant Protein A. J Biol Chem. 2007 Feb 23;282(8):5133–42.

292. Diaz-Silvestre H, Espinosa-Cueto P, Sanchez-Gonzalez A, Esparza-Ceron MA, Pereira-Suarez AL, Bernal-Fernandez G, et al. The 19-kDa antigen of Mycobacterium tuberculosis is a major adhesin that binds the mannose receptor of THP-1 monocytic cells and promotes phagocytosis of mycobacteria. Microb Pathog. 2005 Sep;39(3):97–107.

293. Herrmann JL, Delahay R, Gallagher A, Robertson B, Young D. Analysis of post-translational modification of mycobacterial proteins using a cassette expression system. FEBS Lett. 2000 May 19;473(3):358–62.

294. Keenan T, Dowle A, Bates R, Smith MCM. Characterization of the Streptomyces coelicolor Glycoproteome Reveals Glycoproteins Important for Cell Wall Biogenesis. 2019;

295. Fischer J de S d. G, dos Santos MDM, Marchini FK, Barbosa VC, Carvalho PC, Zanchin NIT. A scoring model for phosphopeptide site localization and its impact on the question of whether to use MSA. J Proteomics. 2014;129:42–50.

296. Bateman A. UniProt: A worldwide hub of protein knowledge. Nucleic Acids Res. 2019 Jan 8;47(D1):D506–15.

297. Chim N, Riley R, The J, Im S, Segelke B, Lekin T, et al. An Extracellular Disulfide Bond Forming Protein (DsbF) from Mycobacterium tuberculosis: Structural, Biochemical, and Gene Expression Analysis. J Mol Biol. 2010 Mar 12;396(5):1211–26.

298. Dheda K, Barry CE, Maartens G. Tuberculosis. Vol. 387, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2016.

p. 1211–26.
299. Carvalho PC, Lima DB, Leprevost F V, Santos MDM, Fischer JSG, Aquino PF, et al. PatternLab for proteomics 4.0: A one-stop shop for analyzing shotgun proteomic data. Nat Protoc. 2016 Jan 10;11(1):102–17.
300. Garbe T, Harris D, Vordermeier M, Lathigra R, Ivanyi J, Young D. Expression of the Mycobacterium tuberculosis 19-kilodalton antigen in Mycobacterium smegmatis: immunological analysis and evidence of glycosylation. Infect Immun. 1993 Jan;61(1):260–7.
301. Michell SL, Whelan AO, Wheeler PR, Panico M, Easton RL, Etienne AT, et al. The MPB83 antigen from Mycobacterium bovis contains O-linked mannose and (1-->3)-mannobiose moieties. J Biol Chem. 2003 May 2;278(18):16423–32.
302. Bando-Campos G, Juárez-López D, Román-González SA, Castillo-Rodal AI, Olvera C, López-Vidal Y, et al. Recombinant O-mannosylated protein production (PstS-1) from Mycobacterium tuberculosis in Pichia pastoris (Komagataella phaffii) as a tool to study tuberculosis infection. Microb Cell Fact. 2019 Dec 19;18(1):11.
303. Dziadek B, Brzostek A, Grzybowski M, Fol M, Krupa A, Kryczka J, et al. Mycobacterium tuberculosis AtsG (Rv0296c), GlmU (Rv1018c) and SahH (Rv3248c) Proteins Function as the Human IL-8-Binding Effectors and Contribute to Pathogen Entry into Human Neutrophils. PLoS One. 2016 Feb 1;11(2).
304. Kumar A, Toledo JC, Patel RP, Lancaster JR, Steyn AJC. Mycobacterium tuberculosis DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor. Proc Natl Acad Sci. 2007 Jul 10;104(28):11568–73.
305. Sivaramakrishnan S, De Montellano PRO. The DosS-DosT/DosR Mycobacterial Sensor System. Vol. 3, Biosensors. MDPI AG; 2013. p. 259–82.
306. Hatherill M, Tait D, McShane H. Clinical Testing of Tuberculosis Vaccine Candidates. In: Tuberculosis and the Tubercle Bacillus, Second Edition. American Society of Microbiology; 2016. p. 193–211.
307. Khoshnood S, Heidary M, Haeili M, Drancourt M, Darban-Sarokhalil D, Nasiri MJ, et al. Novel vaccine candidates against Mycobacterium tuberculosis. Int J Biol Macromol. 2018 Dec;120:180–8.
308. Nielsen H. Predicting secretory proteins with signalP. In: Methods in Molecular Biology. 2017. p. 59–73.
309. Agarwal S, Ghosh S, Sharma S, Kaur K, Verma I. Mycobacterium tuberculosis H37Rv expresses differential proteome during intracellular survival within alveolar epithelial cells compared with macrophages. Pathog Dis. 2018 Aug 1;76(6).
310. Kovacs-Simon A, Titball RW, Michell SL. Lipoproteins of Bacterial Pathogens. Infect Immun. 2011 Feb;79(2):548.
311. York IA, Stevens J, Alymova I V. Influenza virus N-linked glycosylation and innate immunity. Biosci Rep. 2019 Jan 31;39(1):BSR20171505.
312. Børud B, Bårnes GK, Brynildsrud OB, Fritzsønn E, Caugant DA. Genotypic and Phenotypic Characterization of the O-Linked Protein Glycosylation System Reveals High Glycan Diversity in Paired Meningococcal Carriage Isolates. J Bacteriol. 2018 Aug 15;200(16):e00794-17.
313. Kentsis A, Monigatti F, Dorff K, Campagne F, Bachur R, Steen H. Urine proteomics for profiling of human disease using high accuracy mass spectrometry. Proteomics - Clin Appl. 2009;3(9):1052–61.
314. Adachi J, Kumar C, Zhang Y, Olsen J V., Mann M. The human urinary proteome contains more than 1500 proteins, including a large proportion of membrane proteins. Genome Biol. 2006;7(9).
315. López-Cruz G, Reyes-Gómez U, Herández-Cruz P. Proteina de Tamm-Horsfall: Implicaciones Clínicas en la Vía Urinaria. Boletín Clínico Hosp Infant del Estado Son. 2010;27(2):125–8.
316. Wang J, Ge P, Qiang L, Tian F, Zhao D, Chai Q, et al. The mycobacterial phosphatase PtpA regulates the expression of host genes and promotes cell proliferation. Nat Commun. 2017 Dec 1;8(1):1–16.
317. Petzold CJ, Stanton LH, Leary JA. Structural characterization of lipoarabinomannans from Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium smegmatis by ESI mass spectrometry. J Am Soc Mass Spectrom. 2005 Jul;16(7):1109–16.
318. Cho YS, Dobos KM, Prenni J, Yang H, Hess A, Rosenkrands I, et al. Deciphering the proteome of the in vivo diagnostic reagent “purified protein derivative” from Mycobacterium tuberculosis.

Proteomics. 2012 Apr;12(7):979–91.

319. Fan J, Zhang H, Nguyen DT, Lyon CJ, Mitchell CD, Zhao Z, et al. Rapid diagnosis of new and relapse tuberculosis by quantification of a circulating antigen in HIV-infected adults in the Greater Houston metropolitan area. BMC Med. 2017 Dec 1;15(1):188.

320. Pereira Arias-Bouda LM, Nguyen LN, Ho LM, Kuijper S, Jansen HM, Kolk AHJ. Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples. J Clin Microbiol. 2000;38(6):2278–83.

321. Seibert AF, Haynes J, Middleton R, Bass JB. Tuberculous Pleural Effusion: Twenty-Year Experience. Chest. 1991 Apr 1;99(4):883–6.

322. Light RW. Tuberculous pleural effusion. Vol. 16, Turk Toraks Dergisi. AVES İbrahim KARA; 2015. p. 1–9.

323. Vorster MJ, Allwood BW, Diacon AH, Koegelenberg CFN. Tuberculous pleural effusions: Advances and controversies. Vol. 7, Journal of Thoracic Disease. Pioneer Bioscience Publishing; 2015. p. 981–91.

324. Degn SE, Thiel S, Nielsen O, Hansen AG, Steffensen R, Jensenius JC. MAp19, the alternative splice product of the MASP2 gene. J Immunol Methods. 2011 Oct 28;373(1–2):89–101.

325. E PA, A CS, M EOV, E CM, B RA, Rovira C. Seric level of Beta 2-microglobulin in patients with active pulmonary tuberculosis. An Fac Cienc Méd. 2009;XLII(2):31–6.

326. Sreejit G, Ahmed A, Parveen N, Jha V, Valluri VL, Ghosh S, et al. The ESAT-6 Protein of Mycobacterium tuberculosis Interacts with Beta-2-Microglobulin (β2M) Affecting Antigen Presentation Function of Macrophage. PLoS Pathog. 2014 Oct 1;10(10):e1004446.

327. D'Auria G, Esposito C, Falcigno L, Calvanese L, Iaccarino E, Ruggiero A, et al. Dynamical properties of cold shock protein A from Mycobacterium tuberculosis. Biochem Biophys Res Commun. 2010;402(4):693–8.

328. Crooks GE, Hon G, Chandonia J-M, Brenner SE. WebLogo: A Sequence Logo Generator. Genome Res. 2004;14:1188–90.

329. Kruh NA, Troudt J, Izzo A, Prenni J, Dobos KM. Portrait of a pathogen: the Mycobacterium tuberculosis proteome in vivo. PLoS One. 2010;5(11):e13938.

330. Andreasson U, Perret-Liaudet A, van Waalwijk van Doorn LJC, Blennow K, Chiasserini D, Engelborghs S, et al. A practical guide to immunoassay method validation. Front Neurol. 2015;6(Aug).

331. Olsson MG, Allhorn M, Bülow L, Hansson SR, Ley D, Olsson ML, et al. Pathological conditions involving extracellular hemoglobin: Molecular mechanisms, clinical significance, and novel therapeutic opportunities for α1-microglobulin. Vol. 17, Antioxidants and Redox Signaling. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA ; 2012. p. 813–46.

332. Wolf R, Mirmohammadsadegh A, Walz M, Lysa B, Tartler U, Remus R, et al. Molecular cloning and characterization of alternatively spliced mRNA isoforms from psoriatic skin encoding a novel member of the S100 family. FASEB J. 2003 Oct 15;17(13):1969–71.

333. Bhatt T, Bhosale A, Bajantri B, Mathapathi MS, Rizvi A, Scita G, et al. Sustained Secretion of the Antimicrobial Peptide S100A7 Is Dependent on the Downregulation of Caspase-8. Cell Rep. 2019 Nov 26;29(9):2546-2555.e4.

334. Lee KC, Eckert RL. S100A7 (Psoriasin)-Mechanism of Antibacterial Action in Wounds. J Invest Dermatol. 2007;127:945–57.

335. Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. Mol Syst Biol. 2011 Jan 11;7(1):539.

336. Yerlikaya S, Broger T, Maclean E, Pai M, Denkinger CM. A tuberculosis biomarker database: the key to novel TB diagnostics New diagnostic innovations for tuberculosis (TB), including point-of. Int J Infect Dis. 2017;56:253–7.

337. Mawuenyega KG, Forst C V., Dobos KM, Belisle JT, Chen J, Bradbury EM, et al. Mycobacterium tuberculosis functional network analysis by global subcellular protein profiling. Mol Biol Cell. 2005 Jan;16(1):396–404.

338. McLean KJ, Clift D, Lewis DG, Sabri M, Balding PR, Sutcliffe MJ, et al. The preponderance of P450s in the Mycobacterium tuberculosis genome. Trends Microbiol. 2006;14(5):220–8.

339. Ouellet H, Johnston JB, Ortiz de Montellano PR. The Mycobacterium tuberculosis cytochrome P450 system. Arch Biochem Biophys. 2010;493(1):82–95.

340. Al-Attiyah R, Mustafa AS. Characterization of human cellular immune responses to novel Mycobacterium tuberculosis antigens encoded by genomic regions absent in Mycobacterium bovis BCG. Infect Immun. 2008 Sep;76(9):4190–8.

341. Williams M, Mizrahi V, Kana BD. Molybdenum cofactor: A key component of Mycobacterium tuberculosis pathogenesis? Crit Rev Microbiol. 2014;40(1):18–29.

342. Ghosh S, Samaddar S, Kirtania P, Das Gupta SK. A DinB ortholog enables mycobacterial growth under dTTP-limiting conditions induced by the expression of a mycobacteriophage-derived ribonucleotide reductase gene. J Bacteriol. 2016 Jan 15;198(2):352–62.

343. Schwab CE, Tuschl H. In vitro studies on the toxicity of isoniazid in different cell lines. Hum Exp Toxicol. 2003 Nov 2;22(11):607–15.

344. Arbex MA, Varella M de CL, Siqueira HR de, Mello FAF de. Antituberculosis drugs: Drug interactions, adverse effects, and use in special situations. J Bras Pneumol. 2010 Oct;36(5):626–40.

345. Mi H, Muruganujan A, Huang X, Ebert D, Mills C, Guo X, et al. Protocol Update for large-scale genome and gene function analysis with the PANTHER classification system (v.14.0). Nat Protoc. 2019 Mar 1;14(3):703–21.

346. Ramadan SM, Laz NI, Eissa SAL, Elbatanouny MM, Mohammed MF. Diagnostic dilemma in tuberculous pleural effusion. Egypt J Chest Dis Tuberc. 2017 Apr 1;66(2):327–30.

347. Jayaraman S, Gantz DL, Haupt C, Gursky O. Serum amyloid A forms stable oligomers that disrupt vesicles at lysosomal pH and contribute to the pathogenesis of reactive amyloidosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Aug 8;114(32):E6507–15.

348. Sharma M, Khan S, Rahman S, Singh LR. The Extracellular Protein, Transthyretin Is an Oxidative Stress Biomarker. Front Physiol. 2019 Jan 24;10(JAN):5.

349. Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers. Vol. 2, Nature Reviews Molecular Cell Biology. Nature Publishing Group; 2001. p. 107–17.

350. Stenmark H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. Vol. 10, Nature Reviews Molecular Cell Biology. Nature Publishing Group; 2009. p. 513–25.

351. Singh KK, Dong Y, Hinds L, Keen MA, Belisle JT, Zolla-Pazner S, et al. Combined Use of Serum and Urinary Antibody for Diagnosis of Tuberculosis. J Infect Dis. 2003 Aug;188(3):371–7.

352. Khan IH, Ravindran R, Krishnan V V., Awan IN, Rizvi SK, Saqib MA, et al. Plasma antibody profiles as diagnostic biomarkers for tuberculosis. Clin Vaccine Immunol. 2011 Dec;18(12):2148–53.

353. Burbelo PD, Goldman R, Mattson TL. A simplified immunoprecipitation method for quantitatively measuring antibody responses in clinical sera samples by using mammalian-produced Renilla luciferase-antigen fusion proteins. BMC Biotechnol. 2005 Aug 18;5:22.

354. Burbelo PD, Keller J, Wagner J, Klimavicz JS, Bayat A, Rhodes CS, et al. Serological diagnosis of pulmonary Mycobacterium tuberculosis infection by LIPS using a multiple antigen mixture. BMC Microbiol. 2015 Oct 8;15(1):205.

355. Fan J, Zhang H, Nguyen DT, Lyon CJ, Mitchell CD, Zhao Z, et al. Rapid diagnosis of new and relapse tuberculosis by quantification of a circulating antigen in HIV-infected adults in the Greater Houston metropolitan area. BMC Med. 2017 Dec 1;15(1):188.

356. MacLean E, Broger T, Yerlikaya S, Fernandez-Carballo BL, Pai M, Denkinger CM. A systematic review of biomarkers to detect active tuberculosis. Vol. 4, Nature Microbiology. Nature Publishing Group; 2019. p. 748–58.

357. Jeremias Da Silva R, Da R, Corrêa S, Gama Sardella I, Carla A, Mulinari P, et al. IgA and IgG antibody detection of mycobacterial antigens in pleural fluid and serum from pleural tuberculous patients.

358. Diacon AH, Van de Wal BW, Wyser C, Smedema JP, Bezuidenhout J, Bolliger CT, et al. Diagnostic tools in tuberculous pleurisy: A direct comparative study. Eur Respir J. 2003 Oct 1;22(4):589–91.

359. Pai M, Flores LL, Hubbard A, Riley LW, Colford JM. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculous pleuritis: A systematic review and meta-analysis. Vol. 4, BMC Infectious Diseases. BMC Infect Dis; 2004.

360. World Health Organization. High-priority target product profiles for new tuberculosis diagnostics: report of a consensus meeting. 2014.

361. Permyakov EA, Kretsinger RH. Cell signaling, beyond cytosolic calcium in eukaryotes. J Inorg Biochem. 2009 Jan;103(1):77–86.

362. Donato R, R. Cannon B, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, J. Weber D, et al. Functions of S100 Proteins. Curr Mol Med. 2012 Dec 11;13(1):24–57.

363. Gifford JL, Walsh MP, Vogel HJ. Structures and metal-ion-binding properties of the Ca2+-binding helix-loop-helix EF-hand motifs. Vol. 405, Biochemical Journal. Portland Press; 2007. p. 199–221.

364. Vergne I, Chua J, Deretic V. Tuberculosis toxin blocking phagosome maturation inhibits a novel Ca 2+/calmodulin-PI3K hVPS34 cascade. J Exp Med. 2003;198(4):653–9.

365. Malik ZA, Iyer SS, Kusner DJ. Mycobacterium tuberculosis Phagosomes Exhibit Altered Calmodulin-Dependent Signal Transduction: Contribution to Inhibition of Phagosome-Lysosome Fusion and Intracellular Survival in Human Macrophages . J Immunol. 2001;166(5):3392–401.

366. Bando M, Hiroshima Y, Kataoka M, Shinohara Y, Herzberg MC, Ross KF, et al. Interleukin-1α regulates antimicrobial peptide expression in human keratinocytes. Immunol Cell Biol. 2007 Oct 1;85(7):532–7.

367. Abtin A, Eckhart L, Mildner M, Gruber F, Schröder J-M, Tschachler E. Flagellin is the principal inducer of the antimicrobial peptide S100A7c (psoriasin) in human epidermal keratinocytes exposed to Escherichia coli. FASEB J. 2008 Jul 8;22(7):2168–76.

368. Abtin A, Eckhart L, Gläser R, Gmeiner R, Mildner M, Tschachler E. The antimicrobial heterodimer S100A8/S100A9 (Calprotectin) is upregulated by bacterial flagellin in human epidermal keratinocytes. J Invest Dermatol. 2010 Oct;130(10):2423–30.

369. Whitsett JA, Alenghat T. Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity. Vol. 16, Nature Immunology. Nature Publishing Group; 2015. p. 27–35.

370. Chuquimia OD, Petursdottir DH, Rahman MJ, Hartl K, Singh M, Fernández C. The role of alveolar epithelial cells in initiating and shaping pulmonary immune responses: Communication between innate and adaptive immune systems. PLoS One. 2012 Feb 29;7(2).

371. Bermudez LE, Goodman J. Mycobacterium tuberculosis invades and replicates within type II alveolar cells. Infect Immun. 1996;64(4):1400–6.

372. Reuschl A-K, Edwards MR, Parker R, Connell DW, Hoang L, Halliday A, et al. Innate activation of human primary epithelial cells broadens the host response to Mycobacterium tuberculosis in the airways. Hawn TR, editor. PLOS Pathog. 2017 Sep 1;13(9):e1006577.

373. Yoshioka Y, Mizutani T, Mizuta S, Miyamoto A, Murata S, Ano T, et al. Neutrophils and the S100A9 protein critically regulate granuloma formation. Blood Adv. 2016;1(3):184–92.

374. Gebhardt C, Németh J, Angel P, Hess J. S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer. Biochem Pharmacol. 2006 Nov 30;72(11):1622–31.

375. Markowitz J, Carson WE. Review of S100A9 biology and its role in cancer. Vol. 1835, Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer. 2013. p. 100–9.

376. Gopal R, Monin L, Torres D, Slight S, Mehra S, McKenna KC, et al. S100A8/A9 proteins mediate neutrophilic inflammation and lung pathology during tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 2013;188(9):1137–46.

377. Foell D, Frosch M, Sorg C, Roth J. Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation. Clin Chim Acta. 2004;344(1–2):37–51.

378. Xu D, Li Y, Li X, Wei LL, Pan Z, Jiang TT, et al. Serum protein S100A9, SOD3, and MMP9 as new diagnostic biomarkers for pulmonary tuberculosis by iTRAQ-coupled two-dimensional LC-MS/MS. Proteomics. 2015;15(1):58–67.

379. López de Armentia M, Amaya C, Colombo M. Rab GTPases and the Autophagy Pathway: Bacterial Targets for a Suitable Biogenesis and Trafficking of Their Own Vacuoles. Cells. 2016 Mar 8;5(1):11.

380. Kelley VA, Schorey JS. Mycobacterium's arrest of phagosome maturation in macrophages requires Rab5 activity and accessibility to iron. Mol Biol Cell. 2003 Aug;14(8):3366–77.

381. Karp PD, Billington R, Caspi R, Fulcher CA, Latendresse M, Kothari A, et al. The BioCyc collection of microbial genomes and metabolic pathways. Brief Bioinform. 2019 Jul 19;20(4):1085–93.

frontiers in
MICROBIOLOGY

MINI REVIEW ARTICLE
published: 20 October 2014
doi: 10.3389/fmicb.2014.00549

Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis

Paula Tucci[1]*, Gualberto González-Sapienza[2] and Monica Marin[1]

[1] Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
[2] Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Instituto de Higiene, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Edited by:
Evangelos Giamarellos-Bourboulis, University of Athens, Greece

Reviewed by:
George Dimopoulos, University Hospital Attikon, Greece
Mandy Sin, Stanford University, USA

***Correspondence:**
Paula Tucci, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, 11400, Montevideo, Uruguay
e-mail: ptucci@fcien.edu.uy

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by members of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Despite the availability of effective treatments, TB remains a major public health concern in most low and middle-income countries, representing worldwide the second leading cause of death from an infectious disease. Inadequate case detection and failures to classify the disease status hamper proper TB control. The limitations of the conventional diagnostic methods have encouraged much research activities in this field, but there is still an urgent need for an accurate point of care test for active TB diagnosis. A rapid, precise, and inexpensive TB diagnostic test would allow an earlier implementation of an appropriate treatment and the reduction of disease transmission. Pathogen-derived molecules present in clinical specimens of affected patients are being validated for that purpose. This short review aims to summarize the available data regarding biomarkers derived from *M. tuberculosis*, and their current usage in active TB diagnosis.

Keywords: ***M. tuberculosis*, active infection, diagnosis, point of care, biomarkers**

INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is a major global health problem and one of the most important causes of death from an infectious disease. In 2012, 8.6 million people developed TB and 1.3 million died from the disease (WHO, 2013). Despite substantial investments and progress made in the implementation of Stop TB strategy by the World Health Organization (WHO), inadequate case detection and failures to accurately classify the disease status still hamper the control of TB (Wallis et al., 2010a; McNerney et al., 2012). Most humans infected with *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) remain asymptomatic, and only a small proportion develops active TB disease. Typically the bacterium establishes a latent infection and the lifetime risk of developing the disease is near 10% unless an individual becomes immunocompromised, at which time the risk increases significantly (Young et al., 2008). TB is usually a chronic, slowly progressing disease that often keeps undiagnosed in patients for many years. In adults the most common form is chronic pulmonary TB, while extrapulmonary TB is especially common in children and HIV-coinfected patients (Jain, 2011).

The diagnosis of active TB is critical for controlling the disease. Conventional diagnostic methods of active TB include sputum smear microscopy (pulmonary TB) and *M. tuberculosis* isolation in bacteriological culture (currently the *gold standard* for definitive diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB). Although these methods are widely used for diagnosing TB, they suffer of specificity and sensitivity limitations (Tiwari et al., 2007; WHO, 2013), and microbiological culture takes several weeks to confirm a clinical diagnosis. Besides, both methods require highly skilled personnel and specialized laboratory infrastructure.

Recently, PCR based diagnostic methods were launched. The GeneXpert MTB/RIF (Cepheid Inc., USA) is a cartridge-based, automatic nucleic acid amplification test, for TB case detection and rifampicin resistance testing. It purifies, amplifies, and identifies targeted nucleic acid sequences in the TB genome, and provides results from unprocessed sputum samples in less than 2 h (Boehme et al., 2010). This assay showed a high sensitivity in both pulmonary (Boehme et al., 2010) and extrapulmonary TB (Hillemann et al., 2011). It was endorsed by WHO (2011a) for use in TB endemic countries. However, its high cost is a main barrier for the popularization of this new technology out of reference laboratories, in areas where the prevalence of the disease is higher (Steingart et al., 2012).

Unlike many other infectious diseases, in TB the specific antibody response is not so well understood. That is a consequence of the complex and highly evolved relationship of the pathogen with the immune system, its intracellular localization, and our partial understanding of its biology and host–pathogen interaction. This fact has largely frustrated the attempts to exploit the host response in antibody detection diagnostic assays, which could constitute an economical diagnostic alternative in low income countries (Young et al., 2008). A systematic review of the performance of various commercial serological tests has evidenced that this approach does not allow a reliable diagnosis of TB, reporting inconsistent, imprecise, and highly variable values for sensitivity and specificity (Steingart et al., 2011). Considering that situation in 2011, WHO issued a policy recommending not using these tests for the diagnosis of pulmonary and extra-pulmonary TB (WHO, 2011b).

In this context, a major focus of the WHO's global plan to stop TB is the development of a simple and cost-effective diagnostic method to improve case detection (Pollock et al., 2013). Until the moment TB lacks an accurate rapid point-of-care (POC) diagnostic test that could distinguish individuals with active TB from those with latent disease or not infected (McNerney et al.,

2012; Pollock et al., 2013). The failure of diagnostic tests based on the antibody response has greatly stimulated the interest in the development of rapid antigen detection methods (WHO, 2009). For that purpose much work is being performed aiming to discover and validate robust host and pathogen biomarkers of *M. tuberculosis* infection and disease (Doherty et al., 2009). This minireview covers *M. tuberculosis*-derived molecules identified in clinical samples of infected patients, and thus, could be proposed as diagnostic markers candidates. Bearing a potential correlation with the actual load of bacteria, they can be used both for diagnosis and treatment monitoring (WHO, 2009). Among these molecules, this review focuses on antigenic compounds that can be detected with antibodies in antigen detection assays, being particularly attractive for the development of POC diagnostic test. Other pathogen-derived markers [DNA, RNA, and molecules with enzymatic activities (Xie et al., 2012)] are out of the scope of this review.

PATHOGEN-DERIVED BIOMARKERS

A biomarker is defined as a parameter that can be objectively measured as an indicator of normal or pathogenic biological processes, or as an indicator of pharmacological responses to therapeutic interventions (Wallis et al., 2010a,b; McNerney et al., 2012). In routine clinical care, biomarkers allow stratification of individual patients, thus helping to develop targeted interventions that might not otherwise produce overall benefits (Wallis et al., 2010a).

In an infectious disease biomarkers can be either host or pathogen-derived (McNerney et al., 2012). Human immunodeficiency virus (HIV) infection offers a prime example of biomarker's utility both for initial diagnosis and for the evaluation of disease state and progression. After HIV infection, viral RNA, and p24 antigen detection are used to establish an early diagnosis. Afterward, to evaluate HIV progression, viral load is measured by viral RNA quantification, and disease evolution is evaluated through CD4+ cell counts (Constantine and Zink, 2005). In that case understanding of the pathogen dynamics and kinetics of the host immune response during the disease allowed the development of accurate diagnostic tests.

A main challenge in TB is to identify and validate consistent markers which could be translated into a specific and sensitive diagnostic test. Unfortunately, knowledge in that field is still partial, and requires a better understanding of the disease and the host-pathogen interaction (Young et al., 2008). It is expected that the identification of specific molecular markers would help to the development of an *in vitro* diagnostic test for *M. tuberculosis* active infection, which should be rapid, inexpensive, sensitive, and appropriate to be used in peripheral laboratories with low level of infrastructure.

PRINCIPAL *M. tuberculosis* DERIVED BIOMARKERS

To be considered as targets for antigen detection assays, pathogen-derived molecules must reach the sample matrixes (sputum, urine, plasma, etc.) in detectable levels (Bekmurzayeva et al., 2013). To be valuable as diagnostic biomarkers these antigens should be specifically and ubiquitously detected in clinical samples of infected patients.

An antigen detection assay for TB could be performed using a variety of clinical specimens such us sputum, blood, urine, saliva, cerebrospinal fluid (CSF), and pleural fluid. Antigens that are shed from *M. tuberculosis* in infected tissues can be present in the body fluids surrounding these tissues wherefrom they can reach the blood circulation and be eliminated in urine, a highly practical specimen for diagnostic tests. Urine is safer to handle and less variable than sputum, besides it is easier to collect from both adults and children. Additionally, urine based assays could facilitate TB diagnosis in HIV co-infected patients, who normally have a low bacterial load in sputum (WHO, 2009). Finally, in patients suspected of extrapulmonary TB, an antigen detection test might prevent the use of more invasive tests (WHO, 2009; Flores et al., 2011). These characteristics, if paired with an appropriate and simple method for antigen detection, make this approach applicable at the community level of the health system, so major efforts are being made to identify pathogen-derived antigens excreted in urine (Choudhry and Saxena, 2002).

One of the most promising antigens that are being evaluated is lipoarabinomannan (LAM). LAM is a structurally important component of the outer cell wall of all bacteria of the genus *Mycobacterium* that is shed from metabolically active or degrading cells, is cleared by the kidney and detectable in urine (Hunter et al., 1986; Chan et al., 1991). Antigen detection assays were described for LAM, most of which are based on a sandwich capture ELISA format to detect LAM in sputum (Pereira Arias-Bouda et al., 2000) or urine (Hamasur et al., 2001; Boehme et al., 2005; Mutetwa et al., 2009). As it will be described below, this antigen is being currently evaluated by a lateral flow test for rapid LAM detection in urine (Minion et al., 2011).

In addition to LAM, defined *M. tuberculosis* protein antigens were assayed as target for antigen detection assays. The tested proteins are generally major components that have been identified by electrophoresis and mass spectrometry both in total extracts and culture filtrate of *M. tuberculosis* (Malen et al., 2007; Mattow et al., 2003). **Table 1** summarizes available information from these antigens provided in TB Genomes Database (Reddy et al., 2009) and TubercuList (Lew et al., 2011). It is important to mention that many former published studies described the use of an antigen based only upon its apparent molecular weight on SDS-PAGE and without further identification of the protein. This is the case of a 55 kDa antigen (Rv not reported) present in serum of pulmonary (Attallah et al., 2003) and extra-pulmonary TB patients (Attallah et al., 2005), and a 20 kDa antigen (Rv not reported) detected in MTB crude extracts and serum of pulmonary TB patients (El-Masry et al., 2008).

More recently, high throughput approaches were designed to facilitate new biomarker discovery, based on proteomic approaches employing clinical samples from active TB patients. Thereby, four *M. tuberculosis* proteins were detected in urine samples, which were identified as a possible molybdopterin biosynthesis protein MoeX (Rv1681), a probable ornithine carbamoyltransferase ArgF (Rv1656), a probable homoserine O-acetyltransferase MetA (Rv3341) and a probable 3′-phosphoadenosine 5′-phosphosulfate reductase CysH (Rv2392; Kashino et al., 2008; Napolitano et al., 2008). These proteins

Table 1 | Summary of principal protein antigens evaluated for *Mycobacterium tuberculosis* direct diagnosis.

Gene	Rv number	Protein information (alternative nomenclature)	Function	Diagnostic evidence
apa	Rv1860	Alanine proline rich secreted protein APA (immunogenic protein MPT32; 45-kDa glycoprotein; 45/47 kDa antigen).	Unknown (could mediate bacterial attachment to host cells).	Tested in sputum and serum of active smear-positive TB patients (Chanteau et al., 2000).
esxA	Rv3875	6 kDa Early secretory antigen target ESXA (ESAT-6).	Elicits high level of IFN-gamma from memory effector cells during first phase of a protective immune response. Co-transcribed with Rv3874 (CPF10).	Detected in cerebrospinal fluid (CSF) of tuberculous meningitis patients (Kashyap et al., 2009).
fbpA	Rv3804c	Secreted antigen 85-A FBPA (mycolyl transferase 85A; fibronectin-binding protein A; antigen 85 complex A)	Involved in cell wall mycoloylation. Proteins of the antigen 85 complex are responsible for the high affinity of mycobacteria to fibronectin. Possess a mycolyltransferase activity required for the biogenesis of trehalose dimycolate (cord factor), a structure necessary for maintaining cell wall integrity.	Antigen 85 complex proteins have been detected in sputum (Wallis et al., 1998) and serum (Kashyap et al., 2007) specimens of TB patients.
fbpB	Rv1886c	Secreted antigen 85-B FBPB (mycolyl transferase 85B; fibronectin-binding protein B; antigen 85 complex B)		
fbpD	Rv3803c	Secreted MPT51/MPB51 antigen protein FBPD (MPT51/MPB51 antigen 85 complex C; mycolyl transferase 85C; fibronectin-binding protein C)		
glcB	Rv1837c	Malate synthase G (GlcB)	Involved in glyoxylate bypass, an alternative to the tricarboxylic acid cycle.	Assayed with promising results in CSF in tuberculous meningitis (Haldar et al., 2012).
groEL2	Rv0440	60 kDa chaperonin 2 GROEL2 (GROEL protein 2; 65 kDa antigen; heat shock protein 65)	Prevents misfolding and promotes folding and proper assembly of unfolded polypeptides.	Showed a good diagnostic performance in ELISA of serum samples of TB patients (Rajan et al., 2007)
hspX	Rv2031c	Heat shock protein HSPX (alpha-crystallin homolog; 14 kDa antigen; 16 kDa antigen; HSP16.3)	Stress protein induced by anoxia. HSPX has a proposed role in maintenance of long-term viability during latent, asymptomatic infections, as well as in replication during initial infection.	Assayed with promising results in CSF in tuberculous meningitis (Haldar et al., 2012)
moeX	Rv1681	Possible molybdopterin biosynthesis protein MoeX	Involved in molybdopterin cofactor biosynthesis.	Identified by mass spectrometry in urine from active tuberculosis patients (Pollock et al., 2013)
mpt64	Rv1980c	24 kDa immunogenic protein MPT64 (antigen MPT64/MPB64).	Secreted protein of unknown function specific for *M. tuberculosis* complex. Highly secreted during initial phases of bacterial growth.	A lateral flow assay was developed for the identification of *M. tuberculosis* complex in liquid culture media by using anti-MPB64 monoclonal antibodies (Akyar et al., 2010)
pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PSTS1 (PBP-1; immunodominant 38 kDa protein; protein antigen B).	Involved in active transport of inorganic phosphate across the membrane (Chang et al., 1994).	Assayed in CSF in tuberculous meningitis (Haldar et al., 2012)
TB31.7	Rv2623	Universal stress protein family protein TB31.7.	Regulates mycobacterial growth and is required for the entry of tubercle bacillus into the chronic phase of infection (Drumm et al., 2009).	Potential biomarker for the diagnosis of latent as well as active tuberculous meningitis infection. Assayed in CSF (Jain et al., 2013).

Table includes data derived from TB Genomes Databases (Reddy et al., 2009) and TubercuList (Lew et al., 2011). Antigens are alphabetically ordered by gene name.

constitute interesting candidates for the development of antigen detection assays, and recently the gene coding for MoeX, unique to the *M. tuberculosis* complex, was clinically validated as a diagnostic biomarker for active pulmonary TB (Pollock et al., 2013).

DIAGNOSTIC PERFORMANCE AND COMMERCIAL DEVELOPMENT

A small number of commercial prototype TB diagnostic tests based on antigen detection have been developed, and some of them were evaluated for clinical diagnostic performance. These tests includes: Patho-TB (Anda Biologicals, France), Diagnos TB Ag (Biomed Industries, India), LAM-ELISA (Chemogen, USA, a prototype test not currently available), Clearview TB ELISA (Inverness Medical Innovations, USA) and Determine TB-LAM (Alere Inc., USA; Flores et al., 2011; Minion et al., 2011). Two recent systematic reviews and meta-analysis highlighted that these tests showed heterogeneous values of sensitivity and specificity through clinical evaluations (Flores et al., 2011; Minion et al., 2011).

Some of these tests were designed to detect different *M. tuberculosis* antigens in sputum. Patho-TB rapid diagnostic test uses polyclonal antibodies to detect mycobacterial antigens (including 65 and 85 kDa antigens) in sputum samples, previously decontaminated and imprinted in a filter cartridge. This test showed a sensitivity ranging from 90 to 96% and specificity between 70 and 100% in different evaluation studies (Fabre et al., 2007; Alavi-Naini et al., 2009; Ben-Selma et al., 2009). Another rapid test designed to detect mycobacterial antigens in sputum [including LAM and antigen 85B (Rv1886)] using polyclonal antibodies is Diagnos TB Ag. The test comprises the inactivation and lysis of the sputum sample, loading of the sample on a membrane device and immune-detection of specific antigens. It showed a variable performance in two published studies: a sensitivity of 98% and specificity of 99% in TB infected HIV sero-positive patients (Chakraborty et al., 2009) versus a 60% sensibility and 33% specificity in HIV positive and TB negative infected patients (Reither et al., 2010).

Another group of tests is based on LAM detection in urine. Diagnostic tests based on the detection of LAM in urine were among the first to move from research to commercial stage, due to their promising initial results (Hamasur et al., 2001; Boehme et al., 2005). However, they have not yet been routinely applied in remote points of care settings (Minion et al., 2011; Pai and Pai, 2012). The conflicting results obtained with these tests can be explained, in part, by the lack of specificity of the anti-LAM antibodies, since even anti-LAM monoclonal antibodies cross-react with most species of *Mycobacterium*, including *M. avium* and *M. leprae* (Hunter et al., 1986; WHO, 2009).

The LAM-ELISA (Chemogen Inc., Portland, USA) was the first LAM targeting assayed prototype (Boehme et al., 2005; Daley et al., 2009; Lawn et al., 2009; Mutetwa et al., 2009; Reither et al., 2009). Afterward another commercial version named Clearview TB ELISA (Alere Inc., USA – formerly Inverness Medical Innovations, Inc.) was launched (Dheda et al., 2010; Shah et al., 2010). Both tests use polyclonal anti-LAM antibodies in a capture sandwich ELISA format. A meta-analysis of published clinical studies with different versions of these tests showed that 57% of urine samples from smear positive TB patients were positive for LAM, indicating that this test would not be sufficiently sensitive to replace sputum microscopy. Nevertheless, 41% of smear negative TB patients were positive for LAM, suggesting that LAM testing and sputum microscopy used together could help diagnose different groups of patients with TB (Minion et al., 2011). In addition, it has been reported that a pre-analytical 100-fold-concentrating step of urine samples increased significantly the sensitivity of the Clearview TB ELISA (Savolainen et al., 2013), yet the method still needs to be refined to become a viable tool for TB diagnosis.

Promisingly, a POC lateral flow dipstick version of urinary LAM detection (Determine TB LAM Ag, Alere Inc.) has been developed. Following its commercial launch in 2013, Determine TB-LAM remains the focus of ongoing clinical evaluation studies. This is a simple, low-cost, POC assay which provides a qualitative (yes/no) readout of TB diagnosis within 30 min (Lawn, 2014). While diagnostic evaluation of this kit showed a poor performance with unselected TB patients, combination of LAM lateral flow test with sputum microscopy demonstrated a diagnostic value in HIV immunocompromised TB patients (CD4 lymphocyte cell counts $<50/\mu L$; Lawn et al., 2012; Peter et al., 2012). These and other studies largely confirm that the sensitivity of Determine TB-LAM is greatest (range 60–70%) among HIV-infected patients with the most advanced immunodeficiency (Lawn et al., 2013). HIV-associated pulmonary TB is of major concern in many countries of Africa, thus this kit could assist to establish a quicker diagnosis and an earlier treatment in this high risk population. As the evidence base grows, data on this assay would be reviewed by an expert panel convened by WHO to define the role of the assay as an add-on test within existing diagnostic algorithms (Lawn et al., 2013).

CONCLUSION

A reliable POC diagnostic test for active TB detection is urgently needed and much work is being done for that purpose. In the TB diagnostic field, antigen detection technologies and biomarker discovery strategies are rapidly evolving. While there are promising evidences endorsing some of the commercially available diagnostic tests, none of the new tools designed so far have shown an outstanding diagnostic performance as to promote its widespread application in medical practice. It is highly expected that in the coming years more light is shed to aid in that goal.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Carlos Rivas Chetto (CHLA-EP) for technical advice and fruitful discussions. This work was supported by Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII, Uruguay) through Fondo María Viñas (FMV_3_2013_1_100859) and Universidad de la República, Uruguay.

REFERENCES

Akyar, I., Kocagoz, T., Sinik, G., Oktem, S., Aytekin, N., and Kocagoz, S. (2010). Lateral flow assay for rapid differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex and 97 species of mycobacteria other than tuberculosis grown in Lowenstein-Jensen and TK-SLC medium. *Indian J. Med. Microbiol.* 28, 308–312. doi: 10.4103/0255-0857.71817

Alavi-Naini, R., Metanat, M., Alijani, E., and Mozaffar, H. (2009). Patho-TB test for the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J. Res. Med. Sci.* 14, 301–307.

Attallah, A. M., Abdel Malak, C. A., Ismail, H., El-Saggan, A. H., Omran, M. M., and Tabll, A. A. (2003). Rapid and simple detection of a *Mycobacterium tuberculosis* circulating antigen in serum using dot-ELISA for field diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J. Immunoassay Immunochem.* 24, 73–87. doi: 10.1081/IAS-120018470

Attallah, A. M., Osman, S., Saad, A., Omran, M., Ismail, H., Ibrahim, G., et al. (2005). Application of a circulating antigen detection immunoassay for laboratory diagnosis of extra-pulmonary and pulmonary tuberculosis. *Clin. Chim. Acta* 356, 58–66. doi: 10.1016/j.cccn.2004.11.036

Bekmurzayeva, A., Sypabekova, M., and Kanayeva, D. (2013). Tuberculosis diagnosis using immunodominant, secreted antigens of *Mycobacterium tuberculosis. Tuberculosis* (*Edinb.*) 93, 381–388. doi: 10.1016/j.tube.2013.03.003

Ben-Selma, W., Ben-Kahla, I., Marzouk, M., Ferjeni, A., Ghezal, S., Ben-Said, M., et al. (2009). Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum by Patho-TB kit in comparison with direct microscopy and culture. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 65, 232–235. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.021

Boehme, C., Molokova, E., Minja, F., Geis, S., Loscher, T., Maboko, L., et al. (2005). Detection of mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen-capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 99, 893–900. doi: 10.1016/j.trstmh.2005.04.014

Boehme, C. C., Nabeta, P., Hillemann, D., Nicol, M. P., Shenai, S., Krapp, F., et al. (2010). Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N. Engl. J. Med.* 363, 1005–1015. doi: 10.1056/NEJMoa0907847

Chakraborty, N., Bhattacharyya, S., De, C., Mukherjee, A., Sarkar, R. N., Banerjee, D., et al. (2009). A rapid immunochromatographic assay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* antigens in pulmonary samples from HIV seropositive patients and its comparison with conventional methods. *J. Microbiol. Methods* 76, 12–17. doi: 10.1016/j.mimet.2008.09.005

Chan, J., Fan, X. D., Hunter, S. W., Brennan, P. J., and Bloom, B. R. (1991). Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages. *Infect. Immun.* 59, 1755–1761.

Chang, Z., Choudhary, A., Lathigra, R., and Quiocho, F. A. (1994). The immunodominant 38-kDa lipoprotein antigen of *Mycobacterium tuberculosis* is a phosphate-binding protein. *J. Biol. Chem.* 269, 1956–1958.

Chanteau, S., Rasolofo, V., Rasolonavalona, T., Ramarokoto, H., Horn, C., Auregan, G., et al. (2000). 45/47 kilodalton (APA) antigen capture and antibody detection assays for the diagnosis of tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 4, 377–383.

Choudhry, V., and Saxena, R. K. (2002). Detection of *Mycobacterium tuberculosis* antigens in urinary proteins of tuberculosis patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21, 1–5. doi: 10.1007/s10096-001-0651-7

Constantine, N. T., and Zink, H. (2005). HIV testing technologies after two decades of evolution. *Indian J. Med. Res.* 121, 519–538.

Daley, P., Michael, J. S., Hmar, P., Latha, A., Chordia, P., Mathai, D., et al. (2009). Blinded evaluation of commercial urinary lipoarabinomannan for active tuberculosis: a pilot study. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 13, 989–995.

Dheda, K., Davids, V., Lenders, L., Roberts, T., Meldau, R., Ling, D., et al. (2010). Clinical utility of a commercial LAM-ELISA assay for TB diagnosis in HIV-infected patients using urine and sputum samples. *PLoS ONE* 5:e9848. doi: 10.1371/journal.pone.0009848

Doherty, M., Wallis, R. S., and Zumla, A. (2009). Biomarkers for tuberculosis disease status and diagnosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 15, 181–187. doi: 10.1097/MCP.0b013e328326f42c

Drumm, J. E., Mi, K., Bilder, P., Sun, M., Lim, J., Bielefeldt-Ohmann, H., et al. (2009). *Mycobacterium tuberculosis* universal stress protein Rv2623 regulates bacillary growth by ATP-Binding: requirement for establishing chronic persistent infection. *PLoS Pathog.* 5:e1000460. doi: 10.1371/journal.ppat.1000460

El-Masry, S., El-Kady, I., Zaghloul, M. H., and Al-Badrawey, M. K. (2008). Rapid and simple detection of a *Mycobacterium* circulating antigen in serum of pulmonary tuberculosis patients by using a monoclonal antibody and Fast-Dot-ELISA. *Clin. Biochem.* 41, 145–151. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2007.11.008

Fabre, M., Gerome, P., Maslin, J., Herve, V., Vong, R., Carpentier, G., et al. (2007). [Assessment of the Patho-TB kit for diagnosis of tuberculosis]. *Pathol. Biol.* (*Paris*) 55, 482–485. doi: 10.1016/j.patbio.2007.08.007

Flores, L. L., Steingart, K. R., Dendukuri, N., Schiller, I., Minion, J., Pai, M., et al. (2011). Systematic review and meta-analysis of antigen detection tests for the diagnosis of tuberculosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 18, 1616–1627. doi: 10.1128/CVI.05205-11

Haldar, S., Sankhyan, N., Sharma, N., Bansal, A., Jain, V., Gupta, V. K., et al. (2012). Detection of *Mycobacterium tuberculosis* GlcB or HspX Antigens or devR DNA impacts the rapid diagnosis of tuberculous meningitis in children. *PLoS ONE* 7:e44630. doi: 10.1371/journal.pone.0044630

Hamasur, B., Bruchfeld, J., Haile, M., Pawlowski, A., Bjorvatn, B., Källenius, G., et al. (2001). Rapid diagnosis of tuberculosis by detection of mycobacterial lipoarabinomannan in urine. *J. Microbiol. Methods* 45, 41–52. doi: 10.1016/S0167-7012(01)00239-1

Hillemann, D., Rusch-Gerdes, S., Boehme, C., and Richter, E. (2011). Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system. *J. Clin. Microbiol.* 49, 1202–1205. doi: 10.1128/JCM.02268-10

Hunter, S. W., Gaylord, H., and Brennan, P. J. (1986). Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. *J. Biol. Chem.* 261, 12345–12351.

Jain, A. (2011). Extra pulmonary tuberculosis: a diagnostic dilemma. *Indian J. Clin. Biochem.* 26, 269–273. doi: 10.1007/s12291-010-0104-0

Jain, R. K., Nayak, A. R., Husain, A. A., Panchbhai, M. S., Chandak, N., Purohit, H. J., et al. (2013). Mycobacterial dormancy regulon protein Rv2623 as a novel biomarker for the diagnosis of latent and active tuberculous meningitis. *Dis. Markers* 35, 311–316. doi: 10.1155/2013/309816

Kashino, S. S., Pollock, N., Napolitano, D. R., Rodrigues, V. Jr., and Campos-Neto, A. (2008). Identification and characterization of *Mycobacterium tuberculosis* antigens in urine of patients with active pulmonary tuberculosis: an innovative and alternative approach of antigen discovery of useful microbial molecules. *Clin. Exp. Immunol.* 153, 56–62. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03672.x

Kashyap, R. S., Rajan, A. N., Ramteke, S. S., Agrawal, V. S., Kelkar, S. S., Purohit, H. J., et al. (2007). Diagnosis of tuberculosis in an Indian population by an indirect ELISA protocol based on detection of Antigen 85 complex: a prospective cohort study. *BMC Infect. Dis.* 7:74. doi: 10.1186/1471-2334-7-74

Kashyap, R. S., Ramteke, S. S., Morey, S. H., Purohit, H. J., Taori, G. M., and Daginawala, H. F. (2009). Diagnostic value of early secreted antigenic target-6 for the diagnosis of tuberculous meningitis patients. *Infection* 37, 508–513. doi: 10.1007/s15010-009-8261-x

Lawn, S. D. (2014). Serological diagnostic assays for HIV-associated tuberculosis in Sub-Saharan Africa? *Clin. Vaccine Immunol.* 21, 787–790. doi: 10.1128/CVI.00201-14

Lawn, S. D., Dheda, K., Kerkhoff, A. D., Peter, J. G., Dorman, S., Boehme, C. C., et al. (2013). Determine TB-LAM lateral flow urine antigen assay for HIV-associated tuberculosis: recommendations on the design and reporting of clinical studies. *BMC Infect. Dis.* 13:407. doi: 10.1186/1471-2334-13-407

Lawn, S. D., Edwards, D. J., Kranzer, K., Vogt, M., Bekker, L. G., and Wood, R. (2009). Urine lipoarabinomannan assay for tuberculosis screening before antiretroviral therapy diagnostic yield and association with immune reconstitution disease. *AIDS* 23, 1875–1880. doi: 10.1097/QAD.0b013e32832e05c8

Lawn, S. D., Kerkhoff, A. D., Vogt, M., and Wood, R. (2012). Diagnostic accuracy of a low-cost, urine antigen, point-of-care screening assay for HIV-associated pulmonary tuberculosis before antiretroviral therapy: a descriptive study. *Lancet Infect. Dis.* 12, 201–209. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70251-1

Lew, J. M., Kapopoulou, A., Jones, L. M., and Cole, S. T. (2011). TubercuList – 10 years after. *Tuberculosis* (*Edinb.*) 91, 1–7. doi: 10.1016/j.tube.2010.09.008

Malen, H., Berven, F. S., Fladmark, K. E., and Wiker, H. G. (2007). Comprehensive analysis of exported proteins from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Proteomics* 7, 1702–1718. doi: 10.1002/pmic.200600853

Mattow, J., Schaible, U. E., Schmidt, F., Hagens, K., Siejak, F., Brestrich, G., et al. (2003). Comparative proteome analysis of culture supernatant proteins from virulent *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and attenuated *M. bovis* BCG Copenhagen. *Electrophoresis* 24, 3405–3420. doi: 10.1002/elps.200305601

McNerney, R., Maeurer, M., Abubakar, I., Marais, B., McHugh, T. D., Ford, N., et al. (2012). Tuberculosis diagnostics and biomarkers: needs, challenges, recent advances, and opportunities. *J. Infect. Dis.* 205(Suppl. 2), S147–S158. doi: 10.1093/infdis/jir860

Minion, J., Leung, E., Talbot, E., Dheda, K., Pai, M., and Menzies, D. (2011). Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 38, 1398–1405. doi: 10.1183/09031936.00025711

Mutetwa, R., Boehme, C., Dimairo, M., Bandason, T., Munyati, S. S., Mangwanya, D., et al. (2009). Diagnostic accuracy of commercial urinary lipoarabinomannan

detection in African tuberculosis suspects and patients. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 13, 1253–1259.

Napolitano, D. R., Pollock, N., Kashino, S. S., Rodrigues, V. Jr., and Campos-Neto, A. (2008). Identification of *Mycobacterium tuberculosis* ornithine carboamyltransferase in urine as a possible molecular marker of active pulmonary tuberculosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 15, 638–643. doi: 10.1128/CVI.00010-08

Pai, N. P., and Pai, M. (2012). Point-of-care diagnostics for HIV and tuberculosis: landscape, pipeline, and unmet needs. *Discov. Med.* 13, 35–45.

Pereira Arias-Bouda, L. M., Nguyen, L. N., Ho, L. M., Kuijper, S., Jansen, H. M., and Kolk, A. H. (2000). Development of antigen detection assay for diagnosis of tuberculosis using sputum samples. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2278–2283.

Peter, J. G., Theron, G., van Zyl-Smit, R., Haripersad, A., Mottay, L., Kraus, S., et al. (2012). Diagnostic accuracy of a urine LAM strip-test for TB detection in HIV-infected hospitalised patients. *Eur. Respir. J.* 40, 1211–1220. doi: 10.1183/09031936.00201711

Pollock, N. R., Macovei, L., Kanunfre, K., Dhiman, R., Restrepo, B. I., Zarate, I., et al. (2013). Validation of *Mycobacterium tuberculosis* Rv1681 protein as a diagnostic marker of active pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 51, 1367–1373. doi: 10.1128/JCM.03192-12

Rajan, A. N., Kashyap, R. S., Purohit, H. J., Taori, G. M., and Daginawala, H. F. (2007). Serodiagnosis of tuberculosis based on the analysis of the 65 kD heat shock protein of *Mycobacterium tuberculosis. Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 11, 792–797.

Reddy, T. B. K., Riley, R., Wymore, F., Montgomery, P., DeCaprio, D., Engels, R., et al. (2009). TB database: an integrated platform for tuberculosis research. *Nucleic Acids Res.* 37(Suppl. 1), D499–D508. doi: 10.1093/nar/gkn652

Reither, K., Saathoff, E., Jung, J., Minja, L. T., Kroidl, I., Saad, E., et al. (2009). Low sensitivity of a urine LAM-ELISA in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *BMC Infect. Dis.* 9:141. doi: 10.1186/1471-2334-9-141

Reither, K., Saathoff, E., Jung, J., Minja, L. T., Machibya, H., Maboko, L., et al. (2010). Evaluation of Diagnos TB AG, a flow-through immunoassay for rapid detection of pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 14, 238–240.

Savolainen, L., Kantele, A., Sandboge, B., Siren, M., Valleala, H., Tuompo, R., et al. (2013). Modification of clearview tuberculosis (TB) enzyme-linked immunosorbent assay for TB patients not infected with HIV. *Clin. Vaccine Immunol.* 20, 1479–1482. doi: 10.1128/CVI.00375-13

Shah, M., Martinson, N. A., Chaisson, R. E., Martin, D. J., Variava, E., and Dorman, S. E. (2010). Quantitative analysis of a urine-based assay for detection of lipoarabinomannan in patients with tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 48, 2972–2974. doi: 10.1128/JCM.00363-10

Steingart, K. R., Flores, L. L., Dendukuri, N., Schiller, I., Laal, S., Ramsay, A., et al. (2011). Commercial serological tests for the diagnosis of active pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: an updated systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 8:e1001062. doi: 10.1371/journal.pmed.1001062

Steingart, K. R., Ramsay, A., Dowdy, D. W., and Pai, M. (2012). Serological tests for the diagnosis of active tuberculosis: relevance for India. *Indian J. Med. Res.* 135, 695–702.

Tiwari, R. P., Hattikudur, N. S., Bharmal, R. N., Kartikeyan, S., Deshmukh, N. M., and Bisen, P. S. (2007). Modern approaches to a rapid diagnosis of tuberculosis: promises and challenges ahead. *Tuberculosis* (*Edinb.*) 87, 193–201. doi: 10.1016/j.tube.2006.07.005

Wallis, R. S., Pai, M., Menzies, D., Doherty, T. M., Walzl, G., Perkins, M. D., et al. (2010a). Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice. *Lancet* 375, 1920–1937. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60359-5

Wallis, R. S., Wang, C., Doherty, T. M., Onyebujoh, P., Vahedi, M., Laang, H., et al. (2010b). Biomarkers for tuberculosis disease activity, cure, and relapse. *Lancet Infect. Dis.* 10, 68–69. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70003-7

Wallis, R. S., Perkins, M., Phillips, M., Joloba, M., Demchuk, B., Namale, A., et al. (1998). Induction of the antigen 85 complex of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum: a determinant of outcome in pulmonary tuberculosis treatment. *J. Infect. Dis.* 178, 1115–1121. doi: 10.1086/515701

World Health Organization (WHO). (2009). *Pathways to Better Diagnostics for Tuberculosis: A Blueprint for the Development of TB Diagnostics by the New Diagnostics Working Group of the Stop TB Partnership.* Geneva: World Health Organization.

World Health Organization (WHO). (2011a). *Policy Statement: Automated Realtime Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System.* Geneva: World Health Organization.

World Health Organization (WHO). (2011b). *Commercial Serodiagnostic Tests for Diagnosis of Tuberculosis. Policy Statement.* Geneva: World Health Organization.

World Health Organization (WHO). (2013). *Global Tuberculosis Report* 2013. Geneva: World Health Organization.

Xie, H., Mire, J., Kong, Y., Chang, M., Hassounah, H. A., Thornton, C. N., et al. (2012). Rapid point-of-care detection of the tuberculosis pathogen using a BlaC-specific fluorogenic probe. *Nat. Chem.* 4, 802–809. doi: 10.1038/nchem.1435

Young, D. B., Perkins, M. D., Duncan, K., and Barry, C. E. III. (2008). Confronting the scientific obstacles to global control of tuberculosis. *J. Clin. Invest.* 118, 1255–1265. doi: 10.1172/JCI34614

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Received: 19 August 2014; paper pending published: 22 September 2014; accepted: 01 October 2014; published online: 20 October 2014.

Citation: Tucci P, González-Sapienza G and Marin M (2014) Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis. Front. Microbiol. ***5****:549. doi: 10.3389/fmicb.2014.00549*

This article was submitted to Infectious Diseases, a section of the journal Frontiers in Microbiology.

Copyright © 2014 Tucci, González-Sapienza and Marin. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Integrative proteomic and glycoproteomic profiling of *Mycobacterium tuberculosis* culture filtrate

Paula Tucci[1]*, Madelón Portela[2,3], Carlos Rivas Chetto[4], Gualberto González-Sapienza[5], Mónica Marín[1]

1 Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, **2** Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay, **3** Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, **4** Departamento de Laboratorio, Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes, Centro de Referencia Nacional para Micobacterias, Ministerio de Salud Pública, Montevideo, Uruguay, **5** Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, Universidad de la Republica Uruguay, Montevideo, Uruguay

* ptucci@fcien.edu.uy

Check for updates

OPEN ACCESS

Citation: Tucci P, Portela M, Chetto CR, González-Sapienza G, Marín M (2020) Integrative proteomic and glycoproteomic profiling of *Mycobacterium tuberculosis* culture filtrate. PLoS ONE 15(3): e0221837. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837

Editor: Olivier Neyrolles, Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, FRANCE

Received: August 8, 2019

Accepted: February 10, 2020

Published: March 3, 2020

Copyright: © 2020 Tucci et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Mass spectrometry proteomics data (raw data and search files) have been deposited at the MassIVE repository with the dataset MSV000084184 ftp://massive.ucsd.edu/MSV000084184/ and announced via ProteomeXchange PXD014964 (doi:10.25345/C5PW8Q). Values used to build graphs are provided in Supplementary S1, S3 and S6 Tables.

Funding: PT was a recipient of a Doctoral Fellowship (Comisión Académica de Posgrado https://www.posgrados.udelar.edu.uy/portada.

Abstract

Despite being the subject of intensive research, tuberculosis, caused by *Mycobacterium tuberculosis*, remains at present the leading cause of death from an infectious agent. Secreted and cell wall proteins interact with the host and play important roles in pathogenicity. These proteins are explored as candidate diagnostic markers, potential drug targets or vaccine antigens, and more recently special attention is being given to the role of their post-translational modifications. With the purpose of contributing to the proteomic and glycoproteomic characterization of this important pathogen, we performed a shotgun analysis of culture filtrate proteins of *M. tuberculosis* based on a liquid nano-HPLC tandem mass spectrometry and a label-free spectral counting normalization approach for protein quantification. We identified 1314 *M. tuberculosis* proteins in culture filtrate and found that the most abundant proteins belong to the extracellular region or cell wall compartment, and that the functional categories with higher protein abundance factor were virulence, detoxification and adaptation, and cell wall and cell processes. We could identify a group of proteins consistently detected in previous studies, most of which were highly abundant proteins. In culture filtrate, 140 proteins were predicted to contain one of the three types of bacterial N-terminal signal peptides. Besides, various proteins belonging to the ESX secretion systems, and to the PE and PPE families, secreted by the type VII secretion system using nonclassical secretion signals, were also identified. O-glycosylation was identified in 46 proteins, many of them lipoproteins and cell wall associated proteins. Finally, we provide proteomic evidence for 33 novel O-glycosylated proteins, aiding to the glycoproteomic characterization of relevant antigenic membrane and exported proteins. These findings are expected to collaborate with the research on pathogen derived biomarkers, virulence factors and vaccine candidates, and to provide clues to the understanding of the pathogenesis and survival strategies adopted by *M. tuberculosis*.

php). PT was supported by Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII https://www.anii.org.uy/apoyos/investigacion/) grant FMV_3_2013_1_100859. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Introduction

Mycobacterium tuberculosis, the causative agent of tuberculosis (TB) remains a major public health threat. According to the last Global Tuberculosis Report published by the World Health Organization (WHO) an estimate of 10 million people developed TB disease in 2018. Moreover, TB is at present the leading cause of death from a single infectious agent, causing an estimated 1.2 million deaths among HIV-negative people and approximately 250 thousand deaths among HIV-positive people [1]. Although TB diagnosis and successful treatment averts millions of deaths each year, there are still large and persistent gaps related to this infection that must be resolved in order to accelerate progress towards the goal of ending the TB epidemic endorsed by WHO [1].

M. tuberculosis (MTB) has evolved successful mechanisms to circumvent the hostile environment of the macrophage, such as inhibiting the phagosome-lysosome fusion and to escape the acidic environment inside the phagolysosome [2]. MTB may be unique in its ability to exploit adaptive immune responses, through inflammatory lung tissue damage, to promote its transmission [3]. It has been proposed that this microorganism was pressed by an evolutionary selection that resulted in an infection that induces partial immunity, where the host survives a long period after being infected with the pathogen, aiding in microorganism persistence and transmission [3]. MTB mechanisms of evasion of host immune system were proposed to have consequences in the design of TB vaccines [3] and to be in part responsible of the poor performance of immune-based diagnostic tools [4,5].

The cell envelope and secreted components of MTB are among the bacterial molecules most commonly described as potential biomarkers of the infection, or involved in host immune evasion. Mycobacteria possess a remarkably complex cell envelope consisting of a cytoplasmic membrane and a cell wall. These constitute an efficient permeability barrier that plays a crucial role in intrinsic drug resistance and contributes to the resilience of the pathogen in infected hosts [6]. Membrane and exported proteins are crucial players for maintenance and survival of bacterial organisms, and their contribution to pathogenesis and immunological responses make these proteins relevant targets for medical research [7]. In particular, these proteins are known to play pivotal roles in host-pathogen interactions and, therefore, represent potential drug targets and vaccine candidates [8].

The bulk of exported proteins in mycobacteria are transported by the general secretory Sec-translocase pathway. This is performed by recognition of the signal peptide in the nascent preprotein, which is subsequently transferred in an unfolded state to the machinery that executes its translocation across the membrane [9,10]. As in other bacteria, a further protein export system of mycobacteria is the Tat pathway, which exports folded preproteins with N-terminal signal peptides containing a twin-arginine motif [10]. Besides, mycobacteria utilize the specialized type VII secretion systems (T7SS) to export many of their important virulence proteins. The T7SS encompasses five homologous secretion systems (designated ESX-1 through ESX-5). Most pathogenic mycobacterial species, including the human pathogen *M. tuberculosis*, possess all five ESX systems [11,12]. The ability of MTB to subvert host immune defenses is related to the secretion of multiple virulence factors via the specialized T7SS [12].

Recent developments in mass spectrometry-based proteomics have highlighted the occurrence of numerous types of post-translational modifications (PTMs) in proteomes of prokaryotes which create an enormous diversity and complexity of gene products [13]. This PTMs, mainly glycosylation, lipidation and phosphorylation, are involved in signaling and response to stress, adaptation to changing environments, regulation of toxic and damaged proteins, protein localization and host-pathogen interactions. In MTB, more frequently O-glycosylation events have been reported [14], being this post-translational modification often found, in

conjunction with acylation, in membrane lipoproteins [15]. A mechanistic model of this modification was proposed in which the initial glycosyl molecule is transferred to the hydroxyl oxygen of the acceptor Thr or Ser residue, a process catalyzed by the protein O-mannosyltransferase (PMT) (Rv1002c) [16]. Hereafter, further sugars are added one at a time, a process that in *M*. *smegmatis* was reported to be catalyzed by the mannosyltransferase PimE (encoded by the gene *Msmeg_5149*, homologous to the gene Rv1159 in *M*. *tuberculosis*) [17]. Sec-dependent secretion has been proposed to be linked to O-glycosylation [16], and this modification appears essential for MTB virulence, since Rv1002c deficient strains are highly attenuated in immunocompromised mice [17].

Despite the vital importance of glycosylated proteins in MTB pathogenesis, the current knowledge in this regard is still limited, and in culture filtrates of this pathogen a few secreted and cell wall-associated glycoproteins have been identified to date [15,18,19]. Initial evidence confirmed eight lipoprotein sequences of MTB proteins which conferred concanavalin A (ConA) binding to a chimeric reporter protein, including Apa (Rv1860), LpqH (Rv3763), Mpt83 (Rv2873) and PstS1 (Rv0934) [20]. Regarding the identification of O-glycosylated proteins in MTB secreted proteins a glycoproteomic approach reported 41 putative mannosylated proteins, being many of them lipoproteins, after ConA chromatography enrichment and 2D gel electrophoresis [18]. In a more recent glycoproteomic approach a ConA enrichment technique combined with the use of different collision energy dissociation techniques, allowed the identification of O-glycosylation sites in 13 MTB proteins [19], including Apa (Rv1860), 6 proteins found in the former screen using ConA chromatography [18] and 6 novel glycoproteins. Recent evidence using whole cell extracts revealed that glycosylation could be much more frequent than previously thought, explaining the phenotypic diversity and virulence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex [14].

In this study we describe a straightforward methodology based on a high throughput label-free quantitative proteomic approach in order to provide a comprehensive identification, quantification and evaluation of the extent of O-glycosylation of proteins in *M*. *tuberculosis* H37Rv culture filtrate. The results presented here make focus on the principal exported and secreted virulence factors with the aim to contribute to a deep proteomic and glycoproteomic characterization of this relevant pathogen and to collaborate to a better understanding of the pathogenesis and survival strategies adopted by MTB.

Materials and methods

Mycobacterial strain and growth conditions

Mycobacterium tuberculosis H37Rv strain (ATCC® 25618™) was grown for 3 weeks at 37˚C in Lowenstein Jensen solid medium and after growth was achieved it was subcultured in Middlebrook 7H9 broth supplemented with albumin, dextrose, and catalase (ADC) enrichment (Difco, Detroit, MI, USA) for 12 days with gentle agitation at 37˚C. Mycobacterial cells were pelleted at 4000xg for 15 min at 4˚C and washed 3 times with cold phosphate-buffered saline. Mycobacterial cells were subsequently cultured as surface pellicles for 3 to 4 weeks at 37˚C without shaking in 250 mL of Sauton minimal medium, a synthetic protein-free culture medium, which was prepared as previously described [21].

Culture filtrate protein preparation

Bacterial cells were removed by centrifugation and culture filtrate protein (CFP) was prepared by filtering the supernatant through 0.2 μM pore size filters (Millipore, USA). After sterility testing of CFP in Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) supplemented with MGIT 960 supplement (BD, Bactec) for 42 days at 37˚C in BD BACTEC™ MGIT™ automated

mycobacterial detection system, CFP was concentrated using centrifugal filter devices (Macrosep Advance, 3kDa MWCO (Pall Corporation, USA)). Concentrated CFP was buffer exchanged to phosphate-buffered saline and total protein concentration was quantified by BCA (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fischer Scientific). *M. tuberculosis* concentrated CFP samples diluted in SDS-PAGE loading buffer were loaded onto 15% SDS-PAGE and silver nitrate staining was performed as described elsewhere [22].

Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC MS/MS)

Two replicas of *M. tuberculosis* CFP (25 μg) were loaded in SDS-PAGE 15% and stained with CBB G-250 as described elsewhere [23]. Six gel slices were excised from each lane according to protein density. In-gel Cys alkylation, in gel-digestion and peptide extraction was performed as described before [24]. Tryptic peptides were separated using nano-HPLC (UltiMate 3000, Thermo Scientific) coupled online with a Q-Exactive Plus hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometer (Thermo Fischer Scientific). Peptide mixtures were injected into a trap column Acclaim PepMap 100, C18, 75 um ID, 20 mm length, 3 um particle size (Thermo Scientific) and separated into a Reprosil-Pur 120 C18-AQ, 3 μm (Dr. Maisch) self-packed column (75μm ID, 49 cm length) at a flow rate of 250 nL/min. Peptide elution was achieved with 105 min gradient from 5% to 55% of mobile phase B (A: 0.1% formic acid; B: 0.1% formic acid in 80% acetonitrile). The mass spectrometer was operated in data-dependent acquisition mode with automatic switching between MS and MS/MS scans. The full MS scans were acquired at 70K resolution with automatic gain control (AGC) target of 1×10^6 ions between m/z = 200 to 2000 and were surveyed for a maximum injection time of 100 milliseconds (ms). Higher-energy collision dissociation (HCD) was used for peptide fragmentation at normalized collision energy set to 30. The MS/MS scans were performed using a data-dependent top12 method at a resolution of 17.5K with an AGC of 1×10^5 ions at a maximum injection time of 50 ms and isolation window of 2.0 m/z units. A dynamic exclusion list with a dynamic exclusion duration of 45 s was applied.

LC-MS/MS data analysis

LC-MS/MS data analysis was performed in accordance to the PatternLab for proteomics 4.0 software (http://www.patternlabforproteomics.org) data analysis protocol [25]. The proteome (n = 3993 proteins) from *M. tuberculosis* (Reference strain ATCC 25618/H37Rv UP000001584) was downloaded from Uniprot (March 2017) (https://www.uniprot.org/proteomes/). A target-reverse data-base including the 123 most common contaminants was generated using PatternLab's database generation tool. Thermo raw files were searched against the database using the integrated Comet [26] search engine (2016.01rev.3) with the following parameters: mass tolerance from the measured precursor m/z(ppm): 40; enzyme: trypsin, enzyme specificity: semi-specific, missed cleavages: 2; variable modifications: methionine oxidation; fixed modifications: carbamidomethylation of cysteine. Peptide spectrum matches were then filtered using PatternLab's Search Engine Processor (SEPro) module to achieve a list of identifications with less than 1% of false discovery rate (FDR) at the protein level [27]. Results were post-processed to only accept peptides with six or more residues and proteins with at least two different peptide spectrum matches. These last filters led to a FDR at the protein level lower than 1% for all search results. Proteins were further grouped according to a maximum parsimony criteria in order to identify protein clusters with shared peptides and to derive the minimal list of proteins [28]. Spectrum counts of proteins identified in each technical replicate were statistically compared with paired Mann-Whitney test.

For the O-glycosylation analysis raw files were searched against the same database using the parameters described above with the addition of the following variable modifications in S or T amino acid residues: Hex = 162.052824 Da, Hex-Hex = 324.1056 Da or Hex-Hex-Hex = 486.1584 Da. Monoisotopic mass of each neutral loss modification was defined in Comet search engine according to the values recorded in Unimod public domain database (http://www.unimod.org/). Each O-glycosylation was tested independently and a maximum of 2 modifications per peptide was allowed.

Peptide spectrum matches were filtered and post-processed using SEPro module, using the same parameters as described above and proteins were grouped according to a maximum parsimony criteria [28].

Protein analysis

Identified proteins in each replicate were compared by area-proportional Venn Diagram comparison (BioVenn [29]) and a list of common proteins was generated. Further analysis only considered proteins present in both replicates of LC MS/MS analysis. SEPro module retrieved a list of protein identified with Uniprot code. Molecular weight, length, complete sequence, gene name and *M. tuberculosis* locus identified (Rv) was obtained using the Retrieve/ID mapping Tool of Uniprot website (https://www.uniprot.org/uploadlists/) [30]. Protein functional category was obtained by downloading *M. tuberculosis* H37Rv genome sequence Release 3 (2018-06-05) from Mycobrowser website (https://mycobrowser.epfl.ch/) [31].

Protein O-glycosylation analysis

Proteins bearing O-glycosylated peptides in both replicates were compared by area-proportional Venn Diagram comparison (BioVenn [29]) and a list of common glycosylated proteins for each of the analyzed modifications, *i.e.* Hex, Hex-Hex and Hex-Hex-Hex, was generated. Further analysis was manually performed in order to identify common modified peptides in the list of common glycosylated proteins, as well as common modifications (as 1 peptide could contain up to two modifications). As a result of this analysis a list of proteins with common modifications was generated, consisting in proteins having the same modified peptide in both replicates. This list of O-glycosylated proteins was considered for subsequent analysis. For O-glycosylation site assignation the utility XDScoring of Patternlab for proteomics developed for statistical phosphopeptide site localization [32], was preliminary tested in our data.

Signal peptide and transmembrane helices prediction

In order to identify potentially secreted proteins, the SignalP 5.0 Server (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/) was used to detect the presence of N-terminal signal sequences in the analyzed set of proteins. The organism group selected was gram-positive bacteria. This version of the Server, recently launched, incorporates a deep recurrent neural network-based approach that improves signal peptide (SP) prediction across all domains of life and classify them into three type of prokaryotic signal peptides: Sec/SPI (SP): standard secretory signal peptides transported by the Sec translocon and cleaved by Signal Peptidase I, Sec/SPII (LIPO): lipoprotein signal peptides transported by the Sec translocon and cleaved by Signal Peptidase II and Tat/SPI (TAT): signal peptides transported by the Tat translocon and cleaved by Signal Peptidase I [33]. If a signal peptide is predicted, the cleavage site (CS) position is also reported. *M. tuberculosis* H37Rv reference proteome (UP000001584) obtained from UniProt was also submitted to SignalP 5.0 signal peptide prediction [33]. Transmembrane helices in protein sequences were predicted by the TMHMM 2.0 algorithm (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/).

Estimation of protein abundance and comparative analysis

To estimate protein abundance Normalized Spectral Abundance Factor (NSAF) calculated with PatternLab for proteomics software was considered. NSAF allows for the estimation of protein abundance by dividing the sum of spectral counts for each identified protein by its length, thus determining the spectral abundance factor (SAF), and normalizing this value against the sum of the total protein SAFs in the sample [34,35]. Proteins were ordered according to their NSAF. NSAF values corresponding to percentile 75th, 90th and 95th were calculated, and the groups of proteins above these values were identified as P75%, P90% and P95% proteins, respectively. The list of proteins obtained in this study was compared with other proteomic studies [9,36,37] by Venn Diagram comparison (Venny 2.1, BioinfoGP [38]) and NSAF of proteins identified in all studies, 3 studies, 2 studies or only this study were statistically compared with unpaired Mann-Whitney test. The protein abundance determined for CFP identified in this study (NSAF) was compared with the protein abundance calculated for *M. tuberculosis* proteins identified in a previous study using the exponentially modified protein abundance index (emPAI) [9].

Protein classification

Gene Onthology (GO) analysis of the culture filtrate proteins was performed with David Gene Functional Classification Tool [39,40] using the Cellular Component Ontology database and total proteins of *M. tuberculosis* H37Rv (NCBI:txid83332) as background. With this analysis principal categories of enriched terms ($p<0.05$) for P75%, P90%, P95% and total proteins were determined. Functional classification of culture filtrate proteins was performed according to functional categories of *M. tuberculosis* database Mycobrowser [31].

Proteins with O-glycosylation modifications were analyzed with David Gene Functional Classification Tool [39,40] using Cellular Component, Biological Processes and Molecular functions Ontology database and total proteins of *M. tuberculosis* H37Rv (NCBI:txid83332) as background.

O-glycosylation validation

The same analytical workflow described for O-glycosylation analysis of our data was performed using the raw data files deposited at the ProteomeXchange Consortium with the dataset identifier PXD000111 [37]. This analysis was performed in order to compare the modified peptides identified in our work against additional biological replicates obtained in a previous work that extensively characterized culture filtrate proteins of *M. tuberculosis* H37Rv [37]. Additionally, some relevant scans corresponding to glycosylated peptides were searched in Mascot Server MS/MS Ions Search (Mascot, Matrix Science Limited [41]). Search was performed against NCBIprot (AA) database of all taxonomies. Search parameters were defined as peptide mass tolerance: ± 10 ppm, MS/MS mass tolerance: ± 0.15 Da, enzyme: semiTrypsin, fixed modifications: Carbamidomethyl (C), variable modifications: Hex (ST), Hex(2) (ST) or Hex(3) (ST), according to the searched modification. Other parameters were set to default values.

Results and discussion

Characterization of culture filtrate proteins using LC MS/MS

M. tuberculosis H37Rv was cultured following a classical method using Sauton minimal medium, a synthetic protein-free culture medium compatible with proteomic downstream analysis [21] and four different batches of culture filtrate proteins (CPF) were analyzed by gel

electrophoresis and silver nitrate staining. An electrophoretic pattern showing a variety of proteins from approx. 10 kDa to 100 kDa was observed (S1A Fig). As similar patterns were observed with the different CFP preparations a composed sample was prepared for LC MS/MS analysis. A high throughput analysis was performed using a shotgun quantitative approach based on a liquid nano-HPLC and tandem mass spectrometry workflow. The proteins present in two technical replicates were resolved in SDS-PAGE and 6 different portions of each lane were further selected for LC MS/MS analysis (S1B Fig). For further analysis, each lane was batch-processed, including the different portions analyzed, in order to visualize the whole protein composition of culture filtrate. 1427 (0.28% FDR) and 1429 (0.41% FDR) different MTB proteins were detected in CFP(1) and CFP(2), respectively (S1 Table). The mass spectrometry proteomics data (raw data and search files) have been deposited at the MassIVE repository with the dataset MSV000084184 and announced via ProteomeXchange PXD014964 (doi:10.25345/C5PW8Q).

Qualitative comparison of both datasets using a Venn Diagram bioinformatic tool showed that 1314 MTB proteins (92%) were shared between both replicates (S1C Fig) and spectrum counts quantitative comparison showed that there were not statistical differences among them (S1D Fig). The full list of 1314 common proteins, which was used for further analysis, is provided in S1 Table. Proteins showed a wide distribution of molecular weights, however most of them were of low molecular weight (median 31.97 kDa, Q1 21.25 kDa, Q3 46.50 kDa), which was consistent with the profile observed in S1A and S1B Fig. Previous research has shown that the vast majority of protein spots resolved in 2D gel electrophoresis of *M. tuberculosis* H37Rv CFP were found in the molecular weight range of 6–70 kDa [21]. Moreover, consistent with our results, proteins identified by LC-MS/MS in a well characterized CFP, showed that the majority of the proteins were found in the 10–50 kDa range, with an average theoretical mass of 31.0 kDa [36].

Protein classification using a quali-quantitative analysis

Quantitative proteomics based on spectral counting methods are straightforward to employ and have been shown to correctly detect differences between samples [42]. In order to consider sample-to-sample variation obtained when carrying out replicate analyses, and the fact that longer proteins tend to have more peptide identifications than shorter proteins, Patternlab for Proteomics software uses NSAF (Normalized spectral abundance factor) [43] for spectral counting normalization. NSAF was shown to yield the most reproducible counts across technical and biological replicates [34]. Using the sum of NSAF of both replicates (Total NSAF, included in S1 Table) the common list of CFP was ordered according to protein abundance and arbitrarily grouped in 4 subgroups (P95%, P90%, P75% and total CFP), consisting of 66, 132, 329 and 1314 proteins, respectively. P95% comprised proteins above 95th percentile NSAF, thus representing the most abundant proteins in the sample. P90% and P75% comprised proteins above 90th and 75th percentile, respectively. These subgroups of proteins were functionally classified using Gene Ontology, Cellular Component analysis, and principal categories of enriched terms ($p<0.05$) were determined (Fig 1A). Considering the subgroup of total CFP proteins 4 principal categories (cell wall, cytoplasm, extracellular region and plasma membrane) were similarly enriched with respect to *M. tuberculosis* H37Rv total proteins used as background (fold change 1.5, 1.5, 1.2 and 1.1, respectively). However, when considering the subgroups of more abundant proteins, the categories cell wall and extracellular region showed a marked increase of fold enrichment with protein abundance, achieving these categories in P95% subgroup a fold enrichment of 2.9 ($p = 8.3e-18$) and 3.1 ($p = 2.0e-8$), respectively. This tendency was not observed in cytoplasm and plasma membrane categories. Thus, our analysis

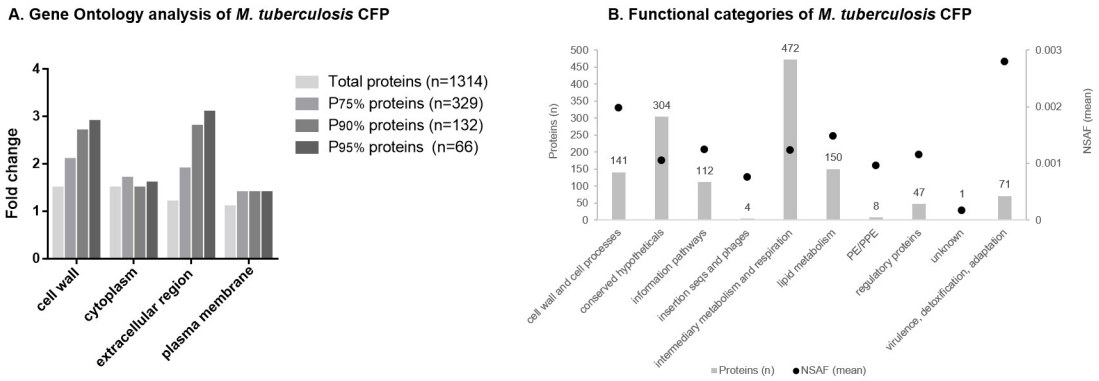


Fig 1. Quali-quantitative protein classification. (1A) Fold change of principal categories of enriched terms ($p<0.05$) obtained analyzing common proteins with David Gene Functional Classification Tool [39,40] using the Cellular Component Ontology database and *M. tuberculosis* H37Rv total proteins as background. Proteins were ordered considering normalized spectral abundance factor (NSAF) and percentile 75th, 90th and 95th NSAF were calculated. Fold change of the lists above each defined percentile (P75%, P90% and P95% proteins) analyzed using the same approach is shown. (1B) Functional categories of CFP according to *M. tuberculosis* database Mycobrowser [31]. Bars represent number of proteins corresponding to each category (number is indicated above each bar, scale in left axe) and dots represent mean NSAF of proteins in each category (scale is indicated in right axe).

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837.g001

indicates that the subgroups of more abundant proteins contained mainly proteins of extracellular region and cell wall compartment.

The annotated *M. tuberculosis* H37Rv proteins have been classified into 12 distinct functional categories in the *M. tuberculosis* database Mycobrowser [31]. Functional classification of proteins identified in this study showed that proteins were distributed across ten of those functional groups (Fig 1B). Most of the identified proteins are involved in intermediary metabolism and respiration (35.9%). However, when protein abundance is considered, the category with the highest protein mean NSAF is virulence, detoxification, adaptation followed by cell wall and cell processes (Fig 1B). In particular, enzymes involved in detoxification of reactive oxygen intermediates (KatG (Rv1908c), SodA (Rv3846) and TxP (Rv1932)), which participate in the resistance of the bacterium to the oxidative stress inside host cells [44,45], are representatives of this functional category and belong to P95% protein subgroup.

Considering the search for pathogen-derived biomarkers for *M. tuberculosis* active diagnosis, we looked in the list of CFP for principal protein antigens detected in clinical samples [46], confirming the presence of 11 out of 12. Moreover, these putative biomarkers exhibited on average a high NSAF, being 10 of them in the P90% subgroup. This information however, should be taken into account cautiously, since biomarkers related to pathogen infection may not necessarily correspond to *in vitro* culture highly-expressed proteins.

In sum, the quali-quantitative analysis of the LC MS/MS analysis presented here served to evidence a global correlation between highly secreted proteins and their biological implication in key pathways related to mycobacterial pathogenicity. Particular stress or starvation *in vitro* conditions [37], hypoxic or non-replicative persistence models, different MTB lineages, native and mutant strains, as well as outbreak-related clinical isolates could be confidently analyzed and compared by means of this approach, bringing answers to scientific questions related to MTB virulence, persistence and drug resistance.

Prediction of secreted proteins

Given the results obtained the question arises whether the presence of certain proteins in CFP is due to bacterial leakage/autolysis in combination with high levels of protein expression and

extracellular stability, rather than to protein-specific export mechanisms. Using SignalP 5.0 peptide prediction server [33] a total of 392 proteins were predicted to have one type of signal peptide in *M. tuberculosis* proteome (207 SP, 113 LIPO and 72 TAT). Of those we identified 140 in CFP (62 SP, 53 LIPO and 25 TAT), being many of them known secreted proteins, particularly FbpA (Rv3804c), FbpB (Rv1886c), FbpC (Rv0129c), Apa (Rv1860), Mpt64 (Rv1980c), PstS1 (Rv0934), LpqH (Rv3736), among others (S2 Table).

To export proteins across its unique cell wall, besides the signal-sequence-dependent secretory pathways, mycobacteria utilize up to five distinct ESX secretion systems (designated ESX-1 through ESX-5, referred to as the type VII secretion system: T7SS), with various functions in virulence, iron acquisition, and cell surface decoration [11]. The ESX-1 system was the first of the T7SS to be identified and is responsible for the secretion of EsxA (6 kDa early secretory antigenic target, ESAT-6, Rv3875) and EsxB (Rv3874) [47]. Proteins belonging to ESX secretion systems gene clusters as well as closely related PE and PPE multigene families are *M. tuberculosis* secreted proteins that do not have classical secretion signals [12,48]. PE and PPE proteins are acidic, glycine-rich proteins, that are unique to mycobacteria, and significantly expanded in slow-growing pathogenic mycobacteria [48,49]. The T7SS is responsible of the export of PE and PPE proteins, mainly through the ESX-5 system [10,50]. We identified in CFP several proteins of ESAT-6 family, including EsxA (Rv3875) and EsxB (Rv3874), and various proteins of ESX-1 secretion system which count with experimental evidence of being secreted [30]. None of those were predicted by SignalP to contain a signal peptide (S2 Table). Finally, we detected 8 PE and PPE family proteins in our sample, from which 3 were predicted to have a signal peptide (S2 Table).

The presence in our CFP sample of several leaderless proteins, many of them with high level of expression, could reflect some extent of bacterial autolysis. Indeed, different autolysis markers were detected in our protein list, including GroEL (Rv0440), L-lactate dehydrogenase (Rv1872c), isocitrate dehydrogenase (Rv3339c) [51], glutamine synthetase GlnA1 (Rv2220), superoxide dismutase SodA (Rv3846), bacterioferritin Bfr (Rv1876) and malate dehydrogenase Mdh (Rv1240) [52]. In particular, the presence of SodA and GlnA1 in culture filtrate of actively growing MTB culture was described as not due to a protein-specific export mechanism, but rather to bacterial leakage or autolysis. The extracellular abundance of these enzymes was additionally related to their high level of expression and stability [52].

In summary, various proteins with signal peptides were detected in our sample and several other proteins related to T7SS were identified. The SignalP 5.0 server was a suitable approach in order to predict secreted proteins with classical signal peptides but it has limitations to analyze proteins bearing non-classical secretion signals. Besides, different autolysis protein markers were identified, evidencing certain degree of bacterial lysis probably combined with high protein expression and extracellular stability.

Integrative analysis with previous proteomic studies

Former research studies, which used different and complementary approaches to characterize *M. tuberculosis H37Rv* CFP, were compared against our results [9,36,37]. Malen *et al.* evaluated a culture filtrate of *M. tuberculosis* H37Rv, considerably enriched for secreted proteins and identified 257 proteins (254 annotated with Rv identifier) [36]. Later, de Souza *et al.* performed a proteomic screening of proteins in culture filtrate, membrane fraction and whole cell lysate of *M. tuberculosis*, identifying 2182 proteins in the different fractions, and specifically 458 proteins in CFP [9]. In a recent report, Albrethsen *et al.* characterized the culture filtrate proteome of *M. tuberculosis* H37Rv bacteria in normal log-phase growth and after 6 weeks of nutrient starvation and detected 1362 different proteins [37]. Through this comparison we evidenced a

common group of 122 proteins consistently detected (S2A Fig). Among them, 41 belong to the P90% subgroup indicating that these are highly abundant proteins (S3 Table). Several relevant proteins in terms of their implication in virulence, vaccine design and diagnosis are included in this common group (S3 Table). Besides, in this group, 50% of the proteins were predicted to have one type of signal peptide, whereas in the group of 221 particular proteins (not identified in the 3 studies considered in the comparison) less than 6% (n = 13) of the proteins were predicted as having a secretion signal peptide (S3 Table). Particular proteins were mostly classified as related to intermediate metabolism and respiration (n = 62), a fact that could indicate that most are cytoplasmatic proteins, observed in CFP due to bacterial lysis. However, interestingly, 18 particular proteins were classified as related to cell wall and cell processes, including some proteins of the T7SS systems, and this category exhibited the highest protein mean NSAF (S3 Table), consistent with their preferred location in culture filtrate.

Proteins identified in the four studies (N = 4) are on average more abundant than proteins identified in the other groups analyzed (N = 3, N = 2 or N = 1) (S2B Fig). Moreover, proteins identified in at least 2 studies (N = 3 or N = 2) are globally more abundant than proteins identified exclusively in the present work. The fact that proteins identified only in this study are mostly predicted as not having signal peptide, as well as poorly abundant, confirmed that bacterial lysis occurred during culture. It is important however to note that all autolysis markers identified in our sample were found in at least one of the previous studies, suggesting that bacterial lysis is a common observation in MTB culture filtrate.

By comparing our data against the proteomic quantitative approach performed by de Souza *et al* [9] we identified a subgroup of highly represented proteins consisting of those also present in the three fractions studied by them, *i.e.* culture filtrate, membrane fraction and whole cell lysate. This subgroup accounted for 43.2% of protein abundance expressed as NSAF in this work and 29.2% of emPAI calculated by the cited research (S4 Table).

As a whole these observations show that the CFP prepared in the present work exhibited a good correlation with previous studies, both in terms of qualitative proteomic composition as well as in relation to the quantitative estimation of protein abundance. Proteins highly represented in our sample are proteins either frequently identified by others using complementary approaches in culture filtrates of MTB, and thus confirming that our sample is enriched in proteins that the bacteria does secrete, or ubiquitously detected in different *M. tuberculosis* cellular fractions, indicating that these could represent highly expressed proteins.

By this integrative analysis we evidenced 30 proteins not annotated with proteomic data in Mycobrowser website (Release 3 (2018-06-05)) [31] (S5 Table). This list, principally composed by proteins classified as conserved hypotheticals, includes the ESX-3 secretion-associated protein EspG3 (Rv0289) identified with 4 unique peptides in CFP(1) and 5 unique peptides in CFP(2) and the Two component sensor histidine kinase DosT (Rv2027c) identified with 2 unique peptides in each replicate. The information presented here is expected to be included in this relevant mycobacterial database in order to be easily available to research community. Further comparison of these proteins with the results obtained in a proteome-wide scale approach based on SWATH mass spectrometry [53] allow us the identification, to the best of our knowledge, of 8 proteins without previous evidence of expression at the protein level. All of them were identified with at least two unique peptides (S5 Table). Sequence coverage and peptide spectra of possible toxin MazF7 (Rv2063A), a ribonuclease belonging to toxin-antitoxin system [54], and Acyl carrier protein (ACP) MbtL (Rv1344), an enzyme thought to be involved in fatty acid biosynthesis [55], are presented in S3 Fig.

O-glycosylation analysis

To conclude our integrative analysis of MTB culture filtrate, the presence of O-mannosylated proteins was evaluated. To this date, only mannose has been fully validated as the sugar decorating glycosylated proteins in *M*. *tuberculosis*. Although the pentose sugar arabinose, as well as other hexose sugars like galactose or glucose, were described as a potential glycan in 45 kDa antigen (Apa (Rv1860) [56], only mannose was confirmed as the covalently bounded sugar [15,57]. Recently, in proteins derived from MTB whole cell extracts other O-linked sugars, as well as several N-glycosylation events, were reported [14]. However, no further validation of the newly identified sugars is currently available [15]. Taken this into account, our analysis was restricted to the evaluation of peptides containing hexoses and multi hexose modifications (up to 3 hexoses at each glycosylation site) [15,57].

Our rationale was that the nano LC MS/MS technology used in this work, by having more than four orders of magnitude intrascan dynamic range and a femtogram-level sensitivity, would allow the direct identification of modified peptides, without affinity-based strategies for glycosylated protein enrichment. A similar approach was exploited to evaluate the whole cell lysate of different MTB lineages [14], and in a complementary way the present work evaluated glycosylation of non-previously enriched culture filtrate proteins.

O-glycosylation profile analysis revealed the presence of 69 common glycosylation events in 61 common modified peptides in both replicas of MTB culture filtrate (Table 1). The O-glycosylated common peptides were identified in 167 scans, consisting in at least 2 scans per peptide (1 scan per replica) and a maximum of 8 scans in the case of Hex-Hex-Hex modification of Alanine and proline rich secreted protein Apa (Rv1860) (S6 Table). In many cases the unmodified peptide was identified along with the modified peptide, indicating that glycosylated and unglycosylated proteins isoforms are present (some examples are shown in S4 Fig), as was reported for the conserved lipoprotein LprG [58].

O-glycosylation modifications were detected in 46 different MTB culture filtrate proteins including 7 lipoglycoproteins (S6 Table). 23 of the O-glycosylated proteins presented at least 3 scans of the modified peptide and 7 exhibited more than one of the searched modifications (Fig 2A). Of those, 10 proteins have previous evidence of being mannosylated, summarized in Mehaffy *et al* [15], and 3 additional proteins (HtrA (Rv1223), DsbF (Rv1677) and Wag31 (Rv2145c)) were found with the same modification in a later report [14]. It is Interesting to highlight the high number of scans of modified peptides corresponding to Apa (Rv1860), a largely characterized secreted mannosylated glycoprotein [56,57]. It is currently believed that mannosylated proteins can act as potential adhesins and it was demonstrated that Apa is associated with the cell wall and binds lung surfactant protein A (SP-A) and other immune system C-TLs containing homologous functional domains [59]. In addition, the 19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH (Rv3763), also showing an important number of Hex-Hex and Hex-Hex-Hex modified peptides, is a well-known glycosylated protein exposed in the bacterial cell envelope, that was postulated to be used by mycobacteria to enable their entry into the macrophage through interaction with mannose receptors (MRs) of this host cells [60].

O-glycosylated proteins classification

Glycosylation plays a significant role in MTB adaptive processes and in cellular recognition between the pathogen and its host [59,60]. Significantly enriched biological processes and molecular function categories of the glycoproteins identified here were, respectively, pathogenesis (GlnA1, LpqH, PstS1 and DevR are some proteins assigned to this category) and lipid binding (including lipoproteins LprA and LprF) (Fig 2B). As expected, our GO analysis

Table 1. O-glycosylation profile of *M. tuberculosis* culture filtrate proteins identified by LC MS/MS.

Modification		Hex	Hex-Hex	Hex-Hex-Hex
Replica # 1	**Modified Peptides (n)**	268	94	68
	Peptide FDR (%, n/N)	**0.15** (27/17879)	**0.13** (22/17513)	**0.14** (24/17635)
	Modified Proteins (n)	212	91	62
	Protein FDR (%, n/N)	**0.94** (14/1494)	**0.95** (14/1467)	**1.00** (15/1505)
Replica #2	**Modified Peptides (n)**	107	72	66
	Peptide FDR (%, n/N)	**0.13** (22/16603)	**0.15** (25/16614)	**0.12** (20/16716)
	Modified Proteins (n)	95	67	57
	Protein FDR (%, n/N)	**0.99** (15/1509)	**0.99** (15/1511)	**0.99** (15/1515)
Common analysis	**Common modified proteins (n)**	36	23	15
	Common modified peptides (n)	29	17	15
	Common modifications (n)	35	18	16
	Proteins with common modifications (n)	24	17	13

FDR: False discovery rate, n: number, N: total number.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837.t001

showed that most of the glycoproteins identified were preferentially localized in the cell surface and extracellular region (Fig 2B).

O-glycosylated proteins identified in this study are distributed in 7 functional categories according to *M. tuberculosis* database [35] (Table 2). Most of them are involved in intermediary metabolism and respiration (n = 15) and in cell wall and cell processes (n = 11). Particularly, to this latter category belong the vast majority of known O-mannosylated proteins (Table 2).

The occurrence of some cytosolic glycosylated proteins in our sample may be associated with partial cellular lysis, as mentioned above. However, it is important to note that the presence of this modification in proteins without signal peptide is not expected, since glycosylation has been related to sec-dependent secretion [16]. Coincident with our results, some glycoproteins without signal peptide or transmembrane helices have been previously described, two of

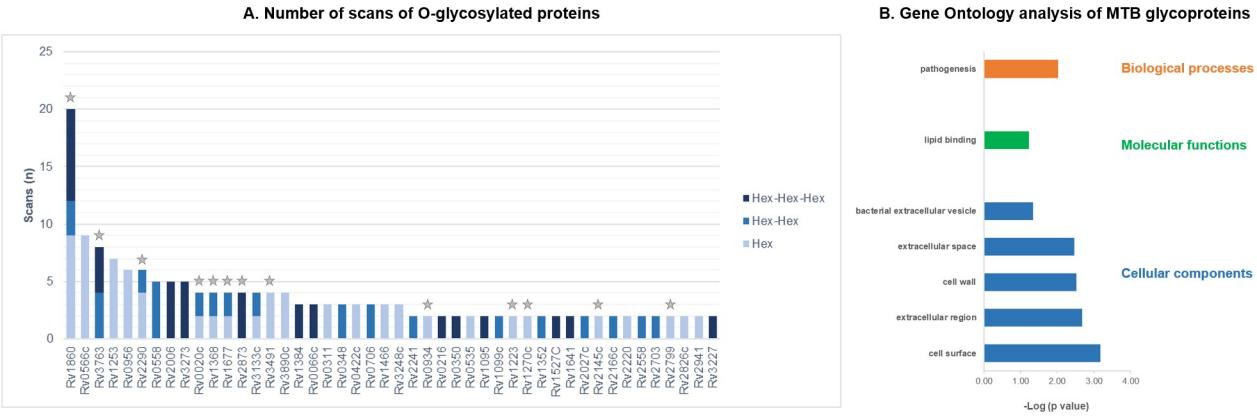


Fig 2. Description of O-glycosylated proteins in *M. tuberculosis* CFP. (2A) Scans of O-glycosylated peptides identified in MTB culture filtrate proteins. Each analyzed modification is displayed with a different bar color. Individual scans of both replicates were considered (n = 46). Previously known O-glycosylated proteins (n = 13) are indicated with a grey star. (2B) Gene Ontology analysis of MTB culture filtrate glycoproteins. Principal categories of enriched terms ($p<0.05$) obtained analyzing proteins with common glycosylation in both replicates with David Gene Functional Classification Tool [39,40] using Molecular Functions, Biological Processes and Cellular Component Ontology database and *M. tuberculosis* H37Rv total proteins as background.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837.g002

Table 2. Functional categories of predicted O-glycosylated proteins according to *M. tuberculosis* database (Mycobrowser [31]).

Functional category	Protein	Locus	Predicted Hex position	Predicted Signal peptide[a]	TMHHM no.[b]	References [c]
Cell wall and cell processes	PstS1	Rv0934	S299	LIPO(Sec/SPII)		[18,20]
	LprA	Rv1270c	T40	LIPO(Sec/SPII)	1	[18,19]
	LprF	Rv1368	S50 & S53	LIPO(Sec/SPII)	1	[14,18]
	DsbF	Rv1677	T33 & T40	LIPO(Sec/SPII)		[14]
	Apa	Rv1860	T313, T315 & T316	SP(Sec/SPI)	1	[14,18,19]
	Wag31	Rv2145c	S192	NO		[14]
	LppO	Rv2290	T73 & T75	LIPO(Sec/SPII)		[14,19]
	Rv2799	Rv2799	T73	NO	1	[14,18,19]
	Mpt83	Rv2873	T49	LIPO(Sec/SPII)		[18,20]
	LpqH	Rv3763	S31, T34 & T35	LIPO(Sec/SPII)		[18,20]
	EsxC	Rv3890c	S35	NO		This work
Virulence, detoxification, adaptation	DnaK	Rv0350	T402	NO		This work
	OtsB1	Rv2006	T148 & S149	NO		This work
Information pathways	RplV	Rv0706	S43	NO		This work
	DeaD	Rv1253	T263 & T294	NO		This work
	InfC	Rv1641	S114	NO		This work
	SigA	Rv2703	S83	NO		This work
Lipid metabolism	Pks5	Rv1527c	T810	LIPO(Sec/SPII)		This work
	FadD28	Rv2941	T500	NO		This work
Regulatory proteins	FhaA	Rv0020c	S332 & S336	NO		[18]
	Rv0348	Rv0348	T115	NO		This work
	DosT	Rv2027c	S421	NO		This work
	DesvR	Rv3133c	S148, T151 & T156	NO		This work
Intermediary metabolism and respiration	Icd2	Rv0066c	S651	NO		This work
	Rv0216	Rv0216	S122	NO		This work
	ThiD	Rv0422c	T2	NO		This work
	PnP	Rv0535	T142	NO		This work
	MenH	Rv0558	S32	NO		This work
	PurN	Rv0956	S24	NO		This work
	PhoH2	Rv1095	T309	NO		This work
	GlpX	Rv1099c	S169	NO		This work
	HtrA	Rv1223	S212	NO	1	[14]
	CarB	Rv1384	T409	LIPO(Sec/SPII)		This work
	GlnA1	Rv2220	T36	NO		This work
	AceE	Rv2241	S32	NO		This work
	AroA	Rv3227	S349	NO		This work
	SahH	Rv3248c	T473	NO		This work
	Rv3273	Rv3273	S735	NO	10	This work
Conserved hypotheticals	Rv0311	Rv0311	S10	NO		This work
	Rv0566c	Rv0566c	T52, S53 & T55	NO		This work
	Rv1352	Rv1352	T23	SP(Sec/SPI)	1	This work
	Rv1466	Rv1466	S5	NO		This work
	Rv2166c	Rv2166c	S39	NO		This work
	Rv2558	Rv2558	T82	NO		This work
	Rv2826c	Rv2826c	S192	NO		This work
	Rv3491	Rv3491	S167 & S176	SP(Sec/SPI)	1	[14,18,19]

[a] Number of transmembrane helices predicted by TMHMM 2.0 server (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/).

[b] SignalP 5.0 software prediction of signal peptide (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/.

[c] Proteins with previous evidence of O-glycosylation are referenced.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837.t002

them also detected in our study (Table 2) [14,18]. In addition, it was demonstrated that the protein O-mannosyl transferase (Rv1002c) deficiency may have broader implications in the physiology and virulence of the mycobacteria, by combining decreased levels of immunodominant glycosylated proteins and altered bacterial cellular pathways, most notably amino acid biosynthesis [15]. Aiding to these results, our data indicate that the variability of substrates related to the glycosylation pathway in MTB is greater than expected, a fact also observed in Birnahu *et al*. report [14] and in the glycoproteome characterization of the related Gram positive *Streptomyces coelicolor* [61].

O-glycosylation validation and site assignation

Of the 46 identified glycoproteins, 9 were proposed as such in the ConA-lectin affinity capture approach performed by Gonzalez-Zamorano *et al.* [18], including several lipoproteins, whereas 5 have been identified in the glycoproteomic analysis of Smith *et al.* [19], where O-linked glycosylation sites were manually assigned after extensive data curation (Table 2). A comparison of O-glycosylation site assignation was performed, although it is important to note that the precise O-glycosylation site assignation is hampered by the fact that collision energies used for peptide fragmentation cause the breakage of the weaker O-glycosydic bond leaving behind mostly unmodified fragments (glycosylation site p-value is presented in S6 Table). Our results are in good agreement in the case of the 5 glycosylated proteins in common, both in regard to O-glycosylated peptide as well as O-glycosylated site identification (S7 Table). Besides, 9 proteins of our list were described in the glycoproteomic analysis of Birhanu *et al.* [14] with the same type of O-glycosylation, and 5 with the same O-glycosylation site (S7 Table). Of those, we identified the same mono- or polyhexose modifications in DsbF (Rv1677), a probable conserved lipoprotein (S5 Fig), confirming that the glycosylation they encountered in whole cell extract of MTB is also present in culture filtrate.

By analyzing proteins which O-glycosylation site was assigned measuring ConA reactivity through peptide cassette sequences screening [20], we confirmed our assignation for LpqH (Rv3763) and Mpt83 (Rv2873). Due to their relevance in *M. tuberculosis* virulence and immune modulation [62], manual validation of peptide spectra of Mpt83 and LpqH, including peptide ions fragment matches, are presented in Fig 3A and 3B, respectively. Although both proteins are largely evidenced as being O-glycosylated due to their interaction with ConA, as native proteins [18] or after heterologous expression in *M. smegmatis* [63–65], to our knowledge this is the first direct glycoproteomic identification in culture filtrate of MTB, of Mpt83 and LpqH derived O-glycosylated peptides. In both cases, O-glycosylation site assignation is coincident with the evidence in *M. smegmatis* model [63,65].

Another interesting protein in terms of its proposed role as active infection biomarker is PstS1, a periplasmic lipoprotein involved in phosphate transport across the membrane. It has been identified as a ConA interacting protein [18,20] and its immunoreactivity was proposed to be related to O-mannosylation [66], but direct evidence of its O-glycosylation in culture filtrate in first provided here (S5 Fig). Interestingly, the O-glycosylation site assignation differs from what was observed in the mycobacterial cassette expression system [20] or in a *P. pastoris* recombinant version of this protein [66].

Furthermore, we looked for O-glycosylated proteins in the raw data files deposited by Albrethsen *et al.* [37] at the ProteomeXchange Consortium. By means of this approach we confirmed 17 modified peptides (38 scans) in common with our results, corresponding to 8 proteins. Except for the adenosylhomocysteinase SahH (Rv3248c)—an enzyme involved in the L-homocysteine biosynthesis -, the rest of those proteins were evidenced as O-glycosylated in previous reports (S8 Table).

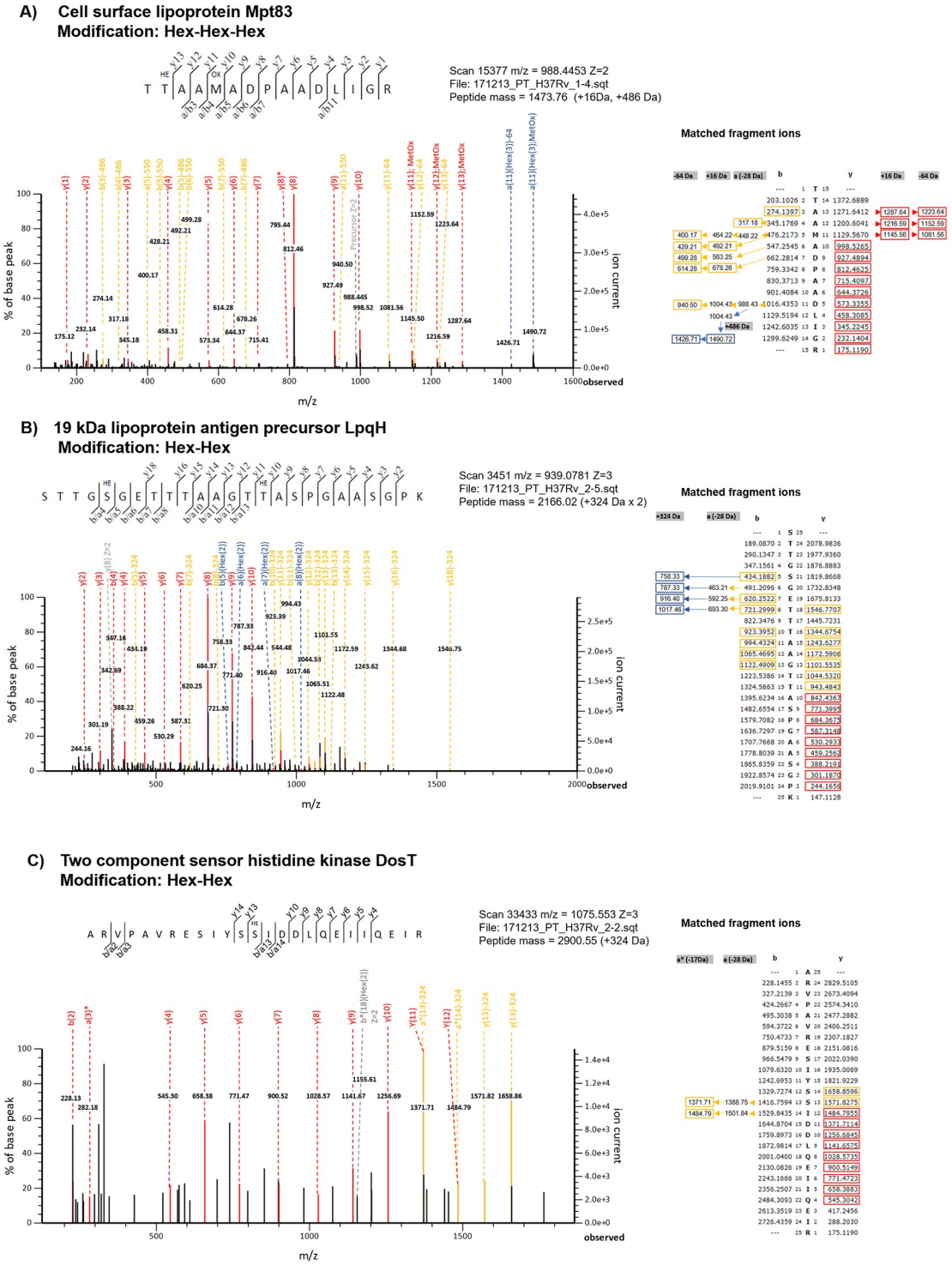


Fig 3. Glycopeptide spectra validation. Peptide fragmentation spectrum of (3A) Mpt83 (Hex-Hex-Hex modification), (3B) LpqH (Hex-Hex modification) and (3C) DosT (Hex-Hex modification). Spectra statistically confirmed by Mascot Server MS/MS Ions Search (HE = Hex(3) or Hex(2)). Fragment ions matches obtained in Mascot Server are indicated in each adjacent table. Color code: Red: unmodified ions, orange: ions with neutral losses, blue: ions bearing modifications, grey: charged ions/precursor assigned in Patternlab for Proteomics.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221837.g003

In brief, we are reporting 33 novel O-glycosylated proteins including hexose and multi-hexose modifications (Table 2). S5 Fig shows several examples of modified peptides spectra with good scores of known and novel glycoproteins. The scan number of each modified peptide spectra is supplied in S6 Table to access the remaining spectra in the publicly available raw data (doi:10.25345/C5PW8Q).

Considering novel O-mannosylated proteins identified in this study, a DosT (Rv2027c) O-glycosylated peptide spectrum bearing two hexoses was manually validated, as this protein has not previous proteomic annotation in Mycobrowser database (Fig 3C). DosT is a hypoxia sensor histidine kinase of the two component regulatory system DevRS/DosT which is essential for mycobacterial entry into and survival in the latent, dormant state [67,68]. The glycoproteomic study from Birhanu *et al*. described this protein as bearing two other different types of O-linked sugars [14], but Hex-Hex modification in that protein has not been reported previously. DevR, also found O-glycosylated by us (S5 Fig), is a regulatory protein induced by DosT under hypoxia. It is required for survival of MTB under hypoxic conditions and for its transition to normoxic metabolism [69]. Further work to validate this observation is warranted, as the dormancy survival regulator system is an attractive target for persistent *M*. *tuberculosis* infection treatment.

In summary, the information presented here serve to aid in the glycoproteomic characterization of this relevant pathogen, confirming previous knowledge and enlarging the set of putative MTB O-glycosylated proteins.

Conclusion

Membrane and exported proteins are crucial players for maintenance and survival of bacterial organisms in infected hosts, and their contribution to pathogenesis and immunological responses make these proteins relevant targets for biomedical research [7]. Consistently, various of the proteins identified in *M*. *tuberculosis* CFP were proposed as relevant mycobacterial virulence factors [44], putative active infection biomarkers [46] or vaccine candidates [70,71].

The shotgun proteomic approach employed in this work allowed a deep comprehension of *M*. *tuberculosis* H37Rv culture filtrate proteins by reporting proteomic evidence in this subfraction for 1314 proteins. In that sense it is important to note that although this method is highly sensitive, specificity was prioritized by selecting as post-processing criteria only proteins with at least two different peptide spectrum matches.

In addition to proteins that have not been reported in *M*. *tuberculosis* H37Rv CFP, we also found proteins consistently detected in previous proteomic studies which were further confirmed as highly abundant proteins. Many of them were detected in culture filtrates of MTB or in different *M*. *tuberculosis* cellular fractions, including membrane fraction and whole cell lysate. This suggests that two complementary pathways are accounting for our observations. On one hand, the abundance of certain proteins in CFP appeared to be truly related to protein-specific export mechanisms, while on the other hand the presence of cytoplasmic markers in our sample evidenced the occurrence of bacterial autolysis combined with high levels of protein expression and extracellular stability. Nevertheless, the GO ontology Cellular Component analysis and the integrative analysis performed with relevant research papers confirmed that our sample is indeed enriched in proteins that the bacteria secretes to the extracellular space. Supporting this, we could identify several proteins with predicted N-terminal signal peptide indicating that these are targeted to the secretory pathways [72], as well as various proteins belonging to the ESX secretion systems and to PE and PPE families, known to be secreted by T7SS, but recognized for not having classical secretion signals [48].

Moreover, the quali-quantitative analysis performed showed a global correlation between highly secreted proteins and their implication in pathways related to virulence, detoxification and adaptation. This approach could be replicated in the future in order to answer remaining questions related to MTB pathogenicity.

Given the increasing evidence indicating that glycosylated proteins are often immune-dominant antigens with a key roles in MTB virulence and host-pathogen interactions [13,15], our integrative analysis also sought to expand the current knowledge in relation to the glycoproteins present in the culture filtrate of this pathogen. We described the identification of 69 glycosylation events, including hexose and multi-hexose modifications, in 46 MTB proteins. In particular, several lipoproteins were found glycosylated in culture filtrate. Lipoproteins have been shown to play key roles in adhesion to host cells, modulation of inflammatory processes, and translocation of virulence factors into host cells [73]. The growing evidence of glycosylation of mycobacterial lipoproteins including the results presented here, indicates that glycosylation plays a significant role in the function and regulation of this group of proteins. Along with lipoproteins, other relevant glycoproteins identified were mainly involved in pathogenesis and cell wall processes. Direct O-mannosylation proteomic evidence was supplied for various known glycoproteins and several novel proteins were predicted as bearing hexose-linked modifications. Protein glycosylation data presented here, including the coexistence of related protein glycoforms evidenced in this work, should be considered for designing antibody-based diagnostic tests targeting *M. tuberculosis* antigens. Besides, as reported for other pathogens [74,75], protein glycosylation diversity could be a key mechanism to provide antigenic variability aiding in the immune subversion of this pathogen.

Our study provided an integrative evaluation of MTB culture filtrate proteins, bringing evidence of the expression of some proteins not previously detected at protein level, and confirming and enlarging the database of O-glycosylated proteins. Although additional functional studies will be required to understand the potential relevance of the novel described glycoproteins in pathogen biology, this information may raise new questions on the role of protein O-glycosylation in the virulence and persistence of MTB, as well as it will contribute to deepen the knowledge of its main biomarkers, virulence factors and vaccine candidates.

Supporting information

S1 Raw images.
(PDF)

S1 Fig. Analysis of *M. tuberculosis* CFP by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). S1A: *M. tuberculosis* CFP analysis by 1D SDS-PAGE 15% and silver nitrate staining. **S1B**: *M. tuberculosis* CFP analysis by 1D SDS-PAGE 15% and CCB G-250 staining. **S1C**: Spectrum counts of proteins identified in each technical replicate. **S1D**: Analysis of proteins identified in each replicate by area-proportional Venn Diagram comparison [29].
(TIF)

S2 Fig. Comparison of *M. tuberculosis* CFP with other relevant proteomic studies. S2A: Analysis of *M. tuberculosis* CFP protein list (CFP TB: this study) versus other proteomic studies of *M. tuberculosis* CPF. **S2B**: Protein abundance estimation of proteins identified this study (CFP TB) and in all of the three other studies evaluated (N = 4), in this study and in two other studies (N = 3), in this study and in one other study (N = 2), or only in this study (N = 1).
(TIF)

S3 Fig. Sequence coverage and representative spectra of possible toxin MazF7 (Rv2063A) and Acyl carrier protein (ACP) MbtL (Rv1344).
(PDF)

S4 Fig. Proteins showing glycosylated and unglycosylated equivalent peptides. Some protein examples are shown: 1) Apa (modification: Hex), 2) LprF (modification: Hex), LppO (modification: Hex-Hex), Apa (modification: Hex-Hex-Hex).
(PDF)

S5 Fig. Scans of glycosylated peptides either confirmed in Mascot Server MS/MS Ions search against NCBIprot (AA) or visualized in mass spectrum viewer (PatternLab for proteomics). Some examples are shown: 1) DsbF (modification Hex-Hex), 2) LppO (modification: Hex), 3) PstS1 (modification Hex), 4) FhaA (modifcation Hex), 5) DevR (modification Hex-Hex), 6) DnaK (modification Hex-Hex-Hex), 7) Rv3273 (modification Hex-Hex-Hex), 8) Icd2 (modification Hex-Hex-Hex), 9) EsxC (modification Hex), 10) SahH (modification Hex), 11) DeaD (modification Hex), 12 Pks5 (modification Hex-Hex-Hex), 13) Wag31 (modification Hex), 14) GlnA1 (modification Hex), 15) AceE (modification Hex-Hex), 16) FadD28 (modification Hex), 17) Rv3491 (modification Hex), 18) Rv1352 (modification Hex-Hex), 19) CarB (modification Hex-Hex-Hex).
(PDF)

S1 Table. Proteins identified with nano-HPLC MS/MS. Sheet 1) Common proteins list including Uniprot identification, protein description, protein length and molecular weight, gene name and *M. tuberculosis H37Rv* gene annotation (Rv) of Sanger Institut (http://sanger.ac.uk/projects/M_tuberculosis/Gene_list/). Sheet 2) Proteins identified in replica CFP(1), Sheet 3) Proteins identified in replica CFP(2), both lists including Uniprot identification as obtained in Patternlab for Proteomics, sequence count, spectrum count, number of unique peptides, protein coverage and protein description. Sheet 3 and Sheet 4) Values used to build Fig 1A and 1B, respectively.
(XLSX)

S2 Table. Proteins with predicted signal peptides. Sheet 1) Signal peptide prediction (SignalP 5.0) in *M. tuberculosis* H37Rv reference proteome (UP000001584), Sheet 2) Signal peptide prediction (SignalP 5.0) in *M. tuberculosis* H37Rv CFP, Sheet 3) Proteins in *M. tuberculosis* H37Rv CFP with signal peptides predicted with SignalP 5.0.
(XLSX)

S3 Table. Integrative analysis of CFP proteins. Sheet 1) Common proteins detected in *M. tuberculosis* CFP, Sheet 2) Proteins not detected in de Souza, Malen and Alberthsen analysis of *M. tuberculosis* CFP, Sheet 3) Signal Peptide Analysis, Sheet 4) Functional analysis, Sheet 5) Values used to build S2 Fig, Sheet 6) Values used to build S4 Table.
(XLSX)

S4 Table. Protein abundance comparison against de Souza *et al*, 2011. Comparison of our proteomic data against the proteomic quantitative approach performed by de Souza *et al*, 2011 [9].
(DOCX)

S5 Table. Proteins without proteomic annotation in Mycobrowser and/or not previously detected at proteomic level. Sheet 1) Proteins identified in *M. tuberculosis* H37Rv CFP without proteomic annotation in Mycobrowser (Release 3 (2018-06-05)) [31]. Sheet 2) Proteins in *M. tuberculosis* H37Rv CFP without previous evidence of expression at protein level, Sheet 3)

Scans of peptides confirming proteins identified in *M. tuberculosis* H37Rv CFP without previous evidence at protein level.
(XLSX)

S6 Table. Scans of O-glycosylated peptides in *M. tuberculosis* H37Rv culture filtrate proteins. Sheet 1) Total scans of O-glycosylated peptides. Sheet 2) Scans of O-glycosylated peptides belonging to lipoglycoproteins. Each table includes the File name where the scan was identified, the scan number, peptide charge (Z), measured and theorical mass and the difference (in ppm), scores (primary, secondary, etc), peptide sequence, modification (glycan), glycosylation site p-value, protein and gene data. Sheet 3 and Sheet 4) Values used to build Fig 2A and 2B, respectively.
(XLSX)

S7 Table. O-glycosylation site comparison with available literature. O-glycosylation site comparison against Smith *et al*., 2014 [19], Birhanu *et al*., 2019 [14] and Herrmann *et al*., 2000 [20].
(XLSX)

S8 Table. O-glycosylation analysis of raw files of Alberthsen *et al*, 2013. Common O-glycosylated proteins (Sheet 1) and scans confirming O-glycosylated peptides (Sheet 2) identified by us in the analysis of the raw data files deposited by Albrethsen *et al*. [37].
(XLSX)

Acknowledgments

We thank Rosario Duran (IIBCE/ Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay) for critical reading of the manuscript and helpful discussion about LC MS/MS experiment design and data analysis. We also thank Alejandro Leyva (Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay) for technical assistance with Orbitrap mass spectrometer and Paulo C. Carvalho (Fiocruz, Brazil) for his valuable collaboration with data analysis in PatternLab for Proteomics. Finally, we would like to thank the staff of Comisión Honoraria de Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes (Montevideo, Uruguay), for technical assistance with *M. tuberculosis* culture.

Author Contributions

Conceptualization: Paula Tucci, Carlos Rivas Chetto, Gualberto González-Sapienza, Mónica Marín.

Data curation: Paula Tucci.

Formal analysis: Paula Tucci, Madelón Portela, Mónica Marín.

Funding acquisition: Paula Tucci.

Investigation: Paula Tucci.

Methodology: Paula Tucci, Madelón Portela, Carlos Rivas Chetto, Gualberto González-Sapienza.

Supervision: Mónica Marín.

Writing – original draft: Paula Tucci.

Writing – review & editing: Madelón Portela, Carlos Rivas Chetto, Gualberto González-Sapienza, Mónica Marín.

References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2019. Geneva; 2019.
2. Meena LS, Rajni. Survival mechanisms of pathogenic Mycobacterium tuberculosis H37Rv. FEBS J. 2010 Jun; 277(11):2416–27. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07666.x PMID: 20553485
3. Ernst JD. Mechanisms of M. tuberculosis Immune Evasion as Challenges to TB Vaccine Design. Cell Host Microbe. 2018 Jul; 24(1):34–42. https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.06.004 PMID: 30001523
4. Chegou NN, Hoek KG, Kriel M, Warren RM, Victor TC, Walzl G. Tuberculosis assays: past, present and future. Expert Rev Anti Infect Ther. 2011 Apr 10; 9(4):457–69. https://doi.org/10.1586/eri.11.23 PMID: 21504402
5. Steingart KR, Flores LL, Dendukuri N, Schiller I, Laal S, Ramsay A, et al. Commercial serological tests for the diagnosis of active pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: an updated systematic review and meta-analysis. PLoS Med. 2011; 8(8):e1001062. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001062 PMID: 21857806
6. Niederweis M, Danilchanka O, Huff J, Hoffmann C, Engelhardt H. Mycobacterial outer membranes: in search of proteins. Trends Microbiol. 2010 Mar; 18(3):109–16. https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.12.005 PMID: 20060722
7. Daffé M, Etienne G. The capsule of Mycobacterium tuberculosis and its implications for pathogenicity. Tuber Lung Dis. 1999 Jun; 79(3):153–69. https://doi.org/10.1054/tuld.1998.0200 PMID: 10656114
8. Bell C, Smith GT, Sweredoski MJ, Hess S. Characterization of the Mycobacterium tuberculosis Proteome by Liquid Chromatography Mass Spectrometry-based Proteomics Techniques: A Comprehensive Resource for Tuberculosis Research. J Proteome Res. 2012 Jan 30; 11(1):119–30. https://doi.org/10.1021/pr2007939 PMID: 22053987
9. de Souza GA, Leversen NA, Malen H, Wiker HG. Bacterial proteins with cleaved or uncleaved signal peptides of the general secretory pathway. J Proteomics. 2011; 75(2):502–10. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.08.016 PMID: 21920479
10. van Winden VJC, Houben ENG, Braunstein M. Protein Export into and across the Atypical Diderm Cell Envelope of Mycobacteria. Microbiol Spectr. 2019 Jul 5; 7(4).
11. Solomonson M, Setiaputra D, Makepeace KAT, Lameignere E, Petrotchenko EV., Conrady DG, et al. Structure of EspB from the ESX-1 type VII secretion system and insights into its export mechanism. Structure. 2015; 23(3):571–83. https://doi.org/10.1016/j.str.2015.01.002 PMID: 25684576
12. Shah S, Briken V. Modular Organization of the ESX-5 Secretion System in Mycobacterium tuberculosis. Front Cell Infect Microbiol. 2016; 6(May):1–7.
13. van Els CACM, Corbière V, Smits K, van Gaans-van den Brink JAM, Poelen MCM, Mascart F, et al. Toward Understanding the Essence of Post-Translational Modifications for the Mycobacterium tuberculosis Immunoproteome. Front Immunol. 2014; 5:361. https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00361 PMID: 25157249
14. Birhanu AG, Yimer SA, Kalayou S, Riaz T, Zegeye ED, Holm-Hansen C, et al. Ample glycosylation in membrane and cell envelope proteins may explain the phenotypic diversity and virulence in the Mycobacterium tuberculosis complex. Sci Rep. 2019 Dec 27; 9(1):2927. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39654-9 PMID: 30814666
15. Mehaffy C, Belisle JT, Dobos KM. Mycobacteria and their sweet proteins: An overview of protein glycosylation and lipoglycosylation in M. tuberculosis. Tuberculosis. 2019; 115:1–13. https://doi.org/10.1016/j.tube.2019.01.001 PMID: 30948163
16. VanderVen BC, Harder JD, Crick DC, Belisle JT. Export-mediated assembly of mycobacterial glycoproteins parallels eukaryotic pathways. Science (80-). 2005 Aug 5; 309(5736):941–3.
17. Liu C-F, Tonini L, Malaga W, Beau M, Stella A, Bouyssie D, et al. Bacterial protein-O-mannosylating enzyme is crucial for virulence of Mycobacterium tuberculosis. Proc Natl Acad Sci. 2013 Apr 16; 110(16):6560–5. https://doi.org/10.1073/pnas.1219704110 PMID: 23550160
18. González-Zamorano M, Hernández GM, Xolalpa W, Parada C, Vallecillo AJ, Bigi F, et al. Mycobacterium tuberculosis glycoproteomics based on ConA-lectin affinity capture of mannosylated proteins. J Proteome Res. 2009; 8(2):721–33. https://doi.org/10.1021/pr800756a PMID: 19196185
19. Smith GT, Sweredoski MJ, Hess S. O-linked glycosylation sites profiling in Mycobacterium tuberculosis culture filtrate proteins. J Proteomics. 2014 Jan 31; 97:296–306. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.05.011 PMID: 23702328
20. Herrmann JL, Delahay R, Gallagher A, Robertson B, Young D. Analysis of post-translational modification of mycobacterial proteins using a cassette expression system. FEBS Lett. 2000 May 19; 473(3):358–62. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01553-2 PMID: 10818240

21. Mattow J, Schaible UE, Schmidt F, Hagens K, Siejak F, Brestrich G, et al. Comparative proteome analysis of culture supernatant proteins from virulent Mycobacterium tuberculosis H37Rv and attenuated M. bovis BCG Copenhagen. Electrophoresis. 2003; 24(19–20):3405–20. https://doi.org/10.1002/elps.200305601 PMID: 14595687

22. Ausubel BR, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl FM. Current protocols in molecular biology. John Wiley and Sons, New York.; 1999.

23. Steinberg TH. Chapter 31 Protein Gel Staining Methods. In 2009. p. 541–63.

24. Lima A, Duran R, Schujman GE, Marchissio MJ, Portela MM, Obal G, et al. Serine/threonine protein kinase PrkA of the human pathogen Listeria monocytogenes: biochemical characterization and identification of interacting partners through proteomic approaches. J Proteomics. 2011; 74(9):1720–34. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.005 PMID: 21406257

25. Carvalho PC, Lima DB, Leprevost FV, Santos MDM, Fischer JSG, Aquino PF, et al. PatternLab for proteomics 4.0: A one-stop shop for analyzing shotgun proteomic data. Nat Protoc. 2016 Jan 10; 11 (1):102–17. https://doi.org/10.1038/nprot.2015.133 PMID: 26658470

26. Eng JK, Hoopmann MR, Jahan TA, Egertson JD, Noble WS, MacCoss MJ. A Deeper Look into Comet—Implementation and Features. J Am Soc Mass Spectrom. 2015 Nov 27; 26(11):1865–74. https://doi.org/10.1007/s13361-015-1179-x PMID: 26115965

27. Carvalho PC, Fischer JSG, Xu T, Cociorva D, Balbuena TS, Valente RH, et al. Search engine processor: Filtering and organizing peptide spectrum matches. Proteomics. 2012 Apr 1; 12(7):944–9. https://doi.org/10.1002/pmic.201100529 PMID: 22311825

28. Zhang B, Chambers MC, Tabb DL. Proteomic Parsimony through Bipartite Graph Analysis Improves Accuracy and Transparency. J Proteome Res. 2007 Sep; 6(9):3549–57. https://doi.org/10.1021/pr070230d PMID: 17676885

29. Hulsen T, de Vlieg J, Alkema W. BioVenn—a web application for the comparison and visualization of biological lists using area-proportional Venn diagrams. BMC Genomics. 2008 Oct 16; 9(1):488.

30. UniProt Consortium T. UniProt: the universal protein knowledgebase. Nucleic Acids Res. 2018 Mar 16; 46(5):2699–2699. https://doi.org/10.1093/nar/gky092 PMID: 29425356

31. Kapopoulou A, Lew JM, Cole ST. The MycoBrowser portal: A comprehensive and manually annotated resource for mycobacterial genomes. Tuberculosis. 2011 Jan; 91(1):8–13. https://doi.org/10.1016/j.tube.2010.09.006 PMID: 20980200

32. de Fischer JSdG, dos Santos MDM, Marchini FK, Barbosa VC, Carvalho PC, Zanchin NIT. A scoring model for phosphopeptide site localization and its impact on the question of whether to use MSA. J Proteomics. 2014; 129:42–50.

33. Almagro Armenteros JJ, Tsirigos KD, Sønderby CK, Petersen TN, Winther O, Brunak S, et al. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. Nat Biotechnol. 2019 Feb 18;

34. McIlwain S, Mathews M, Bereman MS, Rubel EW, MacCoss MJ, Noble WS. Estimating relative abundances of proteins from shotgun proteomics data. BMC Bioinformatics. 2012; 13:308. https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-308 PMID: 23164367

35. Sudha D, Kohansal-Nodehi M, Kovuri P, Manda SS, Neriyanuri S, Gopal L, et al. Proteomic profiling of human intraschisis cavity fluid. Clin Proteomics. 2017; 14(1):1–12.

36. Malen H, Berven FS, Fladmark KE, Wiker HG. Comprehensive analysis of exported proteins from Mycobacterium tuberculosis H37Rv. Proteomics. 2007; 7(10):1702–18. https://doi.org/10.1002/pmic.200600853 PMID: 17443846

37. Albrethsen J, Agner J, Piersma SR, Højrup P, Pham T V., Weldingh K, et al. Proteomic Profiling of Mycobacterium tuberculosis Identifies Nutrient-starvation-responsive Toxin–antitoxin Systems. Mol Cell Proteomics. 2013 May; 12(5):1180–91. https://doi.org/10.1074/mcp.M112.018846 PMID: 23345537

38. Oliveros JC. Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams.

39. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. Nucleic Acids Res. 2009 Jan; 37(1):1–13. https://doi.org/10.1093/nar/gkn923 PMID: 19033363

40. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nat Protoc. 2009 Jan 1; 4(1):44–57. https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211 PMID: 19131956

41. Perkins DN, Pappin DJC, Creasy DM, Cottrell JS. Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. Electrophoresis. 1999 Dec 1; 20(18):3551–67. https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2683(19991201)20:18<3551::AID-ELPS3551>3.0.CO;2-2 PMID: 10612281

42. Wang M, You J, Bemis KG, Tegeler TJ, Brown DPG. Label-free mass spectrometry-based protein quantification technologies in proteomic analysis. Briefings Funct Genomics Proteomics. 2008 Jun 25; 7(5):329–39.

43. Zybailov B, Mosley AL, Sardiu ME, Coleman MK, Florens L, Washburn MP. Statistical Analysis of Membrane Proteome Expression Changes in Saccharomyces cerevisiae. J Proteome Res. 2006 Sep; 5 (9):2339–47. https://doi.org/10.1021/pr060161n PMID: 16944946

44. Forrellad MA, Klepp LI, Gioffré A, Sabio García J, Morbidoni HR, de la Paz Santangelo M, et al. Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex. Virulence. 2013; 4(1):3–66. https://doi.org/10.4161/viru.22329 PMID: 23076359

45. Nambi S, Long JE, Mishra BB, Baker R, Murphy KC, Olive AJ, et al. The Oxidative Stress Network of Mycobacterium tuberculosis Reveals Coordination between Radical Detoxification Systems. Cell Host Microbe. 2015 Jun 10; 17(6):829–37. https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.05.008 PMID: 26067605

46. Tucci P, González-Sapienza G, Marin M. Pathogen-derived biomarkers for active tuberculosis diagnosis. Front Microbiol. 2014; 5(OCT).

47. Stanley SA, Raghavan S, Hwang WW, Cox JS. Acute infection and macrophage subversion by Mycobacterium tuberculosis require a specialized secretion system. Proc Natl Acad Sci. 2003 Oct 28; 100 (22):13001–6. https://doi.org/10.1073/pnas.2235593100 PMID: 14557536

48. Abdallah AM, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Luirink J, Gey van Pittius NC, Cox J, Appelmelk BJ, et al. Type VII secretion—mycobacteria show the way. Nat Rev Microbiol. 2007; 5(11):883–91. https://doi.org/10.1038/nrmicro1773 PMID: 17922044

49. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature. 1998; 393(6685):537–44. https://doi.org/10.1038/31159 PMID: 9634230

50. Korotkova N, Freire D, Phan TH, Ummels R, Creekmore CC, Evans TJ, et al. Structure of the Mycobacterium tuberculosis type VII secretion system chaperone EspG 5 in complex with PE25-PPE41 dimer. Mol Microbiol. 2014; 94(2):367–82. https://doi.org/10.1111/mmi.12770 PMID: 25155747

51. Andersen P, Askgaard D, Ljungqvist L, Bennedsen J, Heron I. Proteins released from Mycobacterium tuberculosis during growth. Infect Immun. 1991; 59(6):1905–10. PMID: 1903768

52. Tullius M V., Harth G, Horwitz MA. High extracellular levels of Mycobacterium tuberculosis glutamine synthetase and superoxide dismutase in actively growing cultures are due to high expression and extracellular stability rather than to a protein-specific export mechanism. Infect Immun. 2001; 69(10):6348–63. https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.6348-6363.2001 PMID: 11553579

53. Schubert OT, Ludwig C, Kogadeeva M, Zimmermann M, Rosenberger G, Gengenbacher M, et al. Absolute proteome composition and dynamics during dormancy and resuscitation of mycobacterium tuberculosis. Cell Host Microbe. 2015; 18(1):96–108. https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.06.001 PMID: 26094805

54. Tiwari P, Arora G, Singh M, Kidwai S, Narayan OP, Singh R. MazF ribonucleases promote Mycobacterium tuberculosis drug tolerance and virulence in guinea pigs. Nat Commun. 2015 May 22; 6(1):6059.

55. Huang Y, Ge J, Yao Y, Wang Q, Shen H, Wang H. Characterization and site-directed mutagenesis of the putative novel acyl carrier protein Rv0033 and Rv1344 from Mycobacterium tuberculosis. Biochem Biophys Res Commun. 2006; 342(2):618–24. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.01.178 PMID: 16487939

56. Dobos KM, Swiderek K, Khoo KH, Brennan PJ, Belisle JT. Evidence for glycosylation sites on the 45-kilodalton glycoprotein of Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun. 1995 Aug; 63(8):2846–53. PMID: 7622204

57. Dobos KM, Khoo KH, Swiderek KM, Brennan PJ, Belisle JT. Definition of the full extent of glycosylation of the 45-kilodalton glycoprotein of Mycobacterium tuberculosis. J Bacteriol. 1996 May; 178(9):2498–506. https://doi.org/10.1128/jb.178.9.2498-2506.1996 PMID: 8626314

58. Alonso H, Parra J, Malaga W, Payros D, Liu C-F, Berrone C, et al. Protein O-mannosylation deficiency increases LprG-associated lipoarabinomannan release by Mycobacterium tuberculosis and enhances the TLR2-associated inflammatory response. Sci Rep. 2017 Dec 11; 7(1):7913. https://doi.org/10.1038/s41598-017-08489-7 PMID: 28801649

59. Ragas A, Roussel L, Puzo G, Rivière M. The Mycobacterium tuberculosis Cell-surface Glycoprotein Apa as a Potential Adhesin to Colonize Target Cells via the Innate Immune System Pulmonary C-type Lectin Surfactant Protein A. J Biol Chem. 2007 Feb 23; 282(8):5133–42. https://doi.org/10.1074/jbc.M610183200 PMID: 17158455

60. Diaz-Silvestre H, Espinosa-Cueto P, Sanchez-Gonzalez A, Esparza-Ceron MA, Pereira-Suarez AL, Bernal-Fernandez G, et al. The 19-kDa antigen of Mycobacterium tuberculosis is a major adhesin that binds the mannose receptor of THP-1 monocytic cells and promotes phagocytosis of mycobacteria.

Microb Pathog. 2005 Sep; 39(3):97–107. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2005.06.002 PMID: 16098710

61. Keenan T, Dowle A, Bates R, Smith MCM. Characterization of the Streptomyces coelicolor Glycoproteome Reveals Glycoproteins Important for Cell Wall Biogenesis. 2019;

62. Dheda K, Barry CE, Maartens G. Tuberculosis. Vol. 387, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2016. p. 1211–26.

63. Parra J, Marcoux J, Poncin I, Canaan S, Herrmann JL, Nigou J, et al. Scrutiny of Mycobacterium tuberculosis 19 kDa antigen proteoforms provides new insights in the lipoglycoprotein biogenesis paradigm. Sci Rep. 2017 Mar 8; 7.

64. Garbe T, Harris D, Vordermeier M, Lathigra R, Ivanyi J, Young D. Expression of the Mycobacterium tuberculosis 19-kilodalton antigen in Mycobacterium smegmatis: immunological analysis and evidence of glycosylation. Infect Immun. 1993 Jan; 61(1):260–7. PMID: 8418047

65. Michell SL, Whelan AO, Wheeler PR, Panico M, Easton RL, Etienne AT, et al. The MPB83 antigen from Mycobacterium bovis contains O-linked mannose and (1—>3)-mannobiose moieties. J Biol Chem. 2003 May 2; 278(18):16423–32. https://doi.org/10.1074/jbc.M207959200 PMID: 12517764

66. Bando-Campos G, Juárez-López D, Román-González SA, Castillo-Rodal AI, Olvera C, López-Vidal Y, et al. Recombinant O-mannosylated protein production (PstS-1) from Mycobacterium tuberculosis in Pichia pastoris (Komagataella phaffii) as a tool to study tuberculosis infection. Microb Cell Fact. 2019 Dec 19; 18(1):11. https://doi.org/10.1186/s12934-019-1059-3 PMID: 30660186

67. Kumar A, Toledo JC, Patel RP, Lancaster JR, Steyn AJC. Mycobacterium tuberculosis DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor. Proc Natl Acad Sci. 2007 Jul 10; 104(28):11568–73. https://doi.org/10.1073/pnas.0705054104 PMID: 17609369

68. Sivaramakrishnan S, De Montellano PRO. The DosS-DosT/DosR Mycobacterial Sensor System. Vol. 3, Biosensors. MDPI AG; 2013. p. 259–82.

69. Leistikow RL, Morton RA, Bartek IL, Frimpong I, Wagner K, Voskuil MI. The Mycobacterium tuberculosis DosR Regulon Assists in Metabolic Homeostasis and Enables Rapid Recovery from Nonrespiring Dormancy. J Bacteriol. 2010 Mar 15; 192(6):1662–70. https://doi.org/10.1128/JB.00926-09 PMID: 20023019

70. Hatherill M, Tait D, McShane H. Clinical Testing of Tuberculosis Vaccine Candidates. In: Tuberculosis and the Tubercle Bacillus, Second Edition. American Society of Microbiology; 2016. p. 193–211.

71. Khoshnood S, Heidary M, Haeili M, Drancourt M, Darban-Sarokhalil D, Nasiri MJ, et al. Novel vaccine candidates against Mycobacterium tuberculosis. Int J Biol Macromol. 2018 Dec; 120:180–8. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.037 PMID: 30098365

72. Nielsen H. Predicting secretory proteins with signalP. In: Methods in Molecular Biology. 2017. p. 59–73.

73. Kovacs-Simon A, Titball RW, Michell SL. Lipoproteins of Bacterial Pathogens. Infect Immun. 2011 Feb; 79(2):548. https://doi.org/10.1128/IAI.00682-10 PMID: 20974828

74. York IA, Stevens J, Alymova IV. Influenza virus N-linked glycosylation and innate immunity. Biosci Rep. 2019 Jan 31; 39(1):BSR20171505.

75. Børud B, Bårnes GK, Brynildsrud OB, Fritzsønn E, Caugant DA. Genotypic and Phenotypic Characterization of the O-Linked Protein Glycosylation System Reveals High Glycan Diversity in Paired Meningococcal Carriage Isolates. J Bacteriol. 2018 Aug 15; 200(16):e00794–17. https://doi.org/10.1128/JB.00794-17 PMID: 29555702

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WPE5	10 kDa chaperonin M. tuberculosis H37Rv GN=groS	100	10804	groS	Rv3418c	**0.03785065**	
P9WNK5	ESAT-6-like protein EsxB M. tuberculosis H37Rv GN=esxB	100	10794	esxB	Rv3874	**0.03534559**	
P9WPE7	60 kDa chaperonin 2 M. tuberculosis H37Rv GN=groEL2	540	56727	groEL2	Rv0440	**0.03028927**	
P9WQF3	Meromycolate extension acyl carrier protein M. tuberculosis H37Rv GN=acpM	115	12524	acpM	Rv2244	**0.02980248**	
P9WNK7	6 kDa early secretory antigenic target M. tuberculosis H37Rv GN=esxA	95	9904	esxA	Rv3875	**0.02307784**	
P9WK07	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine methyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=metE	759	81582	metE	Rv1133c	**0.02082442**	
P9WNJ7	ESAT-6-like protein EsxK M. tuberculosis H37Rv GN=esxK ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WNI5, P9WNJ9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WNI5, P9WNJ9	98	10963	esxK	Rv1197	**0.01516006**	Rv2347c (esxP) Rv1038c (esxJ)
P9WMJ9	Chaperone protein DnaK M. tuberculosis H37Rv GN=dnaK	625	66831	dnaK	Rv0350	**0.01509695**	
P9WMK1	Alpha-crystallin M. tuberculosis H37Rv GN=hspX	144	16227	hspX	Rv2031c	**0.01501576**	
P9WNJ3	ESAT-6-like protein EsxN M. tuberculosis H37Rv GN=esxN ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DOA7	94	9942	esxN	Rv1793	**0.01498790**	Rv3619c (esxV)
P9WNI7	ESAT-6-like protein EsxO M. tuberculosis H37Rv GN=esxO ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DOA7	94	9954	esxO	Rv2346c	**0.01490924**	Rv3619c (esxV)
P9WNI3	ESAT-6-like protein EsxW M. tuberculosis H37Rv GN=esxW	98	11023	esxW	Rv3620c	**0.01334989**	
P96874	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3269	93	9750	Rv3269	Rv3269	**0.01137051**	
P9WNJ5	ESAT-6-like protein EsxL M. tuberculosis H37Rv GN=esxL	94	9928	esxL	Rv1198	**0.01052645**	
P9WQP3	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85A M. tuberculosis H37Rv GN=fbpA	338	35686	fbpA	Rv3804c	**0.01036265**	
P9WHN5	Prokaryotic ubiquitin-like protein Pup OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pup PE=1 SV=1	64	6944	pup	Rv2111c	**0.00988635**	
P9WNZ5	Putative acyl-[acyl-carrier-protein] desaturase DesA2 M. tuberculosis H37Rv GN=desA2	275	31359	desA2	Rv1094	**0.00895228**	
P9WNN1	Elongation factor Tu M. tuberculosis H37Rv GN=tuf	396	43594	tuf	Rv0685	**0.00885511**	
P9WN39	Glutamine synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=glnA1	478	53570	glnA1	Rv2220	**0.00870293**	
P9WNZ7	Putative acyl-[acyl-carrier-protein] desaturase DesA1 M. tuberculosis H37Rv GN=desA1	338	38770	desA1	Rv0824c	**0.00850394**	
P9WNG7	Electron transfer flavoprotein subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=etfB	266	28081	etfB	Rv3029c	**0.00826783**	
P9WHF9	Putative thiosulfate sulfurtransferase M. tuberculosis H37Rv GN=cysA1	277	31015	cysA1	Rv0815c	**0.00825090**	
P9WPD5	Citrate synthase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltA2 PE=1 SV=1	431	47978	gltA2	Rv0896	**0.00794509**	
P0DOA6	ESAT-6-like protein EsxI M. tuberculosis H37Rv GN=esxI PE=2 SV=1	94	9833	esxI	Rv1037c	**0.00784756**	
P9WQP1	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85B M. tuberculosis H37Rv GN=fbpB	325	34581	fbpB	Rv1886c	**0.00774178**	
P0CG96	Uncharacterized protein Rv3118 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sseC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG95; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG95	100	10165	sseC1	Rv3118	**0.00724375**	Rv0814c (sseC2)
P9WHE3	50S ribosomal protein L7/L12 M. tuberculosis H37Rv GN=rplL	130	13440	rplL	Rv0652	**0.00722475**	
P71658	Putative integration host factor MihF M. tuberculosis H37Rv GN=mihF	190	20835	mihF	Rv1388	**0.00702051**	
O53842	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0831c PE=1 SV=3	271	30189	Rv0831c	Rv0831c	**0.00658242**	
P9WIE5	Catalase-peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=katG	740	80605	katG	Rv1908c	**0.00640267**	
P9WMU1	Cell wall synthesis protein Wag31 M. tuberculosis H37Rv GN=wag31	260	28277	wag31	Rv2145c	**0.00639661**	
P9WLS3	Uncharacterized protein Rv1738 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1738 PE=1 SV=1	94	10606	Rv1738	Rv1738	**0.00622775**	
P9WJA3	Hypoxic response protein 1 M. tuberculosis H37Rv GN=hrp1	143	15518	hrp1	Rv2626c	**0.00616828**	
P9WIN9	Immunogenic protein MPT64 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt64	228	24855	mpt64	Rv1980c	**0.00602777**	
P9WNG9	Electron transfer flavoprotein subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=etfA	318	31691	etfA	Rv3028c	**0.00587919**	
P9WGV3	Adenosylhomocysteinase M. tuberculosis H37Rv GN=ahcY	495	54324	ahcY	Rv3248c	**0.00569127**	
P9WM83	Uncharacterized protein Rv0569 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0569	88	9523	Rv0569	Rv0569	**0.00562208**	
P9WP75	Probable cold shock protein A M. tuberculosis H37Rv GN=cspA	67	7370	cspA	Rv3648c	**0.00550147**	
Q6MX43	Calcium dodecin M. tuberculosis H37Rv GN=secE2	71	7966	secE2	Rv0379	**0.00549679**	
P9WP11	F420H(2)-dependent quinone reductase Rv1558 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1558	148	16348	Rv1558	Rv1558	**0.00545706**	
P9WL07	Uncharacterized protein Rv3127 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3127	344	38521	Rv3127	Rv3127	**0.00544341**	
P9WGE7	Superoxide dismutase [Fe] M. tuberculosis H37Rv GN=sodB	207	23034	sodB	Rv3846	**0.00540377**	
P9WG67	Thioredoxin M. tuberculosis H37Rv GN=trxA	116	12544	trxA	Rv3914	**0.00536096**	
P9WN83	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=gap	339	35956	gap	Rv1436	**0.00534930**	
P9WJA9	Glycogen accumulation regulator GarA M. tuberculosis H37Rv GN=garA	162	17251	garA	Rv1827	**0.00525012**	
P9WHW3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A M. tuberculosis H37Rv GN=ppiA	182	19239	ppiA	Rv0009	**0.00516594**	
P9WKI3	Uncharacterized oxidoreductase Rv1843c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=guaB1 PE=1 SV=1	479	49965	guaB1	Rv1843c	**0.00511703**	
P9WNM1	Elongation factor Ts M. tuberculosis H37Rv GN=tsf	271	28755	tsf	Rv2889c	**0.00508222**	
P9WH31	30S ribosomal protein S6 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsF	96	10935	rpsF	Rv0053	**0.00502001**	
I6Y778	3-ketoacyl-ACP reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG4 PE=1 SV=1	454	46830	fabG4	Rv0242c	**0.00495599**	
P9WIN7	Low molecular weight antigen MTB12 M. tuberculosis H37Rv GN=mtb12	168	16635	mtb12	Rv2376c	**0.00493946**	
P9WI93	Putative pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1159.1 PE=1 SV=1	94	10380	Rv1159.1	Rv1159A	**0.00484897**	
P9WG55	Trigger factor M. tuberculosis H37Rv GN=tig	466	50616	tig	Rv2462c	**0.00478178**	
O53422	Acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA3	405	42655	fadA3	Rv1074c	**0.00467346**	
P9WMT5	Protein GrpE M. tuberculosis H37Rv GN=grpE	235	24533	grpE	Rv0351	**0.00466351**	
P9WFK9	UPF0234 protein Rv0566c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0566c PE=1 SV=1	163	18078	Rv0566c	Rv0566c	**0.00452558**	
P9WPJ7	Beta-carbonic anhydrase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtcA1 PE=1 SV=1	163	18189	mtcA1	Rv1284	**0.00445005**	
Q6MWZ8	Conserved protein TB9.4 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB9.4 PE=1 SV=1	90	9433	TB9.4	Rv3208A	**0.00439666**	
P9WQD7	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2 M. tuberculosis H37Rv GN=kasB	417	44277	kasB	Rv2246	**0.00437824**	
P9WG35	Probable thiol peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=tpx	165	16896	tpx	Rv1932	**0.00435439**	
P9WPE9	60 kDa chaperonin 1 M. tuberculosis H37Rv GN=groEL1	539	55877	groEL1	Rv3417c	**0.00426763**	
P9WNP1	Probable enoyl-CoA hydratase echA6 M. tuberculosis H37Rv GN=echA6	243	26029	echA6	Rv0905	**0.00423415**	
P9WGZ1	DNA-directed RNA polymerase subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=rpoA	347	37706	rpoA	Rv3457c	**0.00419638**	
P9WKH3	Heme-degrading monooxygenase HmoB M. tuberculosis H37Rv GN=mhuD	105	11185	mhuD	Rv3592	**0.00413457**	
P9WHA7	50S ribosomal protein L29 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpmC PE=1 SV=1	77	8859	rpmC	Rv0709	**0.00413416**	
P75019	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA21 PE=1 SV=1	274	29101	echA21	Rv3774	**0.00412562**	
P9WGU1	Phosphate-binding protein PstS 1 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS1	374	38243	pstS1	Rv0934	0.00411345	
P9WGY1	Ribosome-recycling factor M. tuberculosis H37Rv GN=frr	185	20828	frr	Rv2882c	0.00408861	
P9WND5	Putative L-lactate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=lldD	414	45342	lldD	Rv1872c	0.00402195	
P9WKD7	Ribose-5-phosphate isomerase B M. tuberculosis H37Rv GN=rpiB	162	17278	rpiB	Rv2465c	0.00400600	
P9WID5	Adenosine kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adoK PE=1 SV=1	324	34472	adoK	Rv2202c	0.00400004	
P96890	Acetyl-COA carboxylase M. tuberculosis H37Rv GN=accA3 PE=1 SV=2	600	63783	accA3	Rv3285	0.00399470	
P9WIS9	Pyruvate dehydrogenase E1 component M. tuberculosis H37Rv GN=aceE PE=1 SV=2	930	103440	aceE	Rv2241	0.00399409	
P9WH43	30S ribosomal protein S1 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsA	481	53202	rpsA	Rv1630	0.00396676	
O53166	Aconitate hydratase A M. tuberculosis H37Rv GN=acn	943	102449	acn	Rv1475c	0.00396673	
P9WHF7	Putative thiosulfate sulfurtransferase SseA M. tuberculosis H37Rv GN=sseA	297	33320	sseA	Rv3283	0.00393883	
P9WPJ9	Carbonic anhydrase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtcA2 PE=1 SV=1	207	21792	mtcA2	Rv3588c	0.00390642	
O06633	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0801 PE=1 SV=1	115	12512	Rv0801	Rv0801	0.00388210	
P9WIS7	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex M. tuberculosis H37Rv GN=dlaT	553	57088	dlaT	Rv2215	0.00384769	
P9WIZ7	Putative NAD(P)H nitroreductase Rv3131 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3131 PE=1 SV=2	344	37049	Rv3131	Rv3131	0.00381894	
P9WHH9	Dihydrolipoyl dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=lpdC	464	49239	lpdC	Rv0462	0.00381684	
P9WJJ7	Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase [carboxylating] M. tuberculosis H37Rv GN=nadC	285	29951	nadC	Rv1596	0.00376764	
P9WPU5	ATP synthase subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=atpD	486	53094	atpD	Rv1310	0.00376676	
P9WFN1	UPF0098 protein Rv2140c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2140c	176	18634	Rv2140c	Rv2140c	0.00375461	
P9WJB9	ESX-1 secretion-associated protein EspL M. tuberculosis H37Rv GN=espL	115	12200	espL	Rv3880c	0.00371074	
P9WG33	Transaldolase M. tuberculosis H37Rv GN=tal	373	40721	tal	Rv1448c	0.00368590	
P9WK17	Malate synthase G M. tuberculosis H37Rv GN=glcB	741	80403	glcB	Rv1837c	0.00365419	
P9WG61	Uncharacterized protein Rv1324 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1324	304	32170	Rv1324	Rv1324	0.00365366	
P9WIR7	Alanine and proline-rich secreted protein Apa M. tuberculosis H37Rv GN=apa	325	32721	apa	Rv1860	0.00364959	
P9WMF9	Transcriptional regulatory protein DevR (DosR) M. tuberculosis H37Rv GN=devR	217	23294	devR	Rv3133c	0.00364012	
P9WQD9	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=kasA	416	43316	kasA	Rv2245	0.00358213	
P9WQC5	NADP-dependent alcohol dehydrogenase C M. tuberculosis H37Rv GN=adhC	346	37075	adhC	Rv3045	0.00357757	
P71590	FHA domain-containing protein FhaA M. tuberculosis H37Rv GN=fhaA	527	56880	fhaA	Rv0020c	0.00356723	
P9WIZ9	Putative NAD(P)H nitroreductase acg M. tuberculosis H37Rv GN=acg	331	36559	acg	Rv2032	0.00350596	
O53692	ESAT-6-like protein EsxG M. tuberculosis H37Rv GN=esxG	97	9778	esxG	Rv0287	0.00349505	
P9WK61	Lipoprotein LpqH M. tuberculosis H37Rv GN=lpqH	159	15147	lpqH	Rv3763	0.00348662	
P9WMN5	Protein Rv2204c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2204c PE=1 SV=1	118	12544	Rv2204c	Rv2204c	0.00347440	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WQB7	Alkyl hydroperoxide reductase subunit C M. tuberculosis H37Rv GN=ahpC	195	21566	ahpC	Rv2428	0.00343678	
P9WQN9	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85C M. tuberculosis H37Rv GN=fbpC	340	36771	fbpC	Rv0129c	0.00341894	
P9WGM3	Probable transcriptional regulatory protein pdtaR M. tuberculosis H37Rv GN=pdtaR	205	22669	pdtaR	Rv1626	0.00341573	
P9WNL1	Enolase M. tuberculosis H37Rv GN=eno	429	44962	eno	Rv1023	0.00340353	
P9WIH3	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP] M. tuberculosis H37Rv GN=pckG	606	67253	pckG	Rv0211	0.00335423	
I6WZG6	29 kDa antigen CFP29 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cfp29 PE=1 SV=1	265	28830	cfp29	Rv0798c	0.00332662	
P9WNE5	Ferritin BfrB M. tuberculosis H37Rv GN=bfrB	181	20442	bfrB	Rv3841	0.00332144	
P9WQC7	Alcohol dehydrogenase B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adhB PE=1 SV=1	375	39748	adhB	Rv0761c	0.00331014	
I6X8D2	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pks13 PE=1 SV=1	1733	186446	pks13	Rv3800c	0.00330440	
P9WKF5	Adenylate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=adk	181	20125	adk	Rv0733	0.00326972	
P9WPQ9	Bacterioferritin M. tuberculosis H37Rv GN=bfr	159	18341	bfr	Rv1876	0.00320460	
I6YBZ8	Dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=htdY PE=1 SV=1	290	30296	htdY	Rv3389c	0.00319962	
P9WQ73	Phosphoserine aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=serC	376	40233	serC	Rv0884c	0.00318208	
P9WGQ7	Uncharacterized oxidoreductase Rv1144 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1144	250	25788	Rv1144	Rv1144	0.00318133	
P9WLM1	Uncharacterized protein Rv2030c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2030c	681	74930	Rv2030c	Rv2030c	0.00316284	
P9WGI9	Serine hydroxymethyltransferase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=glyA1 PE=1 SV=2	438	46216	glyA1	Rv1093	0.00315803	
P9WMT9	Transcription elongation factor GreA M. tuberculosis H37Rv GN=greA	164	17855	greA	Rv1080c	0.00311890	
I6XHJ3	Acetyl-CoA acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadA6 PE=1 SV=1	386	40902	fadA6	Rv3556c	0.00311625	
P9WGM7	DNA-binding response regulator MtrA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtrA PE=1 SV=1	228	25279	mtrA	Rv3246c	0.00307340	
P9WK45	Lipoarabinomannan carrier protein LprG M. tuberculosis H37Rv GN=lprG	236	24548	lprG	Rv1411c	0.00306306	
P9WN93	Fumarate hydratase class II M. tuberculosis H37Rv GN=fumC	474	50141	fumC	Rv1098c	0.00305536	
P9WGC5	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=sucC	387	40926	sucC	Rv0951	0.00303308	
O53611	Isocitrate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=icd2	745	82550	icd2	Rv0066c	0.00303072	
I6Y8B5	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA3 PE=1 SV=1	231	24355	echA3	Rv0632c	0.00302922	
P9WG25	Transketolase M. tuberculosis H37Rv GN=tkt	700	75589	tkt	Rv1449c	0.00299185	
P9WK65	Putative phthiocerol dimycocerosate transporter LppX M. tuberculosis H37Rv GN=lppX	233	24140	lppX	Rv2945c	0.00296085	
P9WKE5	Pyruvate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyk PE=1 SV=1	472	50699	pyk	Rv1617	0.00294513	
P9WNX3	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=serA	528	54554	serA	Rv2996c	0.00289224	
O53532	Methyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2258c	353	37514	Rv2258c	Rv2258c	0.00288831	
I6YEH6	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA16 PE=1 SV=1	249	26630	echA16	Rv2831	0.00285764	
P9WJD1	ESX-1 secretion-associated protein EspF M. tuberculosis H37Rv GN=espF	103	10618	espF	Rv3865	0.00283701	
P9WFC9	Universal stress protein Rv1636 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1636	146	15312	Rv1636	Rv1636	0.00283178	
P9WNP5	1,4-dihydroxy-2-naphthoyl-CoA synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=menB PE=1 SV=1	314	34689	menB	Rv0548c	0.00281063	
P9WQG1	Probable acyl-CoA dehydrogenase fadE25 M. tuberculosis H37Rv GN=fadE25	389	41723	fadE25	Rv3274c	0.00280464	
P9WLP5	Uncharacterized protein Rv1993c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1993c PE=1 SV=1	90	9366	Rv1993c	Rv1993c	0.00278136	
P9WKS5	Uncharacterized protein Rv0634A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0634A PE=1 SV=1	83	9426	Rv0634A	Rv0634A	0.00277850	
P9WQA3	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fba PE=1 SV=1	344	36544	fba	Rv0363c	0.00277328	
P9WGV1	S-adenosylmethionine synthase M. tuberculosis H37Rv GN=metK	403	43047	metK	Rv1392	0.00271209	
P9WL15	Uncharacterized protein Rv2927c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2927c PE=1 SV=1	245	26986	Rv2927c	Rv2927c	0.00269317	
P9WL63	Uncharacterized protein Rv2629 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2629	374	40840	Rv2629	Rv2629	0.00269312	
P9WI57	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pnp	752	79735	pnp	Rv2783c	0.00268010	
I6YGW9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3678c PE=1 SV=1	151	15246	Rv3678c	Rv3678c	0.00264007	
P9WP21	2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=dapD	317	32642	dapD	Rv1201c	0.00262707	
P9WHP5	35 kDa protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2744c	270	29258	Rv2744c	Rv2744c	0.00262445	
O50433	Ferredoxin OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fdxC PE=1 SV=1	108	11839	fdxC	Rv1177	0.00261899	
O05842	Possible iron-regulated short-chain dehydrogenase/reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3224	282	29814	Rv3224	Rv3224	0.00261236	
O53670	Probable succinate dehydrogenase [iron-sulfur subunit] (Succinic dehydrogenase) M. tuberculosis H37Rv GN=sdhA	646	70681	Rv0248c	Rv0248c	0.00260037	
P9WPD1	Chaperone protein ClpB M. tuberculosis H37Rv GN=clpB	848	92568	clpB	Rv0384c	0.00259809	
P96825	Putative short-chain type dehydrogenase/reductase Rv0148 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0148 PE=1 SV=3	286	29779	Rv0148	Rv0148	0.00258958	
P9WPC3	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit 2 M. tuberculosis H37Rv GN=clpP2	214	23540	clpP2	Rv2460c	0.00258355	
Q79FX8	Hydroxymycolate synthase MmaA4 M. tuberculosis H37Rv GN=mmaA4	301	34670	mmaA4	Rv0642c	0.00257683	
P9WIP9	Heparin-binding hemagglutinin M. tuberculosis H37Rv GN=hbhA	199	21534	hbhA	Rv0475	0.00257529	
O53519	Conserved protein TB16.3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB16.3 PE=1 SV=1	144	16325	TB16.3	Rv2185c	0.00257337	
O53672	Uncharacterized protein Rv0250c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0250c PE=1 SV=1	97	10896	Rv0250c	Rv0250c	0.00256036	
O50430	Low molecular weight T-cell antigen OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB8.4 PE=1 SV=1	110	10881	TB8.4	Rv1174c	0.00254455	
P9WG69	Probable acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA4	389	40081	fadA4	Rv1323	0.00254245	
P9WMH1	Iron-dependent repressor IdeR M. tuberculosis H37Rv GN=ideR	230	25233	ideR	Rv2711	0.00254098	
P9WLH3	Uncharacterized protein Rv2229c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2229c	245	26851	Rv2229c	Rv2229c	0.00253825	
I6XY36	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1498A PE=1 SV=1	70	7629	Rv1498A	Rv1498A	0.00253423	
P9WMJ7	Chaperone protein HtpG M. tuberculosis H37Rv GN=htpG	647	72961	htpG	Rv2299c	0.00252783	
P9WQD5	Probable thioesterase TesA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tesA PE=1 SV=1	261	29152	tesA	Rv2928	0.00252235	
P9WNM3	Elongation factor P OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=efp PE=1 SV=1	187	20407	efp	Rv2534c	0.00250602	
L7N655	Aminopeptidase N OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pepN PE=1 SV=1	861	94285	pepN	Rv2467	0.00249476	
P9WQH7	Probable propionyl-CoA carboxylase beta chain 5 M. tuberculosis H37Rv GN=accD5	548	59354	accD5	Rv3280	0.00246656	
P9WP25	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dapA PE=1 SV=1	300	30858	dapA	Rv2753c	0.00245890	
P9WIE1	Putative peroxiredoxin Rv2521 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bcp PE=1 SV=1	157	17077	bcp	Rv2521	0.00243245	
I6Y4E8	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA5 PE=1 SV=1	263	27441	echA5	Rv0675	0.00243198	
P9WHG1	Peptide chain release factor 2 M. tuberculosis H37Rv GN=prfB	371	41473	prfB	Rv3105c	0.00243075	
P9WKX3	Bacterial proteasome activator M. tuberculosis H37Rv GN=bpa	174	18944	bpa	Rv3780	0.00241000	
P9WI55	Inorganic pyrophosphatase M. tuberculosis H37Rv GN=ppa	162	18329	ppa	Rv3628	0.00240909	
P9WHT9	Proteasome subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=prcB	291	30305	prcB	Rv2110c	0.00240627	
P9WN69	Glucose-6-phosphate isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pgi PE=1 SV=1	553	59974	pgi	Rv0946c	0.00240151	
P9WNR9	Nucleoid-associated protein Rv3716c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3716c PE=1 SV=1	133	13357	Rv3716c	Rv3716c	0.00240085	
P9WIC9	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpmA PE=1 SV=1	249	27216	gpmA	Rv0489	0.00239258	
P9WFD7	Universal stress protein Rv2623 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2623	297	31652	Rv2623	Rv2623	0.00238587	
P9WIP7	Nucleoid-associated protein Lsr2 M. tuberculosis H37Rv GN=lsr2	112	12098	lsr2	Rv3597c	0.00238463	
O50383	Lipoprotein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3354	129	12988	Rv3354	Rv3354	0.00237986	
I6WZM9	Cold-shock protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cspB PE=1 SV=1	135	15021	cspB	Rv0871	0.00236529	
P9WHU1	Proteasome subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=prcA ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P95147; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P95147	248	26881	prcA	Rv2109c	0.00235655	Rv1868 (Rv1868)
P9WNX9	Succinate-semialdehyde dehydrogenase [NADP(+)] 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabD1 PE=1 SV=1	457	48545	gabD1	Rv0234c	0.00233551	
I6Y946	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0925c PE=1 SV=1	245	26944	Rv0925c	Rv0925c	0.00232906	
P9WGM1	Transcriptional regulatory protein PrrA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=prrA PE=1 SV=1	233	25009	prrA	Rv0903c	0.00231581	
P9WP23	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate reductase M. tuberculosis H37Rv GN=dapB	245	25733	dapB	Rv2773c	0.00229085	
P9WGD5	Single-stranded DNA-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=ssb	164	17353	ssb	Rv0054	0.00226554	
P9WN85	Zinc uptake regulation protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=zur PE=1 SV=1	130	14398	zur	Rv2359	0.00226292	
P9WNF3	Cell surface glycolipoprotein MPT83 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt83	220	22070	mpt83	Rv2873	0.00226224	
I6X7D4	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3463 PE=1 SV=1	285	30651	Rv3463	Rv3463	0.00225984	
P71790	GDP-mannose 4,6-dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gmdA PE=1 SV=2	340	38342	gmdA	Rv1511	0.00225661	
O53311	Diguanylate cyclase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3161c PE=1 SV=1	382	42504	Rv3161c	Rv3161c	0.00224976	
P9WPB5	Cyclopropane mycolic acid synthase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cmaA2 PE=1 SV=1	302	34660	cmaA2	Rv0503c	0.00224686	
P9WM91	Uncharacterized protein Rv0036c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0036c	257	27546	Rv0036c	Rv0036c	0.00224525	
P96404	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA1 PE=1 SV=1	262	27280	echA1	Rv0222	0.00221561	
P9WJH7	Nucleoside diphosphate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=ndkA	136	14508	ndkA	Rv2445c	0.00221022	
O69689	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3722c PE=1 SV=2	435	47341	Rv3722c	Rv3722c	0.00220107	
P9WK95	3-isopropylmalate dehydratase small subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=leuD PE=1 SV=1	198	21780	leuD	Rv2987c	0.00219754	
I6YDN6	Probable cytoplasmic peptidase PepQ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pepQ PE=1 SV=1	372	38791	pepQ	Rv2535c	0.00218832	
P9WK09	Metallothionein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mymT PE=1 SV=1	53	5719	mymT	Rv0186A	0.00218489	
O06574	6-phosphogluconate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gnd2 PE=1 SV=1	340	36358	gnd2	Rv1122	0.00218269	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
Q79FN7	ATPase M. tuberculosis H37Rv GN=moxR1	377	40763	moxR1	Rv1479	0.00217892	
P9WNM7	Elongation factor G M. tuberculosis H37Rv GN=fusA	701	77203	fusA	Rv0684	0.00216864	
P9WQP5	6-phosphogluconolactonase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pgl PE=1 SV=1	247	25804	pgl	Rv1445c	0.00215859	
P9WMN9	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemL PE=1 SV=1	462	47516	hemL	Rv0524	0.00215775	
O53943	ESX-5 secretion-associated protein EspG5 M. tuberculosis H37Rv GN=espG5	300	32400	espG5	Rv1794	0.00213531	
P9WK13	Malate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=mdh	329	34322	mdh	Rv1240	0.00213432	
O33291	Antibiotic biosynthesis monooxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2749 PE=1 SV=1	104	11099	Rv2749	Rv2749	0.00212744	
I6X831	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3688c PE=1 SV=1	154	16701	Rv3688c	Rv3688c	0.00212148	
P9WKZ7	Uncharacterized protein Rv3400 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3400 PE=1 SV=1	262	28228	Rv3400	Rv3400	0.00210647	
P9WFY1	Tryptophan synthase alpha chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpA PE=1 SV=1	270	27728	trpA	Rv1613	0.00210612	
I6XF25	Potassium transporter TrkA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ceoB PE=1 SV=1	227	24240	ceoB	Rv2691	0.00210567	
P9WNE7	Ferredoxin OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fdxA PE=1 SV=1	114	12064	fdxA	Rv2007c	0.00210506	
P9WP51	Putative cystathionine beta-synthase Rv1077 M. tuberculosis H37Rv GN=cbs	464	48635	cbs	Rv1077	0.00209640	
P9WNN9	Probable enoyl-CoA hydratase echA8 M. tuberculosis H37Rv GN=echA8	257	27273	echA8	Rv1070c	0.00209572	
P9WJH3	NADH-quinone oxidoreductase subunit C OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoC PE=1 SV=1	236	26932	nuoC	Rv3147	0.00208587	
I6Y231	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mas PE=1 SV=1	2111	224380	mas	Rv2940c	0.00208196	
O53598	Conserved protein similar to jag protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3920c PE=1 SV=1	187	20559	Rv3920c	Rv3920c	0.00207650	
P9WJQ9	Probable molybdenum cofactor guanylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mobA PE=1 SV=1	201	21084	mobA	Rv2453c	0.00207648	
O69714	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3747 PE=1 SV=1	127	13540	Rv3747	Rv3747	0.00207200	
P9WPU7	ATP synthase subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=atpA	549	59288	atpA	Rv1308	0.00206084	
P9WQ13	Probable endonuclease 4 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=end PE=1 SV=1	252	26845	end	Rv0670	0.00204147	
O05777	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3099c	283	30508	Rv3099c	Rv3099c	0.00203550	
O53872	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadB	720	76104	fadB	Rv0860	0.00203269	
P96414	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE4 PE=1 SV=1	568	63495	fadE4	Rv0231	0.00202660	
P9WLA5	Uncharacterized protein Rv2557 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2557 PE=1 SV=1	224	24295	Rv2557	Rv2557	0.00202605	
I6YA17	DUTPase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2699c PE=1 SV=1	100	10916	Rv2699c	Rv2699c	0.00202531	
P9WQA5	Uncharacterized oxidoreductase Rv2971 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2971	282	30364	Rv2971	Rv2971	0.00202528	
P9WNF5	Immunogenic protein MPT70 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt70	193	19073	mpt70	Rv2875	0.00201704	
P9WHM7	Bifunctional purine biosynthesis protein PurH OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purH PE=1 SV=1	523	55026	purH	Rv0957	0.00201536	
P9WMW1	Glycogen phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgP PE=1 SV=1	863	95515	glgP	Rv1328	0.00200649	
P9WQN7	MPT51/MPB51 antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mpt51	299	31089	mpt51	Rv3803c	0.00199577	
P9WLD5	Uncharacterized protein Rv2302 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2302	80	8591	Rv2302	Rv2302	0.00199571	
O53146	NADPH--quinone reductase M. tuberculosis H37Rv GN=qor PE=1 SV=3	328	34047	qor	Rv1454c	0.00199212	
P9WKH5	Insertion element IS6110 uncharacterized 12.0 kDa protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0795 PE=1 SV=1	108	12005	Rv0795	Rv0795	0.00198928	
O07175	Probable serine protease PepA (Serine proteinase) (MTB32A) M. tuberculosis H37Rv GN=pepA	355	34926	pepA	Rv0125	0.00197800	
O53565	Putative coenzyme F420-dependent oxidoreductase Rv3520c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3520c	347	37617	Rv3520c	Rv3520c	0.00195264	
P9WQB1	Alanine dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=ald	371	38713	ald	Rv2780	0.00194719	
P71701	5,10-methylene tetrahydromethanopterin reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0044c PE=1 SV=1	264	28524	Rv0044c	Rv0044c	0.00194495	
P9WG43	Triosephosphate isomerase M. tuberculosis H37Rv GN=tpiA	261	27403	tpiA	Rv1438	0.00193897	
P95159	Oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1855c PE=1 SV=2	307	33220	Rv1855c	Rv1855c	0.00193736	
P0DMM4	Uncharacterized protein Rv0572A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0572A PE=1 SV=1	55	5973	Rv0572A	Rv0572A	0.00193523	
O69732	ESX-1 secretion-associated protein EspH OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=espH PE=1 SV=1	183	19946	espH	Rv3867	0.00193338	
P9WFX7	Indole-3-glycerol phosphate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=trpC	272	28023	trpC	Rv1611	0.00193301	
P9WLA7	Uncharacterized protein Rv2468c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2468c PE=1 SV=1	167	17289	Rv2468c	Rv2468c	0.00193278	
I6YA03	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA15 PE=1 SV=1	276	29635	echA15	Rv2679	0.00193179	
O07242	1,3-beta-glucanase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0315	294	32186	Rv0315	Rv0315	0.00193085	
O07222	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1810 PE=1 SV=4	118	12142	Rv1810	Rv1810	0.00192936	
O86361	Acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA2	440	46107	fadA2	Rv0243	0.00192406	
P9WFW5	Arginine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argS PE=1 SV=1	550	59709	argS	Rv1292	0.00191642	
P9WKL3	Uncharacterized protein Rv0559c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0559c	112	12117	Rv0559c	Rv0559c	0.00190068	
O86358	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3755c PE=1 SV=1	199	22002	Rv3755c	Rv3755c	0.00189435	
P9WNH1	Putative non-heme bromoperoxidase BpoC OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bpoC PE=1 SV=1	262	28381	bpoC	Rv0554	0.00188833	
P9WPH9	ESX-1 secretion system protein EccA1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=eccA1 PE=1 SV=1	573	62426	eccA1	Rv3868	0.00188165	
O05861	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3205c	292	31352	Rv3205c	Rv3205c	0.00187995	
O69667	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3699 PE=1 SV=3	233	24998	Rv3699	Rv3699	0.00187588	
P9WIT1	Uncharacterized FAD-linked oxidoreductase Rv2280 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2280	459	48052	Rv2280	Rv2280	0.00187124	
P9WPE1	Citrate lyase subunit beta-like protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=citE PE=1 SV=1	273	28886	citE	Rv2498c	0.00185734	
P9WP55	O-acetylserine sulfhydrylase M. tuberculosis H37Rv GN=cysK1	310	32753	cysK1	Rv2334	0.00185187	
I6Y7V6	Fatty-acid--CoA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD31 PE=1 SV=1	620	66310	fadD31	Rv1925	0.00184153	
P9WHV1	Gamma-glutamyl phosphate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=proA PE=1 SV=1	415	43745	proA	Rv2427c	0.00183931	
I6XW38	GCN5-related N-acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0730 PE=1 SV=1	242	25980	Rv0730	Rv0730	0.00183667	
O07739	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1893 PE=1 SV=1	72	7467	Rv1893	Rv1893	0.00182739	
P9WFX9	Tryptophan synthase beta chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpB PE=1 SV=1	422	44645	trpB	Rv1612	0.00181933	
P9WMR9	Haloalkane dehalogenase 3 M. tuberculosis H37Rv GN=dhaA	300	33728	dhaA	Rv2579	0.00181670	
O53580	Long-chain-fatty-acid--AMP ligase FadD32 M. tuberculosis H37Rv GN=fadD32	637	69232	fadD32	Rv3801c	0.00181634	
P9WQ59	Long-chain-fatty-acid--AMP ligase FadD28 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD28 PE=1 SV=1	580	62641	fadD28	Rv2941	0.00181560	
P9WQB5	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ahpD PE=1 SV=1	177	18781	ahpD	Rv2429	0.00181514	
O53554	Putative acetolactate synthase large subunit IlvX M. tuberculosis H37Rv GN=ilvX	515	52072	ilvX	Rv3509c	0.00181509	
P9WGK3	Redox sensor histidine kinase response regulator DevS M. tuberculosis H37Rv GN=devS	578	62241	devS	Rv3132c	0.00181508	
O07431	Probable O-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0187 PE=1 SV=1	220	23097	Rv0187	Rv0187	0.00180311	
P9WGR5	Uncharacterized oxidoreductase Rv0484c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0484c PE=1 SV=1	251	26416	Rv0484c	Rv0484c	0.00180028	
P9WQB3	2-isopropylmalate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=leuA	644	70114	leuA	Rv3710	0.00179813	
P9WHC5	50S ribosomal protein L20 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplT PE=1 SV=1	129	14527	rplT	Rv1643	0.00179534	
P9WQ17	Alpha-1,4-glucan:maltose-1-phosphate maltosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgE PE=1 SV=1	701	78640	glgE	Rv1327c	0.00178058	
P9WP99	Cob(I)yrinic acid a,c-diamide adenosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1314c PE=1 SV=1	193	20694	Rv1314c	Rv1314c	0.00177961	
P9WKK7	Isocitrate lyase M. tuberculosis H37Rv GN=icl	428	47087	icl	Rv0467	0.00177536	
O53203	NAD-specific glutamate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=gdh	1624	176900	gdh	Rv2476c	0.00176536	
P9WJ03	Sulfite reductase [ferredoxin] M. tuberculosis H37Rv GN=sir	555	62112	sir	Rv2391	0.00176330	
I6X9Y7	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0854 PE=1 SV=1	147	16346	Rv0854	Rv0854	0.00175317	
P9WK55	Lipoprotein LprA M. tuberculosis H37Rv GN=lprA	244	24874	lprA	Rv1270c	0.00174891	
I6XF31	Conserved alanine and glycine and valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2696c PE=1 SV=1	259	27217	Rv2696c	Rv2696c	0.00174087	
P9WM15	Uncharacterized protein Rv1352 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1352	123	12850	Rv1352	Rv1352	0.00173070	
L7N668	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3196A PE=1 SV=1	66	7285	Rv3196A	Rv3196A	0.00172473	
P9WG81	Bifunctional protein FolD M. tuberculosis H37Rv GN=folD	281	29484	folD	Rv3356c	0.00172384	
P9WJD5	ESX-1 secretion-associated protein EspD M. tuberculosis H37Rv GN=espD	184	19835	espD	Rv3614c	0.00171936	
P9WFZ3	Trk system potassium uptake protein TrkA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trkA PE=1 SV=1	220	23947	trkA	Rv2692	0.00171800	
P9WLH9	Uncharacterized protein Rv2226 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2226 PE=1 SV=1	513	56333	Rv2226	Rv2226	0.00170884	
O05882	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3237c	160	17234	Rv3237c	Rv3237c	0.00170316	
P71990	Alkyl hydroperoxide reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1732c PE=1 SV=1	182	19399	Rv1732c	Rv1732c	0.00170303	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

			Código de color (NSAF)		P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WKK3	Translation initiation factor IF-1 M. tuberculosis H37Rv GN=infA	73	8489	infA	Rv3462c	0.00170106	
P9WK63	Putative lipoprotein LpqE M. tuberculosis H37Rv GN=lpqE	182	18819	lpqE	Rv3584	0.00169223	
P9WGY9	DNA-directed RNA polymerase subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=rpoB	1178	129865	rpoB	Rv0667	0.00167994	
P9WG65	Soluble secreted antigen MPT53 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt53	173	18383	mpt53	Rv2878c	0.00167772	
P9WL31	Uncharacterized protein Rv2895c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2895c PE=1 SV=1	283	30603	Rv2895c	Rv2895c	0.00167510	
P71898	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2314c	457	48712	Rv2314c	Rv2314c	0.00164437	
P9WJG3	RNA polymerase-binding transcription factor CarD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=carD PE=1 SV=1	162	17907	carD	Rv3583c	0.00163649	
P9WN37	Glutamine synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnA2 PE=1 SV=1	446	49608	glnA2	Rv2222c	0.00163298	
P9WMI7	Uncharacterized HTH-type transcriptional regulator Rv0081 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0081 PE=1 SV=1	114	12356	Rv0081	Rv0081	0.00162960	
P95227	Acyl-CoA synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=fadD2	560	59893	fadD2	Rv0270	0.00162702	
P9WG59	Threonine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thrC PE=1 SV=1	360	37322	thrC	Rv1295	0.00162340	
I6X8R2	Peptidase M13 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=zmp1 PE=1 SV=1	663	73914	zmp1	Rv0198c	0.00162177	
O53181	2-oxoglutarate oxidoreductase subunit KorB M. tuberculosis H37Rv GN=korB	373	40143	korB	Rv2454c	0.00161702	
Q79FR3	PE family protein PE13 M. tuberculosis H37Rv GN=PE13	99	9616	PE13	Rv1195	0.00160276	
P9WGL7	Uncharacterized response regulatory protein Rv3143 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3143	133	14386	Rv3143	Rv3143	0.00159317	
Q6MX51	Probable sulfatase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0296c	465	51846	Rv0296c	Rv0296c	0.00158748	
L7N657	Conserved protein TB18.5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB18.5 PE=1 SV=1	161	17738	TB18.5	Rv0164	0.00158240	
P9WGF9	Uncharacterized protein Rv1276c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1276c PE=1 SV=1	158	16462	Rv1276c	Rv1276c	0.00157187	
I6XWG2	Molybdenum cofactor biosynthesis protein MoaD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaD2 PE=1 SV=1	92	9440	moaD2	Rv0868c	0.00156396	
I6YF08	Probable conserved secreted protein TB22.2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB22.2 PE=1 SV=1	227	24407	TB22.2	Rv3036c	0.00155863	
O53897	Molybdenum cofactor biosynthesis protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaB2 PE=1 SV=3	181	18441	moaB2	Rv0984	0.00155184	
O53578	Methylmalonyl-CoA carboxyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=accD4 PE=1 SV=2	522	56680	accD4	Rv3799c	0.00154819	
P71805	Putative transferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1377c PE=1 SV=3	212	22815	Rv1377c	Rv1377c	0.00154572	
L0TAD5	Probable catechol-O-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1703c PE=1 SV=1	196	21570	Rv1703c	Rv1703c	0.00154366	
P9WNP7	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadB2	286	30728	fadB2	Rv0468	0.00154035	
P9WL45	Uncharacterized protein Rv2676c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2676c PE=1 SV=1	231	26250	Rv2676c	Rv2676c	0.00153590	
P9WHU7	Pyrroline-5-carboxylate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=proC PE=1 SV=1	295	30172	proC	Rv0500	0.00153176	
P9WIR3	Putative glyoxylase CFP32 M. tuberculosis H37Rv GN=cfp32	261	27343	cfp32	Rv0577	0.00153116	
P9WN31	Nitrogen regulatory protein P-II OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnB PE=1 SV=1	112	12227	glnB	Rv2919c	0.00151787	
P9WID7	ATP-dependent 6-phosphofructokinase M. tuberculosis H37Rv GN=pfkA	343	36880	pfkA	Rv3010c	0.00151568	
P96886	Probable bifunctional protein acetyl-/propionyl-coenzyme A carboxylase (Epsilon chain) AccE5 M. tuberculosis H37Rv GN=accE5	177	19014	accE5	Rv3281	0.00150892	
I6WYY7	(3R)-hydroxyacyl-ACP dehydratase subunit HadB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hadB PE=1 SV=1	142	14934	hadB	Rv0636	0.00150605	
P9WFU5	Methionine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metG PE=1 SV=1	519	58093	metG	Rv1007c	0.00150394	
I6XWA1	Adenylosuccinate lyase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purB PE=1 SV=1	472	51040	purB	Rv0777	0.00149502	
P9WKI1	Inositol-3-phosphate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ino1 PE=1 SV=1	367	40094	ino1	Rv0046c	0.00149308	
P9WQ19	Trehalose synthase/amylase TreS OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=treS PE=1 SV=1	601	68593	treS	Rv0126	0.00148978	
O07177	Maltokinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mak PE=1 SV=2	455	49879	mak	Rv0127	0.00148916	
P9WH75	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrdE PE=1 SV=1	725	82441	nrdE	Rv3051c	0.00148851	
I6XDU8	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2237A PE=1 SV=1	78	8508	Rv2237A	Rv2237A	0.00148461	
P9WL43	Uncharacterized protein Rv2716 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2716 PE=1 SV=1	228	24574	Rv2716	Rv2716	0.00147830	
P9WKK9	3-isopropylmalate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=leuB PE=1 SV=1	336	35306	leuB	Rv2995c	0.00147538	
P9WPC9	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit ClpC1 M. tuberculosis H37Rv GN=clpC1	848	93552	clpC1	Rv3596c	0.00146552	
I6WZD7	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0760c PE=1 SV=1	139	15242	Rv0760c	Rv0760c	0.00146413	
P71897	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2315c PE=1 SV=2	505	54578	Rv2315c	Rv2315c	0.00146369	
O07256	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0332 PE=1 SV=1	261	28620	Rv0332	Rv0332	0.00145943	
O53728	Chorismate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0443 PE=1 SV=3	171	18958	Rv0443	Rv0443	0.00145812	
I6X4S7	Acyl-CoA thioesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tesB2 PE=1 SV=1	281	31569	tesB2	Rv2605c	0.00145550	
P9WFK1	UPF0336 protein Rv0635 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0635 PE=1 SV=1	158	17481	Rv0635	Rv0635	0.00145337	
P9WIU9	Transcription termination/antitermination protein NusG M. tuberculosis H37Rv GN=nusG	238	25447	nusG	Rv0639	0.00144726	
O06154	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1637c PE=1 SV=2	264	27936	Rv1637c	Rv1637c	0.00144657	
P9WNU1	DNA polymerase III subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=dnaN	402	42113	dnaN	Rv0002	0.00144283	
P9WIP1	Immunogenic protein MPT63 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt63	159	16514	mpt63	Rv1926c	0.00143804	
P9WPW5	Probable succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase subunit A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=scoA PE=1 SV=1	248	26276	scoA	Rv2504c	0.00143458	
P9WFT5	Threonine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thrS PE=1 SV=1	692	77122	thrS	Rv2614c	0.00143416	
O05898	Mannose-6-phosphate isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=manA PE=1 SV=1	408	43371	manA	Rv3255c	0.00143241	
I6Y2G3	Probable phosphoglucomutase PgmA (Glucose phosphomutase) (PGM) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pgmA PE=1 SV=1	547	58266	pgmA	Rv3068c	0.00143148	
Q6MWZ7	Acid phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpm2 PE=1 SV=1	203	21949	gpm2	Rv3214	0.00142978	
O53666	Butyryl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadE5	611	66046	fadE5	Rv0244c	0.00142909	
O53896	Peptidase S1 M. tuberculosis H37Rv GN=pepD	464	46453	pepD	Rv0983	0.00142840	
P9WP43	Probable cutinase Rv1984c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1984c	217	21782	Rv1984c	Rv1984c	0.00142835	
I6YG87	PE family protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=PE31 PE=1 SV=1	98	9795	PE31	Rv3477	0.00142806	
O53533	Alcohol dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mscR PE=1 SV=1	361	37888	mscR	Rv2259	0.00142648	
P9WFG9	UPF0678 fatty acid-binding protein-like protein Rv0813c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0813c PE=1 SV=1	226	23900	Rv0813c	Rv0813c	0.00142595	
O53419	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA9 PE=1 SV=1	345	36354	echA9	Rv1071c	0.00142549	
O50434	Aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1178 PE=1 SV=1	362	37734	Rv1178	Rv1178	0.00142526	
P9WGT9	Phosphate-binding protein PstS 2 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS2	370	37864	pstS2	Rv0932c	0.00142506	
P9WH67	30S ribosomal protein S10 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsJ	101	11431	rpsJ	Rv0700	0.00142460	
P9WI95	Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU homolog 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=phoU2 PE=1 SV=1	213	23514	phoU2	Rv0821c	0.00142046	
P9WGY7	DNA-directed RNA polymerase subunit beta' M. tuberculosis H37Rv GN=rpoC	1316	146769	rpoC	Rv0668	0.00141504	
P9WGC7	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=sucD	303	31229	sucD	Rv0952	0.00140837	
O53816	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmsA PE=1 SV=1	510	54454	mmsA	Rv0753c	0.00140584	
P9WN67	UDP-glucose 4-epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=galE1 PE=1 SV=1	314	33582	galE1	Rv3634c	0.00140300	
L7N686	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0078A PE=1 SV=1	197	21613	Rv0078A	Rv0078A	0.00139825	
O53390	Probable O-acetylhomoserine sulfhydrylase MetC (Homocysteine synthase) (O-acetylhomoserine (Thiol)-lyase) (OAH sulfhydrylase) (O-acetyl-L-homoserine sulfhydrylase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metC PE=1 SV=1	449	47371	metC	Rv3340	0.00139386	
P9WII3	Endoribonuclease MazF6 M. tuberculosis H37Rv GN=mazF6	114	12262	mazF6	Rv1991c	0.00139187	
P9WKG3	4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase (flavodoxin) M. tuberculosis H37Rv GN=ispG	387	40482	ispG	Rv2868c	0.00139173	
P9WGA5	Probable transcriptional regulatory protein Rv2603c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2603c PE=1 SV=1	251	26799	Rv2603c	Rv2603c	0.00139001	
P95146	Probable reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1869c	411	43629	Rv1869c	Rv1869c	0.00138482	
I6Y293	Probable conserved lipoprotein LppZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppZ PE=1 SV=1	373	38752	lppZ	Rv3006	0.00138186	
I6XF92	Probable alanine rich hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2765 PE=1 SV=1	245	26160	Rv2765	Rv2765	0.00137974	
P9WNH5	4,5:9,10-diseco-3-hydroxy-5,9,17-trioxoandrosta-1(10),2-diene-4-oate hydrolase M. tuberculosis H37Rv GN=hsaD	291	31875	hsaD	Rv3569c	0.00136993	
P96900	Probable transcriptional regulatory protein (Probably TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3295 PE=1 SV=1	221	24805	Rv3295	Rv3295	0.00136459	
L7N695	PE family immunomodulator PE5 M. tuberculosis H37Rv GN=PE5 ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6MX17, Q6MX19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6MX17, Q6MX19	102	9566	PE5	Rv0285	0.00136242	Rv3022A (PE29) Rv3018A (PE27A)
P9WFS9	Valine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=valS PE=1 SV=2	886	98800	valS	Rv2448c	0.00136040	
O69652	Probable lyase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3684 PE=1 SV=3	346	37641	Rv3684	Rv3684	0.00135725	
P9WLZ1	Putative antitoxin VapB10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapB10 PE=1 SV=1	85	9444	vapB10	Rv1398c	0.00135078	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WIJ1	Pyridoxine/pyridoxamine 5'-phosphate oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pdxH PE=1 SV=1	224	25186	pdxH	Rv2607	0.00135070	
P9WPI3	ESX-3 secretion system protein EccA3 M. tuberculosis H37Rv GN=eccA3	631	68107	eccA3	Rv0282	0.00134945	
P9WGR1	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH] M. tuberculosis H37Rv GN=inhA	269	28528	inhA	Rv1484	0.00134642	
P9WHE9	6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribH PE=1 SV=1	160	16371	ribH	Rv1416	0.00134277	
O06409	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0543c PE=1 SV=1	100	11312	Rv0543c	Rv0543c	0.00133539	
P9WL61	Uncharacterized protein Rv2632c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2632c PE=1 SV=1	93	10083	Rv2632c	Rv2632c	0.00133524	
P9WQK3	Energy-dependent translational throttle protein EttA M. tuberculosis H37Rv GN=ettA	558	61893	ettA	Rv2477c	0.00133172	
P0CH91	Methoxy mycolic acid synthase MmaA3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmaA3 PE=1 SV=1	293	33263	mmaA3	Rv0643c	0.00132863	
A0A089QRB9	Mycolipanoate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=msl3 PE=1 SV=2	2085	220462	msl3	Rv1180	0.00132658	
O50397	Nitroreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3368c PE=1 SV=1	214	23733	Rv3368c	Rv3368c	0.00132633	
P9WJA1	Flavin-dependent monooxygenase, oxygenase subunit HsaA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hsaA PE=1 SV=1	394	43143	hsaA	Rv3570c	0.00132448	
O06144	Probable nonspecific lipid-transfer protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1627c	402	42386	Rv1627c	Rv1627c	0.00131896	
L7N684	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2141c PE=1 SV=1	448	48142	Rv2141c	Rv2141c	0.00131663	
P9WP33	Sulfur carrier protein CysO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysO PE=1 SV=1	93	9557	cysO	Rv1335	0.00131409	
P9WPD3	Putative citrate synthase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=citA PE=1 SV=1	373	40147	citA	Rv0889c	0.00131321	
I6YA00	Methionine sulfoxide reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=msrB PE=1 SV=1	136	15318	msrB	Rv2674	0.00131162	
P9WPV1	ATP synthase epsilon chain M. tuberculosis H37Rv GN=atpC	121	13135	atpC	Rv1311	0.00131135	
P9WG79	Phosphomethylpyrimidine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thiC PE=1 SV=1	547	59898	thiC	Rv0423c	0.00130536	
O53871	Putative acyltransferase Rv0859 M. tuberculosis H37Rv GN=fadA	403	42414	fadA	Rv0859	0.00130105	
P9WJD7	ESX-1 secretion-associated protein EspC M. tuberculosis H37Rv GN=espC	103	10795	espC	Rv3615c	0.00129650	
O33252	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2117 PE=1 SV=1	97	10850	Rv2117	Rv2117	0.00129032	
O50462	Antitoxin RelB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=relB PE=1 SV=1	89	9767	relB	Rv1247c	0.00129007	
P9WNY1	Probable aldehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0458 PE=1 SV=1	507	54575	Rv0458	Rv0458	0.00128980	
P9WFJ3	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0146 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0146 PE=1 SV=1	310	34016	Rv0146	Rv0146	0.00128280	
P9WFI9	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0281 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0281 PE=1 SV=1	302	32998	Rv0281	Rv0281	0.00128252	
P9WG37	Alpha-keto-acid decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=kdc PE=1 SV=1	560	59783	kdc	Rv0853c	0.00127330	
P9WPH3	Cytidine deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cdd PE=1 SV=1	133	14072	cdd	Rv3315c	0.00127081	
P95198	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0390 PE=1 SV=2	140	15392	Rv0390	Rv0390	0.00126712	
I6X9V3	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0811c PE=1 SV=1	368	39447	Rv0811c	Rv0811c	0.00126542	
O53182	2-oxoglutarate oxidoreductase subunit KorA M. tuberculosis H37Rv GN=korA PE=1 SV=3	653	69182	korA	Rv2455c	0.00126098	
P9WMS7	GMP synthase [glutamine-hydrolyzing] M. tuberculosis H37Rv GN=guaA	525	56060	guaA	Rv3396c	0.00125959	
P9WID1	Phosphoglycerate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=pgk	412	42512	pgk	Rv1437	0.00125344	
L7N673	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1638A PE=1 SV=1	85	9507	Rv1638A	Rv1638A	0.00125221	
P9WHK1	Putative phosphoribosyl transferase Rv0571c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0571c	443	46655	Rv0571c	Rv0571c	0.00125141	
O33340	Aldehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aldC PE=1 SV=1	455	48259	aldC	Rv2858c	0.00124978	
P9WJD9	ESX-1 secretion-associated protein EspB M. tuberculosis H37Rv GN=espB	460	47594	espB	Rv3881c	0.00124586	
I6X486	PE-PGRS family protein PE25 M. tuberculosis H37Rv GN=PE25	99	10687	PE25	Rv2431c	0.00124438	
I6X5K1	Glutamine synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnA4 PE=1 SV=1	457	49747	glnA4	Rv2860c	0.00123355	
P9WJL3	UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate--2,6-diaminopimelate ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=murE PE=1 SV=1	535	55341	murE	Rv2158c	0.00122502	
P9WGB7	Cystathionine gamma-synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metB PE=1 SV=1	388	40982	metB	Rv1079	0.00121925	
O53961	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1919c PE=1 SV=3	154	16803	Rv1919c	Rv1919c	0.00121910	
P9WGT7	Phosphate-binding protein PstS 3 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS3	370	37953	pstS3	Rv0928	0.00121595	
P9WHR7	LexA repressor M. tuberculosis H37Rv GN=lexA	236	24841	lexA	Rv2720	0.00121102	
O06218	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2159c	344	36376	Rv2159c	Rv2159c	0.00121044	
P9WFT9	Proline--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=proS	582	63302	proS	Rv2845c	0.00120989	
I6X9J0	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE8 PE=1 SV=1	542	58534	fadE8	Rv0672	0.00120919	
O06800	Alkyl hydroperoxide reductase AhpD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1767 PE=1 SV=1	119	12491	Rv1767	Rv1767	0.00120911	
O53193	Thioredoxin-like reductase Rv2466c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2466c	207	23035	Rv2466c	Rv2466c	0.00120453	
O53319	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3169 PE=1 SV=3	374	41760	Rv3169	Rv3169	0.00120295	
P9WFZ1	tRNA (adenine(58)-N(1))-methyltransferase TrmI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trmI PE=1 SV=1	280	30123	trmI	Rv2118c	0.00120025	
P9WFV9	Glutamate--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltX PE=1 SV=1	490	53864	gltX	Rv2992c	0.00119672	
P9WNS5	Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dut PE=1 SV=1	154	15803	dut	Rv2697c	0.00119356	
P95029	3-oxoacyl-ACP synthase M. tuberculosis H37Rv GN=fas PE=1 SV=3	3069	326255	fas	Rv2524c	0.00119186	
O33249	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2114 PE=1 SV=3	207	22775	Rv2114	Rv2114	0.00119028	
P9WHG3	Peptide chain release factor 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=prfA PE=1 SV=1	357	39036	prfA	Rv1299	0.00118983	
P9WGY3	Putative 4-hydroxy-4-methyl-2-oxoglutarate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rraA PE=1 SV=1	157	16235	rraA	Rv3853	0.00118954	
P9WHJ5	RNA polymerase-binding protein RbpA M. tuberculosis H37Rv GN=rbpA	111	12972	rbpA	Rv2050	0.00118533	
O06412	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0546c PE=1 SV=1	128	14346	Rv0546c	Rv0546c	0.00118186	
P9WLP7	Uncharacterized protein Rv1990c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1990c PE=1 SV=1	113	12488	Rv1990c	Rv1990c	0.00118176	
O53905	Carboxymuconolactone decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1531 PE=1 SV=1	188	20796	Rv1531	Rv1531	0.00117688	
O86346	2-hydroxyhepta-2,4-diene-1,7-dioate isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0939 PE=1 SV=1	644	69354	Rv0939	Rv0939	0.00117452	
P9WFD5	Universal stress protein Rv2624c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2624c PE=1 SV=1	272	29400	Rv2624c	Rv2624c	0.00117395	
P9WFV1	Leucine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=leuS	969	107595	leuS	Rv0041	0.00117166	
P9WLA3	Uncharacterized protein Rv2558 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2558 PE=1 SV=1	236	25718	Rv2558	Rv2558	0.00116719	
O53154	Cysteine desulfurase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sufC PE=1 SV=1	266	28823	Rv1463	Rv1463	0.00116523	
O50398	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3369	144	15718	Rv3369	Rv3369	0.00116008	
P9WQF1	Acyl carrier protein MbtL OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtL PE=1 SV=1	84	8969	mbtL	Rv1344	0.00115567	
P9WQC9	Acylphosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=acyP PE=1 SV=1	93	10206	acyP	Rv2922A	0.00115507	
P9WMS3	Haloalkane dehalogenase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=dhmA1	300	33358	dhmA1	Rv2296	0.00115472	
O53479	ATPase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2035 PE=1 SV=1	162	18515	Rv2035	Rv2035	0.00114676	
P9WHE7	50S ribosomal protein L10 M. tuberculosis H37Rv GN=rplJ	178	18478	rplJ	Rv0651	0.00114334	
P9WPX7	3-dehydroquinate dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroQ PE=1 SV=1	147	15790	aroQ	Rv2537c	0.00114309	
P9WGB5	O-succinylhomoserine sulfhydrylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metZ PE=1 SV=1	406	43345	metZ	Rv0391	0.00113729	
P9WFV7	Glycine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=glyQS	463	52938	glyQS	Rv2357c	0.00113134	
P9WNW7	Iron-dependent extradiol dioxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hsaC PE=1 SV=1	300	33582	hsaC	Rv3568c	0.00113007	
P9WK47	Putative diacylated glycolipid transporter LprF M. tuberculosis H37Rv GN=lprF	261	26852	lprF	Rv1368	0.00112336	
I6Y8S6	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase subunit PurS OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purS PE=1 SV=1	79	8622	purS	Rv0787A	0.00112276	
P9WNN3	Probable enoyl-CoA hydratase echA17 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA17 PE=1 SV=1	254	26538	echA17	Rv3039c	0.00112133	
O53773	Probable transcriptional regulatory protein (Possibly ArsR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0576 PE=1 SV=3	434	46408	Rv0576	Rv0576	0.00111612	
P95197	Formate-dependent phosphoribosylglycinamide formyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purT PE=1 SV=2	419	43678	purT	Rv0389	0.00111374	
P9WPY1	Chorismate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroC PE=1 SV=1	401	41792	aroC	Rv2540c	0.00111214	
P9WPC5	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=clpP1 PE=1 SV=1	200	21708	clpP1	Rv2461c	0.00111119	
P9WGE9	Superoxide dismutase [Cu-Zn] M. tuberculosis H37Rv GN=sodC	240	23844	sodC	Rv0432	0.00110873	
P9WFV3	Isoleucine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=ileS	1041	117340	ileS	Rv1536	0.00110766	
P9WNX5	Aspartate-semialdehyde dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=asd	345	36230	asd	Rv3708c	0.00110124	
O06145	Benzoylsuccinyl-CoA thiolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1628c PE=1 SV=1	163	17754	Rv1628c	Rv1628c	0.00110039	
P9WKJ7	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+)) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvC PE=1 SV=2	337	36535	ilvC	Rv3001c	0.00109960	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
I6XF60	Conserved alanine and arginine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2731 PE=1 SV=1	450	49796	Rv2731	Rv2731	0.00109506	
O07726	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1906c PE=1 SV=3	156	15537	Rv1906c	Rv1906c	0.00108345	
I6Y4U4	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0794c PE=1 SV=1	499	52476	Rv0794c	Rv0794c	0.00108133	
P9WFI5	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0731c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0731c PE=1 SV=1	318	34950	Rv0731c	Rv0731c	0.00108008	
P96264	Probable lipoprotein aminopeptidase LpqL M. tuberculosis H37Rv GN=lpqL	500	52042	lpqL	Rv0418	0.00107917	
P9WH29	30S ribosomal protein S7 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsG	156	17600	rpsG	Rv0683	0.00107715	
O33272	Membrane protein M. tuberculosis H37Rv GN=LH57_16190 PE=1 SV=3	255	26862	Rv2969c	Rv2969c	0.00107636	
Q10782	Ketoacyl reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1544	267	28200	Rv1544	Rv1544	0.00107042	
I6X562	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2708c PE=1 SV=1	82	8962	Rv2708c	Rv2708c	0.00106969	
I6YGL1	Possible hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3591c PE=1 SV=1	257	28542	Rv3591c	Rv3591c	0.00106799	
P9WFW3	Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase M. tuberculosis H37Rv GN=aspS	594	64981	aspS	Rv2572c	0.00106520	
P9WFX3	Anthranilate synthase component 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpE PE=1 SV=1	516	55849	trpE	Rv1609	0.00106004	
P9WGZ7	Ribonuclease PH OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rph PE=1 SV=1	259	27351	rph	Rv1340	0.00105974	
O53287	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3040c PE=1 SV=1	288	31485	Rv3040c	Rv3040c	0.00105915	
O86317	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2680 PE=1 SV=1	210	22573	Rv2680	Rv2680	0.00105827	
P9WQ79	4-aminobutyrate aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabT PE=1 SV=1	449	46813	gabT	Rv2589	0.00105799	
O07236	Possible conserved exported protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0309	218	22529	Rv0309	Rv0309	0.00105787	
P9WIV5	NADH-quinone oxidoreductase subunit E OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoE PE=1 SV=1	252	27198	nuoE	Rv3149	0.00105593	
P95228	Acyl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadE6	731	78477	fadE6	Rv0271c	0.00104620	
O06159	Dihydrolipoyllysine-residue acyltransferase component of branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex M. tuberculosis H37Rv GN=bkdC PE=1 SV=2	393	41061	bkdC	Rv2495c	0.00104320	
P9WHD7	50S ribosomal protein L15 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplO PE=1 SV=1	146	15533	rplO	Rv0723	0.00104289	
O53409	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1061 PE=1 SV=1	287	32038	Rv1061	Rv1061	0.00104050	
P9WJ01	Hydrolase Rv0480c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0480c	280	28995	Rv0480c	Rv0480c	0.00104010	
P0CL62	Probable endoribonuclease MazF7 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mazF7 PE=1 SV=1	136	14235	mazF7	Rv2063A	0.00103628	
P9WPR9	Uncharacterized protein Rv1488 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1488	381	41282	Rv1488	Rv1488	0.00103600	
O06310	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0360c PE=1 SV=1	145	15329	Rv0360c	Rv0360c	0.00102974	
P9WPT5	Probable manganese/zinc-exporting P-type ATPase M. tuberculosis H37Rv GN=ctpC	718	76495	ctpC	Rv3270	0.00102948	
I6YEB6	3-ketoacyl-ACP reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2766c PE=1 SV=1	260	27140	Rv2766c	Rv2766c	0.00102722	
I6X5G8	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2828c PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P71627; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P71627	181	19583	Rv2828c	Rv2828c	0.00102638	Rv2825c (Rv2825c)
P9WGH9	ECF RNA polymerase sigma factor SigH M. tuberculosis H37Rv GN=sigH	216	24225	sigH	Rv3223c	0.00102432	
P9WIV9	NADH-quinone oxidoreductase subunit G M. tuberculosis H37Rv GN=nuoG	806	85424	nuoG	Rv3151	0.00102283	
O06298	Membrane protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0347	328	36597	Rv0347	Rv0347	0.00102160	
P9WQF7	Probable acyl-CoA dehydrogenase FadE10 M. tuberculosis H37Rv GN=fadE10	650	70745	fadE10	Rv0873	0.00102117	
P9WGL9	Sensory transduction protein regX3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=regX3 PE=1 SV=1	227	24849	regX3	Rv0491	0.00101159	
O53780	Probable conserved lipoprotein LpqN M. tuberculosis H37Rv GN=lpqN	228	23682	lpqN	Rv0583c	0.00101147	
Q79FX6	Cyclopropane mycolic acid synthase MmaA2 M. tuberculosis H37Rv GN=mmaA2	287	32724	mmaA2	Rv0644c	0.00101131	
O06241	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2134c PE=1 SV=1	195	21217	Rv2134c	Rv2134c	0.00101078	
O33283	Epoxide hydrolase EphG OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephG PE=1 SV=1	149	16593	ephG	Rv2740	0.00100869	
I6Y276	Possible 2-hydroxyhepta-2,4-diene-1,7-dioate isomerase (HHDD isomerase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2993c PE=1 SV=2	239	25341	Rv2993c	Rv2993c	0.00100820	
O06194	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2619c PE=1 SV=1	117	12322	Rv2619c	Rv2619c	0.00100655	
P9WJR1	Molybdopterin synthase catalytic subunit 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaE2 PE=1 SV=1	141	15048	moaE2	Rv0866	0.00100650	
Q79FE1	PPE family protein PPE41 M. tuberculosis H37Rv GN=PPE41	194	21943	PPE41	Rv2430c	0.00100586	
O53404	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1056 PE=1 SV=1	254	28946	Rv1056	Rv1056	0.00098939	
P9WPY5	3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroA PE=1 SV=1	450	46426	aroA	Rv3227	0.00098885	
P96257	ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=glnH	328	35406	glnH	Rv0411c	0.00098707	
O53531	Beta-lactamase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2257c PE=1 SV=1	272	28385	Rv2257c	Rv2257c	0.00098552	
P96274	GCN5 family acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0428c PE=1 SV=3	302	32650	Rv0428c	Rv0428c	0.00098062	
P9WKS3	Uncharacterized protein Rv0738 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0738 PE=1 SV=1	182	19148	Rv0738	Rv0738	0.00098011	
P9WMM5	Phosphoribosyl isomerase A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=priA PE=1 SV=1	244	25632	priA	Rv1603	0.00097948	
P9WHS1	CysO-cysteine peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mec PE=1 SV=1	146	16530	mec	Rv1334	0.00097877	
P9WN13	Uncharacterized glycosyl hydrolase Rv3401 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3401	786	87316	Rv3401	Rv3401	0.00097739	
I6X8R5	Heme-binding protein Rv0203 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0203	136	13901	Rv0203	Rv0203	0.00097467	
P9WFT3	Tryptophan--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpS PE=1 SV=1	336	36272	trpS	Rv3336c	0.00096942	
P9WL19	Uncharacterized protein Rv2923c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2923c PE=1 SV=1	137	14854	Rv2923c	Rv2923c	0.00096756	
O06624	Possible Inv protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1566c PE=1 SV=3	230	23965	Rv1566c	Rv1566c	0.00096625	
O69721	Prephenate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tyrA PE=1 SV=4	323	33099	tyrA	Rv3754	0.00096569	
P9WHN3	Adenylosuccinate synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purA PE=1 SV=1	432	46823	purA	Rv0357c	0.00096159	
P9WH11	dTDP-4-dehydrorhamnose 3,5-epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rmlC PE=1 SV=1	202	22314	rmlC	Rv3465	0.00096115	
P9WIV1	N utilization substance protein B homolog OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nusB PE=1 SV=1	156	16740	nusB	Rv2533c	0.00095713	
P9WMR7	dITP/XTP pyrophosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1341 PE=1 SV=1	204	21016	Rv1341	Rv1341	0.00095655	
P9WGQ5	Uncharacterized oxidoreductase Rv0927c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0927c PE=1 SV=1	263	26746	Rv0927c	Rv0927c	0.00095179	
P9WKE3	Ribose-phosphate pyrophosphokinase M. tuberculosis H37Rv GN=prs	326	35477	prs	Rv1017c	0.00094474	
P9WN17	Putative glutaredoxin Rv3198.1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3198.1 PE=1 SV=1	84	8963	Rv3198.1	Rv3198A	0.00094448	
P9WKW7	Uncharacterized protein Rv3788 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3788 PE=1 SV=1	161	17406	Rv3788	Rv3788	0.00093962	
P96381	Probable transcriptional regulatory protein (Probably TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1019 PE=1 SV=3	197	21702	Rv1019	Rv1019	0.00093803	
O07196	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2694c PE=1 SV=3	122	13570	Rv2694c	Rv2694c	0.00093305	
I6YFP0	Biotin--acetyl-CoA-carboxylase ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=birA PE=1 SV=1	266	28121	birA	Rv3279c	0.00092997	
P9WK35	Riboflavin synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribE PE=1 SV=1	201	21320	ribE	Rv1412	0.00092914	
P9WN45	1,4-alpha-glucan branching enzyme GlgB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgB PE=1 SV=1	731	81729	glgB	Rv1326c	0.00092621	
P9WH63	30S ribosomal protein S12 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsL PE=1 SV=1	124	13849	rpsL	Rv0682	0.00092593	
P9WNM9	Elongation factor G-like protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0120c	714	75631	Rv0120c	Rv0120c	0.00092413	
P9WFH7	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv1896c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1896c PE=1 SV=1	303	33267	Rv1896c	Rv1896c	0.00092376	
P9WP17	dCTP deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dcd PE=1 SV=1	190	20870	dcd	Rv0321	0.00092331	
I6YHB0	Nucleoid-structuring protein H-NS OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hns PE=1 SV=2	134	13823	hns	Rv3852	0.00091936	
P9WQN5	Proteasome-associated ATPase M. tuberculosis H37Rv GN=mpa	609	67401	mpa	Rv2115c	0.00091838	
I6YGX9	Probable methanol dehydrogenase transcriptional regulatory protein MoxR2 M. tuberculosis H37Rv GN=moxR2	358	37936	moxR2	Rv3692	0.00091809	
I6YA29	Conserved alanine and leucine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2714 PE=1 SV=1	324	35520	Rv2714	Rv2714	0.00091561	
P9WL83	Uncharacterized protein Rv2576c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2576c	154	15793	Rv2576c	Rv2576c	0.00091515	
I6Y4D2	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase Rv3717 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3717 PE=1 SV=1	241	24836	Rv3717	Rv3717	0.00091398	
P9WNV1	DNA ligase A M. tuberculosis H37Rv GN=ligA	691	75289	ligA	Rv3014c	0.00091066	
P9WJI5	Arylamine N-acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nat PE=1 SV=1	283	31029	nat	Rv3566c	0.00091066	
P9WKV9	Uncharacterized protein Rv0477 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0477	148	15659	Rv0477	Rv0477	0.00090894	
P9WPY7	Argininosuccinate lyase M. tuberculosis H37Rv GN=argH	470	49774	argH	Rv1659	0.00090376	
O53506	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2172c PE=1 SV=3	301	33039	Rv2172c	Rv2172c	0.00090207	
P9WIJ3	Peptide deformylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=def PE=1 SV=1	197	20939	def	Rv0429c	0.00090049	
P9WJN3	1D-myo-inositol 2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranoside deacetylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mshB PE=1 SV=1	303	31742	mshB	Rv1170	0.00089936	
P9WQE9	Phthioceranic/hydroxyphthioceranic acid synthase M. tuberculosis H37Rv GN=pks2	2126	225776	pks2	Rv3825c	0.00089538	
O53630	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0108c	69	7591	Rv0108c	Rv0108c	0.00089271	
P9WFW1	Cysteine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysS PE=1 SV=1	469	51855	cysS	Rv3580c	0.00088992	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P71905	Possible ribonuclease E Rne M. tuberculosis H37Rv GN=rne PE=1 SV=2	953	103390	rne	Rv2444c	0.00088937	
P9WJK1	Quinolinate synthase A M. tuberculosis H37Rv GN=nadA	349	37408	nadA	Rv1594	0.00088811	
P9WJN1	Mycothiol S-conjugate amidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mca PE=1 SV=1	288	32732	mca	Rv1082	0.00088802	
P9WN61	Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gatB PE=1 SV=1	509	54633	gatB	Rv3009c	0.00088583	
P9WGY5	DNA-directed RNA polymerase subunit omega M. tuberculosis H37Rv GN=rpoZ	110	11842	rpoZ	Rv1390	0.00088251	
P9WM59	Uncharacterized protein Rv1109c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1109c	212	22957	Rv1109c	Rv1109c	0.00088093	
O53561	Possible enoyl-CoA hydratase EchA19 (Enoyl hydrase) (Unsaturated acyl-CoA hydratase) (Crotonase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA19 PE=1 SV=1	263	28249	echA19	Rv3516	0.00087686	
P9WKD3	Beta-lactamase M. tuberculosis H37Rv GN=blaC	307	32568	blaC	Rv2068c	0.00087316	
O53641	Probable transcriptional regulatory protein (Possibly TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0158 PE=1 SV=1	214	24128	Rv0158	Rv0158	0.00087270	
P9WKI5	Uncharacterized oxidoreductase Rv3410c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=guaB3 PE=1 SV=1	375	38991	guaB3	Rv3410c	0.00086860	
P9WJN9	Transcriptional regulator MraZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mraZ PE=1 SV=1	143	15912	mraZ	Rv2166c	0.00086837	
P9WGA1	Sec-independent protein translocase protein TatA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tatA PE=1 SV=1	83	8941	tatA	Rv2094c	0.00086677	
P95034	Putative ferredoxin reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0688 PE=1 SV=1	406	43018	Rv0688	Rv0688	0.00086176	
P9WFJ9	UPF0336 protein Rv0637 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0637 PE=1 SV=1	166	18930	Rv0637	Rv0637	0.00086085	
P9WN51	Aminomethyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=gcvT	367	38318	gcvT	Rv2211c	0.00085934	
Q11061	FAD-linked oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1257c PE=1 SV=1	455	47270	Rv1257c	Rv1257c	0.00085886	
P9WP35	Cytochrome bc1 complex cytochrome c subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=qcrC PE=1 SV=1	280	29138	qcrC	Rv2194	0.00085706	
I6Y1Q2	DtxR family transcriptional regulator OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sirR PE=1 SV=1	228	24951	sirR	Rv2788	0.00085586	
I6XWF9	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0863 PE=1 SV=1	93	10111	Rv0863	Rv0863	0.00085308	
P9WPK1	Glycerol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glpK PE=1 SV=1	517	55860	glpK	Rv3696c	0.00085211	
I6XHH5	2-keto-4-pentenoate hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hsaE PE=1 SV=1	261	27892	hsaE	Rv3536c	0.00085148	
P9WN23	Group 2 truncated hemoglobin GlbO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glbO PE=1 SV=1	128	14950	glbO	Rv2470	0.00084691	
O53158	Butyryl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadE15	609	65924	fadE15	Rv1467c	0.00084636	
P9WJG9	NADH-quinone oxidoreductase subunit I M. tuberculosis H37Rv GN=nuoI	211	23466	nuoI	Rv3153	0.00084540	
P9WHT1	Probable M18 family aminopeptidase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=apeB PE=1 SV=1	433	46013	apeB	Rv0800	0.00084445	
P9WLX9	Uncharacterized protein Rv1419 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1419	157	16853	Rv1419	Rv1419	0.00084430	
O33273	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0333 PE=1 SV=1	124	13074	Rv0333	Rv0333	0.00084251	
Q50631	Oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD9 PE=1 SV=1	1168	127328	fadD9	Rv2590	0.00084167	
P9WK29	Uncharacterized protein Rv1899c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1899c	359	36936	Rv1899c	Rv1899c	0.00084004	
P9WPB7	Cyclopropane mycolic acid synthase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cmaA1 PE=1 SV=1	287	32461	cmaA1	Rv3392c	0.00083958	
P9WQF9	Acyl-[acyl-carrier-protein] dehydrogenase MbtN OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtN PE=1 SV=1	386	41180	mbtN	Rv1346	0.00083875	
P9WML5	Putative phenylalanine aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pat PE=1 SV=1	353	38040	pat	Rv3772	0.00083760	
Q6MX39	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase UmaA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=umaA PE=1 SV=1	286	33096	umaA	Rv0469	0.00083564	
P9WPH1	Riboflavin biosynthesis protein RibD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribD PE=1 SV=1	339	35367	ribD	Rv1409	0.00083437	
O33186	Protein YcaR in KDO2-Lipid A biosynthesis cluster OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1684 PE=1 SV=1	74	8290	Rv1684	Rv1684	0.00083239	
P9WQE1	Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsE M. tuberculosis H37Rv GN=ppsE	1488	158745	ppsE	Rv2935	0.00083122	
P9WM49	Uncharacterized protein Rv1265 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1265	226	25230	Rv1265	Rv1265	0.00083071	
P9WPB1	Mycolic acid methyltransferase MmaA1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmaA1 PE=1 SV=1	286	33149	mmaA1	Rv0645c	0.00082876	
O06291	Probable serine protease HtrA (DEGP protein) M. tuberculosis H37Rv GN=htrA PE=1 SV=3	528	54190	htrA	Rv1223	0.00082594	
P9WNY7	Deoxyguanosinetriphosphate triphosphohydrolase-like protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dgt PE=1 SV=1	431	46912	dgt	Rv2344c	0.00082547	
I6Y8U3	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0807 PE=1 SV=1	129	13480	Rv0807	Rv0807	0.00082510	
O07427	Monoacylglycerol lipase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0183 PE=1 SV=2	279	30262	Rv0183	Rv0183	0.00082305	
I6X4D6	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2474c PE=1 SV=1	217	23302	Rv2474c	Rv2474c	0.00082203	
P9WIV7	NADH-quinone oxidoreductase subunit F OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoF PE=1 SV=1	445	48102	nuoF	Rv3150	0.00081947	
P9WJ33	Antitoxin VapB32 M. tuberculosis H37Rv GN=vapB32	65	6973	vapB32	Rv1113	0.00081875	
P9WKP5	Uncharacterized protein Rv0898c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0898c PE=1 SV=1	87	9920	Rv0898c	Rv0898c	0.00081562	
P9WHF5	Putative thiosulfate sulfurtransferase SseB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sseB PE=1 SV=1	284	29400	sseB	Rv2291	0.00081549	
P9WJ69	Anti-sigma factor RshA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rshA PE=1 SV=1	101	11290	rshA	Rv3221A	0.00081472	
P9WH71	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit beta nrdF2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrdF2 PE=1 SV=1	324	36992	nrdF2	Rv3048c	0.00081217	
P9WJM9	L-cysteine:1D-myo-inositol 2-amino-2-deoxy-alpha-D-glucopyranoside ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mshC PE=1 SV=1	414	45595	mshC	Rv2130c	0.00080939	
P9WQ69	Probable cysteine desulfurase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=csd PE=1 SV=1	417	44596	csd	Rv1464	0.00080828	
I6XEI0	Possible conserved membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2520c PE=1 SV=1	75	8374	Rv2520c	Rv2520c	0.00080818	
O53509	DNA-binding protein Rv2175c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2175c PE=1 SV=3	146	15743	Rv2175c	Rv2175c	0.00080662	
I6X7P2	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3572 PE=1 SV=1	176	18742	Rv3572	Rv3572	0.00080635	
P9WQF5	3-isopropylmalate dehydratase large subunit M. tuberculosis H37Rv GN=leuC	473	50185	leuC	Rv2988c	0.00080115	
P9WKJ5	Dihydroxy-acid dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvD PE=1 SV=1	575	59352	ilvD	Rv0189c	0.00079701	
O53577	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE35 PE=1 SV=1	593	65322	fadE35	Rv3797	0.00079358	
L7N672	HDIG domain-containing protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pcnA PE=1 SV=1	480	53087	pcnA	Rv3907c	0.00079356	
P9WFK7	N-acetyltransferase Eis M. tuberculosis H37Rv GN=eis PE=1 SV=2	402	43804	eis	Rv2416c	0.00079187	
P9WQA7	Uncharacterized oxidoreductase Rv2298 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2298	323	34986	Rv2298	Rv2298	0.00079179	
I6Y4A5	Beta-lactamase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0634c PE=1 SV=1	237	25928	Rv0634c	Rv0634c	0.00078801	
O07178	Peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0457c PE=1 SV=2	673	74464	Rv0457c	Rv0457c	0.00078785	
P9WJJ3	Glutamine-dependent NAD(+) synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=nadE	679	74683	nadE	Rv2438c	0.00078668	
O53444	Carbohydrate degradation protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1096	291	31109	Rv1096	Rv1096	0.00078573	
P9WFP9	UPF0047 protein Rv2556c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2556c PE=1 SV=2	133	14355	Rv2556c	Rv2556c	0.00078550	
P9WJM5	Peptide methionine sulfoxide reductase MsrA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=msrA PE=1 SV=1	182	20485	msrA	Rv0137c	0.00078517	
P95208	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE7 PE=1 SV=3	395	42297	fadE7	Rv0400c	0.00078469	
P95257	SecB-like chaperone Rv1957 M. tuberculosis H37Rv GN=secBL	181	20106	secBL	Rv1957	0.00078407	
O33332	Lipid-transfer protein M. tuberculosis H37Rv GN=ltp1	401	42904	ltp1	Rv2790c	0.00078403	
P9WPZ7	Acetylornithine aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argD PE=1 SV=1	400	40910	argD	Rv1655	0.00078107	
I6X8S7	Aldehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0223c PE=1 SV=1	487	51157	Rv0223c	Rv0223c	0.00078014	
I6Y1W3	Probable short-chain type dehydrogenase/reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2857c PE=1 SV=1	258	26804	Rv2857c	Rv2857c	0.00077738	
P9WII5	Endoribonuclease MazF4 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mazF4 PE=1 SV=1	105	11410	mazF4	Rv1495	0.00077432	
I6Y1G8	Methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2675c PE=1 SV=1	250	27545	Rv2675c	Rv2675c	0.00077268	
P9WFM7	UPF0109 protein Rv2908c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2908c PE=1 SV=1	80	8521	Rv2908c	Rv2908c	0.00076996	
L0T5V6	Ribonuclease VapC51 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC51 PE=1 SV=2	137	15025	vapC51	Rv0229c	0.00076974	
P9WLP9	Uncharacterized protein Rv1989c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1989c PE=1 SV=1	186	20281	Rv1989c	Rv1989c	0.00076828	
P95137	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2955c PE=1 SV=4	321	35950	Rv2955c	Rv2955c	0.00076756	
I6XEK2	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2548A PE=1 SV=1	124	13975	Rv2548A	Rv2548A	0.00076701	
P9WME3	Putative HTH-type transcriptional regulator Rv1287 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1287 PE=1 SV=1	161	17209	Rv1287	Rv1287	0.00076518	
P9WL01	Uncharacterized protein Rv3292 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3292 PE=1 SV=1	415	45332	Rv3292	Rv3292	0.00076469	
P9WKG1	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispH1 PE=1 SV=1	335	36297	ispH2	Rv1110	0.00076343	
P9WP01	Purine nucleoside phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=punA PE=1 SV=1	268	27572	punA	Rv3307	0.00076305	
P9WQ67	Uncharacterized protein Rv3778c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3778c	398	41852	Rv3778c	Rv3778c	0.00076019	
O06240	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2135c PE=1 SV=1	236	25122	Rv2135c	Rv2135c	0.00076001	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P9WPA9	Cytidylate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cmk PE=1 SV=1	230	24177	cmk	Rv1712	0.00075846	
O53291	Fe3+-citrate ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=fecB	359	36910	fecB	Rv3044	0.00075633	
O53443	ATP-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=phoH2 PE=1 SV=1	433	46914	phoH2	Rv1095	0.00075452	
P95189	Histidinol-phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hisN PE=1 SV=2	260	27693	hisN	Rv3137	0.00075431	
P9WQ37	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase FadD13 M. tuberculosis H37Rv GN=fadD13	503	54459	fadD13	Rv3089	0.00075337	
P9WQE3	Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ppsD PE=1 SV=1	1827	193315	ppsD	Rv2934	0.00075305	
P9WK21	Methionine aminopeptidase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=map-1 PE=1 SV=1	266	27277	map-1	Rv0734	0.00074838	
I6XHI4	Steroid 3-ketoacyl-CoA thiolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadA5 PE=1 SV=1	391	41329	fadA5	Rv3546	0.00074483	
O06569	Antibiotic biosynthesis monooxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1117 PE=1 SV=1	107	12050	Rv1117	Rv1117	0.00074146	
O06428	Geranylgeranyl pyrophosphate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=grcC1	335	35560	grcC1	Rv0562	0.00074136	
P9WMK5	4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3534c	346	36442	Rv3534c	Rv3534c	0.00073916	
P9WP41	Probable cutinase cut2 M. tuberculosis H37Rv GN=cut2	230	23926	cut2	Rv2301	0.00073914	
P9WLG9	Uncharacterized protein Rv2239c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2239c PE=1 SV=1	158	16963	Rv2239c	Rv2239c	0.00073913	
P9WKE9	Guanylate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gmk PE=1 SV=1	208	22095	gmk	Rv1389	0.00073676	
P9WFU1	Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit M. tuberculosis H37Rv GN=pheT	831	88374	pheT	Rv1650	0.00073589	
P9WI79	Serine/threonine-protein kinase PknD M. tuberculosis H37Rv GN=pknD	664	69545	pknD	Rv0931c	0.00073396	
P95185	NADPH:quinone oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadB4 PE=1 SV=1	323	33853	fadB4	Rv3141	0.00073383	
L0TBR2	Possible flavoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2251 PE=1 SV=1	475	49782	Rv2251	Rv2251	0.00073136	
P9WMP5	Delta-aminolevulinic acid dehydratase M. tuberculosis H37Rv GN=hemB	329	34871	hemB	Rv0512	0.00072941	
P95270	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1944c PE=1 SV=1	196	20795	Rv1944c	Rv1944c	0.00072908	
P9WJF3	Cell wall synthesis protein CwsA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cwsA PE=1 SV=1	145	15671	cwsA	Rv0008c	0.00072727	
P9WHD1	50S ribosomal protein L18 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplR PE=1 SV=1	122	13184	rplR	Rv0720	0.00072703	
P9WF67	Ribonuclease VapC35 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC35 PE=1 SV=1	135	14521	vapC35	Rv1962c	0.00072637	
P9WM45	Protein Rv1269c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1269c	124	12550	Rv1269c	Rv1269c	0.00072324	
P9WML9	Imidazoleglycerol-phosphate dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hisB PE=1 SV=1	210	22770	hisB	Rv1601	0.00072037	
P9WIC7	Glucosyl-3-phosphoglycerate phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpgP PE=1 SV=1	223	24174	gpgP	Rv2419c	0.00072036	
P9WPA5	Phosphopantetheine adenylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaD PE=1 SV=1	161	17628	coaD	Rv2965c	0.00071925	
P9WJZ5	Uncharacterized protein Rv2003c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2003c PE=1 SV=1	285	31049	Rv2003c	Rv2003c	0.00071754	
P9WJZ7	Putative O-methyltransferase Rv1220c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1220c PE=1 SV=2	224	23033	Rv1220c	Rv1220c	0.00071714	
O50460	Acetoin dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1245c	276	29215	Rv1245c	Rv1245c	0.00071414	
P9WP15	Deazaflavin-dependent nitroreductase M. tuberculosis H37Rv GN=ddn	151	17371	ddn	Rv3547	0.00071140	
O53777	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0580c PE=1 SV=3	163	18035	Rv0580c	Rv0580c	0.00071043	
P9WHM9	Phosphoribosylamine--glycine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purD PE=1 SV=1	422	43509	purD	Rv0772	0.00070764	
P9WFX1	Salicylate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtI PE=1 SV=1	450	48754	mbtI	Rv2386c	0.00070740	
P9WLF7	Uncharacterized protein Rv2271 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2271 PE=1 SV=1	99	11535	Rv2271	Rv2271	0.00070682	
I6Y340	Acyl dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0216 PE=1 SV=1	337	35789	Rv0216	Rv0216	0.00070334	
P9WLR5	Uncharacterized protein Rv1829 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1829	164	18115	Rv1829	Rv1829	0.00070010	
P9WPZ9	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argC PE=1 SV=1	352	36304	argC	Rv1652	0.00069997	
P9WQ45	Putative fatty-acid--CoA ligase fadD25 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD25 PE=1 SV=1	583	63142	fadD25	Rv1521	0.00069816	
I6YF16	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3046c PE=1 SV=1	124	13383	Rv3046c	Rv3046c	0.00069151	
P9WJK7	Probable methylmalonyl-CoA mutase small subunit M. tuberculosis H37Rv GN=mutA	615	64744	mutA	Rv1492	0.00069068	
P9WIB7	Phthiodiolone/phenolphthiodiolone dimycocerosates ketoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2951c PE=1 SV=1	381	41348	Rv2951c	Rv2951c	0.00069067	
P96821	Probable transcriptional regulatory protein (Possibly TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0144 PE=1 SV=2	280	30643	Rv0144	Rv0144	0.00068989	
P0DN33	Uncharacterized protein Rv0609B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0609B PE=1 SV=1	65	7110	Rv0609B	Rv0609B	0.00068986	
P9WJR7	Cyclic pyranopterin monophosphate synthase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaC2 PE=1 SV=1	167	17598	moaC2	Rv0864	0.00068752	
O06543	Carnitine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mcr PE=1 SV=3	360	38685	mcr	Rv1143	0.00068714	
O07238	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0311 PE=1 SV=1	409	44611	Rv0311	Rv0311	0.00068676	
I6YDK7	Methylcrotonoyl-CoA carboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accD1 PE=1 SV=1	529	56778	accD1	Rv2502c	0.00068466	
P95186	Acyl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadE23	401	43344	fadE23	Rv3140	0.00068202	
I6XEI5	Putative peptidoglycan hydrolase Rv2525c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2525c	240	25370	Rv2525c	Rv2525c	0.00068163	
P95187	Butyryl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadE24	468	49646	fadE24	Rv3139	0.00068019	
P9WHN9	Phosphotriesterase homology protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=php PE=1 SV=1	326	35886	php	Rv0230c	0.00067869	
P9WPG9	Probable CDP-diacylglycerol pyrophosphatase M. tuberculosis H37Rv GN=cdh	260	28608	cdh	Rv2289	0.00067851	
O06348	Probable short-chain type dehydrogenase/reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3485c PE=1 SV=1	314	33194	Rv3485c	Rv3485c	0.00067795	
I6Y0X6	ATPase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2510c PE=1 SV=1	533	56547	Rv2510c	Rv2510c	0.00067584	
P9WML3	Uncharacterized HIT-like protein Rv0759c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0759c PE=1 SV=1	133	14667	Rv0759c	Rv0759c	0.00067430	
P9WJR3	Molybdopterin synthase catalytic subunit 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaE1 PE=1 SV=1	147	15920	moaE1	Rv3119	0.00066707	
P71744	Probable sulfate-binding lipoprotein SubI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=subI PE=1 SV=1	356	37418	subI	Rv2400c	0.00066580	
P9WQ01	Acetylglutamate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=argB	294	30937	argB	Rv1654	0.00066373	
P71965	Possible exported alanine and valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2668 PE=1 SV=1	173	18346	Rv2668	Rv2668	0.00066368	
L7N6B0	Beta-glucosidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqI PE=1 SV=1	388	39519	lpqI	Rv0237	0.00066168	
P9WPX1	Homoserine dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=hom	441	45553	hom	Rv1294	0.00065592	
P9WG49	DNA topoisomerase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=topA	934	102336	topA	Rv3646c	0.00065579	
P9WIS1	3-methyl-2-oxobutanoate dehydrogenase subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=bkdB	348	38064	bkdB	Rv2496c	0.00065421	
P9WGC9	Putative threonylcarbamoyl-AMP synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1301 PE=1 SV=1	217	22571	Rv1301	Rv1301	0.00065400	
P9WII9	Pyridoxal 5'-phosphate synthase subunit PdxS OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pdxS PE=1 SV=1	299	31365	pdxS	Rv2606c	0.00065263	
P9WQ47	Probable long-chain-fatty-acid--CoA ligase FadD23 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD23 PE=1 SV=1	584	62841	fadD23	Rv3826	0.00065224	
P71741	Trehalase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2402 PE=1 SV=2	680	76518	Rv2402	Rv2402	0.00065219	
O07434	Copper-sensing transcriptional repressor RicR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ricR PE=1 SV=1	96	10365	ricR	Rv0190	0.00065188	
P95272	Probable endoribonuclease MazF5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mazF5 PE=1 SV=4	109	11820	mazF5	Rv1942c	0.00065100	
P9WNW9	Histidinol dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=hisD PE=1 SV=2	447	46302	hisD	Rv1599	0.00064932	
P9WGC1	Uncharacterized protein Rv1339 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1339 PE=1 SV=1	273	29154	Rv1339	Rv1339	0.00064620	
P9WH49	30S ribosomal protein S18 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsR1 PE=1 SV=1	84	9543	rpsR1	Rv0055	0.00064527	
P72040	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3773c PE=1 SV=1	194	20725	Rv3773c	Rv3773c	0.00064516	
O07752	Glutamine synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnA3 PE=1 SV=1	450	46720	glnA3	Rv1878	0.00064280	
I6XG43	5,10-methylene tetrahydromethanopterin reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3079c PE=1 SV=1	275	30064	Rv3079c	Rv3079c	0.00064150	
P9WIE3	Putative peroxiredoxin Rv2238c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2238c PE=1 SV=1	153	16819	ahpE	Rv2238c	0.00064091	
P9WIV3	Transcription termination/antitermination protein NusA M. tuberculosis H37Rv GN=nusA	347	37642	nusA	Rv2841c	0.00064045	
P9WH37	30S ribosomal protein S3 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsC	274	30020	rpsC	Rv0707	0.00064025	
P9WLL7	Uncharacterized protein Rv2074 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2074	137	15024	Rv2074	Rv2074	0.00064025	
P9WPX5	Probable L-asparaginase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ansA PE=1 SV=1	315	31741	ansA	Rv1538c	0.00063983	
P9WPV5	ATP synthase subunit b M. tuberculosis H37Rv GN=atpF	171	18325	atpF	Rv1306	0.00063970	
O53680	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0274 PE=1 SV=3	193	21082	Rv0274	Rv0274	0.00063831	
P9WHC9	50S ribosomal protein L19 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplS PE=1 SV=1	113	13013	rplS	Rv2904c	0.00063666	
O69720	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3753c PE=1 SV=1	166	17917	Rv3753c	Rv3753c	0.00063527	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WH73	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit beta nrdF1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrdF1 PE=1 SV=1	322	36590	nrdF1	Rv1981c	0.00063509	
I6Y4U9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0799c PE=1 SV=1	335	36048	Rv0799c	Rv0799c	0.00063251	
P63907	Adenosine deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=add PE=1 SV=1	365	39743	add	Rv3313c	0.00063182	
P9WPZ1	Probable GTPase Rv1496 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1496 PE=1 SV=1	334	36256	Rv1496	Rv1496	0.00063146	
P9WIU5	Peptidoglycan-binding protein ArfA M. tuberculosis H37Rv GN=arfA	326	33574	arfA	Rv0899	0.00063031	
O53608	Oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0063	479	49301	Rv0063	Rv0063	0.00062959	
P9WIS3	3-methyl-2-oxobutanoate dehydrogenase subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bkdA PE=1 SV=1	367	40616	bkdA	Rv2497c	0.00062838	
I6X654	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE22 PE=1 SV=1	721	76741	fadE22	Rv3061c	0.00062673	
P9WF09	Toxin RelK OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=relK PE=1 SV=1	85	10102	relK	Rv3358	0.00062610	
P9WIU1	Oligoribonuclease OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=orn PE=1 SV=1	215	23442	orn	Rv2511	0.00062569	
I6Y8F2	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA4 PE=1 SV=1	312	33541	echA4	Rv0673	0.00062544	
P71839	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0786c PE=1 SV=2	129	13949	Rv0786c	Rv0786c	0.00062264	
P9WQ75	Branched-chain-amino-acid aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvE PE=1 SV=1	368	39666	ilvE	Rv2210c	0.00062133	
P9WNN5	Probable enoyl-CoA hydratase echA14 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA14 PE=1 SV=1	256	26280	echA14	Rv2486	0.00061982	
P9WN57	GTP cyclohydrolase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folE PE=1 SV=1	202	22395	folE	Rv3609c	0.00061961	
O06803	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1770 PE=1 SV=1	428	45973	Rv1770	Rv1770	0.00061942	
P9WFE7	Urease subunit gamma OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ureA PE=1 SV=1	100	11090	ureA	Rv1848	0.00061597	
P96873	Acetyl-CoA synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3268 PE=1 SV=1	229	23723	Rv3268	Rv3268	0.00061543	
P9WFQ7	UPF0001 protein Rv2148c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2148c PE=1 SV=1	258	27693	Rv2148c	Rv2148c	0.00061501	
P9WPA1	Type III pantothenate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaX PE=1 SV=1	272	29305	coaX	Rv3600c	0.00061416	
P9WHR3	Carboxylesterase A M. tuberculosis H37Rv GN=caeA	520	55924	caeA	Rv2224c	0.00061406	
O06578	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1126c PE=1 SV=1	201	22197	Rv1126c	Rv1126c	0.00061291	
O50443	1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rocA PE=1 SV=1	543	58841	rocA	Rv1187	0.00060892	
O86353	Carboxymethylenebutenolidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2054 PE=1 SV=1	237	25183	Rv2054	Rv2054	0.00060711	
P71672	Probable transcriptional regulatory protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1404 PE=1 SV=1	160	17521	Rv1404	Rv1404	0.00060673	
P95151	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1864c PE=1 SV=2	251	27240	Rv1864c	Rv1864c	0.00060662	
I6YEU0	Pyruvate carboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pca PE=1 SV=1	1127	120424	pca	Rv2967c	0.00060645	
O53432	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1084 PE=1 SV=1	673	71050	Rv1084	Rv1084	0.00060626	
P9WK37	Lipoprotein LpqB M. tuberculosis H37Rv GN=lpqB	587	61681	lpqB	Rv3244c	0.00060609	
O53669	Fumarate reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0247c	248	28626	Rv0247c	Rv0247c	0.00060603	
I6XFB7	Probable membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2799 PE=1 SV=1	209	22888	Rv2799	Rv2799	0.00060356	
P9WK27	Maf-like protein Rv3282 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3282	222	23010	Rv3282	Rv3282	0.00060153	
L7N692	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1489 PE=1 SV=1	118	12306	Rv1489	Rv1489	0.00060134	
I6Y8F7	HTH-type transcriptional regulator MmpR5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmpR5 PE=1 SV=1	165	18379	mmpR5	Rv0678	0.00060026	
O53740	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0455c PE=1 SV=3	148	16640	Rv0455c	Rv0455c	0.00059931	
P96818	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0141c PE=1 SV=1	136	15490	Rv0141c	Rv0141c	0.00059782	
O53512	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase AroG M. tuberculosis H37Rv GN=aroG	462	50641	aroG	Rv2178c	0.00059623	
P9WMI5	HTH-type transcriptional repressor SmtB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=smtB PE=1 SV=1	135	14421	smtB	Rv2358	0.00059496	
P9WH51	30S ribosomal protein S17 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsQ PE=1 SV=1	135	14741	rpsQ	Rv0710	0.00059496	
P9WGQ1	Putative oxidoreductase Rv1856c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1856c PE=1 SV=2	223	23058	Rv1856c	Rv1856c	0.00059442	
P9WGZ9	Ribonuclease J OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rnj PE=1 SV=1	558	59533	rnj	Rv2752c	0.00059255	
P9WP85	Nicotinate-nucleotide--dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobT PE=1 SV=1	361	36411	cobT	Rv2207	0.00059241	
I6Y897	Tetratricopeptide repeat family protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0613c PE=1 SV=1	855	92753	Rv0613c	Rv0613c	0.00059190	
P9WP03	Deoxyribose-phosphate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=deoC PE=1 SV=1	224	22068	deoC	Rv0478	0.00059177	
P9WL47	Uncharacterized protein Rv2658c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2658c PE=1 SV=1	120	13314	Rv2658c	Rv2658c	0.00059132	
O69719	tRNA-specific adenosine deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tadA PE=1 SV=1	152	15877	tadA	Rv3752c	0.00059001	
O06307	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0356c PE=1 SV=1	214	22911	Rv0356c	Rv0356c	0.00058946	
P9WLP1	Universal stress protein Rv1996 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1996	317	33880	Rv1996	Rv1996	0.00058914	
I6X9S5	Probable bifunctional acylase GgtA: cephalosporin acylase (GL-7ACA acylase) + gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ggtA PE=1 SV=1	512	54593	ggtA	Rv0773c	0.00058901	
P96221	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3856c PE=1 SV=1	335	36701	Rv3856c	Rv3856c	0.00058837	
P9WH25	30S ribosomal protein S9 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsI PE=1 SV=1	151	16436	rpsI	Rv3442c	0.00058741	
P9WN53	Probable glycine dehydrogenase (decarboxylating) M. tuberculosis H37Rv GN=gcvP	941	99511	gcvP	Rv1832	0.00058600	
P9WG47	DNA gyrase subunit A M. tuberculosis H37Rv GN=gyrA	838	92274	gyrA	Rv0006	0.00058273	
O53370	Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sdhA PE=1 SV=1	590	64826	sdhA	Rv3318	0.00058214	
P9WHD5	50S ribosomal protein L16 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplP PE=1 SV=1	138	15692	rplP	Rv0708	0.00058203	
P9WJC1	ESX-1 secretion-associated protein EspK OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=espK PE=1 SV=1	729	74492	espK	Rv3879c	0.00058132	
I6XG13	AsnC family transcriptional regulator OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3050c PE=1 SV=1	246	27619	Rv3050c	Rv3050c	0.00058090	
P9WPU9	ATP synthase gamma chain M. tuberculosis H37Rv GN=atpG	305	33890	atpG	Rv1309	0.00057840	
P95206	Possible secreted protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0398c	213	21655	Rv0398c	Rv0398c	0.00057838	
P9WH17	Ribosome maturation factor RimP OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rimP PE=1 SV=1	183	19565	rimP	Rv2842c	0.00057625	
P9WGH7	ECF RNA polymerase sigma factor SigK M. tuberculosis H37Rv GN=sigK	187	21035	sigK	Rv0445c	0.00057445	
O07169	Probable fatty-acid-CoA ligase FadD7 (Fatty-acid-CoA synthetase) (Fatty-acid-CoA synthase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD7 PE=1 SV=4	525	55159	fadD7	Rv0119	0.00057443	
P9WPW3	Probable succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase subunit B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=scoB PE=1 SV=1	218	22898	scoB	Rv2503c	0.00057413	
O53489	Probable lipoprotein LppI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppI PE=1 SV=1	218	22202	lppI	Rv2046	0.00057413	
P9WNQ9	ESX-5 secretion system ATPase EccB5 M. tuberculosis H37Rv GN=eccB5	506	53721	eccB5	Rv1782	0.00057361	
P9WJL1	UDP-N-acetylmuramoyl-tripeptide--D-alanyl-D-alanine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=murF PE=1 SV=1	510	51633	murF	Rv2157c	0.00057297	
P9WFE3	Urease accessory protein UreG OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ureG PE=1 SV=1	224	23348	ureG	Rv1852	0.00056754	
O33263	Probable oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2129c PE=1 SV=3	293	31331	Rv2129c	Rv2129c	0.00056678	
I6X4J0	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2522c PE=1 SV=1	470	49325	Rv2522c	Rv2522c	0.00056616	
O53673	Heat shock protein Hsp (Heat-stress-induced ribosome-binding protein A) M. tuberculosis H37Rv GN=hsp	159	17786	hsp	Rv0251c	0.00056404	
I6Y6S3	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0052 PE=1 SV=2	187	20387	Rv0052	Rv0052	0.00056393	
P9WKT7	Putative DNA-binding protein Rv0500A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0500A PE=1 SV=1	78	8508	Rv0500A	Rv0500A	0.00056227	
P95229	Alpha/beta hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0272c PE=1 SV=1	377	41077	Rv0272c	Rv0272c	0.00056205	
P9WIJ5	Pyrrolidone-carboxylate peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pcp PE=1 SV=1	222	23193	pcp	Rv0319	0.00055936	
P9WFT1	Tyrosine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=tyrS	424	46330	tyrS	Rv1689	0.00055902	
P9WPB3	Cyclopropane mycolic acid synthase 3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pcaA PE=1 SV=1	287	33028	pcaA	Rv0470c	0.00055630	
P9WQH3	Acetaldehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mhpF PE=1 SV=1	303	32009	mhpF	Rv3535c	0.00055457	
I6WXS6	Putative antitoxin VapB51 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapB51 PE=1 SV=1	64	6973	vapB51	Rv0229A	0.00055436	
P9WHL3	Dihydroorotase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyrC PE=1 SV=1	430	45192	pyrC	Rv1381	0.00055351	
I6XA34	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0911 PE=1 SV=1	257	27627	Rv0911	Rv0911	0.00055221	
P9WKL1	Isocitrate dehydrogenase [NADP] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=icd PE=1 SV=1	409	45514	icd	Rv3339c	0.00055183	
O07807	Acyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3816c	259	28454	Rv3816c	Rv3816c	0.00055174	
P9WFM1	GTP cyclohydrolase 1 type 2 homolog OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2230c PE=1 SV=1	379	39598	Rv2230c	Rv2230c	0.00055130	
I6Y0L1	Peptide synthetase MbtE (Peptide synthase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtE PE=1 SV=2	1682	183283	mbtE	Rv2380c	0.00055107	
O07206	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2705c PE=1 SV=1	129	14087	Rv2705c	Rv2705c	0.00055007	
I6X540	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2683 PE=1 SV=1	165	17730	Rv2683	Rv2683	0.00054949	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
I6Y204	D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dacB2 PE=1 SV=1	291	29747	dacB2	Rv2911	0.00054865	
P9WFI3	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0830 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0830	301	33416	Rv0830	Rv0830	0.00054845	
P9WFW7	Alanine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=alaS	904	97357	alaS	Rv2555c	0.00054728	
Q6MX34	Probable uroporphyrin-III C-methyltransferase HemD (Uroporphyrinogen III methylase) (Urogen III methylase) (SUMT) (Urogen III methylase) (UROM) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemD PE=1 SV=1	565	58836	hemD	Rv0511	0.00054685	
P9WM37	Uncharacterized protein Rv1289 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1289	210	23550	Rv1289	Rv1289	0.00054674	
P9WFE1	Uroporphyrinogen decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemE PE=1 SV=1	357	37606	hemE	Rv2678c	0.00054384	
P9WGJ9	Transcriptional regulatory protein EmbR M. tuberculosis H37Rv GN=embR	388	41933	embR	Rv1267c	0.00054358	
O53494	Amidohydrolase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2052c	534	55854	Rv2052c	Rv2052c	0.00054353	
P9WL85	Uncharacterized protein Rv2575 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2575	293	30806	Rv2575	Rv2575	0.00054155	
P9WLL9	Uncharacterized protein Rv2067c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2067c	407	45930	Rv2067c	Rv2067c	0.00054120	
I6XI06	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3705c PE=1 SV=1	214	22359	Rv3705c	Rv3705c	0.00054112	
O53619	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0074 PE=1 SV=1	411	42791	Rv0074	Rv0074	0.00054072	
P9WFY7	tRNA (guanine-N(1)-)-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trmD PE=1 SV=1	230	25166	trmD	Rv2906c	0.00053990	
P9WIC5	Chorismate pyruvate-lyase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2949c PE=1 SV=1	199	22587	Rv2949c	Rv2949c	0.00053981	
P9WP13	F420H(2)-dependent quinone reductase Rv1261c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1261c	149	16756	Rv1261c	Rv1261c	0.00053906	
O07237	Bile acid 7-alpha dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0310c PE=1 SV=1	163	18242	Rv0310c	Rv0310c	0.00053813	
O53572	Probable conserved membrane protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3587c PE=1 SV=3	264	27099	Rv3587c	Rv3587c	0.00053756	
I6Y3Q7	Amidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3510c PE=1 SV=1	278	31068	Rv3510c	Rv3510c	0.00053709	
O53289	Phosphoserine phosphatase SerB2 M. tuberculosis H37Rv GN=serB2	409	43059	serB2	Rv3042c	0.00053615	
P9WN65	dTDP-glucose 4,6-dehydratase M. tuberculosis H37Rv GN=rmlB	331	37558	rmlB	Rv3464	0.00053594	
I6Y3N9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0397A PE=1 SV=1	82	8505	Rv0397A	Rv0397A	0.00053485	
P9WN15	Uncharacterized glycosyl hydrolase Rv2006 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2006	1327	145784	Rv2006	Rv2006	0.00053473	
P95072	Possible protease IV SppA (Endopeptidase IV) (Signal peptide peptidase) M. tuberculosis H37Rv GN=sppA	623	65936	sppA	Rv0724	0.00053470	
P9WFK3	UPF0336 protein Rv0504c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0504c	166	18360	Rv0504c	Rv0504c	0.00053433	
P9WIT3	L-gulono-1,4-lactone dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1771	428	48045	Rv1771	Rv1771	0.00053423	
P9WFA7	Ribonuclease VapC10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC10 PE=1 SV=1	133	14952	vapC10	Rv1397c	0.00053352	
P9WQD1	Acetyl-coenzyme A synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=acsA	651	71476	acsA	Rv3667	0.00052911	
O53699	Trehalose 2-sulfotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=stf0	267	29775	stf0	Rv0295c	0.00052784	
P9WJH1	NADH-quinone oxidoreductase subunit B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoB PE=1 SV=1	184	20219	nuoB	Rv3146	0.00052759	
O06392	Possible thioredoxin protein (Thiol-disulfide interchange protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0526	216	23218	Rv0526	Rv0526	0.00052700	
P9WHQ9	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hpt PE=1 SV=1	202	22251	hpt	Rv3624c	0.00052692	
P9WGP3	Protein translocase subunit SecA 2 M. tuberculosis H37Rv GN=secA2	808	88952	secA2	Rv1821	0.00052570	
P9WNG5	Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabD PE=1 SV=1	302	30788	fabD	Rv2243	0.00052541	
P9WFB7	Ribonuclease VapC3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC3 PE=1 SV=1	137	14700	vapC3	Rv0549c	0.00052512	
P9WHS9	Putative succinyl-diaminopimelate desuccinylase DapE OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dapE PE=1 SV=1	354	37273	dapE	Rv1202	0.00052479	
O53931	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1780 PE=1 SV=1	187	20457	Rv1780	Rv1780	0.00052438	
P9WHH1	Thioredoxin reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trxB PE=1 SV=1	335	35643	trxB	Rv3913	0.00052367	
O06216	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2161c PE=1 SV=1	288	30768	Rv2161c	Rv2161c	0.00052186	
I6YAW3	Methionine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3015c PE=1 SV=1	337	34244	Rv3015c	Rv3015c	0.00052056	
O53352	Exonuclease OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3259 PE=1 SV=3	139	15649	Rv3259	Rv3259	0.00051757	
O53749	4-carboxymuconolactone decarboxylase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0464c	190	21305	Rv0464c	Rv0464c	0.00051610	
P9WIZ1	Transcriptional repressor NrdR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrdR PE=1 SV=1	154	17177	nrdR	Rv2718c	0.00051517	
P9WQH9	Putative acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit beta OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accD3 PE=1 SV=1	495	51772	accD3	Rv0904c	0.00051468	
I6X235	ADP-ribose pyrophosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1700 PE=1 SV=1	207	22893	Rv1700	Rv1700	0.00051419	
I6Y551	Apocarotenoid-15,15'-oxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0913c PE=1 SV=1	502	56639	Rv0913c	Rv0913c	0.00051338	
P9WQ51	Long-chain-fatty-acid--CoA/3-oxocholest-4-en-26-oate--CoA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=fadD19 ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I6YGC8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I6YGC8	548	59741	fadD19	Rv3515c	0.00051256	Rv3513c (fadD18)
P9WN95	Cell division protein FtsZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ftsZ PE=1 SV=1	379	38756	ftsZ	Rv2150c	0.00051228	
P9WFE9	Urease subunit beta OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ureB PE=1 SV=1	104	11190	ureB	Rv1849	0.00051172	
P9WGS1	Uncharacterized oxidoreductase Rv1543 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1543	341	36821	Rv1543	Rv1543	0.00051157	
P96202	Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsC OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ppsC PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WQE7, P9WQE5	2188	230622	ppsC	Rv2933	0.00051078	Rv2931 (ppsA) Rv2932 (ppsB)
P9WHG5	Toxin ParE2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=parE2 PE=1 SV=1	105	12313	parE2	Rv2142c	0.00050685	
P9WKW3	Uncharacterized protein Rv0441c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0441c PE=1 SV=1	142	15036	Rv0441c	Rv0441c	0.00050663	
O07255	Dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0331 PE=1 SV=1	388	40788	Rv0331	Rv0331	0.00050546	
P9WLW5	Uncharacterized protein Rv1507c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1507c PE=1 SV=1	231	27091	Rv1507c	Rv1507c	0.00050130	
O05295	Acyl-CoA synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD36 PE=1 SV=1	473	49520	fadD36	Rv1193	0.00050111	
O53356	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3304 PE=1 SV=3	159	17489	Rv3304	Rv3304	0.00049897	
O53240	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=LH57_16315 PE=1 SV=1	163	18204	Rv2991	Rv2991	0.00049880	
O07406	Oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0161 PE=1 SV=2	449	47356	Rv0161	Rv0161	0.00049829	
O53362	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3311 PE=1 SV=1	420	45732	Rv3311	Rv3311	0.00049748	
P9WF69	Ribonuclease VapC33 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC33 PE=1 SV=1	143	15905	vapC33	Rv1242	0.00049621	
P9WP19	Diaminopimelate epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dapF PE=1 SV=1	289	29698	dapF	Rv2726c	0.00049447	
P0DMM3	Uncharacterized protein Rv3202A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3202A PE=1 SV=1	72	7384	Rv3202A	Rv3202A	0.00049277	
O53564	Acetoacetate decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3519 PE=1 SV=1	236	25960	Rv3519	Rv3519	0.00049068	
P9WHR9	Serine protease Rv3671c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3671c	397	40721	Rv3671c	Rv3671c	0.00048905	
I6WXK4	Phosphotyrosine protein phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ptbB PE=1 SV=1	276	30154	ptbB	Rv0153c	0.00048740	
O06829	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1429 PE=1 SV=1	422	46899	Rv1429	Rv1429	0.00048692	
O33341	Putative glutamine amidotransferase Rv2859c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2859c PE=1 SV=1	308	32442	Rv2859c	Rv2859c	0.00048478	
P9WHL7	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase subunit PurL OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purL PE=1 SV=2	766	80802	purL	Rv0803	0.00048377	
P9WIT9	Ornithine carbamoyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argF PE=1 SV=1	307	33057	argF	Rv1656	0.00048315	
I6YG46	Glutamate decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gadB PE=1 SV=1	460	50780	gadB	Rv3432c	0.00048312	
O07754	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1875	147	15979	Rv1875	Rv1875	0.00048271	
P9WH45	30S ribosomal protein S19 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsS PE=1 SV=1	93	10804	rpsS	Rv0705	0.00048216	
P96831	Probable acyl-CoA dehydrogenase FadE2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE2 PE=1 SV=3	403	44343	fadE2	Rv0154c	0.00048177	
P9WL03	Uncharacterized protein Rv0313 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0313 PE=1 SV=1	128	13948	Rv0313	Rv0313	0.00048123	
P9WHK5	Uridylate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyrH PE=1 SV=1	261	27430	pyrH	Rv2883c	0.00047954	
O07408	4-hydroxybenzoyl-CoA thioesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0163 PE=1 SV=1	151	16607	Rv0163	Rv0163	0.00047644	
P72062	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3796 PE=1 SV=2	375	39444	Rv3796	Rv3796	0.00047568	
P9WM51	Uncharacterized protein Rv1260 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1260 PE=1 SV=1	372	41329	Rv1260	Rv1260	0.00047423	
P9WJD3	ESX-1 secretion-associated protein EspE OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=espE PE=1 SV=1	402	42069	espE	Rv3864	0.00047318	
P9WJ53	Putative antitoxin VapB12 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapB12 PE=1 SV=1	75	8226	vapB12	Rv1721c	0.00047306	
P9WG57	Flavin-dependent thymidylate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thyX PE=1 SV=1	250	27591	thyX	Rv2754c	0.00047107	
P9WK59	Putative lipoprotein LpqT M. tuberculosis H37Rv GN=lpqT	226	24081	lpqT	Rv1016c	0.00047096	
P9WQE7	Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsA M. tuberculosis H37Rv GN=ppsA	1876	198835	ppsA	Rv2931	0.00046914	
P9WHM1	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide mutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purE PE=1 SV=1	174	17675	purE	Rv3275c	0.00046726	
O50459	Lipoprotein LpqZ M. tuberculosis H37Rv GN=lpqZ	286	29602	lpqZ	Rv1244	0.00046692	
P9WLW9	Uncharacterized protein Rv1498c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1498c PE=1 SV=2	269	30021	Rv1498c	Rv1498c	0.00046528	
O06418	Amidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0552 PE=1 SV=3	534	57340	Rv0552	Rv0552	0.00046508	
P9WNZ1	Coenzyme A biosynthesis bifunctional protein CoaBC OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaBC PE=1 SV=1	418	43577	coaBC	Rv1391	0.00046448	
P9WF95	Ribonuclease VapC17 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC17 PE=1 SV=1	133	15175	vapC17	Rv2527	0.00046314	
O05856	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3210c PE=1 SV=1	231	25121	Rv3210c	Rv3210c	0.00046077	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P71875	3-ketosteroid-9-alpha-monooxygenase, oxygenase component OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=kshA PE=1 SV=2	386	44268	kshA	Rv3526	0.00045958	
P9WGM5	Probable transcriptional regulatory protein NarL OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=narL PE=1 SV=1	216	22916	narL	Rv0844c	0.00045398	
O86374	Phosphomannomutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=manB PE=1 SV=1	465	49041	pmmA	Rv3257c	0.00045357	
O53346	Possible transmembrane cation transporter OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3200c PE=1 SV=1	355	38132	Rv3200c	Rv3200c	0.00045251	
P9WNR3	ESX-3 secretion system ATPase EccB3 M. tuberculosis H37Rv GN=eccB3	538	55943	eccB3	Rv0283	0.00045249	
P9WIY3	Probable 8-oxo-dGTP diphosphatase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mutT1 PE=1 SV=1	317	34780	mutT1	Rv2985	0.00045079	
P96227	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3850 PE=1 SV=1	218	23811	Rv3850	Rv3850	0.00044982	
O06300	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0349 PE=1 SV=1	219	24703	Rv0349	Rv0349	0.00044776	
P9WGV5	Trans-acting enoyl reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2953	418	45104	Rv2953	Rv2953	0.00044679	
P9WHN1	Phosphoribosylaminoimidazole-succinocarboxamide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purC PE=1 SV=1	297	32930	purC	Rv0780	0.00044632	
P95059	Arylsulfatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=atsA PE=1 SV=1	787	86214	atsA	Rv0711	0.00044582	
P9WIB9	Secreted chorismate mutase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1885c	199	21945	Rv1885c	Rv1885c	0.00044572	
P9WHW5	PP2C-family Ser/Thr phosphatase M. tuberculosis H37Rv GN=pstP	514	53812	pstP	Rv0018c	0.00044484	
P9WM97	Uncharacterized protein Rv0028 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0028 PE=1 SV=1	101	10904	Rv0028	Rv0028	0.00044397	
P9WL27	Uncharacterized protein Rv2901c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2901c PE=1 SV=1	101	12226	Rv2901c	Rv2901c	0.00044397	
P9WFB9	Ribonuclease VapC2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC2 PE=1 SV=1	141	15746	vapC2	Rv0301	0.00044383	
P9WHA1	50S ribosomal protein L31 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpmE PE=1 SV=1	80	8753	rpmE	Rv1298	0.00044349	
I6YB54	1,4-beta-xylanase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3096 PE=1 SV=1	379	43162	Rv3096	Rv3096	0.00044077	
P9WPR5	Carotenoid cleavage oxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0654 PE=1 SV=1	501	54944	Rv0654	Rv0654	0.00043966	
P9WQ25	Glycogen operon protein GlgX homolog OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgX PE=1 SV=1	721	81081	glgX	Rv1564c	0.00043878	
P9WNV7	Chaperone protein DnaJ 2 M. tuberculosis H37Rv GN=dnaJ2	382	40489	dnaJ2	Rv2373c	0.00043731	
P9WQ83	Putative cystathionine beta-lyase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2294 PE=1 SV=1	407	44283	Rv2294	Rv2294	0.00043586	
P9WKD5	Laccase domain protein Rv2149c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2149c	250	25965	Rv2149c	Rv2149c	0.00043362	
P9WM73	Uncharacterized protein Rv0088 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0088	224	24649	Rv0088	Rv0088	0.00043338	
L7N6B2	Iron ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0265c PE=1 SV=1	330	35284	Rv0265c	Rv0265c	0.00043303	
P9WIU7	Diaminopimelate decarboxylase M. tuberculosis H37Rv GN=lysA	447	47458	lysA	Rv1293	0.00043215	
P9WFN3	Putative lipoprotein LppC M. tuberculosis H37Rv GN=lppC PE=1 SV=2	201	19798	lppC	Rv1911c	0.00043150	
P9WH13	Glucose-1-phosphate thymidylyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=rmlA	288	31492	rmlA	Rv0334	0.00043117	
P9WKR3	Uncharacterized protein Rv0877 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0877 PE=1 SV=1	262	27469	Rv0877	Rv0877	0.00043072	
P9WI51	Ribulose-phosphate 3-epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpe PE=1 SV=1	229	23774	rpe	Rv1408	0.00042821	
P9WMN3	Bifunctional protein GlmU OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glmU PE=1 SV=1	495	51584	glmU	Rv1018c	0.00042807	
I6Y120	Probable shikimate 5-dehydrogenase AroE (5-dehydroshikimate reductase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroE PE=1 SV=1	269	27208	aroE	Rv2552c	0.00042682	
P9WMN7	Probable adenylyltransferase/sulfurtransferase MoeZ M. tuberculosis H37Rv GN=moeZ	392	42173	moeZ	Rv3206c	0.00042615	
P9WIQ1	UDP-galactopyranose mutase M. tuberculosis H37Rv GN=glf	399	45814	glf	Rv3809c	0.00042607	
P9WPK9	Putative glutamate--cysteine ligase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0433 PE=1 SV=1	376	42295	Rv0433	Rv0433	0.00042462	
I6YG83	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3472 PE=1 SV=1	168	18568	Rv3472	Rv3472	0.00042237	
P9WPZ5	Probable N-succinyldiaminopimelate aminotransferase DapC M. tuberculosis H37Rv GN=dapC	397	42209	dapC	Rv0858c	0.00042078	
P9WI99	Putative aminoglycoside phosphotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3168 PE=1 SV=1	378	42561	Rv3168	Rv3168	0.00041977	
P9WN77	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpsA PE=1 SV=1	334	33992	gpsA	Rv2982c	0.00041901	
P9WN73	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=zwf2 PE=1 SV=1	514	57343	zwf2	Rv1447c	0.00041798	
P9WFF1	Urease subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ureC PE=1 SV=1	577	60825	ureC	Rv1850	0.00041761	
O50411	Ribonuclease VapC46 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC46 PE=1 SV=3	130	14317	vapC46	Rv3384c	0.00041694	
P9WIT7	Aspartate carbamoyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pyrB	319	33819	pyrB	Rv1380	0.00041553	
I6Y8I5	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0712 PE=1 SV=1	299	32744	Rv0712	Rv0712	0.00041531	
O06619	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1571 PE=1 SV=1	169	18100	Rv1571	Rv1571	0.00041405	
O05876	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3231c PE=1 SV=1	169	17797	Rv3231c	Rv3231c	0.00041405	
P9WHA5	50S ribosomal protein L2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplB PE=1 SV=1	280	30577	rplB	Rv0704	0.00041357	
P9WQA1	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gatA PE=1 SV=1	494	51420	gatA	Rv3011c	0.00041197	
P9WNU5	DNA polymerase I M. tuberculosis H37Rv GN=polA	904	98472	polA	Rv1629	0.00040992	
I6X811	ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dppA PE=1 SV=1	541	58382	dppA	Rv3666c	0.00040897	
P9WMN1	ATP phosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hisG PE=1 SV=1	284	30481	hisG	Rv2121c	0.00040774	
O06401	S-methyl-5'-thioadenosine phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtnP PE=1 SV=1	264	27964	mtnP	Rv0535	0.00040690	
P9WKL5	Uncharacterized protein Rv0560c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0560c PE=1 SV=1	241	25945	Rv0560c	Rv0560c	0.00040689	
P9WM25	Uncharacterized protein Rv1332 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1332 PE=1 SV=1	218	24054	Rv1332	Rv1332	0.00040687	
I6XU97	Hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0045c PE=1 SV=1	298	32131	Rv0045c	Rv0045c	0.00040680	
P9WHL9	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purK PE=1 SV=1	429	45695	purK	Rv3276c	0.00040663	
P9WMP3	Porphobilinogen deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemC PE=1 SV=1	309	31938	hemC	Rv0510	0.00040187	
P9WH39	30S ribosomal protein S2 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsB	287	31089	rpsB	Rv2890c	0.00040006	
O50394	Putative tRNA (cytidine(34)-2'-O)-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=spoU PE=1 SV=1	154	16517	spoU	Rv3366	0.00039998	
P9WN19	Glutamate synthase [NADPH] small chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltD PE=1 SV=1	488	53452	gltD	Rv3858c	0.00039987	
P9WFN5	UPF0098 protein Rv1910c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1910c	201	20298	Rv1910c	Rv1910c	0.00039960	
P9WM93	Uncharacterized protein Rv0034 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0034 PE=1 SV=1	131	13968	Rv0034	Rv0034	0.00039874	
P9WFA5	Ribonuclease VapC11 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC11 PE=1 SV=1	134	14651	vapC11	Rv1561	0.00039716	
O05833	Cytidine deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2365c PE=4 SV=1	113	11131	Rv2365c	Rv2365c	0.00039682	
P9WHI3	Recombination protein RecR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=recR PE=1 SV=1	203	22119	recR	Rv3715c	0.00039567	
I6YAY5	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3033 PE=1 SV=1	182	19272	Rv3033	Rv3033	0.00039529	
P9WPZ3	Arginine biosynthesis bifunctional protein ArgJ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argJ PE=1 SV=1	404	41147	argJ	Rv1653	0.00039519	
P9WG45	DNA gyrase subunit B M. tuberculosis H37Rv GN=gyrB	675	74091	gyrB	Rv0005	0.00039421	
Q79FW0	Probable amino acid aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0812 PE=1 SV=1	289	31123	Rv0812	Rv0812	0.00039388	
O53498	Cobalamin biosynthesis protein CobN OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobN PE=1 SV=4	1194	129210	cobN	Rv2062c	0.00039248	
P71540	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA7 PE=1 SV=1	269	27604	echA7	Rv0971c	0.00039202	
P9WF25	Antitoxin RelJ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=relJ PE=1 SV=1	91	10194	relJ	Rv3357	0.00038988	
P96267	Alpha/beta hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0421c PE=1 SV=1	209	21738	Rv0421c	Rv0421c	0.00038901	
P9WID3	Putative ATP-dependent 6-phosphofructokinase isozyme 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pfkB PE=1 SV=1	339	35401	pfkB	Rv2029c	0.00038812	
P9WIM3	Putative esterase Rv1847 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1847 PE=1 SV=1	140	15098	Rv1847	Rv1847	0.00038716	
P9WPX9	3-dehydroquinate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=aroB	362	38119	aroB	Rv2538c	0.00038660	
I6YAE2	Probable conserved transmembrane alanine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2843 PE=1 SV=1	181	17767	Rv2843	Rv2843	0.00038660	
P9WIK3	Probable phosphoadenosine phosphosulfate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysH PE=1 SV=1	254	27423	cysH	Rv2392	0.00038606	
P9WJQ7	Molybdopterin molybdenumtransferase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moeA1 PE=1 SV=1	426	44337	moeA1	Rv0994	0.00038521	
P9WQ81	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxononanoate aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bioA PE=1 SV=1	437	46319	bioA	Rv1568	0.00038452	
P9WP05	DegV domain-containing protein Rv2417c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2417c PE=1 SV=1	280	28488	Rv2417c	Rv2417c	0.00038365	
L0TBY6	Possible flavoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2250A PE=1 SV=1	139	15459	Rv2250A	Rv2250A	0.00038287	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

			Código de color (NSAF)		P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
O06816	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1443c PE=1 SV=1	161	18316	Rv1443c	Rv1443c	0.00038259	
P9WK11	2-succinyl-5-enolpyruvyl-6-hydroxy-3-cyclohexene-1-carboxylate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=menD PE=1 SV=1	554	57836	menD	Rv0555	0.00038248	
I6XD65	Nicotinamidase/pyrazinamidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pncA PE=1 SV=1	186	19605	pncA	Rv2043c	0.00038150	
P9WGT1	3-alpha-(or 20-beta)-hydroxysteroid dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG3 PE=1 SV=1	260	27030	fabG3	Rv2002	0.00038094	
O53534	Zn-dependent hydrolase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2260 PE=1 SV=3	211	22138	Rv2260	Rv2260	0.00038066	
P71650	Endoribonuclease MazF9 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mazF9 PE=1 SV=2	118	12891	mazF9	Rv2801c	0.00038001	
P95148	Acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1867	494	53560	Rv1867	Rv1867	0.00037805	
P9WQ63	Phenyloxazoline synthase MbtB M. tuberculosis H37Rv GN=mbtB	1414	151634	mbtB	Rv2383c	0.00037776	
P9WPX3	Aspartokinase M. tuberculosis H37Rv GN=ask	421	44462	ask	Rv3709c	0.00037690	
O69670	Gamma-glutamyl-hercynylcysteine sulfoxide hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=egtC PE=1 SV=1	233	24627	egtC	Rv3702c	0.00037646	
P72043	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3777 PE=1 SV=2	328	33963	Rv3777	Rv3777	0.00037559	
P9WKE1	Thymidylate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tmk PE=1 SV=1	214	22635	tmk	Rv3247c	0.00037533	
I6XHY3	Beta-lactamase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3677c PE=1 SV=1	264	28490	Rv3677c	Rv3677c	0.00037516	
O53147	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1455 PE=1 SV=3	287	31427	Rv1455	Rv1455	0.00037429	
P9WIM1	Protein PafB M. tuberculosis H37Rv GN=pafB	332	35300	pafB	Rv2096c	0.00037403	
I6WZ30	Conserved threonine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0679c PE=1 SV=1	165	16586	Rv0679c	Rv0679c	0.00037332	
P9WKG7	4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispE PE=1 SV=1	306	31382	ispE	Rv1011	0.00037200	
I6Y8Y0	Carnitine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=far PE=1 SV=1	359	38059	far	Rv0855	0.00037198	
P9WMK7	DNA-binding protein HU homolog M. tuberculosis H37Rv GN=hup	214	22187	hup	Rv2986c	0.00037073	
P9WIY1	Putative 8-oxo-dGTP diphosphatase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mutT2 PE=1 SV=1	141	15160	mutT2	Rv1160	0.00037046	
P96218	Glutamate synthase [NADPH] large chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltB PE=1 SV=3	1527	165943	gltB	Rv3859c	0.00036627	
L7N675	PPE family protein PPE18 M. tuberculosis H37Rv GN=PPE18 ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WI25; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WI25	391	39158	PPE18	Rv1196	0.00036547	Rv1361c (PPE19)
P72005	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1748	243	27085	Rv1748	Rv1748	0.00036501	
P9WPE3	CinA-like protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cinA PE=1 SV=1	430	45512	cinA	Rv1901	0.00036443	
P9WHB5	50S ribosomal protein L25 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplY PE=1 SV=1	215	22441	rplY	Rv1015c	0.00036443	
O33181	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1778c PE=1 SV=3	149	15828	Rv1778c	Rv1778c	0.00036377	
P9WFJ5	UPF0603 protein Rv2345 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2345	660	70030	Rv2345	Rv2345	0.00036360	
P9WKJ1	3'-phosphoadenosine 5'-phosphate phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysQ PE=1 SV=1	267	28447	cysQ	Rv2131c	0.00036358	
P9WQ43	Long-chain-fatty-acid--AMP ligase FadD26 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD26 PE=1 SV=1	583	63044	fadD26	Rv2930	0.00036345	
O53903	Acyl-CoA synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD24 PE=1 SV=1	584	62829	fadD24	Rv1529	0.00036283	
I6YGS0	Epoxide hydrolase A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephA PE=1 SV=1	322	35097	ephA	Rv3617	0.00036268	
P9WF55	Ribonuclease VapC43 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC43 PE=1 SV=1	147	16596	vapC43	Rv2872	0.00036203	
P9WM27	Uncharacterized protein Rv1322 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1322 PE=1 SV=1	98	11334	Rv1322	Rv1322	0.00036203	
P71668	Lipase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lipI PE=1 SV=1	320	34053	lipI	Rv1400c	0.00036187	
P9WGQ9	Uncharacterized oxidoreductase Rv0769 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0769 PE=1 SV=1	248	25966	Rv0769	Rv0769	0.00036162	
P9WK71	Putative lipoprotein LppO M. tuberculosis H37Rv GN=lppO	171	17342	lppO	Rv2290	0.00036022	
P9WH21	Putative Rieske 2Fe-2S iron-sulfur protein Rv3818 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3818 PE=1 SV=1	516	57647	Rv3818	Rv3818	0.00036003	
P9WGT3	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase FabG1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG1 PE=1 SV=1	247	25697	fabG1	Rv1483	0.00035910	
O53803	Uncharacterized protein Rv0740 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0740 PE=1 SV=2	202	22531	Rv0740	Rv0740	0.00035615	
P96817	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0140	126	13766	Rv0140	Rv0140	0.00035588	
P71750	Gamma-glutamyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=ggtB PE=1 SV=2	643	66560	ggtB	Rv2394	0.00035560	
P9WN79	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glpD2 PE=1 SV=1	585	62778	glpD2	Rv3302c	0.00035548	
O06553	Putative pyridoxine/pyridoxamine 5'-phosphate oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1155 PE=1 SV=1	147	16301	Rv1155	Rv1155	0.00035534	
P9WQE5	Phthiocerol synthesis polyketide synthase type I PpsB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ppsB PE=1 SV=1	1538	162528	ppsB	Rv2932	0.00035436	
O53505	Protein LppM M. tuberculosis H37Rv GN=lppM PE=1 SV=3	227	23846	lppM	Rv2171	0.00035383	
P9WIS5	Multifunctional 2-oxoglutarate metabolism enzyme M. tuberculosis H37Rv GN=kgd	1231	135902	kgd	Rv1248c	0.00035187	
I6YEE1	Metallophosphoesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2795c PE=1 SV=1	324	37601	Rv2795c	Rv2795c	0.00035133	
O06563	GTP-binding protein TypA M. tuberculosis H37Rv GN=typA PE=1 SV=2	628	67580	typA	Rv1165	0.00034918	
P9WFR9	Thymidylate synthase ThyA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thyA PE=1 SV=1	263	29853	thyA	Rv2764c	0.00034847	
P9WPQ3	Acetyl-/propionyl-coenzyme A carboxylase alpha chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accA1 PE=1 SV=1	654	70592	accA1	Rv2501c	0.00034811	
P9WIH1	PE family immunomodulator PE15 M. tuberculosis H37Rv GN=PE15	102	9862	PE15	Rv1386	0.00034784	
O53850	D-alanyl-D-alanine dipeptidase M. tuberculosis H37Rv GN=lpqR	256	27321	lpqR	Rv0838	0.00034648	
P9WFY9	tRNA (guanine-N(7)-)-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trmB PE=1 SV=1	263	28547	trmB	Rv0208c	0.00034473	
P9WNE1	F420-dependent glucose-6-phosphate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fgd1	336	36989	fgd1	Rv0407	0.00034464	
P9WK19	Methionine aminopeptidase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=map PE=1 SV=1	285	30891	map	Rv2861c	0.00034407	
I6X5C9	Riboflavin biosynthesis protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribF PE=1 SV=1	331	36090	ribF	Rv2786c	0.00034390	
P9WKW9	Uncharacterized protein Rv3786c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3786c	407	44944	Rv3786c	Rv3786c	0.00034386	
P9WG95	L-threonine dehydratase biosynthetic IlvA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvA PE=1 SV=1	429	45041	ilvA	Rv1559	0.00034346	
P9WHV9	Polyphosphate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ppk PE=1 SV=1	742	83039	ppk	Rv2984	0.00034335	
P9WNX7	Putative succinate-semialdehyde dehydrogenase [NADP(+)] 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabD2 PE=1 SV=1	518	55324	gabD2	Rv1731	0.00034246	
P9WJK5	Probable methylmalonyl-CoA mutase large subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mutB PE=1 SV=1	750	80604	mutB	Rv1493	0.00034231	
O06389	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0523c PE=1 SV=3	131	14827	Rv0523c	Rv0523c	0.00034230	
O06611	PhiRv1 phage protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1579c PE=4 SV=1	104	11234	Rv1579c	Rv1579c	0.00034115	
P9WJB7	Nucleoid-associated protein EspR M. tuberculosis H37Rv GN=espR	132	14709	espR	Rv3849	0.00033970	
O53408	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1060 PE=1 SV=1	157	16867	Rv1060	Rv1060	0.00033897	
P9WPW7	Argininosuccinate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argG PE=1 SV=1	398	43682	argG	Rv1658	0.00033800	
P9WMR1	Probable helicase HelY M. tuberculosis H37Rv GN=helY	906	99606	helY	Rv2092c	0.00033777	
I6YGX2	Penicillin-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ponA2 PE=1 SV=1	810	84636	ponA2	Rv3682	0.00033764	
P96832	NAD(P) transhydrogenase subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pntAa PE=1 SV=1	366	37694	pntAa	Rv0155	0.00033660	
P9WFZ5	Trehalose-phosphate phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=otsB PE=1 SV=1	391	41720	otsB	Rv3372	0.00033650	
P9WJC7	ESX-3 secretion-associated protein EspG3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=espG3 PE=1 SV=1	295	31559	espG3	Rv0289	0.00033574	
O69725	Glycine/betaine ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=proX	315	33358	proX	Rv3759c	0.00033478	
P9WKG5	2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispF PE=1 SV=1	159	16458	ispF	Rv3581c	0.00033471	
I6Y1V1	Conserved alanine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2844 PE=1 SV=1	162	16940	Rv2844	Rv2844	0.00033458	
I6X7W8	Monooxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3618 PE=1 SV=1	395	43277	Rv3618	Rv3618	0.00033309	
I6YCP0	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3651 PE=1 SV=1	345	37967	Rv3651	Rv3651	0.00033280	
O53751	Acyl-ACP thioesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0466 PE=1 SV=1	264	30185	Rv0466	Rv0466	0.00033225	
P95291	Probable conserved lipoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1922 PE=1 SV=1	371	39062	Rv1922	Rv1922	0.00033206	
P9WIC3	Prephenate dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pheA PE=1 SV=1	321	33633	pheA	Rv3838c	0.00033158	
O06299	Possible transcriptional regulatory protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0348 PE=1 SV=1	217	24251	Rv0348	Rv0348	0.00033153	
O53410	Patatin OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1062 PE=1 SV=3	285	29279	Rv1062	Rv1062	0.00033027	
P9WKP3	Uncharacterized protein Rv0906 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0906 PE=1 SV=1	372	40641	Rv0906	Rv0906	0.00032852	
O69687	Probable fatty acid methyltransferase Rv3720 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3720 PE=1 SV=4	427	47600	Rv3720	Rv3720	0.00032775	
O53413	Cysteine dioxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1065 PE=1 SV=1	188	20634	Rv1065	Rv1065	0.00032764	
O86340	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2061c PE=1 SV=3	134	14814	Rv2061c	Rv2061c	0.00032729	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

				Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%
Uniprot	**Descripción de la proteína**	**Largo (aá)**	**Masa (kDa)**	**Gen**	**Locus (Rv)**	**NSAF Total**	**Locus adicional (gen)**
P9WPF3	Alpha-pyrone synthesis polyketide synthase-like Pks11 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pks11 PE=1 SV=1	353	37639	pks11	Rv1665	0.00032526	
P9WLJ5	Uncharacterized protein Rv2091c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2091c	244	26020	Rv2091c	Rv2091c	0.00032515	
O33182	Phosphate ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1680 PE=1 SV=1	274	30214	Rv1680	Rv1680	0.00032372	
O05581	Acetyltransferase Pat OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0998 PE=1 SV=2	333	35626	Rv0998	Rv0998	0.00032259	
P9WHF3	Transcription termination factor Rho M. tuberculosis H37Rv GN=rho	602	65133	rho	Rv1297	0.00032251	
P9WKC9	Probable diacyglycerol O-acyltransferase tgs1 M. tuberculosis H37Rv GN=tgs1	463	50721	tgs1	Rv3130c	0.00032249	
P71969	Possible secreted protease M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2672	528	54016	Rv2672	Rv2672	0.00032011	
I6YC03	Epoxide hydrolase B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephB PE=1 SV=1	356	39297	ephB	Rv1938	0.00031975	
P9WQA9	Alanine racemase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=alr PE=1 SV=1	386	40926	alr	Rv3423c	0.00031916	
P9WHL5	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase subunit PurQ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purQ PE=1 SV=1	224	23633	purQ	Rv0788	0.00031678	
Q6MWX1	PE family protein PPE60 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=PPE60 PE=1 SV=1	393	39414	PPE60	Rv3478	0.00031347	
P9WKJ9	Translation initiation factor IF-3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=infC PE=1 SV=1	201	22333	infC	Rv1641	0.00031135	
P9WJM7	Mycothiol acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mshD PE=1 SV=1	315	33599	mshD	Rv0819	0.00031130	
I6Y0W5	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE19 PE=1 SV=1	394	41916	fadE19	Rv2500c	0.00031018	
P9WHP1	Phosphate acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pta	690	72949	pta	Rv0408	0.00030852	
P9WGM9	Response regulator MprA M. tuberculosis H37Rv GN=mprA	230	25894	mprA	Rv0981	0.00030852	
O53157	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1466 PE=1 SV=2	115	12384	Rv1466	Rv1466	0.00030852	
P9WKE7	Homoserine kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thrB PE=1 SV=1	316	32346	thrB	Rv1296	0.00030720	
O07243	Muconolactone delta-isomerase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0316	204	22332	Rv0316	Rv0316	0.00030677	
O05900	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0907 PE=1 SV=2	532	56736	Rv0907	Rv0907	0.00030565	
P9WMU7	Uncharacterized protein Rv2212 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2212 PE=1 SV=1	378	39775	Rv2212	Rv2212	0.00030375	
P9WHS7	Probable dipeptidase PepE OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pepE PE=1 SV=1	375	39440	pepE	Rv2089c	0.00030355	
P9WNY5	Probable 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmsB PE=1 SV=1	294	29679	mmsB	Rv0751c	0.00030169	
I6XI16	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3718c PE=1 SV=1	147	15662	Rv3718c	Rv3718c	0.00029835	
P96272	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0426c PE=1 SV=1	147	13930	Rv0426c	Rv0426c	0.00029835	
P9WNU9	Pup deamidase/depupylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dop PE=1 SV=1	505	55179	dop	Rv2112c	0.00029761	
P9WJF9	CRISPR type III-associated RAMP protein Csm3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=csm3 PE=1 SV=1	236	25773	csm3	Rv2821c	0.00029650	
P9WN21	Fructose-1,6-bisphosphatase class 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glpX PE=1 SV=1	362	38084	glpX	Rv1099c	0.00029403	
O53521	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase FadD15 M. tuberculosis H37Rv GN=fadD15 PE=1 SV=3	600	64035	fadD15	Rv2187	0.00029402	
P9WI85	Putative quercetin 2,3-dioxygenase Rv0181c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0181c PE=1 SV=1	244	26286	Rv0181c	Rv0181c	0.00029081	
O86312	Probable transcriptional regulatory protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1219c PE=1 SV=1	212	23181	Rv1219c	Rv1219c	0.00029055	
P9WJE1	ESX-1 secretion-associated protein EspA M. tuberculosis H37Rv GN=espA	392	39888	espA	Rv3616c	0.00029039	
I6Y4Z4	Possible fatty-acid-CoA ligase FadD16 (Fatty-acid-CoA synthetase) (Fatty-acid-CoA synthase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD16 PE=1 SV=1	278	30108	Rv0852	Rv0852	0.00028892	
P9WQ05	Arginine deiminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=arcA PE=1 SV=1	402	43089	arcA	Rv1001	0.00028806	
P9WNG3	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabH PE=1 SV=1	335	34873	fabH	Rv0533c	0.00028684	
P71857	Acyl-CoA dehydrogenase FadE28 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE28 PE=1 SV=3	339	35469	fadE28	Rv3544c	0.00028636	
O53979	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1978 PE=1 SV=3	282	30584	Rv1978	Rv1978	0.00028482	
P9WHM5	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purN PE=1 SV=1	215	22416	purN	Rv0956	0.00028192	
O07234	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0307c PE=1 SV=1	160	17182	Rv0307c	Rv0307c	0.00028026	
O05592	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1006	567	61298	Rv1006	Rv1006	0.00027985	
P9WM23	Uncharacterized aminopeptidase Rv1333 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1333 PE=1 SV=1	344	33953	Rv1333	Rv1333	0.00027934	
P95286	Probable short-chain type dehydrogenase/reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1928c PE=1 SV=1	255	27031	Rv1928c	Rv1928c	0.00027827	
P9WQ49	Putative fatty-acid--CoA ligase FadD21 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD21 PE=1 SV=1	578	62757	fadD21	Rv1185c	0.00027792	
P9WML7	Histidinol-phosphate aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=hisC	380	40581	hisC	Rv1600	0.00027492	
P9WG39	Acetolactate synthase large subunit IlvG OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvG PE=1 SV=1	547	57521	ilvG	Rv1820	0.00027296	
P9WLQ9	Uncharacterized protein Rv1836c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1836c	677	69677	Rv1836c	Rv1836c	0.00027296	
O07783	Toxin VapC4 M. tuberculosis H37Rv GN=vapC4 PE=1 SV=3	130	14112	vapC4	Rv0595c	0.00027292	
P96273	Probable exodeoxyribonuclease III protein XthA (Exonuclease III) (EXO III) (AP endonuclease VI) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=xthA PE=1 SV=1	291	32108	xthA	Rv0427c	0.00027263	
P9WFQ9	Uracil-DNA glycosylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ung PE=1 SV=1	227	24481	ung	Rv2976c	0.00027135	
P9WN35	Anthranilate synthase component 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpG PE=1 SV=1	232	24627	trpG	Rv0013	0.00026974	
O53448	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1100	233	24563	Rv1100	Rv1100	0.00026859	
I6Y8R4	Esterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0774c PE=1 SV=1	303	30654	Rv0774c	Rv0774c	0.00026833	
P9WNC5	Dihydroneopterin aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folB PE=1 SV=1	133	14552	folB	Rv3607c	0.00026676	
P9WFU9	Lysine--tRNA ligase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lysS1 PE=1 SV=1	505	55709	lysS1	Rv3598c	0.00026638	
P9WN49	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizing] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glmS PE=1 SV=1	624	67572	glmS	Rv3436c	0.00026613	
O07430	Beta-glucosidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bglS PE=1 SV=1	691	73520	bglS	Rv0186	0.00026600	
P9WFX5	Anthranilate phosphoribosyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=trpD	370	37740	trpD	Rv2192c	0.00026503	
P9WGV7	Putative pre-16S rRNA nuclease OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2554c PE=1 SV=1	170	18065	Rv2554c	Rv2554c	0.00026377	
I6XCB2	Segregation and condensation protein B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=scpB PE=1 SV=1	231	25277	scpB	Rv1710	0.00026240	
P9WFS1	Thymidine phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=deoA PE=1 SV=1	427	44486	deoA	Rv3314c	0.00026198	
P95202	Possible secreted protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0394c PE=1 SV=1	239	25279	Rv0394c	Rv0394c	0.00026184	
O08343	Uncharacterized metal-dependent hydrolase TatD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tatD PE=1 SV=1	264	29083	tatD	Rv1008	0.00026133	
P9WJH5	NADH-quinone oxidoreductase subunit D OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoD PE=1 SV=1	440	48164	nuoD	Rv3148	0.00026095	
I6X9E2	Peptidase M23B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqO PE=1 SV=1	316	32887	lpqO	Rv0604	0.00026040	
P95125	Lipase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lipN PE=1 SV=1	376	40135	lipN	Rv2970c	0.00025818	
P9WPA7	Pantothenate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaA PE=1 SV=1	312	35657	coaA	Rv1092c	0.00025744	
P9WND3	Methionyl-tRNA formyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fmt PE=1 SV=1	312	32692	fmt	Rv1406	0.00025744	
P9WHT3	Probable cytosol aminopeptidase M. tuberculosis H37Rv GN=pepA	515	53481	pepA	Rv2213	0.00025739	
P9WFF3	Uracil phosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=upp PE=1 SV=1	207	21898	upp	Rv3309c	0.00025710	
P9WND1	Dihydropteroate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folP1 PE=1 SV=1	280	28843	folP1	Rv3608c	0.00025694	
P9WHK7	CTP synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyrG PE=1 SV=1	586	63635	pyrG	Rv1699	0.00025648	
P9WFD9	Universal stress protein Rv2028c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2028c	279	29442	Rv2028c	Rv2028c	0.00025433	
O53945	Mycosin-5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mycP5 PE=1 SV=1	585	60028	mycP5	Rv1796	0.00025355	
P9WL67	Uncharacterized protein Rv2627c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2627c PE=1 SV=1	413	46252	Rv2627c	Rv2627c	0.00025296	
P9WQH1	Acetate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ackA PE=1 SV=1	385	41318	ackA	Rv0409	0.00025215	
P9WI71	Serine/threonine-protein kinase PknH M. tuberculosis H37Rv GN=pknH	626	66754	pknH	Rv1266c	0.00025190	
P9WKN5	Uncharacterized protein Rv0953c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0953c PE=1 SV=1	282	30913	Rv0953c	Rv0953c	0.00025163	
L7N663	N-acyl-L-amino acid amidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=amiA1 PE=1 SV=1	389	41227	amiA1	Rv3305c	0.00024955	
O05859	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3207c PE=1 SV=1	285	31066	Rv3207c	Rv3207c	0.00024898	
P9WLS1	Uncharacterized protein Rv1813c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1813c PE=1 SV=1	143	14981	Rv1813c	Rv1813c	0.00024811	
O53501	Ribonuclease VapC37 M. tuberculosis H37Rv GN=vapC37 PE=1 SV=3	144	15662	vapC37	Rv2103c	0.00024638	
O06178	Thioesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1532c PE=1 SV=1	144	16007	Rv1532c	Rv1532c	0.00024638	
P9WGU9	Trehalose-binding lipoprotein LpqY OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqY PE=1 SV=1	468	49793	lpqY	Rv1235	0.00024533	
I6YCA3	Acyl-CoA dehydrogenase FadE26 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE26 PE=1 SV=1	400	43785	fadE26	Rv3504	0.00024269	
P9WP53	O-phosphoserine sulfhydrylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysM PE=1 SV=1	323	34438	cysM	Rv1336	0.00024258	
P9WLN9	Uncharacterized protein Rv1998c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1998c PE=1 SV=1	258	27253	Rv1998c	Rv1998c	0.00024256	
P9WN87	Transcriptional regulator FurA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=furA PE=1 SV=1	147	15892	furA	Rv1909c	0.00024136	
O53379	Probable aminotransferase Rv3329 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3329 PE=1 SV=2	466	50843	Rv3329	Rv3329	0.00024005	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P9WFL7	UPF0167 protein Rv2295 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2295 PE=1 SV=1	187	20691	Rv2295	Rv2295	0.00023979	
P9WK77	Putative lipoprotein LppJ M. tuberculosis H37Rv GN=lppJ	187	20324	lppJ	Rv2080	0.00023979	
P95075	Fuculose phosphate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fucA PE=1 SV=2	218	23066	fucA	Rv0727c	0.00023961	
P9WM03	Uncharacterized protein Rv1360 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1360 PE=1 SV=1	340	37252	Rv1360	Rv1360	0.00023334	
I6WZD9	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0765c PE=1 SV=1	275	29064	Rv0765c	Rv0765c	0.00023114	
P9WLN3	Uncharacterized protein Rv2004c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2004c	498	54423	Rv2004c	Rv2004c	0.00023055	
O53382	N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nagA PE=1 SV=1	383	38805	nagA	Rv3332	0.00022902	
L7N6B3	Probable zinc-type alcohol dehydrogenase (E subunit) AdhE1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adhE1 PE=1 SV=1	383	39365	adhE1	Rv0162c	0.00022902	
P9WGW3	Holliday junction ATP-dependent DNA helicase RuvA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ruvA PE=1 SV=1	196	20189	ruvA	Rv2593c	0.00022878	
O53406	Long-chain fatty acid--CoA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD14 PE=1 SV=1	543	59625	fadD14	Rv1058	0.00022688	
I6XI14	Possible cobyric acid synthase CobQ2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobQ2 PE=1 SV=1	231	24158	cobQ2	Rv3713	0.00022613	
P71840	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0787 PE=1 SV=2	319	34182	Rv0787	Rv0787	0.00022552	
P9WIL9	Protein PafC M. tuberculosis H37Rv GN=pafC	316	33764	pafC	Rv2095c	0.00022455	
P9WPK3	Carbamoyl-phosphate synthase large chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=carB PE=1 SV=1	1115	118961	carB	Rv1384	0.00022362	
O06769	Neutral ceramidase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0669c	637	69490	Rv0669c	Rv0669c	0.00022279	
P9WK49	Putative lipoprotein LprE M. tuberculosis H37Rv GN=lprE	202	20442	lprE	Rv1252c	0.00022198	
P9WH03	Ribonuclease 3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rnc PE=1 SV=1	240	25399	rnc	Rv2925c	0.00022175	
O06237	Lipoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppL PE=1 SV=1	358	36837	lppL	Rv2138	0.00022161	
P71791	GDP-L-fucose synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=epiA PE=1 SV=1	322	34537	epiA	Rv1512	0.00021731	
P9WPA3	Dephospho-CoA kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaE PE=1 SV=1	407	44669	coaE	Rv1631	0.00021552	
P71733	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2410c PE=1 SV=1	325	36021	Rv2410c	Rv2410c	0.00021531	
O07751	Amidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1879 PE=1 SV=1	378	41865	Rv1879	Rv1879	0.00021509	
P9WKP1	Uncharacterized protein Rv0940c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0940c PE=1 SV=1	288	31789	Rv0940c	Rv0940c	0.00021388	
P71980	Possible carboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1722 PE=1 SV=2	494	55461	Rv1722	Rv1722	0.00021347	
P9WGS9	Decaprenylphosphoryl-2-keto-beta-D-erythro-pentose reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dprE2 PE=1 SV=1	254	27469	dprE2	Rv3791	0.00021340	
P9WKJ3	Putative acetolactate synthase small subunit M. tuberculosis H37Rv GN=ilvH	168	18187	ilvH	Rv3002c	0.00021119	
P9WLH1	Uncharacterized protein Rv2237 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2237 PE=1 SV=1	255	29067	Rv2237	Rv2237	0.00020870	
I6YGH7	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE31 PE=1 SV=1	377	41332	fadE31	Rv3562	0.00020783	
I6XFA6	Lipoprotein LppU OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppU PE=1 SV=1	171	18133	lppU	Rv2784c	0.00020748	
O53695	Mycosin-3 M. tuberculosis H37Rv GN=mycP3	461	46127	mycP3	Rv0291	0.00020631	
P9WQG7	Putative succinyl-CoA transferase Rv0802c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0802c PE=1 SV=1	218	24983	Rv0802c	Rv0802c	0.00020569	
P9WIN5	Phthiocerol/phthiodiolone dimycocerosyl transferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=papA5 PE=1 SV=1	422	45429	papA5	Rv2939	0.00020552	
P9WL95	Uncharacterized protein Rv2568c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2568c PE=1 SV=1	341	38003	Rv2568c	Rv2568c	0.00020521	
P9WKK1	Translation initiation factor IF-2 M. tuberculosis H37Rv GN=infB	900	94041	infB	Rv2839c	0.00020423	
O05784	FAD-linked oxidase M. tuberculosis H37Rv GN=agpS	527	56521	agpS	Rv3107c	0.00020384	
O53620	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0075	390	42766	Rv0075	Rv0075	0.00020343	
P9WIK7	Trehalose-2-sulfate acyltransferase papA2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=papA2 PE=1 SV=1	468	52150	papA2	Rv3820c	0.00020323	
P9WM53	Type-5 uracil-DNA glycosylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=udgB PE=1 SV=1	268	28500	udgB	Rv1259	0.00020225	
P9WNR7	ESX-1 secretion system ATPase EccB1 M. tuberculosis H37Rv GN=eccB1	480	51093	eccB1	Rv3869	0.00020224	
P9WH87	50S ribosomal protein L3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rplC PE=1 SV=1	217	23090	rplC	Rv0701	0.00020211	
I6Y9K2	Probable restriction system protein Mrr OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mrr PE=1 SV=1	306	33648	mrr	Rv2528c	0.00020130	
O86318	Probable acetyl-/propionyl-CoA carboxylase (Beta subunit) AccD2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accD2 PE=1 SV=1	529	56256	accD2	Rv0974c	0.00020121	
I6X5I7	Possible multifunctional enzyme siroheme synthase CysG: uroporphyrin-III C-methyltransferase (Urogen III methylase) (SUMT) (Uroporphyrinogen III methylase) (UROM) + precorrin-2 oxidase + ferrochelatas... OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysG PE=1 SV=1	405	41970	cysG	Rv2847c	0.00020075	
P71538	Acetyl-CoA carboxylase subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accA2 PE=1 SV=2	667	70745	accA2	Rv0973c	0.00020021	
P9WQC1	Probable alcohol dehydrogenase AdhA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adhA PE=1 SV=1	346	36632	adhA	Rv1862	0.00019940	
I6Y0R5	Dihydrofolate synthase/folylpolyglutamate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folC PE=1 SV=1	487	50779	folC	Rv2447c	0.00019934	
O07755	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1874 PE=1 SV=1	228	24931	Rv1874	Rv1874	0.00019667	
P96374	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1026 PE=1 SV=2	319	33664	ppx2	Rv1026	0.00019618	
P9WP79	Coenzyme F420:L-glutamate ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fbiB PE=1 SV=1	448	47578	fbiB	Rv3262	0.00019579	
P9WQ55	Putative fatty-acid--CoA ligase FadD10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD10 PE=1 SV=1	540	56590	fadD10	Rv0099	0.00019529	
P9WKG9	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispD PE=1 SV=1	231	24074	ispD	Rv3582c	0.00019412	
O05858	Probable transcriptional regulatory protein (Probably TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3208 PE=1 SV=1	228	25166	Rv3208	Rv3208	0.00019236	
L0TB61	Conserved transmembrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2037c PE=1 SV=1	324	34689	Rv2037c	Rv2037c	0.00019011	
I6X827	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3683 PE=1 SV=1	319	34394	Rv3683	Rv3683	0.00019001	
P71615	Bifunctional oligoribonuclease and PAP phosphatase NrnA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrnA PE=1 SV=2	336	35415	nrnA	Rv2837c	0.00018918	
P71738	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2405 PE=1 SV=1	189	21259	Rv2405	Rv2405	0.00018772	
P96878	Probable transmembrane carbonic anhydrase (Carbonate dehydratase) (Carbonic dehydratase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3273 PE=1 SV=2	764	80566	Rv3273	Rv3273	0.00018704	
P9WGW7	Ribosomal RNA small subunit methyltransferase I OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rsmI PE=1 SV=1	285	29665	rsmI	Rv1003	0.00018673	
P9WMS1	Haloalkane dehalogenase 2 M. tuberculosis H37Rv GN=dhmA2	286	32151	dhmA2	Rv1833c	0.00018608	
O53901	Mycocerosic acid synthase-like polyketide synthase M. tuberculosis H37Rv GN=pks5 PE=1 SV=2	2108	223889	pksS	Rv1527c	0.00018467	
P9WNV9	Chaperone protein DnaJ 1 M. tuberculosis H37Rv GN=dnaJ1	395	41345	dnaJ1	Rv0352	0.00018213	
P9WHU5	Peptidoglycan endopeptidase RipB M. tuberculosis H37Rv GN=ripB	241	24624	ripB	Rv1478	0.00018198	
O69697	ATP-dependent DNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3730c PE=1 SV=1	346	38544	Rv3730c	Rv3730c	0.00018087	
P9WFU3	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pheS PE=1 SV=1	341	37371	pheS	Rv1649	0.00018064	
O53594	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3916c PE=1 SV=1	244	26609	Rv3916c	Rv3916c	0.00017974	
P9WHP7	tRNA pseudouridine synthase B M. tuberculosis H37Rv GN=truB	298	31820	truB	Rv2793c	0.00017859	
O05582	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0999	252	25970	Rv0999	Rv0999	0.00017794	
P96808	Probable acyl-CoA dehydrogenase FadE1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE1 PE=1 SV=1	447	50224	fadE1	Rv0131c	0.00017749	
I6WZK7	Multicopper oxidase MmcO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmcO PE=1 SV=1	504	53796	mmcO	Rv0846c	0.00017599	
L7N690	Peptidase M20 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=amiB1 PE=1 SV=1	394	40740	amiB1	Rv3306c	0.00017511	
O07742	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1890c PE=1 SV=1	203	22143	Rv1890c	Rv1890c	0.00017477	
P9WGP7	Epimerase family protein Rv2216 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2216	301	31672	Rv2216	Rv2216	0.00017354	
P71635	CRISPR-associated protein Csm6 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=csm6 PE=1 SV=5	415	46232	csm6	Rv2818c	0.00017335	
L0TC47	Lipase LipV OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lipV PE=1 SV=2	261	27868	lipV	Rv3203	0.00017180	
P9WHM3	Formyltetrahydrofolate deformylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purU PE=1 SV=1	310	34006	purU	Rv2964	0.00017167	
P9WK23	4-alpha-glucanotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=malQ PE=1 SV=1	724	79745	malQ	Rv1781c	0.00017152	
P9WJI7	Nicotinate phosphoribosyltransferase pncB2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pncB2 PE=1 SV=1	463	50509	pncB2	Rv0573c	0.00017135	
P9WGD9	Signal recognition particle receptor FtsY M. tuberculosis H37Rv GN=ftsY	422	44031	ftsY	Rv2921c	0.00017048	
P95141	4-hydroxyphenylalkanoate adenylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD29 PE=1 SV=1	619	67447	fadD29	Rv2950c	0.00017036	
P9WK15	Lysine N-acyltransferase MbtK OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtK PE=1 SV=1	210	23799	mbtK	Rv1347c	0.00016895	
P9WHI7	DNA repair protein RecN M. tuberculosis H37Rv GN=recN	587	62229	recN	Rv1696	0.00016705	
P9WFT7	Serine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=serS PE=1 SV=1	419	45324	serS	Rv3834c	0.00016700	
O53360	Phosphomannomutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pmmB PE=1 SV=1	534	56196	pmmB	Rv3308	0.00016610	

Lista de proteínas comunes identificadas en las 2 réplicas técnicas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* CFP ordenada de acuerdo al valor de abundancia NSAF

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
I6Y3Q0	Acyl-CoA dehydrogenase FadE27 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE27 PE=1 SV=1	373	39008	fadE27	Rv3505	0.00016514	
O06179	Putative monooxygenase Rv1533 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1533 PE=1 SV=1	375	39620	Rv1533	Rv1533	0.00016426	
I6XD69	Polyketide synthase Pks12 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pks12 PE=1 SV=1	4151	431607	pks12	Rv2048c	0.00016370	
O53664	Dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=htdX PE=1 SV=1	280	30195	htdX	Rv0241c	0.00016015	
O33177	Oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1774 PE=1 SV=1	446	48341	Rv1774	Rv1774	0.00015689	
P96877	Acyl-CoA transferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3272 PE=1 SV=1	394	42459	Rv3272	Rv3272	0.00015634	
P9WGK1	Hypoxia sensor histidine kinase response regulator DosT OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dosT PE=1 SV=1	573	62169	dosT	Rv2027c	0.00015480	
P9WKI9	Inositol-1-monophosphatase SuhB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=suhB PE=1 SV=1	290	30027	suhB	Rv2701c	0.00015462	
O33259	Methionine synthase M. tuberculosis H37Rv GN=metH	1192	130323	metH	Rv2124c	0.00015338	
I6YGW2	Peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3668c PE=1 SV=1	232	23120	Rv3668c	Rv3668c	0.00015293	
P9WHH3	Mycothione reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtr PE=1 SV=1	459	49946	mtr	Rv2855	0.00015245	
P9WJJ9	L-aspartate oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nadB PE=1 SV=1	527	53785	nadB	Rv1595	0.00015241	
P9WHP9	tRNA pseudouridine synthase A M. tuberculosis H37Rv GN=truA	297	32620	truA	Rv3455c	0.00015098	
O05819	Peptide synthetase MbtF (Peptide synthase) M. tuberculosis H37Rv GN=mbtF	1461	156748	mbtF	Rv2379c	0.00015077	
P9WK97	Elongation factor 4 M. tuberculosis H37Rv GN=lepA	653	72396	lepA	Rv2404c	0.00014866	
P95223	5-oxoprolinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=oplA PE=1 SV=2	1209	129650	oplA	Rv0266c	0.00014836	
L7N6A5	D-alpha-D-mannose-1-phosphate guanylyltransferase ManB (D-alpha-D-heptose-1-phosphate guanylyltransferase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=manB PE=1 SV=1	359	37857	manB	Rv3264c	0.00014824	
O07179	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA2 PE=1 SV=2	304	33086	echA2	Rv0456c	0.00014750	
P9WLH5	Uncharacterized protein Rv2228c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2228c PE=1 SV=1	364	39145	Rv2228c	Rv2228c	0.00014621	
P96811	Epoxide hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephF PE=1 SV=1	300	33797	ephF	Rv0134	0.00014619	
P9WFV5	Histidine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=hisS	423	45149	hisS	Rv2580c	0.00014562	
P9WGR9	Uncharacterized oxidoreductase Rv1350 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG2 PE=1 SV=1	247	25871	fabG2	Rv1350	0.00014364	
P9WGB3	Cobalamin biosynthesis protein CobIJ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobIJ PE=1 SV=1	508	53911	cobIJ	Rv2066	0.00014162	
I6YGF8	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3542c PE=1 SV=1	311	33972	Rv3542c	Rv3542c	0.00014102	
P9WG73	Thiazole synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thiG PE=1 SV=1	252	25878	thiG	Rv0417	0.00014079	
P9WGK7	Sensor-type histidine kinase PrrB M. tuberculosis H37Rv GN=prrB	446	47829	prrB	Rv0902c	0.00014031	
Q50732	Long conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2566 PE=1 SV=1	1140	124536	Rv2566	Rv2566	0.00014005	
P96824	Aldehyde dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0147	506	55035	Rv0147	Rv0147	0.00013829	
P9WQ97	Putative amidase AmiB2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=amiB2 PE=1 SV=1	462	49081	amiB2	Rv1263	0.00013758	
P9WKV3	L,D-transpeptidase 5 M. tuberculosis H37Rv GN=lprQ	451	47891	lprQ	Rv0483	0.00013658	
P9WHQ7	Amidophosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purF PE=1 SV=1	527	56162	purF	Rv0808	0.00013465	
P9WMU9	pH-sensitive adenylate cyclase Rv1264 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1264 PE=1 SV=1	397	42232	Rv1264	Rv1264	0.00013158	
P9WFP5	UPF0051 protein Rv1462 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1462 PE=1 SV=1	397	42523	Rv1462	Rv1462	0.00013158	
P71719	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtD PE=1 SV=3	1004	105592	mbtD	Rv2381c	0.00013105	
P9WLA9	Uncharacterized protein Rv2411c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2411c PE=1 SV=1	551	61383	Rv2411c	Rv2411c	0.00013057	
P9WG41	Acetolactate synthase large subunit IlvB1 M. tuberculosis H37Rv GN=ilvB1	618	66123	ilvB1	Rv3003c	0.00012997	
O53198	Probable alpha-glucosidase AglA (Maltase) (Glucoinvertase) (Glucosidosucrase) (Maltase-glucoamylase) (Lysosomal alpha-glucosidase) (Acid maltase) M. tuberculosis H37Rv GN=aglA	546	60444	aglA	Rv2471	0.00012996	
O07810	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3813c PE=1 SV=1	273	28533	Rv3813c	Rv3813c	0.00012996	
O06404	Possible conserved membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0538 PE=1 SV=1	548	55076	Rv0538	Rv0538	0.00012949	
P9WPQ7	Biotin synthase M. tuberculosis H37Rv GN=bioB	349	37550	bioB	Rv1589	0.00012848	
O06817	Molybdopterin oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=bisC	766	83390	bisC	Rv1442	0.00012802	
L7N650	Probable piperideine-6-carboxilic acid dehydrogenase Pcd (Piperideine-6-carboxylate dehydrogenase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pcd PE=1 SV=1	494	51344	pcd	Rv3293	0.00012469	
P9WPF5	Polyketide synthase-like Pks10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pks10 PE=1 SV=1	353	37146	pks10	Rv1660	0.00012424	
I6WZS8	Diacylglycerol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0926c PE=1 SV=1	358	37751	Rv0926c	Rv0926c	0.00012251	
P9WL97	Uncharacterized protein Rv2567 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2567 PE=1 SV=1	884	95449	Rv2567	Rv2567	0.00012040	
P9WQP7	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta 5-->4-isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1106c PE=1 SV=1	370	40742	Rv1106c	Rv1106c	0.00011853	
P9WL23	Uncharacterized protein Rv2915c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2915c PE=1 SV=1	370	39770	Rv2915c	Rv2915c	0.00011853	
P9WKW5	Uncharacterized membrane protein Rv3835 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3835	449	47043	Rv3835	Rv3835	0.00011853	
O65931	Probable arylsulfatase AtsB (Aryl-sulfate sulphohydrolase) (Sulfatase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=atsB PE=1 SV=3	970	105680	atsB	Rv3299c	0.00011837	
P9WNT7	DNA polymerase III subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=dnaE1	1184	129323	dnaE1	Rv1547	0.00011820	
P9WM55	Uncharacterized protein Rv1148c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1148c PE=1 SV=1	454	49718	Rv1148c	Rv1148c	0.00011722	
I6XHH2	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3531c PE=1 SV=1	375	41902	Rv3531c	Rv3531c	0.00011695	
P9WGI1	RNA polymerase sigma factor SigA M. tuberculosis H37Rv GN=sigA ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WGI5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WGI5	528	57800	sigA	Rv2703	0.00011666	Rv2710 (sigB)
P9WLN7	Uncharacterized protein Rv2000 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2000	537	59895	Rv2000	Rv2000	0.00011654	
I6YF40	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3075c PE=1 SV=1	307	33100	Rv3075c	Rv3075c	0.00011557	
O06380	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3627c	461	46834	Rv3627c	Rv3627c	0.00011544	
P9WIM9	Proline-rich 28 kDa antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mtc28	310	31924	mtc28	Rv0040c	0.00011445	
I6XF52	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2721c PE=1 SV=1	699	72372	Rv2721c	Rv2721c	0.00011209	
P9WGU7	Probable monoacyl phosphatidylinositol tetramannoside-binding protein LpqW M. tuberculosis H37Rv GN=lpqW	635	66130	lpqW	Rv1166	0.00011175	
O53585	Galactofuranosyltransferase GlfT2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glfT2 PE=1 SV=1	637	71507	glfT2	Rv3808c	0.00011139	
P9WN43	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgC PE=1 SV=1	404	43800	glgC	Rv1213	0.00011099	
P9WJL7	UDP-N-acetylmuramate--L-alanine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=murC PE=1 SV=1	494	51177	murC	Rv2152c	0.00010773	
I6XEK6	Endolytic murein transglycosylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mltG PE=1 SV=1	417	45474	mltG	Rv2553c	0.00010753	
P9WKP7	Uncharacterized protein Rv0897c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0897c PE=1 SV=1	535	56234	Rv0897c	Rv0897c	0.00009764	
P9WGT5	L-serine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sdaA PE=1 SV=1	461	48576	sdaA	Rv0069c	0.00009727	
P96872	Conserved protein (CPSA-related protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3267 PE=1 SV=2	498	51314	Rv3267	Rv3267	0.00009004	
O33268	FeS-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0338c	882	95486	Rv0338c	Rv0338c	0.00008884	
P9WLZ3	Uncharacterized protein Rv1367c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1367c PE=1 SV=2	401	43742	Rv1367c	Rv1367c	0.00008848	
O05854	Conserved alanine valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3212 PE=1 SV=1	407	42506	Rv3212	Rv3212	0.00008717	
P9WPU3	Potassium-transporting ATPase ATP-binding subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=kdpB PE=3 SV=1	709	74634	kdpB	Rv1030	0.00008688	
P9WI81	Serine/threonine-protein kinase PknB M. tuberculosis H37Rv GN=pknB	626	66510	pknB	Rv0014c	0.00008501	
P9WP77	FO synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fbiC PE=1 SV=1	856	92506	fbiC	Rv1173	0.00008290	
O05458	Mycosin-2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mycP2 PE=1 SV=1	550	55594	mycP2	Rv3886c	0.00008153	
O65936	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1751 PE=1 SV=1	460	50412	Rv1751	Rv1751	0.00007713	
P9WMV9	Cholesterol oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=choD PE=1 SV=1	578	63024	choD	Rv3409c	0.00007588	
P9WGD7	Signal recognition particle protein M. tuberculosis H37Rv GN=ffh	525	55002	ffh	Rv2916c	0.00006758	
P9WHJ3	Protein RecA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=recA PE=1 SV=1	790	85389	recA	Rv2737c	0.00006737	
P9WJV5	Trehalose monomycolate exporter MmpL3 M. tuberculosis H37Rv GN=mmpL3	944	100904	mmpL3	Rv0206c	0.00006629	
O33185	Possible bifunctional enzyme long-chain acyl-CoA synthase and lipase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1683 PE=1 SV=3	999	107395	Rv1683	Rv1683	0.00006067	
P9WFU7	Lysylphosphatidylglycerol biosynthesis bifunctional protein LysX M. tuberculosis H37Rv GN=lysX	1172	128240	lysX	Rv1640c	0.00005971	
P9WIQ5	RecBCD enzyme subunit RecC M. tuberculosis H37Rv GN=recC	1097	119501	recC	Rv0631c	0.00005794	
Q10896	Peptide synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=nrp	2512	269409	nrp	Rv0101	0.00004983	
P9WI73	Serine/threonine-protein kinase PknG OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pknG PE=1 SV=1	750	81577	pknG	Rv0410c	0.00004731	
P9WJV3	Siderophore exporter MmpL4 M. tuberculosis H37Rv GN=mmpL4	967	105234	mmpL4	Rv0450c	0.00004535	

Proteinas en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv con péptido señal predicho con la herramienta SignalP 5.0

Uniprot	Nombre del gen	Locus	Péptido señal predicho	Sitio de clivaje del péptido señal predicho	Descripción de la proteína
P9WQP3	fbpA	Rv3804c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 43-44. AGA-FS. Pr: 0.4209	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85A M. tuberculosis H37Rv GN=fbpA
P9WQP1	fbpB	Rv1886c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 40-41. AGA-FS. Pr: 0.3792	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85B M. tuberculosis H37Rv GN=fbpB
P9WIN9	mpt64	Rv1980c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 23-24. ATA-AP. Pr: 0.8122	Immunogenic protein MPT64 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt64
P9WIN7	mtb12	Rv2376c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. IMA-GG. Pr: 0.5835	Low molecular weight antigen MTB12 M. tuberculosis H37Rv GN=mtb12
P9WGU1	pstS1	Rv0934	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. AAG-CG. Pr: 0.9971	Phosphate-binding protein PstS 1 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS1
P9WIR7	apa	Rv1860	SP(Sec/SPI)	CS pos: 39-40. ANA-DP. Pr: 0.6809	Alanine and proline-rich secreted protein Apa M. tuberculosis H37Rv GN=apa
P9WK61	lpqH	Rv3763	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 21-22. LSG-CS. Pr: 0.9979	Lipoprotein LpqH M. tuberculosis H37Rv GN=lpqH
P9WQN9	fbpC	Rv0129c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 44-45. ATA-GA. Pr: 0.3502	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85C M. tuberculosis H37Rv GN=fbpC
P9WK45	lprG	Rv1411c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 26-27. VAG-CS. Pr: 0.9989	Lipoarabinomannan carrier protein LprG M. tuberculosis H37Rv GN=lprG
P9WK65	lppX	Rv2945c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 26-27. LSG-CS. Pr: 0.4818	Putative phthiocerol dimycocerosate transporter LppX M. tuberculosis H37Rv GN=lppX
I6YGW9	Rv3678c	Rv3678c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. VRT-GN. Pr: 0.1139	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3678c PE=1 SV=1
O50430	TB8.4	Rv1174c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 28-29. ASA-DP. Pr: 0.8121	Low molecular weight T-cell antigen OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB8.4 PE=1 SV=1
O50383	Rv3354	Rv3354	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. AQA-NP. Pr: 0.9197	Lipoprotein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3354
P9WNF3	mpt83	Rv2873	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. LAG-CS. Pr: 0.9979	Cell surface glycolipoprotein MPT83 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt83
I6Y231	mas	Rv2940c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 14-15. GMG-CR. Pr: 0.5497	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mas PE=1 SV=1
P9WNF5	mpt70	Rv2875	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. AAA-GD. Pr: 0.8178	Immunogenic protein MPT70 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt70
P9WQN7	mpt51	Rv3803c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 33-34. AKA-AP. Pr: 0.6637	MPT51/MPB51 antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mpt51
O07175	pepA	Rv0125	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. AQA-AP. Pr: 0.7861	Probable serine protease PepA (Serine proteinase) (MTB32A) M. tuberculosis H37Rv GN=pepA
O07242	Rv0315	Rv0315	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 31-32. AWA-DP. Pr: 0.7869	1,3-beta-glucanase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0315
O07222	Rv1810	Rv1810	SP(Sec/SPI)	CS pos: 35-36. GKA-DP. Pr: 0.7731	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1810 PE=1 SV=4
P9WKL3	Rv0559c	Rv0559c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. AQA-DD. Pr: 0.9919	Uncharacterized protein Rv0559c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0559c
P9WK55	lprA	Rv1270c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. IGG-CS. Pr: 0.9917	Lipoprotein LprA M. tuberculosis H37Rv GN=lprA
P9WM15	Rv1352	Rv1352	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. ARA-ET. Pr: 0.9810	Uncharacterized protein Rv1352 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1352
P9WK63	lpqE	Rv3584	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 29-30. LSG-CG. Pr: 0.9945	Putative lipoprotein LpqE M. tuberculosis H37Rv GN=lpqE
P9WG65	mpt53	Rv2878c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 37-38. AVA-AD. Pr: 0.7385	Soluble secreted antigen MPT53 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt53
Q79FR3	PE13	Rv1195	SP(Sec/SPI)	CS pos: 33-34. AAA-AP. Pr: 0.2334	PE family protein PE13 M. tuberculosis H37Rv GN=PE13
I6YF08	TB22.2	Rv3036c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 22-23. AAG-AP. Pr: 0.5341	Probable conserved secreted protein TB22.2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB22.2 PE=1 SV=1
P9WIP1	mpt63	Rv1926c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. ALA-AY. Pr: 0.9447	Immunogenic protein MPT63 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt63
P9WP43	cfp21	Rv1984c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. AHA-DP. Pr: 0.8632	Probable cutinase Rv1984c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1984c
P9WGT9	pstS2	Rv0932c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 22-23. LTA-CG. Pr: 0.9957	Phosphate-binding protein PstS 2 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS2
I6Y293	lppZ	Rv3006	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. SSG-CA. Pr: 0.9957	Probable conserved lipoprotein LppZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppZ PE=1 SV=1
L7N695	PE5	Rv0285	SP(Sec/SPI)	CS pos: 31-32. ASA-AP. Pr: 0.3366	PE family immunomodulator PE5 M. tuberculosis H37Rv GN=PE5 ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6MX17, Q6MX19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6MX17, Q6MX19
A0A089QRB9	msl3	Rv1180/Rv1181	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 15-16. GMA-CR. Pr: 0.8474	Mycolipanoate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=msl3 PE=1 SV=2
P9WGT7	pstS3	Rv0928	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 22-23. LSA-CG. Pr: 0.9975	Phosphate-binding protein PstS 3 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS3
P9WK47	lprF	Rv1368	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 38-39. VAG-CG. Pr: 0.9458	Putative diacylated glycolipid transporter LprF M. tuberculosis H37Rv GN=lprF
P9WGE9	sodC	Rv0432	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 32-33. LSA-CS. Pr: 0.9094	Superoxide dismutase [Cu-Zn] M. tuberculosis H37Rv GN=sodC
O07726	Rv1906c	Rv1906c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. AGA-DP. Pr: 0.6566	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1906c PE=1 SV=3
P96264	lpqL	Rv0418	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. TTG-CI. Pr: 0.9886	Probable lipoprotein aminopeptidase LpqL M. tuberculosis H37Rv GN=lpqL
P9WQ79	gabT	Rv2589	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 45-46. ARA-GG. Pr: 0.5474	4-aminobutyrate aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabT PE=1 SV=1
O07236	Rv0309	Rv0309	SP(Sec/SPI)	CS pos: 27-28. SLA-VV. Pr: 0.6174	Possible conserved exported protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0309
P9WPR9	Rv1488	Rv1488	SP(Sec/SPI)	CS pos: 34-35. AEA-AV. Pr: 0.4876	Uncharacterized protein Rv1488 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1488
O53780	lpqN	Rv0583c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 19-20. LAG-CS. Pr: 0.9995	Probable conserved lipoprotein LpqN M. tuberculosis H37Rv GN=lpqN
P96257	glnH	Rv0411c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 25-26. LAS-CG. Pr: 0.9760	ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=glnH
O53531	Rv2257c	Rv2257c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 27-28. VLA-TH. Pr: 0.2356	Beta-lactamase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2257c PE=1 SV=1
I6X8R5	Rv0203	Rv0203	SP(Sec/SPI)	CS pos: 36-37. ATG-AS. Pr: 0.3651	Heme-binding protein Rv0203 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0203
O06624	Rv1566c	Rv1566c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. AAA-DP. Pr: 0.5576	Possible Inv protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1566c PE=1 SV=3
O69721	tyrA	Rv3754	SP(Sec/SPI)	CS pos: 27-28. AAA-AA. Pr: 0.3959	Prephenate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tyrA PE=1 SV=4
P9WL83	Rv2576c	Rv2576c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 45-46. ARA-DP. Pr: 0.7826	Uncharacterized protein Rv2576c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2576c
I6Y4D2	Rv3717	Rv3717	SP(Sec/SPI)	CS pos: 19-20. ASA-TP. Pr: 0.3304	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase Rv3717 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3717 PE=1 SV=1
P9WKV9	Rv0477	Rv0477	SP(Sec/SPI)	CS pos: 23-24. AQA-DP. Pr: 0.9443	Uncharacterized protein Rv0477 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0477
P9WKD3	blaC	Rv2068c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. VTG-CA. Pr: 0.6983	Beta-lactamase M. tuberculosis H37Rv GN=blaC
P9WGA1	tatA	Rv2094c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 31-32. ARS-LG. Pr: 0.1780	Sec-independent protein translocase protein TatA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=tatA PE=1 SV=1
P9WP35	qcrC	Rv2194	SP(Sec/SPI)	CS pos: 54-55. AVA-DE. Pr: 0.7962	Cytochrome bc1 complex cytochrome c subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=qcrC PE=1 SV=1
P9WLX9	Rv1419	Rv1419	SP(Sec/SPI)	CS pos: 33-34. ASA-DG. Pr: 0.6067	Uncharacterized protein Rv1419 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1419
P9WK29	Rv1899c	Rv1899c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 43-44. GAG-CA. Pr: 0.2515	Uncharacterized protein Rv1899c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1899c
I6X7P2	Rv3572	Rv3572	SP(Sec/SPI)	CS pos: 24-25. TSA-AG. Pr: 0.4773	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3572 PE=1 SV=1
O53444	Rv1096	Rv1096	SP(Sec/SPI)	CS pos: 38-39. TRA-EN. Pr: 0.7955	Carbohydrate degradation protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1096
O53291	fecB	Rv3044	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 19-20. SSG-CG. Pr: 0.9930	Fe3+-citrate ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=fecB
P9WK21	map-1	Rv0734	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 42-43. AAA-AP. Pr: 0.4128	Methionine aminopeptidase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=map-1 PE=1 SV=1
P9WP41	cut2	Rv2301	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 32-33. VPA-GY. Pr: 0.4168	Probable cutinase cut2 M. tuberculosis H37Rv GN=cut2
L0TBR2	Rv2251	Rv2251	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 19-20. ATG-CC. Pr: 0.7238	Possible flavoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2251 PE=1 SV=1
P9WM45	Rv1269c	Rv1269c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 35-36. ANA-AD. Pr: 0.9547	Protein Rv1269c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1269c
I6XEI5	Rv2525c	Rv2525c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 35-36. ASA-GS. Pr: 0.6051	Putative peptidoglycan hydrolase Rv2525c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2525c
P9WPG9	cdh	Rv2289	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 32-33. VPA-RP. Pr: 0.3847	Probable CDP-diacylglycerol pyrophosphatase M. tuberculosis H37Rv GN=cdh
P71744	subI	Rv2400c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 37-38. GVG-CH. Pr: 0.7570	Probable sulfate-binding lipoprotein SubI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=subI PE=1 SV=1
P71965	Rv2668	Rv2668	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. AWA-GD. Pr: 0.5892	Possible exported alanine and valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2668 PE=1 SV=1
L7N6B0	lpqI	Rv0237	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 19-20. VVA-CS. Pr: 0.9818	Beta-glucosidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqI PE=1 SV=1
P9WGC1	Rv1339	Rv1339	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. VLG-CS. Pr: 0.9705	Uncharacterized protein Rv1339 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1339 PE=1 SV=1
I6Y4U9	Rv0799c	Rv0799c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 28-29. IGA-DG. Pr: 0.1760	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0799c PE=1 SV=1

Proteinas en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv con péptido señal predicho con la herramienta SignalP 5.0

Uniprot	Nombre del gen	Locus	Péptido señal predicho	Sitio de clivaje del péptido señal predicho	Descripción de la proteína
O53608	Rv0063	Rv0063	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 31-32. ATA-DP. Pr: 0.7281	Oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0063
P9WHR3	caeA	Rv2224c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 30-31. LVG-CI. Pr: 0.9103	Carboxylesterase A M. tuberculosis H37Rv GN=caeA
P9WK37	lpqB	Rv3244c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 19-20. LAG-CA. Pr: 0.9952	Lipoprotein LpqB M. tuberculosis H37Rv GN=lpqB
O53740	Rv0455c	Rv0455c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. AAA-DS. Pr: 0.6126	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0455c PE=1 SV=3
P95206	Rv0398c	Rv0398c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 28-29. AGA-EP. Pr: 0.7152	Possible secreted protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0398c
O53489	lppI	Rv2046	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 15-16. IAG-CS. Pr: 0.9971	Probable lipoprotein LppI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppI PE=1 SV=1
I6Y204	dacB2	Rv2911	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. AWA-DA. Pr: 0.7800	D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dacB2 PE=1 SV=1
P9WFI3	Rv0830	Rv0830	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 29-30. ALA-AD. Pr: 0.8688	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0830 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0830
I6XI06	Rv3705c	Rv3705c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. ADA-HP. Pr: 0.9247	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3705c PE=1 SV=1
I6Y3N9	Rv0397A	Rv0397A	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. AHA-DT. Pr: 0.9942	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0397A PE=1 SV=1
O06392	Rv0526	Rv0526	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 30-31. LTG-CS. Pr: 0.9296	Possible thioredoxin protein (Thiol-disulfide interchange protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0526
P72062	Rv3796	Rv3796	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 43-44. ASA-CS. Pr: 0.5854	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3796 PE=1 SV=2
P9WK59	lpqT	Rv1016c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 29-30. AVA-CG. Pr: 0.9883	Putative lipoprotein LpqT M. tuberculosis H37Rv GN=lpqT
O50459	lpqZ	Rv1244	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 22-23. VAG-CS. Pr: 0.9884	Lipoprotein LpqZ M. tuberculosis H37Rv GN=lpqZ
P9WIY3	mutT1	Rv2985	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 30-31. GSA-DS. Pr: 0.3636	Probable 8-oxo-dGTP diphosphatase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mutT1 PE=1 SV=1
P9WIB9	Rv1885c	Rv1885c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 33-34. ARA-DG. Pr: 0.9579	Secreted chorismate mutase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1885c
I6YB54	Rv3096	Rv3096	SP(Sec/SPI)	CS pos: 27-28. AAA-EE. Pr: 0.9402	1,4-beta-xylanase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3096 PE=1 SV=1
L7N6B2	Rv0265c	Rv0265c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 40-41. GAA-VT. Pr: 0.1462	Iron ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0265c PE=1 SV=1
P9WFN3	lppC	Rv1911c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. LGG-CG. Pr: 0.9980	Putative lipoprotein LppC M. tuberculosis H37Rv GN=lppC PE=1 SV=2
P9WN77	gpsA	Rv2982c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. VLA-DA. Pr: 0.4277	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpsA PE=1 SV=1
O06619	Rv1571	Rv1571	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 43-44. SLA-VA. Pr: 0.1519	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1571 PE=1 SV=1
I6X811	dppA	Rv3666c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. VAG-CG. Pr: 0.9918	ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dppA PE=1 SV=1
P9WFN5	Rv1910c	Rv1910c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. AYG-GN. Pr: 0.1221	UPF0098 protein Rv1910c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1910c
I6YAY5	Rv3033	Rv3033	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. PTA-CS. Pr: 0.9139	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3033 PE=1 SV=1
I6YAE2	Rv2843	Rv2843	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 46-47. APA-VE. Pr: 0.2713	Probable conserved transmembrane alanine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2843 PE=1 SV=1
I6WZ30	Rv0679c	Rv0679c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 32-33. LAG-CS. Pr: 0.9270	Conserved threonine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0679c PE=1 SV=1
P9WFJ5	Rv2345	Rv2345	SP(Sec/SPI)	CS pos: 26-27. AGA-QP. Pr: 0.9665	UPF0603 protein Rv2345 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2345
P9WK71	lppO	Rv2290	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 28-29. LPA-CS. Pr: 0.7678	Putative lipoprotein LppO M. tuberculosis H37Rv GN=lppO
P71750	ggtB	Rv2394	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 20-21. LSG-CG. Pr: 0.9906	Gamma-glutamyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=ggtB PE=1 SV=2
O53505	lppM	Rv2171	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. ATG-CL. Pr: 0.8648	Protein LppM M. tuberculosis H37Rv GN=lppM PE=1 SV=3
P9WIH1	PE15	Rv1386	SP(Sec/SPI)	CS pos: 31-32. AAA-AP. Pr: 0.1906	PE family immunomodulator PE15 M. tuberculosis H37Rv GN=PE15
O53850	lpqR	Rv0838	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 22-23. ACA-CD. Pr: 0.5954	D-alanyl-D-alanine dipeptidase M. tuberculosis H37Rv GN=lpqR
I6YGX2	ponA2	Rv3682	SP(Sec/SPI)	CS pos: 27-28. ATA-LT. Pr: 0.1425	Penicillin-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ponA2 PE=1 SV=1
O69725	proX	Rv3759c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 26-27. VAS-CA. Pr: 0.7897	Glycine/betaine ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=proX
P95291	Rv1922	Rv1922	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 24-25. LGG-CT. Pr: 0.9633	Probable conserved lipoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1922 PE=1 SV=1
O53410	Rv1062	Rv1062	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 28-29. GIA-DE. Pr: 0.3867	Patatin OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1062 PE=1 SV=3
P9WKP3	Rv0906	Rv0906	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 33-34. ALG-AD. Pr: 0.3862	Uncharacterized protein Rv0906 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0906 PE=1 SV=1
P71969	Rv2672	Rv2672	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 29-30. LAA-CV. Pr: 0.5786	Possible secreted protease M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2672
P9WKE7	thrB	Rv1296	SP(Sec/SPI)	CS pos: 22-23. SSA-NL. Pr: 0.2103	Homoserine kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thrB PE=1 SV=1
P96272	Rv0426c	Rv0426c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 44-45. TGA-AK. Pr: 0.0708	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0426c PE=1 SV=1
O05592	Rv1006	Rv1006	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 26-27. LNG-CS. Pr: 0.9521	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1006
I6Y8R4	Rv0774c	Rv0774c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 41-42. SHA-AP. Pr: 0.5047	Esterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0774c PE=1 SV=1
P95202	Rv0394c	Rv0394c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. FDA-IE. Pr: 0.1291	Possible secreted protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0394c PE=1 SV=1
I6X9E2	lpqO	Rv0604	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 22-23. LTA-CA. Pr: 0.9851	Peptidase M23B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqO PE=1 SV=1
P9WHK7	pyrG	Rv1699	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 39-40. ARG-LH. Pr: 0.2290	CTP synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyrG PE=1 SV=1
O53945	mycP5	Rv1796	SP(Sec/SPI)	CS pos: 39-40. AYA-IS. Pr: 0.9653	Mycosin-5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mycP5 PE=1 SV=1
O05859	Rv3207c	Rv3207c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 37-38. AAA-QT. Pr: 0.6523	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3207c PE=1 SV=1
P9WLS1	Rv1813c	Rv1813c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 32-33. VDA-HL. Pr: 0.7031	Uncharacterized protein Rv1813c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1813c PE=1 SV=1
P9WGU9	lpqY	Rv1235	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 25-26. AAA-CG. Pr: 0.9516	Trehalose-binding lipoprotein LpqY OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqY PE=1 SV=1
P9WK77	lppJ	Rv2080	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 28-29. LAG-CA. Pr: 0.9693	Putative lipoprotein LppJ M. tuberculosis H37Rv GN=lppJ
I6WZD9	Rv0765c	Rv0765c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 27-28. ATA-TE. Pr: 0.2076	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0765c PE=1 SV=1
P9WPK3	carB	Rv1384	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. GQA-CE. Pr: 0.7425	Carbamoyl-phosphate synthase large chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=carB PE=1 SV=1
P9WK49	lprE	Rv1252c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 28-29. LTG-CG. Pr: 0.9895	Putative lipoprotein LprE M. tuberculosis H37Rv GN=lprE
O06237	lppL	Rv2138	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 25-26. VAG-CS. Pr: 0.9907	Lipoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppL PE=1 SV=1
P9WPA3	coaE	Rv1631	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. FSQ-CG. Pr: 0.4876	Dephospho-CoA kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaE PE=1 SV=1
I6XFA6	lppU	Rv2784c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 18-19. ATG-CS. Pr: 0.9903	Lipoprotein LppU OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppU PE=1 SV=1
O53695	mycP3	Rv0291	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. AWA-IG. Pr: 0.8527	Mycosin-3 M. tuberculosis H37Rv GN=mycP3
O53901	pks5	Rv1527c	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 23-24. GMG-CR. Pr: 0.6932	Mycocerosic acid synthase-like polyketide synthase M. tuberculosis H37Rv GN=pks5 PE=1 SV=2
P9WHU5	ripB	Rv1478	SP(Sec/SPI)	CS pos: 31-32. ADA-EP. Pr: 0.9299	Peptidoglycan endopeptidase RipB M. tuberculosis H37Rv GN=ripB
O05582	Rv0999	Rv0999	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 49-50. LVG-CS. Pr: 0.3095	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0999
I6WZK7	mmcO	Rv0846c	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 44-45. SGA-AG. Pr: 0.2326	Multicopper oxidase MmcO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmcO PE=1 SV=1
P9WGP7	Rv2216	Rv2216	SP(Sec/SPI)	CS pos: 25-26. LRA-AD. Pr: 0.5023	Epimerase family protein Rv2216 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2216

Proteinas en el sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv con péptido señal predicho con la herramienta SignalP 5.0

Uniprot	Nombre del gen	Locus	Péptido señal predicho	Sitio de clivaje del péptido señal predicho	Descripción de la proteína
I6YGW2	Rv3668c	Rv3668c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 29-30. AAA-DD. Pr: 0.6291	Peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3668c PE=1 SV=1
P9WKV3	lprQ	Rv0483	TAT(Tat/SPI)	CS pos: 50-51. ACA-GK. Pr: 0.1575	L,D-transpeptidase 5 M. tuberculosis H37Rv GN=lprQ
O06380	Rv3627c	Rv3627c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 30-31. AAA-LV. Pr: 0.1131	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3627c
P9WIM9	mtc28	Rv0040c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 32-33. ASA-DP. Pr: 0.8223	Proline-rich 28 kDa antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mtc28
I6XF52	Rv2721c	Rv2721c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 35-36. VAA-SP. Pr: 0.6843	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2721c PE=1 SV=1
P9WGU7	lpqW	Rv1166	LIPO(Sec/SPII)	CS pos: 27-28. LAG-CT. Pr: 0.5974	Probable monoacyl phosphatidylinositol tetramannoside-binding protein LpqW M. tuberculosis H37Rv GN=lpqW
P96872	Rv3267	Rv3267	SP(Sec/SPI)	CS pos: 38-39. VRS-FE. Pr: 0.5601	Conserved protein (CPSA-related protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3267 PE=1 SV=2
O05854	Rv3212	Rv3212	SP(Sec/SPI)	CS pos: 37-38. ARA-TI. Pr: 0.5557	Conserved alanine valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3212 PE=1 SV=1
O05458	mycP2	Rv3886c	SP(Sec/SPI)	CS pos: 33-34. AQA-IP. Pr: 0.8504	Mycosin-2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mycP2 PE=1 SV=1

Analisis intregrativo - Proteínas compartidas, detectadas consistentemente en el CFP de M. tuberculosis

Percentil 95
Percentil 90

Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	SignalP 5.0	Categoría funcional
P9WPE5	10 kDa chaperonin M. tuberculosis H37Rv GN=groS	**0.037850652**	Rv3418c	groS	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WNK5	ESAT-6-like protein EsxB M. tuberculosis H37Rv GN=esxB	**0.03534559**	Rv3874	esxB	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WNK7	6 kDa early secretory antigenic target M. tuberculosis H37Rv GN=esxA	**0.023077838**	Rv3875	esxA	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WMJ9	Chaperone protein DnaK M. tuberculosis H37Rv GN=dnaK	**0.015096953**	Rv0350	dnaK	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WNI7	ESAT-6-like protein EsxO M. tuberculosis H37Rv GN=esxO ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DOA7	**0.014909239**	Rv2346c	esxO	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WNJ5	ESAT-6-like protein EsxL M. tuberculosis H37Rv GN=esxL	**0.010526446**	Rv1198	esxL	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WQP3	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85A M. tuberculosis H37Rv GN=fbpA	**0.010362654**	Rv3804c	fbpA	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	lipid metabolism
P9WN39	Glutamine synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=glnA1	**0.008702931**	Rv2220	glnA1	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WQP1	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85B M. tuberculosis H37Rv GN=fbpB	**0.00774178**	Rv1886c	fbpB	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	lipid metabolism
P9WIE5	Catalase-peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=katG	**0.006402673**	Rv1908c	katG	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WIN9	Immunogenic protein MPT64 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt64	**0.006027765**	Rv1980c	mpt64	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WGV3	Adenosylhomocysteinase M. tuberculosis H37Rv GN=ahcY	**0.005691271**	Rv3248c	ahcY	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGE7	Superoxide dismutase [Fe] M. tuberculosis H37Rv GN=sodB	**0.005403772**	Rv3846	sodB	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WG67	Thioredoxin M. tuberculosis H37Rv GN=trxA	**0.005360956**	Rv3914	trxA	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WN83	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=gap	**0.005349304**	Rv1436	gap	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WJA9	Glycogen accumulation regulator GarA M. tuberculosis H37Rv GN=garA	**0.005250119**	Rv1827	garA	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHW3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A M. tuberculosis H37Rv GN=ppiA	**0.005165939**	Rv0009	ppiA	YES	YES	YES	OTHER	information pathways
I6Y778	3-ketoacyl-ACP reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG4 PE=1 SV=1	**0.004955993**	Rv0242c	fabG4	YES	YES	YES	OTHER	lipid metabolism
P9WIN7	Low molecular weight antigen MTB12 M. tuberculosis H37Rv GN=mtb12	**0.004939459**	Rv2376c	mtb12	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
O53422	Acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA3	**0.004673459**	Rv1074c	fadA3	YES	YES	YES	OTHER	lipid metabolism
P9WG35	Probable thiol peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=tpx	**0.004354387**	Rv1932	tpx	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WGU1	Phosphate-binding protein PstS 1 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS1	0.004113453	Rv0934	pstS1	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WKD7	Ribose-5-phosphate isomerase B M. tuberculosis H37Rv GN=rpiB	0.004006001	Rv2465c	rpiB	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WIS9	Pyruvate dehydrogenase E1 component M. tuberculosis H37Rv GN=aceE PE=1 SV=2	0.003994093	Rv2241	aceE	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O53166	Aconitate hydratase A M. tuberculosis H37Rv GN=acn	0.003966727	Rv1475c	acn	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WHH9	Dihydrolipoyl dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=lpdC	0.00381684	Rv0462	lpdC	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFN1	UPF0098 protein Rv2140c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2140c	0.003754607	Rv2140c	Rv2140c	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
P9WG33	Transaldolase M. tuberculosis H37Rv GN=tal	0.0036859	Rv1448c	tal	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK17	Malate synthase G M. tuberculosis H37Rv GN=glcB	0.003654189	Rv1837c	glcB	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WIR7	Alanine and proline-rich secreted protein Apa M. tuberculosis H37Rv GN=apa	0.003649587	Rv1860	apa	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
O53692	ESAT-6-like protein EsxG M. tuberculosis H37Rv GN=esxG	0.003495053	Rv0287	esxG	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WQN9	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85C M. tuberculosis H37Rv GN=fbpC	0.003418936	Rv0129c	fbpC	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	lipid metabolism
P9WIH3	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP] M. tuberculosis H37Rv GN=pckG	0.003354231	Rv0211	pckG	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WNE5	Ferritin BfrB M. tuberculosis H37Rv GN=bfrB	0.003321441	Rv3841	bfrB	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WPQ9	Bacterioferritin M. tuberculosis H37Rv GN=bfr	0.003204605	Rv1876	bfr	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WQ73	Phosphoserine aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=serC	0.003182076	Rv0884c	serC	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WN93	Fumarate hydratase class II M. tuberculosis H37Rv GN=fumC	0.003055358	Rv1098c	fumC	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O53611	Isocitrate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=icd2	0.003030723	Rv0066c	icd2	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WG25	Transketolase M. tuberculosis H37Rv GN=tkt	0.002991854	Rv1449c	tkt	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK65	Putative phthiocerol dimycocerosate transporter LppX M. tuberculosis H37Rv GN=lppX	0.002960854	Rv2945c	lppX	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
I6YEH6	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA16 PE=1 SV=1	0.002857641	Rv2831	echA16	YES	YES	YES	OTHER	lipid metabolism
P9WQA3	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fba PE=1 SV=1	0.002773275	Rv0363c	fba	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O50430	Low molecular weight T-cell antigen OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB8.4 PE=1 SV=1	0.002544548	Rv1174c	TB8.4	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WG69	Probable acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA4	0.002542449	Rv1323	fadA4	YES	YES	YES	OTHER	lipid metabolism
I6XY36	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1498A PE=1 SV=1	0.002534234	Rv1498A	Rv1498A	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHT9	Proteasome subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=prcB	0.002406268	Rv2110c	prcB	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGD5	Single-stranded DNA-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=ssb	0.002265543	Rv0054	ssb	YES	YES	YES	OTHER	information pathways
P9WNF3	Cell surface glycolipoprotein MPT83 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt83	0.002262243	Rv2873	mpt83	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WJH7	Nucleoside diphosphate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=ndkA	0.002210224	Rv2445c	ndkA	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O69689	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3722c PE=1 SV=2	0.002201074	Rv3722c	Rv3722c	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
P9WP51	Putative cystathionine beta-synthase Rv1077 M. tuberculosis H37Rv GN=cbs	0.0020964	Rv1077	cbs	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WNF5	Immunogenic protein MPT70 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt70	0.002017039	Rv2875	mpt70	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WQN7	MPT51/MPB51 antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mpt51	0.001995775	Rv3803c	mpt51	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	lipid metabolism
O53146	NADPH--quinone reductase M. tuberculosis H37Rv GN=qor PE=1 SV=3	0.001992123	Rv1454c	qor	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O07175	Probable serine protease PepA (Serine proteinase) (MTB32A) M. tuberculosis H37Rv GN=pepA	0.001978003	Rv0125	pepA	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	intermediary metabolism and respiration
O07242	1,3-beta-glucanase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0315	0.001930845	Rv0315	Rv0315	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	intermediary metabolism and respiration
O07222	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1810 PE=1 SV=4	0.001929363	Rv1810	Rv1810	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
P9WKL3	Uncharacterized protein Rv0559c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0559c	0.001900676	Rv0559c	Rv0559c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WP55	O-acetylserine sulfhydrylase M. tuberculosis H37Rv GN=cysK1	0.00185187	Rv2334	cysK1	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O53554	Putative acetolactate synthase large subunit IlvX M. tuberculosis H37Rv GN=ilvX	0.001815094	Rv3509c	ilvX	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WQB3	2-isopropylmalate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=leuA	0.001798127	Rv3710	leuA	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK55	Lipoprotein LprA M. tuberculosis H37Rv GN=lprA	0.001748913	Rv1270c	lprA	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WG81	Bifunctional protein FolD M. tuberculosis H37Rv GN=folD	0.001723836	Rv3356c	folD	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK63	Putative lipoprotein LpqE M. tuberculosis H37Rv GN=lpqE	0.001692225	Rv3584	lpqE	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WG65	Soluble secreted antigen MPT53 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt53	0.001677719	Rv2878c	mpt53	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P71898	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2314c	0.001644368	Rv2314c	Rv2314c	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
L7N657	Conserved protein TB18.5 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB18.5 PE=1 SV=1	0.001582398	Rv0164	TB18.5	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
I6YF08	Probable conserved secreted protein TB22.2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=TB22.2 PE=1 SV=1	0.001558631	Rv3036c	TB22.2	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WNU1	DNA polymerase III subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=dnaN	0.001442829	Rv0002	dnaN	YES	YES	YES	OTHER	information pathways
P9WIP1	Immunogenic protein MPT63 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt63	0.00143804	Rv1926c	mpt63	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WP43	Probable cutinase Rv1984c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1984c	0.00142835	Rv1984c	Rv1984c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WGT9	Phosphate-binding protein PstS 2 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS2	0.001425059	Rv0932c	pstS2	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P95146	Probable reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1869c	0.001384823	Rv1869c	Rv1869c	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6Y293	Probable conserved lipoprotein LppZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppZ PE=1 SV=1	0.001381858	Rv3006	lppZ	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WID1	Phosphoglycerate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=pgk	0.001253438	Rv1437	pgk	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WJD9	ESX-1 secretion-associated protein EspB M. tuberculosis H37Rv GN=espB	0.001245861	Rv3881c	espB	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WGT7	Phosphate-binding protein PstS 3 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS3	0.001215952	Rv0928	pstS3	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
O50398	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3369	0.001160079	Rv3369	Rv3369	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
O07726	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1906c PE=1 SV=3	0.001083451	Rv1906c	Rv1906c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
O07236	Possible conserved exported protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0309	0.001057868	Rv0309	Rv0309	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
O53780	Probable conserved lipoprotein LpqN M. tuberculosis H37Rv GN=lpqN	0.001011471	Rv0583c	lpqN	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P96257	ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=glnH	0.000987066	Rv0411c	glnH	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WKD3	Beta-lactamase M. tuberculosis H37Rv GN=blaC	0.000873165	Rv2068c	blaC	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	intermediary metabolism and respiration
P9WLX9	Uncharacterized protein Rv1419 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1419	0.000844303	Rv1419	Rv1419	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
I6X7P2	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3572 PE=1 SV=1	0.000806347	Rv3572	Rv3572	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
O53291	Fe3+-citrate ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=fecB	0.000756329	Rv3044	fecB	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WP41	Probable cutinase cut2 M. tuberculosis H37Rv GN=cut2	0.000739138	Rv2301	cut2	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	cell wall and cell processes
L0TBR2	Possible flavoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2251 PE=1 SV=1	0.000731365	Rv2251	Rv2251	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	intermediary metabolism and respiration
P9WM45	Protein Rv1269c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1269c	0.000723239	Rv1269c	Rv1269c	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	cell wall and cell processes

Analisis intregrativo - Proteínas compartidas, detectadas consistentemente en el CFP de M. tuberculosis

Percentil 95
Percentil 90

Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	SignalP 5.0	Categoría funcional
P71965	Possible exported alanine and valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2668 PE=1 SV=1	0.000663676	Rv2668	Rv2668	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
L7N6B0	Beta-glucosidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqI PE=1 SV=1	0.000661683	Rv0237	lpqI	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
O53608	Oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0063	0.000629591	Rv0063	Rv0063	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	intermediary metabolism and respiration
P9WHR3	Carboxylesterase A M. tuberculosis H37Rv GN=caeA	0.000614064	Rv2224c	caeA	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WK37	Lipoprotein LpqB M. tuberculosis H37Rv GN=lpqB	0.000606093	Rv3244c	lpqB	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
I6XFB7	Probable membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2799 PE=1 SV=1	0.000603562	Rv2799	Rv2799	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
O53740	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0455c PE=1 SV=3	0.000599312	Rv0455c	Rv0455c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
P95206	Possible secreted protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0398c	0.000578376	Rv0398c	Rv0398c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WL85	Uncharacterized protein Rv2575 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2575	0.000541547	Rv2575	Rv2575	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
I6XI06	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3705c PE=1 SV=1	0.000541119	Rv3705c	Rv3705c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
O53572	Probable conserved membrane protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3587c PE=1 SV=3	0.000537565	Rv3587c	Rv3587c	YES	YES	YES	OTHER	cell wall and cell processes
P9WN15	Uncharacterized glycosyl hydrolase Rv2006 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2006	0.000534729	Rv2006	Rv2006	YES	YES	YES	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
O06392	Possible thioredoxin protein (Thiol-disulfide interchange protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0526	0.000527002	Rv0526	Rv0526	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	intermediary metabolism and respiration
P9WHR9	Serine protease Rv3671c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3671c	0.000489049	Rv3671c	Rv3671c	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
L7N6B2	Iron ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0265c PE=1 SV=1	0.000433032	Rv0265c	Rv0265c	YES	YES	YES	TAT(Tat/SPI)	cell wall and cell processes
P9WFN3	Putative lipoprotein LppC M. tuberculosis H37Rv GN=lppC PE=1 SV=2	0.000431499	Rv1911c	lppC	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P9WFN5	UPF0098 protein Rv1910c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1910c	0.000399603	Rv1910c	Rv1910c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
I6YAY5	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3033 PE=1 SV=1	0.000395286	Rv3033	Rv3033	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	conserved hypotheticals
O53850	D-alanyl-D-alanine dipeptidase M. tuberculosis H37Rv GN=lpqR	0.000346477	Rv0838	lpqR	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
I6YGX2	Penicillin-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ponA2 PE=1 SV=1	0.000337641	Rv3682	ponA2	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
O69725	Glycine/betaine ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=proX	0.000334776	Rv3759c	proX	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	virulence, detoxification, adaptation
P71969	Possible secreted protease M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2672	0.00032011	Rv2672	Rv2672	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	intermediary metabolism and respiration
P9WHP1	Phosphate acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pta	0.000308515	Rv0408	pta	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK77	Putative lipoprotein LppJ M. tuberculosis H37Rv GN=lppJ	0.000239791	Rv2080	lppJ	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P71840	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0787 PE=1 SV=2	0.000225524	Rv0787	Rv0787	YES	YES	YES	OTHER	conserved hypotheticals
O53695	Mycosin-3 M. tuberculosis H37Rv GN=mycP3	0.000206311	Rv0291	mycP3	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	intermediary metabolism and respiration
O53620	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0075	0.000203427	Rv0075	Rv0075	YES	YES	YES	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O05582	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0999	0.00017794	Rv0999	Rv0999	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	conserved hypotheticals
I6YGW2	Peptidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3668c PE=1 SV=1	0.000152928	Rv3668c	Rv3668c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	intermediary metabolism and respiration
P9WIM9	Proline-rich 28 kDa antigen M. tuberculosis H37Rv GN=mtc28	0.000114449	Rv0040c	mtc28	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
I6XF52	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2721c PE=1 SV=1	0.000112093	Rv2721c	Rv2721c	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	cell wall and cell processes
P9WGU7	Probable monoacyl phosphatidylinositol tetramannoside-binding protein LpqW M. tuberculosis H37Rv GN=lpqW	0.000111746	Rv1166	lpqW	YES	YES	YES	LIPO(Sec/SPII)	cell wall and cell processes
P96872	Conserved protein (CPSA-related protein) M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3267 PE=1 SV=2	9.00419E-05	Rv3267	Rv3267	YES	YES	YES	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals

Análisis integrativo - Proteínas particulares, no detectadas en los trabajos de de Souza, Malen y Albrethsen en el CFP de *M. tuberculosis*

Percentil 95

Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	Signal P 5.0	Categoría funcional
P9WNI3	ESAT-6-like protein EsxW M. tuberculosis H37Rv GN=esxW	**0.01334989**	Rv3620c	esxW	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P0CG96	Uncharacterized protein Rv3118 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sseC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG95; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG95	**0.00724375**	Rv3118	sseC1	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WK09	Metallothionein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mymT PE=1 SV=1	0.00218489	Rv0186A	mymT	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P0DMM4	Uncharacterized protein Rv0572A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0572A PE=1 SV=1	0.00193523	Rv0572A	Rv0572A	NO	NO	NO	OTHER	Not annotated in *M. tuberculosis* H37Rv genome sequence Release 3 (2018-06-05)
P9WLA7	Uncharacterized protein Rv2468c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2468c PE=1 SV=1	0.00193278	Rv2468c	Rv2468c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGK3	Redox sensor histidine kinase response regulator DevS M. tuberculosis H37Rv GN=devS	0.00181508	Rv3132c	devS	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
Q79FR3	PE family protein PE13 M. tuberculosis H37Rv GN=PE13	0.00160276	Rv1195	PE13	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	PE/PPE
I6XWG2	Molybdenum cofactor biosynthesis protein MoaD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaD2 PE=1 SV=1	0.00156396	Rv0868c	moaD2	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6XDU8	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2237A PE=1 SV=1	0.00148461	Rv2237A	Rv2237A	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6YG87	PE family protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=PE31 PE=1 SV=1	0.00142806	Rv3477	PE31	NO	NO	NO	OTHER	PE/PPE
O50434	Aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1178 PE=1 SV=1	0.00142526	Rv1178	Rv1178	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WLZ1	Putative antitoxin VapB10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapB10 PE=1 SV=1	0.00135078	Rv1398c	vapB10	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WPI3	ESX-3 secretion system protein EccA3 M. tuberculosis H37Rv GN=eccA3	0.00134945	Rv0282	eccA3	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
A0A089QRB9	Mycolipanoate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=msl3 PE=1 SV=2	0.00132658	Rv1180	msl3	NO	NO	NO	LIPO(Sec/SPII)	lipid metabolism
P9WP33	Sulfur carrier protein CysO OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysO PE=1 SV=1	0.00131409	Rv1335	cysO	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WJD7	ESX-1 secretion-associated protein EspC M. tuberculosis H37Rv GN=espC	0.0012965	Rv3615c	espC	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
O53154	Cysteine desulfurase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sufC PE=1 SV=1	0.00116523	Rv1463	Rv1463	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P9WQF1	Acyl carrier protein MbtL OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtL PE=1 SV=1	0.00115567	Rv1344	mbtL	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
I6X562	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2708c PE=1 SV=1	0.00106969	Rv2708c	Rv2708c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P0CL62	Probable endoribonuclease MazF7 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mazF7 PE=1 SV=1	0.00103628	Rv2063A	mazF7	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
I6X5G8	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2828c PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P71627; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P71627	0.00102638	Rv2828c	Rv2828c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WH63	30S ribosomal protein S12 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpsL PE=1 SV=1	0.00092593	Rv0682	rpsL	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
I6YGX9	Probable methanol dehydrogenase transcriptional regulatory protein MoxR2 M. tuberculosis H37Rv GN=moxR2	0.00091809	Rv3692	moxR2	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
O53630	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0108c	0.00089271	Rv0108c	Rv0108c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6XWF9	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0863 PE=1 SV=1	0.00085308	Rv0863	Rv0863	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WPB7	Cyclopropane mycolic acid synthase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cmaA1 PE=1 SV=1	0.00083958	Rv3392c	cmaA1	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WPH1	Riboflavin biosynthesis protein RibD OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribD PE=1 SV=1	0.00083437	Rv1409	ribD	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O33186	Protein YcaR in KDO2-Lipid A biosynthesis cluster OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1684 PE=1 SV=1	0.00083239	Rv1684	Rv1684	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WJ69	Anti-sigma factor RshA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rshA PE=1 SV=1	0.00081472	Rv3221A	rshA	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
I6XEK2	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2548A PE=1 SV=1	0.00076701	Rv2548A	Rv2548A	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WME3	Putative HTH-type transcriptional regulator Rv1287 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1287 PE=1 SV=1	0.00076518	Rv1287	Rv1287	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WKG1	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispH1 PE=1 SV=1	0.00076343	Rv1110	ispH2	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P95189	Histidinol-phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hisN PE=1 SV=2	0.00075431	Rv3137	hisN	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFU1	Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit M. tuberculosis H37Rv GN=pheT	0.00073589	Rv1650	pheT	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WLF7	Uncharacterized protein Rv2271 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2271 PE=1 SV=1	0.00070682	Rv2271	Rv2271	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P0DN33	Uncharacterized protein Rv0609B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0609B PE=1 SV=1	0.00068986	Rv0609B	Rv0609B	NO	NO	NO	OTHER	Not annotated in *M. tuberculosis* H37Rv genome sequence Release 3 (2018-06-05)
P9WQ47	Probable long-chain-fatty-acid--CoA ligase FadD23 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD23 PE=1 SV=1	0.00065224	Rv3826	fadD23	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O07434	Copper-sensing transcriptional repressor RicR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ricR PE=1 SV=1	0.00065188	Rv0190	ricR	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O69720	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3753c PE=1 SV=1	0.00063527	Rv3753c	Rv3753c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WF09	Toxin RelK OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=relK PE=1 SV=1	0.0006261	Rv3358	relK	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WNN5	Probable enoyl-CoA hydratase echA14 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA14 PE=1 SV=1	0.00061982	Rv2486	echA14	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O06803	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1770 PE=1 SV=1	0.00061942	Rv1770	Rv1770	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P95151	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1864c PE=1 SV=2	0.00060662	Rv1864c	Rv1864c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WLP1	Universal stress protein Rv1996 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1996	0.00058914	Rv1996	Rv1996	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
I6XG13	AsnC family transcriptional regulator OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3050c PE=1 SV=1	0.0005809	Rv3050c	Rv3050c	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
O07169	Probable fatty-acid-CoA ligase FadD7 (Fatty-acid-CoA synthetase) (Fatty-acid-CoA synthase) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD7 PE=1 SV=4	0.00057443	Rv0119	fadD7	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WJL1	UDP-N-acetylmuramoyl-tripeptide--D-alanyl-D-alanine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=murF PE=1 SV=1	0.00057297	Rv2157c	murF	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
O33263	Probable oxidoreductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2129c PE=1 SV=3	0.00056678	Rv2129c	Rv2129c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WPB3	Cyclopropane mycolic acid synthase 3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pcaA PE=1 SV=1	0.0005563	Rv0470c	pcaA	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
I6WXS6	Putative antitoxin VapB51 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapB51 PE=1 SV=1	0.00055436	Rv0229A	vapB51	NO	NO	NO	OTHER	Not annotated in *M. tuberculosis* H37Rv genome sequence Release 3 (2018-06-05)
O07807	Acyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3816c	0.00055174	Rv3816c	Rv3816c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O07206	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2705c PE=1 SV=1	0.00055007	Rv2705c	Rv2705c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WM37	Uncharacterized protein Rv1289 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1289	0.00054674	Rv1289	Rv1289	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WFE1	Uroporphyrinogen decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemE PE=1 SV=1	0.00054384	Rv2678c	hemE	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFY7	tRNA (guanine-N(1)-)-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trmD PE=1 SV=1	0.0005399	Rv2906c	trmD	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WP13	F420H(2)-dependent quinone reductase Rv1261c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1261c	0.00053906	Rv1261c	Rv1261c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6Y3N9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0397A PE=1 SV=1	0.00053485	Rv0397A	Rv0397A	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
P9WQD1	Acetyl-coenzyme A synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=acsA	0.00052911	Rv3667	acsA	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O53699	Trehalose 2-sulfotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=stf0	0.00052784	Rv0295c	stf0	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGP3	Protein translocase subunit SecA 2 M. tuberculosis H37Rv GN=secA2	0.0005257	Rv1821	secA2	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
O06216	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2161c PE=1 SV=1	0.00052186	Rv2161c	Rv2161c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WIZ1	Transcriptional repressor NrdR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nrdR PE=1 SV=1	0.00051517	Rv2718c	nrdR	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
P9WGS1	Uncharacterized oxidoreductase Rv1543 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1543	0.00051157	Rv1543	Rv1543	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WKW3	Uncharacterized protein Rv0441c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0441c PE=1 SV=1	0.00050663	Rv0441c	Rv0441c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals

Análisis integrativo - Proteínas particulares, no detectadas en los trabajos de de Souza, Malen y Albrethsen en el CFP de *M. tuberculosis*

Percentil 95

Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	Signal P 5.0	Categoría funcional
O05295	Acyl-CoA synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD36 PE=1 SV=1	0.00050111	Rv1193	fadD36	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P0DMM3	Uncharacterized protein Rv3202A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3202A PE=1 SV=1	0.00049277	Rv3202A	Rv3202A	NO	NO	NO	OTHER	Not annotated in *M. tuberculosis* H37Rv genome sequence Release 3 (2018-06-05)
O53564	Acetoacetate decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3519 PE=1 SV=1	0.00049068	Rv3519	Rv3519	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6WXK4	Phosphotyrosine protein phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ptbB PE=1 SV=1	0.0004874	Rv0153c	ptbB	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
P9WLW9	Uncharacterized protein Rv1498c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1498c PE=1 SV=2	0.00046528	Rv1498c	Rv1498c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O53346	Possible transmembrane cation transporter OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3200c PE=1 SV=1	0.00045251	Rv3200c	Rv3200c	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P96227	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3850 PE=1 SV=1	0.00044982	Rv3850	Rv3850	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGV5	Trans-acting enoyl reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2953	0.00044679	Rv2953	Rv2953	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WM97	Uncharacterized protein Rv0028 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0028 PE=1 SV=1	0.00044397	Rv0028	Rv0028	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6YB54	1,4-beta-xylanase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3096 PE=1 SV=1	0.00044077	Rv3096	Rv3096	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
P9WM73	Uncharacterized protein Rv0088 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0088	0.00043338	Rv0088	Rv0088	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WH13	Glucose-1-phosphate thymidylyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=rmlA	0.00043117	Rv0334	rmlA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WI51	Ribulose-phosphate 3-epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rpe PE=1 SV=1	0.00042821	Rv1408	rpe	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WMN3	Bifunctional protein GlmU OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glmU PE=1 SV=1	0.00042807	Rv1018c	glmU	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P9WMN7	Probable adenylyltransferase/sulfurtransferase MoeZ M. tuberculosis H37Rv GN=moeZ	0.00042615	Rv3206c	moeZ	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WI99	Putative aminoglycoside phosphotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3168 PE=1 SV=1	0.00041977	Rv3168	Rv3168	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WN77	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(P)+] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpsA PE=1 SV=1	0.00041901	Rv2982c	gpsA	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	lipid metabolism
P9WN73	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=zwf2 PE=1 SV=1	0.00041798	Rv1447c	zwf2	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6Y8I5	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0712 PE=1 SV=1	0.00041531	Rv0712	Rv0712	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O05876	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3231c PE=1 SV=1	0.00041405	Rv3231c	Rv3231c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O06401	S-methyl-5'-thioadenosine phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtnP PE=1 SV=1	0.0004069	Rv0535	mtnP	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WM25	Uncharacterized protein Rv1332 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1332 PE=1 SV=1	0.00040687	Rv1332	Rv1332	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
O05833	Cytidine deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2365c PE=4 SV=1	0.00039682	Rv2365c	Rv2365c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHI3	Recombination protein RecR OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=recR PE=1 SV=1	0.00039567	Rv3715c	recR	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
Q79FW0	Probable amino acid aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0812 PE=1 SV=1	0.00039388	Rv0812	Rv0812	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WF25	Antitoxin RelJ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=relJ PE=1 SV=1	0.00038988	Rv3357	relJ	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
I6YAE2	Probable conserved transmembrane alanine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2843 PE=1 SV=1	0.0003866	Rv2843	Rv2843	NO	NO	NO	TAT(Tat/SPI)	cell wall and cell processes
P9WIK3	Probable phosphoadenosine phosphosulfate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cysH PE=1 SV=1	0.00038606	Rv2392	cysH	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O69670	Gamma-glutamyl-hercynylcysteine sulfoxide hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=egtC PE=1 SV=1	0.00037646	Rv3702c	egtC	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WKG7	4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispE PE=1 SV=1	0.000372	Rv1011	ispE	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
L7N675	PPE family protein PPE18 M. tuberculosis H37Rv GN=PPE18 ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WI25; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P9WI25	0.00036547	Rv1196	PPE18	NO	NO	NO	OTHER	PE/PPE
P72005	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1748	0.00036501	Rv1748	Rv1748	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WPE3	CinA-like protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cinA PE=1 SV=1	0.00036443	Rv1901	cinA	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
O53903	Acyl-CoA synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD24 PE=1 SV=1	0.00036283	Rv1529	fadD24	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
I6YGS0	Epoxide hydrolase A OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephA PE=1 SV=1	0.00036268	Rv3617	ephA	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WGQ9	Uncharacterized oxidoreductase Rv0769 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0769 PE=1 SV=1	0.00036162	Rv0769	Rv0769	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGT3	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase FabG1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG1 PE=1 SV=1	0.0003591	Rv1483	fabG1	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O06563	GTP-binding protein TypA M. tuberculosis H37Rv GN=typA PE=1 SV=2	0.00034918	Rv1165	typA	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WPQ3	Acetyl-/propionyl-coenzyme A carboxylase alpha chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=accA1 PE=1 SV=1	0.00034811	Rv2501c	accA1	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WFY9	tRNA (guanine-N(7)-)-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trmB PE=1 SV=1	0.00034473	Rv0208c	trmB	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WNE1	F420-dependent glucose-6-phosphate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fgd1	0.00034464	Rv0407	fgd1	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6X5C9	Riboflavin biosynthesis protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribF PE=1 SV=1	0.0003439	Rv2786c	ribF	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WG95	L-threonine dehydratase biosynthetic IlvA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvA PE=1 SV=1	0.00034346	Rv1559	ilvA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O06611	PhiRv1 phage protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1579c PE=4 SV=1	0.00034115	Rv1579c	Rv1579c	NO	NO	NO	OTHER	insertion seqs and phages
P9WMR1	Probable helicase HelY M. tuberculosis H37Rv GN=helY	0.00033777	Rv2092c	helY	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WJC7	ESX-3 secretion-associated protein EspG3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=espG3 PE=1 SV=1	0.00033574	Rv0289	espG3	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
I6YCP0	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3651 PE=1 SV=1	0.0003328	Rv3651	Rv3651	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O53751	Acyl-ACP thioesterase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0466 PE=1 SV=1	0.00033225	Rv0466	Rv0466	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O69687	Probable fatty acid methyltransferase Rv3720 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3720 PE=1 SV=4	0.00032775	Rv3720	Rv3720	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O53413	Cysteine dioxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1065 PE=1 SV=1	0.00032764	Rv1065	Rv1065	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O05581	Acetyltransferase Pat OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0998 PE=1 SV=2	0.00032259	Rv0998	Rv0998	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHF3	Transcription termination factor Rho M. tuberculosis H37Rv GN=rho	0.00032251	Rv1297	rho	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WKC9	Probable diacylglycerol O-acyltransferase tgs1 M. tuberculosis H37Rv GN=tgs1	0.00032249	Rv3130c	tgs1	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
Q6MWX1	PE family protein PPE60 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=PPE60 PE=1 SV=1	0.00031347	Rv3478	PPE60	NO	NO	NO	OTHER	PE/PPE
P9WJM7	Mycothiol acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mshD PE=1 SV=1	0.0003113	Rv0819	mshD	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6Y0W5	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE19 PE=1 SV=1	0.00031018	Rv2500c	fadE19	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WGM9	Response regulator MprA M. tuberculosis H37Rv GN=mprA	0.00030852	Rv0981	mprA	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
O53157	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1466 PE=1 SV=2	0.00030852	Rv1466	Rv1466	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P96272	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0426c PE=1 SV=1	0.00029835	Rv0426c	Rv0426c	NO	NO	NO	TAT(Tat/SPI)	cell wall and cell processes
P9WNU9	Pup deamidase/depupylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dop PE=1 SV=1	0.00029761	Rv2112c	dop	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WJF9	CRISPR type III-associated RAMP protein Csm3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=csm3 PE=1 SV=1	0.0002965	Rv2821c	csm3	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O53979	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1978 PE=1 SV=3	0.00028482	Rv1978	Rv1978	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHM5	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purN PE=1 SV=1	0.00028192	Rv0956	purN	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration

Análisis integrativo - Proteínas particulares, no detectadas en los trabajos de de Souza, Malen y Albrethsen en el CFP de *M. tuberculosis*

Percentil 95

Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	Signal P 5.0	Categoría funcional
P9WFU9	Lysine--tRNA ligase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lysS1 PE=1 SV=1	0.00026638	Rv3598c	lysS1	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WN49	Glutamine--fructose-6-phosphate aminotransferase [isomerizing] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glmS PE=1 SV=1	0.00026613	Rv3436c	glmS	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGV7	Putative pre-16S rRNA nuclease OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2554c PE=1 SV=1	0.00026377	Rv2554c	Rv2554c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P95125	Lipase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lipN PE=1 SV=1	0.00025818	Rv2970c	lipN	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WPA7	Pantothenate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaA PE=1 SV=1	0.00025744	Rv1092c	coaA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFF3	Uracil phosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=upp PE=1 SV=1	0.0002571	Rv3309c	upp	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WND1	Dihydropteroate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folP1 PE=1 SV=1	0.00025694	Rv3608c	folP1	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFD9	Universal stress protein Rv2028c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2028c	0.00025433	Rv2028c	Rv2028c	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WL67	Uncharacterized protein Rv2627c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2627c PE=1 SV=1	0.00025296	Rv2627c	Rv2627c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WLS1	Uncharacterized protein Rv1813c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1813c PE=1 SV=1	0.00024811	Rv1813c	Rv1813c	NO	NO	NO	TAT(Tat/SPI)	conserved hypotheticals
P9WLN9	Uncharacterized protein Rv1998c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1998c PE=1 SV=1	0.00024256	Rv1998c	Rv1998c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WN87	Transcriptional regulator FurA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=furA PE=1 SV=1	0.00024136	Rv1909c	furA	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
O53379	Probable aminotransferase Rv3329 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3329 PE=1 SV=2	0.00024005	Rv3329	Rv3329	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFL7	UPF0167 protein Rv2295 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2295 PE=1 SV=1	0.00023979	Rv2295	Rv2295	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WM03	Uncharacterized protein Rv1360 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1360 PE=1 SV=1	0.00023334	Rv1360	Rv1360	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6WZD9	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0765c PE=1 SV=1	0.00023114	Rv0765c	Rv0765c	NO	NO	NO	TAT(Tat/SPI)	intermediary metabolism and respiration
P9WLN3	Uncharacterized protein Rv2004c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2004c	0.00023055	Rv2004c	Rv2004c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
I6XI14	Possible cobyric acid synthase CobQ2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobQ2 PE=1 SV=1	0.00022613	Rv3713	cobQ2	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O06769	Neutral ceramidase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0669c	0.00022279	Rv0669c	Rv0669c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P71791	GDP-L-fucose synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=epiA PE=1 SV=1	0.00021731	Rv1512	epiA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WPA3	Dephospho-CoA kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=coaE PE=1 SV=1	0.00021552	Rv1631	coaE	NO	NO	NO	LIPO(Sec/SPII)	intermediary metabolism and respiration
P71733	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2410c PE=1 SV=1	0.00021531	Rv2410c	Rv2410c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WKP1	Uncharacterized protein Rv0940c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0940c PE=1 SV=1	0.00021388	Rv0940c	Rv0940c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P71980	Possible carboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1722 PE=1 SV=2	0.00021347	Rv1722	Rv1722	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WGS9	Decaprenylphosphoryl-2-keto-beta-D-erythro-pentose reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dprE2 PE=1 SV=1	0.0002134	Rv3791	dprE2	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WLH1	Uncharacterized protein Rv2237 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2237 PE=1 SV=1	0.0002087	Rv2237	Rv2237	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WIN5	Phthiocerol/phthiodiolone dimycocerosyl transferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=papA5 PE=1 SV=1	0.00020552	Rv2939	papA5	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
O05784	FAD-linked oxidase M. tuberculosis H37Rv GN=agpS	0.00020384	Rv3107c	agpS	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WIK7	Trehalose-2-sulfate acyltransferase papA2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=papA2 PE=1 SV=1	0.00020323	Rv3820c	papA2	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
I6Y0R5	Dihydrofolate synthase/folylpolyglutamate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folC PE=1 SV=1	0.00019934	Rv2447c	folC	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O07755	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1874 PE=1 SV=1	0.00019667	Rv1874	Rv1874	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P96374	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1026 PE=1 SV=2	0.00019618	Rv1026	ppx2	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WP79	Coenzyme F420:L-glutamate ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fbiB PE=1 SV=1	0.00019579	Rv3262	fbiB	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WQ55	Putative fatty-acid--CoA ligase FadD10 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD10 PE=1 SV=1	0.00019529	Rv0099	fadD10	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WKG9	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ispD PE=1 SV=1	0.00019412	Rv3582c	ispD	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O05858	Probable transcriptional regulatory protein (Probably TetR-family) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3208 PE=1 SV=1	0.00019236	Rv3208	Rv3208	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
L0TB61	Conserved transmembrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2037c PE=1 SV=1	0.00019011	Rv2037c	Rv2037c	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
I6X827	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3683 PE=1 SV=1	0.00019001	Rv3683	Rv3683	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGW7	Ribosomal RNA small subunit methyltransferase I OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rsmI PE=1 SV=1	0.00018673	Rv1003	rsmI	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHU5	Peptidoglycan endopeptidase RipB M. tuberculosis H37Rv GN=ripB	0.00018198	Rv1478	ripB	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	virulence, detoxification, adaptation
P9WFU3	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pheS PE=1 SV=1	0.00018064	Rv1649	pheS	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
O53594	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3916c PE=1 SV=1	0.00017974	Rv3916c	Rv3916c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WHP7	tRNA pseudouridine synthase B M. tuberculosis H37Rv GN=truB	0.00017859	Rv2793c	truB	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
O07742	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1890c PE=1 SV=1	0.00017477	Rv1890c	Rv1890c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGP7	Epimerase family protein Rv2216 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2216	0.00017354	Rv2216	Rv2216	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	conserved hypotheticals
P9WK23	4-alpha-glucanotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=malQ PE=1 SV=1	0.00017152	Rv1781c	malQ	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WJI7	Nicotinate phosphoribosyltransferase pncB2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pncB2 PE=1 SV=1	0.00017135	Rv0573c	pncB2	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGD9	Signal recognition particle receptor FtsY M. tuberculosis H37Rv GN=ftsY	0.00017048	Rv2921c	ftsY	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P95141	4-hydroxyphenylalkanoate adenylyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD29 PE=1 SV=1	0.00017036	Rv2950c	fadD29	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WK15	Lysine N-acyltransferase MbtK OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtK PE=1 SV=1	0.00016895	Rv1347c	mbtK	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WHI7	DNA repair protein RecN M. tuberculosis H37Rv GN=recN	0.00016705	Rv1696	recN	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WFT7	Serine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=serS PE=1 SV=1	0.000167	Rv3834c	serS	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
O53360	Phosphomannomutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pmmB PE=1 SV=1	0.0001661	Rv3308	pmmB	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O06179	Putative monooxygenase Rv1533 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1533 PE=1 SV=1	0.00016426	Rv1533	Rv1533	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O53664	Dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=htdX PE=1 SV=1	0.00016015	Rv0241c	htdX	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGK1	Hypoxia sensor histidine kinase response regulator DosT OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dosT PE=1 SV=1	0.0001548	Rv2027c	dosT	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins
P9WJJ9	L-aspartate oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nadB PE=1 SV=1	0.00015241	Rv1595	nadB	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WHP9	tRNA pseudouridine synthase A M. tuberculosis H37Rv GN=truA	0.00015098	Rv3455c	truA	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WK97	Elongation factor 4 M. tuberculosis H37Rv GN=lepA	0.00014866	Rv2404c	lepA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P96811	Epoxide hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ephF PE=1 SV=1	0.00014619	Rv0134	ephF	NO	NO	NO	OTHER	virulence, detoxification, adaptation
P9WGB3	Cobalamin biosynthesis protein CobIJ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=cobIJ PE=1 SV=1	0.00014162	Rv2066	cobIJ	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6YGF8	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3542c PE=1 SV=1	0.00014102	Rv3542c	Rv3542c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WGK7	Sensor-type histidine kinase PrrB M. tuberculosis H37Rv GN=prrB	0.00014031	Rv0902c	prrB	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins

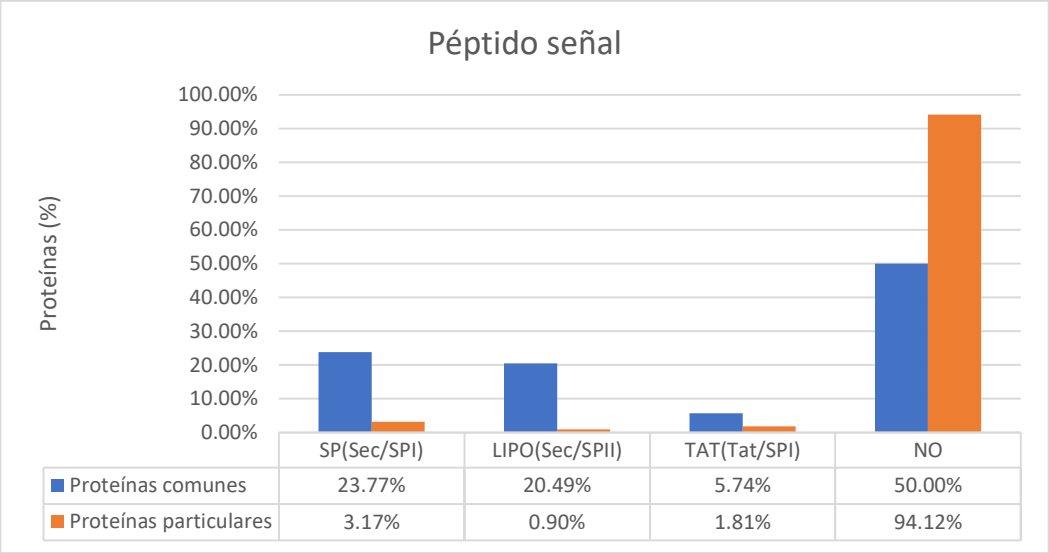
Análisis integrativo - Proteínas particulares, no detectadas en los trabajos de de Souza, Malen y Albrethsen en el CFP de *M. tuberculosis*

Percentil 95

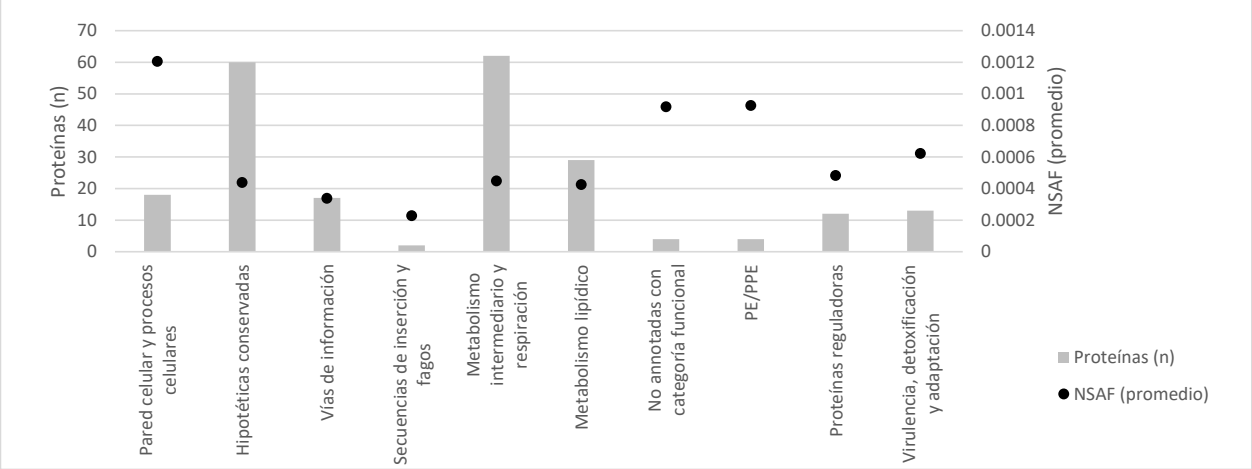
Uniprot ID	Descripción	NSAF Total	Locus	Gen	de Souza	Malen	Albrethsen	Signal P 5.0	Categoría funcional
Q50732	Long conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2566 PE=1 SV=1	0.00014005	Rv2566	Rv2566	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P96824	Aldehyde dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0147	0.00013829	Rv0147	Rv0147	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WQ97	Putative amidase AmiB2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=amiB2 PE=1 SV=1	0.00013758	Rv1263	amiB2	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WHQ7	Amidophosphoribosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purF PE=1 SV=1	0.00013465	Rv0808	purF	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WFP5	UPF0051 protein Rv1462 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1462 PE=1 SV=1	0.00013158	Rv1462	Rv1462	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P71719	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mbtD PE=1 SV=3	0.00013105	Rv2381c	mbtD	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WLA9	Uncharacterized protein Rv2411c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2411c PE=1 SV=1	0.00013057	Rv2411c	Rv2411c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WG41	Acetolactate synthase large subunit IlvB1 M. tuberculosis H37Rv GN=ilvB1	0.00012997	Rv3003c	ilvB1	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O53198	Probable alpha-glucosidase AglA (Maltase) (Glucoinvertase) (Glucosidosucrase) (Maltase-glucoamylase) (Lysosomal alpha-glucosidase) (Acid maltase) M. tuberculosis H37Rv GN=aglA	0.00012996	Rv2471	aglA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O07810	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3813c PE=1 SV=1	0.00012996	Rv3813c	Rv3813c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WPQ7	Biotin synthase M. tuberculosis H37Rv GN=bioB	0.00012848	Rv1589	bioB	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
I6WZS8	Diacylglycerol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0926c PE=1 SV=1	0.00012251	Rv0926c	Rv0926c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WL97	Uncharacterized protein Rv2567 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2567 PE=1 SV=1	0.0001204	Rv2567	Rv2567	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WQP7	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta 5-->4-isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1106c PE=1 SV=1	0.00011853	Rv1106c	Rv1106c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WNT7	DNA polymerase III subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=dnaE1	0.0001182	Rv1547	dnaE1	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WM55	Uncharacterized protein Rv1148c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1148c PE=1 SV=1	0.00011722	Rv1148c	Rv1148c	NO	NO	NO	OTHER	insertion seqs and phages
P9WLN7	Uncharacterized protein Rv2000 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2000	0.00011654	Rv2000	Rv2000	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
O53585	Galactofuranosyltransferase GlfT2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glfT2 PE=1 SV=1	0.00011139	Rv3808c	glfT2	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P9WJL7	UDP-N-acetylmuramate--L-alanine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=murC PE=1 SV=1	0.00010773	Rv2152c	murC	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
I6XEK6	Endolytic murein transglycosylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mltG PE=1 SV=1	0.00010753	Rv2553c	mltG	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P9WKP7	Uncharacterized protein Rv0897c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0897c PE=1 SV=1	9.7636E-05	Rv0897c	Rv0897c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WGT5	L-serine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sdaA PE=1 SV=1	9.7269E-05	Rv0069c	sdaA	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O33268	FeS-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0338c	8.8836E-05	Rv0338c	Rv0338c	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
P9WLZ3	Uncharacterized protein Rv1367c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1367c PE=1 SV=2	8.8477E-05	Rv1367c	Rv1367c	NO	NO	NO	OTHER	conserved hypotheticals
P9WPU3	Potassium-transporting ATPase ATP-binding subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=kdpB PE=3 SV=1	8.6879E-05	Rv1030	kdpB	NO	NO	NO	OTHER	cell wall and cell processes
P9WP77	FO synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fbiC PE=1 SV=1	8.2896E-05	Rv1173	fbiC	NO	NO	NO	OTHER	intermediary metabolism and respiration
O05458	Mycosin-2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mycP2 PE=1 SV=1	8.1529E-05	Rv3886c	mycP2	NO	NO	NO	SP(Sec/SPI)	intermediary metabolism and respiration
P9WMV9	Cholesterol oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=choD PE=1 SV=1	7.5878E-05	Rv3409c	choD	NO	NO	NO	OTHER	lipid metabolism
P9WHJ3	Protein RecA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=recA PE=1 SV=1	6.7366E-05	Rv2737c	recA	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WFU7	Lysylphosphatidylglycerol biosynthesis bifunctional protein LysX M. tuberculosis H37Rv GN=lysX	5.9706E-05	Rv1640c	lysX	NO	NO	NO	OTHER	information pathways
P9WI73	Serine/threonine-protein kinase PknG OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pknG PE=1 SV=1	4.7306E-05	Rv0410c	pknG	NO	NO	NO	OTHER	regulatory proteins

Análisis integrativo - Predicción de la presencia de péptido señal

	Proteínas comunes		Proteínas particulares	
Péptido señal	**Número**	**Porcentaje**	**Número**	**Porcentaje**
SP(Sec/SPI)	29	23.77%	7	3.17%
LIPO(Sec/SPII)	25	20.49%	2	0.90%
TAT(Tat/SPI)	7	5.74%	4	1.81%
NO	61	50.00%	208	94.12%
Total	**122**	**100%**	**221**	**100%**



Etiquetas de fila	Proteínas (n)	NSAF (promedio)
Pared celular y procesos celulares	18	0.001205476
Hipotéticas conservadas	60	0.000438927
Vías de información	17	0.000339853
Secuencias de inserción y fagos	2	0.000229185
Metabolismo intermediario y respiración	62	0.000449023
Metabolismo lipídico	29	0.000426794
No annotadas con categoría funcional	4	0.000918056
PE/PPE	4	0.000927442
Proteínas reguladoras	12	0.000484013
Virulencia, detoxificación y adaptación	13	0.00062328
Total general	**221**	**0.000523888**



Lista de proteínas identificadas en el CFP de esta tesis y en las 3 fracciones evaluadas por de Souza *et al.* , 2011.

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Biomarcador	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P9WPE5	10 kDa chaperonin M. tuberculosis H37Rv GN=groS	No	100	10804	groS	Rv3418c	**0.03785065**	
P9WNK5	ESAT-6-like protein EsxB M. tuberculosis H37Rv GN=esxB	Si	100	10794	esxB	Rv3874	**0.03534559**	
P9WPE7	60 kDa chaperonin 2 M. tuberculosis H37Rv GN=groEL2	Si	540	56727	groEL2	Rv0440	**0.03028927**	
P9WQF3	Meromycolate extension acyl carrier protein M. tuberculosis H37Rv GN=acpM	No	115	12524	acpM	Rv2244	**0.02980248**	
P9WNK7	6 kDa early secretory antigenic target M. tuberculosis H37Rv GN=esxA	Si	95	9904	esxA	Rv3875	**0.02307784**	
P9WK07	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine methyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=metE	No	759	81582	metE	Rv1133c	**0.02082442**	
P9WMJ9	Chaperone protein DnaK M. tuberculosis H37Rv GN=dnaK	No	625	66831	dnaK	Rv0350	**0.01509695**	
P9WMK1	Alpha-crystallin M. tuberculosis H37Rv GN=hspX	Si	144	16227	hspX	Rv2031c	**0.01501576**	
P9WNI7	ESAT-6-like protein EsxO M. tuberculosis H37Rv GN=esxO ; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DOA7	No	94	9954	esxO	Rv2346c	**0.01490924**	Rv3619c (esxV)
P9WNJ5	ESAT-6-like protein EsxL M. tuberculosis H37Rv GN=esxL	No	94	9928	esxL	Rv1198	**0.01052645**	
P9WQP3	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85A M. tuberculosis H37Rv GN=fbpA	Si	338	35686	fbpA	Rv3804c	**0.01036265**	
P9WN39	Glutamine synthetase M. tuberculosis H37Rv GN=glnA1	No	478	53570	glnA1	Rv2220	**0.00870293**	
P9WPD5	Citrate synthase 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltA2 PE=1 SV=1	No	431	47978	gltA2	Rv0896	**0.00794509**	
P9WQP1	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85B M. tuberculosis H37Rv GN=fbpB	Si	325	34581	fbpB	Rv1886c	**0.00774178**	
O53842	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0831c PE=1 SV=3	No	271	30189	Rv0831c	Rv0831c	**0.00658242**	
P9WIE5	Catalase-peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=katG	No	740	80605	katG	Rv1908c	**0.00640267**	
P9WIN9	Immunogenic protein MPT64 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt64	Si	228	24855	mpt64	Rv1980c	**0.00602777**	
P9WNG9	Electron transfer flavoprotein subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=etfA	No	318	31691	etfA	Rv3028c	**0.00587919**	
P9WGV3	Adenosylhomocysteinase M. tuberculosis H37Rv GN=ahcY	No	495	54324	ahcY	Rv3248c	**0.00569127**	
P9WGE7	Superoxide dismutase [Fe] M. tuberculosis H37Rv GN=sodB	No	207	23034	sodB	Rv3846	**0.00540377**	
P9WG67	Thioredoxin M. tuberculosis H37Rv GN=trxA	No	116	12544	trxA	Rv3914	**0.00536096**	
P9WN83	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=gap	No	339	35956	gap	Rv1436	**0.00534930**	
P9WJA9	Glycogen accumulation regulator GarA M. tuberculosis H37Rv GN=garA	No	162	17251	garA	Rv1827	**0.00525012**	
P9WHW3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A M. tuberculosis H37Rv GN=ppiA	No	182	19239	ppiA	Rv0009	**0.00516594**	
P9WKI3	Uncharacterized oxidoreductase Rv1843c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=guaB1	No	479	49965	guaB1	Rv1843c	**0.00511703**	
P9WNM1	Elongation factor Ts M. tuberculosis H37Rv GN=tsf	No	271	28755	tsf	Rv2889c	**0.00508222**	
I6Y778	3-ketoacyl-ACP reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fabG4 PE=1 SV=1	No	454	46830	fabG4	Rv0242c	**0.00495599**	
P9WIN7	Low molecular weight antigen MTB12 M. tuberculosis H37Rv GN=mtb12	No	168	16635	mtb12	Rv2376c	**0.00493946**	
O53422	Acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA3	No	405	42655	fadA3	Rv1074c	**0.00467346**	
P9WQD7	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2 M. tuberculosis H37Rv GN=kasB	No	417	44277	kasB	Rv2246	**0.00437824**	
P9WG35	Probable thiol peroxidase M. tuberculosis H37Rv GN=tpx	No	165	16896	tpx	Rv1932	**0.00435439**	
P9WNP1	Probable enoyl-CoA hydratase echA6 M. tuberculosis H37Rv GN=echA6	No	243	26029	echA6	Rv0905	**0.00423415**	
P9WGZ1	DNA-directed RNA polymerase subunit alpha M. tuberculosis H37Rv GN=rpoA	No	347	37706	rpoA	Rv3457c	**0.00419638**	
P75019	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA21 PE=1 SV=1	No	274	29101	echA21	Rv3774	**0.00412562**	
P9WGU1	Phosphate-binding protein PstS 1 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS1	Si	374	38243	pstS1	Rv0934	0.00411345	
P9WGY1	Ribosome-recycling factor M. tuberculosis H37Rv GN=frr	No	185	20828	frr	Rv2882c	0.00408861	
P9WKD7	Ribose-5-phosphate isomerase B M. tuberculosis H37Rv GN=rpiB	No	162	17278	rpiB	Rv2465c	0.00400600	
P9WID5	Adenosine kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adoK PE=1 SV=1	No	324	34472	adoK	Rv2202c	0.00400004	
P9WIS9	Pyruvate dehydrogenase E1 component M. tuberculosis H37Rv GN=aceE PE=1 SV=2	No	930	103440	aceE	Rv2241	0.00399409	
P9WH43	30S ribosomal protein S1 M. tuberculosis H37Rv GN=rpsA	No	481	53202	rpsA	Rv1630	0.00396676	
O53166	Aconitate hydratase A M. tuberculosis H37Rv GN=acn	No	943	102449	acn	Rv1475c	0.00396673	
P9WHH9	Dihydrolipoyl dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=lpdC	No	464	49239	lpdC	Rv0462	0.00381684	
P9WFN1	UPF0098 protein Rv2140c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2140c	No	176	18634	Rv2140c	Rv2140c	0.00375461	
P9WG33	Transaldolase M. tuberculosis H37Rv GN=tal	No	373	40721	tal	Rv1448c	0.00368590	
P9WK17	Malate synthase G M. tuberculosis H37Rv GN=glcB	Si	741	80403	glcB	Rv1837c	0.00365419	
P9WIR7	Alanine and proline-rich secreted protein Apa M. tuberculosis H37Rv GN=apa	Si	325	32721	apa	Rv1860	0.00364959	
P9WQD9	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=kasA	No	416	43316	kasA	Rv2245	0.00358213	
P9WQC5	NADP-dependent alcohol dehydrogenase C M. tuberculosis H37Rv GN=adhC	No	346	37075	adhC	Rv3045	0.00357757	
P71590	FHA domain-containing protein FhaA M. tuberculosis H37Rv GN=fhaA	No	527	56880	fhaA	Rv0020c	0.00356723	
O53692	ESAT-6-like protein EsxG M. tuberculosis H37Rv GN=esxG	No	97	9778	esxG	Rv0287	0.00349505	
P9WK61	Lipoprotein LpqH M. tuberculosis H37Rv GN=lpqH	No	159	15147	lpqH	Rv3763	0.00348662	
P9WMN5	Protein Rv2204c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2204c PE=1 SV=1	No	118	12544	Rv2204c	Rv2204c	0.00347440	
P9WQN9	Diacylglycerol acyltransferase/mycolyltransferase Ag85C M. tuberculosis H37Rv GN=fbpC	No	340	36771	fbpC	Rv0129c	0.00341894	
P9WNL1	Enolase M. tuberculosis H37Rv GN=eno	No	429	44962	eno	Rv1023	0.00340353	
P9WIH3	Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP] M. tuberculosis H37Rv GN=pckG	No	606	67253	pckG	Rv0211	0.00335423	
P9WNE5	Ferritin BfrB M. tuberculosis H37Rv GN=bfrB	No	181	20442	bfrB	Rv3841	0.00332144	
P9WQC7	Alcohol dehydrogenase B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=adhB PE=1 SV=1	No	375	39748	adhB	Rv0761c	0.00331014	
I6X8D2	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pks13 PE=1 SV=1	No	1733	186446	pks13	Rv3800c	0.00330440	
P9WKF5	Adenylate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=adk	No	181	20125	adk	Rv0733	0.00326972	
P9WPQ9	Bacterioferritin M. tuberculosis H37Rv GN=bfr	No	159	18341	bfr	Rv1876	0.00320460	
I6YBZ8	Dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=htdY PE=1 SV=1	No	290	30296	htdY	Rv3389c	0.00319962	
P9WQ73	Phosphoserine aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=serC	No	376	40233	serC	Rv0884c	0.00318208	
P9WGI9	Serine hydroxymethyltransferase 1 M. tuberculosis H37Rv GN=glyA1 PE=1 SV=2	No	438	46216	glyA1	Rv1093	0.00315803	
P9WMT9	Transcription elongation factor GreA M. tuberculosis H37Rv GN=greA	No	164	17855	greA	Rv1080c	0.00311890	
I6XHJ3	Acetyl-CoA acetyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadA6 PE=1 SV=1	No	386	40902	fadA6	Rv3556c	0.00311625	
P9WK45	Lipoarabinomannan carrier protein LprG M. tuberculosis H37Rv GN=lprG	No	236	24548	lprG	Rv1411c	0.00306306	
P9WN93	Fumarate hydratase class II M. tuberculosis H37Rv GN=fumC	No	474	50141	fumC	Rv1098c	0.00305536	
P9WGC5	Succinate--CoA ligase [ADP-forming] subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=sucC	No	387	40926	sucC	Rv0951	0.00303308	
O53611	Isocitrate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=icd2	No	745	82550	icd2	Rv0066c	0.00303072	
I6Y8B5	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA3 PE=1 SV=1	No	231	24355	echA3	Rv0632c	0.00302922	
P9WG25	Transketolase M. tuberculosis H37Rv GN=tkt	No	700	75589	tkt	Rv1449c	0.00299185	
P9WK65	Putative phthiocerol dimycocerosate transporter LppX M. tuberculosis H37Rv GN=lppX	No	233	24140	lppX	Rv2945c	0.00296085	
P9WKE5	Pyruvate kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pyk PE=1 SV=1	No	472	50699	pyk	Rv1617	0.00294513	
O53532	Methyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2258c	No	353	37514	Rv2258c	Rv2258c	0.00288831	
I6YEH6	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA16 PE=1 SV=1	No	249	26630	echA16	Rv2831	0.00285764	
P9WQG1	Probable acyl-CoA dehydrogenase fadE25 M. tuberculosis H37Rv GN=fadE25	No	389	41723	fadE25	Rv3274c	0.00280464	
P9WQA3	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fba PE=1 SV=1	No	344	36544	fba	Rv0363c	0.00277328	
P9WI57	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pnp	No	752	79735	pnp	Rv2783c	0.00268010	
I6YGW9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3678c PE=1 SV=1	No	151	15246	Rv3678c	Rv3678c	0.00264007	
P9WP21	2,3,4,5-tetrahydropyridine-2,6-dicarboxylate N-succinyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=dapD	No	317	32642	dapD	Rv1201c	0.00262707	
O05842	Possible iron-regulated short-chain dehydrogenase/reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3224	No	282	29814	Rv3224	Rv3224	0.00261236	
O53670	Probable succinate dehydrogenase [iron-sulfur subunit] (Succinic dehydrogenase) M. tuberculosis H37Rv GN=sdhA	No	646	70681	Rv0248c	Rv0248c	0.00260037	
P96825	Putative short-chain type dehydrogenase/reductase Rv0148 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0148 PE=1 SV=3	No	286	29779	Rv0148	Rv0148	0.00258958	
P9WG69	Probable acetyl-CoA acetyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=fadA4	No	389	40081	fadA4	Rv1323	0.00254245	
I6XY36	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1498A PE=1 SV=1	No	70	7629	Rv1498A	Rv1498A	0.00253423	
L7N655	Aminopeptidase N OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pepN PE=1 SV=1	No	861	94285	pepN	Rv2467	0.00249476	
P9WQH7	Probable propionyl-CoA carboxylase beta chain 5 M. tuberculosis H37Rv GN=accD5	No	548	59354	accD5	Rv3280	0.00246656	
P9WHT9	Proteasome subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=prcB	No	291	30305	prcB	Rv2110c	0.00240627	
P9WN69	Glucose-6-phosphate isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pgi PE=1 SV=1	No	553	59974	pgi	Rv0946c	0.00240151	
P9WIC9	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpmA PE=1 SV=1	No	249	27216	gpmA	Rv0489	0.00239258	
P9WNX9	Succinate-semialdehyde dehydrogenase [NADP(+)] 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabD1 PE=1 SV=1	No	457	48545	gabD1	Rv0234c	0.00233551	
P9WGD5	Single-stranded DNA-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=ssb	No	164	17353	ssb	Rv0054	0.00226554	
P9WNF3	Cell surface glycolipoprotein MPT83 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt83	No	220	22070	mpt83	Rv2873	0.00226224	
I6X7D4	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3463 PE=1 SV=1	No	285	30651	Rv3463	Rv3463	0.00225984	
P71790	GDP-mannose 4,6-dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gmdA PE=1 SV=2	No	340	38342	gmdA	Rv1511	0.00225661	
P96404	Enoyl-CoA hydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA1 PE=1 SV=1	No	262	27280	echA1	Rv0222	0.00221561	
P9WJH7	Nucleoside diphosphate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=ndkA	No	136	14508	ndkA	Rv2445c	0.00221022	
O69689	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3722c PE=1 SV=2	No	435	47341	Rv3722c	Rv3722c	0.00220107	
O06574	6-phosphogluconate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gnd2 PE=1 SV=1	No	340	36358	gnd2	Rv1122	0.00218269	
P9WNM7	Elongation factor G M. tuberculosis H37Rv GN=fusA	No	701	77203	fusA	Rv0684	0.00216864	
P9WMN9	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hemL PE=1 SV=1	No	462	47516	hemL	Rv0524	0.00215775	
O53943	ESX-5 secretion-associated protein EspG5 M. tuberculosis H37Rv GN=espG5	No	300	32400	espG5	Rv1794	0.00213531	
I6X831	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3688c PE=1 SV=1	No	154	16701	Rv3688c	Rv3688c	0.00212148	
I6XF25	Potassium transporter TrkA OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ceoB PE=1 SV=1	No	227	24240	ceoB	Rv2691	0.00210567	
P9WP51	Putative cystathionine beta-synthase Rv1077 M. tuberculosis H37Rv GN=cbs	No	464	48635	cbs	Rv1077	0.00209640	
P9WNN9	Probable enoyl-CoA hydratase echA8 M. tuberculosis H37Rv GN=echA8	No	257	27273	echA8	Rv1070c	0.00209572	
I6Y231	Polyketide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mas PE=1 SV=1	No	2111	224380	mas	Rv2940c	0.00208196	
O53872	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadB	No	720	76104	fadB	Rv0860	0.00203269	
P96414	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE4 PE=1 SV=1	No	568	63495	fadE4	Rv0231	0.00202660	
P9WLA5	Uncharacterized protein Rv2557 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2557 PE=1 SV=1	No	224	24295	Rv2557	Rv2557	0.00202605	

Lista de proteínas identificadas en el CFP de esta tesis y en las 3 fracciones evaluadas por de Souza *et al.* , 2011.

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Biomarcador	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P9WQA5	Uncharacterized oxidoreductase Rv2971 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2971	No	282	30364	Rv2971	Rv2971	0.00202528	
P9WMW1	Glycogen phosphorylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgP PE=1 SV=1	No	863	95515	glgP	Rv1328	0.00200649	
O53146	NADPH--quinone reductase M. tuberculosis H37Rv GN=qor PE=1 SV=3	No	328	34047	qor	Rv1454c	0.00199212	
O07175	Probable serine protease PepA (Serine proteinase) (MTB32A) M. tuberculosis H37Rv GN=pepA	No	355	34926	pepA	Rv0125	0.00197800	
O53565	Putative coenzyme F420-dependent oxidoreductase Rv3520c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3520c	No	347	37617	Rv3520c	Rv3520c	0.00195264	
O07242	1,3-beta-glucanase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0315	No	294	32186	Rv0315	Rv0315	0.00193085	
P9WFW5	Arginine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argS PE=1 SV=1	No	550	59709	argS	Rv1292	0.00191642	
O86358	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3755c PE=1 SV=1	No	199	22002	Rv3755c	Rv3755c	0.00189435	
P9WIT1	Uncharacterized FAD-linked oxidoreductase Rv2280 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2280	No	459	48052	Rv2280	Rv2280	0.00187124	
P9WHV1	Gamma-glutamyl phosphate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=proA PE=1 SV=1	No	415	43745	proA	Rv2427c	0.00183931	
P9WFX9	Tryptophan synthase beta chain OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpB PE=1 SV=1	No	422	44645	trpB	Rv1612	0.00181933	
P9WMR9	Haloalkane dehalogenase 3 M. tuberculosis H37Rv GN=dhaA	No	300	33728	dhaA	Rv2579	0.00181670	
P9WQ59	Long-chain-fatty-acid--AMP ligase FadD28 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadD28 PE=1 SV=1	No	580	62641	fadD28	Rv2941	0.00181560	
O53554	Putative acetolactate synthase large subunit IlvX M. tuberculosis H37Rv GN=ilvX	No	515	52072	ilvX	Rv3509c	0.00181509	
O07431	Probable O-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0187 PE=1 SV=1	No	220	23097	Rv0187	Rv0187	0.00180311	
P9WQB3	2-isopropylmalate synthase M. tuberculosis H37Rv GN=leuA	No	644	70114	leuA	Rv3710	0.00179813	
P9WQ17	Alpha-1,4-glucan:maltose-1-phosphate maltosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glgE PE=1 SV=1	No	701	78640	glgE	Rv1327c	0.00178058	
P9WP99	Cob(I)yrinic acid a,c-diamide adenosyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1314c PE=1 SV=1	No	193	20694	Rv1314c	Rv1314c	0.00177961	
O53203	NAD-specific glutamate dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=gdh	No	1624	176900	gdh	Rv2476c	0.00176536	
P9WJ03	Sulfite reductase [ferredoxin] M. tuberculosis H37Rv GN=sir	No	555	62112	sir	Rv2391	0.00176330	
P9WK55	Lipoprotein LprA M. tuberculosis H37Rv GN=lprA	No	244	24874	lprA	Rv1270c	0.00174891	
P9WG81	Bifunctional protein FolD M. tuberculosis H37Rv GN=folD	No	281	29484	folD	Rv3356c	0.00172384	
P9WK63	Putative lipoprotein LpqE M. tuberculosis H37Rv GN=lpqE	No	182	18819	lpqE	Rv3584	0.00169223	
P9WGY9	DNA-directed RNA polymerase subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=rpoB	No	1178	129865	rpoB	Rv0667	0.00167994	
P9WG65	Soluble secreted antigen MPT53 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt53	No	173	18383	mpt53	Rv2878c	0.00167772	
P71898	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2314c	No	457	48712	Rv2314c	Rv2314c	0.00164437	
P9WG59	Threonine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thrC PE=1 SV=1	No	360	37322	thrC	Rv1295	0.00162340	
Q6MX51	Probable sulfatase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0296c	No	465	51846	Rv0296c	Rv0296c	0.00158748	
O53897	Molybdenum cofactor biosynthesis protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaB2 PE=1 SV=3	No	181	18441	moaB2	Rv0984	0.00155184	
P71805	Putative transferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1377c PE=1 SV=3	No	212	22815	Rv1377c	Rv1377c	0.00154572	
L0TAD5	Probable catechol-O-methyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1703c PE=1 SV=1	No	196	21570	Rv1703c	Rv1703c	0.00154366	
P9WNP7	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase M. tuberculosis H37Rv GN=fadB2	No	286	30728	fadB2	Rv0468	0.00154035	
P9WL45	Uncharacterized protein Rv2676c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2676c PE=1 SV=1	No	231	26250	Rv2676c	Rv2676c	0.00153590	
P9WHU7	Pyrroline-5-carboxylate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=proC PE=1 SV=1	No	295	30172	proC	Rv0500	0.00153176	
P9WIR3	Putative glyoxylase CFP32 M. tuberculosis H37Rv GN=cfp32	No	261	27343	cfp32	Rv0577	0.00153116	
P9WID7	ATP-dependent 6-phosphofructokinase M. tuberculosis H37Rv GN=pfkA	No	343	36880	pfkA	Rv3010c	0.00151568	
I6WYY7	(3R)-hydroxyacyl-ACP dehydratase subunit HadB OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hadB PE=1 SV=1	No	142	14934	hadB	Rv0636	0.00150605	
P9WFU5	Methionine--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metG PE=1 SV=1	No	519	58093	metG	Rv1007c	0.00150394	
P9WKI1	Inositol-3-phosphate synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ino1 PE=1 SV=1	No	367	40094	ino1	Rv0046c	0.00149308	
P9WQ19	Trehalose synthase/amylase TreS OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=treS PE=1 SV=1	No	601	68593	treS	Rv0126	0.00148978	
O07177	Maltokinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mak PE=1 SV=2	No	455	49879	mak	Rv0127	0.00148916	
P9WL43	Uncharacterized protein Rv2716 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2716 PE=1 SV=1	No	228	24574	Rv2716	Rv2716	0.00147830	
P9WKK9	3-isopropylmalate dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=leuB PE=1 SV=1	No	336	35306	leuB	Rv2995c	0.00147538	
O06154	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1637c PE=1 SV=2	No	264	27936	Rv1637c	Rv1637c	0.00144657	
P9WNU1	DNA polymerase III subunit beta M. tuberculosis H37Rv GN=dnaN	No	402	42113	dnaN	Rv0002	0.00144283	
P9WIP1	Immunogenic protein MPT63 M. tuberculosis H37Rv GN=mpt63	No	159	16514	mpt63	Rv1926c	0.00143804	
O05898	Mannose-6-phosphate isomerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=manA PE=1 SV=1	No	408	43371	manA	Rv3255c	0.00143241	
Q6MWZ7	Acid phosphatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gpm2 PE=1 SV=1	No	203	21949	gpm2	Rv3214	0.00142978	
P9WP43	Probable cutinase Rv1984c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1984c	No	217	21782	Rv1984c	Rv1984c	0.00142835	
O53419	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=echA9 PE=1 SV=1	No	345	36354	echA9	Rv1071c	0.00142549	
P9WGT9	Phosphate-binding protein PstS 2 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS2	No	370	37864	pstS2	Rv0932c	0.00142506	
P9WI95	Phosphate-specific transport system accessory protein PhoU homolog 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=phoU2 PE=1 SV=1	No	213	23514	phoU2	Rv0821c	0.00142046	
P9WGY7	DNA-directed RNA polymerase subunit beta' M. tuberculosis H37Rv GN=rpoC	No	1316	146769	rpoC	Rv0668	0.00141504	
O53816	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmsA PE=1 SV=1	No	510	54454	mmsA	Rv0753c	0.00140584	
P95146	Probable reductase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1869c	No	411	43629	Rv1869c	Rv1869c	0.00138482	
I6Y293	Probable conserved lipoprotein LppZ OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppZ PE=1 SV=1	No	373	38752	lppZ	Rv3006	0.00138186	
P9WFS9	Valine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=valS PE=1 SV=2	No	886	98800	valS	Rv2448c	0.00136040	
O69652	Probable lyase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3684 PE=1 SV=3	No	346	37641	Rv3684	Rv3684	0.00135725	
P9WIU1	Pyridoxine/pyridoxamine 5'-phosphate oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pdxH PE=1 SV=1	No	224	25186	pdxH	Rv2607	0.00135070	
O06144	Probable nonspecific lipid-transfer protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1627c	No	402	42386	Rv1627c	Rv1627c	0.00131896	
P9WPD3	Putative citrate synthase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=citA PE=1 SV=1	No	373	40147	citA	Rv0889c	0.00131321	
P9WG79	Phosphomethylpyrimidine synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=thiC PE=1 SV=1	No	547	59898	thiC	Rv0423c	0.00130536	
P9WNY1	Probable aldehyde dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0458 PE=1 SV=1	No	507	54575	Rv0458	Rv0458	0.00128980	
P9WFI9	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0281 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0281 PE=1 SV=1	No	302	32998	Rv0281	Rv0281	0.00128252	
I6X9V3	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0811c PE=1 SV=1	No	368	39447	Rv0811c	Rv0811c	0.00126542	
P9WID1	Phosphoglycerate kinase M. tuberculosis H37Rv GN=pgk	No	412	42512	pgk	Rv1437	0.00125344	
P9WJD9	ESX-1 secretion-associated protein EspB M. tuberculosis H37Rv GN=espB	No	460	47594	espB	Rv3881c	0.00124586	
I6X486	PE-PGRS family protein PE25 M. tuberculosis H37Rv GN=PE25	No	99	10687	PE25	Rv2431c	0.00124438	
I6X5K1	Glutamine synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnA4 PE=1 SV=1	No	457	49747	glnA4	Rv2860c	0.00123355	
P9WGB7	Cystathionine gamma-synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metB PE=1 SV=1	No	388	40982	metB	Rv1079	0.00121925	
P9WGT7	Phosphate-binding protein PstS 3 M. tuberculosis H37Rv GN=pstS3	No	370	37953	pstS3	Rv0928	0.00121595	
P9WFT9	Proline--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=proS	No	582	63302	proS	Rv2845c	0.00120989	
O53319	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3169 PE=1 SV=3	No	374	41760	Rv3169	Rv3169	0.00120295	
P9WFV9	Glutamate--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gltX PE=1 SV=1	No	490	53864	gltX	Rv2992c	0.00119672	
P9WNS5	Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dut PE=1 SV=1	No	154	15803	dut	Rv2697c	0.00119356	
P9WGY3	Putative 4-hydroxy-4-methyl-2-oxoglutarate aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rraA PE=1 SV=1	No	157	16235	rraA	Rv3853	0.00118954	
O06412	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0546c PE=1 SV=1	No	128	14346	Rv0546c	Rv0546c	0.00118186	
O53905	Carboxymuconolactone decarboxylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1531 PE=1 SV=1	No	188	20796	Rv1531	Rv1531	0.00117688	
P9WFV1	Leucine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=leuS	No	969	107595	leuS	Rv0041	0.00117166	
O50398	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3369	No	144	15718	Rv3369	Rv3369	0.00116008	
P9WPX7	3-dehydroquinate dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroQ PE=1 SV=1	No	147	15790	aroQ	Rv2537c	0.00114309	
P9WGB5	O-succinylhomoserine sulfhydrylase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=metZ PE=1 SV=1	No	406	43345	metZ	Rv0391	0.00113729	
P9WNW7	Iron-dependent extradiol dioxygenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=hsaC PE=1 SV=1	No	300	33582	hsaC	Rv3568c	0.00113007	
P9WK47	Putative diacylated glycolipid transporter LprF M. tuberculosis H37Rv GN=lprF	No	261	26852	lprF	Rv1368	0.00112336	
P9WPC5	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit 1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=clpP1 PE=1 SV=1	No	200	21708	clpP1	Rv2461c	0.00111119	
P9WFV3	Isoleucine--tRNA ligase M. tuberculosis H37Rv GN=ileS	No	1041	117340	ileS	Rv1536	0.00110766	
P9WKJ7	Ketol-acid reductoisomerase (NADP(+)) OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvC PE=1 SV=2	No	337	36535	ilvC	Rv3001c	0.00109960	
I6Y4U4	Probable oxidoreductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0794c PE=1 SV=1	No	499	52476	Rv0794c	Rv0794c	0.00108133	
P9WFI5	Putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase Rv0731c OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0731c PE=1 SV=1	No	318	34950	Rv0731c	Rv0731c	0.00108008	
O33272	Membrane protein M. tuberculosis H37Rv GN=LH57_16190 PE=1 SV=3	No	255	26862	Rv2969c	Rv2969c	0.00107636	
P9WGZ7	Ribonuclease PH OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rph PE=1 SV=1	No	259	27351	rph	Rv1340	0.00105974	
P9WQ79	4-aminobutyrate aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=gabT PE=1 SV=1	No	449	46813	gabT	Rv2589	0.00105799	
O07236	Possible conserved exported protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0309	No	218	22529	Rv0309	Rv0309	0.00105787	
P9WIV9	NADH-quinone oxidoreductase subunit G M. tuberculosis H37Rv GN=nuoG	No	806	85424	nuoG	Rv3151	0.00102283	
O53780	Probable conserved lipoprotein LpqN M. tuberculosis H37Rv GN=lpqN	No	228	23682	lpqN	Rv0583c	0.00101147	
P9WJR1	Molybdopterin synthase catalytic subunit 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=moaE2 PE=1 SV=1	No	141	15048	moaE2	Rv0866	0.00100650	

Lista de proteínas identificadas en el CFP de esta tesis y en las 3 fracciones evaluadas por de Souza *et al.* , 2011.

Código de color (NSAF)	P95%	P90%	P75%

Uniprot	Descripción de la proteína	Biomarcador	Largo (aá)	Masa (kDa)	Gen	Locus (Rv)	NSAF Total	Locus adicional (gen)
P9WPY5	3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=aroA PE=1 SV=1	No	450	46426	aroA	Rv3227	0.00098885	
P96257	ABC transporter substrate-binding protein M. tuberculosis H37Rv GN=glnH	No	328	35406	glnH	Rv0411c	0.00098707	
P9WFT3	Tryptophan--tRNA ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=trpS PE=1 SV=1	No	336	36272	trpS	Rv3336c	0.00096942	
P9WHN3	Adenylosuccinate synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purA PE=1 SV=1	No	432	46823	purA	Rv0357c	0.00096159	
P9WH11	dTDP-4-dehydrorhamnose 3,5-epimerase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=rmlC PE=1 SV=1	No	202	22314	rmlC	Rv3465	0.00096115	
P9WK35	Riboflavin synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ribE PE=1 SV=1	No	201	21320	ribE	Rv1412	0.00092914	
P9WP17	dCTP deaminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dcd PE=1 SV=1	No	190	20870	dcd	Rv0321	0.00092331	
I6YA29	Conserved alanine and leucine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2714 PE=1 SV=1	No	324	35520	Rv2714	Rv2714	0.00091561	
P9WKD3	Beta-lactamase M. tuberculosis H37Rv GN=blaC	No	307	32568	blaC	Rv2068c	0.00087316	
P9WN51	Aminomethyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=gcvT	No	367	38318	gcvT	Rv2211c	0.00085934	
Q11061	FAD-linked oxidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv1257c PE=1 SV=1	No	455	47270	Rv1257c	Rv1257c	0.00085886	
P9WPK1	Glycerol kinase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glpK PE=1 SV=1	No	517	55860	glpK	Rv3696c	0.00085211	
P9WHT1	Probable M18 family aminopeptidase 2 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=apeB PE=1 SV=1	No	433	46013	apeB	Rv0800	0.00084445	
P9WML5	Putative phenylalanine aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=pat PE=1 SV=1	No	353	38040	pat	Rv3772	0.00083760	
P9WPB1	Mycolic acid methyltransferase MmaA1 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mmaA1 PE=1 SV=1	No	286	33149	mmaA1	Rv0645c	0.00082876	
O06291	Probable serine protease HtrA (DEGP protein) M. tuberculosis H37Rv GN=htrA PE=1 SV=3	No	528	54190	htrA	Rv1223	0.00082594	
P9WIV7	NADH-quinone oxidoreductase subunit F OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=nuoF PE=1 SV=1	No	445	48102	nuoF	Rv3150	0.00081947	
P9WQ69	Probable cysteine desulfurase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=csd PE=1 SV=1	No	417	44596	csd	Rv1464	0.00080828	
I6X7P2	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3572 PE=1 SV=1	No	176	18742	Rv3572	Rv3572	0.00080635	
P9WKJ5	Dihydroxy-acid dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvD PE=1 SV=1	No	575	59352	ilvD	Rv0189c	0.00079701	
O53577	Acyl-CoA dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadE35 PE=1 SV=1	No	593	65322	fadE35	Rv3797	0.00079358	
O53444	Carbohydrate degradation protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1096	No	291	31109	Rv1096	Rv1096	0.00078573	
O33332	Lipid-transfer protein M. tuberculosis H37Rv GN=ltp1	No	401	42904	ltp1	Rv2790c	0.00078403	
P9WPZ7	Acetylornithine aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argD PE=1 SV=1	No	400	40910	argD	Rv1655	0.00078107	
L0T5V6	Ribonuclease VapC51 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC51 PE=1 SV=2	No	137	15025	vapC51	Rv0229c	0.00076974	
I6XHI4	Steroid 3-ketoacyl-CoA thiolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=fadA5 PE=1 SV=1	No	391	41329	fadA5	Rv3546	0.00074483	
P9WMK5	4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3534c	No	346	36442	Rv3534c	Rv3534c	0.00073916	
P9WP41	Probable cutinase cut2 M. tuberculosis H37Rv GN=cut2	No	230	23926	cut2	Rv2301	0.00073914	
L0TBR2	Possible flavoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2251 PE=1 SV=1	No	475	49782	Rv2251	Rv2251	0.00073136	
P9WMP5	Delta-aminolevulinic acid dehydratase M. tuberculosis H37Rv GN=hemB	No	329	34871	hemB	Rv0512	0.00072941	
P9WM45	Protein Rv1269c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1269c	No	124	12550	Rv1269c	Rv1269c	0.00072324	
P9WHM9	Phosphoribosylamine--glycine ligase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purD PE=1 SV=1	No	422	43509	purD	Rv0772	0.00070764	
I6Y340	Acyl dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0216 PE=1 SV=1	No	337	35789	Rv0216	Rv0216	0.00070334	
P9WPZ9	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argC PE=1 SV=1	No	352	36304	argC	Rv1652	0.00069997	
O06543	Carnitine dehydratase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mcr PE=1 SV=3	No	360	38685	mcr	Rv1143	0.00068714	
O07238	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0311 PE=1 SV=1	No	409	44611	Rv0311	Rv0311	0.00068676	
P71744	Probable sulfate-binding lipoprotein SubI OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=subI PE=1 SV=1	No	356	37418	subI	Rv2400c	0.00066580	
L7N6B0	Beta-glucosidase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqI PE=1 SV=1	No	388	39519	lpqI	Rv0237	0.00066168	
O07752	Glutamine synthetase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=glnA3 PE=1 SV=1	No	450	46720	glnA3	Rv1878	0.00064280	
I6Y4U9	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0799c PE=1 SV=1	No	335	36048	Rv0799c	Rv0799c	0.00063251	
P9WIU5	Peptidoglycan-binding protein ArfA M. tuberculosis H37Rv GN=arfA	No	326	33574	arfA	Rv0899	0.00063031	
P9WQ75	Branched-chain-amino-acid aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ilvE PE=1 SV=1	No	368	39666	ilvE	Rv2210c	0.00062133	
P9WHR3	Carboxylesterase A M. tuberculosis H37Rv GN=caeA	No	520	55924	caeA	Rv2224c	0.00061406	
P9WN53	Probable glycine dehydrogenase (decarboxylating) M. tuberculosis H37Rv GN=gcvP	No	941	99511	gcvP	Rv1832	0.00058600	
O53370	Succinate dehydrogenase flavoprotein subunit OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=sdhA PE=1 SV=1	No	590	64826	sdhA	Rv3318	0.00058214	
P9WGH7	ECF RNA polymerase sigma factor SigK M. tuberculosis H37Rv GN=sigK	No	187	21035	sigK	Rv0445c	0.00057445	
P9WPW3	Probable succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase subunit B OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=scoB PE=1 SV=1	No	218	22898	scoB	Rv2503c	0.00057413	
P9WNQ9	ESX-5 secretion system ATPase EccB5 M. tuberculosis H37Rv GN=eccB5	No	506	53721	eccB5	Rv1782	0.00057361	
P95229	Alpha/beta hydrolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0272c PE=1 SV=1	No	377	41077	Rv0272c	Rv0272c	0.00056205	
P9WKL1	Isocitrate dehydrogenase [NADP] OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=icd PE=1 SV=1	No	409	45514	icd	Rv3339c	0.00055183	
P9WL85	Uncharacterized protein Rv2575 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2575	No	293	30806	Rv2575	Rv2575	0.00054155	
P9WFB7	Ribonuclease VapC3 OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=vapC3 PE=1 SV=1	No	137	14700	vapC3	Rv0549c	0.00052512	
O07255	Dehydrogenase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0331 PE=1 SV=1	No	388	40788	Rv0331	Rv0331	0.00050546	
O53240	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=LH57_16315 PE=1 SV=1	No	163	18204	Rv2991	Rv2991	0.00049880	
P9WHR9	Serine protease Rv3671c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3671c	No	397	40721	Rv3671c	Rv3671c	0.00048905	
P9WIT9	Ornithine carbamoyltransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=argF PE=1 SV=1	No	307	33057	argF	Rv1656	0.00048315	
P72062	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3796 PE=1 SV=2	No	375	39444	Rv3796	Rv3796	0.00047568	
P9WK59	Putative lipoprotein LpqT M. tuberculosis H37Rv GN=lpqT	No	226	24081	lpqT	Rv1016c	0.00047096	
O05856	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3210c PE=1 SV=1	No	231	25121	Rv3210c	Rv3210c	0.00046077	
P95059	Arylsulfatase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=atsA PE=1 SV=1	No	787	86214	atsA	Rv0711	0.00044582	
P9WIB9	Secreted chorismate mutase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1885c	No	199	21945	Rv1885c	Rv1885c	0.00044572	
L7N6B2	Iron ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0265c PE=1 SV=1	No	330	35284	Rv0265c	Rv0265c	0.00043303	
P9WPZ5	Probable N-succinyldiaminopimelate aminotransferase DapC M. tuberculosis H37Rv GN=dapC	No	397	42209	dapC	Rv0858c	0.00042078	
P9WFF1	Urease subunit alpha OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ureC PE=1 SV=1	No	577	60825	ureC	Rv1850	0.00041761	
P9WIT7	Aspartate carbamoyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=pyrB	No	319	33819	pyrB	Rv1380	0.00041553	
I6X811	ABC transporter substrate-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=dppA PE=1 SV=1	No	541	58382	dppA	Rv3666c	0.00040897	
P9WHL9	N5-carboxyaminoimidazole ribonucleotide synthase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=purK PE=1 SV=1	No	429	45695	purK	Rv3276c	0.00040663	
I6YAY5	Uncharacterized protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3033 PE=1 SV=1	No	182	19272	Rv3033	Rv3033	0.00039529	
P9WQ81	Adenosylmethionine-8-amino-7-oxononanoate aminotransferase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=bioA PE=1 SV=1	No	437	46319	bioA	Rv1568	0.00038452	
P9WFJ5	UPF0603 protein Rv2345 M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2345	No	660	70030	Rv2345	Rv2345	0.00036360	
P71750	Gamma-glutamyltransferase M. tuberculosis H37Rv GN=ggtB PE=1 SV=2	No	643	66560	ggtB	Rv2394	0.00035560	
O53505	Protein LppM M. tuberculosis H37Rv GN=lppM PE=1 SV=3	No	227	23846	lppM	Rv2171	0.00035383	
O53850	D-alanyl-D-alanine dipeptidase M. tuberculosis H37Rv GN=lpqR	No	256	27321	lpqR	Rv0838	0.00034648	
I6YGX2	Penicillin-binding protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=ponA2 PE=1 SV=1	No	810	84636	ponA2	Rv3682	0.00033764	
P71969	Possible secreted protease M. tuberculosis H37Rv GN=Rv2672	No	528	54016	Rv2672	Rv2672	0.00032011	
P9WQA9	Alanine racemase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=alr PE=1 SV=1	No	386	40926	alr	Rv3423c	0.00031916	
O05900	Conserved protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv0907 PE=1 SV=2	No	532	56736	Rv0907	Rv0907	0.00030565	
P9WQ05	Arginine deiminase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=arcA PE=1 SV=1	No	402	43089	arcA	Rv1001	0.00028806	
P9WLQ9	Uncharacterized protein Rv1836c M. tuberculosis H37Rv GN=Rv1836c	No	677	69677	Rv1836c	Rv1836c	0.00027296	
P9WNC5	Dihydroneopterin aldolase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=folB PE=1 SV=1	No	133	14552	folB	Rv3607c	0.00026676	
P9WGU9	Trehalose-binding lipoprotein LpqY OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lpqY PE=1 SV=1	No	468	49793	lpqY	Rv1235	0.00024533	
P9WK77	Putative lipoprotein LppJ M. tuberculosis H37Rv GN=lppJ	No	187	20324	lppJ	Rv2080	0.00023979	
O06237	Lipoprotein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=lppL PE=1 SV=1	No	358	36837	lppL	Rv2138	0.00022161	
O53695	Mycosin-3 M. tuberculosis H37Rv GN=mycP3	No	461	46127	mycP3	Rv0291	0.00020631	
O53620	Aminotransferase M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0075	No	390	42766	Rv0075	Rv0075	0.00020343	
P9WNR7	ESX-1 secretion system ATPase EccB1 M. tuberculosis H37Rv GN=eccB1	No	480	51093	eccB1	Rv3869	0.00020224	
O05582	Uncharacterized protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv0999	No	252	25970	Rv0999	Rv0999	0.00017794	
P9WHH3	Mycothione reductase OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=mtr PE=1 SV=1	No	459	49946	mtr	Rv2855	0.00015245	
O06380	Conserved protein M. tuberculosis H37Rv GN=Rv3627c	No	461	46834	Rv3627c	Rv3627c	0.00011544	
I6XF52	Membrane protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv2721c PE=1 SV=1	No	699	72372	Rv2721c	Rv2721c	0.00011209	
P9WGU7	Probable monoacyl phosphatidylinositol tetramannoside-binding protein LpqW M. tuberculosis H37Rv GN=lpqW	No	635	66130	lpqW	Rv1166	0.00011175	
O05854	Conserved alanine valine rich protein OS=Mycobacterium tuberculosis (strain ATCC 25618 / H37Rv) GN=Rv3212 PE=1 SV=1	No	407	42506	Rv3212	Rv3212	0.00008717	
P9WI81	Serine/threonine-protein kinase PknB M. tuberculosis H37Rv GN=pknB	No	626	66510	pknB	Rv0014c	0.00008501	

Proteínas identificadas en el CFP de *M. tuberculosis* sin anotación proteómica en la base de datos Mycobrowser (Release 3 (2018-06-05))

Locus	Gen	Proteómica	Categoría funcional	Descripción	NSAF total
Rv0186A	mymT	No	Virulence, detoxification, adaptation	Metallothionein, MymT	0.002184895
Rv0868c	moaD2	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable molybdenum cofactor biosynthesis protein D 2 MoaD2	0.001563958
Rv1344	mbtL	No	Lipid metabolism	Acyl carrier protein (ACP) MbtL	0.00115567
Rv2708c	Rv2708c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.001069692
Rv2063A	mazF7	No	Virulence, detoxification, adaptation	Possible toxin MazF7	0.001036277
Rv2828c	Rv2828c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.001026378
Rv0108c	Rv0108c	No	Conserved hypotheticals	Hypothetical protein	0.00089271
Rv3221A	rshA	No	Information pathways	Anti-sigma factor RshA	0.000814724
Rv2271	Rv2271	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000706819
Rv0441c	Rv0441c	No	Conserved hypotheticals	Hypothetical protein	0.000506634
Rv0028	Rv0028	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000443969
Rv1408	rpe	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable ribulose-phosphate 3-epimerase Rpe (PPE) (R5P3E)	0.000428209
Rv2365c	Rv2365c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000396822
Rv3715c	recR	No	Information pathways	Probable recombination protein RecR	0.000395666
Rv0208c	trmB	No	Intermediary metabolism and respiration	Hypothetical methlytransferase (methylase)	0.000344735
Rv1579c	Rv1579c	No	Insertion seqs and phages	Probable PhiRv1 phage protein	0.000341147
Rv0289	espG3	No	Cell wall and cell processes	ESX-3 secretion-associated protein EspG3	0.00033574
Rv1065	Rv1065	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000327644
Rv0998	Rv0998	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000322587
Rv3608c	folP1	No	Intermediary metabolism and respiration	Dihydropteroate synthase 1 FolP (DHPS 1) (dihydropteroate pyrophospho	0.000256936
Rv1813c	Rv1813c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000248107
Rv3329	Rv3329	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable aminotransferase	0.000240055
Rv2295	Rv2295	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000239791
Rv0765c	Rv0765c	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable oxidoreductase	0.000231142
Rv1347c	mbtK	No	Lipid metabolism	Lysine N-acetyltransferase MbtK	0.000168949
Rv2027c	dosT	No	Regulatory proteins	Two component sensor histidine kinase DosT	0.000154796
Rv1595	nadB	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable L-aspartate oxidase NadB	0.00015241
Rv3542c	Rv3542c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.00014102
Rv1148c	Rv1148c	No	Insertion seqs and phages	Conserved hypothetical protein	0.000117222
Rv2152c	murC	No	Cell wall and cell processes	Probable UDP-N-acetylmuramate-alanine ligase MurC	0.000107731

Proteínas en el CFP de M. tuberculosis H37Rv sin evidencia previa a nivel de expresión

Locus	Gen	Evidencia	Categoría funcional	Descripción	NSAF total
Rv0868c	moaD2	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable molybdenum cofactor biosynthesis protein D 2 MoaD2	0.001563958
Rv1344	mbtL	No	Lipid metabolism	Acyl carrier protein (ACP) MbtL	0.00115567
Rv2063A	mazF7	No	Virulence, detoxification, adaptation	Possible toxin MazF7	0.001036277
Rv2828c	Rv2828c	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.001026378
Rv1065	Rv1065	No	Conserved hypotheticals	Conserved hypothetical protein	0.000327644
Rv0765c	Rv0765c	No	Intermediary metabolism and respiration	Probable oxidoreductase	0.000231142
Rv1347c	mbtK	No	Lipid metabolism	Lysine N-acetyltransferase MbtK	0.000168949
Rv1148c	Rv1148c	No	Insertion seqs and phages	Conserved hypothetical protein	0.000117222

Scans de los péptidos confirmando las proteínas sin evidencia a nivel de expresión identificas en el CFP de *M. tuberculosis* H37Rv

Locus	Gen	Archivo	Scan N°	Z	Unico?	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Peptide Sequence
Rv0765c	Rv0765c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	20287	3	True	1503.825413	1503.827803	-1.58928	2.4156	6.413059037	0.3748	18	0.41944	R.RGDLIFVGSDVGLR.Q
Rv0765c	Rv0765c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	16198	2	True	1074.593703	1074.594221	-0.48204	1.999	3.571985703	0.322	14	0.39072	R.AIAFVAETPR.G
Rv0765c	Rv0765c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	16057	3	True	2117.126927	2117.130921	-1.88652	3.8011	11.28181374	0.5199	35	0.49796	R.RTTVVAGASSGIGAATATELAGR.G
Rv0765c	Rv0765c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	21130	3	True	1503.825726	1503.827803	-1.38114	2.8689	8.180720955	0.4751	19	0.45483	R.RGDLIFVGSDVGLR.Q
Rv0765c	Rv0765c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	18448	2	True	1962.025194	1961.02981	-4.06009	3.5198	7.48223093	0.473	22	0.44914	R.TTVVAGASSGIGAATATELAGR.G
Rv0765c	Rv0765c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	16925	2	True	1074.595558	1074.594221	1.24419	2.1112	4.006333685	0.354	14	0.38517	R.AIAFVAETPR.G
Rv0765c	Rv0765c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	14324	3	True	1056.640075	1056.641171	-1.03725	2.1657	0.236988958	0.1537	18	0.28798	K.LAELVDKIR.A
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	8796	2	False	698.360845	698.362036	-1.70542	1.2944	1.099612789	0.3105	6	0.36035	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	8700	2	False	698.360955	698.362036	-1.54791	1.0354	0.733969175	0.3259	6	0.32023	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	8190	2	False	698.360736	698.362036	-1.8615	1.0489	-0.512823626	0.2247	6	0.31622	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	7058	2	False	698.359795	698.362036	-3.20895	1.0599	-0.165514438	0.2221	6	0.31274	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	21488	2	True	1487.801457	1487.806399	-3.32168	2.779	10.47974098	0.5333	16	0.50866	R.SGATVAELIDGLSVR.D
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	6401	3	True	1230.679215	1230.680076	-0.69961	2.613	7.013115795	0.4436	21	0.46422	R.AAAGAGSEKVTLR.S
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	8921	2	False	698.360754	698.362036	-1.83573	1.2394	0.56563386	0.3033	6	0.3613	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	6822	2	False	698.360268	698.362036	-2.53164	1.0288	-0.31481074	0.2243	5	0.33529	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171218_PT_H37Rv_2-3_171218204333.sqt	8105	2	False	698.36058	698.362036	-2.08488	1.098	-0.783901544	0.1898	6	0.3346	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	8469	2	False	698.361194	698.362036	-1.20568	1.0207	-0.854415328	0.1633	6	0.32675	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	8557	2	False	698.361114	698.362036	-1.32023	1.0349	-0.783901544	0.1882	6	0.32457	R.YFAAAR.G
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	5952	3	True	1230.677918	1230.680076	-1.75351	3.2212	8.334871635	0.4829	23	0.47485	R.AAAGAGSEKVTLR.S
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	19994	2	True	1487.802904	1487.806399	-2.3491	2.5153	6.495645628	0.5126	13	0.4705	R.SGATVAELIDGLSVR.D
Rv0868c	moaD2	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	24595	2	True	1487.802904	1487.806399	-2.3491	2.6083	6.133028111	0.5012	14	0.46431	R.SGATVAELIDGLSVR.D
Rv0868c	moaD2	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	18806	3	True	1857.99918	1858.002867	-1.98439	2.0356	1.731605546	0.2036	21	0.32732	R.SGATVAELIDGLSVRDVR.L
Rv0868c	moaD2	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	23092	3	True	1858.000828	1858.002867	-1.09742	1.9343	0.776528789	0.1736	20	0.31806	R.SGATVAELIDGLSVRDVR.L
Rv1065	Rv1065	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	5307	2	True	881.482481	881.483942	-1.65744	1.5588	3.684887433	0.4307	8	0.7984	T.AVPSPGPTR.L
Rv1065	Rv1065	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	10819	2	True	1288.606615	1288.612784	-4.78734	2.4655	4.605170186	0.4061	16	0.4195	R.ATDQAADDVLGGR.C
Rv1065	Rv1065	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	16158	3	True	955.601633	955.604726	-3.2367	1.8999	1.184170177	0.1984	14	0.31045	R.LRVADLLR.A
Rv1065	Rv1065	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	6638	2	True	1417.654485	1417.655377	-0.62921	1.8003	3.641995868	0.4178	10	0.79992	R.QRTELTDQPEGSG.-
Rv1065	Rv1065	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	11651	2	True	1289.613329	1288.612784	-2.17507	2.1024	3.206453305	0.3556	14	0.37658	R.ATDQAADDVLGGR.C
Rv1065	Rv1065	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	17176	3	True	955.603153	955.604726	-1.64608	2.1876	2.461580824	0.2766	14	0.35157	R.LRVADLLR.A
Rv1065	Rv1065	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	17200	2	True	955.602823	955.604726	-1.99141	1.9935	0.663588378	0.1375	11	0.31059	R.LRVADLLR.A
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	35919	3	True	2127.223179	2127.227113	-1.84936	3.0433	9.019720012	0.5276	27	0.5153	K.GLPVTIVVSTTLKELEAATGK.G
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	35036	3	True	2128.230076	2127.227113	-0.18184	2.2932	3.725543438	0.4722	23	0.46584	K.GLPVTIVVSTTLKELEAATGK.G
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	8190	2	True	1080.582969	1080.579634	3.0863	1.2617	0.056570351	0.2056	9	0.31935	R.LHITPGEASR.R
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	33619	3	True	2127.22263	2127.227113	-2.10744	3.9379	12.69709564	0.6127	30	0.57095	K.GLPVTIVVSTTLKELEAATGK.G
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	35708	3	True	2128.227329	2127.227113	-1.47259	2.9545	5.704782975	0.4812	26	0.46224	K.GLPVTIVVSTTLKELEAATGK.G
Rv1148c	Rv1148c	171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	11936	3	False	1707.930149	1706.929642	-1.66459	1.8769	-0.451075619	0.1335	21	0.29647	R.TALANRLHITPGEASR.R
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	26403	3	True	2719.447239	2718.451981	-2.9756	3.3428	9.986869161	0.5493	30	0.83905	M.TSSPSTVSTTLLSILRDDLNIDLTR.V
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	26802	3	True	2305.170017	2305.174425	-1.91222	3.9129	13.20574499	0.5638	27	0.55833	R.LVDDVGLDSVAFAVGMVAIEER.L
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	26811	2	True	2306.176561	2305.174425	-0.52641	2.994	9.737973114	0.5876	18	0.55174	R.LVDDVGLDSVAFAVGMVAIEER.L
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	26309	3	True	2702.374752	2702.380451	-2.10889	3.3236	6.04909366	0.4245	25	0.45188	R.LGVALSEEELLTCDTVGELEAAIAAK.Y
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	23979	3	True	2322.164219	2321.169325	-3.64143	2.3875	5.735273142	0.4264	28	0.42867	R.LVDDVGLDSVAFAVGM(+15.994900)VAIEER.L
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	13792	2	True	1074.545264	1074.542579	2.49873	1.9682	2.474560358	0.3705	11	0.39838	R.DDLNIDLTR.V
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	24157	3	True	2719.449803	2718.451981	-2.03276	3.3616	6.400937677	0.4721	32	0.79142	M.TSSPSTVSTTLLSILRDDLNIDLTR.V
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	24052	3	True	2703.379917	2702.380451	-1.43672	2.4312	4.668109986	0.5038	18	0.46976	R.LGVALSEEELLTCDTVGELEAAIAAK.Y
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	24412	3	True	2306.182957	2305.174425	2.247	2.4455	6.578451532	0.4686	19	0.44444	R.LVDDVGLDSVAFAVGMVAIEER.L
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	24067	3	True	2703.37723	2702.380451	-2.43066	2.4948	6.966444275	0.4436	22	0.42201	R.LGVALSEEELLTCDTVGELEAAIAAK.Y
Rv1344	mbtL	171213_PT_H37Rv_2-6.sqt	22115	3	True	2321.169416	2321.169325	0.0392	1.8657	2.462753845	0.3764	19	0.3838	R.LVDDVGLDSVAFAVGM(+15.994900)VAIEER.L
Rv1347c	mbtK	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	16412	2	True	1202.650927	1202.652799	-1.55656	1.8352	2.292634762	0.3376	11	0.372	R.IVASVFANEPR.C
Rv1347c	mbtK	171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	8930	4	True	1576.772523	1573.753986	5.38251	1.6128	-1.93874166	0.0237	29	0.3024	R.IMFDPDHRNTATR.R
Rv1347c	mbtK	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	17043	2	True	1202.648694	1202.652799	-3.4133	2.4048	5.081594383	0.3812	13	0.39367	R.IVASVFANEPR.C
Rv1347c	mbtK	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	27713	3	True	2776.361363	2776.346453	5.37034	1.8706	0.229413164	0.156	24	0.28512	K.DLISHYYDADPYDLGLHAAIADLSK.V
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	13269	3	True	2250.169346	2249.170674	-2.07895	3.4005	10.58470616	0.5406	25	0.53012	R.TPLRPPVAPSEGVAADSVAVCR.G
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	23449	4	True	2884.563864	2883.568682	-2.83162	3.1984	8.364472104	0.5229	33	0.51318	R.AIENALTLILGLPTGPERGEAATHSPVR.W
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	20081	2	True	1413.797537	1413.796109	1.01005	3.4682	7.937774776	0.4941	19	0.50783	R.RGDLWLVSLGAAR.A
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	27111	3	True	1878.06699	1878.06949	-1.33116	3.1224	7.563606675	0.4876	24	0.49616	R.AIENALTLILGLPTGPER.G
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	20067	3	True	1413.793899	1413.796109	-1.56317	2.9076	6.087975447	0.4237	22	0.45541	R.RGDLWLVSLGAAR.A
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	26207	4	True	3726.988669	3726.007231	-5.87928	2.6753	5.177871213	0.4821	25	0.45319	R.AGEPGKHRPAVVVSVDELLTGIDDELVVVVPVSSSR.S
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	11824	4	True	2492.295193	2492.303813	-3.45866	3.1656	4.456750181	0.3782	39	0.41881	R.SRTPLRPPVAPSEGVAADSVAVCR.G
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	23502	3	True	2884.564427	2883.568682	-2.63645	1.9313	1.7837913	0.3476	18	0.39683	R.AIENALTLILGLPTGPERGEAATHSPVR.W
Rv2063A	mazF7	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	27125	2	True	1878.061626	1878.06949	-4.1873	2.3446	4.219907785	0.3623	17	0.39378	R.AIENALTLILGLPTGPER.G
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	25040	4	True	2884.56362	2883.568682	-2.91621	3.7415	7.806697373	0.4909	41	0.47302	R.AIENALTLILGLPTGPERGEAATHSPVR.W
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	28307	3	True	1878.06553	1878.06949	-2.10855	2.8006	7.579140968	0.4989	25	0.46966	R.AIENALTLILGLPTGPER.G
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	28315	2	True	1878.06154	1878.06949	-4.23309	2.8918	6.785537646	0.4933	18	0.45133	R.AIENALTLILGLPTGPER.G
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	21305	3	True	1413.795094	1413.796109	-0.71793	2.7707	5.96384938	0.3759	25	0.40292	R.RGDLWLVSLGAAR.A
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	14378	3	True	2250.16843	2249.170674	-2.48604	2.7155	4.74558234	0.3919	24	0.40219	R.TPLRPPVAPSEGVAADSVAVCR.G
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	21354	2	True	1413.797045	1413.796109	0.66205	2.8212	5.878135862	0.3877	15	0.39806	R.RGDLWLVSLGAAR.A
Rv2063A	mazF7	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	25051	3	True	2885.574619	2883.568682	-0.26442	1.9667	1.398366942	0.2244	25	0.33753	R.AIENALTLILGLPTGPERGEAATHSPVR.W
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	26822	4	False	2646.490866	2645.488581	-0.40242	3.2128	4.883562212	0.429	35	0.81841	V.TPALKEWSAAVHALLDGRQTVLLR.K
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	25609	3	False	3071.637425	3070.632011	0.67195	4.2865	12.40208753	0.6078	30	0.61589	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	26205	3	False	1648.022251	1647.020355	-0.88227	3.0275	9.028018815	0.6115	27	0.58073	K.LAVLVVSAIPLAEPVR.L
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	26171	2	False	1647.01726	1647.020355	-1.87915	3.0417	11.36450546	0.6138	16	0.57564	K.LAVLVVSAIPLAEPVR.L
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	25613	3	False	3072.62656	3070.632011	-3.9546	3.6271	6.967505283	0.5109	30	0.52346	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	22573	2	False	1916.941332	1915.942965	-2.59945	2.7179	7.561681746	0.5253	16	0.49903	R.DLLGPAAADSTDECVLLR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	25579	4	False	3070.628803	3070.632011	-1.04474	3.0773	6.119297919	0.4161	35	0.47385	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	19480	4	False	2566.316794	2564.315702	-2.18523	2.8301	3.611918413	0.331	41	0.39718	K.RFEVAAHEFLLFPTVAHSHAER.V
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	22687	4	False	3072.626364	3070.632011	-4.01839	2.1035	0.693147181	0.1971	31	0.36779	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	22596	2	False	1917.951098	1915.942965	0.74715	1.4778	-0.444685821	0.1304	14	0.32306	R.DLLGPAAADSTDECVLLR.A
Rv2828c	Rv2828c	171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	23685	2	True	2696.304247	2696.302476	0.65682	1.8691	3.649658741	0.4319	9	0.71171	R.TPEYGGCTSWVQLPVTPTLAAPVHD.E
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	27855	4	False	2646.489401	2645.488581	-0.95598	3.6477	8.044069435	0.5079	38	0.79884	V.TPALKEWSAAVHALLDGRQTVLLR.K
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	26987	3	False	3070.621922	3070.632011	-3.28565	4.7698	14.39711636	0.6356	33	0.60063	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	27537	2	False	1647.016893	1647.020355	-2.10198	3.4228	12.60655021	0.639	17	0.58972	K.LAVLVVSAIPLAEPVR.L
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	23622	2	False	1915.934367	1915.942965	-4.48763	3.4944	11.40856545	0.5967	18	0.54259	R.DLLGPAAADSTDECVLLR.A
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	27586	3	False	1647.02006	1647.020355	-0.17911	2.8617	6.199719486	0.5742	27	0.53537	K.LAVLVVSAIPLAEPVR.L
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	24811	2	False	1647.012657	1647.020355	-4.67392	3.0541	7.377758908	0.5797	17	0.52046	K.LAVLVVSAIPLAEPVR.L
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	26634	3	True	3679.810154	3677.82682	-6.34978	3.9416	9.471705136	0.5578	36	0.49416	R.TPEYGGCTSWVQLPVTPTLAAPVHDEAALAEVAAR.V
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	26949	4	False	3070.62855	3070.632011	-1.12713	3.0334	5.306349538	0.422	30	0.44637	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	24204	4	False	3072.636618	3070.632011	-0.68117	2.2679	2.128631786	0.3443	28	0.39997	K.VVAALPVNRPEGLDAIEDLHIWTAESVR.A
Rv2828c	Rv2828c	171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	9577	3	False	1117.609103	1117.611268	-1.93717	2.2451	1.328025453	0.2567	20	0.32577	R.ADRLDFRPK.H

Cuenta de Unique	Etiquetas de columna	
Etiquetas de fila	True	Total general
mazF7	**16**	**16**
R.AGEPGKHRPAVVVSVDELLTGIDDELVVVVPVSSSR.S	1	1
R.AIENALTLILGLPTGPER.G	4	4
R.AIENALTLILGLPTGPERGEAATHSPVR.W	4	4
R.RGDLWLVSLGAAR.A	4	4
R.SRTPLRPPVAPSEGVAADSVAVCR.G	1	1
R.TPLRPPVAPSEGVAADSVAVCR.G	2	2
mbtK	**4**	**4**
K.DLISHYYDADPYDLGLHAAIADLSK.V	1	1
R.IMFDPDHRNTATR.R	1	1
R.IVASVFANEPR.C	2	2
mbtL	**11**	**11**
M.TSSPSTVSTTLLSILRDDLNIDLTR.V	2	2
R.DDLNIDLTR.V	1	1
R.LGVALSEEELLTCDTVGELEAAIAAK.Y	3	3
R.LVDDVGLDSVAFAVGM(+15.994900)VAIEER.L	2	2
R.LVDDVGLDSVAFAVGMVAIEER.L	3	3
moaD2	**7**	**7**
R.AAAGAGSEKVTLR.S	2	2
R.SGATVAELIDGLSVR.D	3	3
R.SGATVAELIDGLSVRDVR.L	2	2
Rv0765c	**7**	**7**
K.LAELVDKIR.A	1	1
R.AIAFVAETPR.G	2	2
R.RGDLIFVGSDVGLR.Q	2	2
R.RTTVVAGASSGIGAATATELAGR.G	1	1
R.TTVVAGASSGIGAATATELAGR.G	1	1
Rv1065	**7**	**7**
R.ATDQAADDVLGGR.C	2	2
R.LRVADLLR.A	3	3
R.QRTELTDQPEGSG.-	1	1
T.AVPSPGPTR.L	1	1
Rv1148c	**5**	**5**
K.GLPVTIVVSTTLKELEAATGK.G	4	4
R.LHITPGEASR.R	1	1
Rv2828c	**2**	**2**
R.TPEYGGCTSWVQLPVTPTLAAPVHD.E	1	1
R.TPEYGGCTSWVQLPVTPTLAAPVHDEAALAEVAAR.V	1	1
Total general	**59**	**59**

Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv

Archivo	N° scan	Z	Unico?	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Secuencia peptídica	Glicano	Gly site p-value	Proteina Uniprot	Gen	Locus	Descripción de proteína
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	15239	4	True	4352.934714	4351.917427	3.20175	3.4957	6.878196477	0.4104	38	0.7269	EGS(+162.052824)YVPS(+162.052824)GPPGPP EQRPAYPDQGGYDQGYQQGATTYGR	Hex	0.0108	P71590	fhaA	Rv0020c	Conserved protein with FHA domain, FhaA
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	14329	4	True	4351.932272	4351.917427	3.41113	3.2329	5.979535976	0.4078	37	0.69939	EGS(+162.052824)YVPS(+162.052824)GPPGPP EQRPAYPDQGGYDQGYQQGATTYGR	Hex	0.2937	P71590	fhaA	Rv0020c	Conserved protein with FHA domain, FhaA
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	15239	4	True	4352.934714	4351.917379	3.21278	3.6859	8.310179022	0.4785	38	0.9329	EGS(+324.105600)YVPSGPPGPPEQRPAYPDQG GYDQGYQQGATTYGR	Hex-Hex	0.0317	P71590	fhaA	Rv0020c	Conserved protein with FHA domain, FhaA
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	14329	4	True	4351.932272	4351.917379	3.42216	3.3923	8.142187291	0.4701	38	0.90179	EGS(+324.105600)YVPSGPPGPPEQRPAYPDQG GYDQGYQQGATTYGR	Hex-Hex	0.0638	P71590	fhaA	Rv0020c	Conserved protein with FHA domain, FhaA
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	9645	2	True	1632.74241	1630.754078	-11.24978	1.6885	-0.231111721	0.1123	9	0.22422	LLDNDKSPS(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.924	O53611	icd2	Rv0066c	Probable isocitrate dehydrogenase [NADP] Icd2 (oxalosuccinate decarboxylase) (IDH) (NADP+-specific ICDH) (IDP)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	10328	2	True	1632.745375	1630.754078	-9.4338	1.9178	0.619896719	0.1459	11	0.30923	LLDNDKSPS(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.0876	O53611	icd2	Rv0066c	Probable isocitrate dehydrogenase [NADP] Icd2 (oxalosuccinate decarboxylase) (IDH) (NADP+-specific ICDH) (IDP)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	10270	2	True	1632.744163	1630.754078	-10.17612	1.6712	-1.302912752	0.0955	9	0.30473	LLDNDKSPS(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.5939	O53611	icd2	Rv0066c	Probable isocitrate dehydrogenase [NADP] Icd2 (oxalosuccinate decarboxylase) (IDH) (NADP+-specific ICDH) (IDP)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	19365	4	True	2150.118307	2149.098213	7.78748	1.4645	-2.58021683	0.0697	22	0.21838	ANS(+486.158400)PKPGRAPTGLAGLR	Hex-Hex-Hex	0.614	I6Y340	Rv0216	Rv0216	Double hotdog hydratase
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18903	4	True	2151.118551	2149.098213	6.33996	2.3022	0.757152511	0.1468	24	0.2714	ANS(+486.158400)PKPGRAPTGLAGLR	Hex-Hex-Hex	0.1544	I6Y340	Rv0216	Rv0216	Double hotdog hydratase
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	5227	3	True	1433.652485	1433.668905	-11.45326	2.1691	2.103734234	0.2686	19	0.29228	M(+15.994900)SQSRYAGLS(+162.052824)R	Hex	0.3209	O07238	Rv0311	Rv0311	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	5583	3	True	1433.652073	1433.668905	-11.74064	1.9012	-0.457424847	0.1241	17	0.24612	M(+15.994900)SQSRYAGLS(+162.052824)R	Hex	0.1288	O07238	Rv0311	Rv0311	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	5356	3	True	1433.653052	1433.668905	-11.05777	1.8262	-0.708035793	0.1005	17	0.26838	M(+15.994900)SQSRYAGLS(+162.052824)R	Hex	0.1649	O07238	Rv0311	Rv0311	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	15069	2	True	1553.792119	1553.80166	-6.14046	1.5973	-1.719188776	0.093	8	0.31603	KGAGVT(+324.105600)GENRLK	Hex-Hex	0.466	O06299	Rv0348	Rv0348	Possible transcriptional regulatory protein
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	14416	2	True	1553.794389	1553.80166	-4.67951	1.8757	1.158362293	0.235	9	0.3138	KGAGVT(+324.105600)GENRLK	Hex-Hex	0.0426	O06299	Rv0348	Rv0348	Possible transcriptional regulatory protein
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	13800	2	True	1553.791412	1553.80166	-6.59548	1.8455	-0.21511138	0.1469	9	0.28717	KGAGVT(+324.105600)GENRLK	Hex-Hex	0.8279	O06299	Rv0348	Rv0348	Possible transcriptional regulatory protein
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	17730	3	True	2636.184055	2635.174016	2.53738	3.0236	6.578451532	0.3888	21	0.84933	TT(+486.158400)ADDNQPSVQJQVYQGER	Hex-Hex-Hex	0.8792	P9WMJ9	dnaK	Rv0350	Probable chaperone protein DnaK (heat shock protein 70) (heat shock 70 kDa protein) (HSP70)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18222	3	True	2635.183924	2635.174016	3.75989	2.9654	5.750874082	0.3883	21	0.8731	TT(+486.158400)ADDNQPSVQJQVYQGER	Hex-Hex-Hex	0.3848	P9WMJ9	dnaK	Rv0350	Probable chaperone protein DnaK (heat shock protein 70) (heat shock 70 kDa protein) (HSP70)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	21103	2	True	2624.23247	2622.249778	-9.14858	2.0912	0.368169323	0.1351	12	0.29666	M(+15.994900)T(+162.052824)PPRVLSIAGSDS GGGAGIQADMR	Hex	0.1858	P9WG77	thiD	Rv0422c	Probable phosphomethylpyrimidine kinase ThiD (HMP-phosphate kinase) (HMP-P kinase)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	21395	2	True	2624.226122	2622.249778	-11.5676	2.0388	-0.270027137	0.0502	13	0.23578	M(+15.994900)T(+162.052824)PPRVLSIAGSDS GGGAGIQADMR	Hex	0.6912	P9WG77	thiD	Rv0422c	Probable phosphomethylpyrimidine kinase ThiD (HMP-phosphate kinase) (HMP-P kinase)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	20760	2	True	2624.23662	2622.249778	-7.56715	2.0182	-0.683096845	0.0908	12	0.31183	M(+15.994900)T(+162.052824)PPRVLSIAGSDS GGGAGIQADMR	Hex	0.874	P9WG77	thiD	Rv0422c	Probable phosphomethylpyrimidine kinase ThiD (HMP-phosphate kinase) (HMP-P kinase)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	39968	3	True	2259.180149	2256.19041	-8.99043	1.9794	-0.254642218	0.1091	15	0.22475	AAVT(+162.052824)GLPGVVDGGTMVVIQGPR	Hex	0.5323	O06401	pnp	Rv0535	Probable 5'-methylthioadenosine phosphorylase Pnp (MTA phosphorylase)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	38960	3	True	2259.189121	2256.19041	-5.01906	1.9141	-0.322083499	0.1078	14	0.27228	AAVT(+162.052824)GLPGVVDGGTMVVIQGPR	Hex	0.1089	O06401	pnp	Rv0535	Probable 5'-methylthioadenosine phosphorylase Pnp (MTA phosphorylase)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	22183	3	True	1920.913487	1918.912727	-3.09228	2.7345	1.877317358	0.2239	18	0.40358	YDLTNTVLS(+324.105600)LGQDR	Hex-Hex	0.0293	P9WFR3	menH	Rv0558	Probable ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase MenH (2-heptaprenyl-1,4-naphthoquinone methyltransferase)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	23343	3	True	1919.905228	1918.912727	-5.6508	2.2307	-0.039220713	0.1408	17	0.35674	YDLTNTVLS(+324.105600)LGQDR	Hex-Hex	0.6564	P9WFR3	menH	Rv0558	Probable ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase MenH (2-heptaprenyl-1,4-naphthoquinone methyltransferase)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	21929	3	True	1919.912731	1918.912727	-1.74279	2.3006	0.450985623	0.1847	19	0.35792	YDLTNTVLS(+324.105600)LGQDR	Hex-Hex	0.5809	P9WFR3	menH	Rv0558	Probable ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase MenH (2-heptaprenyl-1,4-naphthoquinone methyltransferase)
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	20798	3	True	1920.914951	1918.912727	-2.33014	1.9928	0.988861425	0.2446	16	0.34442	YDLTNTVLS(+324.105600)LGQDR	Hex-Hex	0.1129	P9WFR3	menH	Rv0558	Probable ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase MenH (2-heptaprenyl-1,4-naphthoquinone methyltransferase)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	23045	3	True	1919.910066	1918.912727	-3.13088	2.3465	0.061875404	0.134	17	0.33417	YDLTNTVLS(+324.105600)LGQDR	Hex-Hex	0.4879	P9WFR3	menH	Rv0558	Probable ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase MenH (2-heptaprenyl-1,4-naphthoquinone methyltransferase)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	22514	3	True	2804.350146	2804.357138	-2.49327	2.4834	-0.542324291	0.0409	18	0.31447	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.5111	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	20049	3	True	2804.348725	2804.357138	-2.99998	2.4491	0.30652516	0.0217	18	0.31842	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.9064	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	21296	3	True	2805.354466	2804.357138	-2.14661	2.4427	0.546452801	0.0528	21	0.34008	GDEAVELT(+162.052824)SST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.372	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	21025	3	True	2804.34931	2804.357138	-2.79138	2.4063	-0.31481074	0.037	20	0.33293	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.0892	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	23163	3	True	2804.351296	2804.357138	-2.08319	2.308	-0.966983846	0.0338	21	0.35129	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.4119	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	18888	3	True	2804.348347	2804.357138	-3.13477	2.2893	-0.198850859	0.0427	19	0.33882	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.4999	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	17519	4	True	2806.358053	2804.357138	-2.06139	2.2741	0.482886255	0.0371	27	0.28827	GDEAVELT(+162.052824)SST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.1716	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	20563	4	True	2806.333883	2804.357138	-10.67407	2.23	-0.879626748	0.0791	27	0.20068	GDEAVELT(+162.052824)SST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.2944	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	22271	3	True	2804.351149	2804.357138	-2.13561	2.2132	-1.376244025	0.0437	18	0.32409	GDEAVELTS(+162.052824)ST(+162.052824)EE RVKAAVDVFK	Hex	0.6927	P9WFK9	Rv0566c	Rv0566c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	12528	2	True	1372.678881	1372.680148	-0.92301	1.7384	-0.157003749	0.1269	11	0.37298	RTEASKAAS(+324.105600)K	Hex-Hex	0.2721	P9WHC1	rplV	Rv0706	50S ribosomal protein L22 RplV
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	12793	2	True	1372.683397	1372.680148	2.3669	1.648	-0.524728529	0.1407	11	0.37251	RTEASKAAS(+324.105600)K	Hex-Hex	0.1943	P9WHC1	rplV	Rv0706	50S ribosomal protein L22 RplV
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	12804	2	True	1372.682299	1372.680148	1.567	1.6845	0.752897185	0.1356	9	0.29235	RTEASKAAS(+324.105600)K	Hex-Hex	0.2255	P9WHC1	rplV	Rv0706	50S ribosomal protein L22 RplV
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	25407	3	True	3457.646092	3454.647114	-3.20218	3.7775	6.940278471	0.4336	28	0.74067	PANQAIS(+162.052824)M(+15.994900)IDGPA PDGYPIINYEYAIVNNR	Hex	0.3854	P9WGU1	pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (PstS1)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	23950	3	True	3456.645329	3454.647114	-2.45469	3.2601	11.2505612	0.4952	27	0.71259	PANQAIS(+162.052824)M(+15.994900)IDGPA PDGYPIINYEYAIVNNR	Hex	0.0083	P9WGU1	pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (PstS1)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	20767	2	True	1447.827702	1447.836637	-6.17131	2.0221	2.024953356	0.2525	10	0.34543	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.0399	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	21863	2	True	1447.82457	1447.836637	-8.33457	1.9856	2.368724895	0.3066	10	0.35998	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.041	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	21424	2	True	1447.82393	1447.836637	-8.77662	1.847	1.133203733	0.1957	11	0.32266	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.1575	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	21116	2	True	1447.825252	1447.836637	-7.86352	1.8294	1.62455155	0.2463	10	0.34009	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.6338	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	21799	2	True	1447.824879	1447.836637	-8.12115	1.7915	2.207274913	0.2925	10	0.34777	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.0666	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	19810	2	True	1447.8263	1447.836637	-7.13967	1.6066	0.352398387	0.2051	10	0.32881	LVVLASGTGS(+162.052824)LLR	Hex	0.7316	P9WHM5	purN	Rv0956	Probable 5'-phosphoribosylglycinamide formyltransferase PurN (GART) (gar transformylase) (5'-phosphoribosylglycinamide transformylase)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	40249	4	True	3390.637594	3388.623908	2.06038	2.3276	0.335472736	0.1566	30	0.24428	M(+15.994900)GPWAQAVFDT(+486.158400)L EGLASPAVLEEVLSR	Hex-Hex-Hex	0.1148	O53443	phoH2	Rv1095	Probable PHOH-like protein PhoH2 (phosphate starvation-inducible protein PSIH)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	40634	4	True	3390.632467	3388.623908	0.54828	2.7087	1.055552799	0.1652	33	0.31807	M(+15.994900)GPWAQAVFDT(+486.158400)L EGLASPAVLEEVLSR	Hex-Hex-Hex	0.1349	O53443	phoH2	Rv1095	Probable PHOH-like protein PhoH2 (phosphate starvation-inducible protein PSIH)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19343	4	True	3193.720658	3192.736154	-5.90095	2.1495	-0.285178942	0.1143	30	0.35688	IAVGPDAAHVLDITAPIS(+324.105600)ENIRAVA KVK	Hex-Hex	0.205	P9WN21	glpX	Rv1099c	Fructose 1,6-bisphosphatase GlpX
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	19166	4	True	3195.725485	3192.736154	-6.48335	1.9289	-1.098612289	0.0945	31	0.29349	IAVGPDAAHVLDITAPIS(+324.105600)ENIRAVA KVK	Hex-Hex	0.5398	P9WN21	glpX	Rv1099c	Fructose 1,6-bisphosphatase GlpX
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	15713	3	True	1558.786478	1558.784661	1.16565	2.1041	0.369615455	0.0962	19	0.30275	KTAEVVDAFTTS(+162.052824)K	Hex	0.1494	O06291	htrA	Rv1223	Probable serine protease HtrA (DEGP protein)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	15372	3	True	1558.791132	1558.784661	4.15129	2.047	1.120857898	0.1424	16	0.28812	KTAEVVDAFTTS(+162.052824)K	Hex	0.3379	O06291	htrA	Rv1223	Probable serine protease HtrA (DEGP protein)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	26209	3	True	2260.216892	2260.203083	6.10959	3.6222	9.044825933	0.4626	29	0.73782	IT(+162.052824)ALRDGDIDILVATDVAAR	Hex	0.0092	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	27626	3	True	2261.225071	2260.203083	8.24243	3.1385	7.369790739	0.4117	23	0.71018	IT(+162.052824)ALRDGDIDILVATDVAAR	Hex	0.011	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	27145	3	True	2261.214268	2260.203083	3.46495	3.0796	5.491902116	0.3863	26	0.73251	IT(+162.052824)ALRDGDIDILVATDVAAR	Hex	0.7701	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	27613	3	True	2260.218237	2260.203083	6.70466	2.8776	5.225066905	0.3923	28	0.72241	IT(+162.052824)ALRDGDIDILVATDVAAR	Hex	0.0242	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	11311	2	True	1181.564388	1180.557955	2.60925	1.7886	0.805196684	0.2194	11	0.3386	QAT(+162.052824)EEIAEK	Hex	0.0786	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	11837	2	True	1181.56621	1180.557955	4.15127	1.627	-1.181727195	0.0711	11	0.31228	QAT(+162.052824)EEIAEK	Hex	0.3276	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	10871	2	True	1181.56838	1180.557955	5.9878	1.4852	-0.989541194	0.1345	9	0.30308	QAT(+162.052824)EEIAEK	Hex	0.3933	P9WH05	deaD	Rv1253	Probable cold-shock DeaD-box protein A homolog DeaD (ATP-dependent RNA helicase dead homologe)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13469	2	True	1885.860643	1885.869515	-4.70448	2.9052	7.816573996	0.153	15	0.30908	ASDTAAT(+162.052824)ASNGDAAM(+15.994900)ILLK	Hex	0.2831	P9WK55	lprA	Rv1270c	Possible lipoprotein LprA
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	15318	2	True	2033.91289	2031.927439	-10.44735	2.231	2.047942875	0.2463	12	0.30637	ASDTAAT(+162.052824)AS(+162.052824)NGD AAMILLK	Hex	0.0382	P9WK55	lprA	Rv1270c	Possible lipoprotein LprA
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	24194	3	True	2795.470616	2794.468831	-0.55983	2.0472	0.215671536	0.0643	19	0.31251	TLALRASAGLVAGM(+15.994900)AMAAIT(+324.105600)LAPGAR	Hex-Hex	0.2801	P9WM15	Rv1352	Rv1352	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	22857	3	True	2795.466404	2794.468831	-2.06656	1.9817	0.283690051	0.1284	21	0.27214	TLALRASAGLVAGM(+15.994900)AMAAIT(+324.105600)LAPGAR	Hex-Hex	0.2487	P9WM15	Rv1352	Rv1352	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	12961	3	True	2949.403721	2949.405879	-0.73167	3.4126	12.09095984	0.096	26	0.32854	KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)P SPEAQQJILQDSSK	Hex	0.2131	P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13496	3	True	2950.402928	2949.405879	-2.13564	3.3954	7.963308078	0.0304	29	0.29748	KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)P SPEAQQJILQDSSK	Hex	0.2792	P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	12961	3	True	2949.403721	2949.405831	-0.7154	3.583	-0.947789399	0.0749	25	0.362	KPTTASSPSPGS(+324.105600)PSPEAQQJILQDSSK	Hex-Hex	0.0978	P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13496	3	True	2950.402928	2949.405831	-2.11937	3.9318	3.657380787	0.0916	29	0.31173	KPTTASSPSPGS(+324.105600)PSPEAQQJILQDSSK	Hex-Hex	0.0615	P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	17897	3	True	2454.188023	2453.196258	-4.7205	1.9403	-0.076961041	0.1124	19	0.28848	NFVEALGKVM(+15.994900)RSLETT(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.128	P9WPK3	carB	Rv1384	Probable carbamoyl-phosphate synthase large chain CarB (carbamoyl-phosphate synthetase ammonia chain)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18460	3	True	2454.182163	2453.196258	-7.10827	2.0717	0.539568093	0.1547	22	0.34467	NFVEALGKVM(+15.994900)RSLETT(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.894	P9WPK3	carB	Rv1384	Probable carbamoyl-phosphate synthase large chain CarB (carbamoyl-phosphate synthetase ammonia chain)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18252	3	True	2454.186375	2453.196258	-5.39201	1.7961	0.095410185	0.022	21	0.34178	NFVEALGKVM(+15.994900)RSLETT(+486.158400)R	Hex-Hex-Hex	0.7708	P9WPK3	carB	Rv1384	Probable carbamoyl-phosphate synthase large chain CarB (carbamoyl-phosphate synthetase ammonia chain)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	17105	3	True	2360.041602	2357.037051	-2.33004	2.0011	0.772190388	0.0991	17	0.28787	MSETS(+162.052824)APAEELLADVEEAM(+15.994900)R	Hex	0.9008	O53157	Rv1466	Rv1466	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	17411	3	True	2360.040857	2357.037051	-2.64572	1.7795	0.071496002	0.0983	18	0.30514	MSETS(+162.052824)APAEELLADVEEAM(+15.994900)R	Hex	0.4015	O53157	Rv1466	Rv1466	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	17343	3	True	2360.042206	2357.037051	-2.07412	1.5659	-1.913977102	0.0388	21	0.29045	MSETS(+162.052824)APAEELLADVEEAM(+15.994900)R	Hex	0.4537	O53157	Rv1466	Rv1466	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	32817	3	True	2486.22086	2486.214365	2.6124	3.057	5.829345698	0.3684	22	0.84738	T(+486.158400)ELTPHPLLTHAVDQTAR	Hex-Hex-Hex	0.1296	O53901	pks5	Rv1527C	Probable polyketide synthase PksS
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	33012	3	True	2486.22855	2486.214365	5.70543	3.1085	6.536191723	0.3578	20	0.86098	T(+486.158400)ELTPHPLLTHAVDQTAR	Hex-Hex-Hex	0.0736	O53901	pks5	Rv1527C	Probable polyketide synthase PksS
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	13559	2	True	1239.561681	1237.556881	-1.5328	1.127	-0.576613364	0.1485	7	0.24666	FLEAGS(+486.158400)K	Hex-Hex-Hex	0.4521	P9WKJ9	infC	Rv1641	Probable initiation factor if-3 InfC
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	14417	2	True	1239.562338	1237.556881	-1.00277	1.2362	-1.360976553	0.0539	7	0.30654	FLEAGS(+486.158400)K	Hex-Hex-Hex	0.8209	P9WKJ9	infC	Rv1641	Probable initiation factor if-3 InfC
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	16219	3	True	3403.682346	3402.691102	-3.55674	2.7918	5.921938484	0.3209	27	0.40194	SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAAT(+162.052824)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex	0.0381	I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF

Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv

Archivo	N° scan	Z	Unico?	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Secuencia peptídica	Glicano	Gly site p-value	Proteína Uniprot	Gen	Locus	Descripción de proteína
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	14987	3	True	3403.688206	3402.691102	-1.83507	2.649	4.992304337	0.3113	25	0.41002	SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAAT(+162.052824)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex	0.35	I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	14987	3	True	3403.688206	3402.691054	-1.82097	3.433	9.457520501	0.4195	28	0.53295	SQPAVAPTGDAAAAT(+324.105600)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex-Hex	0.2861	I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	16219	3	True	3403.682346	3402.691054	-3.54263	3.4955	10.79021948	0.3951	30	0.46152	SQPAVAPTGDAAAAT(+324.105600)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex-Hex	0.0417	I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19160	4	True	4405.340475	4402.329294	0.25673	4.0045	5.12941883	0.223	33	0.3666	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	Hex	0.3664	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	19094	3	True	4402.327971	4402.329294	-0.30052	3.9087	9.610817939	0.1726	28	0.38789	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	Hex	0.1254	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	17918	3	True	4404.332127	4402.329294	-0.878	3.6855	6.75075153	0.1248	29	0.33889	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	Hex	0.077	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18776	4	True	4566.377585	4564.382118	-2.45994	3.3228	5.223209894	0.0531	32	0.33023	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR	Hex	0.2946	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18825	3	True	4566.377537	4564.382118	-2.47045	3.0734	4.993778177	0.0469	26	0.3594	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR	Hex	0.3996	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	18050	4	True	4403.326803	4402.329294	-1.3265	3.046	5.657853543	0.2352	35	0.36998	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	Hex	0.1102	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	19370	4	True	4404.31655	4402.329294	-4.41476	2.9788	1.500583508	0.1886	33	0.34597	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTTPTPQR	Hex	0.0412	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18850	4	True	4564.378265	4564.382118	-0.84415	2.7023	-0.928219303	0.0578	32	0.31426	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR	Hex	0.7963	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	17563	4	True	4566.387839	4564.382118	-0.21439	2.591	0.549913012	0.044	36	0.30651	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+162.052824)T(+162.052824)PTPQR	Hex	0.2387	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18776	4	True	4566.377585	4564.38207	-2.44943	3.7248	6.725433722	0.1856	33	0.3722	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+324.105600)PTTPTPQR	Hex-Hex	0.0546	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18825	3	True	4566.377537	4564.38207	-2.45994	3.3319	8.282121069	0.1186	26	0.36684	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+324.105600)PTTPTPQR	Hex-Hex	0.1271	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	17563	4	True	4566.387839	4564.38207	-0.20388	2.9301	1.427116356	0.2034	37	0.34526	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+324.105600)PTTPTPQR	Hex-Hex	0.0529	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	17531	4	True	4726.430385	4726.43487	-0.94892	3.7718	5.567504856	0.2264	37	0.35549	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.0353	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171218_PT_H37Rv_2-3 171218204333.sqt	17550	3	True	4728.436863	4726.43487	-0.99547	2.9674	1.414693836	0.1447	28	0.33108	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.1984	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18662	4	True	4729.442038	4726.43487	-0.60937	3.2876	3.216378945	0.2441	39	0.46967	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.0353	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18664	4	True	4727.432272	4726.43487	-1.25819	3.8271	6.214608098	0.2129	40	0.45812	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.2297	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18976	4	True	4729.443991	4726.43487	-0.19643	2.8751	0.632993258	0.1703	34	0.44238	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.0403	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	18680	3	True	4729.444676	4726.43487	-0.05159	2.9347	0.809680997	0.1332	24	0.43961	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.1076	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	18970	3	True	4729.434055	4726.43487	-2.29732	2.8923	4.456750181	0.1416	27	0.43944	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.0845	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	17848	4	True	4727.4186	4726.43487	-4.15026	2.5616	0.877070019	0.116	38	0.41738	ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR	Hex-Hex-Hex	0.0942	P9WIR7	apa	Rv1860	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	24360	2	True	2244.152147	2244.157794	-2.51632	2.618	2.70306266	0.2513	14	0.33286	RLQVAGVRVAAHTS(+486.158400)HR	Hex-Hex-Hex	0.3688	P9WN15	otsB1	Rv2006	Probable trehalose-6-phosphate phosphatase OtsB1 (trehalose-phosphatase) (TPP)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	24304	3	True	2244.155796	2244.157794	-0.89031	2.0742	-0.343589704	0.1132	25	0.29697	RLQVAGVRVAAHT(+486.158400)SHR	Hex-Hex-Hex	0.7374	P9WN15	otsB1	Rv2006	Probable trehalose-6-phosphate phosphatase OtsB1 (trehalose-phosphatase) (TPP)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	24552	2	True	2244.143358	2244.157794	-6.43274	2.7996	2.831914188	0.2977	14	0.39118	RLQVAGVRVAAHTS(+486.158400)HR	Hex-Hex-Hex	0.3173	P9WN15	otsB1	Rv2006	Probable trehalose-6-phosphate phosphatase OtsB1 (trehalose-phosphatase) (TPP)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	25117	2	True	2244.156054	2244.157794	-0.77535	2.2634	1.343234872	0.1585	14	0.3624	RLQVAGVRVAAHTS(+486.158400)HR	Hex-Hex-Hex	0.9632	P9WN15	otsB1	Rv2006	Probable trehalose-6-phosphate phosphatase OtsB1 (trehalose-phosphatase) (TPP)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	25593	3	True	2244.153782	2244.157794	-1.78776	2.2182	-0.322083499	0.0631	23	0.33548	RLQVAGVRVAAHT(+486.158400)SHR	Hex-Hex-Hex	0.5699	P9WN15	otsB1	Rv2006	Probable trehalose-6-phosphate phosphatase OtsB1 (trehalose-phosphatase) (TPP)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	34924	3	True	3224.625706	3224.653212	-8.52998	2.1951	-0.2390169	0.1107	18	0.33925	ARVPAVRES(+324.105600)IYSSIDDLQEIIQEIR	Hex-Hex	0.1131	P9WGK1	dosT	Rv2027c	Two component sensor histidine kinase DosT
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	33433	3	True	3224.645847	3224.653212	-2.28397	2.2758	1.491654877	0.2178	17	0.36168	ARVPAVRES(+324.105600)IYSSIDDLQEIIQEIR	Hex-Hex	0.1138	P9WGK1	dosT	Rv2027c	Two component sensor histidine kinase DosT
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	12640	3	True	1988.997663	1988.981814	7.96834	3.1738	4.254513314	0.3329	25	0.66632	ERKHS(+162.052824)EIMGTINQQR	Hex	0.0189	P9WMU1	wag31	Rv2145c	Diviva family protein Wag31
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	12969	3	True	1988.998219	1988.981814	8.24787	2.8999	3.005782609	0.2997	25	0.68917	ERKHS(+162.052824)EIMGTINQQR	Hex	0.019	P9WMU1	wag31	Rv2145c	Diviva family protein Wag31
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	19966	3	True	2669.269749	2669.297392	-10.35602	1.7045	-0.019802627	0.1344	18	0.27823	DALAGGLM(+15.994900)VTKSQDHS(+324.105600)LAVYPR	Hex-Hex	0.1344	P9WJN9	Rv2166c	Rv2166c	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	21314	3	True	2669.277256	2669.297392	-7.54362	1.8622	0.597837001	0.1593	16	0.2526	DALAGGLM(+15.994900)VTKSQDHS(+324.105600)LAVYPR	Hex-Hex	0.2644	P9WJN9	Rv2166c	Rv2166c	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	30339	4	True	3878.829977	3876.809516	3.54772	4.1695	6.245067306	0.299	38	0.67756	CDLPGIMQHFT(+162.052824)IPASAFDKSVFDDGLAFDGSSIR	Hex	0.0861	P9WN39	glnA1	Rv2220	Glutamine synthetase GlnA1 (glutamine synthase) (GS-I)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	28756	4	True	3893.832907	3892.804416	6.45662	3.4408	7.39551563	0.394	32	0.69643	CDLPGIM(+15.994900)QHFT(+162.052824)IPASAFDKSVFDDGLAFDGSSIR	Hex	0.313	P9WN39	glnA1	Rv2220	Glutamine synthetase GlnA1 (glutamine synthase) (GS-I)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	38363	3	True	3278.464573	3278.499791	-10.74222	4.3373	9.407572542	0.4517	28	0.91656	AS(+324.105600)YLPDIDPEETSEWLESFDTLLQR	Hex-Hex	0.0104	P9WIS9	aceE	Rv2241	Pyruvate dehydrogenase E1 component AceE (pyruvate decarboxylase) (pyruvate dehydrogenase) (pyruvic dehydrogenase)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	38067	3	True	3279.474217	3278.499791	-8.81971	3.6518	7.254479892	0.4156	24	0.90315	AS(+324.105600)YLPDIDPEETSEWLESFDTLLQR	Hex-Hex	0.0104	P9WIS9	aceE	Rv2241	Pyruvate dehydrogenase E1 component AceE (pyruvate decarboxylase) (pyruvate dehydrogenase) (pyruvic dehydrogenase)
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3487	2	True	1498.682883	1498.686738	-2.57226	2.2465	6.58567178	0.4432	14	0.45991	T(+162.052824)ATPSESGTQTTR	Hex	0.5836	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3473	2	True	1498.683387	1498.686738	-2.23596	2.1645	5.789340363	0.4392	14	0.47347	T(+162.052824)ATPSESGTQTTR	Hex	0.9611	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3469	2	True	1660.734132	1660.739562	-3.26964	1.6796	2.549765222	0.3216	11	0.37172	T(+162.052824)AT(+162.052824)PSESGTQTTR	Hex	0.415	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3439	2	True	1660.735033	1660.739562	-2.72711	1.6177	3.015934981	0.2618	9	0.3715	T(+162.052824)AT(+162.052824)PSESGTQTTR	Hex	0.3939	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3439	2	True	1660.735033	1660.739514	-2.6982	1.8711	6.260652037	0.3618	10	0.45859	TAT(+324.105600)PSESGTQTTR	Hex-Hex	0.1344	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3469	2	True	1660.734132	1660.739514	-3.24074	1.8557	5.215816145	0.3052	11	0.37203	TAT(+324.105600)PSESGTQTTR	Hex-Hex	0.9466	P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	31907	2	True	1621.731665	1618.715213	3.94763	2.1062	4.546901278	0.3802	10	0.93169	T(+324.105600)SAWETLEAMR	Hex-Hex	0.2201	P9WLA3	Rv2558	Rv2558	Conserved protein
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	33288	2	True	1621.731052	1618.715213	3.56964	2.314	5.799192659	0.445	11	0.90473	T(+324.105600)SAWETLEAMR	Hex-Hex	0.0785	P9WLA3	Rv2558	Rv2558	Conserved protein
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	9509	3	True	1371.721638	1369.716868	-1.40699	2.2124	0.334075112	0.0612	19	0.33521	TRAAAKS(+324.105600)AAAK	Hex-Hex	0.3138	P9WGI1	sigA	Rv2703	RNA polymerase sigma factor SigA (sigma-A)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	9515	3	True	1372.725926	1369.716868	-0.72265	2.2086	0.778705069	0.1661	18	0.28142	TRAAAKS(+324.105600)AAAK	Hex-Hex	0.0659	P9WGI1	sigA	Rv2703	RNA polymerase sigma factor SigA (sigma-A)
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	22662	3	True	3006.449864	3005.456076	-3.1805	1.6619	0.393042588	0.0476	14	0.25924	SPIVAT(+162.052824)TDPSPFDPCRDIPFDVIQR	Hex	0.6972	I6XFB7	Rv2799	Rv2799	Probable membrane protein
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	21141	3	True	3006.456638	3005.456076	-0.92734	1.5953	-0.993251773	0.0961	19	0.34229	SPIVAT(+162.052824)TDPSPFDPCRDIPFDVIQR	Hex	0.0988	I6XFB7	Rv2799	Rv2799	Probable membrane protein
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	31755	2	True	2181.112159	2179.125442	-9.16184	1.7827	-0.438254931	0.1109	13	0.27052	RVALARDLYDLNHFAS(+162.052824)R	Hex	0.3433	P71626	Rv2826c	Rv2826c	Hypothetical protein
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	32905	2	True	2181.109609	2179.125442	-10.33098	1.6435	-1.72455072	0.0285	12	0.27735	RVALARDLYDLNHFAS(+162.052824)R	Hex	0.696	P71626	Rv2826c	Rv2826c	Hypothetical protein
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	14593	2	True	1975.885406	1975.889905	-2.27695	2.339	5.983496377	0.4433	13	0.86514	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.8106	P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	16166	2	True	1975.882982	1975.889905	-3.50375	2.3314	4.179902451	0.4238	14	0.86157	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.0955	P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	15377	2	True	1975.883226	1975.889905	-3.38026	2.6222	6.066188093	0.47	14	0.89305	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.7758	P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	13571	2	True	1975.883978	1975.889905	-2.99967	2.2719	4.890189141	0.4238	13	0.88997	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.1643	P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	9639	3	True	1505.877642	1505.867268	6.88901	1.6934	0.556869562	0.1352	15	0.28775	ST(+162.052824)EKLVAIIELK	Hex	0.4325	P9WQ59	fadD28	Rv2941	Fatty-acid-AMP ligase FadD28 (fatty-acid-AMP synthetase) (fatty-acid-AMP synthase)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	9820	3	True	1505.876317	1505.867268	6.00913	1.4348	-1.324418957	0.0929	15	0.29548	ST(+162.052824)EKLVAIIELK	Hex	0.4501	P9WQ59	fadD28	Rv2941	Fatty-acid-AMP ligase FadD28 (fatty-acid-AMP synthetase) (fatty-acid-AMP synthase)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	32101	3	True	3265.69846	3265.700939	-0.7591	4.5766	7.934977572	0.436	35	0.75524	LS(+162.052824)GLT(+162.052824)DQERTLLGLLSEGLTNKQIADR	Hex	0.1087	P9WMF9	devR	Rv3133c	Two component transcriptional regulatory protein DevR (probably LuxR/UhpA-family)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	33556	3	True	3266.704441	3265.700939	0.04653	3.2024	7.253066464	0.3773	24	0.6814	LSGLT(+162.052824)DQERT(+162.052824)LLGLLSEGLTNKQIADR	Hex	0.0902	P9WMF9	devR	Rv3133c	Two component transcriptional regulatory protein DevR (probably LuxR/UhpA-family)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	32101	3	True	3265.69846	3265.700891	-0.7444	5.1207	13.81551056	0.4775	39	0.93403	LS(+324.105600)GLTDQERTLLGLLSEGLTNKQIADR	Hex-Hex	0.1936	P9WMF9	devR	Rv3133c	Two component transcriptional regulatory protein DevR (probably LuxR/UhpA-family)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	33556	3	True	3266.704441	3265.700891	0.06122	3.5191	7.742466024	0.3997	29	0.90331	LS(+324.105600)GLTDQERTLLGLLSEGLTNKQIADR	Hex-Hex	0.2975	P9WMF9	devR	Rv3133c	Two component transcriptional regulatory protein DevR (probably LuxR/UhpA-family)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	11524	2	True	1573.761624	1573.768999	-4.68622	1.7513	0.616186139	0.1885	10	0.28818	LAALS(+486.158400)TEINR	Hex-Hex-Hex	0.09	P9WPY5	aroA	Rv3227	3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase AroA (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) (EPSP synthase) (EPSPS)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	11813	2	True	1573.756574	1573.768999	-7.89512	1.753	0.068278841	0.1355	9	0.30314	LAALS(+486.158400)TEINR	Hex-Hex-Hex	0.1163	P9WPY5	aroA	Rv3227	3-phosphoshikimate 1-carboxyvinyltransferase AroA (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) (EPSP synthase) (EPSPS)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	17161	4	True	2870.398478	2869.389046	2.11887	2.8529	2.620039324	0.2192	34	0.34759	LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR	Hex	0.034	P9WGV3	sahH	Rv3248c	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	17722	3	True	2870.395028	2869.389046	0.91695	2.492	1.180907531	0.1733	21	0.32719	LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR	Hex	0.0548	P9WGV3	sahH	Rv3248c	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
171213_PT_H37Rv_2-2.sqt	17188	3	True	2870.396264	2869.389046	1.34755	2.1728	0.71539279	0.1657	24	0.33857	LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR	Hex	0.0625	P9WGV3	sahH	Rv3248c	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	22897	4	True	3196.630209	3196.651064	-6.52406	2.4646	-0.412109651	0.0573	29	0.255	HPILATAVAAADLQVIGIFFDIST(+486.158400)AR	Hex-Hex-Hex	0.3907	P96878	Rv3273	Rv3273	Probable transmembrane carbonic anhydrase (carbonate dehydratase) (carbonic dehydratase)
171213_PT_H37Rv_1-6.sqt	17951	4	True	3196.626557	3196.651064	-7.66652	2.9672	1.220779923	0.2011	31	0.37945	HPILATAVAAADLQVIGIFFDIST(+486.158400)AR	Hex-Hex-Hex	0.6896	P96878	Rv3273	Rv3273	Probable transmembrane carbonic anhydrase (carbonate dehydratase) (carbonic dehydratase)
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	19314	4	True	3196.630365	3196.651064	-6.47526	2.9064	-0.223143551	0.1369	30	0.37126	HPILATAVAAADLQVIGIFFDIST(+486.158400)AR	Hex-Hex-Hex	0.4903	P96878	Rv3273	Rv3273	Probable transmembrane carbonic anhydrase (carbonate dehydratase) (carbonic dehydratase)
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	23086	4	True	3196.630882	3196.651064	-6.31352	2.7563	-0.139761942	0.0895	30	0.36972	HPILATAVAAADLQVIGIFFDIST(+486.158400)AR	Hex-Hex-Hex	0.303	P96878	Rv3273	Rv3273	Probable transmembrane carbonic anhydrase (carbonate dehydratase) (carbonic dehydratase)
171218_PT_H37Rv_1-2.sqt	23433	4	True	3196.629441	3196.651064	-6.76431	2.619	-1.036736885	0.0557	29	0.3633	HPILATAVAAADLQVIGIFFDIST(+486.158400)AR	Hex-Hex-Hex	0.5282	P96878	Rv3273	Rv3273	Probable transmembrane carbonic anhydrase (carbonate dehydratase) (carbonic dehydratase)
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	21659	3	True	2023.083586	2023.085869	-1.12848	2.7994	6.934099254	0.394	17	0.37973	QPFS(+162.052824)LQLIGPPPSPVQR	Hex	0.0825	I6XHD1	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	20286	3	True	2023.082345	2023.085869	-1.7419	2.5008	4.247495742	0.2951	18	0.34597	QPFS(+162.052824)LQLIGPPPSPVQR	Hex	0.1025	I6XHD1	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	18470	3	True	2351.29488	2351.296924	-0.86931	2.2772	0.785262469	0.1299	22	0.32904	LSKQPFSLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR	Hex	0.1564	I6XHD1	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	19667	3	True	2351.293435	2351.296924	-1.48386	2.2638	3.130407177	0.2353	23	0.35155	LSKQPFSLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR	Hex	0.0642	I6XHD1	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	4257	3	True	2815.220005	2814.226876	-3.63062	1.6764	-1.439835128	0.0242	13	0.35534	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.4843	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3421	3	True	2815.213596	2814.226876	-5.90719	3.046	1.37436579	0.0215	23	0.33455	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3818	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	4368	3	True	2815.2244	2814.226876	-2.06946	2.756	-2.144761008	0.0324	21	0.30677	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3923	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH

Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv

Archivo	N° scan	Z	Unico?	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Secuencia peptídica	Glicano	Gly site p-value	Proteina Uniprot	Gen	Locus	Descripción de proteína
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3451	3	True	2815.219822	2814.226876	-3.69563	3.1672	2.171556831	0.0129	25	0.29934	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3984	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3782	3	True	3139.331883	3138.332476	-1.256	2.2194	3.692887476	0.0129	19	0.27744	STTGSGET(+486.158400)T(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.9867	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3462	3	True	2652.164577	2652.174076	-3.5816	3.2107	10.71092388	0.0202	28	0.27651	STTGSGETT(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.2339	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3442	3	True	2653.176243	2652.174076	-0.44588	1.1757	-1.278152203	0.0061	8	0.32281	STTGSGET(+486.158400)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.2772	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3422	3	True	3139.328221	3138.332476	-2.42249	3.2127	2.103734234	0.0409	20	0.30501	STTGSGET(+486.158400)T(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.3058	P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	4270	3	True	1741.790379	1741.794893	-2.59159	2.2142	2.591601388	0.3148	15	0.33938	AGQLHM(+15.994900)YEDTAS(+162.052824)K	Hex	0.05	P9WNI1	esxC	Rv3890c	ESAT-6 like protein EsxC (ESAT-6 like protein 11)
171213_PT_H37Rv_2-1.sqt	4565	3	True	1741.789708	1741.794893	-2.97682	2.1344	2.570464538	0.2736	15	0.3278	AGQLHM(+15.994900)YEDTAS(+162.052824)K	Hex	0.0406	P9WNI1	esxC	Rv3890c	ESAT-6 like protein EsxC (ESAT-6 like protein 11)
171213_PT_H37Rv_1-1.sqt	4495	3	True	1741.789829	1741.794893	-2.90735	2.0934	1.807888851	0.2515	15	0.32603	AGQLHM(+15.994900)YEDTAS(+162.052824)K	Hex	0.0516	P9WNI1	esxC	Rv3890c	ESAT-6 like protein EsxC (ESAT-6 like protein 11)
171213_PT_H37Rv_1-2.sqt	4348	3	True	1741.789463	1741.794893	-3.11748	1.9255	1.435484605	0.1887	15	0.30225	AGQLHM(+15.994900)YEDTAS(+162.052824)K	Hex	0.1227	P9WNI1	esxC	Rv3890c	ESAT-6 like protein EsxC (ESAT-6 like protein 11)

Scans de péptidos O-glicosilados en las proteínas del sobrenadante de cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv (Lipoproteínas)

Archivo	N° scan	Z	Unico?	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Secuencia peptídica	Glicano	Gly site value	p-value	Proteína Uniprot	Gen	Locus	Descripción de proteína
171213_PT_H37Rv_1-3.sqt	25407	3	True	3457.64609	3454.64711	-3.20218	3.7775	6.940278471	0.4336	28	0.74067	PANQAIS(+162.052824)M(+15.994900)IDGPAPDGYPIINYEYAIVNNR	Hex	0.3854		P9WGU1	pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (PstS1)
171218_PT_H37Rv_2-3_171218204333.sqt	23950	3	True	3456.64533	3454.64711	-2.45469	3.2601	11.2505612	0.4952	27	0.71259	PANQAIS(+162.052824)M(+15.994900)IDGPAPDGYPIINYEYAIVNNR	Hex	0.0083		P9WGU1	pstS1	Rv0934	Periplasmic phosphate-binding lipoprotein PstS1 (PBP-1) (PstS1)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13469	2	True	1885.86064	1885.86952	-4.70448	2.9052	7.816573996	0.153	15	0.30908	ASDTAAT(+162.052824)ASNGDAAM(+15.994900)LLK	Hex	0.2831		P9WK55	lprA	Rv1270c	Possible lipoprotein LprA
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	15318	2	True	2033.91289	2031.92744	-10.4474	2.231	2.047942875	0.2463	12	0.30637	ASDTAAT(+162.052824)AS(+162.052824)NGDAAMLLK	Hex	0.0382		P9WK55	lprA	Rv1270c	Possible lipoprotein LprA
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	12961	3	True	2949.40372	2949.40588	-0.73167	3.4126	12.09095984	0.096	26	0.32854	KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)PSPEAQQJLQDSSK	Hex	0.2131		P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13496	3	True	2950.40293	2949.40588	-2.13564	3.3954	7.963308078	0.0304	29	0.29748	KPTTASSPS(+162.052824)PGS(+162.052824)PSPEAQQJLQDSSK	Hex	0.2792		P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	12961	3	True	2949.40372	2949.40583	-0.7154	3.583	-0.9477894	0.0749	25	0.362	KPTTASSPSPGS(+324.105600)PSPEAQQJLQDSSK	Hex-Hex	0.0978		P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	13496	3	True	2950.40293	2949.40583	-2.11937	3.9318	3.657380787	0.0916	29	0.31173	KPTTASSPSPGS(+324.105600)PSPEAQQJLQDSSK	Hex-Hex	0.0615		P9WK47	lprF	Rv1368	Probable conserved lipoprotein LprF
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	16219	3	True	3403.68235	3402.6911	-3.55674	2.7918	5.921938484	0.3209	27	0.40194	SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAAT(+162.052824)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex	0.0381		I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	14987	3	True	3403.68821	3402.6911	-1.83507	2.649	4.992304337	0.3113	25	0.41002	SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAAT(+162.052824)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex	0.35		I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	14987	3	True	3403.68821	3402.69105	-1.82097	3.433	9.457520501	0.4195	28	0.53295	SQPAVAPTGDAAAAT(+324.105600)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex-Hex	0.2861		I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	16219	3	True	3403.68235	3402.69105	-3.54263	3.4955	10.79021948	0.3951	30	0.46152	SQPAVAPTGDAAAAT(+324.105600)QVPAGQTVPAQLQFSAK	Hex-Hex	0.0417		I6XYM2	dsbF	Rv1677	Probable conserved lipoprotein DsbF
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3487	2	True	1498.68288	1498.68674	-2.57226	2.2465	6.58567178	0.4432	14	0.45991	T(+162.052824)ATPSESGTQTTR	Hex	0.5836		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3473	2	True	1498.68339	1498.68674	-2.23596	2.1645	5.789340363	0.4392	14	0.47347	T(+162.052824)ATPSESGTQTTR	Hex	0.9611		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3469	2	True	1660.73413	1660.73956	-3.26964	1.6796	2.549765222	0.3216	11	0.37172	T(+162.052824)AT(+162.052824)PSESGTQTTR	Hex	0.415		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3439	2	True	1660.73503	1660.73956	-2.72711	1.6177	3.015934981	0.2618	9	0.3715	T(+162.052824)AT(+162.052824)PSESGTQTTR	Hex	0.3939		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3439	2	True	1660.73503	1660.73951	-2.6982	1.8711	6.260652037	0.3618	10	0.45859	TAT(+324.105600)PSESGTQTTR	Hex-Hex	0.1344		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3469	2	True	1660.73413	1660.73951	-3.24074	1.8557	5.215816145	0.3052	11	0.37203	TAT(+324.105600)PSESGTQTTR	Hex-Hex	0.9466		P9WK71	lppO	Rv2290	Probable conserved lipoprotein LppO
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	14593	2	True	1975.88541	1975.88991	-2.27695	2.339	5.983496377	0.4433	13	0.86514	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.8106		P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171218_PT_H37Rv_2-4.sqt	16166	2	True	1975.88298	1975.88991	-3.50375	2.3314	4.179902451	0.4238	14	0.86157	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.0955		P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_1-4.sqt	15377	2	True	1975.88323	1975.88991	-3.38026	2.6222	6.066188093	0.47	14	0.89305	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.7758		P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	13571	2	True	1975.88398	1975.88991	-2.99967	2.2719	4.890189141	0.4238	13	0.88997	TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR	Hex-Hex-Hex	0.1643		P9WNF3	mpt83	Rv2873	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	4257	3	True	2815.22001	2814.22688	-3.63062	1.6764	-1.43983513	0.0242	13	0.35534	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.4843		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3421	3	True	2815.2136	2814.22688	-5.90719	3.046	1.37436579	0.0215	23	0.33455	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3818		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	4368	3	True	2815.2244	2814.22688	-2.06946	2.756	-2.14476101	0.0324	21	0.30677	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3923		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3451	3	True	2815.21982	2814.22688	-3.69563	3.1672	2.171556831	0.0129	25	0.29934	STTGS(+324.105600)GET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex	0.3984		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3782	3	True	3139.33188	3138.33248	-1.256	2.2194	3.692887476	0.0129	19	0.27744	STTGSGET(+486.158400)T(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.9867		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171218_PT_H37Rv_2-5.sqt	3462	3	True	2652.16458	2652.17408	-3.5816	3.2107	10.71092388	0.0202	28	0.27651	STTGSGET(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.2339		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3442	3	True	2653.17624	2652.17408	-0.44588	1.1757	-1.2781522	0.0061	8	0.32281	STTGSGET(+486.158400)TTAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.2772		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH
171213_PT_H37Rv_1-5.sqt	3422	3	True	3139.32822	3138.33248	-2.42249	3.2127	2.103734234	0.0409	20	0.30501	STTGSGET(+486.158400)T(+486.158400)TAAGTTASPGAASGPK	Hex-Hex-Hex	0.3058		P9WK61	lpqH	Rv3763	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH

Análisis de los datos crudos de Albrethsen et al., 2013 - Scans correspondientes a péptidos también identificados en nuestro análisis.

Condition	File name	Scan N°	Z	Unique	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Peptide Sequence	Glycan	Rv (TBList)	Gene name MycoB	Protein MycoB
Normal_3	090313_29.sqt	3357	2	True	2031.927294	2031.927439	-0.07136	1.43	-0.553885113	0.123	12	0.32893	K.AS(+162.052824)DT(+162.052824)AATASNGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_2	090313_27.sqt	2880	2	True	1886.867479	1885.869515	-2.85447	1.665	1.910543005	0.2627	14	0.32621	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAM(+15.994900)LLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Starved_3	090313_36.sqt	2932	2	True	1886.861254	1885.869515	-6.15361	1.5415	0.84629836	0.117	15	0.1746	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAM(+15.994900)LLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_1	090313_31.sqt	3764	2	True	1870.868822	1869.874615	-4.88703	1.5753	1.62455155	0.2916	13	0.32778	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_1	090313_25.sqt	3494	2	True	1869.881151	1869.874615	3.49541	1.6391	0.350976923	0.1442	13	0.28069	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_2	090313_27.sqt	3536	2	True	1869.881395	1869.874615	3.6259	1.882	0.957112726	0.0956	16	0.34566	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_3	090313_29.sqt	3749	2	True	1870.870897	1869.874615	-3.77792	1.5166	0.532730459	0.2228	13	0.32433	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Starved_2	090313_34.sqt	3586	2	True	1870.866015	1869.874615	-6.38742	1.5531	0.869884359	0.227	13	0.33386	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Starved_3	090313_36.sqt	3813	2	True	1870.86809	1869.874615	-5.2783	1.3309	-1.1442228	0.0713	11	0.18513	K.ASDTAATAS(+162.052824)NGDAAMLLK.Q	Hex	Rv1270c	lprA	Possible lipoprotein LprA
Normal_2	090313_33.sqt	4719	3	True	3402.723606	3402.691102	9.55235	3.2325	0.52256088	0.1304	28	0.28241	K.SQPAVAPT(+162.052824)GDAAAATQVPAGQT(+162.052824)VPAQLQFSAK.T	Hex	Rv1677	dsbF	Probable conserved lipoprotein DsbF
Normal_2	090313_33.sqt	4719	3	True	3402.723606	3402.691054	9.56645	3.3072	3.839702344	0.2509	27	0.32792	K.SQPAVAPTGDAAAATQVPAGQT(+324.105600)VPAQLQFSAK.T	Hex-Hex	Rv1677	dsbF	Probable conserved lipoprotein DsbF
Normal_2	090313_15.sqt	5246	6	True	4564.397211	4564.382118	3.30668	2.6527	-0.438254931	0.0865	38	0.3034	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+162.052824)PTT(+162.052824)PTPQR.T	Hex	Rv1860	apa	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
Normal_2	090313_15.sqt	5246	6	True	4564.397211	4564.38207	3.3172	2.6697	-0.631271777	0.0814	37	0.29604	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+324.105600)PTTPTPQR.T	Hex-Hex	Rv1860	apa	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
Normal_2	090313_15.sqt	5212	4	True	4726.461081	4726.43487	5.54559	3.5188	6.692643899	0.1381	51	0.28763	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPT(+486.158400)PTTPTPQR.T	Hex-Hex-Hex	Rv1860	apa	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
Normal_2	090313_15.sqt	5217	6	True	4726.440424	4726.43487	1.17509	3.0437	3.352407217	0.07	43	0.28287	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPT(+486.158400)TPTPQR.T	Hex-Hex-Hex	Rv1860	apa	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
Normal_2	090313_15.sqt	5200	5	True	4726.480538	4726.43487	9.66216	3.5064	2.67800608	0.1093	43	0.27222	K.ALAESIRPLVAPPPAPAPAPAEPAPAPAPAGEVAPTPTTPT(+486.158400)PQR.T	Hex-Hex-Hex	Rv1860	apa	Alanine and proline rich secreted protein Apa (fibronectin attachment protein) (immunogenic protein MPT32) (antigen MPT-32) (45-kDa glycoprotein) (45/47 kDa antigen)
Normal_2	090313_33.sqt	4244	2	True	1921.894457	1921.884782	5.0341	1.8743	4.465408244	0.125	16	0.32131	K.S(+162.052824)PIVATTDPSPFDPC(+57.021460)R.D	Hex	Rv2799	Rv2799	Probable membrane protein
Normal_2	090313_39.sqt	3778	2	True	1921.894701	1921.884782	5.16105	1.8695	6.979251281	0.0606	14	0.31051	K.S(+162.052824)PIVATTDPSPFDPC(+57.021460)R.D	Hex	Rv2799	Rv2799	Probable membrane protein
Starved_1	090313_32.sqt	3668	2	True	1975.902392	1975.889905	6.31964	1.8515	4.431216879	0.3573	14	0.40874	V.TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_2	090313_34.sqt	3412	2	True	1975.890795	1975.889905	0.45043	1.9446	5.509038398	0.4599	13	0.85548	V.TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_2	090313_34.sqt	3505	2	True	1975.899706	1975.889905	4.96027	1.6609	3.162968193	0.3611	12	0.83972	V.TT(+486.158400)AAM(+15.994900)ADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Normal_1	090313_31.sqt	4668	2	True	1959.897142	1959.895005	1.09036	1.6208	2.416874239	0.3608	11	0.78258	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Normal_2	090313_33.sqt	4531	2	True	1959.902636	1959.895005	3.89356	2.0928	5.139605675	0.4153	12	0.65917	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Normal_3	090313_35.sqt	4751	2	True	1959.888231	1959.895005	-3.45632	1.8276	3.327017983	0.3683	12	0.69519	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_1	090313_32.sqt	4819	2	True	1959.902269	1959.895005	3.70631	2.2327	6.93718409	0.4722	12	0.50986	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_1	090313_32.sqt	4726	2	True	1959.902392	1959.895005	3.76907	1.7991	3.399199379	0.3623	13	0.44608	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_2	090313_34.sqt	4495	2	True	1959.904467	1959.895005	4.82779	1.9144	4.657516666	0.4645	13	0.84422	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Starved_3	090313_36.sqt	4761	2	True	1959.910692	1959.895005	8.00394	1.6636	3.445149269	0.3619	13	0.67644	V.TT(+486.158400)AAMADPAADLIGR.G	Hex-Hex-Hex	Rv2873	mpt83	Cell surface lipoprotein Mpt83 (lipoprotein P23)
Normal_1	090313_13.sqt	4076	3	True	2869.385716	2869.389046	-1.16053	3.28	8.302081812	0.4321	23	0.49959	K.LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR.Y	Hex	Rv3248c	sahH	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
Normal_1	090313_13.sqt	4056	4	True	2869.390524	2869.389046	0.51509	3.7921	4.474141924	0.3206	39	0.42248	K.LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR.Y	Hex	Rv3248c	sahH	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
Normal_1	090313_13.sqt	4060	5	True	2869.391915	2869.389046	0.99986	2.3597	-1.115141591	0.0748	34	0.36973	K.LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR.Y	Hex	Rv3248c	sahH	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
Normal_2	090313_15.sqt	3939	5	True	2869.396797	2869.389046	2.70126	2.8812	1.47840965	0.1513	38	0.30459	K.LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR.Y	Hex	Rv3248c	sahH	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
Normal_3	090313_17.sqt	3950	4	True	2869.402731	2869.389046	4.76929	2.6796	1.280134165	0.1699	31	0.33153	K.LT(+162.052824)KEQAEYLGVDVEGPYKPDHYR.Y	Hex	Rv3248c	sahH	Probable adenosylhomocysteinase SahH (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (adohcyase)
Normal_2	090313_39.sqt	3876	2	True	1650.9041	1650.906113	-1.21933	2.4424	4.637693378	0.3789	14	0.56942	F.SLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR.Y	Hex	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
Starved_3	090313_36.sqt	4518	2	True	1650.908983	1650.906113	1.73844	1.8825	1.966112856	0.3287	10	0.69501	F.SLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR.Y	Hex	Rv3491	Rv3491	Unknown protein

Análisis de los datos crudos de Albrethsen et al., 2013 - Scans correspondientes a péptidos también identificados en nuestro análisis.

Condition	File name	Scan N°	Z	Unique	Measured MH	Theorical MH	PPM	Primary Score	Secondary Score	Delta CN	Peaks Matched	Bayesian Score	Peptide Sequence	Glycan	Rv (TBList)	Gene name MycoB	Protein MycoB
Normal_2	090313_39.sqt	5634	2	True	2023.093798	2023.085869	3.91924	2.6605	7.851931214	0.4155	16	0.41407	K.QPFSLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR.Y	Hex	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
Starved_3	090313_42.sqt	6060	2	True	2023.092333	2023.085869	3.19511	2.0574	4.867834495	0.291	17	0.21266	K.QPFSLQLIGPPPS(+162.052824)PVQR.Y	Hex	Rv3491	Rv3491	Unknown protein
Starved_1	090313_32.sqt	759	3	True	2490.129612	2490.121276	3.34762	1.4082	-1.335001067	0.0554	17	0.11469	K.STTGSGET(+324.105600)TTAAGTTASPGAASGPK.V	Hex-Hex	Rv3763	lpqH	19 kDa lipoprotein antigen precursor LpqH

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P01834	Unique	7	11739.8	7	66	0.269484713	0.8037	195.0989	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P98160	Unique	17	468514.5	17	29	0.002885417	0.0471	79.3488	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
P41222	Some	2	20997.3	10	23	0.052886912	0.5421	65.8919	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5A1, Q5SQ11
P02760	Some	3	38956	10	26	0.032270423	0.3352	63.5993	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P02768	Some	1	69303.5	16	23	0.016500022	0.225	56.9811	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013
P02751	Some	8	262442.1	13	19	0.003479022	0.0771	49.8044	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P10153	Unique	4	18324.1	4	16	0.043417827	0.1988	47.0671	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
Q8WVN6	All	0	27003.7	5	13	0.022901591	0.2218	42.5385	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
P01619	Some	2	12531.3	4	13	0.048962021	0.4655	40.5502	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
P04745	Some	0	57712.9	7	14	0.011969641	0.18	37.8753	Alpha-amylase 1 OS=Homo sapiens GN=AMY1A PE=1 SV=2
P04746	Some	2	57652	7	14	0.011969641	0.18	37.5515	Pancreatic alpha-amylase OS=Homo sapiens GN=AMY2A PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T085, H7BZQ8
P19961	Some	2	57655	7	14	0.011969641	0.18	37.3219	Alpha-amylase 2B OS=Homo sapiens GN=AMY2B PE=1 SV=1
A0A0C4DH25	Some	1	12489.2	3	10	0.037663093	0.2759	30.2761	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
contaminant_	Some	0	22783	3	11	0.022249124	0.1806	28.8129	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain L...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J231, B9A064, P0CG04, P0DOY2, P0CF74, A0M8Q6
P0CG48	Some	0	76973.5	6	11	0.007015782	0.0715	27.9533	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7, F5GZ39, J3QSA3
Q12907	Some	0	40185.1	8	9	0.01104502	0.3343	25.787	Vesicular integral-membrane protein VIP36 OS=Homo sapiens GN=LMAN2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RBV2, D6RDX1, D6RIU4, D6RBH1
A0A0A0MS08	Some	0	43866.1	5	9	0.009854704	0.2005	25.2757	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, contaminant_NRL_1MCOH, P01860, A0A0A0MS07
Q99715	Some	0	332922.5	7	8	0.001141082	0.0421	23.6607	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8
P10451	Some	3	35383.2	5	8	0.011131003	0.2325	23.3549	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6R9C5
Q9H299	All	0	10413.3	4	6	0.028186573	0.3226	20.8748	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
P0DOY3	Some	0	11240.5	3	8	0.032972972	0.3679	20.4595	Immunoglobulin lambda constant 3 OS=Homo sapiens GN=IGLC3 PE=1 SV=1
contaminant_	Some	3	69207.4	6	8	0.005758048	0.089	20.1601	BSA
P02671	Unique	4	94896.4	4	6	0.003026965	0.0889	19.5528	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P01861	Some	1	35899.9	4	6	0.008016365	0.211	18.793	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
Q02487	Unique	2	99880.7	2	5	0.002424483	0.0366	15.7808	Desmocollin-2 OS=Homo sapiens GN=DSC2 PE=1 SV=1
P05451	Some	2	18700.8	4	7	0.018423152	0.2169	15.6974	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304
P01597	All	0	12711.3	2	6	0.022404712	0.2906	15.6346	Immunoglobulin kappa variable 1-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-39 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04432
Q7Z5L0	Unique	4	21502.3	4	6	0.012976987	0.2871	14.8308	Vitelline membrane outer layer protein 1 homolog OS=Homo sapiens GN=VMO1 PE=1 SV=1
P22105	Some	1	457914.1	5	6	0.000617952	0.0132	14.0316	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A140TA33, A0A140TA41, A0A140TA52, A0A140T9C0, A0A140T902, A0A140T8Y3, A0A140T8Z8, A0A140T956, A0A140T9L7, A0A087X0I0, A0A087WWA5
O15240	Unique	4	67199.6	4	5	0.003551967	0.0911	13.9078	Neurosecretory protein VGF OS=Homo sapiens GN=VGF PE=1 SV=2
P61769	Some	1	13687.9	4	6	0.022028162	0.4034	13.7112	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0, H0YLF3
O94919	Unique	4	54963.3	4	5	0.004368919	0.128	13.6676	Endonuclease domain-containing 1 protein OS=Homo sapiens GN=ENDOD1 PE=1 SV=2
Q15828	Unique	3	16482.3	3	5	0.014660801	0.2752	12.64	Cystatin-M OS=Homo sapiens GN=CST6 PE=1 SV=1
Q8IWU5	Unique	2	100372.3	2	5	0.002510873	0.0253	12.5639	Extracellular sulfatase Sulf-2 OS=Homo sapiens GN=SULF2 PE=1 SV=1
E9PR17	All	0	14501	2	6	0.020164241	0.1538	12.4007	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13987, E9PNW4
P01024	Unique	2	187011.9	2	4	0.001050852	0.015	12.2813	Complement C3 OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=2
P02763	Some	2	23478.7	4	5	0.010867957	0.1592	12.1027	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
B7ZKJ8	Some	0	103798.2	5	5	0.00233632	0.0802	12.0659	ITIH4 protein OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624, H7C0L5
O00468	Some	0	217073.7	4	5	0.001056826	0.0382	12.0642	Agrin OS=Homo sapiens GN=AGRN PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X208, H0Y5U1
P01594	All	0	12822.3	2	4	0.014936475	0.3419	11.4219	Immunoglobulin kappa variable 1-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-33 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01593
P23468	All	0	214606.8	4	4	0.000914	0.0288	11.2045	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta OS=Homo sapiens GN=PTPRD PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWR7, Q3KPI9
P12111	All	0	343438.8	3	4	0.000550068	0.0129	11.1817	Collagen alpha-3(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A3 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6
P04004	Some	2	54253.2	4	5	0.004569999	0.0774	10.8265	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GX75
A0A0G2JLV7	Some	0	31433.8	4	4	0.006089085	0.1289	10.7017	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JQ50, A0A0G2JP18, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, F8WC07
Q16270	Unique	3	29093.4	3	4	0.006197048	0.1525	10.362	Insulin-like growth factor-binding protein 7 OS=Homo sapiens GN=IGFBP7 PE=1 SV=1
P01859	Some	1	35859.7	4	4	0.005360637	0.1779	9.754	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
P24821	Some	0	240682.1	3	4	0.000793988	0.0218	9.7123	Tenascin OS=Homo sapiens GN=TNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSU6, F5H7V9, H0YGZ3, E9PC84
P21333	Some	0	280545.9	4	4	0.000660207	0.0234	9.6273	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54, A0A087WWY3
Q13332	All	0	216886.8	3	3	0.000672831	0.0277	9.5955	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
Q9UMX0	Unique	2	62461.4	2	3	0.002225256	0.0611	9.5921	Ubiquilin-1 OS=Homo sapiens GN=UBQLN1 PE=1 SV=2
B7ZL91	All	0	87823.3	2	3	0.001693379	0.0465	9.1583	Meprin A subunit OS=Homo sapiens GN=MEP1A PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16819
Q14315	Unique	3	290822.6	3	3	0.000480982	0.0191	9.0362	Filamin-C OS=Homo sapiens GN=FLNC PE=1 SV=3
P55290	Unique	3	78219.9	3	4	0.002451006	0.0435	8.9293	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
P06396	All	0	85626.2	3	3	0.001676056	0.0678	8.009	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51
Q96FE7	Unique	2	28211.9	2	3	0.004983558	0.0989	7.776	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2
P11684	All	0	9969.1	2	3	0.014403029	0.1209	7.4028	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
P09603	Unique	3	60123.8	3	3	0.002365841	0.0451	7.2785	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2
Q969P0	All	0	64975.5	3	3	0.002138133	0.0587	7.2644	Immunoglobulin superfamily member 8 OS=Homo sapiens GN=IGSF8 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J8Z4
O75369	All	0	277972	3	3	0.000503719	0.015	7.0651	Filamin-B OS=Homo sapiens GN=FLNB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EN95
P06312	Unique	2	13353.6	2	3	0.01083203	0.1983	6.921	Immunoglobulin kappa variable 4-1 OS=Homo sapiens GN=IGKV4-1 PE=1 SV=1
P25311	All	0	34219.1	2	3	0.00439824	0.094	6.9015	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
A0A087WXI5	All	0	99947	2	2	0.000967645	0.0399	6.8829	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P12830, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6
P01040	Some	1	10981.7	3	3	0.013374241	0.3776	6.8733	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4
P19652	Some	1	23569.6	3	3	0.006520774	0.1592	6.7327	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P18827	Unique	2	32423.8	2	2	0.002818657	0.1161	6.3185	Syndecan-1 OS=Homo sapiens GN=SDC1 PE=1 SV=3
P08123	All	0	129217.4	2	2	0.000639666	0.0242	5.9981	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
A0A0A0MRZ8	All	0	12599.3	2	2	0.00759812	0.2609	5.9841	Immunoglobulin kappa variable 3D-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-11 PE=3 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433
P36957	All	0	48706.5	2	2	0.001928882	0.0552	5.6792	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=DLST PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SW4
O43405	All	0	59427.2	2	3	0.002383047	0.0364	5.638	Cochlin OS=Homo sapiens GN=COCH PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V5V4
X6RBG4	All	0	75594.5	2	3	0.001902287	0.0276	5.6145	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07911
Q8TCZ2	All	0	27950.7	2	2	0.003335053	0.145	5.4401	CD99 antigen-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=CD99L2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y4H3
P05060	All	0	78211.2	2	2	0.00129067	0.0414	5.4279	Secretogranin-1 OS=Homo sapiens GN=CHGB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT66
P55000	Unique	2	11160.1	2	2	0.008483338	0.2816	5.3736	Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1 OS=Homo sapiens GN=SLURP1 PE=1 SV=2
E7ERL8	All	0	165323	2	2	0.000579817	0.01	4.8751	Neurexin-1-beta OS=Homo sapiens GN=NRXN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1D5RMU6, A0A0D9SEP4, A0A0R4J2G7, Q9ULB1, E7ETA5, A0A0D9SEM5, P58400, Q08AH0, A0A1B0GTL0, H7BYC7, H0Y568
Q05707	All	0	193376.5	2	2	0.000486517	0.0184	4.8735	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
Q496F6	Unique	2	22885.6	2	2	0.00426236	0.1122	4.7832	CMRF35-like molecule 2 OS=Homo sapiens GN=CD300E PE=1 SV=2

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
A0A087WWM	All	0	122923.5	2	2	0.00069238	0.0174	4.7494	Mucin-1 OS=Homo sapiens GN=MUC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P15941, A0A087X2A4, A0A0C4DGW3, A0A0A0MSH4, A0A087WVJ0, Q7Z536, A0A087WZZ6, A0A087X061
A5A3E0	All	0	121348.7	2	2	0.000812822	0.0242	4.5755	POTE ankyrin domain family member F OS=Homo sapiens GN=POTEF PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6S8J3, P68133, P68032, P62736, P63267, P63261, P60709
P04217	Unique	2	54201.5	2	2	0.00176522	0.0465	4.3851	Alpha-1B-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=A1BG PE=1 SV=4
P35613	All	0	42156	2	2	0.002269568	0.0597	4.3562	Basigin OS=Homo sapiens GN=BSG PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X2B5, I3L192
P19320	Unique	2	81206.3	2	2	0.001182387	0.0406	4.3205	Vascular cell adhesion protein 1 OS=Homo sapiens GN=VCAM1 PE=1 SV=1
E9PGN7	All	0	59436.5	2	2	0.001609178	0.0295	3.6256	Plasma protease C1 inhibitor OS=Homo sapiens GN=SERPING1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05155, H9KV48

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P02751	Some	10	262442.1	14	20	0.009741586	0.0926	59.7319	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P01834	Unique	6	11739.8	6	18	0.195505435	0.7944	52.1763	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P10153	Unique	4	18324.1	4	17	0.122713729	0.1988	51.6306	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P02768	Some	0	69303.5	12	17	0.03244156	0.1905	43.0472	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013
Q99715	Some	0	332922.5	11	15	0.005691338	0.0571	40.2819	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8, H0Y4P7
P24821	Some	0	240682.1	7	10	0.005280196	0.0604	31.1711	Tenascin OS=Homo sapiens GN=TNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSU6, F5H7V9, E9PC84, H0YGZ3
P02760	Some	2	38956	6	12	0.039619473	0.2017	30.7503	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P98160	Unique	5	468514.5	5	7	0.001852698	0.0143	20.7515	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
P41222	Some	1	20997.3	4	6	0.036700143	0.3263	18.4445	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5A1, Q5SQ11
A0A087WXI5	Some	0	99947	3	5	0.006435056	0.0598	17.2638	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P12830, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6
E9PR17	All	0	14501	2	9	0.080458006	0.1538	17.1144	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13987, E9PNW4
P21333	Some	0	280545.9	3	6	0.002634313	0.0219	16.7877	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54, A0A087WWY3
contaminant_	Some	2	69207.4	5	6	0.011487689	0.0725	16.7093	BSA
Q13332	All	0	216886.8	4	5	0.002982986	0.0395	15.7752	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
P24855	Unique	4	31395.7	4	5	0.020605872	0.2695	15.1067	Deoxyribonuclease-1 OS=Homo sapiens GN=DNASE1 PE=1 SV=1
Q8IWU5	Unique	2	100372.3	2	6	0.008014974	0.0253	14.7373	Extracellular sulfatase Sulf-2 OS=Homo sapiens GN=SULF2 PE=1 SV=1
P07911	Some	1	69696.4	5	7	0.012711247	0.0641	13.977	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: X6RBG4
A0A0G2JLV7	Some	0	31433.8	4	5	0.020246885	0.1289	13.8282	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JP18, A0A0G2JQ50, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, F8WC07
E7EQR8	All	0	38845.9	2	8	0.026116207	0.0281	13.2138	Protein YIPF3 OS=Homo sapiens GN=YIPF3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9GZM5
contaminant_	Some	1	8541.6	5	5	0.076458631	0.4474	12.391	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG48, Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7
P55290	Unique	5	78219.9	5	5	0.008149868	0.0954	12.2002	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
Q05707	All	0	193376.5	3	4	0.002588355	0.0251	11.8335	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
Q7Z5L0	Unique	4	21502.3	4	5	0.028766614	0.2327	11.3472	Vitelline membrane outer layer protein 1 homolog OS=Homo sapiens GN=VMO1 PE=1 SV=1
Q8WVN6	All	0	27003.7	2	3	0.014058523	0.1452	11.3083	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
P22105	Some	1	457914.1	3	4	0.001095871	0.0083	10.6181	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A140TA41, A0A140TA52, A0A140TA33, A0A140T8Y3, A0A140T9C0, A0A140T902, A0A140T956, A0A087WWA5
Q96FE7	Some	1	28211.9	3	4	0.017675608	0.1559	10.3537	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JMK5
Q02487	Unique	2	99880.7	2	4	0.005159473	0.0366	10.0118	Desmocollin-2 OS=Homo sapiens GN=DSC2 PE=1 SV=1
P02763	Unique	3	23478.7	3	4	0.023127785	0.1841	9.8275	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
B7ZL91	All	0	87823.3	2	3	0.00450454	0.0233	9.161	Meprin A subunit OS=Homo sapiens GN=MEP1A PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16819
P19022	Some	1	99729.3	3	3	0.003848249	0.0695	9.0933	Cadherin-2 OS=Homo sapiens GN=CDH2 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J8J8
P05451	Some	1	18700.8	3	3	0.021003094	0.2952	8.9044	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304, H7BZ24
contaminant_	All	0	46804.8	2	4	0.010861413	0.0654	8.7937	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01857, A0A0A0MS07
Q16849	Unique	2	105763.2	2	3	0.003561301	0.0276	8.4451	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase-like N OS=Homo sapiens GN=PTPRN PE=1 SV=1
E7ERL8	All	0	165323	2	3	0.002313546	0.01	7.1217	Neurexin-1-beta OS=Homo sapiens GN=NRXN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1D5RMU6, A0A0D9SEP4, A0A0R4J2G7, Q9ULB1, E7ETA5, A0A0D9SEM5, P58400, Q08AH0, A0A1B0GTL0, H7BYC7, H0Y568
P09603	Unique	3	60123.8	3	3	0.006293346	0.0505	6.9541	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2
P01040	Some	1	10981.7	3	3	0.035576669	0.3776	6.5724	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4
P18827	Unique	2	32423.8	2	2	0.007497879	0.1161	6.0255	Syndecan-1 OS=Homo sapiens GN=SDC1 PE=1 SV=3
P01619	Unique	2	12531.3	2	2	0.020037434	0.2155	5.4976	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
P08123	All	0	129217.4	2	2	0.001701568	0.0242	5.4016	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
Q9H299	All	0	10413.3	2	2	0.024992929	0.2688	5.3971	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
Q14315	Unique	2	290822.6	2	2	0.00085297	0.0106	4.9739	Filamin-C OS=Homo sapiens GN=FLNC PE=1 SV=3
P02461	Unique	2	138461	2	2	0.0015855	0.0211	4.9058	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4
P16284	Unique	2	82465.8	2	2	0.003149515	0.0366	4.7373	Platelet endothelial cell adhesion molecule OS=Homo sapiens GN=PECAM1 PE=1 SV=1
O75369	All	0	277972	2	2	0.000893291	0.0092	4.6485	Filamin-B OS=Homo sapiens GN=FLNB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EN95
P10451	All	0	35383.2	2	2	0.007402364	0.0828	4.6244	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6R9C5
P23468	All	0	214606.8	2	2	0.00121566	0.0131	4.3134	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta OS=Homo sapiens GN=PTPRD PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWR7, Q3KPI9
Q01459	Unique	2	43713.6	2	2	0.006037253	0.0597	3.8585	Di-N-acetylchitobiase OS=Homo sapiens GN=CTBS PE=1 SV=1
A0A087WV75	All	0	97235.5	2	2	0.002629347	0.0226	3.8545	Neural cell adhesion molecule 1 OS=Homo sapiens GN=NCAM1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WWD4, P13591, A0A087WX77, A0A087WTF6, A0A087WTE4, H7BYX6
P35613	All	0	42156	2	2	0.006037253	0.0597	3.8093	Basigin OS=Homo sapiens GN=BSG PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X2B5, I3L192
Q8N114	All	0	25546.4	2	2	0.00968476	0.0333	3.5105	Protein shisa-5 OS=Homo sapiens GN=SHISA5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8WFD9, C9IZ46

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P01834	Unique	7	11739.8	7	97	0.244503899	0.8037	262.0359	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P41222	Some	4	20997.3	11	34	0.048263982	0.5053	104.2907	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5A1, Q5SQ11
P02760	Some	4	38956	13	37	0.02835025	0.3835	93.8292	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
Q8WVN6	Some	2	27003.7	6	31	0.033713811	0.2218	92.9784	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
P02768	Some	0	69303.5	19	35	0.015500603	0.2939	89.528	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, A0A087WWT3, C9JKR2, H7C013
P98160	Unique	15	468514.5	15	28	0.001719857	0.0421	83.0924	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
P04746	Some	4	57652	15	29	0.015306466	0.3875	79.9319	Pancreatic alpha-amylase OS=Homo sapiens GN=AMY2A PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T085, H7BZQ8, Q5T084, C9J2Z5, C9JWK7
P19961	Some	3	57655	14	27	0.014250848	0.3542	76.3139	Alpha-amylase 2B OS=Homo sapiens GN=AMY2B PE=1 SV=1
P05451	Some	9	18700.8	12	24	0.038994287	0.4398	75.5975	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304, H7BZ24
P04745	Some	0	57712.9	13	25	0.013195229	0.362	70.49	Alpha-amylase 1 OS=Homo sapiens GN=AMY1A PE=1 SV=2
P0DOY2	Some	0	11268.5	4	26	0.066155402	0.6509	68.159	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1
P01857	Some	2	36065.2	8	25	0.020432613	0.2727	63.306	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01860, A0A0A0MS07
A0A0B4J231	Some	0	23117.7	5	23	0.02885275	0.3581	57.1267	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, contaminant_NRL_1MCOL, P0CG04, P0DOY3, P0CF74, A0M8Q6
P02751	Some	8	262442.1	14	19	0.002147736	0.0784	54.3695	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
contaminant_	Some	2	46804.8	6	21	0.013233458	0.1402	50.7446	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...
Q99715	Some	1	332922.5	13	16	0.00140887	0.0659	47.4443	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8, H0Y4P7
Q14624	Some	2	103275	11	14	0.004060158	0.1215	44.4179	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B7ZKJ8, H7C0L5
P01619	Some	3	12531.3	4	14	0.032551266	0.4052	43.543	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
Q12907	Some	0	40185.1	9	13	0.009848978	0.3596	40.3799	Vesicular integral-membrane protein VIP36 OS=Homo sapiens GN=LMAN2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RBV2, D6RDX1, D6RIU4, D6RBH1
A0A0C4DH25	Some	3	12489.2	4	11	0.025575994	0.2155	32.5559	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P01859	Some	1	35859.7	6	14	0.011582659	0.2515	32.1162	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
P61769	Some	4	13687.9	6	10	0.022664747	0.3529	27.5901	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0, H0YLF3
P06396	Some	1	85626.2	5	8	0.002759187	0.0985	27.5486	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MSS1
P01861	Some	1	35899.9	6	9	0.007423224	0.2844	27.3107	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
P10153	Unique	4	18324.1	4	10	0.016752204	0.1988	27.1669	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
O00187	Unique	8	75635.6	8	11	0.004324804	0.105	27.0688	Mannan-binding lectin serine protease 2 OS=Homo sapiens GN=MASP2 PE=1 SV=4
P06312	Unique	6	13353.6	6	9	0.020061111	0.2975	25.5609	Immunoglobulin kappa variable 4-1 OS=Homo sapiens GN=IGKV4-1 PE=1 SV=1
P24821	Some	1	240682.1	6	8	0.00098032	0.0395	24.0503	Tenascin OS=Homo sapiens GN=TNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSU6, F5H7V9, H0YGZ3, E9PC84
Q9H299	Some	3	10413.3	6	7	0.020300789	0.6344	22.9276	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
P12830	Some	2	97377.8	5	7	0.002140559	0.0612	21.6352	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXI5, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6
P02763	Some	3	23478.7	5	8	0.010734746	0.3035	20.3037	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P01615	Some	3	12930.4	5	6	0.013485524	0.4	19.9803	Immunoglobulin kappa variable 2D-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-28 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B6P5
contaminant_	Some	2	69207.4	4	7	0.003110335	0.0445	19.0085	BSA
contaminant_	Some	1	8541.6	4	8	0.028390578	0.5	18.4875	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG48, Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7, F5GZ39, J3QSA3
P22105	Some	2	457914.1	6	7	0.000445067	0.0149	17.5504	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A140TA33, A0A140TA52, A0A140TA41, A0A140T8Y3, A0A140T9C0, A0A140T902, A0A140T956, A0A087WWA5, A0A140T8Z8
Q9NZP8	Some	1	53446.3	3	5	0.002769102	0.0657	17.1781	Complement C1r subcomponent-like protein OS=Homo sapiens GN=C1RL PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWF3, F5H6S5, F5H7C8
A0A0C4DH72	Some	1	12671.3	2	6	0.013831307	0.2991	16.335	Immunoglobulin kappa variable 1-6 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-6 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01597, A0A075B7D4, P04432
P02671	Unique	4	94896.4	4	5	0.00155722	0.0889	16.0172	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P19652	Some	2	23569.6	4	6	0.008051059	0.1592	14.7613	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
Q16270	Unique	3	29093.4	3	5	0.004782101	0.0957	13.4211	Insulin-like growth factor-binding protein 7 OS=Homo sapiens GN=IGFBP7 PE=1 SV=1
Q02487	Unique	3	99880.7	3	5	0.001496729	0.0566	13.244	Desmocollin-2 OS=Homo sapiens GN=DSC2 PE=1 SV=1
Q7Z5L0	Unique	4	21502.3	4	5	0.006676002	0.2871	13.1067	Vitelline membrane outer layer protein 1 homolog OS=Homo sapiens GN=VMO1 PE=1 SV=1
P10451	Unique	4	35383.2	4	5	0.004294753	0.1879	12.6956	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1
P07998	Some	1	17614.7	3	4	0.006915653	0.1923	12.0956	Ribonuclease pancreatic OS=Homo sapiens GN=RNASE1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V357
P55290	Unique	5	78219.9	5	5	0.001891378	0.0954	11.7356	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
A0A1B0GUU9	All	0	51872.9	3	6	0.003414057	0.0696	11.6801	Ig mu chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01871, A0A087WYJ9
Q96FE7	Unique	3	28211.9	3	4	0.004102061	0.0989	10.7987	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2
P04217	Unique	4	54201.5	4	4	0.002179479	0.1192	10.7818	Alpha-1B-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=A1BG PE=1 SV=4
P12111	All	0	343438.8	2	3	0.000254684	0.0104	10.6967	Collagen alpha-3(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A3 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6
Q9UNN8	Some	1	26636.6	3	4	0.004532949	0.1513	10.571	Endothelial protein C receptor OS=Homo sapiens GN=PROCR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RQQ4
P09603	Unique	3	60123.8	3	4	0.001947368	0.074	10.55	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2
P25311	Some	1	34219.1	4	4	0.003620275	0.1443	10.4535	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P11684	All	0	9969.1	2	4	0.011855406	0.1209	10.1268	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
P10645	All	0	50639.6	2	3	0.001770528	0.07	9.8316	Chromogranin-A OS=Homo sapiens GN=CHGA PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G5E968
P07911	Some	2	69696.4	4	5	0.002107113	0.0359	9.4275	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: X6RBG4
P02790	Unique	4	51625.3	4	4	0.002335156	0.1429	9.4028	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2
O00391	Unique	3	82507.5	3	4	0.001444233	0.0535	9.1391	Sulfhydryl oxidase 1 OS=Homo sapiens GN=QSOX1 PE=1 SV=3
P36957	Some	1	48706.5	3	3	0.001786162	0.0552	8.9632	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=DLST PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SW4
P04433	All	0	12549.3	2	3	0.007035926	0.2609	8.8512	Immunoglobulin kappa variable 3-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-11 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MRZ8
O75594	Unique	3	21698.7	3	3	0.004128222	0.2551	8.7817	Peptidoglycan recognition protein 1 OS=Homo sapiens GN=PGLYRP1 PE=1 SV=1
P0DJD8	Some	2	41931.6	4	4	0.00278052	0.0412	8.6766	Pepsin A-3 OS=Homo sapiens GN=PGA3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DJD7, P0DJD9
O00468	Some	0	217073.7	4	4	0.000521936	0.0218	8.6496	Agrin OS=Homo sapiens GN=AGRN PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X208, H0Y5U1
Q05707	All	0	193376.5	3	3	0.000450519	0.0251	8.5963	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
P19022	All	0	99729.3	2	3	0.000893081	0.0519	8.5354	Cadherin-2 OS=Homo sapiens GN=CDH2 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J8J8
P04004	Some	1	54253.2	3	4	0.002256992	0.046	8.5289	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GX75
P01042	Unique	4	71894.1	4	4	0.00167522	0.0668	8.4239	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
A0A0G2JLV7	All	0	31433.8	3	3	0.002819273	0.0976	8.3913	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JP18, A0A0G2JQ50, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JMI0, A0A0G2JNK8, A0A0G2JM94
O15240	Unique	3	67199.6	3	3	0.001315661	0.0715	8.1891	Neurosecretory protein VGF OS=Homo sapiens GN=VGF PE=1 SV=2
P36639	Unique	2	22487.1	2	3	0.004107266	0.1269	8.1668	7,8-dihydro-8-oxoguanine triphosphatase OS=Homo sapiens GN=NUDT1 PE=1 SV=3
E7EQR8	All	0	38845.9	2	5	0.003788069	0.0281	8.035	Protein YIPF3 OS=Homo sapiens GN=YIPF3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9GZM5
Q07507	Unique	3	23970.8	3	3	0.00402553	0.1791	7.927	Dermatopontin OS=Homo sapiens GN=DPT PE=1 SV=2
Q8IWU5	Unique	2	100372.3	2	3	0.000930036	0.0253	7.5348	Extracellular sulfatase Sulf-2 OS=Homo sapiens GN=SULF2 PE=1 SV=1
P23468	All	0	214606.8	3	3	0.000423186	0.0209	7.2124	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta OS=Homo sapiens GN=PTPRD PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWR7, Q3KPI9
Q13332	All	0	216886.8	2	2	0.00027691	0.0185	7.1291	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
P78324	Unique	3	54914.8	3	3	0.00160542	0.0774	6.9962	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1 OS=Homo sapiens GN=SIRPA PE=1 SV=2
P04216	Some	1	17905.3	3	3	0.005025661	0.1553	6.9248	Thy-1 membrane glycoprotein OS=Homo sapiens GN=THY1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PNQ8, E9PIM6, J3QRJ3
Q86Y38	Unique	2	107483.4	2	2	0.000562483	0.0198	6.6966	Xylosyltransferase 1 OS=Homo sapiens GN=XYLT1 PE=1 SV=1

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P09564	All	0	25374.9	2	2	0.002247587	0.0958	6.6178	T-cell antigen CD7 OS=Homo sapiens GN=CD7 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QLM0
P07148	Some	1	14181.4	3	3	0.006371114	0.1496	6.1272	Fatty acid-binding protein, liver OS=Homo sapiens GN=FABP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MW49
O94919	Unique	2	54963.3	2	2	0.001078842	0.046	6.1043	Endonuclease domain-containing 1 protein OS=Homo sapiens GN=ENDOD1 PE=1 SV=2
A0A0C4DH55	All	0	13121.5	2	3	0.006799424	0.2605	5.876	Immunoglobulin kappa variable 3D-7 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-7 PE=3 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH90
P02753	All	0	22977.2	2	2	0.002683686	0.1393	5.814	Retinol-binding protein 4 OS=Homo sapiens GN=RBP4 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30
P08123	All	0	129217.4	2	2	0.000394891	0.0242	5.7369	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
P21333	All	0	280545.9	2	2	0.000203786	0.0136	5.6696	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54, A0A087WWY3
P04264	Unique	2	65981	2	2	0.00083761	0.0435	5.622	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6
P20062	All	0	47486.5	2	2	0.001263281	0.0749	5.5682	Transcobalamin-2 OS=Homo sapiens GN=TCN2 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B5MBX2, F8WE86
A0A087WV17	All	0	30813.8	2	2	0.001886087	0.1329	5.427	Osteoclast-associated immunoglobulin-like receptor OS=Homo sapiens GN=OSCAR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X0P3, A0A087X1R2, A0A0A0MRF2, A0A0A0MR14
Q14315	Unique	2	290822.6	2	2	0.000197953	0.0117	5.1772	Filamin-C OS=Homo sapiens GN=FLNC PE=1 SV=3
P05060	All	0	78211.2	2	2	0.000796781	0.0414	5.0497	Secretogranin-1 OS=Homo sapiens GN=CHGB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT66
P01040	Unique	2	10981.7	2	2	0.005504296	0.3061	5.0458	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1
P02787	Unique	2	76995.6	2	2	0.000772809	0.0372	4.9359	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=3
Q9NNX6	All	0	45728.3	2	2	0.0013352	0.0594	4.812	CD209 antigen OS=Homo sapiens GN=CD209 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QZG5, M0R0P0, X6RB12
P13473	Unique	2	44914.3	2	2	0.001315661	0.0488	4.7773	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=LAMP2 PE=1 SV=2
Q15828	Unique	2	16482.3	2	2	0.003620275	0.2013	4.7438	Cystatin-M OS=Homo sapiens GN=CST6 PE=1 SV=1
P19320	All	0	81206.3	2	2	0.000729934	0.0352	4.4945	Vascular cell adhesion protein 1 OS=Homo sapiens GN=VCAM1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PDD2
Q6S8J3	All	0	121267.7	2	2	0.000501787	0.0242	4.1046	POTE ankyrin domain family member E OS=Homo sapiens GN=POTEE PE=2 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A5A3E0, P68133, P68032, P62736, P63267, P63261, P60709

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P04279	Some	19	52081.9	22	37	0.232947523	0.4459	94.3732	Semenogelin-1 OS=Homo sapiens GN=SEMG1 PE=1 SV=2
Q02383	Some	11	65387.4	14	19	0.094957433	0.2612	47.5711	Semenogelin-2 OS=Homo sapiens GN=SEMG2 PE=1 SV=1
Q14508	Unique	3	12965.9	3	5	0.117286133	0.2742	16.001	WAP four-disulfide core domain protein 2 OS=Homo sapiens GN=WFDC2 PE=1 SV=2
P10451	Unique	2	35383.2	2	5	0.046316817	0.1051	15.5391	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1
P02760	Some	2	38956	5	6	0.049580047	0.1705	13.6341	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
contaminant_	Some	0	46804.8	4	5	0.033980095	0.1402	11.775	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01857, A0A0A0MS07, P01860, P01861, P01859
P02768	Some	0	69303.5	6	6	0.028657104	0.0952	11.3993	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, A0A087WWT3, H7C013
G3V3D1	All	0	23665.9	3	4	0.052646083	0.2172	11.0673	Epididymal secretory protein E1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=NPC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EMS2, G3V3E8, H0YIZ1, P61916, J3KMY5, G3V2V8
P00747	Unique	3	90492.1	3	4	0.014363931	0.058	10.4309	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2
P02452	Unique	4	138838.6	4	4	0.007947257	0.0437	9.8248	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
P01834	Unique	3	11739.8	3	3	0.081552227	0.4393	7.7384	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P04264	Unique	3	65981	3	3	0.013549827	0.0543	7.2624	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6
E9PR17	All	0	14501	2	3	0.067123756	0.1846	7.0699	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13987, E9PNW4
P02751	All	0	262442.1	2	2	0.002438136	0.013	6.0362	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
Q96FE7	Unique	2	28211.9	2	2	0.022119362	0.1141	5.9598	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2
X6RBG4	All	0	75594.5	2	3	0.01266486	0.0276	5.4041	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07911
P02671	Unique	2	94896.4	2	2	0.006717543	0.0289	5.1535	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P02461	Unique	2	138461	2	2	0.003968208	0.0157	4.9653	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4
P19652	Some	1	23569.6	2	2	0.02894225	0.1294	4.7705	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P13473	Unique	2	44914.3	2	2	0.014188761	0.0488	4.4467	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=LAMP2 PE=1 SV=2
P0CG48	All	0	76973.5	2	2	0.008492543	0.0365	4.404	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08
P02763	Some	1	23478.7	2	2	0.02894225	0.1144	4.3638	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P41222	Unique	2	20997.3	2	2	0.030617854	0.1211	4.1416	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P01834	Unique	18	11739.8	18	77	0.253945215	0.8037	199.8975	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P02763	Some	23	23478.7	25	72	0.126406535	0.4129	174.2674	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P02760	Some	13	38956	22	65	0.065163407	0.3551	155.6931	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P05451	Some	16	18700.8	20	37	0.07865507	0.5	96.8671	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304, H7BZ24
P19652	Some	9	23569.6	11	37	0.064958914	0.3134	85.9638	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P02768	Some	3	69303.5	20	30	0.017383493	0.3021	73.0745	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, A0A087WWT3, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, H7C013
contaminant_	Some	5	22783	8	25	0.040843161	0.1806	62.243	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain L...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J231, B9A064, P0CG04, P0DOY3, P0CF74, A0M8Q6
P25311	Some	10	34219.1	16	20	0.023683551	0.3725	46.3082	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P10451	Unique	8	35383.2	8	13	0.014609885	0.2038	39.1184	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1
P0DOY2	Some	2	11268.5	6	14	0.046607441	0.5566	38.7042	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1
P01619	Unique	7	12531.3	7	11	0.033463224	0.4052	34.1603	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
contaminant_	Some	3	8541.6	8	13	0.060361892	0.7763	30.9885	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG48, Q96C32, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7, F5GZ39, J3QSA3
P0CG47	Some	1	25727.8	6	11	0.016950804	0.2576	27.3059	Polyubiquitin-B OS=Homo sapiens GN=UBB PE=1 SV=1
P61769	Unique	7	13687.9	7	10	0.029654194	0.2689	24.4117	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1
A0A0A0MS08	Some	0	43866.1	6	9	0.00795981	0.2256	23.9743	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, contaminant_NRL_1MCOH, P01861, A0A0A0MS07, P01860, P01859
Q99715	Some	0	332922.5	8	8	0.000921671	0.0451	23.4164	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8
P02751	Some	3	262442.1	7	9	0.001331083	0.0323	23.3799	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P02452	Unique	9	138838.6	9	10	0.002410416	0.0273	23.1663	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
P41222	Unique	6	20997.3	6	9	0.016715601	0.1737	21.6947	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1
P98160	Unique	8	468514.5	8	9	0.000723289	0.018	21.5884	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
contaminant_	Some	4	69207.4	6	7	0.004069513	0.056	16.1344	BSA
P01700	Unique	6	12257.9	6	7	0.021112772	0.2479	15.9182	Immunoglobulin lambda variable 1-47 OS=Homo sapiens GN=IGLV1-47 PE=1 SV=2
P12830	Some	2	97377.8	4	5	0.002000481	0.0363	14.4384	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXI5, A0A087WU43, A0A087WX17
P09603	Unique	4	60123.8	4	6	0.003821858	0.074	14.3632	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2
P01042	Unique	6	71894.1	6	6	0.003287748	0.0839	12.969	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
P20062	All	0	47486.5	3	4	0.003305713	0.0773	11.9346	Transcobalamin-2 OS=Homo sapiens GN=TCN2 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B5MBX2, F8WE86
P10153	Unique	4	18324.1	4	5	0.010959159	0.0932	11.7364	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P00747	Unique	3	90492.1	3	4	0.001742642	0.058	11.2533	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2
P11684	Some	2	9969.1	4	5	0.019389281	0.1209	11.0604	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
P55290	Unique	5	78219.9	5	5	0.002474649	0.0435	10.5643	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
Q6GTX8	Some	1	31374.7	4	4	0.004918257	0.1289	8.6665	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JLV7, A0A0G2JQ50, A0A0G2JP18, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JMI0, A0A0G2JNK8, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, F8WC07
P10645	All	0	50639.6	2	2	0.001544354	0.0766	7.9247	Chromogranin-A OS=Homo sapiens GN=CHGA PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G5E968
P18827	Unique	2	32423.8	2	2	0.002276677	0.0645	6.3868	Syndecan-1 OS=Homo sapiens GN=SDC1 PE=1 SV=3
Q13332	All	0	216886.8	2	2	0.000362305	0.018	6.1933	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
E9PNQ8	All	0	18135.2	2	2	0.004277393	0.1515	5.2883	Thy-1 membrane glycoprotein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=THY1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04216, E9PIM6, J3QRJ3
P30530	Unique	2	98255	2	2	0.000789452	0.0257	4.8869	Tyrosine-protein kinase receptor UFO OS=Homo sapiens GN=AXL PE=1 SV=3
P01040	Unique	2	10981.7	2	2	0.007201733	0.3061	4.8639	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1
E7ERL8	All	0	165323	2	2	0.000468328	0.01	4.4728	Neurexin-1-beta OS=Homo sapiens GN=NRXN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1D5RMU6, A0A0D9SEP4, A0A0R4J2G7, Q9ULB1, E7ETA5, A0A0D9SEM5, P58400, Q08AH0, A0A1B0GTL0, H7BYC7, H0Y568
P13473	Unique	2	44914.3	2	2	0.00172139	0.0488	4.4274	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=LAMP2 PE=1 SV=2
P02790	All	0	51625.3	2	2	0.00152764	0.0498	3.6348	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P02768	Some	28	69303.5	55	117	0.07671532	0.4122	285.3378	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013
P01834	Unique	13	11739.8	13	50	0.186594895	0.8037	120.7849	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P41222	Some	15	20997.3	18	38	0.079862615	0.3263	112.2057	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ11
P02760	Some	13	38956	23	47	0.053317371	0.3097	110.5931	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P02751	Some	19	262442.1	25	34	0.005690128	0.0708	90.2819	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P25311	Some	12	34219.1	18	28	0.037519349	0.3389	73.9114	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P10451	Some	10	35383.2	12	22	0.027977349	0.2643	66.6344	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6R9C5
P02763	Some	11	23478.7	13	26	0.051652437	0.4129	64.753	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
Q8WZ42	Some	8	3813633.7	18	22	0.000255746	0.0046	52.1563	Titin OS=Homo sapiens GN=TTN PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MTS7, A0A0A0MRA3
contaminant_	Some	9	69207.4	13	22	0.014472632	0.0857	49.5622	BSA
P98160	Some	14	468514.5	16	18	0.001636902	0.0294	47.3305	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7BYA5
P19652	Some	7	23569.6	9	19	0.037746012	0.3134	45.0822	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
Q99715	Some	2	332922.5	10	14	0.001825133	0.0509	43.7739	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8
Q8WVN6	Some	6	27003.7	9	15	0.024152	0.2097	42.7509	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
Q14315	Some	8	290822.6	9	12	0.001758443	0.0396	31.2173	Filamin-C OS=Homo sapiens GN=FLNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54, E7EN95
H0Y5A1	Some	1	13698.8	4	9	0.028982401	0.3629	30.0805	Prostaglandin-H2 D-isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=2
Q9NZP8	Some	4	53446.3	6	9	0.007379502	0.0657	29.3384	Complement C1r subcomponent-like protein OS=Homo sapiens GN=C1RL PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWF3, F5H6S5, F5H7C8
A0A0A0MS08	Some	0	43866.1	5	11	0.011008631	0.1905	29.2633	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, contaminant_NRL_1MCOH, P01860, A0A0A0MS07
P22105	Some	4	457914.1	9	11	0.001035465	0.0153	25.9486	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A140TA52, A0A140TA33, A0A140TA41, A0A140T902, A0A140T9C0, A0A140T8Y3, A0A140T8Z8, A0A140T9L7, A0A087X0I0, A0A140T956, A0A087WWA5
Q8TCZ2	Some	6	27950.7	9	10	0.015240957	0.1489	23.2615	CD99 antigen-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=CD99L2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y4H3
P07911	Some	3	69696.4	11	11	0.006863193	0.1094	21.4696	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: X6RBG4
P10153	Unique	4	18324.1	4	7	0.017361438	0.0932	20.2575	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P13987	Some	1	14149.8	3	9	0.028076701	0.1562	18.3806	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PR17, E9PNW4
Q14624	Some	3	103275	5	7	0.003005582	0.0355	18.2954	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B7ZKJ8
P01619	Some	4	12531.3	5	6	0.020654125	0.2155	17.6287	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
P02452	Unique	7	138838.6	7	7	0.001909284	0.0273	17.5064	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
P12830	Some	2	97377.8	5	6	0.002716415	0.0612	17.0096	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXI5, A0A087WX17, A0A087WU43, H3BNC6
contaminant_	Some	1	8541.6	5	7	0.036778836	0.5132	16.8686	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG48, Q96C32, Q5PY61, P0CG47, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, M0R1V7, F5GZ39, M0R2S1, M0R1M6, J3QSA3
P07602	Some	1	58055.8	3	8	0.006096383	0.0458	16.1299	Prosaposin OS=Homo sapiens GN=PSAP PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JIZ6
P01859	Some	1	35859.7	4	7	0.008574207	0.1656	15.9198	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
A0A0C4DH25	Some	3	12489.2	4	6	0.020654125	0.2155	15.7103	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P08123	Some	5	129217.4	7	7	0.00204626	0.0227	15.4115	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
Q96FE7	Unique	6	28211.9	6	6	0.009109804	0.0989	15.1806	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2
P01861	Some	1	35899.9	4	5	0.006105705	0.1988	15.0068	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
P20062	All	0	47486.5	3	5	0.004675797	0.0773	14.6641	Transcobalamin-2 OS=Homo sapiens GN=TCN2 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B5MBX2, F8WE86
P02671	Unique	5	94896.4	5	6	0.002766603	0.0681	14.6203	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
contaminant_	Some	1	65436.5	5	5	0.003105078	0.0793	13.8657	
Q8IWU5	Unique	3	100372.3	3	6	0.002753883	0.0253	13.8327	Extracellular sulfatase Sulf-2 OS=Homo sapiens GN=SULF2 PE=1 SV=1
P04264	Some	1	65981	5	5	0.003100257	0.0978	13.7597	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6
Q86Y38	Unique	2	107483.4	2	4	0.001665539	0.0198	13.4405	Xylosyltransferase 1 OS=Homo sapiens GN=XYLT1 PE=1 SV=1
contaminant_	Some	2	22783	4	6	0.01109203	0.1574	13.1013	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain L...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J231, B9A064, P0CG04, P0DOY3, P0DOY2, P0CF74
P62736	Some	4	41963.8	6	6	0.006355115	0.069	12.9785	Actin, aortic smooth muscle OS=Homo sapiens GN=ACTA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A5A3E0, Q6S8J3, P68133, P68032, P63267, P63261
Q13332	Some	1	216886.8	4	4	0.000819945	0.0298	12.8633	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
P11684	Some	2	9969.1	4	5	0.021940279	0.1209	11.042	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
P55290	Unique	5	78219.9	5	5	0.002800232	0.0533	10.6177	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
A0A0G2JLV7	Some	0	31433.8	3	4	0.005565339	0.1289	10.5523	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JP18, A0A0G2JQ50, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, F8WC07
P04004	Unique	4	54253.2	4	4	0.003341532	0.046	9.4265	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1
A0M8Q6	Some	0	11228.6	2	4	0.015068418	0.3208	9.3236	Immunoglobulin lambda constant 7 OS=Homo sapiens GN=IGLC7 PE=1 SV=3
contaminant_	Some	2	83243.7	4	4	0.002090644	0.0458	9.0149	POLYMERIC-IMMUNOGLOBULIN RECEPTOR PRECURSOR (PLGR) (CONTAINS:...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01833
Q05707	All	0	193376.5	3	3	0.000667004	0.0395	9.0058	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
O15240	Unique	3	67199.6	3	3	0.001947869	0.039	8.8748	Neurosecretory protein VGF OS=Homo sapiens GN=VGF PE=1 SV=2
Q9H299	Some	1	10413.3	3	3	0.012881067	0.2688	8.8503	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
P13473	Unique	3	44914.3	3	4	0.003895737	0.0488	8.7463	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=LAMP2 PE=1 SV=2
P61769	Some	0	13687.9	3	4	0.013422288	0.2185	8.5475	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0, H0YLF3
O75369	Some	1	277972	4	4	0.000613856	0.0111	7.6372	Filamin-B OS=Homo sapiens GN=FLNB PE=1 SV=2
P09603	Unique	3	60123.8	3	3	0.002162345	0.074	7.3672	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2
P60709	Some	1	41691.7	3	3	0.003194505	0.0693	7.091	Actin, cytoplasmic 1 OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=1
P23468	All	0	214606.8	3	3	0.000626537	0.022	6.8787	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase delta OS=Homo sapiens GN=PTPRD PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWR7, Q3KPI9
P30530	Some	1	98255	3	3	0.001339977	0.0235	6.8075	Tyrosine-protein kinase receptor UFO OS=Homo sapiens GN=AXL PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R0W6
P35555	Unique	4	312004.5	4	4	0.00055634	0.0063	6.3989	Fibrillin-1 OS=Homo sapiens GN=FBN1 PE=1 SV=3
P04216	Some	1	17905.3	3	3	0.007440616	0.1553	6.0608	Thy-1 membrane glycoprotein OS=Homo sapiens GN=THY1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PNQ8, E9PIM6, J3QRJ3
P12883	Unique	2	222940.7	2	2	0.000412727	0.0207	5.7633	Myosin-7 OS=Homo sapiens GN=MYH7 PE=1 SV=5
P62158	All	0	21657.2	2	2	0.004074623	0.1684	5.335	Calmodulin OS=Homo sapiens GN=CALM2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7A7, E7ETZ0, E7EMB3
P01040	Unique	2	10981.7	2	2	0.008149246	0.3061	5.2927	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1
E7ERL8	All	0	165323	2	2	0.000529944	0.01	5.253	Neurexin-1-beta OS=Homo sapiens GN=NRXN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1D5RMU6, A0A0D9SEP4, A0A0R4J2G7, Q9ULB1, E7ETA5, A0A0D9SEM5, P58400, Q08AH0, A0A1B0GTL0, H7BYC7, H0Y568
Q14247	Unique	2	61530.5	2	2	0.001452048	0.0473	4.9677	Src substrate cortactin OS=Homo sapiens GN=CTTN PE=1 SV=2
P04080	Unique	2	11114.6	2	2	0.008149246	0.2449	4.6526	Cystatin-B OS=Homo sapiens GN=CSTB PE=1 SV=2
P21333	Some	0	280545.9	2	2	0.00030171	0.0087	4.4733	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4
P31025	All	0	19219.8	2	2	0.004537649	0.1023	3.9801	Lipocalin-1 OS=Homo sapiens GN=LCN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VSP4
P02790	All	0	51625.3	2	2	0.001728628	0.0498	3.4266	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P01834	Unique	10	11739.8	10	57	0.303237433	0.8411	185.6485	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P02760	Some	2	38956	14	40	0.064685816	0.3409	103.598	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P41222	Some	1	20997.3	11	21	0.062915467	0.5421	64.1376	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5A1, Q5SQ11
P98160	Unique	15	468514.5	15	19	0.002463099	0.0399	57.0575	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
Q8WVN6	All	0	27003.7	4	13	0.029838941	0.1653	46.5876	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
A0A0B4J231	Some	0	23117.7	5	15	0.039714082	0.3442	41.058	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1
P0DOY2	Some	0	11268.5	6	14	0.075182005	0.8585	39.5439	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0DOY3, B9A064, P0CG04, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74, A0M8Q6
P04745	Some	0	57712.9	5	10	0.011139632	0.1487	33.3802	Alpha-amylase 1 OS=Homo sapiens GN=AMY1A PE=1 SV=2
P04746	Some	2	57652	6	10	0.011139632	0.1742	32.272	Pancreatic alpha-amylase OS=Homo sapiens GN=AMY2A PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T085
P06396	Some	1	85626.2	5	10	0.007279222	0.1164	31.7069	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51
P19961	Some	1	57655	5	9	0.010025669	0.1487	28.5338	Alpha-amylase 2B OS=Homo sapiens GN=AMY2B PE=1 SV=1
P01619	Some	2	12531.3	4	8	0.039257599	0.4655	26.9095	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
Q9H299	Some	1	10413.3	6	8	0.048966467	0.7097	23.0808	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
contaminant_	Some	0	46804.8	3	8	0.01063991	0.1145	20.6754	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01857, A0A0A0MS07, P01861, P01859
P05451	Some	2	18700.8	5	7	0.024003893	0.4036	20.1539	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304, H7BZ24
P0CG48	Some	0	76973.5	5	7	0.005817002	0.0701	19.3222	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, Q5PY61, P0CG47, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7, F5GZ39, J3QSA3
P09603	Some	3	60123.8	5	6	0.006165002	0.1101	18.0702	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PJA2, E9PKP4
contaminant_	All	0	83243.7	2	6	0.004470433	0.0249	17.2899	POLYMERIC-IMMUNOGLOBULIN RECEPTOR PRECURSOR (PLGR) (CONTAINS:...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01833
A0A0C4DH25	Some	1	12489.2	3	5	0.024535999	0.2759	16.3123	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
A0A0G2JLV7	Some	0	31433.8	3	6	0.011900387	0.0941	15.7731	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JP18, A0A0G2JQ50, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, A0A0G2JPH6, A0A0G2JMB1, F8WC07, Q6ISS4, W4VSQ5, A0A0G2JN10, A0A0G2JMC3, A0A0G2JLQ0, C9IZB2, C9JFQ0, A0A087X1V4
P02751	Some	2	262442.1	5	6	0.001431438	0.0277	14.9303	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P02671	Unique	3	94896.4	3	5	0.003286577	0.0704	14.7619	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
Q9NZP8	All	0	53446.3	2	3	0.003506582	0.0842	14.3053	Complement C1r subcomponent-like protein OS=Homo sapiens GN=C1RL PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWF3, F5H6S5, F5H7C8
A0A087WXI5	All	0	99947	2	3	0.001891147	0.0233	11.6341	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P12830, A0A087WX17, A0A087WU43
P25311	All	0	34219.1	2	3	0.005730556	0.1107	10.9826	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
Q7Z5L0	Unique	4	21502.3	4	4	0.011271984	0.2277	10.736	Vitelline membrane outer layer protein 1 homolog OS=Homo sapiens GN=VMO1 PE=1 SV=1
contaminant_	Some	2	69207.4	3	4	0.003751138	0.0593	10.6202	BSA
P02768	Some	1	69303.5	3	4	0.003738819	0.0443	10.3942	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2
P62736	Some	1	41963.8	4	4	0.006039631	0.0981	9.8722	Actin, aortic smooth muscle OS=Homo sapiens GN=ACTA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6S8J3, A5A3E0, P68032, P68133, P63267, P63261, P60709, P0CG38, A6NL76, I3L4N8, I3L3I0, I3L1U9, J3KT65, I3L3R2, E7EVS6, F6QUT6, F6UVQ4, C9JFL5, K7EM38, G5E9R0, B8ZZJ2, F8WB63, C9JZR7, C9JUM1, C9JTX5, F8WCH0
A0A0A0MRZ8	All	0	12599.3	2	3	0.014849613	0.2609	9.1918	Immunoglobulin kappa variable 3D-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-11 PE=3 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433
O75594	Unique	3	21698.7	3	3	0.008712783	0.2551	9.1254	Peptidoglycan recognition protein 1 OS=Homo sapiens GN=PGLYRP1 PE=1 SV=1
Q13332	All	0	216886.8	2	3	0.000876646	0.018	8.8053	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
A0A075B6H7	Some	1	12757.4	2	3	0.0147216	0.2672	8.1514	Immunoglobulin kappa variable 3-7 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV3-7 PE=1 SV=1
Q02487	Unique	2	99880.7	2	3	0.001895345	0.0366	7.7067	Desmocollin-2 OS=Homo sapiens GN=DSC2 PE=1 SV=1
P04432	All	0	12711.3	2	3	0.014595774	0.2906	7.5939	Immunoglobulin kappa variable 1D-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-39 PE=3 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01597
P02763	Unique	2	23478.7	2	3	0.008496047	0.1194	7.5764	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P01614	Some	0	13283.6	2	2	0.009408846	0.1653	7.5453	Immunoglobulin kappa variable 2D-40 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-40 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WW87, A0A075B6S6, P01615, A0A075B6P5, A0A087X0Q4
Q15828	Unique	2	16482.3	2	3	0.011461111	0.2013	7.3212	Cystatin-M OS=Homo sapiens GN=CST6 PE=1 SV=1
P11684	All	0	9969.1	2	3	0.018765995	0.1209	7.271	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
P01860	Some	0	41242.4	2	3	0.004529723	0.0716	6.9048	Immunoglobulin heavy constant gamma 3 OS=Homo sapiens GN=IGHG3 PE=1 SV=2
B7ZKJ8	All	0	103798.2	2	2	0.001217615	0.0257	6.8532	ITIH4 protein OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624
P08571	All	0	40032.7	2	2	0.003035921	0.1013	6.764	Monocyte differentiation antigen CD14 OS=Homo sapiens GN=CD14 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RFL4
Q7KYR7	Some	0	59576.5	3	3	0.003240428	0.0455	6.2912	Butyrophilin subfamily 2 member A1 OS=Homo sapiens GN=BTN2A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7BYC3, C9JNC3, Q96KV6, Q8WVV5, C9IY66, C9JAJ6
P06310	Some	0	13158.5	2	2	0.009487253	0.325	6.1933	Immunoglobulin kappa variable 2-30 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-30 PE=3 SV=2
P55000	Unique	2	11160.1	2	2	0.01105311	0.2816	6.0519	Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1 OS=Homo sapiens GN=SLURP1 PE=1 SV=2
P02790	All	0	51625.3	3	3	0.003696332	0.0519	5.9038	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19
P10153	Unique	2	18324.1	2	2	0.007071244	0.0932	5.7244	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P12111	All	0	343438.8	2	2	0.000358348	0.0104	5.5263	Collagen alpha-3(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A3 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6
A0A0C4DH55	Some	0	13121.5	2	2	0.009566978	0.2605	5.4011	Immunoglobulin kappa variable 3D-7 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-7 PE=3 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH90
P07858	Unique	2	37778.8	2	2	0.00335832	0.0767	4.9769	Cathepsin B OS=Homo sapiens GN=CTSB PE=1 SV=3
Q9Y624	Unique	2	32544.5	2	2	0.003807593	0.0635	4.3311	Junctional adhesion molecule A OS=Homo sapiens GN=F11R PE=1 SV=1
P01042	Unique	2	71894.1	2	2	0.001767811	0.0357	4.2725	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P02760	Some	6	38956	23	134	0.113284225	0.5085	272.2752	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R471, S4R3Y4
P01834	Unique	11	11739.8	11	51	0.14183836	0.9346	144.178	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P02768	Some	0	69303.5	32	45	0.02198885	0.5764	116.6133	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013, contaminant_INT-STD1
P25311	Some	5	34219.1	16	21	0.020970575	0.4597	56.7642	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P02751	Some	13	262442.1	17	21	0.002619125	0.1014	54.6031	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P02763	Some	6	23478.7	8	19	0.028129684	0.4129	49.3187	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P07911	Some	1	69696.4	15	23	0.010694369	0.2984	45.4492	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: X6RBG4
E9PR17	Some	0	14501	7	20	0.045781914	0.4	44.6595	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13987, E9PNW4, H0YET2
P02749	Some	0	38254.6	8	14	0.012075809	0.4696	42.6812	Beta-2-glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=APOH PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QLI0, J3QRN2, J3KS17
P41222	Some	1	20997.3	6	13	0.020360904	0.3947	40.3655	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5A1, Q5SQ11
P19652	Some	4	23569.6	6	15	0.022207645	0.3532	38.8477	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P00734	All	0	69974.1	7	10	0.004784284	0.1109	34.1683	Prothrombin OS=Homo sapiens GN=F2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PIT3, C9JV37
P10451	Some	4	35383.2	6	11	0.010424863	0.2325	33.5248	Osteopontin OS=Homo sapiens GN=SPP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6R9C5
P01042	Unique	12	71894.1	12	13	0.006007099	0.2748	33.2417	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
P31151	Some	5	11445.6	7	11	0.032409969	0.4455	32.826	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4
Q14508	Unique	3	12965.9	3	11	0.026398442	0.2742	31.9688	WAP four-disulfide core domain protein 2 OS=Homo sapiens GN=WFDC2 PE=1 SV=2
P0DOY2	Some	0	11268.5	5	12	0.033688578	0.6981	31.0944	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1
P07602	Some	0	58384	6	16	0.009034761	0.1157	30.085	Prosaposin OS=Homo sapiens GN=PSAP PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5BJH1, C9JIZ6
P05451	Some	4	18700.8	7	11	0.019719318	0.5361	29.4296	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304
contaminant_	Some	2	46804.8	6	13	0.009038719	0.1776	28.6453	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, A0A0A0MS07, P01860, P01861, P01859
A0A0A0MS08	Some	0	43866.1	5	12	0.008949848	0.1905	27.9285	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1
P10153	Unique	3	18324.1	3	9	0.016635043	0.1988	23.3189	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P07858	Unique	5	37778.8	5	8	0.007022594	0.236	22.735	Cathepsin B OS=Homo sapiens GN=CTSB PE=1 SV=3
A0A0B4J231	Some	0	23117.7	6	9	0.012456939	0.3814	22.3872	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, contaminant_NRL_1MCOL, P0DOY3, P0CG04, P0CF74, A0M8Q6
Q96FE7	Some	1	28211.9	4	8	0.009051937	0.2129	22.113	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JMK5
P01619	Some	2	12531.3	3	7	0.017957561	0.4052	21.1266	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
A0A087WXI5	Some	0	99947	5	6	0.001977292	0.0986	18.6136	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P12830, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6, H3BVI7, J3QKP1
H7BY55	Some	0	58854.7	5	7	0.003787413	0.1309	18.289	Complement decay-accelerating factor OS=Homo sapiens GN=CD55 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AP13, P08174, H3BLV0, B1AP15
P04004	Some	1	54253.2	3	6	0.003735344	0.1088	17.6014	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GX75
P35555	Some	4	312004.5	8	8	0.000829209	0.0317	17.3578	Fibrillin-1 OS=Homo sapiens GN=FBN1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YND0
P09603	Some	2	60123.8	5	7	0.003760067	0.1336	17.3013	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PJA2
P01594	All	0	12822.3	2	5	0.012717198	0.3419	17.2562	Immunoglobulin kappa variable 1-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-33 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01593
C9JV77	All	0	39368.7	4	6	0.004851888	0.1277	15.0141	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AHSG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765
P00747	Unique	4	90492.1	4	6	0.002204314	0.0778	14.8024	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2
P19022	Unique	6	99729.3	6	6	0.001970745	0.0949	13.6995	Cadherin-2 OS=Homo sapiens GN=CDH2 PE=1 SV=4
P98095	All	0	126471.1	2	4	0.001005346	0.022	13.1852	Fibulin-2 OS=Homo sapiens GN=FBLN2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JQS6
Q01459	Unique	6	43713.6	6	6	0.004637648	0.1896	13.1084	Di-N-acetylchitobiase OS=Homo sapiens GN=CTBS PE=1 SV=1
P98160	Unique	4	468514.5	4	5	0.000338855	0.0141	12.2723	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
Q99715	Some	0	332922.5	5	5	0.00048577	0.0251	12.148	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8
Q8N114	All	0	25546.4	2	3	0.003719781	0.1208	11.7181	Protein shisa-5 OS=Homo sapiens GN=SHISA5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8WFD9, C9IZ46
Q9Y5Y7	Unique	4	35172.9	4	5	0.004620845	0.1522	11.4686	Lymphatic vessel endothelial hyaluronic acid receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LYVE1 PE=1 SV=2
P78324	Some	2	54914.8	4	5	0.002952207	0.1111	11.23	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1 OS=Homo sapiens GN=SIRPA PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5TFQ8
Q07507	Unique	5	23970.8	5	5	0.007402548	0.3234	10.9448	Dermatopontin OS=Homo sapiens GN=DPT PE=1 SV=2
P62158	Some	0	21657.2	3	4	0.006073111	0.2143	10.3576	Calmodulin OS=Homo sapiens GN=CALM2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7A7, E7ETZ0, P62158, Q96HY3, G3V361, E7EMB3
Q86SG5	Some	1	11279.5	3	4	0.011785443	0.1287	10.2087	Protein S100-A7A OS=Homo sapiens GN=S100A7A PE=1 SV=3
A0A0C4DH25	Some	2	12489.2	3	4	0.010261464	0.2155	10.1741	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P02790	Unique	3	51625.3	3	4	0.002576471	0.0996	10.0125	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2
P13473	Unique	4	44914.3	4	4	0.002903243	0.1146	10.0027	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=LAMP2 PE=1 SV=2
P17900	Some	3	20806.7	5	5	0.00770939	0.1347	9.9816	Ganglioside GM2 activator OS=Homo sapiens GN=GM2A PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RJD0, H0YBY3
P26842	Unique	3	29099.9	3	5	0.005722739	0.0885	9.9624	CD27 antigen OS=Homo sapiens GN=CD27 PE=1 SV=2
P09564	All	0	25374.9	2	3	0.003719781	0.0958	9.8887	T-cell antigen CD7 OS=Homo sapiens GN=CD7 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QLM0
Q08380	All	0	65271.3	2	3	0.001526064	0.0598	9.3066	Galectin-3-binding protein OS=Homo sapiens GN=LGALS3BP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EP36, K7EKQ5, K7ESM3
Q03591	Some	0	37608	3	3	0.002705295	0.1515	9.3005	Complement factor H-related protein 1 OS=Homo sapiens GN=CFHR1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AKG0, P36980, V9GYE7
P10599	Unique	3	11711.7	3	3	0.008502355	0.2667	8.8994	Thioredoxin OS=Homo sapiens GN=TXN PE=1 SV=3
Q8TDQ0	All	0	33354.9	4	4	0.003954584	0.1927	8.8585	Hepatitis A virus cellular receptor 2 OS=Homo sapiens GN=HAVCR2 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RHN3
P61769	Some	0	13687.9	3	4	0.010002771	0.2185	8.8372	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0, H0YLF3
Q6GTX8	Some	0	31374.7	4	4	0.00414749	0.1498	8.7351	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JLV7, A0A0G2JP18, A0A0G2JQ50, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94, D3YTC8, A8MZ84, F8WC07
Q9UBG3	Unique	3	53483.6	3	3	0.00180353	0.101	8.5926	Cornulin OS=Homo sapiens GN=CRNN PE=1 SV=1
Q14767	Some	0	194904.9	2	2	0.000326834	0.0192	8.5032	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 2 OS=Homo sapiens GN=LTBP2 PE=1 SV=3
P06702	Unique	2	13215.5	2	3	0.007831117	0.2456	8.4464	Protein S100-A9 OS=Homo sapiens GN=S100A9 PE=1 SV=1
Q9H665	Some	0	37852.2	3	4	0.003353042	0.1324	8.2926	IGF-like family receptor 1 OS=Homo sapiens GN=IGFLR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ESC2, K7ES44
P00995	All	0	8483.2	2	3	0.011300599	0.4304	8.117	Serine protease inhibitor Kazal-type 1 OS=Homo sapiens GN=SPINK1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RIU5
P55290	Unique	4	78219.9	4	4	0.001669467	0.0435	8.0395	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
P32926	Unique	3	107447.4	3	3	0.000893641	0.045	7.7911	Desmoglein-3 OS=Homo sapiens GN=DSG3 PE=1 SV=2
Q14766	Some	0	186654.5	3	3	0.000518738	0.0261	7.711	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 1 OS=Homo sapiens GN=LTBP1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EV71, C9JD84, G3V3X5
P04432	All	0	12711.3	2	3	0.007630319	0.2906	7.6399	Immunoglobulin kappa variable 1D-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-39 PE=3 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01597
P16070	All	0	81469.4	2	3	0.001203164	0.0296	7.6372	CD44 antigen OS=Homo sapiens GN=CD44 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5E4, H0Y2P0, H0YCV9, H0YDW7, H0YD17, H0YD13, H0YDX6
P06396	All	0	85626.2	3	3	0.001141621	0.0486	7.6118	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51
P11684	All	0	9969.1	2	3	0.00981041	0.1209	7.5769	Uteroglobin OS=Homo sapiens GN=SCGB1A1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PN95
Q9H299	All	0	10413.3	2	3	0.009599434	0.2688	7.4072	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
Q96RW7	Some	1	612983.3	3	3	0.000158429	0.0062	7.3495	Hemicentin-1 OS=Homo sapiens GN=HMCN1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5TCP6
P04155	Unique	3	9125.2	3	3	0.010627944	0.3214	7.2658	Trefoil factor 1 OS=Homo sapiens GN=TFF1 PE=1 SV=1
Q8NFZ8	Unique	3	42740.8	3	3	0.002300895	0.0619	7.0396	Cell adhesion molecule 4 OS=Homo sapiens GN=CADM4 PE=1 SV=1
H0Y3Z8	Some	0	38390.7	3	3	0.002680923	0.1441	7.0295	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=4 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q08334, C9JCU0, C9K067
Q9HCU0	Unique	3	80789.3	3	3	0.001179323	0.0674	7.02	Endosialin OS=Homo sapiens GN=CD248 PE=1 SV=1
O76076	Unique	2	26788.7	2	2	0.00238066	0.176	6.9739	WNT1-inducible-signaling pathway protein 2 OS=Homo sapiens GN=WISP2 PE=1 SV=1
Q6UXB8	Unique	3	49421.5	3	3	0.00192818	0.0929	6.9608	Peptidase inhibitor 16 OS=Homo sapiens GN=PI16 PE=1 SV=1
E9PNQ8	All	0	18135.2	2	3	0.00541059	0.1455	6.9266	Thy-1 membrane glycoprotein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=THY1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04216, E9PIM6
P35613	All	0	42156	2	3	0.002318824	0.0597	6.8895	Basigin OS=Homo sapiens GN=BSG PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X2B5, I3L192

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
G3V4U0	All	0	50828.9	2	2	0.00131383	0.064	6.7823	Fibulin-5 OS=Homo sapiens GN=FBLN5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9UBX5, G3V3Y2
Q15828	Unique	2	16482.3	2	2	0.003994395	0.2752	6.4603	Cystatin-M OS=Homo sapiens GN=CST6 PE=1 SV=1
Q03403	Unique	2	14256.4	2	2	0.004613681	0.3953	6.3795	Trefoil factor 2 OS=Homo sapiens GN=TFF2 PE=1 SV=2
Q9NZT1	Unique	2	15864.8	2	2	0.004076472	0.2329	6.1193	Calmodulin-like protein 5 OS=Homo sapiens GN=CALML5 PE=1 SV=2
Q12907	Some	0	40185.1	3	3	0.002507717	0.0871	6.1057	Vesicular integral-membrane protein VIP36 OS=Homo sapiens GN=LMAN2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RBV2, D6RIU4, D6RDX1
P07998	All	0	17614.7	2	2	0.00381516	0.1923	5.9911	Ribonuclease pancreatic OS=Homo sapiens GN=RNASE1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V357
P02671	Unique	2	94896.4	2	2	0.000687257	0.045	5.8735	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P05109	Unique	3	10809.6	3	3	0.009599434	0.2796	5.8443	Protein S100-A8 OS=Homo sapiens GN=S100A8 PE=1 SV=1
P22105	Some	1	457914.1	3	3	0.000210454	0.0059	5.7876	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A140TA52, A0A140TA41, A0A140TA33, A0A140T8Y3, A0A140T9C0, A0A140T902, A0A140T956, A0A087WWA5
P80748	All	0	12420	2	2	0.005086879	0.2051	5.7717	Immunoglobulin lambda variable 3-21 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-21 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B6K5
Q9ULI3	Unique	2	147351	2	2	0.000430967	0.0261	5.7402	Protein HEG homolog 1 OS=Homo sapiens GN=HEG1 PE=1 SV=3
Q9HD89	Unique	2	11393.5	2	2	0.005510786	0.2407	5.5629	Resistin OS=Homo sapiens GN=RETN PE=1 SV=1
P12273	Unique	2	16543.8	2	2	0.004076472	0.2123	5.5251	Prolactin-inducible protein OS=Homo sapiens GN=PIP PE=1 SV=1
P0CG48	All	0	76973.5	2	2	0.000868854	0.0365	5.4299	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08
P48745	Unique	2	39117.5	2	2	0.001667129	0.0756	5.385	Protein NOV homolog OS=Homo sapiens GN=NOV PE=1 SV=1
O00187	Unique	3	75635.6	3	3	0.001301381	0.0437	5.1744	Mannan-binding lectin serine protease 2 OS=Homo sapiens GN=MASP2 PE=1 SV=4
B7ZKJ8	All	0	103798.2	2	2	0.00063654	0.0364	5.1007	ITIH4 protein OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624
P17936	All	0	31635.7	2	2	0.00204524	0.11	5.087	Insulin-like growth factor-binding protein 3 OS=Homo sapiens GN=IGFBP3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6XND0, A6XND1
Q13145	Unique	2	29070.3	2	2	0.002289096	0.1462	5.0867	BMP and activin membrane-bound inhibitor homolog OS=Homo sapiens GN=BAMBI PE=1 SV=1
P02753	All	0	22977.2	2	2	0.002961019	0.1393	5.062	Retinol-binding protein 4 OS=Homo sapiens GN=RBP4 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30
P01700	Unique	2	12257.9	2	2	0.005086879	0.2479	5.0585	Immunoglobulin lambda variable 1-47 OS=Homo sapiens GN=IGLV1-47 PE=1 SV=2
A0A087WW8	All	0	13283.6	2	2	0.004918718	0.1322	5.0047	Immunoglobulin kappa variable 2-40 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-40 PE=3 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A075B6S6, A0A0A0MRZ7, P06310, A0A075B6P5, A0A075B6S2, P01615, A0A087X0Q4
A0A0A0MRZ8	All	0	12599.3	2	2	0.005175347	0.2609	4.9603	Immunoglobulin kappa variable 3D-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-11 PE=3 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433
P01040	Unique	2	10981.7	2	2	0.006073111	0.3061	4.8594	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1
P28799	All	0	63481.8	2	2	0.001003651	0.0489	4.8518	Granulins OS=Homo sapiens GN=GRN PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EQ05, K7EKL3
G3V3D1	All	0	23665.9	2	2	0.002693054	0.1131	4.8305	Epididymal secretory protein E1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=NPC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EMS2, G3V3E8, H0YIZ1, P61916, J3KMY5, G3V2V8
P13671	Unique	2	104700	2	2	0.000637222	0.0321	4.6545	Complement component C6 OS=Homo sapiens GN=C6 PE=1 SV=3
P27482	Unique	2	16861.9	2	2	0.003994395	0.2215	4.6246	Calmodulin-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=CALML3 PE=1 SV=2
P48551	Some	0	57704.2	2	2	0.00115566	0.0641	4.5984	Interferon alpha/beta receptor 2 OS=Homo sapiens GN=IFNAR2 PE=1 SV=1
Q9UNN8	All	0	26636.6	2	2	0.002500693	0.0924	4.5583	Endothelial protein C receptor OS=Homo sapiens GN=PROCR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RQQ4
P08519	All	0	500977.3	2	2	0.000130863	0.0051	4.5249	Apolipoprotein(a) OS=Homo sapiens GN=LPA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WWY0
O43866	Unique	2	38044.9	2	2	0.001715173	0.1037	4.2105	CD5 antigen-like OS=Homo sapiens GN=CD5L PE=1 SV=1
Q8IWU5	Unique	2	100372.3	2	2	0.000684098	0.0253	4.1744	Extracellular sulfatase Sulf-2 OS=Homo sapiens GN=SULF2 PE=1 SV=1
K4DIA0	All	0	51874.1	2	2	0.001258277	0.055	3.917	ICOS ligand OS=Homo sapiens GN=ICOSLG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: O75144
P31025	All	0	19219.8	2	2	0.003381619	0.1023	3.8899	Lipocalin-1 OS=Homo sapiens GN=LCN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VSP4
P02452	Unique	2	138838.6	2	2	0.000406533	0.0198	3.6942	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
P05067	All	0	86870	2	2	0.000772941	0.0286	3.546	Amyloid beta A4 protein OS=Homo sapiens GN=APP PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PG40, H7C0V9
P10643	Unique	2	93439.3	2	2	0.000706008	0.0214	3.5247	Complement component C7 OS=Homo sapiens GN=C7 PE=1 SV=2
P12111	All	0	343438.8	2	2	0.000187336	0.0063	3.5237	Collagen alpha-3(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A3 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6
P04080	Unique	2	11114.6	2	2	0.006073111	0.1837	3.4727	Cystatin-B OS=Homo sapiens GN=CSTB PE=1 SV=2
O43405	All	0	59427.2	2	2	0.001082118	0.0327	3.3968	Cochlin OS=Homo sapiens GN=COCH PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V5V4
Q13201	Unique	2	138005.4	2	2	0.000484662	0.0163	3.3488	Multimerin-1 OS=Homo sapiens GN=MMRN1 PE=1 SV=3

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P19961	Some	35	57655	52	74	0.038383114	0.4697	187.4169	Alpha-amylase 2B OS=Homo sapiens GN=AMY2B PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T085, H7BZQ8, Q5T084, C9JZ5, C9JWK7
P02768	Some	35	69303.5	61	77	0.033512191	0.399	162.9048	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013
P02760	Some	32	38956	39	59	0.044426156	0.2898	132.2499	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P04746	Some	9	57652	24	45	0.023341083	0.4697	120.3017	Pancreatic alpha-amylase OS=Homo sapiens GN=AMY2A PE=1 SV=2
P25311	Some	25	34219.1	35	47	0.04180334	0.4497	108.2453	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P41222	Some	22	20997.3	28	38	0.053010193	0.4316	99.3918	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ11
P04745	Some	2	57712.9	20	34	0.017635485	0.5166	96.1685	Alpha-amylase 1 OS=Homo sapiens GN=AMY1A PE=1 SV=2
P01834	Unique	16	11739.8	16	41	0.101561584	0.8037	94.6471	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P31151	Some	20	11445.6	22	32	0.083976543	0.505	72.6826	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4
Q9NZT1	Unique	20	15864.8	20	25	0.045385439	0.3836	67.7883	Calmodulin-like protein 5 OS=Homo sapiens GN=CALML5 PE=1 SV=2
P12830	Some	17	97377.8	22	25	0.007512782	0.0896	60.0269	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXI5, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6, H3BVI7
P02452	Unique	17	138838.6	17	18	0.003258823	0.0178	43.9533	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
contaminant_	Some	4	49595.4	12	19	0.010995564	0.1397	43.9385	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13646, K7ERE3, K7EMD9, P02533, P19012, contaminant_KERATIN06, P13645, Q99456, P08779, contaminant_KERATIN08, P08727, contaminant_KERATIN10, C9JM50, contaminant_KERATIN07, Q04695, contaminant_KERATIN12, F5GWP8, A8MT21, K7EPJ9, C9JTG5, K7EMS3
P46940	Some	6	189115.8	15	18	0.00287925	0.0567	43.024	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 OS=Homo sapiens GN=IQGAP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YXZ5
Q9UBG3	Unique	15	53483.6	15	16	0.008567304	0.0909	41.4722	Cornulin OS=Homo sapiens GN=CRNN PE=1 SV=1
P02763	Some	11	23478.7	13	17	0.022417246	0.3532	39.8955	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
contaminant_	Some	6	57211.9	15	17	0.008437952	0.1217	39.0218	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P19013
Q99715	Some	4	332922.5	12	15	0.001297997	0.0431	38.035	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8
P02751	Some	13	262442.1	16	17	0.00188846	0.036	37.6583	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
contaminant_	Some	11	69207.4	15	20	0.008733145	0.0478	36.9109	BSA
P98160	Unique	12	468514.5	12	14	0.000845073	0.0296	36.4001	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
Q8WVN6	Some	11	27003.7	13	13	0.0138938	0.1452	34.2086	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3KSN0
Q09666	Unique	12	628681.4	12	13	0.000585002	0.0149	33.2384	Neuroblast differentiation-associated protein AHNAK OS=Homo sapiens GN=AHNAK PE=1 SV=2
P02538	Some	0	59990.3	9	13	0.006109331	0.1631	32.9761	Keratin, type II cytoskeletal 6A OS=Homo sapiens GN=KRT6A PE=1 SV=3
contaminant_	Some	4	62405.1	10	14	0.006289345	0.1136	32.5207	; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN21, P48668, P04259, contaminant_KERATIN18, P13647, F8W0C6, P12035, H0YIN9
P19652	Some	10	23569.6	12	14	0.018461261	0.2537	32.4836	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P01040	Some	6	10981.7	10	13	0.035159822	0.6735	30.7691	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4
P01857	Some	2	36065.2	9	14	0.011244586	0.2697	29.929	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, A0A0A0MS07, P01860
contaminant_	Some	2	46804.8	7	13	0.008050613	0.1636	26.4895	Immunoglobulin g1 (igg1) (mcg) with a hinge deletion, chain H...
contaminant_	Some	2	51481.4	9	10	0.005627409	0.1741	23.6627	
P80188	Some	3	22555.7	8	10	0.013386412	0.2677	22.9433	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin OS=Homo sapiens GN=LCN2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: X6R8F3
H0Y5A1	Some	1	13698.8	7	9	0.01923757	0.5242	22.9323	Prostaglandin-H2 D-isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=2
P02461	Unique	9	138461	9	10	0.001807987	0.0211	21.8004	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4
P05090	Some	3	21243.8	8	10	0.01402386	0.2116	21.7428	Apolipoprotein D OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JF17, C9JX71
Q9H299	Some	5	10413.3	8	8	0.022800083	0.3118	20.7557	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
Q9UIV8	Some	3	44230.1	9	10	0.006778797	0.1535	20.7059	Serpin B13 OS=Homo sapiens GN=SERPINB13 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MQW3, F8WE70, C9JL93
P24855	Unique	9	31395.7	9	9	0.008459073	0.1277	20.287	Deoxyribonuclease-1 OS=Homo sapiens GN=DNASE1 PE=1 SV=1
Q96FE7	Some	4	28211.9	6	8	0.008062387	0.0989	20.0066	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JMK5
P62158	Some	5	16808.8	7	8	0.014230924	0.1141	19.9633	Calmodulin OS=Homo sapiens GN=CALM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EMB3, H0Y7A7, E7ETZ0, G3V479, M0QZ52, F8WBR5
contaminant_	Some	4	59464.9	7	9	0.004022696	0.059	19.8018	
Q5VSP4	Some	4	17889	6	8	0.013088936	0.1111	19.4469	Putative lipocalin 1-like protein 1 OS=Homo sapiens GN=LCN1P1 PE=5 SV=1
O00187	Unique	8	75635.6	8	9	0.003477345	0.0598	18.8535	Mannan-binding lectin serine protease 2 OS=Homo sapiens GN=MASP2 PE=1 SV=4
P30740	Unique	7	42696.7	7	9	0.006294086	0.1214	18.2805	Leukocyte elastase inhibitor OS=Homo sapiens GN=SERPINB1 PE=1 SV=1
P04004	Unique	7	54253.2	7	9	0.004990499	0.0774	17.3019	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1
Q9UNN8	Some	4	26636.6	7	7	0.007795617	0.1639	17.0734	Endothelial protein C receptor OS=Homo sapiens GN=PROCR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RQQ4
P61769	Some	4	13687.9	7	8	0.017818552	0.2185	16.9897	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0, H0YLF3
P01859	Some	2	35859.7	6	8	0.006504318	0.2147	16.5278	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
P05451	Unique	5	18700.8	5	7	0.011176848	0.1747	16.3392	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3
P48594	Some	1	44807.5	6	7	0.004757325	0.1436	15.6738	Serpin B4 OS=Homo sapiens GN=SERPINB4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5H9, C9JZ65
P10153	Unique	8	18324.1	8	8	0.013170234	0.1988	15.1198	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
P01042	Unique	7	71894.1	7	7	0.002880989	0.0823	14.9291	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
P10599	Unique	5	11711.7	5	6	0.015145769	0.3238	13.8299	Thioredoxin OS=Homo sapiens GN=TXN PE=1 SV=3
O75223	Some	3	20976.3	7	7	0.009868919	0.2074	13.1241	Gamma-glutamylcyclotransferase OS=Homo sapiens GN=GGCT PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QZK8, B8ZZK2, H7BZK5
P13987	Some	2	14149.8	4	6	0.012424264	0.1562	12.6901	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PR17, E9PNW4
P01861	Some	1	35899.9	4	5	0.004052767	0.1468	12.1242	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
Q86SG5	Some	4	11279.5	6	6	0.015745602	0.1287	12.1235	Protein S100-A7A OS=Homo sapiens GN=S100A7A PE=1 SV=3
P19022	Some	2	99729.3	4	5	0.001462754	0.0806	11.9765	Cadherin-2 OS=Homo sapiens GN=CDH2 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J8J8
P02790	Some	4	51625.3	6	6	0.00344222	0.1082	11.7655	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19
P21333	Some	3	280545.9	5	5	0.000500663	0.0106	11.0358	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54
P05154	Some	1	45627.7	3	4	0.00261134	0.064	10.1841	Plasma serine protease inhibitor OS=Homo sapiens GN=SERPINA5 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V5Q9, G3V2M1, G3V264
P01876	Some	2	37612.6	4	4	0.00300341	0.102	9.9811	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 OS=Homo sapiens GN=IGHA1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JMB2
P07602	Some	2	58055.8	4	5	0.002529112	0.0496	9.7154	Prosaposin OS=Homo sapiens GN=PSAP PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JIZ6
P07108	Some	1	10020	3	4	0.012186251	0.3448	9.276	Acyl-CoA-binding protein OS=Homo sapiens GN=DBI PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MTI5, B8ZWD1
P09603	Some	2	60123.8	4	5	0.002392157	0.0433	9.1524	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PJA2
P15085	Some	1	47092.8	4	4	0.002530319	0.0955	9.0001	Carboxypeptidase A1 OS=Homo sapiens GN=CPA1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JUF9
P31025	Some	2	19219.8	4	4	0.006023886	0.1023	8.6294	Lipocalin-1 OS=Homo sapiens GN=LCN1 PE=1 SV=1
P24821	Some	2	240682.1	4	4	0.000481692	0.0182	8.5923	Tenascin OS=Homo sapiens GN=TNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSU6, E9PC84, F5H7V9, H0YGZ3
J3QQU6	Some	1	15892.8	3	3	0.005336597	0.2416	8.4793	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=1
P09668	Some	1	37351	4	5	0.003955985	0.0955	8.4051	Pro-cathepsin H OS=Homo sapiens GN=CTSH PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X0D5
Q01459	Unique	3	43713.6	3	3	0.002065332	0.1013	7.5561	Di-N-acetylchitobiase OS=Homo sapiens GN=CTBS PE=1 SV=1
Q05707	All	0	193376.5	3	3	0.000442735	0.0251	7.5433	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
P04264	Some	1	65981	3	3	0.001234709	0.059	7.0988	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6
P0CG48	Some	0	76973.5	3	3	0.001160807	0.0496	6.9319	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7
A0A024R6I7	All	0	46661	3	3	0.00190228	0.1244	6.9111	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01009, A0A0G2JRN3
P29508	Some	3	44518.5	4	4	0.002718471	0.0897	6.8954	Serpin B3 OS=Homo sapiens GN=SERPINB3 PE=1 SV=2
P07478	Some	1	26453	3	3	0.003219242	0.1174	6.4587	Trypsin-2 OS=Homo sapiens GN=PRSS2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6XMV9, A0A087WW55, A0A0J9YYC8, Q8NHM4, A6XMV8
P11142	Some	0	70836.2	3	3	0.001230887	0.0789	6.1156	Heat shock cognate 71 kDa protein OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PKE3, E9PNE6, A8K7Q2, E9PS65
P16284	Some	1	82465.8	3	3	0.001077443	0.0298	6.097	Platelet endothelial cell adhesion molecule OS=Homo sapiens GN=PECAM1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B738, A0A075B727, A0A075B728, A0A075B737

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
contaminant_	Some	1	65436.5	3	3	0.00123663	0.0404	5.9048	
A0A0G2JMW3	All	0	88055.6	2	2	0.00062734	0.0426	5.7378	Cadherin-related family member 5 OS=Homo sapiens GN=CDHR5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9HBB8, A0A0G2JP44
X6RBG4	All	0	75594.5	2	3	0.001154068	0.0247	5.5205	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07911
Q9NZH8	Unique	3	18691.4	3	3	0.004705047	0.1657	5.5058	Interleukin-36 gamma OS=Homo sapiens GN=IL36G PE=1 SV=1
O60235	Unique	2	46216.4	2	2	0.001268186	0.067	5.0519	Transmembrane protease serine 11D OS=Homo sapiens GN=TMPRSS11D PE=1 SV=1
Q9HC84	Unique	2	595942.1	2	2	9.20E-05	0.0042	4.2009	Mucin-5B OS=Homo sapiens GN=MUC5B PE=1 SV=3
P13796	Unique	2	70225.9	2	2	0.000845458	0.0447	3.9548	Plastin-2 OS=Homo sapiens GN=LCP1 PE=1 SV=6
P11279	Unique	2	44835.8	2	2	0.001271228	0.048	3.7571	Lysosome-associated membrane glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=LAMP1 PE=1 SV=3

Locus	Group type	# unique pept	MW	Seq. Count	Spectr count	NSAF	Coverage	Score	Description
P02768	Some	0	69303.5	26	51	0.038966144	0.4072	134.9284	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2, A0A087WWT3, H7C013
P01834	Unique	7	11739.8	7	49	0.21308204	0.8037	138.7867	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P02760	Some	3	38956	15	49	0.064772097	0.4347	118.1396	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P02751	Some	12	262442.1	17	25	0.004875331	0.1098	70.7061	Fibronectin OS=Homo sapiens GN=FN1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7Z1
P41222	Some	1	20997.3	7	20	0.048979115	0.4368	66.0407	Prostaglandin-H2 D-isomerase OS=Homo sapiens GN=PTGDS PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ11, H0Y5A1
A0A0A0MS08	Some	0	43866.1	7	19	0.022157219	0.2381	49.643	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, A0A0A0MS07, contaminant_NRL_1MCOH, P01859
P04746	Some	3	57652	11	18	0.016390272	0.3386	52.8343	Pancreatic alpha-amylase OS=Homo sapiens GN=AMY2A PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T085, H7BZQ8
P98160	Unique	14	468514.5	14	17	0.001801441	0.0455	51.5169	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
P19961	Some	2	57655	10	17	0.015479701	0.3053	48.4122	Alpha-amylase 2B OS=Homo sapiens GN=AMY2B PE=1 SV=1
P04745	Some	1	57712.9	10	16	0.01456913	0.2857	46.7006	Alpha-amylase 1 OS=Homo sapiens GN=AMY1A PE=1 SV=2
Q99715	Some	0	332922.5	10	12	0.001822925	0.0558	33.4679	Collagen alpha-1(XII) chain OS=Homo sapiens GN=COL12A1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RGG3, A0A087X0A8, H0Y4P7
A0A0B4J231	Some	0	23117.7	4	12	0.025970322	0.2744	31.2359	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY2, P0CG04, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74, A0M8Q6
P10153	Unique	4	18324.1	4	11	0.031790792	0.1988	31.7115	Non-secretory ribonuclease OS=Homo sapiens GN=RNASE2 PE=1 SV=2
Q12907	Some	0	40185.1	8	11	0.014377297	0.2669	30.5403	Vesicular integral-membrane protein VIP36 OS=Homo sapiens GN=LMAN2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RBV2, D6RDX1, D6RIU4, D6RBH1
P0DOY3	Some	0	11240.5	4	11	0.048286015	0.5566	26.1902	Immunoglobulin lambda constant 3 OS=Homo sapiens GN=IGLC3 PE=1 SV=1
A0A087WXI5	Some	0	99947	6	10	0.005152842	0.1318	27.8603	Cadherin-1 OS=Homo sapiens GN=CDH1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P12830, A0A087WU43, A0A087WX17, H3BNC6, H3BVI7
P19022	Some	3	99729.3	5	10	0.005135779	0.1214	29.1984	Cadherin-2 OS=Homo sapiens GN=CDH2 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J8J8
P24821	Some	0	240682.1	7	9	0.001902642	0.0627	29.2852	Tenascin OS=Homo sapiens GN=TNC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSU6, F5H7V9, E9PC84, H0YGZ3
contaminant_	Some	1	69207.4	5	9	0.006899035	0.0643	22.4656	BSA
P01861	Some	1	35899.9	5	9	0.012806466	0.2416	26.2573	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
P09603	Some	2	60123.8	6	9	0.007559051	0.1318	25.6286	Macrophage colony-stimulating factor 1 OS=Homo sapiens GN=CSF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PJA2, E9PKP4, E9PQ08, H7BY18
P55290	Unique	6	78219.9	6	8	0.005220775	0.1122	20.4182	Cadherin-13 OS=Homo sapiens GN=CDH13 PE=1 SV=1
P05451	Some	3	18700.8	5	8	0.022424173	0.3976	22.9049	Lithostathine-1-alpha OS=Homo sapiens GN=REG1A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48304
Q8WVN6	All	0	27003.7	3	7	0.013133513	0.1573	23.2451	Secreted and transmembrane protein 1 OS=Homo sapiens GN=SECTM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KTR4, J3QKK2, J3QQU6, J3KSN0
P01860	Some	0	41242.4	4	7	0.008639552	0.1432	17.2541	Immunoglobulin heavy constant gamma 3 OS=Homo sapiens GN=IGHG3 PE=1 SV=2
P19652	Some	4	23569.6	5	7	0.016204533	0.2687	17.5081	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
P02763	Some	3	23478.7	4	7	0.016204533	0.2587	18.8779	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P25311	Some	1	34219.1	5	7	0.010929903	0.255	19.2318	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
X6RBG4	All	0	75594.5	7	7	0.004727302	0.0972	12.8395	Uromodulin OS=Homo sapiens GN=UMOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07911
Q9NZT1	Unique	4	15864.8	4	6	0.019121983	0.3973	19.2267	Calmodulin-like protein 5 OS=Homo sapiens GN=CALML5 PE=1 SV=2
E9PR17	All	0	14501	2	6	0.021475458	0.1538	13.1522	CD59 glycoprotein OS=Homo sapiens GN=CD59 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13987, E9PNW4
P24855	Some	2	31395.7	4	6	0.009900034	0.3369	20.7731	Deoxyribonuclease-1 OS=Homo sapiens GN=DNASE1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I3L298
P21333	Some	0	280545.9	4	6	0.001054707	0.0291	17.723	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q60FE5, Q5HY54, A0A087WWY3
A0A0G2JLV7	All	0	31433.8	3	6	0.00972756	0.0976	15.6156	Leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1 OS=Homo sapiens GN=LAIR1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q6GTX8, A0A0G2JQ50, A0A0G2JP18, A0A140T8W3, A0A0G2JNU6, A0A0G2JNK8, A0A0G2JMI0, A0A0G2JM94
Q02487	Unique	2	99880.7	2	5	0.00258214	0.0411	13.5021	Desmocollin-2 OS=Homo sapiens GN=DSC2 PE=1 SV=1
P01042	Unique	5	71894.1	5	5	0.00361259	0.0683	9.9596	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
Q7Z5L0	Unique	3	21502.3	3	5	0.011517366	0.2277	12.0452	Vitelline membrane outer layer protein 1 homolog OS=Homo sapiens GN=VMO1 PE=1 SV=1
P02671	Unique	3	94896.4	3	5	0.002686499	0.0704	16.6599	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
Q9NZP8	All	0	53446.3	2	5	0.004777224	0.0657	16.1665	Complement C1r subcomponent-like protein OS=Homo sapiens GN=C1RL PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GWF3, F5H6S5, F5H7C8
A0A140TA41	Some	0	458005.2	5	5	0.000548446	0.0212	12.4151	Tenascin-X OS=Homo sapiens GN=TNXB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P22105, A0A140TA52, A0A140TA33, A0A140T8Y3, A0A140T902, A0A140T9C0, A0A140T956, A0A140T8Z8, A0A087WWA5
Q9UBG3	Unique	4	53483.6	4	4	0.003760013	0.1556	11.9472	Cornulin OS=Homo sapiens GN=CRNN PE=1 SV=1
P12273	Unique	3	16543.8	3	4	0.012747989	0.2466	9.2247	Prolactin-inducible protein OS=Homo sapiens GN=PIP PE=1 SV=1
Q01459	Unique	4	43713.6	4	4	0.004834302	0.1403	9.6229	Di-N-acetylchitobiase OS=Homo sapiens GN=CTBS PE=1 SV=1
O00187	Unique	3	75635.6	3	4	0.002713129	0.0452	8.8562	Mannan-binding lectin serine protease 2 OS=Homo sapiens GN=MASP2 PE=1 SV=4
Q7Z3B1	Unique	2	38676.3	2	4	0.005257645	0.0989	10.0118	Neuronal growth regulator 1 OS=Homo sapiens GN=NEGR1 PE=1 SV=3
P62158	Some	1	16808.8	3	4	0.012491318	0.2215	12.7947	Calmodulin OS=Homo sapiens GN=CALM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EMB3, H0Y7A7, E7ETZ0
A0A0C4DH25	Some	1	12489.2	3	4	0.016044883	0.2759	10.4082	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P01619	Some	1	12531.3	3	4	0.016044883	0.2759	10.3743	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2
Q13332	All	0	216886.8	4	4	0.000955445	0.0395	14.2556	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S OS=Homo sapiens GN=PTPRS PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MR60, G8JL96
C9JF17	All	0	24124.1	2	4	0.008656774	0.1023	7.8639	Apolipoprotein D (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090
P78324	Some	1	54914.8	4	4	0.00369287	0.1052	10.3715	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type substrate 1 OS=Homo sapiens GN=SIRPA PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5TFQ8
Q9UNN8	Some	1	26636.6	3	4	0.007820195	0.1513	8.4339	Endothelial protein C receptor OS=Homo sapiens GN=PROCR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RQQ4
P09564	All	0	25374.9	2	4	0.007755027	0.0958	15.8607	T-cell antigen CD7 OS=Homo sapiens GN=CD7 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QLM0
P07998	All	0	17614.7	2	4	0.01193081	0.1923	11.1789	Ribonuclease pancreatic OS=Homo sapiens GN=RNASE1 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V357
P05937	Unique	2	29988	2	3	0.005348294	0.092	8.6786	Calbindin OS=Homo sapiens GN=CALB1 PE=1 SV=2
P31151	Unique	3	11445.6	3	3	0.01382084	0.3069	6.9714	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4
Q96RW7	Unique	2	612983.3	2	3	0.00024772	0.0059	9.02	Hemicentin-1 OS=Homo sapiens GN=HMCN1 PE=1 SV=2
O94919	Unique	3	54963.3	3	3	0.00279181	0.12	10.4043	Endonuclease domain-containing 1 protein OS=Homo sapiens GN=ENDOD1 PE=1 SV=2
P06870	Unique	2	28852.9	2	3	0.005327881	0.126	7.3553	Kallikrein-1 OS=Homo sapiens GN=KLK1 PE=1 SV=2
Q9UIB8	Unique	3	38739.6	3	3	0.004046101	0.1304	9.0723	SLAM family member 5 OS=Homo sapiens GN=CD84 PE=1 SV=1
P04004	Unique	2	54253.2	2	3	0.002920303	0.0523	6.1572	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1
P01040	Some	1	10981.7	3	3	0.014243926	0.5306	7.8264	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4
P0CG48	Some	0	76973.5	3	3	0.002037817	0.0496	6.2144	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q96C32, P0CG47, Q5PY61, J3QKN0, F5GXK7, F5H747, P62979, F5H388, B4DV12, F5H265, F5H2Z3, F5GYU3, P62987, F5H6Q2, J3QTR3, J3QS39, contaminant_UBIQUITIN08, M0R2S1, M0R1M6, M0R1V7
K4DIA0	All	0	51874.1	2	3	0.002951173	0.055	6.8533	ICOS ligand OS=Homo sapiens GN=ICOSLG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: O75144
Q96FE7	Some	1	28211.9	3	3	0.005307623	0.1559	7.6136	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1 OS=Homo sapiens GN=PIK3IP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JMK5
E7EQR8	All	0	38845.9	2	3	0.003921081	0.0281	4.7677	Protein YIPF3 OS=Homo sapiens GN=YIPF3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9GZM5
P02461	Unique	2	138461	2	2	0.000634791	0.0211	4.672	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4
P98172	Unique	2	37964.5	2	2	0.002689605	0.078	4.6758	Ephrin-B1 OS=Homo sapiens GN=EFNB1 PE=1 SV=1
Q9HCU0	Unique	2	80789.3	2	2	0.001229331	0.0198	3.5789	Endosialin OS=Homo sapiens GN=CD248 PE=1 SV=1
O75594	Unique	2	21698.7	2	2	0.004747975	0.1786	5.7738	Peptidoglycan recognition protein 1 OS=Homo sapiens GN=PGLYRP1 PE=1 SV=1
P80748	All	0	12420	2	2	0.007953873	0.2051	5.2112	Immunoglobulin lambda variable 3-21 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-21 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B6K5
P06396	All	0	85626.2	2	2	0.00119003	0.0396	5.8258	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51
Q05707	All	0	193376.5	2	2	0.000518153	0.0184	6.0698	Collagen alpha-1(XIV) chain OS=Homo sapiens GN=COL14A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QT83
P13598	All	0	30616.6	2	2	0.003384012	0.1127	5.7955	Intercellular adhesion molecule 2 OS=Homo sapiens GN=ICAM2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QRT5, J3QRQ1, J3QQX6, J3QKR4, J3QQR8
E7ERL8	All	0	165323	2	2	0.00061752	0.01	4.9533	Neurexin-1-beta OS=Homo sapiens GN=NRXN1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1D5RMU6, A0A0D95EP4, A0A0R4J2G7, Q9ULB1, E7ETA5, A0A0D95EM5, P58400, Q08AH0, A0A1B0GTL0, H7BYC7, H0Y568
A5A3E0	All	0	121348.7	2	2	0.000865677	0.0242	4.4479	POTE ankyrin domain family member F OS=Homo sapiens GN=POTEF PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q658J3, P68133, P62736, P68032, P63267, P60709, P63261
O00241	Some	1	43165.9	2	2	0.002338199	0.0603	5.1273	Signal-regulatory protein beta-1 OS=Homo sapiens GN=SIRPB1 PE=1 SV=5
P12109	All	0	108444	2	2	0.000905256	0.0399	5.7393	Collagen alpha-1(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X0S5
H0Y3Z8	All	0	38390.7	2	2	0.002794604	0.0811	5.6073	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=4 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q08334, H7C0Z5
P08123	All	0	129217.4	2	2	0.000681261	0.0242	5.5523	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
P26992	All	0	40589.5	2	2	0.002501621	0.0914	6.207	Ciliary neurotrophic factor receptor subunit alpha OS=Homo sapiens GN=CNTFR PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T8H6
P02790	All	0	51625.3	2	2	0.002014293	0.0498	3.5602	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P02768	ALB	\1_785\1_785.sepr(1_785:423) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:199) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:390) ::	3	1012	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H7C013
H0YA55	ALB	\1_785\1_785.sepr(1_785:291) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:149) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:304) ::	3	744	Serum albumin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
C9JKR2	ALB	\1_785\1_785.sepr(1_785:243) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:133) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:238) ::	3	614	Albumin, isoform CRA_k OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
P04264	KRT1	\1_785\1_785.sepr(1_785:236) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:146) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:225) ::	3	607	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN17, contaminant_KERATIN21, F8W0C6, H0YI76, H0YIN9, B0YJC4, O95678, P12035, contaminant_KERATIN15, Q5XKE5, contaminant_KERATIN14, Q86Y46, B0YJC5, P05787, F8VU69, F8W1S1, F8W1U3, Q5JVS8, P19013, H0YIC5, H0YID6, Q9NSB2, P41219, P08729, contaminant_KERATIN19, F8VS61, H7C5W5, P17661, H0YHD9
P35908	KRT2	\1_785\1_785.sepr(1_785:236) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:159) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:192) ::	3	587	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal OS=Homo sapiens GN=KRT2 PE=1 SV=2
A0A087WWT3	ALB	\1_785\1_785.sepr(1_785:256) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:115) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:195) ::	3	566	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
P13645	KRT10	\1_785\1_785.sepr(1_785:220) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:138) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:205) ::	3	563	Keratin, type I cytoskeletal 10 OS=Homo sapiens GN=KRT10 PE=1 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN03, contaminant_KERATIN05, contaminant_KERATIN08, F5GWP8, K7EPJ9, contaminant_KERATIN07, P13646, contaminant_KERATIN06, P19012, Q7Z3Y7, contaminant_KERATIN04, contaminant_KERATIN10, P08727, A0A1B0GVI3, A8MT21, C9JM50, Q2M2I5, Q7Z3Y9, contaminant_KERATIN11, J3QR55, Q99456
P01009	SERPINA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:175) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:173) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:182) ::	3	530	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A024R6I7, A0A0G2JPK4, P20848
P35527	KRT9	\1_785\1_785.sepr(1_785:209) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:117) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:198) ::	3	524	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Homo sapiens GN=KRT9 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN02; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN05, contaminant_KERATIN08, F5GWP8, K7EPJ9, contaminant_KERATIN04, contaminant_KERATIN07, contaminant_KERATIN06, P19012, P08727, contaminant_KERATIN10, C9JM50, Q7Z3Y7, A8MT21, A0A1B0GVI3, Q99456, Q7Z3Y9, contaminant_KERATIN11, J3QR55
P01024	C3	\1_785\1_785.sepr(1_785:157) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:187) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:169) ::	3	513	Complement C3 OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=2 : M0R1Q1 Complement C3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R0Q9, M0QXZ3, O95568; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QYC8, M0R0Q9, M0QXZ3, O95568
P02671	FGA	\1_785\1_785.sepr(1_785:187) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:90) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:159) ::	3	436	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P02647	APOA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:202) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:91) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:117) ::	3	410	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
A0A0G2JRN3	SERPINA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:125) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:123) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:107) ::	3	355	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V2B9 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V544 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : A0A0B4J278 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V387 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V5R8 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V4I7 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=4 SV=1
F8W696	APOA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:163) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:69) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:91) ::	3	323	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
P01834	IGKC	\1_785\1_785.sepr(1_785:146) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:45) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:67) ::	3	258	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
P02766	TTR	\1_785\1_785.sepr(1_785:56) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:77) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:120) ::	3	253	Transthyretin OS=Homo sapiens GN=TTR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45
P0C0L5	C4B	\1_785\1_785.sepr(1_785:81) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:101) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:69) ::	3	251	Complement C4-B OS=Homo sapiens GN=C4B PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPR0, F5GXS0, A0A140TA29, A0A140TA32, A0A0G2JL54, A0A140TA49, A0A140TA44; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0C0L4, F5GXS0, A0A0G2JL54, A0A140TA29, A0A140TA44, A0A140TA49
A0A0G2JPR0	C4A	\1_785\1_785.sepr(1_785:78) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:100) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:69) ::	3	247	Complement C4-A OS=Homo sapiens GN=C4A PE=1 SV=1
P02787	TF	\1_785\1_785.sepr(1_785:85) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:60) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:100) ::	3	245	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=3 : C9JB55 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=8 : C9JVG0 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ER44, E7EQB2, F8WCI6, H7C5E8, F8WEK9, C9JCF5, F8WC57; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ER44, E7EQB2, F8WCI6, H7C5E8, F8WEK9, C9JCF5, F8WC57
P00738	HP	\1_785\1_785.sepr(1_785:101) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:82) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:52) ::	3	235	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y300, J3QR68, J3QLC9, A0A0C4DGL8, A0A087WU08, J3KRH2, A0A0A0MRD9, H3BMJ7, J3QQI8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y300, J3QR68, A0A0C4DGL8, J3QLC9, A0A087WU08, J3KRH2, A0A0A0MRD9, H3BMJ7
A0A140TA32	C4A	\1_785\1_785.sepr(1_785:61) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:90) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:62) ::	3	213	Complement C4-A OS=Homo sapiens GN=C4A PE=1 SV=1
P13647	KRT5	\1_785\1_785.sepr(1_785:83) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:49) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:62) ::	3	194	Keratin, type II cytoskeletal 5 OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=3 : F8VV57 Keratin, type II cytoskeletal 5 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=1
A0A087WUA0	FGA	\1_785\1_785.sepr(1_785:87) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:35) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:72) ::	3	194	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=1
P02533	KRT14	\1_785\1_785.sepr(1_785:58) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:42) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:63) ::	3	163	Keratin, type I cytoskeletal 14 OS=Homo sapiens GN=KRT14 PE=1 SV=4 : K7ENV3 Keratin, type I cytoskeletal 16 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=4 SV=8
Q14624	ITIH4	\1_785\1_785.sepr(1_785:54) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:55) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:50) ::	3	159	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B7ZKJ8
A0A0A0MS08	IGHG1	\1_785\1_785.sepr(1_785:74) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:37) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:48) ::	3	159	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857, P01859, contaminant_NRL_1MCOH, P01860, P01861, A0A0A0MS07
P02675	FGB	\1_785\1_785.sepr(1_785:61) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:30) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:63) ::	3	154	Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=2 : D6REL8 Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=1
P48668	KRT6C	\1_785\1_785.sepr(1_785:64) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:36) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:53) ::	3	153	Keratin, type II cytoskeletal 6C OS=Homo sapiens GN=KRT6C PE=1 SV=3
P04259	KRT6B	\1_785\1_785.sepr(1_785:63) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:35) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:54) ::	3	152	Keratin, type II cytoskeletal 6B OS=Homo sapiens GN=KRT6B PE=1 SV=5
P02538	KRT6A	\1_785\1_785.sepr(1_785:62) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:34) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:52) ::	3	148	Keratin, type II cytoskeletal 6A OS=Homo sapiens GN=KRT6A PE=1 SV=3
P02763	ORM1	\1_785\1_785.sepr(1_785:68) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:46) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:28) ::	3	142	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
H3BS21	HP	\1_785\1_785.sepr(1_785:52) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:59) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:22) ::	3	133	Haptoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1
P02753	RBP4	\1_785\1_785.sepr(1_785:40) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:32) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:59) ::	3	131	Retinol-binding protein 4 OS=Homo sapiens GN=RBP4 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30
P10909	CLU	\1_785\1_785.sepr(1_785:57) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:34) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:39) ::	3	130	Clusterin OS=Homo sapiens GN=CLU PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, E7ETB4, H0YC35, H0YAS8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, H0YC35, E7ETB4, H0YAS8
V9GYM3	APOA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:58) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:31) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:40) ::	3	129	Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : P02652 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYE3 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYG9 Apolipoprotein A-II (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
H7C0L5	ITIH4	\1_785\1_785.sepr(1_785:40) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:44) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:41) ::	3	125	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1
P02649	APOE	\1_785\1_785.sepr(1_785:51) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:46) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:26) ::	3	123	Apolipoprotein E OS=Homo sapiens GN=APOE PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7L5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7L5
P08779	KRT16	\1_785\1_785.sepr(1_785:44) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:34) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:44) ::	3	122	Keratin, type I cytoskeletal 16 OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=1 SV=4
C9JC84	FGG	\1_785\1_785.sepr(1_785:47) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:24) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:51) ::	3	122	Fibrinogen gamma chain OS=Homo sapiens GN=FGG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02679, C9JEU5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02679, C9JEU5
P00739	HPR	\1_785\1_785.sepr(1_785:52) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:30) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:32) ::	3	114	Haptoglobin-related protein OS=Homo sapiens GN=HPR PE=2 SV=2
P06702	S100A9	\1_785\1_785.sepr(1_785:14) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:57) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:42) ::	3	113	Protein S100-A9 OS=Homo sapiens GN=S100A9 PE=1 SV=1
P06727	APOA4	\1_785\1_785.sepr(1_785:36) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:46) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:29) ::	3	111	Apolipoprotein A-IV OS=Homo sapiens GN=APOA4 PE=1 SV=3
P01023	A2M	\1_785\1_785.sepr(1_785:35) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:37) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:38) ::	3	110	Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=3 : F8W7L3 Alpha-2-macroglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1 : F5H1E8 Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P20742; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P20742
P68871	HBB	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:29) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:57) ::	3	102	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 : F8W6P5 Hemoglobin subunit beta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02042, E9PFT6, A0A0J9YWK4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YWK4, P69892, P69891, P02100, E9PBW4
Q86YZ3	HRNR	\1_785\1_785.sepr(1_785:42) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:30) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:30) ::	3	102	Hornerin OS=Homo sapiens GN=HRNR PE=1 SV=2
P00450	CP	\1_785\1_785.sepr(1_785:29) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:30) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:41) ::	3	100	Ceruloplasmin OS=Homo sapiens GN=CP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, H7C5N5, D6RE86; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, H7C5N5, D6RE86
P01011	SERPINA3	\1_785\1_785.sepr(1_785:19) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:51) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:30) ::	3	100	Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=2 : G3V3A0 Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=1 : G3V595 Alpha-1-antichymotrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WY93
P01008	SERPINC1	\1_785\1_785.sepr(1_785:28) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:27) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:35) ::	3	90	Antithrombin-III OS=Homo sapiens GN=SERPINC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1
P0DOY2	IGLC2	\1_785\1_785.sepr(1_785:40) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:22) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:20) ::	3	82	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74
A0A096LPE2	SAA2-SAA4	\1_785\1_785.sepr(1_785:24) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:29) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:27) ::	3	80	SAA2-SAA4 readthrough OS=Homo sapiens GN=SAA2-SAA4 PE=4 SV=1 : P35542 Serum amyloid A-4 protein OS=Homo sapiens GN=SAA4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, G3V1D9, E9PR14; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, G3V1D9
P60709	ACTB	\1_785\1_785.sepr(1_785:18) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:33) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:25) ::	3	76	Actin, cytoplasmic 1 OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=1 : E7EVS6 Actin, cytoplasmic 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P63261, P68133, P62736, P63267, A6NL76, I3L4N8, J3KT65, K7EM38, G5E9R0, C9JFL5, B8ZZJ2, F8WB63, C9JUM1, Q562R1, A5A3E0, Q6S8J3, P0CG38, Q9BYX7, P0CG39, F8WCH0
J3KTC3	HPR	\1_785\1_785.sepr(1_785:33) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:18) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:24) ::	3	75	Haptoglobin-related protein OS=Homo sapiens GN=HPR PE=1 SV=1
P00751	CFB	\1_785\1_785.sepr(1_785:22) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:31) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:21) ::	3	74	Complement factor B OS=Homo sapiens GN=CFB PE=1 SV=2 : C9JRT3 Complement factor B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CFB PE=4 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B4E1Z4, E7ETN3, A0A0G2JH38, H7C526
P19652	ORM2	\1_785\1_785.sepr(1_785:32) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:24) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:15) ::	3	71	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
A0A0B4J231	IGLL5	\1_785\1_785.sepr(1_785:36) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:17) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	70	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1
J3QQJ8	HP	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:39) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	68	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1 : J3KSV1 Haptoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1
P15924	DSP	\1_785\1_785.sepr(1_785:28) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:12) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:28) ::	3	68	Desmoplakin OS=Homo sapiens GN=DSP PE=1 SV=3
P02774	GC	\1_785\1_785.sepr(1_785:23) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:22) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:21) ::	3	66	Vitamin D-binding protein OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RF35, D6RBJ7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RF35, D6RBJ7
Q04695	KRT17	\1_785\1_785.sepr(1_785:22) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:16) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:26) ::	3	64	Keratin, type I cytoskeletal 17 OS=Homo sapiens GN=KRT17 PE=1 SV=2 : contaminant_KERATIN12
P69905	HBA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:20) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:35) ::	3	63	Hemoglobin subunit alpha OS=Homo sapiens GN=HBA1 PE=1 SV=2 : G3V1N2 HCG1745306, isoform CRA_a OS=Homo sapiens GN=HBA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02008
Q7Z794	KRT77	\1_785\1_785.sepr(1_785:22) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:30) ::	3	61	Keratin, type II cytoskeletal 1b OS=Homo sapiens GN=KRT77 PE=2 SV=3
P05109	S100A8	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:32) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:19) ::	3	60	Protein S100-A8 OS=Homo sapiens GN=S100A8 PE=1 SV=1
P04196	HRG	\1_785\1_785.sepr(1_785:28) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:14) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	59	Histidine-rich glycoprotein OS=Homo sapiens GN=HRG PE=1 SV=1
P02790	HPX	\1_785\1_785.sepr(1_785:27) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:15) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	59	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19
P19823	ITIH2	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:19) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:21) ::	3	56	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2 OS=Homo sapiens GN=ITIH2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T985, Q5T987; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T985, Q5T987
Q3SY84	KRT71	\1_785\1_785.sepr(1_785:21) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:17) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	55	Keratin, type II cytoskeletal 71 OS=Homo sapiens GN=KRT71 PE=1 SV=3
P02042	HBD	\1_785\1_785.sepr(1_785:10) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:15) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:30) ::	3	55	Hemoglobin subunit delta OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=2
P25311	AZGP1	\1_785\1_785.sepr(1_785:28) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:14) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	55	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0, H7BZJ8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0, H7BZJ8
Q7Z3Y8	KRT27	\1_785\1_785.sepr(1_785:19) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:17) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:19) ::	3	55	Keratin, type I cytoskeletal 27 OS=Homo sapiens GN=KRT27 PE=1 SV=2
P04406	GAPDH	\1_785\1_785.sepr(1_785:13) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:24) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	54	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Homo sapiens GN=GAPDH PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EUT5
P01619	IGKV3-20	\1_785\1_785.sepr(1_785:30) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:15) ::	3	53	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433, A0A0C4DH55, A0A0C4DH90, A0A075B6H7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433, A0A0C4DH55, A0A0C4DH90, A0A075B6H7
A0M8Q6	IGLC7	\1_785\1_785.sepr(1_785:27) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:14) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	52	Immunoglobulin lambda constant 7 OS=Homo sapiens GN=IGLC7 PE=1 SV=3

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
Q01546	KRT76	\1_785\1_785.sepr(1_785:20) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:13) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:19) ::	3	52	Keratin, type II cytoskeletal 2 oral OS=Homo sapiens GN=KRT76 PE=1 SV=2
O14791	APOL1	\1_785\1_785.sepr(1_785:30) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	52	Apolipoprotein L1 OS=Homo sapiens GN=APOL1 PE=1 SV=5 : B1AH96 Apolipoprotein L1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOL1 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AH94; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AH94
P0DJI8	SAA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:33) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	48	Serum amyloid A-1 protein OS=Homo sapiens GN=SAA1 PE=1 SV=1
P68032	ACTC1	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:20) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:15) ::	3	46	Actin, alpha cardiac muscle 1 OS=Homo sapiens GN=ACTC1 PE=1 SV=1
Q02413	DSG1	\1_785\1_785.sepr(1_785:18) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:12) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:16) ::	3	46	Desmoglein-1 OS=Homo sapiens GN=DSG1 PE=1 SV=2
H7C5H1	CFB	\1_785\1_785.sepr(1_785:13) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:20) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	46	Complement factor B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CFB PE=1 SV=1
E7EUT5	GAPDH	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:18) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:14) ::	3	43	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Homo sapiens GN=GAPDH PE=1 SV=1
V9GYS1	APOA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:20) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:11) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	42	Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYC1 Apolipoprotein A-II (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1
Q8N1N4	KRT78	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	42	Keratin, type II cytoskeletal 78 OS=Homo sapiens GN=KRT78 PE=2 SV=2
E9PFT6	HBD	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:14) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:20) ::	3	41	Hemoglobin subunit delta OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=1 : E9PEW8 Hemoglobin subunit delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=1
G3XAM2	CFI	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:18) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	40	Complement factor I OS=Homo sapiens GN=CFI PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ETH0, P05156, A0A087X0I2
Q7Z3Z0	KRT25	\1_785\1_785.sepr(1_785:14) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:12) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	38	Keratin, type I cytoskeletal 25 OS=Homo sapiens GN=KRT25 PE=1 SV=1
P07360	C8G	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:14) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	38	Complement component C8 gamma chain OS=Homo sapiens GN=C8G PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08
P13646	KRT13	\1_785\1_785.sepr(1_785:10) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:17) ::	3	36	Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=4 : K7ERE3 Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1 : K7EMD9 Keratin, type I cytoskeletal 13 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1
P02654	APOC1	\1_785\1_785.sepr(1_785:19) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	36	Apolipoprotein C-I OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7ERI9 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7EKP1 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9, K7EJI9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9, K7EJI9
P01876	IGHA1	\1_785\1_785.sepr(1_785:16) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	36	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 OS=Homo sapiens GN=IGHA1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01877; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01877
P0DJI9	SAA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:24) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	35	Serum amyloid A-2 protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=1 SV=1
A0A0C4DH25	IGKV3D-20	\1_785\1_785.sepr(1_785:18) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	35	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P06396	GSN	\1_785\1_785.sepr(1_785:17) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	35	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8
P01031	C5	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:17) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	35	Complement C5 OS=Homo sapiens GN=C5 PE=1 SV=4
P04217	A1BG	\1_785\1_785.sepr(1_785:12) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	34	Alpha-1B-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=A1BG PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009
P06312	IGKV4-1	\1_785\1_785.sepr(1_785:18) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	34	Immunoglobulin kappa variable 4-1 OS=Homo sapiens GN=IGKV4-1 PE=1 SV=1
P14923	JUP	\1_785\1_785.sepr(1_785:17) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	34	Junction plakoglobin OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=3 : C9JKY1 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JK18 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9J826 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JTX4 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : K7ERP3 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : C9JPI2 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1
B0YIW2	APOC3	\1_785\1_785.sepr(1_785:13) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:10) ::	3	33	Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : P02656 Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : C9J2Q0 Apolipoprotein C-III (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1
A0A0G2JMB2	IGHA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:14) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:10) ::	3	33	Ig alpha-2 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHA2 PE=1 SV=1
E9PR14	SAA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:22) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	32	Serum amyloid A protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=3 SV=1
A0A1B0GUU9	IGHM	\1_785\1_785.sepr(1_785:12) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:11) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	31	Ig mu chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01871, P04220; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01871, P04220
Q5D862	FLG2	\1_785\1_785.sepr(1_785:15) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	31	Filaggrin-2 OS=Homo sapiens GN=FLG2 PE=1 SV=1
P00734	F2	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:18) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	30	Prothrombin OS=Homo sapiens GN=F2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PIT3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PIT3
P01019	AGT	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:13) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	30	Angiotensinogen OS=Homo sapiens GN=AGT PE=1 SV=1
P36955	SERPINF1	\1_785\1_785.sepr(1_785:14) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:11) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	30	Pigment epithelium-derived factor OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=4 : I3L107 Pigment epithelium-derived factor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=1 : I3L4F9 Pigment epithelium-derived factor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=8 : I3L2R7 Pigment epithelium-derived factor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=1 : I3L3Z3 Pigment epithelium-derived factor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=1 : I3L425 Pigment epithelium-derived factor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I3L4N7, I3L4Z0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I3L4N7, I3L4Z0
P02748	C9	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:12) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:10) ::	3	30	Complement component C9 OS=Homo sapiens GN=C9 PE=1 SV=2
P00747	PLG	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:10) ::	3	29	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2 : Q5TEH5 HCG2029799, isoform CRA_b OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6PVI2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6PVI2
P04004	VTN	\1_785\1_785.sepr(1_785:10) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:10) ::	3	28	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1 : F5GX75 Vitronectin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=2
C9JV77	AHSG	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:14) ::	3	28	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AHSG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765
P04114	APOB	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	28	Apolipoprotein B-100 OS=Homo sapiens GN=APOB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MUN2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MUN2

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P62805	HIST1H4A	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:21) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	27	Histone H4 OS=Homo sapiens GN=HIST1H4A PE=1 SV=2
A0A0A0MRZ8	IGKV3D-11	\1_785\1_785.sepr(1_785:17) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	27	Immunoglobulin kappa variable 3D-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-11 PE=3 SV=6
Q92954	PRG4	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:11) ::	3	26	Proteoglycan 4 OS=Homo sapiens GN=PRG4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RR20; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RR20
P07355	ANXA2	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	25	Annexin A2 OS=Homo sapiens GN=ANXA2 PE=1 SV=2 : H0YN42 Annexin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ANXA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YMU9, A6NMY6, H0YM50, H0YNP5, H0YMW4, H0YLV6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YMU9, A6NMY6, H0YM50, H0YNP5, H0YMW4, H0YLV6
O75636	FCN3	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	25	Ficolin-3 OS=Homo sapiens GN=FCN3 PE=1 SV=2
P05452	CLEC3B	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:12) ::	3	25	Tetranectin OS=Homo sapiens GN=CLEC3B PE=1 SV=3 : E9PHK0 Tetranectin OS=Homo sapiens GN=CLEC3B PE=1 SV=1
J3KPS3	ALDOA	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:15) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	25	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Homo sapiens GN=ALDOA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04075, H3BQN4, H3BR68; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04075, H3BQN4, H3BPS8, H3BU78
P05089	ARG1	\1_785\1_785.sepr(1_785:11) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	24	Arginase-1 OS=Homo sapiens GN=ARG1 PE=1 SV=2
P02792	FTL	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:13) ::	3	24	Ferritin light chain OS=Homo sapiens GN=FTL PE=1 SV=2
Q7RTS7	KRT74	\1_785\1_785.sepr(1_785:12) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	24	Keratin, type II cytoskeletal 74 OS=Homo sapiens GN=KRT74 PE=1 SV=2
P07737	PFN1	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:11) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	24	Profilin-1 OS=Homo sapiens GN=PFN1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EJ44, I3L3D5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EJ44, I3L3D5
Q08188	TGM3	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	24	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E OS=Homo sapiens GN=TGM3 PE=1 SV=4
P02741	CRP	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:8) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	23	C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1 : C9JRE9 C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VVP7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VVP7
P19827	ITIH1	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	23	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 OS=Homo sapiens GN=ITIH1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8WAS2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8WAS2
P27169	PON1	\1_785\1_785.sepr(1_785:13) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	23	Serum paraoxonase/arylesterase 1 OS=Homo sapiens GN=PON1 PE=1 SV=3
P20930	FLG	\1_785\1_785.sepr(1_785:14) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	22	Filaggrin OS=Homo sapiens GN=FLG PE=1 SV=3
P01042	KNG1	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	22	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
P08603	CFH	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	22	Complement factor H OS=Homo sapiens GN=CFH PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0D9SG88, V9GYE7, Q03591, B1AKG0, Q5TFM2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0D9SG88, V9GYE7, Q03591, B1AKG0, Q5TFM2
P01611	IGKV1D-12	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	22	Immunoglobulin kappa variable 1D-12 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-12 PE=1 SV=2
P31151	S100A7	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	21	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5
Q14CN4	KRT72	\1_785\1_785.sepr(1_785:8) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	20	Keratin, type II cytoskeletal 72 OS=Homo sapiens GN=KRT72 PE=1 SV=2
K7ER74	APOC4-APOC2	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	20	APOC4-APOC2 readthrough (NMD candidate) OS=Homo sapiens GN=APOC4-APOC2 PE=1 SV=1 : P02655 Apolipoprotein C-II OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : A0A024R0T9 Apolipoprotein C-II isoform 1 OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : Q6P163 APOC2 protein OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYJ8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYJ8
U3KQK0	HIST1H2BN	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:11) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	20	Histone H2B OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=1 : Q99877 Histone H2B type 1-N OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P58876, Q16778, P57053, P06899, Q99879, Q93079, Q8N257, O60814, P33778, P23527, P62807, Q99880, Q5QNW6, Q96A08; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P62807, P58876, Q93079, Q5QNW6, P57053, Q99880, O60814, Q99879, Q16778, P06899, P33778, Q8N257, Q96A08
A0A075B6S5	IGKV1-27	\1_785\1_785.sepr(1_785:10) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	19	Immunoglobulin kappa variable 1-27 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-27 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01599, A0A0C4DH69, P04430, A0A0C4DH73, P04432, P01601, P01594, A0A0C4DH67, A0A075B7D4, A0A0G2JQJ0, A0A0G2JRQ6, A0A087WSZ0
P37837	TALDO1	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	19	Transaldolase OS=Homo sapiens GN=TALDO1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F2Z393; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F2Z393
P02760	AMBP	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:8) ::	3	19	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
A0A0C4DH72	IGKV1-6	\1_785\1_785.sepr(1_785:10) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	19	Immunoglobulin kappa variable 1-6 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-6 PE=3 SV=1
P81605	DCD	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:7) ::	3	18	Dermcidin OS=Homo sapiens GN=DCD PE=1 SV=2
P00338	LDHA	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	18	L-lactate dehydrogenase A chain OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=2 : F5GXY2 L-lactate dehydrogenase A chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GYU2, F5H6W8, F5H5J4
A0A0J9YY99	#N/D	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	18	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01772, A0A0J9YVT0, P01764, P01767, A0A075B7E8, P01782, P01763, P01762, A0A0B4J1V1, A0A075B7F0, P01766, A0A0B4J2B5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01772, A0A0J9YVT0, P01764, P01767, A0A075B7E8, P01782, P01763, P01762, A0A0B4J1V1, A0A075B7F0, P01766, A0A0B4J2B5
P02788	LTF	\1_785\1_785.sepr(1_785:13) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	17	Lactotransferrin OS=Homo sapiens GN=LTF PE=1 SV=6
A0A0C4DH42	IGHV3-66	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	17	Immunoglobulin heavy variable 3-66 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-66 PE=3 SV=1
P08697	SERPINF2	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	16	Alpha-2-antiplasmin OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=3 : C9JMH6 Alpha-2-antiplasmin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, C9JPV4, A0A0J9YWQ3, A0A0J9YY65; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, C9JPV4, A0A0J9YWQ3, A0A0J9YY65
A0A075B6P5	IGKV2-28	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	16	Immunoglobulin kappa variable 2-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-28 PE=3 SV=1 : P01615 Immunoglobulin kappa variable 2D-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-28 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A087X0Q4, A0A0C4DH68, A0A0A0MRZ7, A0A075B6S6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A087X0Q4, A0A0A0MRZ7, A0A075B6S6, A0A0C4DH68
P23527	HIST1H2BO	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	16	Histone H2B type 1-O OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BO PE=1 SV=3
P61626	LYZ	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	16	Lysozyme C OS=Homo sapiens GN=LYZ PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P02743	APCS	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	16	Serum amyloid P-component OS=Homo sapiens GN=APCS PE=1 SV=2
P01780	IGHV3-7	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	16	Immunoglobulin heavy variable 3-7 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-7 PE=1 SV=2
P32119	PRDX2	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	16	Peroxiredoxin-2 OS=Homo sapiens GN=PRDX2 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NIW5, A0A0A0MRQ5
P31944	CASP14	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	16	Caspase-14 OS=Homo sapiens GN=CASP14 PE=1 SV=2
P06733	ENO1	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:9) ::	3	15	Alpha-enolase OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=2 : K7EM90 Alpha-enolase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=1 : K7ERS8 Alpha-enolase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=8
P01768	IGHV3-30	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	15	Immunoglobulin heavy variable 3-30 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-30 PE=1 SV=2
P0CG48	UBC	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	15	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3 : Q96C32 Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1 : Q5PY61 Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1 : J3QKN0 Polyubiquitin-B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBB PE=1 SV=1 : F5GXK7 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=2 : F5H747 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=8 : F5H388 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG47, P62979, P62987, M0R2S1, M0R1M6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG47, P62979, P62987, M0R2S1, M0R1M6
P05546	SERPIND1	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	15	Heparin cofactor 2 OS=Homo sapiens GN=SERPIND1 PE=1 SV=3
Q6FI13	HIST2H2AA3	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:10) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	15	Histone H2A type 2-A OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AA3 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16777, A0A0U1RRH7, A0A0U1RR32, P0C0S8, P20671, Q9BTM1, Q99878, P16104, Q96QV6, Q7L7L0, P04908
Q6UWP8	SBSN	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	15	Suprabasin OS=Homo sapiens GN=SBSN PE=1 SV=2
P98160	HSPG2	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	14	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein OS=Homo sapiens GN=HSPG2 PE=1 SV=4
C9JF17	APOD	\1_785\1_785.sepr(1_785:9) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	14	Apolipoprotein D (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090
P18428	LBP	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:9) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	13	Lipopolysaccharide-binding protein OS=Homo sapiens GN=LBP PE=1 SV=3
Q9Y279	VSIG4	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	13	V-set and immunoglobulin domain-containing protein 4 OS=Homo sapiens GN=VSIG4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C062
A0A0B4J1X5	IGHV3-74	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	13	Immunoglobulin heavy variable 3-74 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-74 PE=3 SV=1
Q6KB66	KRT80	\1_785\1_785.sepr(1_785:6) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	13	Keratin, type II cytoskeletal 80 OS=Homo sapiens GN=KRT80 PE=1 SV=2
Q08554	DSC1	\1_785\1_785.sepr(1_785:7) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	13	Desmocollin-1 OS=Homo sapiens GN=DSC1 PE=1 SV=2
Q2M2I5	KRT24	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	13	Keratin, type I cytoskeletal 24 OS=Homo sapiens GN=KRT24 PE=1 SV=1
O95445	APOM	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	13	Apolipoprotein M OS=Homo sapiens GN=APOM PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SRP5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SRP5
Q06830	PRDX1	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	13	Peroxiredoxin-1 OS=Homo sapiens GN=PRDX1 PE=1 SV=1 : A0A0A0MSI0 Peroxiredoxin-1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PRDX1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MRQ5, A6NIW5, Q13162, H7C3T4
P01034	CST3	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	13	Cystatin-C OS=Homo sapiens GN=CST3 PE=1 SV=1
P07339	CTSD	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:6) ::	3	12	Cathepsin D OS=Homo sapiens GN=CTSD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GWE8, A0A1B0GVD5, A0A1B0GV23, A0A1B0GVP3, A0A1B0GW44, A0A1B0GU03, A0A1B0GU92, H7C469, C9JH19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GWE8, A0A1B0GVD5, A0A1B0GV23, A0A1B0GVP3, A0A1B0GW44, A0A1B0GU03, A0A1B0GU92, C9JH19, H7C469
Q8IUE6	HIST2H2AB	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	12	Histone H2A type 2-B OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AB PE=1 SV=3
P22352	GPX3	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	12	Glutathione peroxidase 3 OS=Homo sapiens GN=GPX3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4
P01040	CSTA	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	12	Cystatin-A OS=Homo sapiens GN=CSTA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9J0E4
A0A075B7B8	IGHV3OR16-12	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	12	Immunoglobulin heavy variable 3/OR16-12 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV3OR16-12 PE=1 SV=1
P02747	C1QC	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	12	Complement C1q subcomponent subunit C OS=Homo sapiens GN=C1QC PE=1 SV=3
H3BR68	ALDOA	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:7) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	12	Fructose-bisphosphate aldolase A (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ALDOA PE=1 SV=1
P61769	B2M	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	11	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1 : H0YLF3 Beta-2-microglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0
P09871	C1S	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:6) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	11	Complement C1s subcomponent OS=Homo sapiens GN=C1S PE=1 SV=1 : F8WCZ6 Complement C1s subcomponent OS=Homo sapiens GN=C1S PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X232; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X232, H0Y5D1
B4DPQ0	C1R	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	11	Complement C1r subcomponent OS=Homo sapiens GN=C1R PE=1 SV=1 : F5H3A3 Complement C1r subcomponent (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1R PE=1 SV=8 : F5GWL0 Complement C1r subcomponent (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1R PE=1 SV=8 : F5H1N6 Complement C1r subcomponent (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1R PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P00736, F5H2D0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P00736, F5H2D0
P04040	CAT	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:5) ::	3	10	Catalase OS=Homo sapiens GN=CAT PE=1 SV=3
P06331	IGHV4-34	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	10	Immunoglobulin heavy variable 4-34 OS=Homo sapiens GN=IGHV4-34 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH41, P01825, P01824, A0A0J9YWU9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH41, P01825, P01824, A0A0J9YWU9
P12273	PIP	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	10	Prolactin-inducible protein OS=Homo sapiens GN=PIP PE=1 SV=1
G8JLG2	CDSN	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	10	Corneodesmosin OS=Homo sapiens GN=CDSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q15517, Q2L6G8
Q93077	HIST1H2AC	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:5) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	10	Histone H2A type 1-C OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AC PE=1 SV=3

UniProt	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
A0A075B6S2	IGKV2D-29	\1_785\1_785.sepr(1_785:5) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	10	Immunoglobulin kappa variable 2D-29 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-29 PE=3 SV=1
P00748	F12	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	9	Coagulation factor XII OS=Homo sapiens GN=F12 PE=1 SV=3
P08571	CD14	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:4) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	9	Monocyte differentiation antigen CD14 OS=Homo sapiens GN=CD14 PE=1 SV=2 : D6RFL4 Monocyte differentiation antigen CD14 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CD14 PE=1 SV=1 : E7EVL5 Monocyte differentiation antigen CD14 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CD14 PE=1 SV=1 : D6RD81 Monocyte differentiation antigen CD14 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CD14 PE=4 SV=1
A0A0B4J1X8	IGHV3-43	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	9	Immunoglobulin heavy variable 3-43 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-43 PE=3 SV=1
P55058	PLTP	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:4) ::	3	9	Phospholipid transfer protein OS=Homo sapiens GN=PLTP PE=1 SV=1
A0A075B6R9	IGKV2D-24	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	8	Immunoglobulin kappa variable 2D-24 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-24 PE=4 SV=1
A0A075B7D0	IGHV1OR15-1	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	8	Immunoglobulin heavy variable 1/OR15-1 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV1OR15-1 PE=1 SV=1
Q13790	APOF	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	8	Apolipoprotein F OS=Homo sapiens GN=APOF PE=1 SV=2
P29508	SERPINB3	\1_785\1_785.sepr(1_785:4) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	8	Serpin B3 OS=Homo sapiens GN=SERPINB3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48594, H0Y5H9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P48594, H0Y5H9
A0A0C4DH32	IGHV3-20	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:3) ::	3	8	Immunoglobulin heavy variable 3-20 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV3-20 PE=1 SV=1
D6RAR4	HGFAC	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	8	Hepatocyte growth factor activator OS=Homo sapiens GN=HGFAC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q04756; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q04756
P01591	JCHAIN	\1_785\1_785.sepr(1_785:3) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:3) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	8	Immunoglobulin J chain OS=Homo sapiens GN=JCHAIN PE=1 SV=4 : C9JA05 Immunoglobulin J chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JCHAIN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RHJ6, D6RD17; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RHJ6, D6RD17
P47929	LGALS7	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	6	Galectin-7 OS=Homo sapiens GN=LGALS7 PE=1 SV=2
P24592	IGFBP6	\1_785\1_785.sepr(1_785:2) :: \2_596\2_596.sepr(2_596:2) :: \3_475\3_475.sepr(3_475:2) ::	3	6	Insulin-like growth factor-binding protein 6 OS=Homo sapiens GN=IGFBP6 PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P06702	S100A9	\4_273\4_273.sepr(4_273:500) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:478) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:117) ::	3	1095	Protein S100-A9 OS=Homo sapiens GN=S100A9 PE=1 SV=1
P02768	ALB	\4_273\4_273.sepr(4_273:166) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:200) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:210) ::	3	576	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55
P05109	S100A8	\4_273\4_273.sepr(4_273:185) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:219) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:91) ::	3	495	Protein S100-A8 OS=Homo sapiens GN=S100A8 PE=1 SV=1
P68871	HBB	\4_273\4_273.sepr(4_273:353) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:85) ::	3	454	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 : F8W6P5 Hemoglobin subunit beta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YWK4, P69892, P69891, P02100, E9PBW4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P69892, E9PBW4, P02100
P01009	SERPINA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:134) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:171) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:109) ::	3	414	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JRN3, A0A0G2JPK4, P20848; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPK4, P20848
A0A024R6I7	SERPINA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:130) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:163) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:108) ::	3	401	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1
P01024	C3	\4_273\4_273.sepr(4_273:115) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:121) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:146) ::	3	382	Complement C3 OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=2 : M0R1Q1 Complement C3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R0Q9, M0QYC8, M0QXZ3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QYC8, M0R0Q9, M0QXZ3
C9JKR2	ALB	\4_273\4_273.sepr(4_273:106) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:134) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:119) ::	3	359	Albumin, isoform CRA_k OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
A0A087WWT3	ALB	\4_273\4_273.sepr(4_273:113) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:132) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:113) ::	3	358	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
P04264	KRT1	\4_273\4_273.sepr(4_273:109) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:122) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:118) ::	3	349	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B0YJC4, B0YJC5, P48668, contaminant_KERATIN17, P04259, contaminant_KERATIN21, Q5JVS8, H0YI76, F8W0C6, O95678, P12035, Q5XKE5, P19013, Q01546, contaminant_KERATIN20, P05787, contaminant_KERATIN14, F8W1U3, contaminant_KERATIN19, Q86Y46, Q7RTS7, P41219, P08729, H7C5W5, P17661, F8VU69, H0YID6, H0YIC5, Q6KB66, P14136, F8VS61, K7EJU1
P02647	APOA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:129) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:103) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:103) ::	3	335	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
P13645	KRT10	\4_273\4_273.sepr(4_273:94) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:111) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:126) ::	3	331	Keratin, type I cytoskeletal 10 OS=Homo sapiens GN=KRT10 PE=1 SV=6
P35908	KRT2	\4_273\4_273.sepr(4_273:107) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:103) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:103) ::	3	313	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal OS=Homo sapiens GN=KRT2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B0YJC4, B0YJC5, contaminant_KERATIN17, P48668, P04259, Q5JVS8, contaminant_KERATIN21, F8W0C6, P12035, H0YI76, H0YIN9, Q01546, contaminant_KERATIN15, P05787, contaminant_KERATIN20, contaminant_KERATIN14, O95678, F8W1U3, Q5XKE5, P41219, H7C5W5, Q7RTS7, P17661, contaminant_KERATIN19, Q9NSB2, Q86Y46, contaminant_KERATIN16, P19013, Q14CN4, P08729, F8VU69
P01834	IGKC	\4_273\4_273.sepr(4_273:141) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:92) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:50) ::	3	283	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
A0A0G2JRN3	SERPINA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:97) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:110) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:71) ::	3	278	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V2B9 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V544 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : A0A0B4J278 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V387 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V5R8 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V4I7 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=4 SV=1
P35527	KRT9	\4_273\4_273.sepr(4_273:86) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:94) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:83) ::	3	263	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Homo sapiens GN=KRT9 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN02, contaminant_KERATIN03, contaminant_KERATIN05, contaminant_KERATIN08, F5GWP8, K7EPJ9, Q7Z3Y7, contaminant_KERATIN07, contaminant_KERATIN06, P19012, Q7Z3Z0, P13646, contaminant_KERATIN10, P08727, C9JM50, Q99456, Q7Z3Y9, contaminant_KERATIN04; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN03, contaminant_KERATIN08, F5GWP8, contaminant_KERATIN04, K7EPJ9, contaminant_KERATIN07, contaminant_KERATIN10, P08727, P19012, contaminant_KERATIN06, Q7Z3Y7, Q2M2I5, Q7Z3Y9, Q99456, contaminant_KERATIN11, A8MT21
F8W696	APOA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:101) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:78) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:79) ::	3	258	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
H7C013	ALB	\4_273\4_273.sepr(4_273:76) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:78) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:94) ::	3	248	Serum albumin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
P02042	HBD	\4_273\4_273.sepr(4_273:197) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:41) ::	3	247	Hemoglobin subunit delta OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=2
P00738	HP	\4_273\4_273.sepr(4_273:84) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:98) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:64) ::	3	246	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y300, J3QR68, J3QLC9, A0A0C4DGL8, A0A087WU08, H3BS21, P00739, H3BMJ7, J3QQJ8, A0A0A0MRD9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y300, J3QR68, A0A0C4DGL8, J3QLC9, J3KTC3, A0A0A0MRD9, H3BMJ7, J3QQJ8
P69905	HBA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:141) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:64) ::	3	217	Hemoglobin subunit alpha OS=Homo sapiens GN=HBA1 PE=1 SV=2 : G3V1N2 HCG1745306, isoform CRA_a OS=Homo sapiens GN=HBA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02008; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02008
E9PFT6	HBD	\4_273\4_273.sepr(4_273:173) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:28) ::	3	208	Hemoglobin subunit delta OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=1 : E9PEW8 Hemoglobin subunit delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=1
P02763	ORM1	\4_273\4_273.sepr(4_273:26) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:138) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:33) ::	3	197	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P02671	FGA	\4_273\4_273.sepr(4_273:101) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:39) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:37) ::	3	177	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WUA0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WUA0
P02787	TF	\4_273\4_273.sepr(4_273:59) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:57) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:57) ::	3	173	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=3 : C9JB55 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=8 : C9JVG0 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C5E8, F8WCI6, E7ER44, E7EQB2, F8WEK9, F8WC57; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ER44, E7EQB2, H7C5E8, F8WEK9, C9JCF5, F8WC57
P60709	ACTB	\4_273\4_273.sepr(4_273:65) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:57) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:36) ::	3	158	Actin, cytoplasmic 1 OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=1 : E7EVS6 Actin, cytoplasmic 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTB PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P63261, P62736, P63267, P68133, I3L4N8, A6NL76, Q562R1, J3KT65, K7EM38, G5E9R0, C9JFL5, Q6S8J3, B8ZZJ2, F8WB63, C9JUM1, P0CG38, Q9BYX7, A5A3E0, P0CG39; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P63261, P68032, P62736, P63267, P68133, J3KT65, K7EM38, G5E9R0, C9JFL5, Q6S8J3, B8ZZJ2, F8WB63, C9JUM1, P0CG38, Q9BYX7, A5A3E0, P0CG39
P04406	GAPDH	\4_273\4_273.sepr(4_273:67) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:56) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:31) ::	3	154	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Homo sapiens GN=GAPDH PE=1 SV=3
P0C0L5	C4B	\4_273\4_273.sepr(4_273:41) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:55) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:55) ::	3	151	Complement C4-B OS=Homo sapiens GN=C4B PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0C0L4, A0A0G2JL54, A0A140TA29, F5GXS0, A0A140TA32, A0A140TA44, A0A140TA49
A0A0G2JPR0	C4A	\4_273\4_273.sepr(4_273:42) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:54) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:54) ::	3	150	Complement C4-A OS=Homo sapiens GN=C4A PE=1 SV=1
H3BS21	HP	\4_273\4_273.sepr(4_273:44) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:57) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:37) ::	3	138	Haptoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1
J3KRH2	HP	\4_273\4_273.sepr(4_273:51) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:49) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:32) ::	3	132	Haptoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1
P08670	VIM	\4_273\4_273.sepr(4_273:71) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:46) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:13) ::	3	130	Vimentin OS=Homo sapiens GN=VIM PE=1 SV=4
B7ZKJ8	ITIH4	\4_273\4_273.sepr(4_273:51) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:37) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:40) ::	3	128	ITIH4 protein OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624, H7C0L5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624, H7C0L5
P00739	HPR	\4_273\4_273.sepr(4_273:38) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:46) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:41) ::	3	125	Haptoglobin-related protein OS=Homo sapiens GN=HPR PE=2 SV=2
P01023	A2M	\4_273\4_273.sepr(4_273:38) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:38) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:48) ::	3	124	Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=3 : F8W7L3 Alpha-2-macroglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1 : F5H1E8 Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YFH1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YFH1
P02675	FGB	\4_273\4_273.sepr(4_273:68) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:34) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	111	Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=2 : D6REL8 Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
E7EUT5	GAPDH	\4_273\4_273.sepr(4_273:52) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:42) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:17) ::	3	111	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Homo sapiens GN=GAPDH PE=1 SV=1
A0A087WU08	HP	\4_273\4_273.sepr(4_273:32) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:46) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:31) ::	3	109	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1
P02766	TTR	\4_273\4_273.sepr(4_273:42) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:27) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:39) ::	3	108	Transthyretin OS=Homo sapiens GN=TTR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45
P01011	SERPINA3	\4_273\4_273.sepr(4_273:18) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:30) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:59) ::	3	107	Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=2 : G3V3A0 Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=1 : G3V595 Alpha-1-antichymotrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WY93
P0DOY2	IGLC2	\4_273\4_273.sepr(4_273:49) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:34) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:17) ::	3	100	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74
P13647	KRT5	\4_273\4_273.sepr(4_273:28) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:40) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:31) ::	3	99	Keratin, type II cytoskeletal 5 OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=3 : F8VV57 Keratin, type II cytoskeletal 5 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=1
P62805	HIST1H4A	\4_273\4_273.sepr(4_273:28) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:50) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:21) ::	3	99	Histone H4 OS=Homo sapiens GN=HIST1H4A PE=1 SV=2
P06733	ENO1	\4_273\4_273.sepr(4_273:44) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:38) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:16) ::	3	98	Alpha-enolase OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=2 : K7EM90 Alpha-enolase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=1 : K7ERS8 Alpha-enolase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ENO1 PE=1 SV=8
A0A0A0MS08	IGHG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:37) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:29) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:30) ::	3	96	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857
P13796	LCP1	\4_273\4_273.sepr(4_273:35) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:45) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:14) ::	3	94	Plastin-2 OS=Homo sapiens GN=LCP1 PE=1 SV=6 : Q5TBN3 Plastin-2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LCP1 PE=1 SV=1 : Q5TBN5 Plastin-2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LCP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13797, A0A0A0MSQ0, U3KQJ3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P13797, A0A0A0MSQ0, U3KQJ3
I3L4N8	ACTG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:37) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:32) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:24) ::	3	93	Actin, cytoplasmic 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTG1 PE=1 SV=8
P00338	LDHA	\4_273\4_273.sepr(4_273:34) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:39) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:20) ::	3	93	L-lactate dehydrogenase A chain OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=2 : F5GXY2 L-lactate dehydrogenase A chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GYU2, F5H6W8, F5H5J4, Q6ZMR3, Q9BYZ2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5GYU2, F5H6W8, Q6ZMR3, Q9BYZ2, F5GXU1, F5GXC7, F5GWW2
P02538	KRT6A	\4_273\4_273.sepr(4_273:27) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:37) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:28) ::	3	92	Keratin, type II cytoskeletal 6A OS=Homo sapiens GN=KRT6A PE=1 SV=3
P01860	IGHG3	\4_273\4_273.sepr(4_273:49) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:21) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:19) ::	3	89	Immunoglobulin heavy constant gamma 3 OS=Homo sapiens GN=IGHG3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01857, A0A0A0MS07
A0A096LPE2	SAA2-SAA4	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:27) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:39) ::	3	89	SAA2-SAA4 readthrough OS=Homo sapiens GN=SAA2-SAA4 PE=4 SV=1 : P35542 Serum amyloid A-4 protein OS=Homo sapiens GN=SAA4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, G3V1D9, E9PR14; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, G3V1D9
P10909	CLU	\4_273\4_273.sepr(4_273:39) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:24) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:25) ::	3	88	Clusterin OS=Homo sapiens GN=CLU PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, H0YC35, E7ETB4, H0YAS8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, H0YC35, E7ETB4, H0YAS8
P01859	IGHG2	\4_273\4_273.sepr(4_273:44) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:20) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:20) ::	3	84	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
A0A0B4J231	IGLL5	\4_273\4_273.sepr(4_273:41) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:28) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	81	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1
P63104	YWHAZ	\4_273\4_273.sepr(4_273:40) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:30) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	81	14-3-3 protein zeta/delta OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : E7ESK7 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : E7EVZ2 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : E9PD24 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : E5RIR4 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : E5RGE1 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=8 : B0AZS6 14-3-3 protein zeta/delta OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : H0YB80 14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1 : B7Z2E6 14-3-3 protein zeta/delta OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EX29, A2IDB2, A0A0J9YWE8, K7EM20, I3L3T1, B4DJF2, P31947, K7EIT4, A0A0J9YWZ2, A2IDB1, F8WEB6
P02533	KRT14	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:28) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:29) ::	3	80	Keratin, type I cytoskeletal 14 OS=Homo sapiens GN=KRT14 PE=1 SV=4 : K7ENV3 Keratin, type I cytoskeletal 16 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=4 SV=8
A0A0A0MS07	IGHG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:27) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:24) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:25) ::	3	76	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1
P0DJI8	SAA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:29) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:38) ::	3	76	Serum amyloid A-1 protein OS=Homo sapiens GN=SAA1 PE=1 SV=1
P31946	YWHAB	\4_273\4_273.sepr(4_273:37) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:30) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	75	14-3-3 protein beta/alpha OS=Homo sapiens GN=YWHAB PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EX29, K7EM20, A2IDB2, I3L3T1, B4DJF2, A0A0J9YWE8, P31947, K7EIT4, A0A0J9YWZ2, A2IDB1, F8WEB6
P18669	PGAM1	\4_273\4_273.sepr(4_273:28) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:29) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:17) ::	3	74	Phosphoglycerate mutase 1 OS=Homo sapiens GN=PGAM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8N0Y7, P15259; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8N0Y7, P15259
P05164	MPO	\4_273\4_273.sepr(4_273:22) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:28) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:23) ::	3	73	Myeloperoxidase OS=Homo sapiens GN=MPO PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QSF7
P07737	PFN1	\4_273\4_273.sepr(4_273:29) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:31) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:13) ::	3	73	Profilin-1 OS=Homo sapiens GN=PFN1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EJ44, I3L3D5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EJ44, I3L3D5
Q01518	CAP1	\4_273\4_273.sepr(4_273:30) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:39) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	72	Adenylyl cyclase-associated protein 1 OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=5 : Q5T0R1 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1 : Q5T0R2 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1 : Q5T0R3 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1 : Q5T0R4 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=8 : Q5T0R5 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=8 : Q5T0R6 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1 : Q5T0R7 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1 : Q5T0R8 Adenylyl cyclase-associated protein 1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CAP1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T0S3
P0DJI9	SAA2	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:23) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:31) ::	3	67	Serum amyloid A-2 protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=1 SV=1
P06727	APOA4	\4_273\4_273.sepr(4_273:18) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:31) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:16) ::	3	65	Apolipoprotein A-IV OS=Homo sapiens GN=APOA4 PE=1 SV=3
A0M8Q6	IGLC7	\4_273\4_273.sepr(4_273:30) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:23) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	63	Immunoglobulin lambda constant 7 OS=Homo sapiens GN=IGLC7 PE=1 SV=3
P01008	SERPINC1	\4_273\4_273.sepr(4_273:22) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:22) ::	3	63	Antithrombin-III OS=Homo sapiens GN=SERPINC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1
P00491	PNP	\4_273\4_273.sepr(4_273:26) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:28) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	63	Purine nucleoside phosphorylase OS=Homo sapiens GN=PNP PE=1 SV=2 : G3V2H3 Purine nucleoside phosphorylase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PNP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V5M2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V5M2
V9GYM3	APOA2	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:28) ::	3	63	Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : P02652 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYE3 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYG9 Apolipoprotein A-II (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYS1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYS1
P08779	KRT16	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:26) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:19) ::	3	59	Keratin, type I cytoskeletal 16 OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=1 SV=4
P61981	YWHAG	\4_273\4_273.sepr(4_273:29) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:22) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	59	14-3-3 protein gamma OS=Homo sapiens GN=YWHAG PE=1 SV=2
P14618	PKM	\4_273\4_273.sepr(4_273:25) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:29) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	59	Pyruvate kinase PKM OS=Homo sapiens GN=PKM PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BTN5, B4DNK4, H3BQ34, H3BR70; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BTN5, H3BQ34, B4DNK4, H3BR70

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P00450	CP	\4_273\4_273.sepr(4_273:20) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:22) ::	3	57	Ceruloplasmin OS=Homo sapiens GN=CP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, H7C5N5, D6RE86; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, H7C5N5, D6RE86
P62258	YWHAE	\4_273\4_273.sepr(4_273:24) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:24) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	56	14-3-3 protein epsilon OS=Homo sapiens GN=YWHAE PE=1 SV=1
F8WCI6	TF	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:25) ::	3	56	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=1
P01619	IGKV3-20	\4_273\4_273.sepr(4_273:25) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	55	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH25, P04433, P01624, A0A0C4DH90, A0A075B6H7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04433, P01624, A0A0C4DH90
Q562R1	ACTBL2	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:20) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	55	Beta-actin-like protein 2 OS=Homo sapiens GN=ACTBL2 PE=1 SV=2
U3KQK0	HIST1H2BN	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:27) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:16) ::	3	55	Histone H2B OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=1 : Q99877 Histone H2B type 1-N OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: O60814, Q99879, Q99880, P57053, Q5QNW6, Q93079, P23527, P62807, P06899, Q16778, P58876, Q8N257, Q96A08; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P58876, Q93079, Q5QNW6, P57053, O60814, Q99879, P62807, P06899, P33778, P23527, Q99880, Q8N257, Q96A08, Q6DN03, Q6DRA6
P02649	APOE	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:14) ::	3	55	Apolipoprotein E OS=Homo sapiens GN=APOE PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7L5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7L5
A6NL76	ACTA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:27) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	54	Actin, alpha skeletal muscle OS=Homo sapiens GN=ACTA1 PE=1 SV=3
C9JC84	FGG	\4_273\4_273.sepr(4_273:31) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	54	Fibrinogen gamma chain OS=Homo sapiens GN=FGG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02679, C9JEU5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02679, C9JEU5
P37837	TALDO1	\4_273\4_273.sepr(4_273:26) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	53	Transaldolase OS=Homo sapiens GN=TALDO1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F2Z393; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F2Z393
Q16778	HIST2H2BE	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:25) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:16) ::	3	52	Histone H2B type 2-E OS=Homo sapiens GN=HIST2H2BE PE=1 SV=3
P00558	PGK1	\4_273\4_273.sepr(4_273:24) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:23) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	52	Phosphoglycerate kinase 1 OS=Homo sapiens GN=PGK1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07205; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P07205
P52566	ARHGDIB	\4_273\4_273.sepr(4_273:24) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:23) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	52	Rho GDP-dissociation inhibitor 2 OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=3 : F5H3P3 Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=8 : F5H6Q0 Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=1 : F5H2R5 Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=1
J3KPS3	ALDOA	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:20) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	51	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Homo sapiens GN=ALDOA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04075, H3BQN4, H3BPS8, H3BR04, H3BU78, H3BR68; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04075, H3BQN4, H3BPS8, H3BR04, H3BU78, H3BR68
P62937	PPIA	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:23) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	51	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=2 : C9J5S7 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=1 : F8WE65 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RIZ5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J2A2, A0A0H2UH34, A0A075B767, P0DN26, Q9Y536, F5H284, E5RIZ5
P52209	PGD	\4_273\4_273.sepr(4_273:18) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:24) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	51	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating OS=Homo sapiens GN=PGD PE=1 SV=3 : K7EM49 6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PGD PE=1 SV=1 : K7EMN2 6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PGD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF6, K7ELN9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF6, K7ELN9
Q86YZ3	HRNR	\4_273\4_273.sepr(4_273:24) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	51	Hornerin OS=Homo sapiens GN=HRNR PE=1 SV=2
P02753	RBP4	\4_273\4_273.sepr(4_273:31) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	50	Retinol-binding protein 4 OS=Homo sapiens GN=RBP4 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30
E9PR14	SAA2	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:26) ::	3	50	Serum amyloid A protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=3 SV=1
Q6FI13	HIST2H2AA3	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:22) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:16) ::	3	49	Histone H2A type 2-A OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AA3 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16777, A0A0U1RRH7, A0A0U1RR32, P0C0S8, P04908, P20671, Q7L7L0, Q9BTM1, Q99878, P16104, Q96QV6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16777, A0A0U1RRH7, A0A0U1RR32, Q96QV6, P0C0S8, P20671, Q9BTM1, Q93077, Q7L7L0, Q71UI9, C9J0D1
P19652	ORM2	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:25) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:15) ::	3	49	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
B4E1Z4	#N/D	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:18) ::	3	48	cDNA FLJ55673, highly similar to Complement factor B (EC 3.4.21.47) OS=Homo sapiens PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ETN3, A0A0G2JH38, H7C526
P20618	PSMB1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:24) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	48	Proteasome subunit beta type-1 OS=Homo sapiens GN=PSMB1 PE=1 SV=2
P00751	CFB	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:17) ::	3	47	Complement factor B OS=Homo sapiens GN=CFB PE=1 SV=2 : C9JRT3 Complement factor B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CFB PE=4 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B4E1Z4, E7ETN3, A0A0G2JH38, H7C5H1
P60174	TPI1	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:20) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	47	Triosephosphate isomerase OS=Homo sapiens GN=TPI1 PE=1 SV=3 : U3KPZ0 Triosephosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TPI1 PE=1 SV=1 : U3KQF3 Triosephosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TPI1 PE=1 SV=1 : U3KPS5 Triosephosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TPI1 PE=1 SV=8
P31949	S100A11	\4_273\4_273.sepr(4_273:20) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	46	Protein S100-A11 OS=Homo sapiens GN=S100A11 PE=1 SV=2
P02794	FTH1	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	46	Ferritin heavy chain OS=Homo sapiens GN=FTH1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V192, E9PKY7, E9PRK8, E9PK45, E9PKM5, E9PQR3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PKY7, E9PRK8, E9PK45, E9PKM5, E9PQR3
P01876	IGHA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:15) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:17) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:14) ::	3	46	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 OS=Homo sapiens GN=IGHA1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JMB2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JMB2
E9PK25	CFL1	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	46	Cofilin-1 OS=Homo sapiens GN=CFL1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P23528, Q9Y281; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P23528, Q9Y281
H0YGX7	ARHGDIB	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:20) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	46	Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=1
P01861	IGHG4	\4_273\4_273.sepr(4_273:18) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:14) ::	3	44	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
Q04917	YWHAH	\4_273\4_273.sepr(4_273:22) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	44	14-3-3 protein eta OS=Homo sapiens GN=YWHAH PE=1 SV=4
Q06323	PSME1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	43	Proteasome activator complex subunit 1 OS=Homo sapiens GN=PSME1 PE=1 SV=1 : H0YKK6 Proteasome activator complex subunit 1 OS=Homo sapiens GN=PSME1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLU2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLU2
P02792	FTL	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	43	Ferritin light chain OS=Homo sapiens GN=FTL PE=1 SV=2
P30740	SERPINB1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	42	Leukocyte elastase inhibitor OS=Homo sapiens GN=SERPINB1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A024QZX5, P50452, A0A1B0GU38, H7BXK7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A024QZX5, P29508, H0Y5H9, C9JZ65, P50452, A0A1B0GU38, H7BXK7
G3V192	FTH1	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:17) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	42	Ferritin OS=Homo sapiens GN=FTH1 PE=1 SV=1 : G3V1D1 Ferritin OS=Homo sapiens GN=FTH1 PE=1 SV=1 : E9PPQ4 Ferritin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=FTH1 PE=1 SV=1
P01019	AGT	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:17) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	42	Angiotensinogen OS=Homo sapiens GN=AGT PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
Q99878	HIST1H2AJ	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:13) ::	3	41	Histone H2A type 1-J OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AJ PE=1 SV=3
B1AK88	CAPZB	\4_273\4_273.sepr(4_273:20) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	41	Capping protein (Actin filament) muscle Z-line, beta, isoform CRA_d OS=Homo sapiens GN=CAPZB PE=1 SV=1 : B1AK87 Capping protein (Actin filament) muscle Z-line, beta, isoform CRA_a OS=Homo sapiens GN=CAPZB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P47756, B1AK85; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P47756, B1AK85
P59665	DEFA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:21) ::	3	41	Neutrophil defensin 1 OS=Homo sapiens GN=DEFA1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P59666
Q7Z794	KRT77	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:15) ::	3	40	Keratin, type II cytoskeletal 1b OS=Homo sapiens GN=KRT77 PE=2 SV=3
A0A0A0MTS2	GPI	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:22) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	40	Glucose-6-phosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GPI PE=1 SV=1 : A0A0J9YYH3 Glucose-6-phosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GPI PE=1 SV=1 : A0A0J9YXP8 Glucose-6-phosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GPI PE=1 SV=1 : K7EP41 Glucose-6-phosphate isomerase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GPI PE=1 SV=1 : P06744 Glucose-6-phosphate isomerase OS=Homo sapiens GN=GPI PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EQ48, A0A0J9YX90; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EQ48, A0A0J9YX90, K7ENA0, K7ERC6, K7ESF4
D6RF35	GC	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:18) ::	3	40	Vitamin D-binding protein OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02774, D6RBJ7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RBJ7
P02774	GC	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:17) ::	3	40	Vitamin D-binding protein OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1
X6R8F3	LCN2	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	40	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin OS=Homo sapiens GN=LCN2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P80188; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P80188
Q04695	KRT17	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:13) ::	3	39	Keratin, type I cytoskeletal 17 OS=Homo sapiens GN=KRT17 PE=1 SV=2 : contaminant_KERATIN12
A0A0C4DH25	IGKV3D-20	\4_273\4_273.sepr(4_273:19) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	39	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
P27348	YWHAQ	\4_273\4_273.sepr(4_273:19) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	39	14-3-3 protein theta OS=Homo sapiens GN=YWHAQ PE=1 SV=1 : E9PG15 14-3-3 protein theta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAQ PE=1 SV=1
P04196	HRG	\4_273\4_273.sepr(4_273:21) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	39	Histidine-rich glycoprotein OS=Homo sapiens GN=HRG PE=1 SV=1
O15144	ARPC2	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	39	Actin-related protein 2/3 complex subunit 2 OS=Homo sapiens GN=ARPC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C3F9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C3F9, G5E9J0, G5E9S7
P02741	CRP	\4_273\4_273.sepr(4_273:15) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:12) ::	3	38	C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1 : C9JRE9 C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1
Q32Q12	NME1-NME2	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:19) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	38	Nucleoside diphosphate kinase OS=Homo sapiens GN=NME1-NME2 PE=1 SV=1 : E7ERL0 Nucleoside diphosphate kinase A OS=Homo sapiens GN=NME1 PE=1 SV=1 : C9K028 Nucleoside diphosphate kinase A (Fragment) OS=Homo sapiens GN=NME1 PE=1 SV=1 : P22392 Nucleoside diphosphate kinase B OS=Homo sapiens GN=NME2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KPD9, O60361, E5RHP0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3KPD9, O60361, E5RHP0
P29401	TKT	\4_273\4_273.sepr(4_273:19) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	38	Transketolase OS=Homo sapiens GN=TKT PE=1 SV=3 : A0A0B4J1R6 Transketolase OS=Homo sapiens GN=TKT PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFF2, F8W888; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFF2, F8W888
P84077	ARF1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	38	ADP-ribosylation factor 1 OS=Homo sapiens GN=ARF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P61204, F5H423, P84085, C9J1Z8, P18085, C9JAK5, H0YGG7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P61204, F5H423, P84085, C9J1Z8, P18085, C9JAK5, H0YGG7
A0A0G2JIW1	HSPA1B	\4_273\4_273.sepr(4_273:20) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	38	Heat shock 70 kDa protein 1B OS=Homo sapiens GN=HSPA1B PE=1 SV=1 : P0DMV9 Heat shock 70 kDa protein 1B OS=Homo sapiens GN=HSPA1B PE=1 SV=1 : P0DMV8 Heat shock 70 kDa protein 1A OS=Homo sapiens GN=HSPA1A PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GZ37, E9PKE3, E9PNE6, Q53FA3, P34931, P17066, P54652, contaminant_GR78_YEAST, contaminant_GR78_LYCES, contaminant_GR78_PLAFO, contaminant_GR78_TOBAC, contaminant_GR72_TOBAC, contaminant_GR71_TOBAC, contaminant_GR78_PLAFA, contaminant_GR73_TOBAC; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GZ37, E9PKE3, E9PNE6, Q53FA3, P34931, P17066, P54652, E9PI65, contaminant_GR78_YEAST, contaminant_GR78_LYCES, contaminant_GR78_PLAFO, contaminant_GR78_TOBAC, contaminant_GR72_TOBAC, contaminant_GR71_TOBAC, contaminant_GR78_PLAFA, contaminant_GR73_TOBAC
P06312	IGKV4-1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	37	Immunoglobulin kappa variable 4-1 OS=Homo sapiens GN=IGKV4-1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH73, A0A0C4DH72, A0A0G2JQJ0, A0A087WSZ0
Q9Y490	TLN1	\4_273\4_273.sepr(4_273:23) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	37	Talin-1 OS=Homo sapiens GN=TLN1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9Y4G6, A0A1B0GVU7, A0A1C7CYV7, H0YMT1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9Y4G6, A0A1B0GVU7, A0A1C7CYV7, H0YMT1
P80511	S100A12	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	36	Protein S100-A12 OS=Homo sapiens GN=S100A12 PE=1 SV=2
H0YIN9	KRT5	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	36	Keratin, type II cytoskeletal 5 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=1
P25815	S100P	\4_273\4_273.sepr(4_273:22) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	36	Protein S100-P OS=Homo sapiens GN=S100P PE=1 SV=2
P04432	IGKV1D-39	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	35	Immunoglobulin kappa variable 1D-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-39 PE=3 SV=2 : P01597 Immunoglobulin kappa variable 1-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-39 PE=1 SV=2
P07195	LDHB	\4_273\4_273.sepr(4_273:20) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	35	L-lactate dehydrogenase B chain OS=Homo sapiens GN=LDHB PE=1 SV=2 : A8MW50 L-lactate dehydrogenase (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHB PE=1 SV=1 : C9J7H8 L-lactate dehydrogenase B chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHB PE=1 SV=8 : F5H793 L-lactate dehydrogenase B chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHB PE=1 SV=1
B0YIW2	APOC3	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	35	Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : P02656 Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : C9J2Q0 Apolipoprotein C-III (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1
Q14019	COTL1	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	35	Coactosin-like protein OS=Homo sapiens GN=COTL1 PE=1 SV=3 : H3BT58 Coactosin-like protein OS=Homo sapiens GN=COTL1 PE=1 SV=1
P16104	H2AFX	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	34	Histone H2AX OS=Homo sapiens GN=H2AFX PE=1 SV=2
P37802	TAGLN2	\4_273\4_273.sepr(4_273:16) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	34	Transgelin-2 OS=Homo sapiens GN=TAGLN2 PE=1 SV=3 : X6RJP6 Transgelin-2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TAGLN2 PE=1 SV=1
P61626	LYZ	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	34	Lysozyme C OS=Homo sapiens GN=LYZ PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32
P02750	LRG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:17) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	34	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=LRG1 PE=1 SV=2
P02790	HPX	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	33	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19
P08246	ELANE	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	33	Neutrophil elastase OS=Homo sapiens GN=ELANE PE=1 SV=1
H7C5H1	CFB	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:14) ::	3	31	Complement factor B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CFB PE=1 SV=1
P04179	SOD2	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	31	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial OS=Homo sapiens GN=SOD2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DFU2, F5GYZ5, F5H4R2, A0A0C4DFU1, A0A0C4DG56, F5GXZ9, G5E9P6
P30044	PRDX5	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	31	Peroxiredoxin-5, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=PRDX5 PE=1 SV=4

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
A0A075B6S5	IGKV1-27	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	30	Immunoglobulin kappa variable 1-27 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-27 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P04432, P01611, A0A0C4DH72, A0A0C4DH67, A0A087WSZ0, A0A0G2JQJ0
O15145	ARPC3	\4_273\4_273.sepr(4_273:15) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	30	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3 OS=Homo sapiens GN=ARPC3 PE=1 SV=3 : F8VR50 Actin-related protein 2/3 complex subunit 3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARPC3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JZD1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JZD1
Q8IUE6	HIST2H2AB	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:16) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	30	Histone H2A type 2-B OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AB PE=1 SV=3
O60664	PLIN3	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	30	Perilipin-3 OS=Homo sapiens GN=PLIN3 PE=1 SV=3 : K7EL96 Perilipin-3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PLIN3 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ERZ3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ERZ3
P0CG48	UBC	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:13) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	30	Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=3 : Q96C32 Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1 : Q5PY61 Polyubiquitin-C OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1 : J3QKN0 Polyubiquitin-B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBB PE=1 SV=1 : F5GXK7 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=2 : F5H747 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=8 : F5H388 Polyubiquitin-C (Fragment) OS=Homo sapiens GN=UBC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG47, P62979, P62987, M0R2S1, M0R1M6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P0CG47, P62979, P62987, M0R2S1, M0R1M6
P07360	C8G	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	30	Complement component C8 gamma chain OS=Homo sapiens GN=C8G PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08
P41218	MNDA	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:17) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	30	Myeloid cell nuclear differentiation antigen OS=Homo sapiens GN=MNDA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y6P3
P04908	HIST1H2AB	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	29	Histone H2A type 1-B/E OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AB PE=1 SV=2
Q9NUQ9	FAM49B	\4_273\4_273.sepr(4_273:17) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	29	Protein FAM49B OS=Homo sapiens GN=FAM49B PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RI16, A0A087X178, Q9H0Q0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RI16, A0A087X178, Q9H0Q0
P04217	A1BG	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	29	Alpha-1B-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=A1BG PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009
F5H5J4	LDHA	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:14) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	29	L-lactate dehydrogenase A chain OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=1 : F5GZQ4 L-lactate dehydrogenase A chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=LDHA PE=1 SV=1
P04114	APOB	\4_273\4_273.sepr(4_273:15) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	29	Apolipoprotein B-100 OS=Homo sapiens GN=APOB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MUN2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MUN2
P01594	IGKV1-33	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	28	Immunoglobulin kappa variable 1-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-33 PE=1 SV=2 : P01593 Immunoglobulin kappa variable 1D-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-33 PE=1 SV=2
A0A087X1Z3	PSME2	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	28	Proteasome activator complex subunit 2 OS=Homo sapiens GN=PSME2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9UL46; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9UL46
P02748	C9	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	28	Complement component C9 OS=Homo sapiens GN=C9 PE=1 SV=2
P01877	IGHA2	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	28	Immunoglobulin heavy constant alpha 2 OS=Homo sapiens GN=IGHA2 PE=1 SV=4
P22894	MMP8	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	28	Neutrophil collagenase OS=Homo sapiens GN=MMP8 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C1M3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C1M3
P32119	PRDX2	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	27	Peroxiredoxin-2 OS=Homo sapiens GN=PRDX2 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NIW5, A0A0A0MRQ5, Q13162, H7C3T4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NIW5, A0A0A0MRQ5, Q13162, H7C3T4
P23381	WARS	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:18) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	27	Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=2 : G3V277 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V227 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V3P2 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V3X0 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V3S7 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V5W1 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V4N8 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=2 : G3V4C7 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V2C0 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V339 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V313 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V4S4 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V3R3 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V2F2 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V456 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V5U1 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V423 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=1 : G3V3Y5 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=8 : G3V3H8 Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (Fragment) OS=Homo sapiens GN=WARS PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YJP3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YJP3, G3V2Y7, G3V4Q0, G3V4A3
P04004	VTN	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	27	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1 : F5GX75 Vitronectin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YJW9
Q7Z3Y8	KRT27	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	26	Keratin, type I cytoskeletal 27 OS=Homo sapiens GN=KRT27 PE=1 SV=2
P02760	AMBP	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	26	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471
P20742	PZP	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	26	Pregnancy zone protein OS=Homo sapiens GN=PZP PE=1 SV=4
P20160	AZU1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	26	Azurocidin OS=Homo sapiens GN=AZU1 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXP0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WXP0
P78417	GSTO1	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:15) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	26	Glutathione S-transferase omega-1 OS=Homo sapiens GN=GSTO1 PE=1 SV=2 : Q5TA02 Glutathione S-transferase omega-1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GSTO1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5TA01; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5TA01
P02746	C1QB	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	26	Complement C1q subcomponent subunit B OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=3 : D6R934 Complement C1q subcomponent subunit B OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=1 : A0A0A0MSV6 Complement C1q subcomponent subunit B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=6 : D6RGJ1 Complement C1q subcomponent subunit B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=1
K7ER74	APOC4-APOC2	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	25	APOC4-APOC2 readthrough (NMD candidate) OS=Homo sapiens GN=APOC4-APOC2 PE=1 SV=1 : P02655 Apolipoprotein C-II OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : A0A024R0T9 Apolipoprotein C-II isoform 1 OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : Q6P163 APOC2 protein OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1
P01601	IGKV1D-16	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	25	Immunoglobulin kappa variable 1D-16 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-16 PE=3 SV=2
V9GYJ8	APOC2	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	24	Apolipoprotein C-II OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ER74
P04430	IGKV1-16	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	24	Immunoglobulin kappa variable 1-16 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-16 PE=1 SV=2
P01611	IGKV1D-12	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	24	Immunoglobulin kappa variable 1D-12 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-12 PE=1 SV=2
P01599	IGKV1-17	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	24	Immunoglobulin kappa variable 1-17 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-17 PE=1 SV=2
O75636	FCN3	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:10) ::	3	24	Ficolin-3 OS=Homo sapiens GN=FCN3 PE=1 SV=2

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
Q99497	PARK7	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	24	Protein DJ-1 OS=Homo sapiens GN=PARK7 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ELW0, K7EN27; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7ELW0, K7EN27
H0YM70	PSME2	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	24	Proteasome activator complex subunit 2 OS=Homo sapiens GN=PSME2 PE=1 SV=1 : H0YKU2 Proteasome activator complex subunit 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSME2 PE=1 SV=1
P11142	HSPA8	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	24	Heat shock cognate 71 kDa protein OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PLF4 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PK54 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=8 : E9PQK7 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PQQ4 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PPY6 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PN25 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1 : E9PN89 Heat shock cognate 71 kDa protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HSPA8 PE=1 SV=1
P54819	AK2	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	24	Adenylate kinase 2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=AK2 PE=1 SV=2 : F8W1A4 Adenylate kinase 2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=AK2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8VZG5, F8VY04, G3V213; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8VZG5, G3V213
P25311	AZGP1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	24	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
P02743	APCS	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	24	Serum amyloid P-component OS=Homo sapiens GN=APCS PE=1 SV=2
P24158	PRTN3	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	24	Myeloblastin OS=Homo sapiens GN=PRTN3 PE=1 SV=3 : U3KPS2 Myeloblastin OS=Homo sapiens GN=PRTN3 PE=1 SV=1
P13646	KRT13	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:11) ::	3	23	Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=4 : K7ERE3 Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1 : K7EMD9 Keratin, type I cytoskeletal 13 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1
A0A0G2JRQ6	#N/D	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	23	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=1 SV=4
P01871	IGHM	\4_273\4_273.sepr(4_273:14) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	23	Immunoglobulin heavy constant mu OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=4 : A0A087WYJ9 Ig mu chain C region OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GUU9, P04220; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GUU9, P04220
P06396	GSN	\4_273\4_273.sepr(4_273:13) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	23	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8
F8WCF6	ARPC4-TTLL3	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	23	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4 OS=Homo sapiens GN=ARPC4-TTLL3 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P59998, H7C0A3, A0A0A6YYG9, F8WDD7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P59998, H7C0A3, A0A0A6YYG9, F8WDD7
Q71DI3	HIST2H3A	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	23	Histone H3.2 OS=Homo sapiens GN=HIST2H3A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P84243, P68431, Q16695, K7ES00, B4DEB1, K7EMV3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P68431, Q16695, Q6NXT2, K7ES00, B4DEB1, K7EMV3, K7EP01
P23284	PPIB	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:11) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	23	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B OS=Homo sapiens GN=PPIB PE=1 SV=2
F8VY04	AK2	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:12) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	23	Adenylate kinase 2, mitochondrial OS=Homo sapiens GN=AK2 PE=1 SV=1
A0A0A0MRZ8	IGKV3D-11	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	22	Immunoglobulin kappa variable 3D-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-11 PE=3 SV=6
Q5VVP7	CRP	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	22	C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1
P61224	RAP1B	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	22	Ras-related protein Rap-1b OS=Homo sapiens GN=RAP1B PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P62834, A6NIZ1, A0A0J9YXB3, F5H7Y6, F5GYB5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P62834, A6NIZ1, A0A0J9YXB3, F5H7Y6, F5GYB5
A0A087WSY6	IGKV3D-15	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	21	Immunoglobulin kappa variable 3D-15 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-15 PE=3 SV=6
Q3SY84	KRT71	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:8) ::	3	21	Keratin, type II cytoskeletal 71 OS=Homo sapiens GN=KRT71 PE=1 SV=3
P08311	CTSG	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	21	Cathepsin G OS=Homo sapiens GN=CTSG PE=1 SV=2
P08697	SERPINF2	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:9) ::	3	20	Alpha-2-antiplasmin OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=3 : C9JMH6 Alpha-2-antiplasmin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, C9JPV4, A0A0J9YWQ3, A0A0J9YY65; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, C9JPV4, A0A0J9YWQ3, A0A0J9YY65
P20700	LMNB1	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	20	Lamin-B1 OS=Homo sapiens GN=LMNB1 PE=1 SV=2 : E9PBF6 Lamin-B1 OS=Homo sapiens GN=LMNB1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0D9SFE5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0D9SFE5
P32320	CDA	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	20	Cytidine deaminase OS=Homo sapiens GN=CDA PE=1 SV=2
P09211	GSTP1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	20	Glutathione S-transferase P OS=Homo sapiens GN=GSTP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MX94, A0A087X2E9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A8MX94, A0A087X2E9
P48595	SERPINB10	\4_273\4_273.sepr(4_273:12) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	20	Serpin B10 OS=Homo sapiens GN=SERPINB10 PE=1 SV=1
P01042	KNG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	20	Kininogen-1 OS=Homo sapiens GN=KNG1 PE=1 SV=2
P06703	S100A6	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	20	Protein S100-A6 OS=Homo sapiens GN=S100A6 PE=1 SV=1 : R4GN98 Protein S100 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=S100A6 PE=1 SV=1
P05089	ARG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:11) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	20	Arginase-1 OS=Homo sapiens GN=ARG1 PE=1 SV=2
E7EMB3	CALM2	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	19	Calmodulin OS=Homo sapiens GN=CALM2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7A7, E7ETZ0, P62158, G3V226, M0QZ52; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7A7, E7ETZ0, P62158, G3V226, M0QZ52
Q9ULZ3	PYCARD	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	19	Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD OS=Homo sapiens GN=PYCARD PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BP42; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BP42
P68036	UBE2L3	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	19	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3 OS=Homo sapiens GN=UBE2L3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GUS4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GUS4
P35754	GLRX	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	19	Glutaredoxin-1 OS=Homo sapiens GN=GLRX PE=1 SV=2
P49721	PSMB2	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	19	Proteasome subunit beta type-2 OS=Homo sapiens GN=PSMB2 PE=1 SV=1 : A0A087WVV1 Proteasome subunit beta type-2 OS=Homo sapiens GN=PSMB2 PE=1 SV=1
P01602	IGKV1-5	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	19	Immunoglobulin kappa variable 1-5 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-5 PE=1 SV=2
A0A0J9YVT0	#N/D	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	18	Immunoglobulin heavy variable 3-33 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV3-33 PE=4 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01768, P01772, P01767, P01782, P01764, A0A075B7E8, P01763, P01762, A0A0B4J1V1, A0A0B4J1X8, A0A0C4DH32, A0A075B7F0, P01766
G3V5Z7	PSMA6	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	18	Proteasome subunit alpha type OS=Homo sapiens GN=PSMA6 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P60900, G3V295, G3V3I1, G3V3U4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P60900, G3V295, G3V3I1, G3V3U4

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P31146	CORO1A	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:10) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	18	Coronin-1A OS=Homo sapiens GN=CORO1A PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BRY3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H3BRY3, H3BTU6
P09651	HNRNPA1	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	18	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 OS=Homo sapiens GN=HNRNPA1 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8W6I7, F8W646, F8VTQ5, F8VZ49, Q32P51; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8W6I7, F8VZ49, F8VTQ5, F8W646, Q32P51, H0YH80
O00299	CLIC1	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	18	Chloride intracellular channel protein 1 OS=Homo sapiens GN=CLIC1 PE=1 SV=4
Q7Z3Z0	KRT25	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	17	Keratin, type I cytoskeletal 25 OS=Homo sapiens GN=KRT25 PE=1 SV=1
P60953	CDC42	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	17	Cell division control protein 42 homolog OS=Homo sapiens GN=CDC42 PE=1 SV=2 : Q5JYX0 Cell division control protein 42 homolog (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CDC42 PE=1 SV=1
P61769	B2M	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	17	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1 : H0YLF3 Beta-2-microglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0
P26447	S100A4	\4_273\4_273.sepr(4_273:10) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	17	Protein S100-A4 OS=Homo sapiens GN=S100A4 PE=1 SV=1
P15153	RAC2	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	16	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 OS=Homo sapiens GN=RAC2 PE=1 SV=1 : B1AH78 Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=RAC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AH80, P60763; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B1AH80, P60763
A0A0C4DH42	IGHV3-66	\4_273\4_273.sepr(4_273:9) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	16	Immunoglobulin heavy variable 3-66 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-66 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YVT0, P01768, P01767, P01782, A0A075B7E8, P01764, A0A0J9YY99, A0A0B4J1V1, P01762, P01763, A0A0B4J1X8, A0A0C4DH32, A0A075B7F0, P01766
Q15848	ADIPOQ	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	16	Adiponectin OS=Homo sapiens GN=ADIPOQ PE=1 SV=1
P81605	DCD	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	16	Dermcidin OS=Homo sapiens GN=DCD PE=1 SV=2
Q8N1N4	KRT78	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	16	Keratin, type II cytoskeletal 78 OS=Homo sapiens GN=KRT78 PE=2 SV=2
B7Z6Z4	MYL6	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	16	Myosin light polypeptide 6 OS=Homo sapiens GN=MYL6 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V1V0, J3KND3, G8JLA2, P60660, F8VPF3, G3V1Y7, F8W180, F8VZU9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G3V1V0, G8JLA2, J3KND3, P60660, F8VPF3, G3V1Y7, F8W180, F8VZU9, F8W1I5, H0YI43
Q06830	PRDX1	\4_273\4_273.sepr(4_273:8) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	16	Peroxiredoxin-1 OS=Homo sapiens GN=PRDX1 PE=1 SV=1 : A0A0A0MSI0 Peroxiredoxin-1 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PRDX1 PE=1 SV=1
P28066	PSMA5	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:9) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	16	Proteasome subunit alpha type-5 OS=Homo sapiens GN=PSMA5 PE=1 SV=3
P02745	C1QA	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	16	Complement C1q subcomponent subunit A OS=Homo sapiens GN=C1QA PE=1 SV=2 : X6RLJ0 Complement C1q subcomponent subunit A (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QA PE=1 SV=7
A0A075B7D4	IGKV1OR2-108	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	15	Immunoglobulin kappa variable 1/OR2-108 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1OR2-108 PE=1 SV=1
P80748	IGLV3-21	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	15	Immunoglobulin lambda variable 3-21 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-21 PE=1 SV=2
P31151	S100A7	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	15	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5
P01591	JCHAIN	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	15	Immunoglobulin J chain OS=Homo sapiens GN=JCHAIN PE=1 SV=4 : C9JA05 Immunoglobulin J chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JCHAIN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RD17, D6RHJ6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RD17, D6RHJ6
P84243	H3F3A	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	15	Histone H3.3 OS=Homo sapiens GN=H3F3A PE=1 SV=2 : K7EK07 Histone H3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=H3F3B PE=1 SV=1
C9JM50	KRT19	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	14	Keratin, type I cytoskeletal 19 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT19 PE=1 SV=1
A0A075B6K5	IGLV3-9	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	14	HCG2043239 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGLV3-9 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P80748
P01700	IGLV1-47	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	14	Immunoglobulin lambda variable 1-47 OS=Homo sapiens GN=IGLV1-47 PE=1 SV=2
F5H5D3	TUBA1C	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	14	Tubulin alpha chain OS=Homo sapiens GN=TUBA1C PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P68363, Q9BQE3, Q71U36, Q13748, Q6PEY2, F8VVB9, C9J2C0, Q9NY65, P68366, F8VS66; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P68363, Q9BQE3, Q71U36, F8VVB9, Q13748, Q6PEY2, F8VS66, C9J2C0, Q9NY65, P68366, Q9H853
P06310	IGKV2-30	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	14	Immunoglobulin kappa variable 2-30 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-30 PE=3 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A075B6P5, A0A075B6S2, A0A0A0MRZ7, A0A075B6S6, A0A087X0Q4, A0A075B6R9, A0A0C4DH68; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A0A0MRZ7, A0A075B6S6, A0A087X0Q4, A0A0C4DH68
A0A075B6S2	IGKV2D-29	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	14	Immunoglobulin kappa variable 2D-29 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-29 PE=3 SV=1
Q9H299	SH3BGRL3	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	14	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 OS=Homo sapiens GN=SH3BGRL3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T123
P02788	LTF	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	14	Lactotransferrin OS=Homo sapiens GN=LTF PE=1 SV=6
P22626	HNRNPA2B1	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:8) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	14	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1 OS=Homo sapiens GN=HNRNPA2B1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WUI2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WUI2
P01780	IGHV3-7	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	13	Immunoglobulin heavy variable 3-7 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-7 PE=1 SV=2
F8W1S1	KRT74	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	13	Keratin, type II cytoskeletal 74 OS=Homo sapiens GN=KRT74 PE=1 SV=1
C9JV77	AHSG	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	13	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AHSG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765
P62491	RAB11A	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	13	Ras-related protein Rab-11A OS=Homo sapiens GN=RAB11A PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q15907, H3BSC1, H3BMH2, B4DQU5
P19823	ITIH2	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:7) ::	3	13	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2 OS=Homo sapiens GN=ITIH2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T985, Q5T987; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5T985, Q5T987
A0A0C4DH69	IGKV1-9	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	12	Immunoglobulin kappa variable 1-9 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-9 PE=3 SV=1
F8WCH0	ACTG2	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	12	Actin, gamma-enteric smooth muscle OS=Homo sapiens GN=ACTG2 PE=1 SV=1
A0A0J9YY99	#N/D	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	12	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
A0A0B4J1X5	IGHV3-74	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	12	Immunoglobulin heavy variable 3-74 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-74 PE=3 SV=1
Q14CN4	KRT72	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	12	Keratin, type II cytoskeletal 72 OS=Homo sapiens GN=KRT72 PE=1 SV=2
P39687	ANP32A	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	12	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member A OS=Homo sapiens GN=ANP32A PE=1 SV=1
P50395	GDI2	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:7) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	12	Rab GDP dissociation inhibitor beta OS=Homo sapiens GN=GDI2 PE=1 SV=2 : V9GYF8 Rab GDP dissociation inhibitor (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GDI2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SX87; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SX87, P31150, Q5SX91, Q5SX90, Q5SX86
O00560	SDCBP	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	12	Syntenin-1 OS=Homo sapiens GN=SDCBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: G5EA09, E9PBU7, B4DHN5
A0A075B6P5	IGKV2-28	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	12	Immunoglobulin kappa variable 2-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-28 PE=3 SV=1 : P01615 Immunoglobulin kappa variable 2D-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-28 PE=1 SV=2
O95336	PGLS	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	12	6-phosphogluconolactonase OS=Homo sapiens GN=PGLS PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R261, M0R0U3, M0R1L2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R261, M0R0U3, M0R1L2
P28072	PSMB6	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	12	Proteasome subunit beta type-6 OS=Homo sapiens GN=PSMB6 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X2I4, I3L3X7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X2I4, I3L3X7
P01031	C5	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:6) ::	3	12	Complement C5 OS=Homo sapiens GN=C5 PE=1 SV=4
P18428	LBP	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:5) ::	3	12	Lipopolysaccharide-binding protein OS=Homo sapiens GN=LBP PE=1 SV=3
A0A075B7B8	IGHV3OR16-12	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	11	Immunoglobulin heavy variable 3/OR16-12 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV3OR16-12 PE=1 SV=1
P02654	APOC1	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	11	Apolipoprotein C-I OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7ERI9 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7EKP1 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9, K7EJI9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9, K7EJI9
Q9NSB2	KRT84	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	11	Keratin, type II cuticular Hb4 OS=Homo sapiens GN=KRT84 PE=2 SV=2
E7ETH0	CFI	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	11	Complement factor I OS=Homo sapiens GN=CFI PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05156, G3XAM2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05156, G3XAM2
A0A0C4DH38	IGHV5-51	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:4) ::	3	11	Immunoglobulin heavy variable 5-51 OS=Homo sapiens GN=IGHV5-51 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YXX1
Q15404	RSU1	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	11	Ras suppressor protein 1 OS=Homo sapiens GN=RSU1 PE=1 SV=3
P22352	GPX3	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	11	Glutathione peroxidase 3 OS=Homo sapiens GN=GPX3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4
J3KNB4	CAMP	\4_273\4_273.sepr(4_273:7) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	11	Cathelicidin antimicrobial peptide OS=Homo sapiens GN=CAMP PE=1 SV=1 : P49913 Cathelicidin antimicrobial peptide OS=Homo sapiens GN=CAMP PE=1 SV=1
P99999	CYCS	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	11	Cytochrome c OS=Homo sapiens GN=CYCS PE=1 SV=2 : C9JFR7 Cytochrome c (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CYCS PE=1 SV=1
P14923	JUP	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:6) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	11	Junction plakoglobin OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=3 : C9JKY1 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JK18 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9J826 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JTX4 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : K7ERP3 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : C9JPI2 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1
A0A0A0MS15	IGHV3-49	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	10	Immunoglobulin heavy variable 3-49 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-49 PE=1 SV=1
P07437	TUBB	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	10	Tubulin beta chain OS=Homo sapiens GN=TUBB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5JP53, P68371, Q9BVA1, Q13885, P04350; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5JP53, Q13885, Q9BVA1, P68371, P04350
Q02413	DSG1	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	10	Desmoglein-1 OS=Homo sapiens GN=DSG1 PE=1 SV=2
C9JF17	APOD	\4_273\4_273.sepr(4_273:6) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	10	Apolipoprotein D (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090
A0A0B4J2D9	IGKV1D-13	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	10	Immunoglobulin kappa variable 1D-13 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-13 PE=3 SV=1
P02747	C1QC	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	10	Complement C1q subcomponent subunit C OS=Homo sapiens GN=C1QC PE=1 SV=3
P04040	CAT	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	10	Catalase OS=Homo sapiens GN=CAT PE=1 SV=3
A0A0C4DH67	IGKV1-8	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	9	Immunoglobulin kappa variable 1-8 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-8 PE=3 SV=1
A0A087X1N8	SERPINB6	\4_273\4_273.sepr(4_273:5) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	9	Serpin B6 OS=Homo sapiens GN=SERPINB6 PE=1 SV=1
P25789	PSMA4	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:4) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	9	Proteasome subunit alpha type-4 OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YL69 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YMZ1 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=8 : H0YMA1 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YKT8 Proteasome subunit beta type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YN18; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YN18, H0YMI6, H0YLC2
B5MC82	DDT	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	9	D-dopachrome decarboxylase OS=Homo sapiens GN=DDT PE=4 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NHG4, J3KQ18; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NHG4, J3KQ18
P00747	PLG	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:5) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	9	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2 : Q5TEH5 HCG2029799, isoform CRA_b OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=1
A0A075B6R9	IGKV2D-24	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	Immunoglobulin kappa variable 2D-24 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-24 PE=4 SV=1
P16402	HIST1H1D	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	Histone H1.3 OS=Homo sapiens GN=HIST1H1D PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P10412, P16403, Q02539
P07339	CTSD	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	8	Cathepsin D OS=Homo sapiens GN=CTSD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GWE8, A0A1B0GVD5, A0A1B0GV23, A0A1B0GW44, A0A1B0GVP3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A1B0GWE8, A0A1B0GVD5, A0A1B0GV23, A0A1B0GVP3, A0A1B0GW44, H7C469, A0A1B0GU03, A0A1B0GU92, C9JH19
P08603	CFH	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:3) ::	3	8	Complement factor H OS=Homo sapiens GN=CFH PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0D9SG88, Q03591, B1AKG0, Q5TFM2
P61088	UBE2N	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N OS=Homo sapiens GN=UBE2N PE=1 SV=1 : F8VQQ8 Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N OS=Homo sapiens GN=UBE2N PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P55957	BID	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	BH3-interacting domain death agonist OS=Homo sapiens GN=BID PE=1 SV=1
Q9HD89	RETN	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:3) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	Resistin OS=Homo sapiens GN=RETN PE=1 SV=1
P01714	IGLV3-19	\4_273\4_273.sepr(4_273:4) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	8	Immunoglobulin lambda variable 3-19 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-19 PE=1 SV=2
A0A0B4J2B5	IGHV3OR16-9	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	7	Immunoglobulin heavy variable 3/OR16-9 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHV3OR16-9 PE=1 SV=1 : S4R460 Immunoglobulin heavy variable 3/OR16-9 (non-functional) OS=Homo sapiens GN=IGHV3OR16-9 PE=1 SV=2
P16401	HIST1H1B	\4_273\4_273.sepr(4_273:3) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	7	Histone H1.5 OS=Homo sapiens GN=HIST1H1B PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P10412, P16403, Q02539
P62314	SNRPD1	\4_273\4_273.sepr(4_273:2) :: \5_502\5_502.sepr(5_502:2) :: \6_406\6_406.sepr(6_406:2) ::	3	6	Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1 OS=Homo sapiens GN=SNRPD1 PE=1 SV=1 : J3QLI9 Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1 OS=Homo sapiens GN=SNRPD1 PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P02647	APOA1	7_341\7_341.sepr(7_341:127) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:251) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:202) ::	3	580	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
P01834	IGKC	7_341\7_341.sepr(7_341:83) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:97) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:362) ::	3	542	Immunoglobulin kappa constant OS=Homo sapiens GN=IGKC PE=1 SV=2
F8W696	APOA1	7_341\7_341.sepr(7_341:100) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:200) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:156) ::	3	456	Apolipoprotein A-I OS=Homo sapiens GN=APOA1 PE=1 SV=1
P35908	KRT2	7_341\7_341.sepr(7_341:114) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:190) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:142) ::	3	446	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal OS=Homo sapiens GN=KRT2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN17, P04259, B0YJC4, contaminant_KERATIN21, H0YI76, B0YJC5, H0YIN9, P12035, O95678, Q01546, contaminant_KERATIN15, contaminant_KERATIN14, Q86Y46, Q7RTS7, Q5JVS8, contaminant_KERATIN16, contaminant_KERATIN20, P05787, F8W1U3, H0YID6, contaminant_KERATIN19, F8VU69, P08729, H0YIC5, Q9NSB2, P41219, P17661, H7C5W5, F8VS61
P13645	KRT10	7_341\7_341.sepr(7_341:130) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:162) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:150) ::	3	442	Keratin, type I cytoskeletal 10 OS=Homo sapiens GN=KRT10 PE=1 SV=6
P04264	KRT1	7_341\7_341.sepr(7_341:115) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:169) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:134) ::	3	418	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Homo sapiens GN=KRT1 PE=1 SV=6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN17, P04259, contaminant_KERATIN18, contaminant_KERATIN21, H0YI76, O95678, F8W0C6, Q01546, contaminant_KERATIN15, P12035, H0YIN9, contaminant_KERATIN14, Q5XKE5, P19013, Q86Y46, F8W1S1, Q7RTS7, contaminant_KERATIN20, P05787, F8W1U3, H0YIC5, contaminant_KERATIN19, F8VU69, H0YID6, Q9NSB2, P08729
P02768	ALB	7_341\7_341.sepr(7_341:107) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:160) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:138) ::	3	405	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DGB6, B7WNR0, D6RHD5, H0YA55, C9JKR2
P02671	FGA	7_341\7_341.sepr(7_341:123) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:155) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:83) ::	3	361	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=2
P35527	KRT9	7_341\7_341.sepr(7_341:102) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:164) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:88) ::	3	354	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Homo sapiens GN=KRT9 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: contaminant_KERATIN03, contaminant_KERATIN08, F5GWP8, K7EPJ9, contaminant_KERATIN07, contaminant_KERATIN04, P19012, contaminant_KERATIN06, contaminant_KERATIN10, P08727, Q7Z3Y7, C9JM50, Q14525, Q7Z3Y9, contaminant_KERATIN11, O76009, A8MT21, A0A1B0GVI3, Q2M2I5, Q99456, Q14532, O76011, A0A140TA69, Q9C075, A0A140TA62, F8VZY9, J3QR55
A0A087WWT3	ALB	7_341\7_341.sepr(7_341:59) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:106) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:92) ::	3	257	Serum albumin OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
P01024	C3	7_341\7_341.sepr(7_341:79) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:92) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:85) ::	3	256	Complement C3 OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=2 : M0R1Q1 Complement C3 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C3 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QYC8, M0R0Q9, M0QXZ3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0QYC8, M0R0Q9, M0QXZ3, O95568
P00738	HP	7_341\7_341.sepr(7_341:65) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:90) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:70) ::	3	225	Haptoglobin OS=Homo sapiens GN=HP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: J3QLC9, H0Y300, J3QR68, A0A0C4DGL8, A0A087WU08, H3BS21, J3KRH2, J3KTC3, A0A0A0MRD9, H3BMJ7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y300, J3QR68, J3QLC9, A0A0C4DGL8, H3BS21, A0A087WU08, J3KRH2, J3KTC3, H3BMJ7, J3QQJ8, A0A0A0MRD9
A0A087WUA0	FGA	7_341\7_341.sepr(7_341:86) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:64) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:38) ::	3	188	Fibrinogen alpha chain OS=Homo sapiens GN=FGA PE=1 SV=1
H7C013	ALB	7_341\7_341.sepr(7_341:50) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:63) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:64) ::	3	177	Serum albumin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ALB PE=1 SV=1
A0A024R6I7	SERPINA1	7_341\7_341.sepr(7_341:58) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:40) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:61) ::	3	159	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1
P01009	SERPINA1	7_341\7_341.sepr(7_341:58) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:41) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:60) ::	3	159	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=3
P02766	TTR	7_341\7_341.sepr(7_341:39) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:63) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:55) ::	3	157	Transthyretin OS=Homo sapiens GN=TTR PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WT59, A0A087WV45
P0DOY2	IGLC2	7_341\7_341.sepr(7_341:21) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:36) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:82) ::	3	139	Immunoglobulin lambda constant 2 OS=Homo sapiens GN=IGLC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, P0CF74, P01699
A0A0A0MS08	IGHG1	7_341\7_341.sepr(7_341:31) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:53) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:53) ::	3	137	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01857
P00739	HPR	7_341\7_341.sepr(7_341:33) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:58) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:36) ::	3	127	Haptoglobin-related protein OS=Homo sapiens GN=HPR PE=2 SV=2
P0C0L4	C4A	7_341\7_341.sepr(7_341:41) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:43) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:41) ::	3	125	Complement C4-A OS=Homo sapiens GN=C4A PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPR0, A0A140TA44, A0A140TA29, A0A0G2JL54, A0A140TA32, A0A140TA49, F5GXS0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPR0, P0C0L5, A0A140TA32, A0A0G2JL54, A0A140TA49, A0A140TA44, F5GXS0
P02533	KRT14	7_341\7_341.sepr(7_341:33) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:52) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:38) ::	3	123	Keratin, type I cytoskeletal 14 OS=Homo sapiens GN=KRT14 PE=1 SV=4 : K7ENV3 Keratin, type I cytoskeletal 16 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=4 SV=8
A0A140TA29	C4B	7_341\7_341.sepr(7_341:39) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:42) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:40) ::	3	121	Complement C4-B OS=Homo sapiens GN=C4B PE=1 SV=1
P13647	KRT5	7_341\7_341.sepr(7_341:30) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:54) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:37) ::	3	121	Keratin, type II cytoskeletal 5 OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=3 : F8VV57 Keratin, type II cytoskeletal 5 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=1
P02675	FGB	7_341\7_341.sepr(7_341:39) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:56) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:24) ::	3	119	Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=2 : D6REL8 Fibrinogen beta chain OS=Homo sapiens GN=FGB PE=1 SV=1
A0A0A0MS07	IGHG1	7_341\7_341.sepr(7_341:28) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:43) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:43) ::	3	114	Ig gamma-1 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MS08, P01857, P01860
A0A0B4J231	IGLL5	7_341\7_341.sepr(7_341:17) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:30) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:64) ::	3	111	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 OS=Homo sapiens GN=IGLL5 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B9A064, P0DOY3, contaminant_NRL_1MCOL, P0CF74
A0A0G2JRN3	SERPINA1	7_341\7_341.sepr(7_341:45) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:26) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:37) ::	3	108	Alpha-1-antitrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V2B9 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V544 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : A0A0B4J278 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V387 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V5R8 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=1 SV=1 : G3V4I7 Alpha-1-antitrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA1 PE=4 SV=1
V9GYM3	APOA2	7_341\7_341.sepr(7_341:29) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:29) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:49) ::	3	107	Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : P02652 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYE3 Apolipoprotein A-II OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1 : V9GYG9 Apolipoprotein A-II (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOA2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYS1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYS1
P48668	KRT6C	7_341\7_341.sepr(7_341:29) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:42) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	105	Keratin, type II cytoskeletal 6C OS=Homo sapiens GN=KRT6C PE=1 SV=3
P01860	IGHG3	7_341\7_341.sepr(7_341:19) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:44) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:39) ::	3	102	Immunoglobulin heavy constant gamma 3 OS=Homo sapiens GN=IGHG3 PE=1 SV=2
P02538	KRT6A	7_341\7_341.sepr(7_341:29) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:40) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:32) ::	3	101	Keratin, type II cytoskeletal 6A OS=Homo sapiens GN=KRT6A PE=1 SV=3
P01859	IGHG2	7_341\7_341.sepr(7_341:21) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:45) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	100	Immunoglobulin heavy constant gamma 2 OS=Homo sapiens GN=IGHG2 PE=1 SV=2
B7ZKJ8	ITIH4	7_341\7_341.sepr(7_341:20) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:44) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:35) ::	3	99	ITIH4 protein OS=Homo sapiens GN=ITIH4 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624, H7C0L5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q14624, H7C0L5
P02753	RBP4	7_341\7_341.sepr(7_341:24) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:41) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:32) ::	3	97	Retinol-binding protein 4 OS=Homo sapiens GN=RBP4 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VY30
P02787	TF	7_341\7_341.sepr(7_341:32) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:30) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	96	Serotransferrin OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=3 : C9JB55 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=8 : C9JVG0 Serotransferrin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=TF PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H7C5E8, F8WCI6, E7ER44, E7EQB2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F8WCI6, E7ER44, E7EQB2, H7C5E8, F8WEK9
P10909	CLU	7_341\7_341.sepr(7_341:21) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:41) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:31) ::	3	93	Clusterin OS=Homo sapiens GN=CLU PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, H0YC35, E7ETB4, H0YAS8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YLK8, E7ETB4, H0YAS8

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
A0A096LPE2	SAA2-SAA4	7_341\7_341.sepr(7_341:27) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:24) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:38) ::	3	89	SAA2-SAA4 readthrough OS=Homo sapiens GN=SAA2-SAA4 PE=4 SV=1 : P35542 Serum amyloid A-4 protein OS=Homo sapiens GN=SAA4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, P0DJI9, G3V1D9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PQD6, G3V1D9
P06702	S100A9	7_341\7_341.sepr(7_341:29) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:23) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	86	Protein S100-A9 OS=Homo sapiens GN=S100A9 PE=1 SV=1
P08779	KRT16	7_341\7_341.sepr(7_341:17) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:35) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:29) ::	3	81	Keratin, type I cytoskeletal 16 OS=Homo sapiens GN=KRT16 PE=1 SV=4
A0M8Q6	IGLC7	7_341\7_341.sepr(7_341:11) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:23) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:46) ::	3	80	Immunoglobulin lambda constant 7 OS=Homo sapiens GN=IGLC7 PE=1 SV=3
P01619	IGKV3-20	7_341\7_341.sepr(7_341:11) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:16) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:50) ::	3	77	Immunoglobulin kappa variable 3-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-20 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH25, P01624, A0A0A0MRZ8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01624, A0A0A0MRZ8, A0A0C4DH90
P68871	HBB	7_341\7_341.sepr(7_341:41) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:18) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	74	Hemoglobin subunit beta OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=2 : F8W6P5 Hemoglobin subunit beta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=HBB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFT6, P69891, P02100, P69892, E9PBW4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFT6, A0A0J9YWK4, P69892, P69891, P02100, E9PBW4
P02746	C1QB	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:31) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:30) ::	3	70	Complement C1q subcomponent subunit B OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=3 : D6R934 Complement C1q subcomponent subunit B OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=1 : A0A0A0MSV6 Complement C1q subcomponent subunit B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=6 : D6RGJ1 Complement C1q subcomponent subunit B (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QB PE=1 SV=1
Q86YZ3	HRNR	7_341\7_341.sepr(7_341:15) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:33) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	67	Hornerin OS=Homo sapiens GN=HRNR PE=1 SV=2
P63261	ACTG1	7_341\7_341.sepr(7_341:19) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:26) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	65	Actin, cytoplasmic 2 OS=Homo sapiens GN=ACTG1 PE=1 SV=1 : I3L1U9 Actin, cytoplasmic 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTG1 PE=1 SV=1 : I3L3I0 Actin, cytoplasmic 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTG1 PE=1 SV=1 : I3L3R2 Actin, cytoplasmic 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ACTG1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P60709, I3L4N8, P62736, P68133, P68032, P63267, A6NL76, J3KT65, K7EM38, G5E9R0, Q6S8J3, A5A3E0, P0CG38, Q9BYX7, C9JFL5, B8ZZJ2, F8WB63, C9JUM1, P0CG39, Q562R1, F8WCH0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P60709, P68133, P62736, P63267, I3L4N8, A6NL76, J3KT65, K7EM38, G5E9R0, Q562R1, C9JFL5, B8ZZJ2, F8WB63, C9JUM1, A5A3E0, Q6S8J3, P0CG38, Q9BYX7, P0CG39, F8WCH0
P01011	SERPINA3	7_341\7_341.sepr(7_341:26) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:23) ::	3	64	Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=2 : G3V3A0 Alpha-1-antichymotrypsin OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=1 : G3V595 Alpha-1-antichymotrypsin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINA3 PE=1 SV=3
P01861	IGHG4	7_341\7_341.sepr(7_341:15) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:25) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:23) ::	3	63	Immunoglobulin heavy constant gamma 4 OS=Homo sapiens GN=IGHG4 PE=1 SV=1
P00450	CP	7_341\7_341.sepr(7_341:20) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:24) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	63	Ceruloplasmin OS=Homo sapiens GN=CP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, D6RE86; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E9PFZ2, H7C5R1, H7C5N5, D6RE86
P05109	S100A8	7_341\7_341.sepr(7_341:23) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:13) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:24) ::	3	60	Protein S100-A8 OS=Homo sapiens GN=S100A8 PE=1 SV=1
P02649	APOE	7_341\7_341.sepr(7_341:15) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:28) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	57	Apolipoprotein E OS=Homo sapiens GN=APOE PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y7L5
P02763	ORM1	7_341\7_341.sepr(7_341:34) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	55	Alpha-1-acid glycoprotein 1 OS=Homo sapiens GN=ORM1 PE=1 SV=1
P62805	HIST1H4A	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:21) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:28) ::	3	51	Histone H4 OS=Homo sapiens GN=HIST1H4A PE=1 SV=2
A0A0C4DH25	IGKV3D-20	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	50	Immunoglobulin kappa variable 3D-20 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-20 PE=3 SV=1
C9JC84	FGG	7_341\7_341.sepr(7_341:17) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:24) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	50	Fibrinogen gamma chain OS=Homo sapiens GN=FGG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02679, C9JEU5
P02461	COL3A1	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:25) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	50	Collagen alpha-1(III) chain OS=Homo sapiens GN=COL3A1 PE=1 SV=4
P06312	IGKV4-1	7_341\7_341.sepr(7_341:11) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:28) ::	3	50	Immunoglobulin kappa variable 4-1 OS=Homo sapiens GN=IGKV4-1 PE=1 SV=1
P04432	IGKV1D-39	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:32) ::	3	49	Immunoglobulin kappa variable 1D-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-39 PE=3 SV=2 : P01597 Immunoglobulin kappa variable 1-39 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-39 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH73, A0A087WSZ0
F8W0C6	KRT5	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:21) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:17) ::	3	48	Keratin, type II cytoskeletal 5 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT5 PE=1 SV=8
H0YC35	CLU	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:25) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	46	Clusterin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=CLU PE=1 SV=1
P04406	GAPDH	7_341\7_341.sepr(7_341:12) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:19) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	46	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Homo sapiens GN=GAPDH PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EUT5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7EUT5
P01876	IGHA1	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:22) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	46	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 OS=Homo sapiens GN=IGHA1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01877
Q04695	KRT17	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:20) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	45	Keratin, type I cytoskeletal 17 OS=Homo sapiens GN=KRT17 PE=1 SV=2 : contaminant_KERATIN12
P01008	SERPINC1	7_341\7_341.sepr(7_341:18) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:13) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	45	Antithrombin-III OS=Homo sapiens GN=SERPINC1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8TCE1
P04433	IGKV3-11	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:34) ::	3	44	Immunoglobulin kappa variable 3-11 OS=Homo sapiens GN=IGKV3-11 PE=1 SV=1
P08670	VIM	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:30) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:12) ::	3	44	Vimentin OS=Homo sapiens GN=VIM PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: B0YJC4
Q7Z794	KRT77	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:16) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:18) ::	3	44	Keratin, type II cytoskeletal 1b OS=Homo sapiens GN=KRT77 PE=2 SV=3
A0A087WSY6	IGKV3D-15	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:27) ::	3	43	Immunoglobulin kappa variable 3D-15 OS=Homo sapiens GN=IGKV3D-15 PE=3 SV=6
P01611	IGKV1D-12	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:27) ::	3	43	Immunoglobulin kappa variable 1D-12 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-12 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH73, P04432, P01601, A0A075B6S5, P01599, A0A0C4DH72, A0A0C4DH67, A0A0G2JQJ0, A0A087WSZ0
P02745	C1QA	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:17) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	42	Complement C1q subcomponent subunit A OS=Homo sapiens GN=C1QA PE=1 SV=2 : X6RLJ0 Complement C1q subcomponent subunit A (Fragment) OS=Homo sapiens GN=C1QA PE=1 SV=7
A0A0G2JMB2	IGHA2	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:19) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	41	Ig alpha-2 chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHA2 PE=1 SV=1
P06727	APOA4	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:18) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	41	Apolipoprotein A-IV OS=Homo sapiens GN=APOA4 PE=1 SV=3
A0A075B6S5	IGKV1-27	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:25) ::	3	40	Immunoglobulin kappa variable 1-27 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-27 PE=3 SV=1
P02760	AMBP	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:16) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	40	Protein AMBP OS=Homo sapiens GN=AMBP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: S4R3Y4, S4R471

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P0DJI8	SAA1	7_341\7_341.sepr(7_341:16) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	40	Serum amyloid A-1 protein OS=Homo sapiens GN=SAA1 PE=1 SV=1
Q7Z3Y8	KRT27	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:16) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	39	Keratin, type I cytoskeletal 27 OS=Homo sapiens GN=KRT27 PE=1 SV=2
P69905	HBA1	7_341\7_341.sepr(7_341:20) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	39	Hemoglobin subunit alpha OS=Homo sapiens GN=HBA1 PE=1 SV=2 : G3V1N2 HCG1745306, isoform CRA_a OS=Homo sapiens GN=HBA2 PE=1 SV=1
P07360	C8G	7_341\7_341.sepr(7_341:13) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:13) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	39	Complement component C8 gamma chain OS=Homo sapiens GN=C8G PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SQ08
Q3SY84	KRT71	7_341\7_341.sepr(7_341:11) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:18) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	38	Keratin, type II cytoskeletal 71 OS=Homo sapiens GN=KRT71 PE=1 SV=3
Q5XKE5	KRT79	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:20) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	38	Keratin, type II cytoskeletal 79 OS=Homo sapiens GN=KRT79 PE=1 SV=2
P01602	IGKV1-5	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:24) ::	3	35	Immunoglobulin kappa variable 1-5 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-5 PE=1 SV=2
A0A0C4DH72	IGKV1-6	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	35	Immunoglobulin kappa variable 1-6 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-6 PE=3 SV=1
P02042	HBD	7_341\7_341.sepr(7_341:18) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	35	Hemoglobin subunit delta OS=Homo sapiens GN=HBD PE=1 SV=2
E7EX29	YWHAZ	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:12) ::	3	35	14-3-3 protein zeta/delta (Fragment) OS=Homo sapiens GN=YWHAZ PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P63104, K7EM20; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P63104, K7EM20, A0A0J9YWE8, I3L3T1, B4DJF2, A0A0J9YWZ2
U3KQK0	HIST1H2BN	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:13) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:16) ::	3	35	Histone H2B OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=1 : Q99877 Histone H2B type 1-N OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BN PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: O60814, P62807, Q99879, P58876, Q99880, P57053, Q5QNW6, Q93079, Q16778, P33778, P06899, Q8N257, P23527; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P62807, P58876, Q93079, Q5QNW6, P57053, Q99880, O60814, Q99879, Q16778, P06899, P33778, Q8N257, Q96A08
P68032	ACTC1	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:14) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	35	Actin, alpha cardiac muscle 1 OS=Homo sapiens GN=ACTC1 PE=1 SV=1
P01023	A2M	7_341\7_341.sepr(7_341:16) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:12) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	35	Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=3 : F8W7L3 Alpha-2-macroglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1 : F5H1E8 Alpha-2-macroglobulin OS=Homo sapiens GN=A2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P20742
P02774	GC	7_341\7_341.sepr(7_341:11) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:14) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	35	Vitamin D-binding protein OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: D6RF35
P15924	DSP	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:24) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	35	Desmoplakin OS=Homo sapiens GN=DSP PE=1 SV=3
Q6FI13	HIST2H2AA3	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	34	Histone H2A type 2-A OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AA3 PE=1 SV=3; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16777, A0A0U1RRH7, A0A0U1RR32, P0C0S8, P20671, Q9BTM1, Q99878, P16104, Q96QV6, Q93077, Q8IUE6, P04908, Q7L7L0, Q71UI9, C9J0D1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q16777, A0A0U1RRH7, A0A0U1RR32, P0C0S8, P20671, Q9BTM1, Q99878, Q93077, Q7L7L0, P16104, D6RCF2, Q5SQT3, Q71UI9, C9J0D1
P0DJI9	SAA2	7_341\7_341.sepr(7_341:13) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:17) ::	3	33	Serum amyloid A-2 protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=1 SV=1
P01599	IGKV1-17	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	32	Immunoglobulin kappa variable 1-17 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-17 PE=1 SV=2
P02741	CRP	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	32	C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1 : C9JRE9 C-reactive protein OS=Homo sapiens GN=CRP PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VVP7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5VVP7
P04196	HRG	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	32	Histidine-rich glycoprotein OS=Homo sapiens GN=HRG PE=1 SV=1
E9PR14	SAA2	7_341\7_341.sepr(7_341:14) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	32	Serum amyloid A protein OS=Homo sapiens GN=SAA2 PE=3 SV=1
P04217	A1BG	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:14) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	31	Alpha-1B-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=A1BG PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: M0R009
P08123	COL1A2	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:18) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	31	Collagen alpha-2(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A2 PE=1 SV=7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087WTA8
P04430	IGKV1-16	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	30	Immunoglobulin kappa variable 1-16 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-16 PE=1 SV=2
P01601	IGKV1D-16	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	30	Immunoglobulin kappa variable 1D-16 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-16 PE=3 SV=2
O75636	FCN3	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:18) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	30	Ficolin-3 OS=Homo sapiens GN=FCN3 PE=1 SV=2
P23527	HIST1H2BO	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	30	Histone H2B type 1-O OS=Homo sapiens GN=HIST1H2BO PE=1 SV=3
P12111	COL6A3	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:21) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	30	Collagen alpha-3(VI) chain OS=Homo sapiens GN=COL6A3 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ENL6
P61626	LYZ	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	30	Lysozyme C OS=Homo sapiens GN=LYZ PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0B4J259, F8VV32
B0YIW2	APOC3	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	30	Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : P02656 Apolipoprotein C-III OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1 : C9J2Q0 Apolipoprotein C-III (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC3 PE=1 SV=1
P02452	COL1A1	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:13) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	30	Collagen alpha-1(I) chain OS=Homo sapiens GN=COL1A1 PE=1 SV=5
A0A0G2JRQ6	#N/D	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:19) ::	3	29	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Homo sapiens PE=1 SV=4
P01594	IGKV1-33	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:17) ::	3	29	Immunoglobulin kappa variable 1-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-33 PE=1 SV=2 : P01593 Immunoglobulin kappa variable 1D-33 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-33 PE=1 SV=2
Q02413	DSG1	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	29	Desmoglein-1 OS=Homo sapiens GN=DSG1 PE=1 SV=2
P04179	SOD2	7_341\7_341.sepr(7_341:10) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:15) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	28	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial OS=Homo sapiens GN=SOD2 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DFU2, F5GYZ5, F5H4R2, A0A0C4DFU1, A0A0C4DG56, F5GXZ9, G5E9P6
A0A075B6P5	IGKV2-28	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:20) ::	3	28	Immunoglobulin kappa variable 2-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-28 PE=3 SV=1 : P01615 Immunoglobulin kappa variable 2D-28 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-28 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01614, A0A0A0MRZ7, A0A075B6S2, A0A075B6R9, A0A087X0Q4, A0A075B6S6, P06310; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B6S6, A0A087X0Q4, A0A075B6R9, A0A0A0MRZ7
Q7Z3Z0	KRT25	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	27	Keratin, type I cytoskeletal 25 OS=Homo sapiens GN=KRT25 PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
C9JF17	APOD	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:14) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	27	Apolipoprotein D (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOD PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P05090, F8WBT9
P01877	IGHA2	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:14) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	27	Immunoglobulin heavy constant alpha 2 OS=Homo sapiens GN=IGHA2 PE=1 SV=4
P07737	PFN1	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:12) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	27	Profilin-1 OS=Homo sapiens GN=PFN1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: I3L3D5, K7EJ44; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EJ44, I3L3D5
P02654	APOC1	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:12) ::	3	26	Apolipoprotein C-I OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7ERI9 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=1 : K7EKP1 Apolipoprotein C-I (Fragment) OS=Homo sapiens GN=APOC1 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: K7EPF9, K7ELM9, K7EJI9
P02790	HPX	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:12) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	26	Hemopexin OS=Homo sapiens GN=HPX PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q9BS19
A0A075B7D4	IGKV1OR2-108	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	25	Immunoglobulin kappa variable 1/OR2-108 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1OR2-108 PE=1 SV=1
P19652	ORM2	7_341\7_341.sepr(7_341:12) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	25	Alpha-1-acid glycoprotein 2 OS=Homo sapiens GN=ORM2 PE=1 SV=2
A0A1B0GUU9	IGHM	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:12) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	25	Ig mu chain C region (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGHM PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01871, P04220; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01871, P04220
P04004	VTN	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	25	Vitronectin OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=1 : F5GX75 Vitronectin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=VTN PE=1 SV=2
P02743	APCS	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:12) ::	3	25	Serum amyloid P-component OS=Homo sapiens GN=APCS PE=1 SV=2
P80748	IGLV3-21	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:15) ::	3	24	Immunoglobulin lambda variable 3-21 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-21 PE=1 SV=2
P31151	S100A7	7_341\7_341.sepr(7_341:9) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	24	Protein S100-A7 OS=Homo sapiens GN=S100A7 PE=1 SV=4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q86SG5
D6RBJ7	GC	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	24	Vitamin D-binding protein OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1 : D6RF20 Vitamin D-binding protein (Fragment) OS=Homo sapiens GN=GC PE=1 SV=1
K7ER74	APOC4-APOC2	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	23	APOC4-APOC2 readthrough (NMD candidate) OS=Homo sapiens GN=APOC4-APOC2 PE=1 SV=1 : P02655 Apolipoprotein C-II OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : A0A024R0T9 Apolipoprotein C-II isoform 1 OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1 : Q6P163 APOC2 protein OS=Homo sapiens GN=APOC2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYJ8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: V9GYJ8
P13646	KRT13	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	23	Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=4 : K7ERE3 Keratin, type I cytoskeletal 13 OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1 : K7EMD9 Keratin, type I cytoskeletal 13 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=KRT13 PE=1 SV=1
B4E1Z4	#N/D	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	23	cDNA FLJ55673, highly similar to Complement factor B (EC 3.4.21.47) OS=Homo sapiens PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ETN3, P00751, H7C5H1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ETN3, P00751, A0A0G2JH38, P06681, Q8N6L6, F2Z3N2, A0A0G2JL69, H0Y3H6, A0A0G2JK28, A0A0G2JJ82, A2ABG0, A0A0G2JHM4, C9JYQ5, A0A0G2JI59
A0A0B4J2D9	IGKV1D-13	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	22	Immunoglobulin kappa variable 1D-13 OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-13 PE=3 SV=1
Q8N1N4	KRT78	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	22	Keratin, type II cytoskeletal 78 OS=Homo sapiens GN=KRT78 PE=2 SV=2
F8W1S1	KRT74	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	22	Keratin, type II cytoskeletal 74 OS=Homo sapiens GN=KRT74 PE=1 SV=1
Q8IUE6	HIST2H2AB	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	22	Histone H2A type 2-B OS=Homo sapiens GN=HIST2H2AB PE=1 SV=3
P04908	HIST1H2AB	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	22	Histone H2A type 1-B/E OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AB PE=1 SV=2
Q96QV6	HIST1H2AA	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	22	Histone H2A type 1-A OS=Homo sapiens GN=HIST1H2AA PE=1 SV=3
A0A0C4DH67	IGKV1-8	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	21	Immunoglobulin kappa variable 1-8 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-8 PE=3 SV=1
Q14CN4	KRT72	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	21	Keratin, type II cytoskeletal 72 OS=Homo sapiens GN=KRT72 PE=1 SV=2
P62258	YWHAE	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	21	14-3-3 protein epsilon OS=Homo sapiens GN=YWHAE PE=1 SV=1
P01700	IGLV1-47	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:14) ::	3	21	Immunoglobulin lambda variable 1-47 OS=Homo sapiens GN=IGLV1-47 PE=1 SV=2
D6RD17	JCHAIN	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	21	Immunoglobulin J chain (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JCHAIN PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01591, D6RHJ6
A0A0C4DH69	IGKV1-9	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	20	Immunoglobulin kappa variable 1-9 OS=Homo sapiens GN=IGKV1-9 PE=3 SV=1
A0A075B6K5	IGLV3-9	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:13) ::	3	20	HCG2043239 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGLV3-9 PE=1 SV=1
P84077	ARF1	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	20	ADP-ribosylation factor 1 OS=Homo sapiens GN=ARF1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P61204, F5H423, P84085, C9J1Z8, P18085, C9JAK5
P20618	PSMB1	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	20	Proteasome subunit beta type-1 OS=Homo sapiens GN=PSMB1 PE=1 SV=2
P01019	AGT	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	20	Angiotensinogen OS=Homo sapiens GN=AGT PE=1 SV=1
P00747	PLG	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:12) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	20	Plasminogen OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=2 : Q5TEH5 HCG2029799, isoform CRA_b OS=Homo sapiens GN=PLG PE=1 SV=1
P01717	IGLV3-25	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:11) ::	3	20	Immunoglobulin lambda variable 3-25 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-25 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A075B6K0
P31946	YWHAB	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	19	14-3-3 protein beta/alpha OS=Homo sapiens GN=YWHAB PE=1 SV=3
P27169	PON1	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:8) ::	3	19	Serum paraoxonase/arylesterase 1 OS=Homo sapiens GN=PON1 PE=1 SV=3
P62937	PPIA	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	18	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=2 : C9J5S7 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=1 : F8WE65 Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase OS=Homo sapiens GN=PPIA PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RIZ5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E5RIZ5
P05452	CLEC3B	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	18	Tetranectin OS=Homo sapiens GN=CLEC3B PE=1 SV=3 : E9PHK0 Tetranectin OS=Homo sapiens GN=CLEC3B PE=1 SV=1

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P14923	JUP	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:10) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	18	Junction plakoglobin OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=3 : C9JKY1 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JK18 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9J826 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=8 : C9JTX4 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : K7ERP3 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1 : C9JPI2 Junction plakoglobin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=JUP PE=1 SV=1
P81605	DCD	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	17	Dermcidin OS=Homo sapiens GN=DCD PE=1 SV=2
Q15848	ADIPOQ	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	17	Adiponectin OS=Homo sapiens GN=ADIPOQ PE=1 SV=1
P18669	PGAM1	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	17	Phosphoglycerate mutase 1 OS=Homo sapiens GN=PGAM1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8N0Y7; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q8N0Y7, P15259
P05164	MPO	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	17	Myeloperoxidase OS=Homo sapiens GN=MPO PE=1 SV=1
P02747	C1QC	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	17	Complement C1q subcomponent subunit C OS=Homo sapiens GN=C1QC PE=1 SV=3
P25311	AZGP1	7_341\7_341.sepr(7_341:6) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	17	Zinc-alpha-2-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AZGP1 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: C9JEV0
Q5D862	FLG2	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:11) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	17	Filaggrin-2 OS=Homo sapiens GN=FLG2 PE=1 SV=1
P01714	IGLV3-19	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	17	Immunoglobulin lambda variable 3-19 OS=Homo sapiens GN=IGLV3-19 PE=1 SV=2
P19013	KRT4	7_341\7_341.sepr(7_341:7) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	16	Keratin, type II cytoskeletal 4 OS=Homo sapiens GN=KRT4 PE=1 SV=4
P01772	IGHV3-33	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	16	Immunoglobulin heavy variable 3-33 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-33 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P01768, A0A0J9YVT0, P01764, A0A0B4J1X5, A0A0J9YY99, A0A075B7B8, P01767; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0J9YY99, A0A0J9YVT0, P01768, A0A0C4DH42, P01767, P01782, A0A0B4J1X5, A0A0A0MS15, A0A0B4J1X8, P01763, P01762, A0A075B7B8, P01764, A0A075B7E8, A0A0B4J1V1, A0A0C4DH32, A0A075B7F0, P01766, A0A0B4J2B5
P11226	MBL2	7_341\7_341.sepr(7_341:8) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	16	Mannose-binding protein C OS=Homo sapiens GN=MBL2 PE=1 SV=2
P01614	IGKV2D-40	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	16	Immunoglobulin kappa variable 2D-40 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-40 PE=1 SV=2 : A0A087WW87 Immunoglobulin kappa variable 2-40 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-40 PE=3 SV=2
A0A0G2JQJ0	IGKV1D-8	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:9) ::	3	15	Immunoglobulin kappa variable 1D-8 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-8 PE=1 SV=4
A0A075B6S2	IGKV2D-29	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	15	Immunoglobulin kappa variable 2D-29 OS=Homo sapiens GN=IGKV2D-29 PE=3 SV=1
P22352	GPX3	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	15	Glutathione peroxidase 3 OS=Homo sapiens GN=GPX3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A087X1J7, H0YBE4
O95445	APOM	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	15	Apolipoprotein M OS=Homo sapiens GN=APOM PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SRP5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: Q5SRP5
Q08188	TGM3	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:9) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	15	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E OS=Homo sapiens GN=TGM3 PE=1 SV=4
P06310	IGKV2-30	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:10) ::	3	14	Immunoglobulin kappa variable 2-30 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-30 PE=3 SV=2
P08697	SERPINF2	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	14	Alpha-2-antiplasmin OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=3 : C9JMH6 Alpha-2-antiplasmin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=SERPINF2 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, A0A0J9YWQ3, C9JPV4; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JPA8, C9JPV4, A0A0J9YWQ3, A0A0J9YY65
P61769	B2M	7_341\7_341.sepr(7_341:4) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	14	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1 : H0YLF3 Beta-2-microglobulin (Fragment) OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: F5H6I0
P32119	PRDX2	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:8) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	14	Peroxiredoxin-2 OS=Homo sapiens GN=PRDX2 PE=1 SV=5; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A6NIW5
Q92954	PRG4	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	14	Proteoglycan 4 OS=Homo sapiens GN=PRG4 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RR20; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0U1RR20
E9PK25	CFL1	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:7) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	14	Cofilin-1 OS=Homo sapiens GN=CFL1 PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P23528; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P23528, Q9Y281
A0A0C4DH68	IGKV2-24	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:7) ::	3	13	Immunoglobulin kappa variable 2-24 OS=Homo sapiens GN=IGKV2-24 PE=3 SV=1
P05089	ARG1	7_341\7_341.sepr(7_341:5) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	13	Arginase-1 OS=Homo sapiens GN=ARG1 PE=1 SV=2
C9JV77	AHSG	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	12	Alpha-2-HS-glycoprotein OS=Homo sapiens GN=AHSG PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P02765
P01780	IGHV3-7	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	12	Immunoglobulin heavy variable 3-7 OS=Homo sapiens GN=IGHV3-7 PE=1 SV=2
P02748	C9	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	12	Complement component C9 OS=Homo sapiens GN=C9 PE=1 SV=2
P29508	SERPINB3	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	12	Serpin B3 OS=Homo sapiens GN=SERPINB3 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0Y5H9, C9JZ65
F5H6I0	B2M	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	12	Beta-2-microglobulin OS=Homo sapiens GN=B2M PE=1 SV=2
A0A075B6S9	IGKV1-37	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	11	Immunoglobulin kappa variable 1-37 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV1D-37 PE=4 SV=7
P48594	SERPINB4	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:6) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:2) ::	3	11	Serpin B4 OS=Homo sapiens GN=SERPINB4 PE=1 SV=2
G3XAM2	CFI	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	11	Complement factor I OS=Homo sapiens GN=CFI PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: E7ETH0, P05156, A0A087X0I2
P01034	CST3	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	11	Cystatin-C OS=Homo sapiens GN=CST3 PE=1 SV=1
A0A075B6H7	IGKV3-7	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:6) ::	3	10	Immunoglobulin kappa variable 3-7 (non-functional) (Fragment) OS=Homo sapiens GN=IGKV3-7 PE=1 SV=1
A0A0C4DH38	IGHV5-51	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:5) ::	3	10	Immunoglobulin heavy variable 5-51 OS=Homo sapiens GN=IGHV5-51 PE=3 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0G2JMI3

Uni Prot	Gene Name	Exp. Found	Replicate count	Total signal	Description
P25789	PSMA4	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:5) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:2) ::	3	9	Proteasome subunit alpha type-4 OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YL69 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YMZ1 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=8 : H0YMA1 Proteasome subunit alpha type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=1 : H0YKT8 Proteasome subunit beta type (Fragment) OS=Homo sapiens GN=PSMA4 PE=1 SV=8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YN18, H0YMI6; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: H0YN18, H0YMI6, H0YLC2
Q13790	APOF	7_341\7_341.sepr(7_341:3) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	9	Apolipoprotein F OS=Homo sapiens GN=APOF PE=1 SV=2
P02788	LTF	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:4) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:2) ::	3	8	Lactotransferrin OS=Homo sapiens GN=LTF PE=1 SV=6
P06331	IGHV4-34	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:4) ::	3	8	Immunoglobulin heavy variable 4-34 OS=Homo sapiens GN=IGHV4-34 PE=1 SV=2; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0C4DH41, P01825, P01824, A0A0J9YWU9
P18428	LBP	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	8	Lipopolysaccharide-binding protein OS=Homo sapiens GN=LBP PE=1 SV=3
P0C0S5	H2AFZ	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	7	Histone H2A.Z OS=Homo sapiens GN=H2AFZ PE=1 SV=2
P06396	GSN	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	7	Gelsolin OS=Homo sapiens GN=GSN PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: A0A0A0MT01, A0A0A0MS51, A0A0U1RQL8
P17900	GM2A	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:3) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:2) ::	3	7	Ganglioside GM2 activator OS=Homo sapiens GN=GM2A PE=1 SV=4
H0YGX7	ARHGDIB	7_341\7_341.sepr(7_341:2) :: 8_297\8_297.sepr(8_297:2) :: 9_809\9_809.sepr(9_809:3) ::	3	7	Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Fragment) OS=Homo sapiens GN=ARHGDIB PE=1 SV=1; Additional IDs concatenated into MaxParsimony group: P52566