



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DEL 17 β -ESTRADIOL EN EL PERFIL DE PROTEÍNAS
DE *N.brasiliensis***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

VANESSA KARINA ESPINOZA SÁNCHEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profesor: Gutiérrez Ramos Abel
VOCAL: Profesor: González Ibarra Misael
SECRETARIO: Profesor: Francisca Hernández Hernández
1er. SUPLENTE: Profesor: Patricia Arzate Barbosa
2º SUPLENTE: Profesor: Norma Angélica Castellanos Chávez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Unidad de Micología del Departamento de Microbiología y Parasitología,
de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA:

Francisca Hernández Hernández

SUSTENTANTE (S):

Vanessa Karina Espinoza Sánchez

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
1.INTRODUCCIÓN	8
1.1 El género <i>Nocardia</i>	8
1.2 Características de <i>Nocardia brasiliensis</i>	8
1.3 Patologías causadas por <i>Nocardia</i>	9
1.3.1 Nocardiosis.....	11
1.3.2 Actinomicetoma	11
1.4 Hormonas	14
1.4.1 Clases de hormonas	15
1.4.2 Mecanismo de acción.....	16
1.4.3 Hormonas esteroides	17
1.4.4 Estradiol	18
1.5 Proteínas	20
1.5.1 Estudio de las proteínas	20
1.5.2 Identificación y caracterización	25
1.5.2.1 Espectrometría de masas (MS).....	26
2. ANTECEDENTES.....	29
2.1 El género (sexo) y las infecciones	29
2.2 Influencia hormonal en el actinomicetoma y en <i>Nocardia brasiliensis</i>	31
3. JUSTIFICACIÓN.....	34
4. HIPÓTESIS	34
5. OBJETIVOS.....	35
5.1 Objetivo general	35
5.2 Objetivos particulares.....	35
6. MATERIAL	36
7. METODOLOGÍA.....	36
7.1 Confirmación de la viabilidad y pureza del aislado clínico de <i>N. brasiliensis</i>	36
7.2 Estandarización del método de extracción de proteínas totales ...	37
7.3 Estandarización de las condiciones de SDS-PAGE	37

7.4 Crecimiento de <i>N. brasiliensis</i> en presencia de 17 β -Estradiol	37
7.5 Purificación de proteínas	38
Extracción	38
Cuantificación	39
SDS-PAGE	39
Análisis densitométrico	44
Análisis estadístico	40
7.6 Identificación por LC-MS /MS.....	40
8. RESULTADOS.....	41
8.1 Confirmación de la viabilidad y pureza del aislado clínico FM 825 de <i>N. brasiliensis</i>	41
8.2 Estandarización del método de extracción de proteínas y SDS- PAGE	42
8.3 Análisis densitométrico	44
8.4 Análisis estadístico	49
8.5 Identificación por LC-MS/MS.....	52
9. DISCUSIÓN	53
10. CONCLUSIONES	60
11. PERSPECTIVAS.....	61
12. BIBLIOGRAFÍA	62
13. ANEXOS	71
ANEXO 1. Medios de cultivo.....	71
ANEXO 2. Análisis densitométrico (valores de intensidad de pico) ...	71
ANEXO 3. Metodología empleada para la LC-MS / MS.....	73
ANEXO 4. Reporte de la secuenciación de las bandas 18 y 24.	74
banda 18 Control	74
banda 18 CSHN	84
banda 18 10CSHN.....	94
banda 24 Control	104
banda 24 CSHN	109
banda 24 10CSHN.....	116

RESUMEN

El micetoma es una infección subcutánea crónica de la piel y de los tejidos subyacentes con tendencia a afectar los huesos. Es producida por hongos (Eumicetoma) o por bacterias (actinomicetoma). *Nocardia brasiliensis* es el agente causal del 85% de los casos de actinomicetoma.

El actinomicetoma es más frecuente en hombres que en mujeres; en algunos casos se ha modificado el curso clínico durante el embarazo y durante el cambio de la niñez a la adolescencia. Estos antecedentes han motivado que se proponga la posibilidad de que las hormonas modifiquen el desarrollo de *N. brasiliensis* y por lo tanto, la evolución de la infección.

Estudios previos han demostrado que el 17 β -estradiol (E₂) limita el desarrollo *in vivo* del micetoma experimental e induce cambios en la expresión genética de *N. brasiliensis*.

En este trabajo se planteó como principal objetivo determinar si el 17 β -estradiol modifica el perfil proteico de *N. brasiliensis*.

Para esto, la bacteria fue cultivada en caldo infusión cerebro-corazón (BHI) bajo tres condiciones: *N. brasiliensis* crecida en caldo BHI (control); *N. brasiliensis* crecida en caldo BHI adicionado de E₂ a la concentración sérica humana normal (CSHN) y *N. brasiliensis* crecida en caldo BHI adicionado de E₂, a diez veces la CSHN (10CSHN). Los tres cultivos fueron incubados por 8 días, a 28°C, en agitación (100 rpm). Posteriormente se llevó a cabo la extracción de proteínas totales, utilizando el método de Peng y cols., modificado. El extracto proteico fue cuantificado y 20 μ g fueron corridos en un gel de poliacrilamida con gradiente del 4-20%. Separadas las proteínas en el gel, se realizó un análisis densitométrico seguido de un análisis estadístico. Finalmente se eligieron dos fragmentos proteicos para su secuenciación utilizando el método LC-MS/MS.

Por análisis densitométrico se detectaron 29 bandas, en cada uno de los tres carriles, lo que nos indica que aparentemente el 17 β -estradiol, no expresó ni inhibió proteínas diferentes a las del control. Sin embargo se observaron algunas diferencias en la intensidad de la mayoría de las bandas de los carriles que contenían las proteínas resultantes del estímulo hormonal.

Después del análisis estadístico (Anova de dos vías, seguido del estudio de comparaciones múltiples de Tukey, mediante el programa GraphPad Prism 6.0 (CA, USA)) se determinó que solamente 4 bandas fueron significativamente diferentes entre la bacteria tratada y no tratada con la hormona.

De las cuatro bandas con cambios significativos, se eligieron dos para su secuenciación por LC-MS/MS, en el Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. El análisis de los resultados obtenidos de dicho análisis mostró que las proteínas que modificaron su expresión ante el tratamiento con 17 β -estradiol son enzimas que participan en el metabolismo de Carbohidratos y Lípidos de bacterias.

Se concluye que el 17 β -estradiol si modifica la expresión de algunas proteínas *in vitro*, y que éstas están principalmente involucradas en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El estudio a profundidad de estas proteínas aportará información sobre la función bacteriana que es afectada por el estímulo con estradiol.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El género *Nocardia*

El género *Nocardia* pertenece a un extenso grupo de bacterias conocido comúnmente como actinomicetos. El nombre "actinomicetos" se deriva de dos palabras griegas, "atkis", que significa rayo, y "mykes" que significa hongo, por la forma radial de los gránulos formados en las lesiones de los tejidos (1) (2) (3). En un principio los actinomicetos se incluyeron en el estudio de hongos, porque su morfología y desarrollo presentaban gran similitud con estos organismos ya que aparentemente estaban dotados de un micelio verdadero; debido a esto se les denominó "hongos radiados". Sin embargo, actualmente está muy bien sustentada su clasificación dentro de las bacterias. (2)

Las actinobacterias o actinomicetos son bacterias Gram positivas, ramificadas, y se segmentan a medida que van creciendo, formando bacilos difteroides o cocoides.

El género *Nocardia* fue descrito por primera vez por el médico veterinario Edmond Nocard en 1888, quien aisló al microorganismo a partir de un caso de lesiones granulomatosas (linfadenitis) en bovinos. Un año después Trevisan caracterizó el organismo y lo nombró *Nocardia farcinica*, especie que en 1954 se determinó como la especie tipo del género *Nocardia* (1).

Actualmente el género *Nocardia* está clasificado en la familia Nocardiaceae, orden Actinomycetales (4). Los microorganismos dentro de este orden son diversos e incluyen patógenos para el humano como *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* y *Nocardia*. (5)

El género *Nocardia* está formado por bacterias saprobas del suelo, materia orgánica en putrefacción y agua; forman filamentos que se fragmentan en formas cocobacilares. Son Gram positivas. Estas bacterias son aerobias facultativas, catalasa positivas, la mayoría son parcialmente ácido-alcohol resistentes (6) (7) (8). Entre sus características químicas se encuentran: pared celular tipo IV con contenido de ácido meso-diaminopimélico, un patrón de azúcares tipo A (arabinosa y galactosa) y residuos N-glicosilados, presencia de ácidos micólicos de 46-60 átomos de carbono con tres dobles enlaces y con cadenas insaturadas. Además, las especies del género *Nocardia* poseen ácido tuberculoesteárico y menaquinonas; la mayoría son resistentes a la acción de la lisozima y algunas producen pigmentos, generalmente carotenoides.

1.2 Características de *Nocardia brasiliensis*

La especie ahora conocida como *Nocardia brasiliensis* fue originariamente descrita por Lindenberg in 1909 como *Discomyces brasiliensis*. Otros sinónimos dados en los años 20s incluidos en la literatura son: *Streptothrix brasiliensis*, *Oospora brasiliensis*, *Actinomyces brasiliensis*, y *Actinomyces violaceus* subsp. *brasiliensis*. (1)

Nocardia brasiliensis crece en medios de cultivo habituales sólidos y líquidos. Crece también en medios para hongos (agar dextrosa Sabouraud o agar extracto de levadura) y micobacterias (Löwestein-Jensen). En estos medios se observa crecimiento en 8-15 días, en forma de colonias blancas, amarillas, color salmón, anaranjadas, de aspecto yesoso, superficie rugosa y consistencia acartonada. Microscópicamente consiste de bacilos Gram positivos de morfología filamentosa, generalmente ramificados, que se fragmentan en formas bacilares y cocoides. Su morfología es similar a *Actinomyces* sp, del cual se diferencia con la tinción de Kinyoun; *Nocardia* es total o parcialmente ácido alcohol resistente.

En el laboratorio clínico los aislados de *N. brasiliensis* se identifican por su morfología macro y microscópica, métodos bioquímicos, su composición de la pared celular, patrones de sensibilidad a diversos antibióticos como gentamicina, tobramicina, amikacina y eritromicina así como por procedimientos moleculares. (13)

En la **Tabla 1** se muestran las principales pruebas bioquímicas utilizadas para la diferenciación de *Nocardia brasiliensis*.

1.3 Patologías causadas por Nocardia

Actualmente se conocen alrededor de 85 especies de *Nocardia* aceptadas oficialmente (9), aunque el listado taxonómico del NCBI menciona más de 300 (1). La identificación de las especies está basada en sus características fenotípicas y moleculares. Alrededor de 22 especies han sido reconocidas como potencialmente patógenas, entre las cuales se encuentran *N. asteroides*, *N. transvalensis*, *N. brasiliensis*, *N. caviae*, *N. otitidiscaviarum*, *N. farcinica*, *N. cyriacigeorgica*, *N. arthritidis*, *N. abscessus*, *N. nova*, *N. veterana*, *N. asiatica*, *N. beijingensis*, *N. carnea*, *N. takedensis*, *N. crassostreae*, *N. paucivorans*, *N. exalbida*, *N. cerradoensis*, *N. donostiensis*, entre otras. (7) (10) (11). En el ser humano el género *Nocardia* es causante de patologías bien caracterizadas: la nocardiosis, y el actinomicetoma.

Tabla 1 Pruebas bioquímicas comúnmente utilizadas para la identificación de *N.brasiliensis*

Característica	<i>Nocardia brasiliensis</i>
Crecimiento a 45° C	-
Producción de:	
Arilsulfatasa	-
Nitrato reductasa	+
Ureasa	+
Hidrólisis de:	
Adenina	-
Caseína	+
Esculina	+
Hipoxantina	+
Tirosina	+
Xantina	-
Utilización de:	
Acetamida	-
Citrato	+
L- ramnosa	-
D-sorbitol	-

1.3.1 Nocardiosis

La nocardiosis de localización pulmonar es la presentación clínica más común causada por *Nocardia*; la ruta de infección es mediante la inhalación de la bacteria. En consecuencia las manifestaciones clínicas son de tipo respiratorio. La nocardiosis pulmonar puede diseminarse por vía hematológica y presentarse como la forma diseminada, la cual presenta lesiones en uno o más órganos del cuerpo. El sitio más común de diseminación es el SNC, piel, tejido subcutáneo, riñones, articulaciones, huesos, corazón y ojos (12)

Otra forma clínica es la nocardiosis cutánea primaria, que usualmente se desarrolla en pacientes inmunocompetentes; después de la inoculación traumática a través de la piel, se manifiesta como celulitis, pioderma, pústulas o abscesos localizados, similares clínicamente a lesiones causadas por otros organismos piógenos comunes. Puede desarrollar un síndrome linfocutáneo, cuadro que es clínicamente similar a la esporotricosis. (13) (14). El diagnóstico de esta infección se basa principalmente en la observación de filamentos bacterianos en el tejido, esputo o secreción obtenidos del paciente. También se recomienda el cultivo en diversos medios como agar chocolate, agar sangre, agar Lowenstein Jensen, en agar Czapek o en agar dextrosa Sabouraud. Para la identificación de la especie, las pruebas bioquímicas tradicionales son útiles, pero son más confiables los procedimientos moleculares.

1.3.2 Actinomicetoma

Definición. El micetoma es una infección de evolución crónica que afecta piel y tejido subcutáneo. La enfermedad se adquiere por inoculación traumática y puede ser causada por hongos (eumicetoma) o por bacterias (actinomicetoma) de origen exógeno. Clínicamente se caracteriza por

aumento de volumen, deformación de la región afectada y fístulas, por las que drena un exudado purulento o hematópurulento que contiene las formas parasitarias denominadas “granos”. Tiene tendencia a afectar huesos y raramente órganos internos. (15) (16) (17) (18).

En México, su frecuencia es de 3.4 y 96.5%, respectivamente. El principal agente causal del actinomicetoma es *Nocardia brasiliensis* seguido de *Actinomadura madurae*. (17)

La población más afectada son los habitantes de áreas rurales, quienes por sus actividades laborales tienen un mayor riesgo de sufrir heridas traumáticas sépticas y, en consecuencia, una mayor exposición a los agentes causales; su condición clínica se complica por el acceso limitado de la población afectada a los servicios de salud. (19)

El micetoma es considerado una enfermedad ocupacional, ya que se presenta en personas dedicadas a la agricultura, jardinería y ganadería, que están expuestas a múltiples traumatismos (espinas, astillas de madera, clavos, piedras e instrumentos de labranza) que favorecen la inoculación en la piel de los agentes causales. (20) (21)

Predomina en el sexo masculino en una proporción de 4:1. Cuando el actinomicetoma es causado por *Actinomadura madurae*, la proporción mayor se observa en las mujeres (3:2). La enfermedad es más frecuente entre la segunda y cuarta décadas de la vida, aunque se han reportado casos en niños y ancianos. (22)

La topografía predominante de los micetomas es el miembro pélvico (pie en el 42% de los casos), así como el dorso y las extremidades superiores; otros sitios de infección menos frecuentes son el tórax anterior, la pared abdominal, el cuello y la cabeza.

Diagnóstico

A continuación se describen de forma breve los procedimientos más utilizados para fundamentar el diagnóstico de actinomicetoma.

Examen en fresco. Este procedimiento consiste en la observación microscópica directa del material seropurulento con KOH al 10 % o solución salina. En este estudio se observa la presencia de granos; su tamaño, forma y color, son características que contribuyen a identificar el probable agente causal. Los granos de *Nocardia* son pequeños (80-130 μm), en forma redonda, bi- ó multilobulada y frecuentemente presentan prolongaciones bacterianas en forma de clavos en la periferia. (23)

Histopatología. Para este estudio se obtiene un fragmento del tejido afectado, se conserva en formol y se hacen cortes que pueden ser teñidos con Hematoxilina-Eosina o PAS (ácido peryódico de Schiff), en los cuales se encuentran numerosos granos.

Cultivo. El aislado de *Nocardia* puede obtenerse sembrando pus o tejido en medios como agar dextrosa Sabouraud, agar sangre o agar Lowenstein Jensen. Las colonias crecen en 7 a 10 días de incubación a 35-37° C; muestran una superficie rugosa, de color variable de acuerdo al agente causal, pero generalmente es blanco, amarillo o naranja. (24)

Procedimientos moleculares. Para la identificación de agentes del actinomicetoma se han desarrollado métodos moleculares, que consisten en la amplificación de la región 16S por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). (25)

La identificación también puede realizarse por Matrix-assisted laser desorption/ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI TOF MS)

que identifica a los microorganismos a través de su perfil de proteínas. (26)

Tratamiento

La sulfanilamida y sulfadiazina fueron los primeros agentes antimicrobianos usados para el tratamiento del actinomicetoma en 1941. Posteriormente se encontró que la 4,4V-diaminodifenilsulfona también es efectiva. Otros medicamentos ampliamente usados fueron isoniazida, estreptomina, rifampicina y minociclina. A partir de los años 60's el trimetropin-sulfametoxazol (TMP/STX) fué el estándar de oro para el tratamiento de actinomicetoma. En 1980 se utilizó el TMP/STX en combinación con estreptomina y actualmente se usa en combinación con amikacina para tratar los casos severos. (27)

1.4 Hormonas

Las hormonas son sustancias orgánicas producidas por las glándulas y tejidos endócrinos. Estas sustancias generalmente pasan a la circulación general y ejercen su acción en otros tejidos distantes del lugar en que se produjeron, por lo que las hormonas se consideran auténticos "mensajeros químicos". En las últimas décadas, el concepto de "mensajeros químicos" de acción distante ha cambiado, ya que también se consideran hormonas a otras sustancias que ejercen su acción sobre células o tejidos vecinos (paracrina), e incluso sobre las propias células o tejido productor (autocrina), sobre glándulas exocrinas (exocrinia) o sobre organismos ajenos, a través del medio ambiente y las feromonas (ferocrinia). (28)

1.4.1 Clases de hormonas

Se conocen varias clases de hormonas de acuerdo a su composición química.

Péptidos y proteínas. Estas hormonas están formadas por 3 a más de 200 aminoácidos y con peso molecular hasta de 30,000. La mayoría de estas hormonas se sintetizan en el retículo endoplasmico rugoso a partir de la trascrición de uno o de varios genes, dando lugar a secuencias de ácido ribonucleico (RNA) que al madurar eliminan los intrones y puede traducirse en proteínas. En el proceso de formación hormonal suele registrarse la siguiente vía: una gran proteína (pre-hormona), se fragmenta y da lugar a un compuesto de menor tamaño (pro-hormona). Posteriormente, en el aparato de Golgi esta pro-hormona se divide en segmentos que corresponden a la hormona biológicamente activa o a varios componentes con actividad hormonal y se almacenan como gránulos. Más de una hormona puede derivar del mismo gen y dar lugar a fragmentos de péptidos con diferente actividad.

Hormonas esteroideas. Tienen como antecedente químico al colesterol. La síntesis de las hormonas esteroideas se lleva a cabo en las mitocondrias y en el retículo endoplasmático rugoso, no necesitan de la expresión genética sino de enzimas que conviertan al colesterol en el esteroide apropiado. Las células productoras tienen diferentes enzimas y su expresión es controlada principalmente por las hormonas trópicas (hormonas que estimulan la secreción de sustancias hormonalmente activas de otras glándulas endocrinas, diferentes al eje hipotálamo-hipófisis).

Hormonas derivadas de aminoácidos. Estas hormonas se forman por modificación de las cadenas laterales de una molécula de tiroxina o del triptófano. Las hormonas tiroideas se forman por acoplamiento y yodización de dos moléculas de tiroxina mediante enzimas específicas.

Hormonas eicosanoides. Se forman a partir de lípidos y fosfolípidos por la vía del ácido linoleico y del ácido araquidónico. (29)

Las hormonas pueden también clasificarse de acuerdo a las principales funciones orgánicas que modulan. Así, hay hormonas relacionadas especialmente con:

- Crecimiento y desarrollo: (hormona de crecimiento), triiodotironina...
- Procesos digestivos: gastrina, secretina, pancreozimina....
- Metabolismo intermediario: insulina, glucagón, cortisol...
- Filtración renal: aldosterona, vasopresina...
- Sexo y reproducción: testosterona, estradiol, progesterona...
- Neurotransmisión: endorfinas, noradrenalina....

1.4.2 Mecanismo de acción

Receptores. Las hormonas inducen una serie de acciones particulares al unirse con estructuras celulares denominadas receptores hormonales. Estos receptores pueden estar localizados en la membrana celular o en el núcleo. Las hormonas tienen afinidad y especificidad por su receptor.

El número de receptores varía en los diferentes tejidos según sea el órgano blanco de acción de la hormona. La formación del complejo hormona-receptor origina diversas reacciones que expresan el efecto hormonal. (30)

Hormonas que actúan a nivel de membrana. Numerosas hormonas interaccionan con proteínas específicas (receptores) en la membrana plasmática de las células blanco y modifican algunas propiedades de la membrana, como permeabilidad, actividad de una

enzima intrínseca. Por ejemplo, la insulina facilita el paso de glucosa al interior de las células; el glucagon activa la enzima adenilato ciclasa de la membrana del hepatocito. Estas modificaciones a nivel de membrana determinan cambios en el metabolismo de las células sensibles a la hormona.

Hormonas que actúan a nivel nuclear. Otro grupo de hormonas, generalmente de tipo lipídico, atraviesan la membrana celular y llegan al DNA nuclear, modificando la expresión genética. Por acción de la hormona se activan determinados genes y se sintetizan proteínas específicas. En este grupo se encuentran las hormonas esteroides y la triiodotironina.
(31)

1.4.3 Hormonas esteroides

Las hormonas esteroides regulan múltiples procesos biológicos en los vertebrados, entre los que están la reproducción y las conductas asociadas a ella, la homeostasis hidroelectrolítica y la respuesta al estrés.

Las hormonas esteroides proceden de tejidos específicos y se dividen en dos tipos: las hormonas sexuales y progestacionales, y las hormonas suprarrenales. Todas ellas se sintetizan a partir del colesterol y necesitan de un intermediario, la Δ^5 pregnenolona.

La estructura de las hormonas esteroides comparte el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno.

Existen cinco clases principales de hormonas esteroides:

- Progestágenos (principalmente progesterona)
- Glucocorticoides (cortisol)
- Mineralocorticoides (aldosterona)
- Andrógenos (testosterona)

- Estrógenos (estradiol) (32)

Las vías bioquímicas, que incluyen las principales enzimas y su localización intracelular, son similares en ovarios, testículos y suprarrenales.

Los esteroides ováricos utilizan fundamentalmente como sustrato el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad, aunque también el sintetizado de *novo* y almacenado intracelularmente. El colesterol (C-27) pasa al interior mitocondrial por un sistema de microtúbulos proteína quinasa-dependientes y es convertido en pregnenolona (C21) y ácido isocaproico por la enzima 20-22 desmolasa (P450). Este proceso constituye el paso determinante en la biosíntesis de esteroides. La pregnenolona es el precursor necesario de todos los precursores sexuales ováricos, los cuales se pueden dividir en tres grandes categorías: C-18 (estrógenos), C-21 (progestágenos) y C-19 (andrógenos). Una vez formada la pregnenolona, existen dos alternativas enzimáticas:

- La ruta 3 β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (3 β -HDS) que induce la formación de progesterona.
- Hidroxilación en posición 17, que origina la 17-hidroxipregnenolona, la cual a su vez puede romper la unión entre los carbonos 17 y 20 y originar dehidroepiandrosterona. Esta ruta conduce a las síntesis de andrógenos y estrógenos. (28)

1.4.5 Estradiol

Esta hormona es el representante más importante de los estrógenos. Es producido principalmente por el ovario y durante el embarazo por la placenta. El estradiol controla el ciclo menstrual, estimula la proliferación de la mucosa del útero y es responsable de la expresión de los caracteres sexuales secundarios como las glándulas mamarias y la distribución de

grasa corporal etc.) (29) En la **Figura 1** se muestra la vía biosintética del estradiol (33).

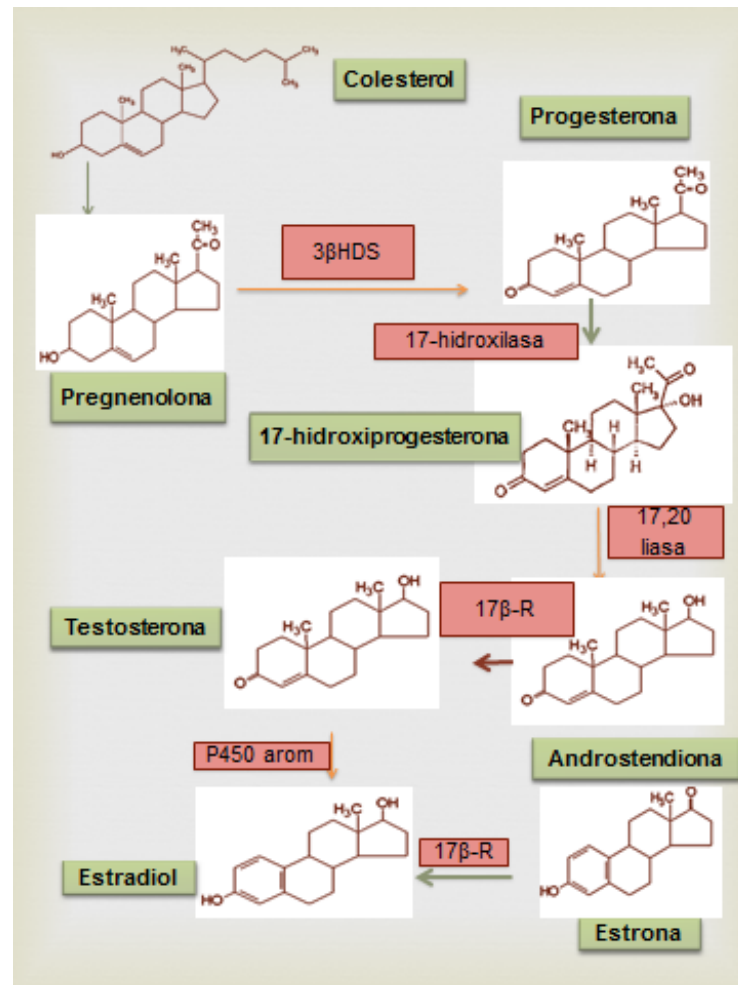


Figura 1. Síntesis de Estradiol. P450arom: P450 aromatasasa; 5 α -R: 5 α -reductasa; 3 β HSD: 3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa; 17 β -R: 17 β -hidroxisteroide deshidrogenasa

1.5 Proteínas

Las proteínas son biomoléculas poliméricas lineales constituidas por aminoácidos unidos por enlaces covalentes (enlaces peptídicos); se pliegan en una estructura tridimensional característica que les confiere una enorme variedad de funciones; expresan la información genética en los seres vivos; forman parte de las estructuras celulares y hacen posible las reacciones químicas del metabolismo celular. (34)

Para comprender los procesos moleculares que ocurren en diferentes estados de salud, es necesario conocer las vías de transducción de señales y las interacciones entre proteínas y otras moléculas que influyen en la función celular.

El proteoma de una célula o de un organelo proporciona información sobre el conjunto de proteínas expresadas en condiciones fisiológicas y en un momento dado, por lo que la proteómica ofrece una nueva e interesante aproximación en la búsqueda de diferencias a nivel de expresión proteica. Para el análisis de proteínas específicas a partir de extractos proteicos totales, sin dianas candidatas previas, es necesario desarrollar un enfoque proteómico. (35)

1.5.1 Estudio de las proteínas

Para el estudio de la estructura y función de una proteína específica es necesaria su purificación a partir de la fuente en estudio. Hay varios factores que deben considerarse para seleccionar un método para purificar una proteína; por ejemplo, el objetivo de estudiar la proteína, sus características, la cantidad que se requiere purificar y el costo.

Selección de la fuente de la proteína. La proteína en estudio puede provenir de microorganismos, tejidos, cultivos celulares, células transformantes, etc. La elección de la procedencia de la proteína debe basarse en criterios como el tipo de proteína, la facilidad para obtener

cantidades suficientes de biomasa, la cantidad de la proteína de interés en el tejido o célula, y cualquier propiedad peculiar de la proteína escogida (como su carga, masa o afinidad por ciertos sustratos), que ayudará en su estabilización y su aislamiento. (36)

Obtención del homogeneizado o extracto crudo y su clarificación o concentración. La homogeneización es un proceso en el que las células y los tejidos son lisados o rotos en fragmentos lo suficientemente pequeños para dar lugar a una suspensión uniforme y estable llamada homogeneizado. Éste se puede obtener utilizando desde un mortero hasta las ondas ultrasónicas, dependiendo de la dificultad que presente el material biológico para romperse. Igualmente importante es la selección de la solución de homogeneización, puesto que será el medio al que estará expuesta la proteína y en el que se pueden adicionar componentes para ajustar el pH, la fuerza iónica, inhibidores de proteasas o algún estabilizador de la proteína. Para eliminar los contaminantes o aclarar la muestra, se puede recurrir al proceso de centrifugación para separar los diferentes componentes del homogeneizado, basándose en su tamaño, forma y densidad.

Precipitación. Este procedimiento puede ser selectivo de proteínas por la adición de sales o disolventes miscibles en agua, donde el objetivo principal es remover los contaminantes más pequeños de forma específica. Para que una proteína precipite, se debe modificar el ambiente que le rodea, debido a que los grupos cargados en su superficie pueden interaccionar tanto con las moléculas de agua como con los iones que se encuentran en solución. Existen varias estrategias para precipitar proteínas, como el cambio de pH, el incremento en la temperatura, la adición de disolventes o de moléculas cargadas, etc.

Remoción de las proteínas contaminantes. Este proceso se lleva a cabo utilizando información basada en la carga, tamaño y afinidad de la proteína. El objetivo es obtener una proteína pura o con mínimas trazas de contaminantes proteicos. Para alcanzar este objetivo se utilizan uno o la combinación de varios métodos cromatográficos, como la cromatografía de exclusión molecular, de intercambio iónico, interacción hidrofóbica y de afinidad. (32)

Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas es importante para el proceso de purificación. Varias plataformas y métodos son válidos para este objetivo; sin embargo los más comunes son los ensayos espectrofotométricos, que requieren una proteína estándar apropiada para hacer una correcta estimación de la concentración.

Por medición de la absorbancia a 280 nm

En este método es posible medir la concentración por medio de la absorbancia en la región de luz ultravioleta. Es el método más simple y rápido para determinar la concentración de proteínas, aunque puede producir resultados poco exactos, sobre todo cuando se tiene una mezcla de proteínas con ácidos nucleicos.

Por métodos colorimétricos

Los ensayos colorimétricos involucran la adición de una sustancia química capaz de reaccionar con determinados residuos aminoacídicos. El resultado de estas reacciones es el cambio de color en la solución, que después es cuantificado por absorbancia. En general, estos métodos son más sensibles que la cuantificación por absorbancia directa a 280 nm. Posteriormente, para determinar la concentración de proteínas totales de la muestra a analizar, los resultados de absorbancia se interpolan a una curva de calibración construida utilizando una proteína estándar, por lo

general albúmina sérica bovina (BSA, bovine seric albumin), cuya concentración es conocida. (37) Los ensayos colorimétricos más utilizados son:

- **Ensayo de Bradford (595nm):**

Es uno de los métodos más sensibles. Es rápido y muy sencillo y además no presenta interferencia con sustancias reductoras como el DTT y el β -mercaptoetanol, que sí interfieren con los ensayos de Lowry y BCA (Bicinchoninine acid assay). La desventaja es que es altamente sensible a detergentes y lípidos.

El método se basa en la unión específica del colorante azul de Coomassie (CBBG, Coomassie brilliant blue G250) a los residuos de Arg, Trp, Tyr, His y Phe de las proteínas. El CBBG se une a los residuos de las proteínas produciendo una absorbancia máxima a 595 nm, mientras que el colorante libre tiene una absorbancia máxima a 470 nm. (38)

- **Ensayo de Lowry (750 nm):**

En este método la proteína en disolución básica reacciona con cobre formando un compuesto colorido por coordinación entre los nitrógenos del péptido con el ion metálico; al añadir el reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato), se incrementa la cantidad de color desarrollado. Este aumento en el color ocurre cuando el complejo de cobre tetradentado transfiere los electrones al complejo fosfomolibdato/ fosfotungstato, reacción que produce una coloración azul que se lee a 750 nm. Esta reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu ocurre solamente con los residuos de tirosina y triptófano de la proteína. (39)

- **Ensayo BCA (Bicinchoninine acid assay) a 562 nm**

Este método es más sensible que Lowry y puede realizarse en un amplio rango de temperaturas. También es sencillo, pero requiere de tiempos de incubación un poco más largos. Los complejos coloreados son muy estables. Aunque es altamente susceptible a interferencias; no interfiere con detergentes y lípidos. (38)

Monitoreo del proceso de purificación

Una técnica muy importante para realizar el monitoreo de purificación es la electroforesis. Esta técnica puede usarse para separar y comparar una mezcla compleja de proteínas, evaluar la pureza de una proteína durante el proceso de aislamiento y conocer algunos valores aproximados de las características fisicoquímicas de las proteínas como la composición de subunidades, punto isoelectrico, tamaño y carga. En la electroforesis, la migración de las proteínas ocurre cuando se establece un campo eléctrico. La velocidad de la migración depende de la fuerza del campo eléctrico aplicado y de la carga neta de las moléculas a separar. La muestra se encuentra disuelta en un amortiguador de corrida; cuando éste se encuentra en un pH cercano a 9.0, la mayor parte de las proteínas se encontrarán cargadas negativamente, por lo que al aplicar el campo eléctrico migrarán al ánodo. En condiciones normales, la migración diferencial de las proteínas dependerá tanto de la carga como del tamaño y estructura de la proteína, pero cuando se trata de un gel en el que se ha incluido un agente desnaturante de proteínas como el dodecil-sulfato de sodio (SDS), se pierde la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas y se uniforman sus cargas, por lo que la migración sólo depende de su peso molecular. (40)

El SDS es un detergente aniónico que desnaturiza las proteínas en la muestra, uniéndose fuertemente a la molécula desenrollada.

Aproximadamente una molécula de SDS se une por cada dos aminoácidos. El SDS enmascara la carga superficial de las proteínas nativas y crea una carga neta negativa resultante de los grupos sulfato en la molécula del SDS. Por lo tanto la relación carga/tamaño es igual para todas las proteínas, y la separación puede ser alcanzada solo en base al tamaño. Proteínas de pesos moleculares bajos viajan rápido en el gel, mientras que las proteínas de pesos moleculares altos, se mueven lento en el gel, ya que el tamaño del poro del gel entorpece el paso de las proteínas de mayor peso molecular. Debido a que las proteínas son separadas en base al tamaño, sus pesos moleculares pueden ser estimados por el corrimiento de un estándar de proteínas de peso molecular conocido, simultáneo al corrimiento de las muestras. (41)

En el gel de poliacrilamida, las cadenas de este polímero se entrecruzan con la N N'-metilenbisacrilamida para formar una red. La tetrametilendiamina (TEMED) es el agente iniciador de la polimerización y el ion persulfato ($S_2O_8^{2-}$) realiza la función de catalizador favoreciendo la formación de radicales libres. (40)

1.5.2 Identificación y caracterización de proteínas

El siguiente paso es la detección de las proteínas separadas. A la identificación sigue la cuantificación, por ejemplo, mediante sistemas de captación de imágenes o mediante emisión de fluorescencia.

El siguiente paso es la detección de proteínas individuales; el procesamiento de los geles es viable gracias al uso de sistemas totalmente automatizados, capaces de reconocer las posiciones del gel ocupadas por proteína y cortarlas. (40)

1.5.2.1 Espectrometría de masas (MS).

En la actualidad la espectrometría de masas es el método de elección para la identificación de proteínas a gran escala debido a su rapidez y elevada sensibilidad. Es el primer paso para el estudio a profundidad de las proteínas de distintos organismos.

La espectrometría de masas es una técnica analítica en la que los átomos o moléculas de la muestra son ionizados, con mayor frecuencia positivamente, separados por su relación masa/carga (m/z) y posteriormente detectados y registrados. (42)

El análisis por espectrometría de masas se realiza en cuatro etapas básicas:

- Introducción de la muestra.
- Ionización de la muestra (los átomos o moléculas son transformadas en especies iónicas en fase gaseosa)
- Separación y análisis de los iones moleculares.
- Obtención del espectro de masas. (43)

Introducción de la muestra. Los espectrómetros de masas están equipados con diversos sistemas de entrada capaces de adaptarse a las distintas muestras.

Sistema de entrada indirecta en el que la muestra se volatiliza externamente y se introduce en la región de ionización.

Sistema por sonda directa utilizado para la introducción directa de líquidos y sólidos no volátiles.

Sistema especial para la introducción de muestras en espectrómetros acoplados a técnicas de separación como

cromatografía de líquidos, cromatografía de gases o electroforesis capilar. (44)

Ionización de la muestra. La función de la fuente de ionización en un equipo de MS es aplicar energía a la muestra para generar moléculas cargadas positiva o negativamente, es decir, se encuentren "eléctricamente cargadas" (iones). Para la identificación de proteínas existen técnicas de ionización en las que la energía impartida hace que las moléculas sólo adquieran carga (ionización suave); los métodos más comúnmente usados son Ionización MALDI (Matrix-assisted laser desorption/ ionization) y ESI (Electrospray ionization). (45)

Ionización MALDI. En este método, la muestra es embebida en una matriz orgánica (generalmente sustancias orgánicas que absorben la energía láser, como el ácido-ciano-4-hidroxi-transcinámico, el ácido 2,5 dihidrobenzoico, o el ácido sinapínico), la cual cristaliza en contacto con el aire; la mezcla resultante se deposita en una tarjeta de material conductor y se irradia con un láser, causando la desestructuración de la matriz, generando una nube de partículas. Los iones de dicha nube se extraen al ser sometidos a un campo eléctrico, a través del cual estos son acelerados debido a su carga. Los iones obtenidos son dirigidos hacia el analizador de masas y, posteriormente, al detector.

Ionización ESI. Para este proceso la muestra se disuelve en un solvente orgánico y es inyectada a través de un capilar. La diferencia de potencial se genera en un electrodo que está en contacto con el capilar, mientras que el otro electrodo se sitúa en el detector del espectrómetro. Cuando la muestra sale del capilar se genera una nube de pequeñas gotas cargadas que da lugar a los iones en fase gaseosa. Con esta tecnología, aplicando una diferencia de potencial positiva o negativa se pueden generar cationes o aniones. (43)

Separación de los iones. El analizador tiene dos misiones fundamentales: separar los iones en función de su relación m/z y enfocar los iones separados hacia un determinado punto. El movimiento de las partículas cargadas permite distinguir unas de otras en función de la energía cinética de cada ión, de la velocidad o del momento de fuerzas. Los distintos analizadores aprovechan alguna o varias de estas propiedades para separar los iones de distintas masas. (44)

Una variedad de analizadores de masas están disponibles para realizar estas mediciones, incluyendo cuadrupolo (quadrupole), trampa de iones (ion-trap), tiempo de vuelo (time-of-flight), sector magnético (magnetic sector), resonancia ciclotronica de iones (ion cyclotron resonance) y otros. (26)

El detector registra y amplifica la señal proveniente del analizador de masas; posteriormente la envía al procesador de datos en donde esta información se registra en forma de espectro de masas, que es una representación gráfica de los iones separados por su valor de m/z y ajustados de acuerdo al porcentaje de las especies más abundantes en la muestra (44)

Espectrometría de masas en tándem

La palabra tándem tiene la acepción de "conjunto de dos elementos que se complementan". Un equipo de MS/MS está constituido de seis componentes básicos: 1) sistema de introducción de muestra; 2) fuente de ionización; 3) primer analizador de masas (MS1); 4) cámara o celda de colisión; 5) segundo analizador de masas (MS2); 6) detector. La técnica usualmente se abrevia como: tándem MS ó MS/MS.

2. ANTECEDENTES

En el humano las hormonas esteroides sexuales como la progesterona (P₄), el estradiol (E₂) y la testosterona (T), tienen un número importante de funciones incluidas la reproducción, la diferenciación, el desarrollo, la proliferación celular, la apoptosis, la inflamación, el metabolismo, la homeostasis y las funciones cerebrales. Sin embargo también pueden afectar el metabolismo, crecimiento, o virulencia de microorganismos patógenos. (46)

2.1 El género en las infecciones

Datos epidemiológicos derivados de diversos estudios han demostrado que muchas enfermedades infecciosas han sido claramente predominantes entre hombres y mujeres. Por ejemplo las infecciones causadas por Micobacterias ocurren más frecuentemente en hombres que en mujeres. Este es el caso de *Mycobacterium tuberculosis*, que produce un alto número de casos de tuberculosis en pacientes del género masculino, fenómeno que podría involucrar a las hormonas esteroides. (47)

También se ha demostrado que ratones macho, infectados con *M. marinum*, son más susceptibles que las hembras, a la colonización bacteriana en pulmones y a la mortalidad. Al tratar a las hembras con testosterona, aumenta la susceptibilidad, y consecuentemente incrementa la infección. Se ha observado que la castración de los machos, causa una disminución de la infección, sugiriendo que la testosterona es responsable de la susceptibilidad a las infecciones por *M. marinum*. (48)

En ratones infectados con *Pseudomonas aeruginosa*, se ha encontrado que indicadores como pérdida de peso, carga bacteriana y mediadores de inflamación en el pulmón, fueron más frecuentes en hembras que en machos, sugiriendo un posible papel de los estrógenos en la predisposición de las hembras a la infección por *P. aeruginosa* (49)

La producción de hormonas sexuales en muchos hongos ha sido detectada. Estas sustancias están involucradas en la formación de estructuras sexuales especializadas e induce la conjugación genética para mejorar su adaptación ambiental. (50)

Respecto a las infecciones por hongos, se conoce que la coccidioidomicosis es mucho más frecuente en hombres que en mujeres. Sin embargo las mujeres embarazadas están altamente predispuestas a desarrollar la forma diseminada de la enfermedad. Estudios *in vitro* se ha demostrado claramente que el aumento del crecimiento y la maduración de *Coccidioides immitis* es estimulado por hormonas esteroides humanas. (51)

En la paracoccidioidomicosis, una marcada predilección para hombres ha sido observada. Los estudios *in vitro* muestran que el estradiol inhibe la transición micelio-levadura y conidio-levadura de *Paracoccidioides brasiliensis*, lo cual explica parcialmente la menor frecuencia de la enfermedad en las mujeres. (52) (53)

Una significativa disminución en el crecimiento de *Phialophora verrucosa* fue encontrada después de ser crecida en medio conteniendo progesterona y testosterona. Estudios previos con progesterona han mostrado una disminución similar en el crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes* y otros dermatofitos. En *Pyrenochaeta romeroi* (*Medicopsis romeroi*) y *Madurella mycetomatis*, agentes de eumicetoma, la progesterona también induce una disminución en el crecimiento de la colonia. (54)

Se ha demostrado que algunos hongos poseen proteínas citosólicas de unión a estradiol, las cuales podrían mediar los efectos de la hormona en la patogenicidad fúngica. *Candida albicans*, por ejemplo, tiene tanto proteínas de unión a estrógenos (EBP) que favorecen una alta afinidad para el estradiol y estrona, como una proteína de unión a corticosteroides

que confiere una alta afinidad para la corticosterona y la progesterona. (55)

2.2 Influencia hormonal en el actinomicetoma y en *Nocardia brasiliensis*

En el actinomicetoma, los factores de predisposición del paciente no han sido claramente demostrados, en tanto que algunos han sido históricamente considerados; tal es el caso del sexo, ya que los hombres han sido afectados más que las mujeres (56). Esta susceptibilidad que presentan los hombres al micetoma ha sido reportada en diversos estudios (17) (19) (20) (23) (50) (57) (58)(59) (60).

El actinomicetoma afecta con mayor frecuencia al hombre que a la mujer, en una relación aproximada de 3:1. (21) Un factor importante para explicar esta diferencia de casos entre el hombre y la mujer es el efecto que podrían tener las hormonas sexuales sobre los agentes causales más frecuentes.

En el humano, algunas observaciones clínicas indican que el embarazo y la pubertad pueden agravar o mejorar el curso clínico de la infección. Considerando que el cuerpo humano está permanentemente impregnado de hormonas, es razonable sugerir que estas moléculas desencadenen o activen algunas cascadas de señalización que terminen por modificar el comportamiento del agente infeccioso causante de micetoma en el hospedero. (19)

La presencia de hormonas podría explicar parcialmente la diferencia en la frecuencia de la enfermedad entre hombres y mujeres.

Hernández-Hernández y cols., en estudios *in vitro* demostraron que el crecimiento de la colonia de *Nocardia brasiliensis* es inhibido ante la presencia de progesterona y testosterona, mientras que con estradiol no se observaron cambios significativos. En sus estudios *in vivo*, evaluaron

la evolución del micetoma experimental en ratones hembras a las cuales les administraron progesterona o estradiol, y a ratones machos les administraron testosterona, previo y posterior a la infección con *N. brasiliensis*. Se midió el diámetro del cojinete plantar para evaluar el volumen la región afectada por la bacteria; también, se realizó estudio histológicos para determinar número de granos y en consecuencia el índice de invasividad. Del tejido infectado también se subcultivó para determinar el número de retrocultivos positivos. Los autores demostraron que el grupo de hembras tratadas con estradiol presentaron menor volumen de las lesiones, menor índice de invasividad y menor número de retrocultivos positivos. (50)

Jasso-Escutia demostró, por RAP-RT-PCR, que el estradiol y la testosterona modifican la expresión genética de *Nocardia brasiliensis*. Ella detectó 7 posibles proteínas que modifican su expresión en presencia de las dos hormonas, las cuales fueron:

- Proteínas hipotéticas
- PBR (phenazine biosynthesis regulator)
- Rrna (adenina -N (6)-)-metiltransferasa
- Hidrolasa de pared celular
- Anhidrasa carbonica
- Carboxilesterasa
- Subunidad E1 de la piruvato deshidrogenasa

Las primeras 5 proteínas probablemente son producidas naturalmente por *N. brasiliensis* ya que se expresaron en ausencia del estímulo hormonal, mientras que la piruvato deshidrogenasa y Carboxilesterasa se expresaron en presencia de estradiol y testosterona respectivamente.

Paredes-Amaya demostró mediante el uso de la técnica de despliegue diferencial con primers aleatorios (RAP-PCR), que la

progesterona y la dihidrotestosterona modifican la expresión de 25 genes de *N. brasiliensis*. De estos, 20 fueron clonados y secuenciados, de los cuales 13 correspondieron a proteínas hipotéticas, Paredes-Amaya considera que por lo temprano de su expresión, estas proteínas modificadas podrían estar participando en el metabolismo y/o virulencia de *N. brasiliensis* y por lo tanto estar modulando el comportamiento del microorganismo en el transcurso de la infección. (58)

3. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que la evolución del actinomicetoma experimental murino causado por *N. brasiliensis*, es modificada por el efecto de las hormonas esteroides. También se sabe que las hormonas esteroides humanas inducen cambios en la expresión genética de *N. brasiliensis*. Actualmente se desconoce el efecto de estas hormonas en la expresión de proteínas que pudieran estar relacionadas con genes asociados con el crecimiento bacteriano o con la fisiopatogenia de la enfermedad.

4. HIPÓTESIS

Si el 17 β -estradiol es capaz de modificar la evolución del actinomicetoma causado por *Nocardia brasiliensis* y de modificar la expresión de algunos genes bacterianos *in vitro*, es probable que esta hormona influya en la expresión de proteínas totales.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

- Identificar las proteínas de *N. brasiliensis* que modifican su expresión ante el estímulo con 17 β -estradiol.

Objetivos particulares

- Identificar viabilidad y pureza del aislado clínico FM 825 de *N. brasiliensis*
- Estandarizar la técnica de extracción de proteínas totales
- Estandarizar las condiciones del SDS-PAGE
- Realización de los métodos estandarizados para purificación de proteínas totales
- A través de un análisis densitométrico detectar las proteínas de *N. brasiliensis* que son modificadas en su expresión ante la presencia de 17 β -estradiol, tomando como referencia las proteínas provenientes de *N. brasiliensis* sin tratamiento hormonal.
- Realizar un análisis estadístico para demostrar si existe diferencia significativa en la síntesis de proteínas entre el control y el tratamiento hormonal a dos concentraciones.
- Identificar, por lo menos una de las proteínas que modifiquen su expresión cuando *N. brasiliensis* es tratada con 17 β -estradiol.

6. MATERIAL

Cepa bacteriana:

Se utilizó el aislado clínico de *Nocardia brasiliensis* FM825 obtenido en Octubre de 2007 a partir de secreción de un paciente masculino de 54 años de edad, originario de Puebla, México, con actinomicetoma en extremidad inferior.

Esta cepa fue previamente identificada por procedimientos morfológicos, bioquímicos y moleculares y ha sido utilizada en estudios previos. (58) (61) (57)

Hormona:

17 β -Estradiol (P.M. 272.38) de Sigma Chemical Co.

7. METODOLOGÍA

7.1 Confirmación de la viabilidad y pureza del aislado clínico FM 825 de *N. brasiliensis*

Nocardia brasiliensis fue reactivada en 100 mL de caldo BHI, por 5 días a 28°C en agitación (100rpm). Al tercer día se separó la masa bacteriana por filtración, seguido de lavados con PBS. Una parte fue utilizada para verificar la morfología y pureza de la cepa, para lo cual se hizo una resiembra en los medios de cultivo: Agar agua de coco y Agar Triptona-Glucosa (ATG). Así mismo se realizó tinción de Gram y de Kinyoun para determinar morfología microscópica. Otra parte de la masa bacteriana fue

utilizada para preparar una suspensión con SSI a una concentración de 18×10^8 células/mL, para ser utilizada como inóculo.

7.2 Estandarización del método de extracción de proteínas totales

La extracción de proteínas se llevó a cabo usando los métodos propuestos por Peng Yin y col. (62) y Lanigan y cols (63). A estos métodos, utilizados para extracción de proteínas de actinomicetos, se les hicieron algunos ajustes para aplicarlos a *N. brasiliensis*.

7.3 Estandarización de las condiciones de SDS-PAGE

Se depositaron diferentes cantidades de proteínas totales para cargar en el gel de poliacrilamida. Se ensayaron diferentes cantidades de proteínas, de diferentes concentraciones de poliacrilamida en el gel, diferentes voltajes y tiempos de corrimiento.

7.4 Crecimiento de *N. brasiliensis* en presencia de 17β -Estradiol

Preparación del inóculo bacteriano. A partir de un cultivo de *N. brasiliensis* de 3 días de edad, crecido en caldo BHI en agitación (100 rpm), se preparó una suspensión bacteriana en solución salina isotónica, a una concentración equivalente a 18×10^8 células/mL.

Preparación de la solución hormonal.

El E_2 fue preparado utilizando etanol absoluto como diluyente a una concentración de 3.180 mM.

La CSHN de 17β -Estradiol corresponde a 200 pg/mL (equivalente a la concentración normal en sangre de una mujer adulta durante la fase folicular del ciclo menstrual, etapa en que el estradiol se encuentra en altas concentraciones) (50).

Inoculación del medio de cultivo con *N. brasiliensis* y hormona.

Tres matraces Erlenmeyer de 250 mL, que contenían 100 ml de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), fueron inoculados con 10 mL de la suspensión de *N. brasiliensis*. El primer matraz contenía únicamente el inóculo bacteriano y fue usado como control. El segundo matraz fue adicionado con la cantidad necesaria de E₂ para lograr una cantidad equivalente a la CSHN; al tercer matraz se le adicionó la cantidad de E₂ necesaria para lograr 10 veces la CSHN. Los tres matraces fueron incubados a 28°C, a 100 rpm por 8 días.

7.5 Estudio de las proteínas

Extracción

Al término de los 8 días de incubación, se procedió a la recuperación de la masa bacteriana por medio de filtración con papel filtro estéril, seguido de lavados con PBS estéril 1X, con la finalidad de eliminar residuos del medio de cultivo.

La masa bacteriana fue secada con papel filtro y fue macerada utilizando Nitrógeno líquido en un mortero estéril, hasta obtener un polvo fino, el cual fue resuspendido en un amortiguador que contenía Tris-HCl 40 mM, pH 7.4 y 17 µl de inhibidor de proteasas (Protease Inhibitor Cocktail P8849-1ML, Sigma). Esta mezcla fue centrifugada a 9000 rpm por 30 min a 4°C; se recuperó el sobrenadante y se precipitó con tres volúmenes de ácido tricloroacético (TCA) al 10% con ditioneitol (DTT) 20 mM en acetona fría; se conservó a -20°C por 2 horas, se centrifugó a 9000 rpm por 15 minutos a 4°C, se realizaron tres lavados con DTT 20 mM en acetona fría y el sedimento fue resuspendido en Tris-HCl 10 mM pH 8.0

Cuantificación

La concentración de proteínas solubles se determinó por triplicado con el método de Bradford, previa construcción de una curva estándar con cantidades conocidas de Albumina Sérica Bovina (BSA). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (Jenway Genova) a una longitud de onda de 595 nm.

SDS-PAGE

La electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), se utilizó para evidenciar la calidad del proceso de purificación de las proteínas. Para esto se mezcló el volumen equivalente a 20 µg de proteína, se mezcló con el amortiguador de carga (0.5M Tris-HCl, glicerol, 10% SDS, 0.5% azul de Bromofenol) en una relación 1:1, se calentó a 95° C por 5 min. Posteriormente se depositaron las muestras en los pozos de un gel pre-hecho de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) en gradiente del 4 al 20% (Mini-Protean[®] TGX[™] Precast Gels de BIO-RAD). Simultáneamente con las muestras se corrieron cinco microlitros del marcador de peso molecular Precision Plus Protein[™] All Blue Prestained Protein Standards de BIO-RAD. El amortiguador de corrida contenía Tris Base 0.05M, glicina 0.38M y SDS 0.1%. El gel fue corrido en una cámara Mini-V8.10 Vertical Gel Electrophoresis Sistem y la fuente de poder Model 9009 TC programmable Electrophoresis power Supply. El gel se corrió a 120V constantes por 120 min.

Para la visualización de las proteínas, el gel fue teñido con Coomassie Brilliant Blue R-250 Staining Solution y posteriormente desteñido con una solución mixta conteniendo metanol 45% y ácido acético 10%.

Análisis densitométrico

Una vez concluida la corrida electroforética se realizó un escaneo del gel utilizando el densitómetro ChemiDoc MP System de Bio-Rad, controlado por el programa "Quantity One". Con este programa se determinó el factor de retardo (Fr) y el peso molecular (PM) de las proteínas corridas en el gel. Para la determinación del PM de las proteínas en el SDS-PAGE se utilizó como patrón el marcador de peso molecular antes mencionado.

Análisis estadístico

En las tres condiciones, para el análisis del PM de cada banda proteica se consideró el promedio y la desviación estándar (DE) de las tres repeticiones experimentales. El análisis de la intensidad de los picos registrados para cada banda proteica se realizó comparando el resultado de cada experimento por separado en cada condición (Control vs CSHN vs 10CSHN). Para ambos procedimientos descritos se determinó la significancia estadística entre los diferentes tratamientos, aplicando un análisis Anova de dos vías, seguido del estudio de comparaciones múltiples de Tukey, mediante el programa GraphPad Prism 6.0 (CA, USA). Se consideró un valor de $p < 0,05$ para establecer la diferencia significativa.

7.6 Identificación por Cromatografía líquida acoplada a Espectrofotometría de masas en tándem (LC/MS MS)

De las bandas de proteínas en las que se detectó una diferencia de intensidad significativa en el análisis estadístico, se consideraron dos para su identificación, basados en la intensidad visual de banda y la facilidad de recuperación a partir del gel.

Estas bandas fueron cortadas del SDS-PAGE, colocadas en un tubo de 1.6 mL en 20 μ L de agua mQ estéril y enviadas al Departamento de Proteómica del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del

Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), Unidad Irapuato, para su identificación. En ese Instituto, para este fin aplican la cromatografía de líquidos asociada a espectrometría de masas. En el **Anexo 3** se muestra la metodología utilizada.

8. RESULTADOS

8.1 Confirmación de la viabilidad y pureza del aislado clínico FM 825 de *N. brasiliensis*

La morfología macroscópica y microscópica de la cepa de *N. brasiliensis* FM 825 utilizada en el presente estudio es mostrada en la **Figura 2**. Sus características son totalmente compatibles con las reportadas en la literatura (64). En la morfología microscópica se observan filamentos finos ($\leq 1\mu\text{m}$ de diámetro), Gram positiva (Figura C) y parcialmente ácido alcohol resistente (Figura D).

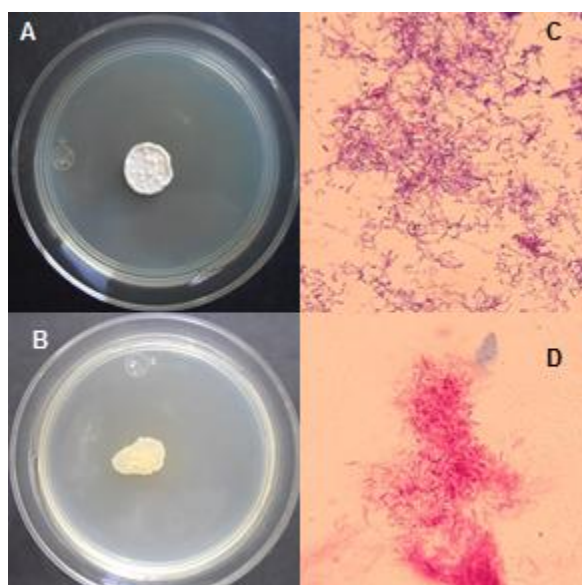


Figura 2. Morfología macroscópica obtenida en ATG (A) y en AAC (B) y microscópica con la tinción de Gram (C) y de Kinyoun (D) de *Nocardia brasiliensis*.

8.2 Estandarización del método de extracción de proteínas y SDS-PAGE

Después de algunas modificaciones hechas al método de extracción de proteínas descrito por Peng y Lanigan (62) (63), de las condiciones para el corrimiento electroforético, se determinaron las condiciones mostradas en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Condiciones finales utilizadas para la extracción de proteínas y SDS-PAGE de *Nocardia brasiliensis*.

Parámetro	Condición
Inoculo bacteriano en caldo BHI	10 mL de una suspensión equivalente a 18×10^8 células / MI para 100mL de caldo BHI
Cantidad de masa bacteriana macerada	1 g
Condiciones de crecimiento bacteriano	8 días en caldo BHI, a 28°C, a 100 rpm*
Método de extracción	Peng y Lanigan (62) (63)
Cantidad de proteínas para cargar el gel	20 µg
Porcentaje de poliacrilamida usado en el gel	Gradiente de 4 - 20%
Voltaje de corrimiento del gel	120 V 100 min

* Basado en la curva de crecimiento determinada por Jasso-Escutia, 2013.

En la Figura 3 se muestra el gel de electroforesis; Carril M: marcador de peso molecular; Carril 1: proteínas de *N. brasiliensis* sin estímulo hormonal (control); Carril 2: proteínas de *N. brasiliensis* incubada con E₂ CSHN; Carril 3: proteínas de *N. brasiliensis* incubada con E₂ 10XCSHN.

Se determinó que las condiciones de extracción de proteínas fueron eficientes, ya que las proteínas se observaron bien definidas, bien separadas y en cantidad suficiente para continuar el estudio. Se observó también que, independientemente del tratamiento que se le dé a la bacteria, la mayor concentración de proteínas se encuentra entre los 75 y los 37 KDa, razón por la que se usaron geles en gradiente. Las bandas correspondientes al control presentaron una intensidad menor a las bandas correspondientes a la bacteria tratada con hormona, lo que podría indicar que el 17β-estradiol cause modificaciones en la producción de proteínas, ya sea expresando nuevas proteínas (inexistentes en el control) o aumentando la expresión de algunas proteínas ya existentes.

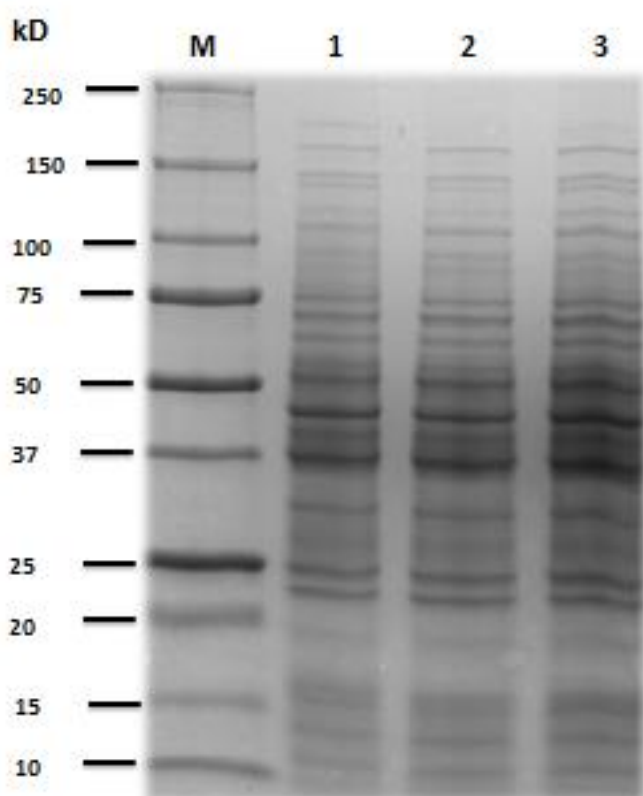


Figura 3. Electroforesis en gel de poliacrilamida 4-20%, teñido con azul de Coomassie. 1: *Nocardia brasiliensis*, 2: *Nocardia brasiliensis* + CSHN E₂, 3: *Nocardia brasiliensis* + 10 CSHN E₂

8.3 Análisis densitométrico

Con la finalidad de determinar el patrón de proteínas en ausencia y presencia del estímulo hormonal con 17 β -estradiol a dos concentraciones, se llevó a cabo el análisis densitométrico.

Este análisis detectó la presencia de 29 bandas proteicas tanto en el control, como en los dos tratamientos con hormona, con su correspondiente peso molecular basado en el Rf, el cual es proporcional a los pesos moleculares del marcador; la intensidad de una banda expresada en pixeles indica la cantidad que hay de proteína en cada banda. Después del análisis de cada carril se detectó que la mayoría de las proteínas provenientes de la bacteria con tratamiento hormonal presentaban una intensidad de pico mayor con respecto al control, lo que podría indicar una mayor producción de proteínas al estimular a la bacteria con estradiol.

En las **Figuras 4, 5, 6, 7 y 8** se muestran las graficas que corresponde a cada una de las bandas observadas con y sin estímulo hormonal.

Las figuras representan la intensidad de banda contra el factor de retardo (Rf); cada pico representa una banda; los picos rojos indican el comportamiento que tienen las proteínas del control; los picos verdes representan las proteínas resultantes del tratamiento con la CSHN y los

picos amarillos son las proteínas correspondientes al tratamiento con E₂ 10XCSHN.

Tanto en el análisis numérico como el visual se observó que en la mayoría de los casos la intensidad de las bandas control es menor a la intensidad de las bandas obtenidas con el tratamiento hormonal, (**ANEXO 2**). No se detectó aparición de nuevas bandas ni inhibición de ninguna por el efecto hormonal.

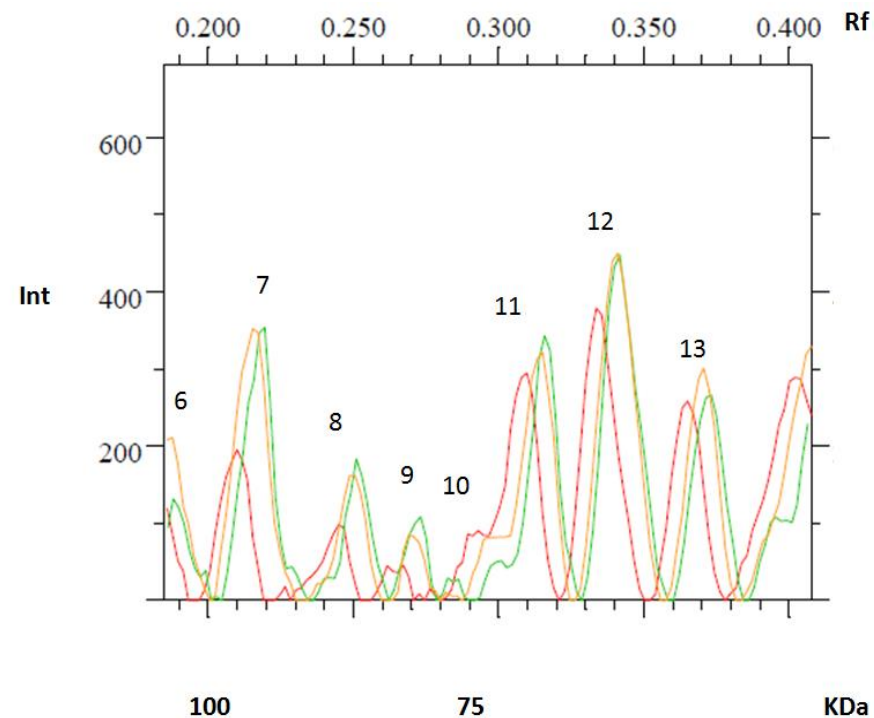
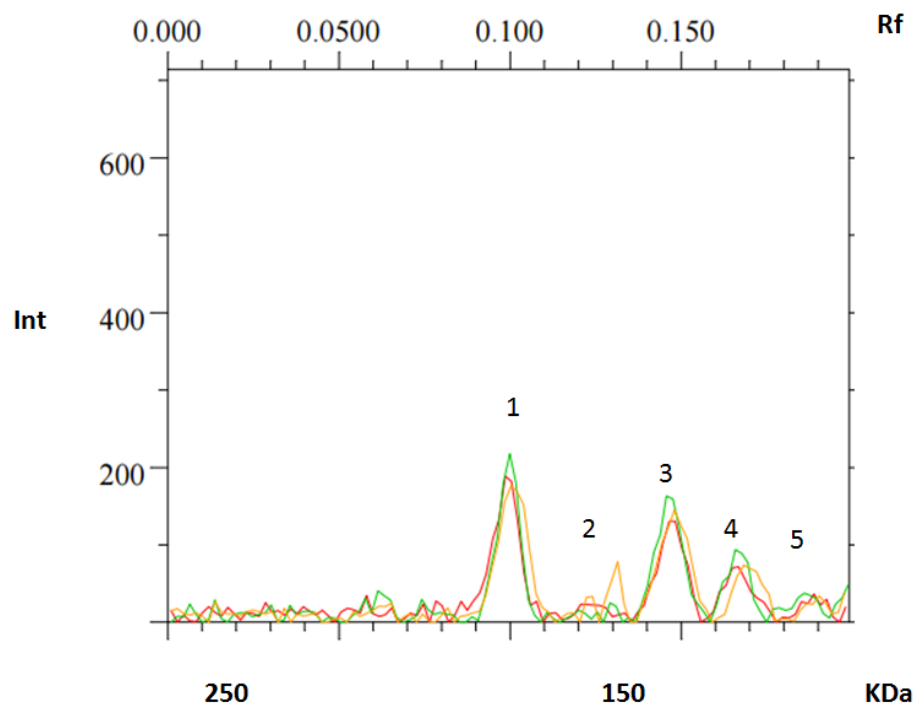


Figura 4. Análisis densitométrico del SDS-PAGE. Monitoreo de la banda 6 a la 13, correspondientes al intervalo de pesos moleculares de 100 a 50 KDa. Los picos en rojo muestran al control; los picos en verde muestran el tratamiento con E₂ CSHN; los picos en amarillo muestran el tratamiento con E₂ 10XCSHN. Los picos en azul muestran el tratamiento con E₂ 10XCSHN.

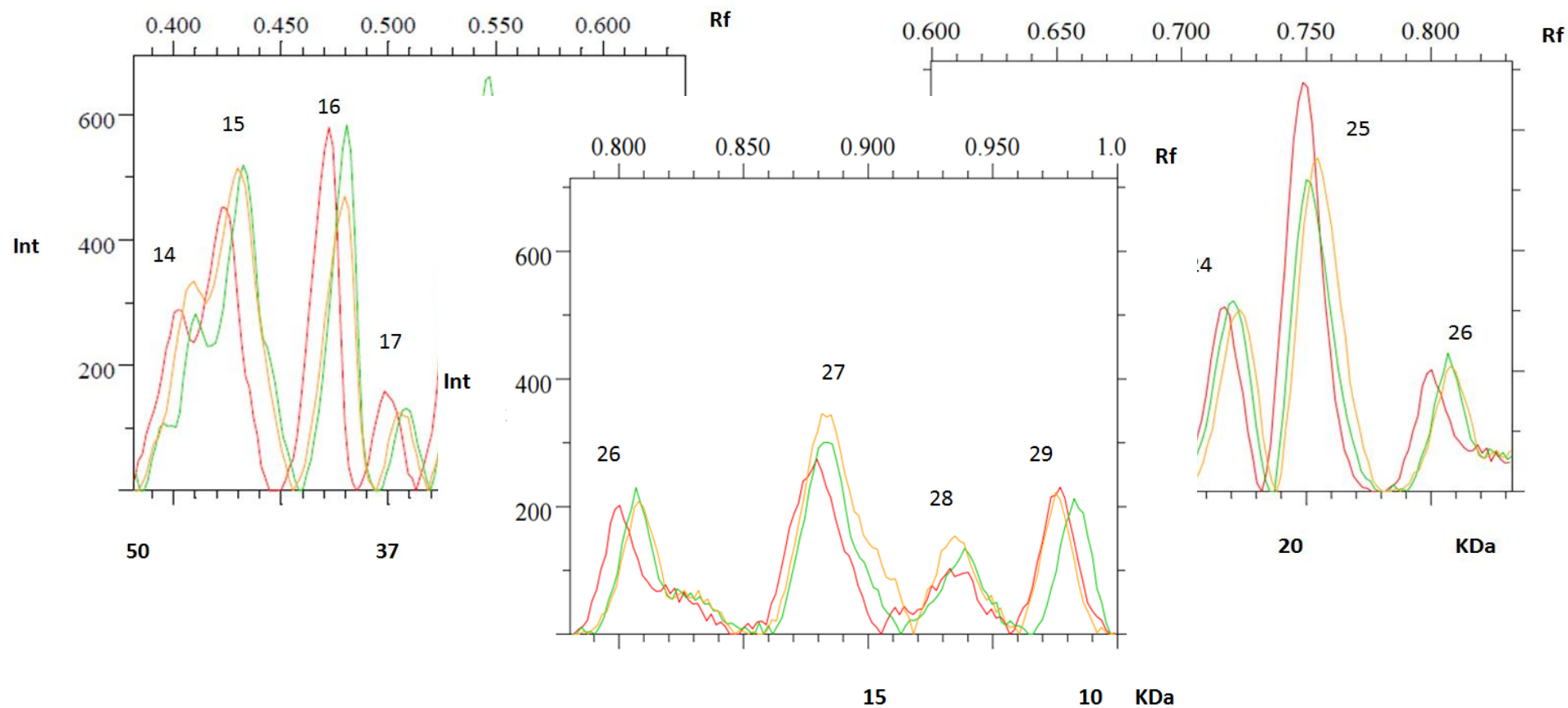


Figura 6. Análisis densitométrico del SDS-PAGE. Monitoreo de la banda 14 a la 19 correspondientes al intervalo de pesos moleculares de 50 a 37 KDa. Los picos en rojo muestran al control; los picos en verde muestran el tratamiento con E₂ CSHN; los picos en amarillo muestran el tratamiento con E₂ 10XCSHN.

Figura 7. Análisis densitométrico del SDS-PAGE. Monitoreo de la banda 20 a la 25 correspondientes al intervalo de pesos moleculares de 37 a 20 KDa. Los picos en rojo muestran al control; los picos en verde muestran el tratamiento con E₂ CSHN; los picos en amarillo muestran el tratamiento con E₂ 10XCSHN.

Figura 8. Análisis densitométrico del SDS-PAGE. Monitoreo de la banda 20 a la 25 correspondientes al intervalo de pesos moleculares de 20 a 10 KDa. Los picos en rojo muestran al control; los picos en verde muestran el tratamiento con E₂CSHN; los picos en amarillo muestran el tratamiento con E₂10XCSHN.

8.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico indicó que de las 29 bandas encontradas en el gel, solo 4 muestran una $P < 0.05$ y fueron las bandas 15, 18, 19 y 24 mostradas en la **Figura 9**, lo que indicó una diferencia significativa.

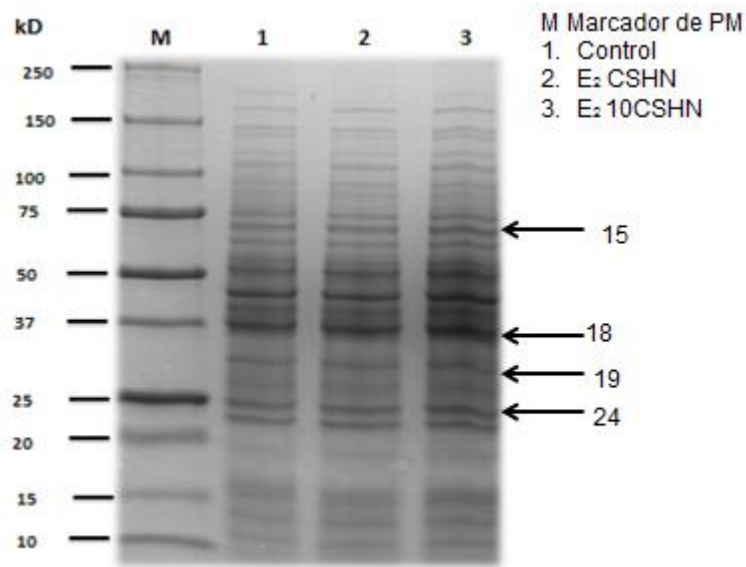


Figura 9. Bandas 15, 18, 19 y 24 que presentaron diferencia significativa en intensidad

8.5 Identificación por LC-MS MS

Las bandas 18 y 24 con los respectivos controles fueron seleccionadas para el análisis espectrométrico basado en su mayor intensidad y separación de las otras bandas, lo cual facilitaba su corte a partir del gel. Así las bandas fueron colocadas en sendos tubos de 1.5 mL y fueron enviadas a secuenciar al CINVESTAV campus Irapuato. En este centro utilizaron la técnica LC-MS MS. Los resultados recibidos son mostrados en el **Anexo 4**.

En las **Tablas 3 y 4** se muestran únicamente las proteínas identificadas que presentan un score y un porcentaje de cobertura alto en las bandas 18 y 24 respectivamente. Los datos y su interpretación son:

Accession. Es el número con el que la proteína fue identificada en la base de datos

Description. Nombre de la proteína identificada

Score. Valor estadístico asignado a cada identificación por el algoritmo incorporado en el motor de búsqueda utilizado SEQUEST, *Coverage*. Porcentaje de cobertura, el cual se calcula por la división del número de aminoácidos encontrados de todos los péptidos entre el número total de aminoácidos en la secuencia total de la proteína; entre mas alto sean los valores de score y cobertura se tiene una identificación más certera de las proteínas

Proteins. Número de proteínas identificadas; las proteínas son agrupadas basándose en la secuencia homologa y/o isoformas.

Unique peptides. Nos dice el número de secuencias únicas de los péptidos de un grupo de proteínas.

Peptides. Número de secuencias de péptidos distintos en un grupo de proteínas

PSMs (Peptide Spectrum Matches). Número total de secuencias de péptidos identificados para la proteína. Entre más alto sea este valor es mejor.

AAs. Número de aminoácidos encontrados en la muestra

MW y PI se refieren al valor de peso molecular y punto isoeléctrico respectivamente.

Tabla 3. Principales proteínas de *N. brasiliensis* identificadas por el método LC/ MS MS de la banda 18

CONTROL										
Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	227.27	71.43	1	22	22	55	406	42.7	5.05
504797006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	158.67	78.53	1	16	16	41	368	38.6	6.09
504799286	transaldolase [Nocardia brasiliensis]	151.42	75.00	1	22	22	36	376	40.0	4.82
1x										
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	250.31	74.88	1	22	22	61	406	42.7	5.05
504797006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	233.73	70.11	1	18	18	60	368	38.6	6.09
504799314	MULTISPECIES: type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia]	187.91	77.58	1	20	20	45	339	35.8	5.24
10x										
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	276.75	89.41	1	22	22	66	406	42.7	5.05
504797006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	263.95	79.89	1	21	21	66	368	38.6	6.09
65085580	type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	231.2	83.10	1	24	24	57	33	35.8	5.15

Tabla 4. Principales proteínas de *N. brasiliensis* identificadas por el método LC/ MS MS de la banda 24

CONTROL										
Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
754904098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	102.27	73.33	1	13	13	24	255	26.5	5.27
659853437	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	101.38	56.02	1	6	9	23	191	20.5	4.64
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	85.87	63.30	1	12	12	19	406	42.7	5.05
1x										
754904098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	203.33	83.14	1	19	19	49	255	26.5	5.27
659853437	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	137.91	54.97	1	6	8	33	191	20.5	4.64
504801077	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	93.89	42.93	1	3	5	22	191	20.4	4.81
10x										
754904098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	132.34	62.35	1	12	12	30	255	26.5	5.27
659853437	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	116.50	56.02	1	6	9	27	191	20.5	4.64
504801077	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	89.74	43.98	1	3	6	21	191	20.4	4.81

Por su mayor valor de Score y de Cobertura que indica una identidad precisa de la proteína correspondiente a la banda, decimos que las proteínas que modifican su expresión ante el tratamiento con 17β -estradiol son:

Banda 18

- Acetil CoA acetiltransferasa
- Alanina deshidrogenasa
- Transaldolasa y Gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa

Banda 24

- 2-metil-3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa.
- Agente de resistencia a daño químico.

Se analizaron las funciones de las proteínas identificadas y se observó que su principal actividad es enzimática.

9. DISCUSIÓN

Diferentes estudios han demostrado que diversas especies de animales son más o menos susceptibles a las infecciones causadas por parásitos, hongos, bacterias o virus, de acuerdo al género al que pertenecen. En varios campos y estudios de laboratorio han vinculado esa mayor o menor susceptibilidad a la infección con la presencia y/o las concentraciones de hormonas sexuales circulantes. (46) (48) (65) (66). Además de afectar la inmunidad del hospedero, las hormonas sexuales alteran genes y en consecuencia influye en la susceptibilidad y resistencia a la infección. (65)

Un ejemplo de la influencia hormonal en la resistencia a la infección, es el efecto protector de los estrógenos contra especies de *Salmonella*, *Streptococcus*, *Pasteurella*, y *Trypanosoma* en los animales hospederos (67) Otro reporte que indica que en ausencia de estrógenos aumenta la susceptibilidad ante infecciones por *Listeria*, *Staphylococcus* y *Chlamydia*. (48)

Al igual que en otras infecciones bacterianas, el micetoma causado por *Nocardia brasiliensis*, se presenta con mayor frecuencia en hombres que en mujeres. López y colaboradores estudiaron 3,860 casos de micetoma, de los cuales 2,920 fueron hombres (75.6%) y 940 mujeres (24.4%), datos que corresponden a una proporción de 3:1. (19)

Los trabajos que muestran evidencias sobre el posible mecanismo de interacción entre el hospedero y el agente infeccioso son escasos. En la búsqueda de receptores hormonales bacterianos que contribuyan a comprender este mecanismo, solo un trabajo ha demostrado la existencia de un receptor citosólico en *Streptomyces hydrogenans*, con alta afinidad por la 5α -dihidrotestosterona, por la progesterona y la dihidrotestosterona. (68) Pese a que actualmente no existan trabajos con receptores hormonales en *Nocardia brasiliensis*, se sugiere su existencia.

Estudios previos han demostrado que las hormonas esteroideas modifican el curso clínico del micetoma experimental, el crecimiento *in vitro* y la expresión genética de *N.brasiliensis*. (50) (57) (58)

En el presente trabajo mediante el estudio del perfil de proteínas totales de *Nocardia brasiliensis*, se demostró que el 17β -estradiol modifica la expresión de dichas proteínas. El análisis densitométrico mostró diferencia en la expresión de la intensidad de pico de diversas bandas, aunque el análisis estadístico determinó que solo cuatro tuvieron cambios significativos.

De las cuatro bandas que mostraron diferencia estadística respecto al control, sólo se secuenciaron la banda 18 y 24 por el método de LC/MS MS.

De acuerdo a la secuenciación, la **banda 18** del carril control en realidad corresponde a diferentes proteínas, con un peso molecular similar (35-43 KDa). Las tres proteínas que mostraron mayor Score y cobertura fueron:

Acetil CoA acetiltransferasa. Es una enzima mitocondrial (ACAT1) implicada en la degradación de aminoácidos y en la oxidación de ácidos grasos. Cataliza el último paso en la descomposición de isoleucina mediante la conversión de 2-metil-acetoacetil-CoA en propionil-CoA y acetil CoA. Durante la cetolisis, convierte una acetoacetil-CoA en dos moléculas de acetil CoA. Existe una forma citosólica de la enzima (ACAT2) que puede unir dos moléculas de acetil a un acetoacetil-CoA como un primer paso en la cetogénesis y en la biogénesis de ácido grasos. (69)

A pesar de que esta enzima no ha sido directamente involucrada en el metabolismo de los actinomicetos, sí se conoce que el metabolismo de lípidos es importante para la biosíntesis de fosfolípidos de su membrana celular.

Las micobacterias tienen la capacidad de utilizar ácidos grasos como fuentes de carbono y energía a través del ciclo de la B-oxidación. Esta característica es particularmente relevante para *M. tuberculosis* que utiliza una amplia gama de lípidos del hospedero en condiciones de infección. (70)

Por otra parte, los ácidos micólicos contribuyen a la formación de la capa externa de la pared celular del microorganismo. Los principales componentes de la pared celular de *Mycobacterium* spp. Son manósido de fosfatidil inositol, lipomananas, lipoarabinomananas,

dimicolato de trehalosa, monomicolato de trehalosa, glicolípidos y sulfolípidos. Para *Nocardia spp.*, los componentes lipídicos que forman parte de su pared celular y que han sido reportados son: lípidos que contienen trehalosa, glicolípidos, lípidos éter dietílico solubles, ácido tuberculoesteárico, nocobactin y nocardones. Se ha demostrado que los lípidos de la pared celular participan en el desarrollo del actinomicetoma favoreciendo la inflamación y modulando la respuesta de los macrófagos y las células dendríticas del hospedero hacia *N. brasiliensis*. (71)

Alanina deshidrogenasa. La alanina deshidrogenasa fue descubierta en *Bacillus subtilis* en donde su función principal es la generación de piruvato como fuente de energía durante la esporulación.

La alanina deshidrogenasa cataliza la desaminación oxidativa reversible de L-alanina a piruvato y amonio, o en la dirección inversa, la aminación reductiva de piruvato a L-alanina. Participa en las vías metabólicas de aminoácidos y carbohidratos en varios microorganismos, a través de la asimilación de N y C.

Las funciones específicas de alanina deshidrogenasa varían de acuerdo a la especie bacteriana: tiene funciones catabólicas como en *Bacillus subtilis*, o biosintéticas como en *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium leguminosarum*, y *Pseudomonas sp.*, a través de la asimilación de Nitrógeno. Sin embargo, estas funciones primarias en muchos otros microorganismos siguen desconocidas. (72)

Esta enzima ha sido caracterizada en muchas especies bacterianas, entre ellas *M. tuberculosis*. En este microorganismo podría tener un papel importante en la asimilación de amonio como se ha propuesto para otras bacterias. La desaminación oxidativa de alanina a piruvato, tiene

claramente un papel durante el crecimiento bacteriano en presencia de alanina como fuente de nitrógeno en *M. tuberculosis*, *M. bovis* BCG, y *M. smegmatis*.

Para *M. tuberculosis* se cree que los ácidos grasos son la fuente principal de energía. La β -oxidación de los ácidos grasos que contienen un número par de átomos de carbono, produce acetil coenzima A (CoA), mientras que la β -oxidación de los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono y colesterol produce tanto la acetil-CoA como propionil-CoA. La propionil-CoA entra al ciclo del metil citrato y da como resultado final piruvato. La Acetil-CoA entra al ciclo del glioxilato y es convertido en glioxilato. Ambos productos, piruvato y glioxilato, son sustratos para la alanina deshidrogenasa. Por lo tanto, esta enzima conecta estos dos ciclos (glioxilato y metil citrato), y participa en la regulación de los niveles de glioxilato y propionato. (73)

Transaldolasa (TAL). Es una enzima cofactor que conecta la vía de las pentosas con la ruta de Embden Meyerhof Parnass de la glucólisis. (74)

La secuenciación de la **banda 18** presente en los carriles correspondientes a las proteínas extraídas de *N. brasiliensis* estimulada con CSHN de E₂ y 10 CSHN de E₂, dió como resultado la presencia de una mezcla de Alanina deshidrogenasa, acetil CoA acetil transferasa, Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y transaldolasa. Sin embargo, la Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa presentó un score y un porcentaje de cobertura más elevados que la transaldolasa.

Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Esta enzima participa en la glucólisis y la gluconeogénesis. Estudios recientes han mostrados que la GAPDH es una proteína con múltiples funciones citoplasmicas, membranales y nucleares, es un mensajero importante en la mediación de la apoptosis celular. (75)

La secuenciación de la **banda 24** Control correspondió a diferentes proteínas de las cuales a continuación se mencionan las tres que presentaron mayor nivel de score y cobertura.

2-metil-3-hidroxi-butiril-CoA deshidrogenasa. Se encuentra implicada en la biosíntesis de 2-metil butanoato y la degradación de L- isoleucina (76). En humanos se ha descrito que la deficiencia de esta enzima produce un error innato neurodegenerativo del metabolismo de la isoleucina ligada al cromosoma X, produciendo una aciduria orgánica, causada por un trastorno en la degradación de proteínas. (77) En microorganismos se desconoce su función.

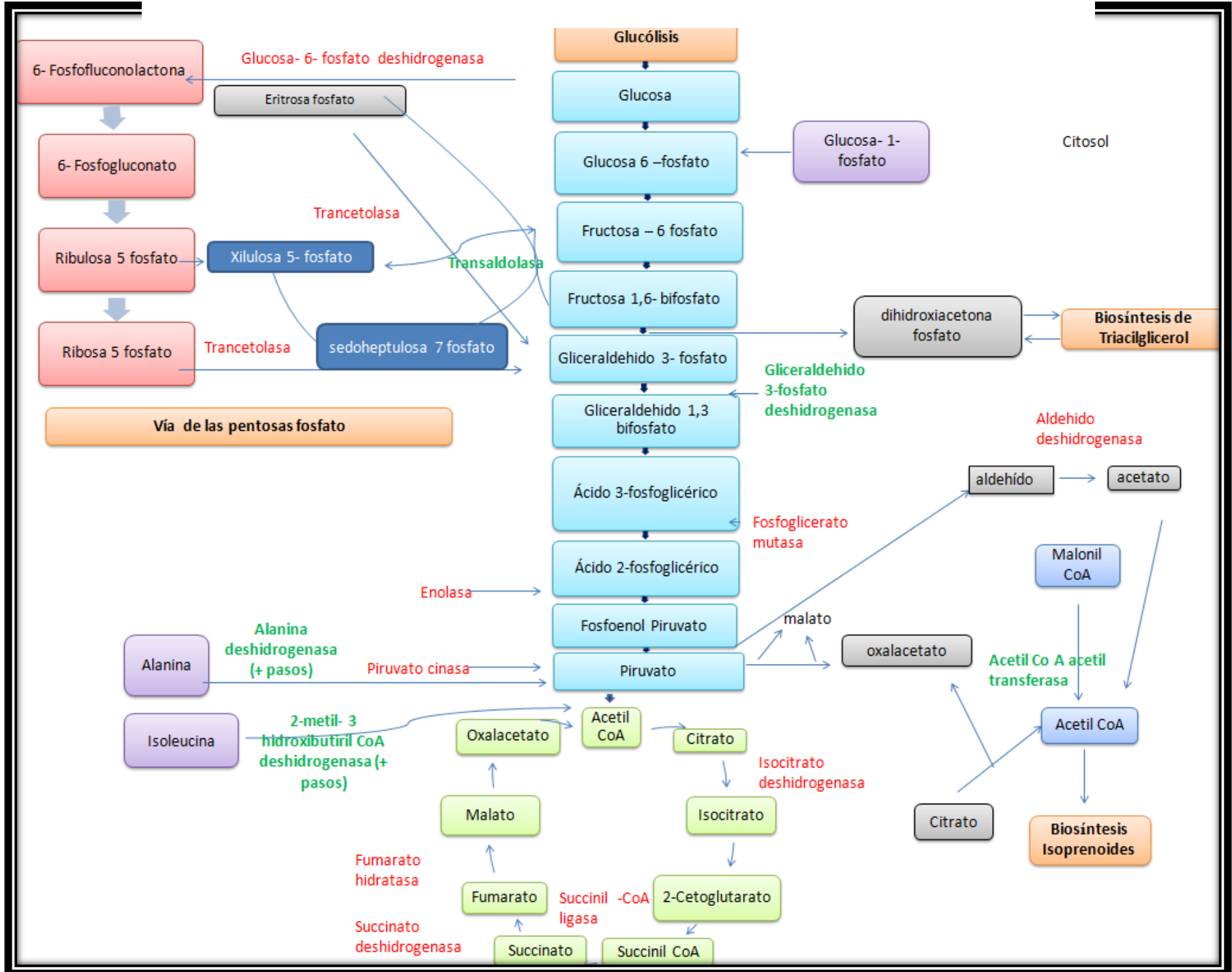
Agente de resistencia a daño químico. Esta proteína ha sido identificada en el genoma de diversos microorganismos (*M. tuberculosis*, *Streptomyces coelicolor*, *N. brasiliensis*, *Corynebacterium*), sin embargo aun no hay estudios sobre las funciones específicas que ejerce.

Aspartato aminotransferasa. Esta enzima cataliza la transaminación reversible entre aspartato y 2-oxoglutarato para dar oxalacetato y glutamato, y por lo tanto es clave en el metabolismo de aminoácidos y carbohidratos. También participa en la urogénesis.

La biosíntesis de aspartato es una vía esencial para el crecimiento y sobrevivencia de *Mycobacterium tuberculosis*, por lo que es esencial la presencia de la aspartato amino transferasa. (78)

En la **Figura 10** se indica la ubicación de cada una de las enzimas encontradas en las diferentes vías metabólicas de bacterias en general. (79)

Figura 10. Ubicación de las enzimas encontradas en las diferentes vías metabólicas de bacterias, las enzimas identificadas para *N. brasiliensis* se marcan en verde.



10. CONCLUSIONES

- Se cumplieron todos los objetivos planteados en este estudio
- Se determinó que el 17β -estradiol modifica el perfil de proteínas de *N. brasiliensis*. En cuatro bandas se determinó una diferencia significativa a través del análisis densitómetro y estadístico.
- Las proteínas detectadas están involucradas en el metabolismo de carbohidratos y de lípidos de actinomicetos.
- El estudio profundo de las proteínas implicadas en la respuesta al estímulo con 17β -estradiol, conducirá al conocimiento sobre el efecto que esta hormona podría tener en un hospedero cuando es infectado por *N. brasiliensis*.

11. PERSPECTIVAS

- Caracterizar algunas proteínas que modifican su expresión bajo el estímulo hormonal, utilizando procedimientos mas finos como la electroforesis bidimensional para separar las proteínas que tienen aproximadamente el mismo peso molecular
- La secuenciación de proteínas puras nos permitirá definir con mayor precisión la función de las proteínas identificadas en el metabolismo de *N. brasiliensis*.
- Identificar un mayor número de proteínas que presenten una diferencia estadística.
- Buscar proteínas de *Nocardia brasiliensis* que pudieran estar funcionando como receptores para estrógenos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Brown-Elliott B, Brown J, Conville , Wallace R. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19(259-82).
2. Adzzie-Shazleen Azman , Iekhsan Othman , Saraswati S. Velu , Kok-Gan Chan , Lee LH. Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity. *Front Microbiol.* 2015; 6(859).
3. Koneman EW. Diagnóstico microbiológico: Texto y Atlas a color. 5th ed. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana; 2001.
4. Goodfellow M, Kampfer P, Busse HJ, Trujillo , Suzuki KI, Ludwig W, et al. The Actinobacteria part A - Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York, NY: Springer; 2012.
5. Markus Nett , Haruo Ikeda , Moore BS. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat Prod Rep.* 2009 Noviembre; 26(11).
6. Kafshdar Jalali H, Salamatzadeh A, Kafshdar Jalali A, Haddad Kashan H, Ahmadi Asbchin , Issazadeh K. Antagonistic Activity of *Nocardia brasiliensis* PTCC 1422 Against. Isolated Enterobacteriaceae from Urinary Tract Infections. Springer Science+Business Media New York. 2016 febrero; 8(41-45).
7. Saubolle MA, Sussland D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience. *Clin. Microbiol.* 2003; 41(4497-4501).
8. Sousa M. J, Wachholz PA, Sette CS, Marques GF, Barreto JA. Mycetoma caused by *Nocardia brasiliensis* in an immunocompetent patient. *Journal of the German Society of Dermatology.* 2014; 1610-0379.

9. Brown Elliot B, Conville P, Wallace R. Current status of Nocardia Taxonomy and Recommended Identification Methods. Elsevier. 2015 Febrero; 37(4).
10. Bagali S, Mantur. Pleural Nocardiosis in an Immunocompetent Patient: A Case Report. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2016 enero; 10(1).
11. Hirayama T, Takazono , Horai , Tashiro , Saijo T, Kosai , et al. Pulmonary Nocardiosis Caused by Nocardia concava with a Literature Review. International Medicine. 2016; 55(1213-1217).
12. Corti M, Villafañe-Fioti M. Nocardiosis: a review. International Journal of Infectious Diseases. 2003; 7(4).
13. Sheffer S, Shreberk Hassidim R, Zlotogorski A, Ramot Y, Olshtain K, Maly A. Lymphocutaneous nocardiosis caused by Nocardia brasiliensis in an immunocompetent elderly woman. International Journal of Dermatology. 2016; 55.
14. Durán E, Salvo M S, Gil , Cachón. Nocardiosis linfocutánea por Nocardia brasiliensis en un paciente inmunocompetente. Med Clin. 2009; 132(10).
15. Guevara R M, Navarro M A, Aranzamendi E C, Quispe A , Chávez P V. MICETOMA POR Nocardia brasiliensis: REPORTE DE CASO. Rev peru med exp salud publica. 2003; 20(3).
16. Medina Castillo , Padilla MdC, Navarrete G, Herbas , Aquino-Ruiz Á. Micetoma por Nocardia brasiliensis en región axilar. Presentación de un caso. Rev Cent Dermatol Pascua. 2005 septiembre- diciembre ; 14(3).
17. Tovar-Garza AP, Barrientos-García JG, Mayorga J. Micetoma en pacientes pediátricos. Reporte de 19 casos. DERMATOL REV MEX. 2015; 29(189-194).
18. González-Martínez NA, Lozano-Garza HG, Castro-Garza J, De Osio-Cortez , Vargas-Villarreal , Cavazos-Rocha , et al. In Vivo Activity of

- the Benzothiazinones PBTZ169 and BTZ043 against *Nocardia brasiliensis*. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2015 Octubre ; 10.
19. López-Martínez R, Méndez-Tovar LJ, Bonifaz A, Arenas R. Actualización de la epidemiología del micetoma en México. Revisión de 3,933 casos. Gaceta Médica de México. 2013; 149(586-92).
 20. Padilla Desgarenes MdC, Caballero AM, Martínez Guerra E. Micetoma por *Nocardia brasiliensis* en región abdominal. Rev Cent Dermatol Pascua. 2014 Enero-Febrero; 23(1).
 21. Bonifaz A, Tirado-Sánchez , Calderón , Saúl , Araiza , Hernández , et al. Mycetoma: Experience of 482 Cases in a Single Center in Mexico. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2014 Agosto; 8(8).
 22. Rodríguez Acar , Padilla Desgarenes MdC, Ramos Garibay , Lara Terrón. Centro Dermatológico de Pascua. 2004 Enero-Abril; 13(1).
 23. Welsh O, Vera-Cabrera , Salinas-Carmona MC. Mycetoma. Clinics in Dermatology. 2007; 25(195-202).
 24. Nenoff P, Sande W, Hassan A, Schofer. Eumycetoma and actinomycetoma - An update on causative agents, epidemiology, pathogenesis, diagnostics and therapy. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2015 Febrero; 29(10).
 25. Hinojosa T, Arenas R, Tying. The New Molecular Generation Diagnosis of Mycetoma: A case report and literature review. the FASEB Journal. 2015 Abril; 29(1).
 26. García P, Allende F, Legarraga P, Huilcaman M, Solari. Identificación bacteriana basada en el espectro de masas de proteínas: Una nueva mirada a la microbiología del siglo XXI. Rev Chilena Infctol. 2011 Noviembre; 29(3).
 27. Welsh O, Vera-Cabrera L, Welsh E, Salinas M. Actinomycetoma and advances in its treatment. Clin Dermatol. 2012; 30(372-381).
 28. Jara A. Endocrinología. 3rd ed. Madrid : Editorial Médica Panamericana ; 2011.

29. Dorantes Cuellar A. Endocrinología Clínica. 3rd ed. Moreno MM, editor. Mexico D.F.: El manual moderno S.A.de C.V.; 2008.
30. Greenspan F. Endocrinología básica y clínica. 4th ed. Gamboa AL, editor. Mexico D.F.: El Manual Moderno S.A de C.V.; 2000.
31. Macarulla J. Bioquímica Humana. 4th ed. España: Reverté; 2000.
32. Devlin T. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. 4th ed. México. D.F.: Reverté, S.A; 2006.
33. Ibáñez Toda , Potau Vilalta N. Ovario: estrógenos, gestágenos, andrógenos, globulina fijadora de hormonas sexuales, inhibinas y cariotipo. Endocrinol Nutr. 2007; 54(3).
34. Clark-Curtiss JE, Haydel SE. Molecular genetics of Mycobacterium tuberculosis pathogenesis. Annual Review of Microbiology. 2003; 57(517-49).
35. Luaces IC. Proteómica de expresión de placas de ateroma carotideas. Tesis doctoral. España: Universidad de Santiago de Compostela; 2008.
36. Handbook. Protein purification: Amhersham Pharmacia Biotech AB. Uppsala, Sweden.Code number 18-1132-29 Pp94; 1999.
37. Noble JE, Bailey MJA. Quantitation of Protein. In Kumar CV, editor. Methods in Enzymology.: Academic Press; 2009. p. 73-95.
38. Stoscheck C. Quantitation of Protein. Methods in Enzymology. 1990; 182(50-59).
39. Peterson G. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. Analytical Biochemistry. 1977; 83(346-356).
40. Castle D. Overview of cell fractionation. Current protocols in protein science. New York, USA: John Wiley & Sons Inc; 2004.

41. Hafiz A. Principles and reactions of proteins extraction, purification, and characterization. 2nd ed. Washington: Ed. CRC Press; 2004.
42. Thiede , Höhenwarter , Krah , Mattow , Schmid , Schmidt , et al. Peptide mass Fingerprinting. Elsevier. 2005 Enero ; 35(237-247).
43. Jordana-Llucha , Martró Català , Ausina Ruiz. La espectrometría de masas en el laboratorio de microbiología clínica. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012 Febrero; 30(10).
44. MARTÍN GÓMEZ M^ªC, BALLESTEROS GONZÁLEZ. Espectrometría de masas y análisis de biomarcadores. In MARTÍN GÓMEZ M^ªC. MONOGRAFÍA XXX: Biomarcadores: Analítica, diagnóstico y terapéutica. Madrid, España : REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA; 2010. p. 113-168.
45. Fernández-Lainez , Vela-Amieva , Ibarra-González. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. Acta Pediatr Mex. 2009 Septiembre; 30(5).
46. García-Gómez E, González-Pedrajo , Camacho-Arroyo. Role of Sex Steroid Hormones in Bacterial-Host Interactions. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International. 2013.
47. Neyrolles O, Quintana-Murci L. Sexual inequality in tuberculosis. PLoS Medicine. 2009; 6(12).
48. Yamamoto Y, Saito H, Setogawa T, Tomioka H. Sex Differences in Host Resistance to Mycobacterium marinum Infection in mice. infection and immunity. 1991 Noviembre; 59(11).
49. Guilbault C, Stotland C, Lachance C, al e. Influence of gender and interleukin-10 deficiency on the inflammatory response during lung infection with Pseudomonas aeruginosa in mice. Immunology. 2002; 17(3).
50. Hernández-Hernández F, Lopez-Martinez R, Mendez-Tovar L, Manzano- Gayosso P. Nocardia brasiliensis: in vitro and in vivo

- growth response to steroid sex hormones. *Mycopathologia*. 1995 Noviembre; 132(2).
51. Drutz D, Huppert , Sun , McGuire W. Human sex hormones stimulate the growth and maturation of *Coccidioides immitis*. *Infect Immun*. 1981 Mayo; 32(2).
 52. Aristizábal B, Clemons K, Cock A, Restrepo D, Stevens. Experimental paracoccidioides brasiliensis infection in mice: influence of the hormonal status of the host on tissue responses. *Med Mycol*. 2002 Abril; 40(1).
 53. Loose D, Stover E, Restrepo A, Stevens D, Feldman D. Estradiol binds to a receptor-like cytosol binding protein and initiates a biological response in *Paracoccidioides brasiliensis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1983 diciembre; 80(24).
 54. Hernández-Hernández F, De Bievre C, Camacho-Arroyo I, Cerbon M, Dupont B, López-Martínez R. Sex hormone effects on *Phialophora verrucosa* in vitro and characterization of progesterone receptors. *J Med Vet Mycol*. 1995 Julio-Agosto; 33(4).
 55. Madani N, Malloy P, Rodriguez-Pombo P, Krishnan A, Feldman D. C. *Microbiology*. 1994 Febrero; 91.
 56. Méndez-Tovar LJ, Mondragón-González R, Vega-López F, Dockrell H, Hay R, López-Martínez R, et al. Cytokine production and lymphocyte proliferation in patients whit *Nocardia brasiliensis* actinomycetoma. *Mycopathologia*. 2004; 158(407-414).
 57. Jasso Escutia L. Efecto del 17-B estradiol y la testosterona sobre la expresión genética de *Nocardia brasiliensis*. tesis de Maestría. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013.
 58. Paredes Amaya C. Efecto de la progesterona y de la dihidrotestosterona sobre la expresión genética de *Nocardia brasiliensis*. tesis de Maestría. México D.F: Universidad Nacional Autónoma de México; 2014.

59. Fahal A. Mycetoma: a thorn in the flesh. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004 Junio; 98(1).
60. Zijlstra EE, J van de Sande WW, Welsh , Mahgoub ES, Goodfellow , Fahal AH. Mycetoma: a unique neglected tropical disease. *The lancet infectious diseases.* 2016 enero; 16(1).
61. Millán-Chiu B, Hernández-Hernández F, Pérez-Torres A, Méndez-Tovar L, López-Martínez R. In situ TLR2 and TLR4 expression in a murine model of mycetoma caused by *Nocardia brasiliensis*. *FEMS Immunol Med Microbio.* 2011 Abril; 61(3).
62. Peng Y, Yong-Hong W, Si-Liang Z, Ju C, Ying-Ping Z, Mei-Long W, et al. Isolation of soluble proteins from an industrial strain *Streptomyces avermitilis* in. *Journal of Microbiological Methods.* 2008 Febrero; 79(105-110).
63. Lanigan M, Vaughan J, Shiell B, Beddome G, Michalski W. Mycobacterial proteome extraction: Comparison of disruption methods. *Proteomics.* 2004; 4(1094–1100).
64. Vallejo Jauffred. Estudio Morfológico, fisiológico y molecular de aislados clínicos de *Nocardia* spp. Tesis de licenciatura. México D.F. : Facultad de Medicina UNAM , Microbiología y parasitología; 2013.
65. Klein S. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000 Agosto; 24(6).
66. Morales-Montor, J , Chavarria, A. , De León, M. A. , Del Castillo, L , Escobedo, E , Sánchez, E. N , et al. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the. *The Journal of Parasitology.* 2004; 90(3).
67. Nicol T, D.L J, Bilbey L, Charles J, Cordingley , B VR. Oestrogen: the natural stimulat of body defense. *J. Endocrinol.* 1964; 30(227-291).
68. Kurth , Träger L. Steroid receptors in *Streptomyces hydrogenans*: isolation and characterization of a high affinity receptor for 5alpha-dihydrotestosterone. *Acta Microbiol Acad Sci Hung.* 1975; 22(4).

69. MitoSciences Inc, an Abcam company. [Online].; 2004-2009 [cited 2016 Agosto 30. Available from: http://www.mitosciences.com/acetyl-coa_acetyltransferase_acat1.html].
70. Cabruja M, Lyonnet B, Millán , Gramajo H, Gago G. Analysis of coenzyme A activated compounds in actinomycetes. Appl Microbiol Biotechnol. 2016 Junio ; 100(16).
71. Treviño Villareal JH, Vera Cabrera L, Valero Guillén PL, Salinas Carmona. Nocardia brasiliensis Cell Wall Lipids Modulate Macrophage and Dendritic Responses That Favor development of experimental actinomycetoma in BALB/c mice. J Clin Invest. 2012 Mayo; 122(10).
72. Feng Z, Cáceres , , Sarath G, Barletta RG , Sarath , Barletta R. Mycobacterium smegmatis L-alanine dehydrogenase (Ald) is required for proficient utilization of alanine as a sole nitrogen source and sustained anaerobic growth. J Bacteriol. 2002 Septiembre; 184(18).
73. Giffin , Modesti , Raab R, Wayne L, Sohaskey C. ald of Mycobacterium tuberculosis encodes both the alanine dehydrogenase and the putative glycine dehydrogenase. J Bacteriol. 2012 Marzo; 194(5).
74. Qian , Banerjee S, Grossman CE, Amidon , Nagy G, Barcza , et al. Transaldolase deficiency influences the pentose phosphate pathway, mitochondrial homeostasis and apoptosis signal processing. Biochem Biophys Res Commun. 2011 Octubre; 415(1).
75. Kanwar , Kowluru RA. Role of Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase in the Development and Progression of Diabetic Retinopathy. Diabetes. 2009 Junio; 58(1).
76. la comprehensive enzyme information sistem. [Online].; 2016 [cited 2016 agosto 30. Available from: <http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=1.1.1.178>].

77. Perez Cerda C, Garcia Villoria J, Ofman R, Sala P, Merinero B, Ramos J, et al. 2 Methyl 3 hydroxybutyryl CoA dehydrogenase (MHBD) deficiency: an X-linked in born error of isoleucine metabolism that may mimic a mitochondrial disease. *Pediatric Res.* 2005; 58(3).
78. Saroj , Singh , Anant A, Biswal. Overexpression, purification, crystallization and structure determination of AspB, a putative aspartate aminotransferase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* 2014 Julio; 70(7).
79. Baron S. *Medical Microbiology*. 4th ed. Texas : Galveston; 1996.

1) ANEXOS

ANEXO 1. Medios de cultivo

Agar tiptona glucosa (ATG)

Cantidad para 1 L

▪ Triptona	10g
▪ Extracto de levadura	1.0g
▪ Cloruro de sodio (NaCl)	1.0g
▪ Agar	16 g
▪ Glucosa	10g
▪ Agua destilada	1 L

Agar Agua de Coco (AAC)

Cantidad para 100 mL

▪ Agua de coco	100mL
▪ Bactopeptona	1.0g
▪ Agar bacteriológico	2.0g

Caldo infusión cerebro corazón (BHI)

Cantidad para 1 L

▪ Infusión cerebro corazón	6.0g
▪ Peptona de carne	6.0g
▪ Cloruro de sodio	5.0g
▪ Dextrosa	3.0g
▪ Fosfato de potasio disódico (Na_2HPO_4)	2.5g
▪ Peptona de gelatina	14.5g

ANEXO 2. Análisis densitométrico. (Los valores indican de intensidad de pico).

BANDA	CONTROL			CSHN			10 CSHN		
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
1	188.063	154.938	175.358	217.250	212.438	253.258	330.500	250.000	396.358
2	130.000	108.438	150.874	162.250	154.875	197.350	305.313	308.369	356.856
3	71.063	51.250	129.188	93.375	89.250	181.813	171.625	184.850	204.897
4	53.313	48.875	56.625	76.250	73.188	63.625	71.938	59.750	50.287
5	135.875	137.563	141.500	306.375	330.125	310.313	127.125	182.438	196.500
6	216.625	57.375	254.500	240.625	194.188	264.750	482.938	350.375	442.375
7	155.688	179.188	97.250	190.438	192.250	150.188	227.438	251.188	235.158
8	178.625	275.500	203.500	190.250	142.813	292.500	123.375	75.563	89.364
9	395.750	374.375	507.625	393.438	374.563	261.688	81.688	201.563	204.354
10	488.250	416.625	664.938	499.938	473.563	514.625	263.750	311.250	320.587
11	214.688	307.625	262.750	207.250	237.250	232.563	449.563	415.875	451.352
12	452.500	405.438	460.938	440.750	364.500	264.313	296.313	325.938	128.360
13	134.813	118.063	110.563	120.250	214.250	103.875	144.250	140.230	125.398
14	498.063	457.813	455.188	394.438	319.313	303.688	328.250	318.125	125.390
15	126.313	165.688	160.188	457.000	454.125	497.000	461.688	468.375	459.875
16	66.500	46.938	55.875	133.375	169.188	170.188	194.025	190.750	190.750
17	77.063	108.938	76.265	73.500	94.813	118.438	108.688	195.313	195.451
18	221.250	267.625	276.875	316.000	327.625	367.125	407.375	573.563	593.538
19	139.188	182.500	184.250	116.875	141.813	145.188	238.000	259.063	286.123
20	169.350	170.563	139.313	229.250	157.063	117.938	309.625	301.188	309.788
21	183.380	136.987	147.750	300.125	277.688	234.125	360.688	329.438	323.938
22	122.360	167.750	156.438	134.250	144.125	175.563	165.125	182.563	198.360
23	115.360	116.250	154.125	211.938	218.938	247.500	330.875	330.375	330.375
24	118.369	115.938	124.938	237.125	245.250	277.313	312.938	358.188	397.158
25	578.313	517.360	555.813	613.375	645.875	635.313	696.500	642.125	643.865
26	21.438	40.813	50.313	40.625	40.563	59.625	48.375	42.875	42.962
27	73.688	64.500	92.938	72.188	70.938	16.813	90.938	89.563	15.563
28	42.563	31.500	56.875	117.625	145.000	51.500	140.688	126.813	123.390
29	29.813	42.063	38.813	84.500	72.125	71.375	73.188	68.750	610.950

ANEXO 3. Metodología de LC-MS /MS utilizada en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnica Nacional, campus Irapuato

Nanoflujo LC-MS / MS

Todos los experimentos se realizaron en un cromatografo de líquidos sistema de nano-flujo (Waters) nanoACQUITY (LC), acoplado a un espectrómetro de masas LTQ Velos trampa de iones lineal (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania) equipado con una fuente de iones por electrospray nano. El disolvente A consistió en ácido fórmico 0,1% y disolvente B de 100% de acetonitrilo en ácido fórmico al 0,1%. 5 µl de proteínas digeridos se unieron a una pre-columna (Symmetry® C18, 5 m, 180 m x 20 mm, Waters). Posteriormente, el flujo se cambia a una columna de 10 cm UPLC capilar (100 micras ID BEH C18-tamaño 1,7 micras de partículas). La temperatura de la columna se controló a 35 ° C. Los péptidos se separaron mediante un método de gradiente de 60 min a un caudal de 400 nl / min. El gradiente se programó de la siguiente manera: 3-50% de disolvente B (durante 30 minutos), 50-85% B (2 min), 85% B (durante 4 min) y 3% B (22 min). Los péptidos se eluyeron en la fuente de electrospray espectrómetro de masas nano través de una punta de sílice revestida estándar (NewObjective, Woburn, MA). El espectrómetro de masas fue operado en el modo de adquisición de datos dependientes con el fin de alternar automáticamente entre exploración completa (400-1600 m / z) y posteriores exploraciones Top 5 MS / MS en la trampa de iones lineal con la exclusión dinámica habilitada. CID se realizó utilizando helio como gas de colisión a una energía de colisión normalizada del tiempo de activación de 35% y 10 ms. La adquisición de datos fue controlado por software Xcalibur 2.0.7 (Thermo Fisher Scientific).

Evaluación automática de los datos de trabajo

Los espectros de masas en tándem se extrajeron en Proteome Discoverer versión 1.4 y se buscaron en una Sequest contra una base de datos RefSeq *Nocardia brasiliensis* (22,781 entradas). Las búsquedas se realizan con los siguientes parámetros: ventana de MS de iones 2 Da padres, 1 ventana Da MS / MS de iones, y dos divisiones. El derivado de yodo acetamida de la cisteína (carbamido metil cisteína) se especificó en SEQUEST como una modificación fija, la oxidación de la metionina como una modificación variable.

ANEXO 4. Reporte de la secuenciación de las bandas 18 y 24 realizada en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnica Nacional, campus Irapuato.

Secuenciación de la banda 18 Control.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	227.27	71.43	1	22	22	55	406	42.7	5.05
504797006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	158.67	78.53	1	16	16	41	368	38.6	6.09
504799286	transaldolase [Nocardia brasiliensis]	151.42	75.00	1	22	22	36	376	40.0	4.82
504794457	phosphoserine aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	140.26	41.44	3	10	10	30	374	39.8	5.10
504799314	MULTISPECIES: type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia]	136.57	76.70	1	19	19	33	339	35.8	5.24
659856201	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	132.27	61.92	1	17	17	32	407	43.2	5.66
754897299	branched chain amino acid aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	128.59	53.15	1	15	15	34	365	39.7	5.21
504801706	MULTISPECIES: glucose-6-phosphate dehydrogenase (coenzyme-F420) [Nocardia]	108.17	56.25	1	13	13	24	336	36.9	5.58
659849405	MULTISPECIES: molecular chaperone DnaK [Nocardia]	107.03	42.11	1	19	19	26	615	65.8	4.87
504799313	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	87.63	57.92	1	16	16	22	404	41.8	4.81
504794955	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	73.98	60.62	1	12	12	17	353	36.6	5.10

659855591	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	69.74	44.59	1	13	13	17	379	40.7	5.52
754900343	inositol 1-phosphate synthase [Nocardia brasiliensis]	69.32	48.77	175	14	14	17	365	39.7	5.29
738650182	hypothetical protein, partial [Nocardia brasiliensis]	68.66	30.12	1	16	16	17	737	81.8	6.18
504800987	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	62.69	49.62	1	13	13	17	391	42.1	5.76
754898597	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase [Nocardia brasiliensis]	62.08	45.92	1	10	10	15	355	37.1	4.87
659847267	aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	60.95	52.09	2	12	12	15	359	38.4	5.15
754894879	succinyldiaminopimelate transaminase [Nocardia brasiliensis]	60.78	40.33	1	12	12	14	367	38.8	6.62
754896375	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring), homodimeric type [Nocardia brasiliensis]	58.68	11.66	1	9	9	13	969	106.4	5.95
504799025	cobaltochelatae subunit CobN [Nocardia brasiliensis]	54.52	14.44	3	12	12	14	1205	130.2	4.96
754895559	3-isopropylmalate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	54.48	41.79	1	9	9	13	335	35.0	5.50
659845637	fumarylacetoacetase [Nocardia brasiliensis]	52.06	48.21	2	11	11	13	392	42.3	5.05
504796218	branched chain amino acid ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	51.49	47.74	1	12	12	12	398	40.4	5.86
504794668	MULTISPECIES: DNA-directed RNA polymerase subunit alpha [Nocardia]	50.36	38.07	1	10	10	12	352	38.0	4.79

754896549	beta-glucosidase [Nocardia brasiliensis]	49.87	19.43	1	9	9	13	813	86.4	4.91
754904230	X-Pro dipeptidase [Nocardia brasiliensis]	48.94	32.80	1	8	8	12	375	39.9	5.77
504794731	guanosine monophosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	48.83	34.64	3	9	9	12	384	40.3	5.55
504797306	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	47.71	26.34	3	10	10	12	429	47.9	6.39
504794001	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	45.92	28.71	2	6	6	10	404	42.3	5.24
754896552	aspartate-semialdehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	44.43	39.24	1	8	8	10	344	36.1	5.17
659846193	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	44.09	32.24	2	8	8	11	366	39.4	5.10
659853549	catalase-peroxidase [Nocardia brasiliensis]	42.21	19.16	2	9	9	10	741	80.9	5.02
504794460	MULTISPECIES: citrate synthase [Nocardia]	41.61	29.06	1	7	7	10	382	41.0	5.88
504801289	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	41.46	39.38	3	9	9	11	386	41.3	5.15
504796337	phenylalanine--tRNA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	41.07	35.69	2	8	8	10	353	38.1	5.30
504800780	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	40.78	31.28	2	8	8	10	390	43.2	5.33
504796944	membrane protein [Nocardia brasiliensis]	40.58	44.84	1	8	8	9	310	34.4	6.54
918257065	alanine racemase [Nocardia brasiliensis]	39.16	27.48	1	6	6	9	393	42.0	6.67
753807512	delta-aminolevulinic acid dehydratase [Nocardia brasiliensis]	38.46	26.77	1	6	6	10	325	34.8	5.07

504800079	MULTISPECIES: ketol-acid reductoisomerase [Nocardia]	37.72	30.56	2	9	9	9	337	36.2	5.05
659850354	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	36.71	30.13	2	6	7	9	385	41.2	5.31
659845523	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S2 [Nocardia]	36.46	31.07	2	6	6	9	280	30.4	5.72
659853416	ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	36.02	28.18	2	7	7	9	433	45.8	5.49
504797791	aminotransferase AlaT [Nocardia brasiliensis]	35.88	27.48	3	6	6	8	404	44.5	5.55
504794371	phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase [Nocardia brasiliensis]	35.54	28.21	2	6	6	9	358	37.4	5.00
504794935	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [Nocardia brasiliensis]	34.23	23.85	1	6	6	8	499	53.5	5.40
754902404	adenosine deaminase [Nocardia brasiliensis]	33.26	23.01	1	5	5	8	365	39.7	5.38
753809229	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase [Nocardia brasiliensis]	33.05	35.55	1	8	8	8	391	43.4	5.38
504799888	MULTISPECIES: 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase [Nocardia]	32.53	37.66	1	8	8	8	385	40.3	5.29
504795907	alanine dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	32.08	31.54	1	7	7	9	371	38.3	5.99
659845403	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	31.63	28.90	2	8	8	8	346	37.2	6.44
659854067	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	31.32	13.64	1	5	5	7	374	39.9	5.10

504799964	S-(hydroxymethyl)mycothiol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	31.21	30.75	3	5	5	7	361	38.3	5.21
659845054	MULTISPECIES: phosphate starvation protein PhoH [Nocardia]	31.12	26.91	2	5	5	7	353	38.2	6.35
504794969	FOF1 ATP synthase subunit gamma [Nocardia brasiliensis]	31.07	32.51	1	6	6	7	323	34.9	6.18
754907205	dehydratase [Nocardia brasiliensis]	30.95	32.77	1	6	6	7	354	38.4	5.26
504801818	6-phosphogluconate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	30.07	31.58	2	7	7	8	342	36.9	5.35
504801772	MULTISPECIES: aminotransferase AlaT [Nocardia]	28.99	22.49	1	5	5	7	418	46.0	5.88
659852451	3-dehydroquinate synthase [Nocardia brasiliensis]	27.53	29.49	1	6	6	7	373	39.4	5.49
753809247	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	26.98	21.57	1	6	6	7	445	45.5	5.92
504797308	dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	26.97	23.78	1	6	6	6	349	36.0	5.99
659852253	MULTISPECIES: isocitrate lyase [Nocardia]	26.78	22.61	1	6	6	7	429	46.7	5.22
504801591	dihydrolipoyl dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	26.14	23.55	1	7	7	7	467	49.9	5.44
754903691	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	25.68	14.05	1	3	3	6	370	39.1	5.64
754898537	esterase [Nocardia brasiliensis]	24.49	17.01	1	4	4	6	388	41.3	5.12
504793912	cysteine desulfurase-like protein [Nocardia brasiliensis]	24.06	19.75	2	4	5	6	400	42.2	5.21
754903723	M18 family aminopeptidase [Nocardia brasiliensis]	23.90	19.95	1	5	5	6	431	45.2	5.85

504796062	cell division protein FtsZ [Nocardia brasiliensis]	23.49	14.46	3	4	4	6	408	42.0	4.82
504797626	inosine 5-monophosphate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	23.28	15.27	1	6	6	6	478	49.8	6.27
753807297	2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	23.27	20.61	2	5	5	6	359	38.8	5.63
504794865	L-lysine 6-transaminase [Nocardia brasiliensis]	22.99	23.65	3	6	6	6	444	49.1	5.47
504794983	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	22.82	21.32	1	5	5	6	333	37.0	4.91
504794985	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	22.59	30.10	3	5	6	6	392	40.1	5.15
504800718	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	22.25	16.19	3	6	6	6	494	53.9	5.07
504794759	isocitrate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.89	17.28	2	5	5	5	405	45.1	5.62
504794526	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.85	24.47	3	5	5	5	380	40.8	5.39
659854075	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	21.67	22.91	3	4	4	5	406	43.9	5.35
504794495	adenylate cyclase [Nocardia brasiliensis]	21.01	25.07	1	5	5	5	335	36.1	5.06
754904943	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	20.90	21.29	1	4	4	5	357	35.9	5.92
659851848	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	20.76	14.07	2	5	5	5	398	44.7	5.47
754901667	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	20.61	23.29	1	5	5	5	365	38.9	5.14

754900592	alcohol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	20.53	23.51	1	5	5	5	370	37.4	5.49
504794970	F0F1 ATP synthase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	20.52	11.00	1	4	4	5	482	52.2	5.14
504801602	MULTISPECIES: molecular chaperone GroEL [Nocardia]	20.52	15.34	2	5	5	5	541	56.2	4.87
504799569	uroporphyrinogen decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	20.11	16.52	1	3	3	5	351	37.3	5.68
659856296	molecular chaperone GroEL [Nocardia brasiliensis]	20.07	13.25	2	4	4	5	536	55.7	5.07
659847396	MULTISPECIES: tryptophan--tRNA ligase [Nocardia]	20.05	24.20	1	5	5	5	343	37.6	7.20
754900488	cysteine desulfurase [Nocardia brasiliensis]	19.94	15.11	1	4	4	5	417	44.4	5.38
754896109	thioredoxin reductase [Nocardia brasiliensis]	19.67	19.50	1	5	5	5	323	33.6	5.39
504802007	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	19.47	22.60	2	4	4	5	323	36.2	5.34
504801685	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	19.35	23.32	3	5	5	5	386	41.6	5.39
504795958	type I glutamate--ammonia ligase [Nocardia brasiliensis]	19.03	13.60	2	4	4	5	478	53.6	5.15
504800151	MULTISPECIES: electron transfer flavoprotein subunit alpha [Nocardia]	18.94	18.24	2	3	3	4	318	32.0	4.77
504800747	GDP-mannose pyrophosphorylase [Nocardia brasiliensis]	18.69	21.73	3	5	5	5	359	37.3	5.19
659851655	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	18.66	14.04	2	4	4	5	413	43.3	6.58
659850471	oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	18.62	22.73	1	4	4	4	352	37.2	5.45

754895063	type II citrate synthase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	18.24	11.89	2	3	3	5	412	46.1	5.99
754901656	MULTISPECIES: adenylosuccinate synthase [<i>Nocardia</i>]	18.03	12.82	1	4	4	4	429	46.2	5.60
738653668	malate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	17.94	20.94	2	4	4	4	382	39.7	5.05
504800049	phosphoglycerate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	17.78	12.59	2	5	5	5	532	55.4	4.98
504795990	ribokinase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	17.71	24.84	2	5	5	5	322	34.4	4.91
504793727	DNA polymerase III subunit beta [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	16.63	15.86	2	4	4	4	391	41.3	4.87
504801336	MULTISPECIES: elongation factor G [<i>Nocardia</i>]	16.49	13.86	1	4	4	4	700	77.2	5.00
504801335	elongation factor Tu [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	16.24	15.66	2	4	4	4	396	43.7	5.26
754902691	hydroxymethylbilane synthase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	16.22	23.95	1	4	4	4	309	33.1	6.42
504795563	gamma-glutamyl-phosphate reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	16.09	10.45	2	3	3	4	421	43.9	5.39
754898333	XshC-Cox1 family protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.95	14.53	1	3	3	4	358	38.0	6.00
504799807	phosphoesterase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.74	17.72	2	4	4	4	333	35.1	5.21
659851950	cysteine synthase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.68	13.30	3	3	3	4	361	39.0	5.82
659849572	xylose isomerase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.50	13.99	2	3	3	5	393	43.1	5.81
504801641	homogentisate 1,2-dioxygenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.49	17.59	1	4	4	4	398	44.1	6.20
504800733	mannose-6-phosphate isomerase, class I [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.08	17.77	3	3	3	3	422	44.7	5.68

753807692	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	15.05	18.23	1	4	4	4	384	40.6	5.36
504795978	leucyl aminopeptidase [Nocardia brasiliensis]	14.89	10.14	3	4	4	4	503	52.1	4.74
504796421	ornithine carbamoyltransferase [Nocardia brasiliensis]	14.14	14.91	3	4	4	4	322	34.4	5.10
504801257	MULTISPECIES: peroxidase [Nocardia]	13.94	18.29	2	4	4	4	339	36.4	4.55
504793874	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	13.81	14.45	2	4	4	4	339	36.4	5.60
504799345	MULTISPECIES: phosphopantothenate synthase [Nocardia]	13.73	15.93	2	4	4	4	408	42.5	6.47
659852453	chorismate synthase [Nocardia brasiliensis]	13.41	14.64	3	3	3	3	403	42.0	5.77
754900604	tartrate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	13.12	13.41	1	3	3	3	358	37.9	4.83
659852117	aspartate aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	13.10	16.67	2	3	3	3	372	39.2	5.60
754894894	succinyl-diaminopimelate desuccinylase [Nocardia brasiliensis]	12.79	19.07	1	3	3	3	367	39.1	5.45
504800091	6-phosphofructokinase [Nocardia brasiliensis]	12.31	13.08	3	3	3	3	344	36.9	6.35
916331842	aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	11.96	17.34	3	3	3	3	369	39.4	5.47
504795450	aminopeptidase N [Nocardia brasiliensis]	11.78	5.24	3	3	3	3	859	93.8	4.84
659851079	peptidase M20 [Nocardia brasiliensis]	11.61	18.97	3	3	3	3	390	40.4	5.24

754898245	aldehyde dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.50	10.61	1	3	3	3	490	51.6	5.38
504793730	DNA gyrase subunit B [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.02	8.33	2	3	3	3	684	74.7	6.16
754899414	ornithine cyclodeaminase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.01	13.75	1	3	3	3	320	34.2	5.69
504796011	anthranilate phosphoribosyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.95	13.11	3	3	3	3	351	35.8	5.22
738651189	succinate dehydrogenase flavoprotein subunit [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.86	6.86	2	3	3	3	583	64.7	5.73
659851924	MULTISPECIES: geranylgeranyl pyrophosphate synthase [<i>Nocardia</i>]	10.78	16.76	1	3	3	3	340	36.2	4.96
504794911	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) E1 component subunit alpha [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.78	15.68	1	3	3	3	370	40.8	5.24
504797222	aminotransferase V [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.74	13.47	2	3	3	3	349	36.9	5.01
504801395	transcription termination/antitermination protein NusG [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.57	20.46	3	3	3	3	259	27.9	4.42
659848705	lactate 2-monooxygenase, partial [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.03	15.88	2	3	3	3	340	36.1	5.82
504799230	Ku protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	9.58	11.97	2	3	3	3	309	34.2	5.81

Secuenciación de la banda 18 CSHN.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
754902280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	250.31	74.88	1	22	22	61	406	42.7	5.05
504797006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	233.73	70.11	1	18	18	60	368	38.6	6.09
504799314	MULTISPECIES: type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia]	187.91	77.58	1	20	20	45	339	35.8	5.24
504794457	phosphoserine aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	187.67	40.37	3	9	9	39	374	39.8	5.10
504799286	transaldolase [Nocardia brasiliensis]	161.25	70.48	1	23	23	39	376	40.0	4.82
659849405	MULTISPECIES: molecular chaperone DnaK [Nocardia]	146.30	42.76	1	19	19	34	615	65.8	4.87
754897299	branched chain amino acid aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	132.70	53.97	1	14	14	35	365	39.7	5.21
504801706	MULTISPECIES: glucose-6-phosphate dehydrogenase (coenzyme-F420) [Nocardia]	111.00	63.69	1	16	16	26	336	36.9	5.58
659856201	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	109.64	55.77	1	14	14	26	407	43.2	5.66

504799 313	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	92.51	49.75	1	14	14	23	404	41.8	4.81
504794 731	guanosine monophosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	82.25	58.59	3	13	13	19	384	40.3	5.55
738650 182	hypothetical protein, partial [Nocardia brasiliensis]	81.72	34.19	1	16	16	20	737	81.8	6.18
754895 559	3-isopropylmalate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	80.77	58.21	1	14	14	19	335	35.0	5.50
504800 987	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	79.22	47.31	2	12	12	20	391	42.1	5.76
659845 637	fumarylacetoacetase [Nocardia brasiliensis]	79.04	48.21	2	11	11	20	392	42.3	5.05
504794 955	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	73.22	59.21	1	12	12	17	353	36.6	5.10
754896 599	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	70.88	43.56	1	8	8	15	404	42.3	5.24
504800 079	MULTISPECIES: ketol-acid reductoisomerase [Nocardia]	70.60	34.42	2	12	12	17	337	36.2	5.05
754898 597	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase [Nocardia brasiliensis]	66.56	43.66	1	11	11	16	355	37.1	4.87
659855 591	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	64.31	41.16	1	11	11	16	379	40.7	5.52
754894 879	succinyldiaminopimelate transaminase [Nocardia brasiliensis]	64.00	55.59	1	12	12	15	367	38.8	6.62
754896 659	aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	63.49	53.48	1	12	12	16	359	38.4	5.21
504801 944	inositol 1-phosphate synthase [Nocardia brasiliensis]	62.74	38.90	3	9	9	15	365	39.7	5.29
754896 375	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring), homodimeric type [Nocardia brasiliensis]	60.99	11.87	1	9	9	14	969	106.4	5.95

504794 668	MULTISPECIES: DNA-directed RNA polymerase subunit alpha [Nocardia]	60.93	45.45	1	13	13	15	352	38.0	4.79
659856 770	aspartate-semialdehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	58.52	48.84	2	12	12	14	344	36.1	5.17
659847 435	MULTISPECIES: isocitrate dehydrogenase [Nocardia]	57.84	41.23	1	10	10	15	405	45.1	5.62
659853 416	ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	55.54	47.11	2	12	12	14	433	45.8	5.49
504801 289	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	55.21	39.90	2	9	10	14	386	41.3	5.15
504797 306	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	53.03	23.78	3	10	10	13	429	47.9	6.39
753809 229	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase [Nocardia brasiliensis]	51.13	36.32	1	9	9	14	391	43.4	5.38
504801 336	MULTISPECIES: elongation factor G [Nocardia]	50.76	23.00	1	10	11	13	700	77.2	5.00
754900 187	MULTISPECIES: 6-phosphogluconate dehydrogenase [Nocardia]	50.28	45.32	1	10	10	12	342	36.9	5.35
504794 460	MULTISPECIES: citrate synthase [Nocardia]	46.72	44.76	1	9	9	11	382	41.0	5.88
504796 337	phenylalanine--tRNA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	46.12	38.24	2	8	8	11	353	38.1	5.30
504796 944	membrane protein [Nocardia brasiliensis]	43.05	47.74	1	8	8	10	310	34.4	6.54
504794 969	FOF1 ATP synthase subunit gamma [Nocardia brasiliensis]	42.11	36.22	1	7	8	10	323	34.9	6.18
659853 549	catalase-peroxidase [Nocardia brasiliensis]	41.77	13.63	2	7	7	10	741	80.9	5.02
754896 549	beta-glucosidase [Nocardia brasiliensis]	41.10	19.07	1	9	9	11	813	86.4	4.91

504800 779	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	41.05	17.91	2	7	7	10	374	39.9	5.15
659850 354	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	40.95	30.39	2	7	7	12	385	41.2	5.31
504794 371	phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase [Nocardia brasiliensis]	40.68	32.96	2	8	8	10	358	37.4	5.00
754907 205	dehydratase [Nocardia brasiliensis]	40.58	28.81	1	6	6	9	354	38.4	5.26
659845 523	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S2 [Nocardia]	39.71	30.71	2	5	5	9	280	30.4	5.72
504801 526	isocitrate lyase [Nocardia brasiliensis]	39.59	37.30	2	9	9	10	429	46.7	5.22
504800 049	phosphoglycerate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	39.41	24.81	2	7	7	10	532	55.4	4.98
754904 230	X-Pro dipeptidase [Nocardia brasiliensis]	38.51	28.00	1	7	7	9	375	39.9	5.77
504801 772	MULTISPECIES: aminotransferase AlaT [Nocardia]	37.85	22.49	1	5	5	9	418	46.0	5.88
753807 512	delta-aminolevulinic acid dehydratase [Nocardia brasiliensis]	37.39	20.00	1	5	5	10	325	34.8	5.07
504795 981	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	35.17	30.05	3	8	8	8	366	39.3	5.21
504794 526	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	34.86	27.89	2	6	6	9	380	40.8	5.39
754905 570	alanine dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	34.35	43.13	1	8	8	9	371	38.4	5.99
659845 403	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	34.11	34.68	2	8	8	9	346	37.2	6.44
754901 483	cobaltochelataase subunit CobN [Nocardia brasiliensis]	33.93	9.38	1	8	8	9	120 5	130.3	4.97

504794 935	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [Nocardia brasiliensis]	33.86	20.84	1	5	5	8	499	53.5	5.40
504801 591	dihydrolipoyl dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	33.64	18.84	1	7	7	8	467	49.9	5.44
659844 589	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	33.27	40.56	2	7	8	8	392	40.2	5.21
738653 668	malate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	33.16	23.82	2	6	6	8	382	39.7	5.05
504800 780	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	32.37	26.92	2	7	7	8	390	43.2	5.33
504799 964	S-(hydroxymethyl)mycothiol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	32.04	32.96	3	5	6	8	361	38.3	5.21
659845 054	MULTISPECIES: phosphate starvation protein PhoH [Nocardia]	31.68	31.44	2	6	6	7	353	38.2	6.35
504794 983	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	31.56	36.04	1	9	9	9	333	37.0	4.91
754903 691	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	30.81	14.32	1	4	4	7	370	39.1	5.64
504800 151	MULTISPECIES: electron transfer flavoprotein subunit alpha [Nocardia]	30.42	35.22	2	6	6	7	318	32.0	4.77
918257 065	alanine racemase [Nocardia brasiliensis]	29.74	28.75	1	7	7	8	393	42.0	6.67
504796 062	cell division protein FtsZ [Nocardia brasiliensis]	29.59	23.28	3	6	6	7	408	42.0	4.82
504799 888	MULTISPECIES: 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase [Nocardia]	28.97	28.31	1	6	6	7	385	40.3	5.29
504801 641	homogentisate 1,2-dioxygenase [Nocardia brasiliensis]	27.26	28.89	1	7	7	7	398	44.1	6.20

504801 602	MULTISPECIES: molecular chaperone GroEL [Nocardia]	27.04	19.59	2	6	6	7	541	56.2	4.87
504793 912	cysteine desulfurase-like protein [Nocardia brasiliensis]	27.02	17.75	2	3	4	7	400	42.2	5.21
754898 333	XshC-Cox1 family protein [Nocardia brasiliensis]	26.98	21.79	1	5	5	7	358	38.0	6.00
754904 864	threonine ammonia-lyase [Nocardia brasiliensis]	26.86	27.01	1	5	5	7	411	42.3	6.39
754894 894	succinyl-diaminopimelate desuccinylase [Nocardia brasiliensis]	26.60	28.61	1	5	5	6	367	39.1	5.45
504794 495	adenylate cyclase [Nocardia brasiliensis]	26.52	24.78	1	7	7	7	335	36.1	5.06
504795 990	ribokinase [Nocardia brasiliensis]	26.50	28.26	2	6	6	7	322	34.4	4.91
504799 812	MULTISPECIES: transcription termination/antitermination protein NusA [Nocardia]	26.46	33.24	1	6	6	6	343	36.7	6.38
504795 978	leucyl aminopeptidase [Nocardia brasiliensis]	26.05	13.32	3	4	4	7	503	52.1	4.74
754905 081	molecular chaperone GroEL [Nocardia brasiliensis]	25.87	21.46	1	6	6	6	536	55.7	5.03
504799 569	uroporphyrinogen decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	25.72	17.38	1	4	4	6	351	37.3	5.68
504797 791	aminotransferase AlaT [Nocardia brasiliensis]	25.54	25.25	3	5	5	6	404	44.5	5.55
504795 563	gamma-glutamyl-phosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	25.52	25.18	2	5	5	6	421	43.9	5.39
504799 281	quinone oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	24.51	25.23	1	3	4	6	321	33.9	4.88
754898 537	esterase [Nocardia brasiliensis]	24.50	26.55	1	6	6	6	388	41.3	5.12

754901 441	protein pafC [Nocardia brasiliensis]	23.97	21.05	1	4	4	6	323	34.8	5.12
659851 655	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	23.78	10.65	2	3	3	6	413	43.3	6.58
504797 399	serine hydroxymethyltransferase [Nocardia brasiliensis]	23.69	16.14	2	5	5	6	440	47.5	7.01
659856 682	branched chain amino acid ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	23.56	27.39	1	6	6	6	398	40.5	5.86
754905 772	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	23.35	19.21	1	5	5	6	406	43.9	5.15
659852 451	3-dehydroquinate synthase [Nocardia brasiliensis]	23.29	26.01	1	6	6	6	373	39.4	5.49
504801 685	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	23.01	20.98	3	5	5	6	386	41.6	5.39
754901 667	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	21.79	24.66	1	4	5	5	365	38.9	5.14
754896 109	thioredoxin reductase [Nocardia brasiliensis]	21.75	30.34	1	6	6	6	323	33.6	5.39
504801 395	transcription termination/antitermination protein NusG [Nocardia brasiliensis]	21.69	20.85	3	4	4	6	259	27.9	4.42
504797 308	dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.46	19.77	1	5	5	5	349	36.0	5.99
754898 424	3-oxoacyl-ACP synthase [Nocardia brasiliensis]	21.08	29.09	2	4	4	5	361	37.6	4.97
504800 718	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	21.07	17.21	3	6	6	6	494	53.9	5.07
504801 229	MULTISPECIES: succinate--CoA ligase subunit beta [Nocardia]	20.67	18.04	2	4	4	5	388	41.0	4.84

504797 059	imidazolonepropionase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	20.65	18.18	3	4	4	5	385	39.8	5.97
754900 604	tartrate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	20.44	22.07	1	5	5	5	358	37.9	4.83
753809 247	aspartate aminotransferase family protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	20.03	12.81	1	4	4	5	445	45.5	5.92
754904 943	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.85	24.09	1	4	4	5	357	35.9	5.92
504794 970	F0F1 ATP synthase subunit beta [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.73	11.00	1	4	4	5	482	52.2	5.14
754902 163	peptidase S8 [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.54	16.67	1	4	4	5	444	45.6	5.81
754897 042	NADP-dependent oxidoreductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.30	21.83	1	3	4	5	339	36.1	5.16
504802 007	hypothetical protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.25	26.32	2	4	5	5	323	36.2	5.34
659852 117	aspartate aminotransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	19.17	15.86	2	3	3	4	372	39.2	5.60
754902 786	S-(hydroxymethyl)mycothiol dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	18.71	16.62	1	3	4	5	361	38.4	5.30
504797 910	aldo/keto reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	18.27	23.60	3	4	4	4	322	33.3	5.21
504794 452	hypothetical protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	18.04	19.45	2	5	5	5	401	43.8	5.90
504800 986	cystathionine gamma-synthase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	18.00	21.00	3	3	3	4	381	40.2	5.40
754898 160	L-lysine 6-transaminase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	17.85	14.41	2	4	4	5	444	49.0	5.47
504800 125	ribonucleotide-diphosphate reductase subunit beta [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	17.73	22.19	1	4	5	5	320	36.7	4.67

504799 345	MULTISPECIES: phosphopantothenate synthase [Nocardia]	17.58	16.67	2	4	4	5	408	42.5	6.47
504794 968	MULTISPECIES: ATP synthase subunit alpha [Nocardia]	17.51	17.06	2	5	5	5	545	58.7	4.87
754906 962	alcohol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	17.30	14.86	1	3	3	4	350	37.0	5.30
754902 404	adenosine deaminase [Nocardia brasiliensis]	17.03	15.62	1	3	3	4	365	39.7	5.38
504799 685	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	17.00	14.96	2	3	3	4	381	42.3	5.20
753807 473	ornithine cyclodeaminase [Nocardia brasiliensis]	16.50	16.88	2	3	3	4	320	34.1	5.69
659848 672	amidohydrolase [Nocardia brasiliensis]	16.12	13.09	2	3	3	4	359	36.6	5.30
504795 958	type I glutamate--ammonia ligase [Nocardia brasiliensis]	16.11	13.60	2	4	4	4	478	53.6	5.15
754895 063	type II citrate synthase [Nocardia brasiliensis]	15.95	8.25	2	3	3	4	412	46.1	5.99
754903 565	1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	15.66	12.48	1	4	4	4	545	58.1	6.29
504794 778	tryptophan--tRNA ligase [Nocardia brasiliensis]	15.66	14.87	3	4	4	4	343	37.6	7.20
659855 748	carbamoyl-phosphate synthase small subunit [Nocardia brasiliensis]	14.93	13.46	3	3	3	4	379	40.5	5.57
659850 393	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) E1 component subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	14.44	15.68	1	4	4	4	370	40.8	5.30
754899 380	aminotransferase class V [Nocardia brasiliensis]	14.37	12.44	1	3	3	4	394	42.0	5.31
504801 228	succinate--CoA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	14.26	19.41	3	4	4	4	304	31.2	5.39

738651 189	succinate dehydrogenase flavoprotein subunit [Nocardia brasiliensis]	12.78	9.43	2	3	3	3	583	64.7	5.73
754902 691	hydroxymethylbilane synthase [Nocardia brasiliensis]	12.68	21.68	1	3	3	3	309	33.1	6.42
504796 421	ornithine carbamoyltransferase [Nocardia brasiliensis]	12.56	14.91	3	4	4	4	322	34.4	5.10
659850 471	oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	12.26	16.19	2	3	3	3	352	37.2	5.45
659846 330	phosphopyruvate hydratase [Nocardia brasiliensis]	12.21	13.08	1	3	3	3	428	44.9	4.65
659852 453	chorismate synthase [Nocardia brasiliensis]	12.06	11.66	3	3	3	3	403	42.0	5.77
504794 910	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	11.98	15.90	3	3	3	3	327	35.4	5.55
504801 629	glutamate--cysteine ligase [Nocardia brasiliensis]	11.84	12.34	3	3	3	3	381	42.4	5.94
504800 091	6-phosphofructokinase [Nocardia brasiliensis]	11.83	12.21	3	3	3	3	344	36.9	6.35
659853 122	acetyl-CoA carboxylase [Nocardia brasiliensis]	11.59	3.01	2	3	3	3	182 7	198.6	5.41
738649 895	WYL domain-containing protein [Nocardia brasiliensis]	11.43	14.29	2	3	3	3	322	35.0	5.63
659851 517	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	11.42	13.80	3	3	3	3	384	40.5	5.20
659844 733	molecular chaperone HtpG [Nocardia brasiliensis]	11.20	5.52	3	3	3	3	652	74.3	4.93
504800 747	GDP-mannose pyrophosphorylase [Nocardia brasiliensis]	11.07	13.65	3	3	3	3	359	37.3	5.19
504793 874	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	11.06	11.50	2	3	3	3	339	36.4	5.60

504799 643	S-adenosylmethionine decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	10.92	12.75	3	3	3	3	400	44.0	4.93
504799 807	phosphoesterase [Nocardia brasiliensis]	10.89	14.11	2	3	3	3	333	35.1	5.21
504793 727	DNA polymerase III subunit beta [Nocardia brasiliensis]	10.86	14.83	2	3	3	3	391	41.3	4.87
916331 851	homoserine O-acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	10.85	11.29	3	3	3	3	372	39.6	5.15
504797 222	aminotransferase V [Nocardia brasiliensis]	10.66	13.47	2	3	3	3	349	36.9	5.01
754895 688	methionine synthase [Nocardia brasiliensis]	10.62	17.91	1	3	3	3	335	34.9	5.22
738653 749	MULTISPECIES: pyruvate kinase [Nocardia]	10.46	10.36	2	3	3	3	444	48.1	5.63
504796 283	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S1 [Nocardia]	10.05	4.69	1	3	3	3	490	54.0	4.86
504799 230	Ku protein [Nocardia brasiliensis]	9.97	11.65	2	3	3	3	309	34.2	5.81

Secuenciación de la banda 18 10CSHN.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI

754902 280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia]	276.75	89.41	1	22	22	66	406	42.7	5.05
504797 006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	263.95	79.89	1	21	21	66	368	38.6	6.09
659855 803	type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	231.22	83.19	1	24	24	52	339	35.8	5.15
659849 405	MULTISPECIES: molecular chaperone DnaK [Nocardia]	177.08	46.18	1	25	25	44	615	65.8	4.87
504794 457	phosphoserine aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	161.88	37.17	3	8	8	35	374	39.8	5.10
504799 286	transaldolase [Nocardia brasiliensis]	151.87	66.76	1	21	21	37	376	40.0	4.82
659856 201	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	136.64	69.29	1	18	18	34	407	43.2	5.66
754897 299	branched chain amino acid aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	132.66	65.48	1	18	18	35	365	39.7	5.21
504801 706	MULTISPECIES: glucose-6-phosphate dehydrogenase (coenzyme-F420) [Nocardia]	126.66	73.51	1	18	18	30	336	36.9	5.58
504801 289	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	83.97	50.78	2	14	14	21	386	41.3	5.15
504800 079	MULTISPECIES: ketol-acid reductoisomerase [Nocardia]	80.71	51.93	2	12	13	18	337	36.2	5.05
754898 639	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	77.11	52.69	1	11	11	18	353	36.5	5.10
754898 597	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase [Nocardia brasiliensis]	72.35	43.94	1	12	12	17	355	37.1	4.87
754898 596	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	71.68	53.03	1	14	14	17	379	40.8	5.53

504801 818	6-phosphogluconate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	69.78	60.23	2	14	14	18	342	36.9	5.35
738650 182	hypothetical protein, partial [Nocardia brasiliensis]	68.80	30.26	1	15	15	17	737	81.8	6.18
754894 879	succinyldiaminopimelate transaminase [Nocardia brasiliensis]	66.01	47.41	1	13	13	16	367	38.8	6.62
754895 559	3-isopropylmalate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	65.60	49.25	1	11	11	16	335	35.0	5.50
504794 049	aspartate-semialdehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	64.15	45.35	2	12	12	15	344	36.0	5.25
754900 439	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	64.09	44.55	1	13	13	17	404	41.9	4.81
659845 637	fumarylacetoacetase [Nocardia brasiliensis]	61.26	34.44	3	8	8	15	392	42.3	5.05
754896 659	aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	60.20	62.40	1	13	13	15	359	38.4	5.21
504794 731	guanosine monophosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	58.53	46.88	3	10	10	13	384	40.3	5.55
754905 081	molecular chaperone GroEL [Nocardia brasiliensis]	56.63	39.37	1	10	10	13	536	55.7	5.03
659853 416	ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	56.59	50.12	2	12	12	14	433	45.8	5.49
504794 969	FOF1 ATP synthase subunit gamma [Nocardia brasiliensis]	56.56	47.37	1	12	12	14	323	34.9	6.18
659853 422	inositol 1-phosphate synthase [Nocardia brasiliensis]	55.81	36.44	2	11	11	14	365	39.7	5.22
754896 549	beta-glucosidase [Nocardia brasiliensis]	55.55	20.54	1	9	9	15	813	86.4	4.91
754898 424	3-oxoacyl-ACP synthase [Nocardia brasiliensis]	52.12	32.13	2	6	6	12	361	37.6	4.97

754904 230	X-Pro dipeptidase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	51.17	33.87	1	8	8	12	375	39.9	5.77
504800 151	MULTISPECIES: electron transfer flavoprotein subunit alpha [<i>Nocardia</i>]	49.55	62.26	2	11	11	12	318	32.0	4.77
504800 987	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [<i>Nocardia</i>]	49.17	35.81	2	9	9	12	391	42.1	5.76
659845 523	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S2 [<i>Nocardia</i>]	48.90	43.93	2	8	8	11	280	30.4	5.72
754896 375	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring), homodimeric type [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	48.76	11.76	1	7	7	11	969	106.4	5.95
754907 205	dehydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	48.11	33.62	1	7	7	11	354	38.4	5.26
504794 935	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.70	32.67	2	8	8	11	499	53.5	5.40
504796 944	membrane protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.23	42.26	1	8	8	10	310	34.4	6.54
659852 789	aminotransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.10	40.35	2	8	8	11	404	44.6	5.55
659853 549	catalase-peroxidase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.00	19.43	2	10	10	11	741	80.9	5.02
504794 001	acetyl-CoA acetyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	45.75	30.69	2	6	6	10	404	42.3	5.24
504800 049	phosphoglycerate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	45.61	38.16	1	10	10	11	532	55.4	4.98
504801 336	MULTISPECIES: elongation factor G [<i>Nocardia</i>]	42.30	14.71	1	8	8	10	700	77.2	5.00
504794 970	F0F1 ATP synthase subunit beta [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	41.51	23.86	1	9	9	10	482	52.2	5.14

504799 812	MULTISPECIES: transcription termination/antitermination protein NusA [Nocardia]	41.11	39.36	1	6	7	10	343	36.7	6.38
504794 371	phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase [Nocardia brasiliensis]	41.07	42.46	2	8	8	10	358	37.4	5.00
504799 964	S-(hydroxymethyl)mycothiol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	39.18	39.34	3	6	7	9	361	38.3	5.21
504795 990	ribokinase [Nocardia brasiliensis]	38.70	44.72	2	10	10	10	322	34.4	4.91
504796 062	cell division protein FtsZ [Nocardia brasiliensis]	38.55	27.45	3	6	6	9	408	42.0	4.82
504794 668	MULTISPECIES: DNA-directed RNA polymerase subunit alpha [Nocardia]	37.84	40.63	1	10	10	10	352	38.0	4.79
659845 403	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	36.97	37.86	2	7	7	9	346	37.2	6.44
753807 512	delta-aminolevulinic acid dehydratase [Nocardia brasiliensis]	36.64	20.00	1	4	4	9	325	34.8	5.07
918257 065	alanine racemase [Nocardia brasiliensis]	35.91	29.01	1	6	6	9	393	42.0	6.67
504797 306	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	35.90	30.54	3	8	8	9	429	47.9	6.39
659845 054	MULTISPECIES: phosphate starvation protein PhoH [Nocardia]	34.21	33.14	2	8	8	8	353	38.2	6.35
754899 014	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	33.96	33.16	1	6	6	8	380	40.7	5.39
659852 451	3-dehydroquinate synthase [Nocardia brasiliensis]	33.05	26.27	1	7	7	8	373	39.4	5.49
738653 668	malate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	31.97	29.84	2	7	7	8	382	39.7	5.05
754904 943	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	31.93	33.89	1	7	7	7	357	35.9	5.92

659846 514	MULTISPECIES: cysteine desulfurase-like protein [Nocardia]	31.61	25.75	1	6	6	7	400	42.2	5.29
504794 495	adenylate cyclase [Nocardia brasiliensis]	31.48	38.21	1	8	8	8	335	36.1	5.06
504794 460	MULTISPECIES: citrate synthase [Nocardia]	31.19	32.46	1	6	6	7	382	41.0	5.88
504796 218	branched chain amino acid ABC transporter substrate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	31.18	28.39	1	7	7	7	398	40.4	5.86
659854 067	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	30.88	22.99	1	5	5	8	374	39.9	5.10
504800 780	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	30.41	18.21	2	6	6	8	390	43.2	5.33
504799 888	MULTISPECIES: 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase [Nocardia]	29.75	29.09	1	6	6	7	385	40.3	5.29
504801 602	MULTISPECIES: molecular chaperone GroEL [Nocardia]	29.28	25.32	2	8	8	8	541	56.2	4.87
754894 894	succinyl-diaminopimelate desuccinylase [Nocardia brasiliensis]	28.84	29.16	1	6	6	7	367	39.1	5.45
504794 759	isocitrate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	28.75	24.44	2	6	6	7	405	45.1	5.62
754896 973	1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase [Nocardia brasiliensis]	28.04	31.58	1	5	5	6	380	39.5	4.96
754905 570	alanine dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	27.89	38.27	1	7	7	7	371	38.4	5.99
659854 233	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase [Nocardia brasiliensis]	27.15	25.83	2	6	6	7	391	43.4	5.38
659850 354	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	27.02	22.86	2	5	5	7	385	41.2	5.31

504797 910	aldo/keto reductase [Nocardia brasiliensis]	26.74	24.22	3	4	4	6	322	33.3	5.21
754898 537	esterase [Nocardia brasiliensis]	26.63	20.88	1	5	5	7	388	41.3	5.12
504794 985	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	25.98	28.32	3	4	5	6	392	40.1	5.15
504799 281	quinone oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	25.77	28.04	1	4	5	7	321	33.9	4.88
504802 007	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	25.75	32.82	2	5	5	6	323	36.2	5.34
504797 399	serine hydroxymethyltransferase [Nocardia brasiliensis]	25.20	17.73	2	5	5	6	440	47.5	7.01
754903 691	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	24.59	21.08	1	4	4	6	370	39.1	5.64
754897 042	NADP-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	24.44	30.38	1	4	4	6	339	36.1	5.16
754902 691	hydroxymethylbilane synthase [Nocardia brasiliensis]	24.43	29.13	1	5	5	6	309	33.1	6.42
754902 163	peptidase S8 [Nocardia brasiliensis]	24.31	20.72	1	5	5	6	444	45.6	5.81
504795 978	leucyl aminopeptidase [Nocardia brasiliensis]	23.80	16.10	3	5	5	6	503	52.1	4.74
754895 063	type II citrate synthase [Nocardia brasiliensis]	23.27	11.65	2	4	4	6	412	46.1	5.99
504801 229	MULTISPECIES: succinate--CoA ligase subunit beta [Nocardia]	23.12	28.87	1	6	6	6	388	41.0	4.84
754901 656	MULTISPECIES: adenylosuccinate synthase [Nocardia]	22.77	12.82	1	4	4	5	429	46.2	5.60
753807 297	2-oxoacid:ferredoxin oxidoreductase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	22.43	11.98	2	4	4	6	359	38.8	5.63

754900 488	cysteine desulfurase [Nocardia brasiliensis]	22.43	18.23	1	5	5	6	417	44.4	5.38
504799 025	cobaltochelataase subunit CobN [Nocardia brasiliensis]	21.71	6.89	3	5	5	5	120 5	130.2	4.96
659853 229	MULTISPECIES: acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia]	21.57	24.15	1	5	5	5	381	42.3	5.15
504801 335	elongation factor Tu [Nocardia brasiliensis]	21.31	18.43	2	5	5	5	396	43.7	5.26
754899 380	aminotransferase class V [Nocardia brasiliensis]	21.29	20.56	1	4	4	5	394	42.0	5.31
504801 685	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.29	26.17	3	6	6	6	386	41.6	5.39
754898 333	XshC-Cox1 family protein [Nocardia brasiliensis]	21.23	15.08	1	4	4	6	358	38.0	6.00
753809 247	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	21.01	15.73	1	4	4	5	445	45.5	5.92
754897 494	phenylalanine--tRNA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	20.99	22.95	1	5	5	5	353	38.1	5.30
659846 193	glycine cleavage system protein T [Nocardia brasiliensis]	20.96	25.41	2	5	5	5	366	39.4	5.10
738651 189	succinate dehydrogenase flavoprotein subunit [Nocardia brasiliensis]	20.79	14.58	2	5	5	5	583	64.7	5.73
754902 404	adenosine deaminase [Nocardia brasiliensis]	20.71	22.19	1	4	4	5	365	39.7	5.38
504795 958	type I glutamate--ammonia ligase [Nocardia brasiliensis]	20.46	16.53	2	5	5	5	478	53.6	5.15
659846 330	phosphopyruvate hydratase [Nocardia brasiliensis]	20.46	22.66	1	5	5	5	428	44.9	4.65
504800 958	serine hydroxymethyltransferase [Nocardia brasiliensis]	20.14	21.35	3	5	5	5	431	46.0	6.28

504799 569	uroporphyrinogen decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	19.89	21.37	1	5	5	5	351	37.3	5.68
659851 950	cysteine synthase [Nocardia brasiliensis]	19.13	15.51	3	4	4	5	361	39.0	5.82
659845 413	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	18.95	11.70	3	3	3	5	453	49.0	4.87
659849 190	S-(hydroxymethyl)mycothiol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	18.87	19.39	2	3	4	5	361	38.5	5.30
659850 471	oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	18.59	19.60	1	3	3	4	352	37.2	5.45
504794 983	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	18.57	20.42	1	5	5	5	333	37.0	4.91
659851 924	MULTISPECIES: geranylgeranyl pyrophosphate synthase [Nocardia]	18.51	21.76	1	4	4	4	340	36.2	4.96
754901 667	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	18.39	15.89	1	3	3	4	365	38.9	5.14
504797 308	dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	18.15	20.06	1	4	4	4	349	36.0	5.99
753809 076	lipase [Nocardia brasiliensis]	17.82	14.07	3	3	3	4	391	40.3	5.59
504801 228	succinate--CoA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	16.53	25.99	2	4	4	4	304	31.2	5.39
754905 772	CoA transferase [Nocardia brasiliensis]	16.48	16.50	1	4	4	4	406	43.9	5.15
753807 473	ornithine cyclodeaminase [Nocardia brasiliensis]	16.23	11.88	2	3	3	4	320	34.1	5.69
918256 475	ribokinase [Nocardia brasiliensis]	16.08	14.29	1	4	4	4	322	32.6	5.47
754904 864	threonine ammonia-lyase [Nocardia brasiliensis]	15.61	24.09	1	4	4	4	411	42.3	6.39

504794 910	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	15.45	15.90	3	3	3	4	327	35.4	5.55
504801 591	dihydrolipoyl dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	14.94	15.63	1	4	4	4	467	49.9	5.44
504801 088	ribose-phosphate pyrophosphokinase [Nocardia brasiliensis]	14.92	21.78	2	4	4	4	326	35.6	6.55
754894 804	lactate 2-monooxygenase [Nocardia brasiliensis]	14.61	18.04	1	3	3	4	388	41.5	5.44
504795 450	aminopeptidase N [Nocardia brasiliensis]	14.58	6.05	3	4	4	4	859	93.8	4.84
504800 747	GDP-mannose pyrophosphorylase [Nocardia brasiliensis]	14.43	18.11	3	4	4	4	359	37.3	5.19
504794 865	L-lysine 6-transaminase [Nocardia brasiliensis]	14.40	10.36	3	3	3	4	444	49.1	5.47
504800 091	6-phosphofructokinase [Nocardia brasiliensis]	14.37	12.50	3	3	3	4	344	36.9	6.35
504801 526	isocitrate lyase [Nocardia brasiliensis]	14.31	21.91	2	4	4	4	429	46.7	5.22
754900 592	alcohol dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	14.25	13.78	1	3	3	4	370	37.4	5.49
504800 718	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	14.03	13.56	3	3	3	3	494	53.9	5.07
504801 641	homogentisate 1,2-dioxygenase [Nocardia brasiliensis]	13.28	14.57	2	3	3	3	398	44.1	6.20
659852 117	aspartate aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	13.22	15.86	2	3	3	3	372	39.2	5.60
754903 565	1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	12.96	12.29	1	3	3	3	545	58.1	6.29
754902 791	betaine-aldehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	12.95	13.79	1	3	3	3	493	52.4	5.08

504797 626	inosine 5-monophosphate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	12.57	9.21	1	3	3	3	478	49.8	6.27
504801 772	MULTISPECIES: aminotransferase AlaT [Nocardia]	12.52	13.40	1	3	3	3	418	46.0	5.88
504796 669	galactonate dehydratase [Nocardia brasiliensis]	12.41	16.27	2	3	3	3	381	41.2	5.16
504795 563	gamma-glutamyl-phosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	12.04	13.78	2	3	3	3	421	43.9	5.39
659856 131	quinone oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	11.55	16.01	2	3	3	3	331	34.1	5.11
504793 727	DNA polymerase III subunit beta [Nocardia brasiliensis]	11.00	15.09	2	3	3	3	391	41.3	4.87
754896 109	thioredoxin reductase [Nocardia brasiliensis]	10.72	15.79	1	3	3	3	323	33.6	5.39
504793 874	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	10.71	12.98	2	3	3	3	339	36.4	5.60
754903 723	M18 family aminopeptidase [Nocardia brasiliensis]	10.67	10.90	2	3	3	3	431	45.2	5.85

Secuenciación de la banda 24 Control.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
754904098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	102.27	73.33	1	13	13	24	255	26.5	5.27

65985 3437	chemical-damaging agent resistance protein C [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	101.38	56.02	1	6	9	23	191	20.5	4.64
75490 2280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [<i>Nocardia</i>]	85.87	63.30	1	12	12	19	406	42.7	5.05
65985 5803	type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	85.37	47.49	1	11	11	19	339	35.8	5.15
50480 1077	chemical-damaging agent resistance protein C [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	71.29	43.98	1	3	6	16	191	20.4	4.81
50480 1336	MULTISPECIES: elongation factor G [<i>Nocardia</i>]	61.26	18.71	1	9	9	15	700	77.2	5.00
50479 5976	2-oxoglutarate dehydrogenase, E2 component, dihydrolipoamide succinyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	59.75	15.08	1	7	7	15	590	60.2	4.77
50479 4939	enoyl-CoA hydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	57.35	37.98	2	11	11	16	258	28.2	5.33
50479 9286	transaldolase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	55.80	36.70	2	10	10	13	376	40.0	4.82
50479 7006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [<i>Nocardia</i>]	52.51	54.35	1	10	10	14	368	38.6	6.09
50479 4457	phosphoserine aminotransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	48.17	25.67	3	5	5	11	374	39.8	5.10
65985 5807	triose-phosphate isomerase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.18	59.00	2	12	12	13	261	27.6	5.85
50480 1746	molecular chaperone DnaK [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	41.79	19.19	2	5	5	8	615	65.8	4.87
50479 5982	branched chain amino acid aminotransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	38.15	36.44	3	8	8	9	365	39.7	5.21
75489 9132	CoA ester lyase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	38.03	33.33	1	7	7	9	270	28.9	5.41
50479 9907	MULTISPECIES: UMP kinase [<i>Nocardia</i>]	37.21	26.45	1	4	4	9	242	26.0	5.34

75489 9355	phosphonomutase [Nocardia brasiliensis]	36.89	45.20	1	9	9	10	250	26.7	5.11
49952 0235	MULTISPECIES: Crp/Fnr family transcriptional regulator [Nocardia]	36.05	43.30	1	6	6	9	224	24.7	9.51
75490 1436	proteasome subunit beta [Nocardia brasiliensis]	35.16	25.26	1	8	8	9	285	30.0	5.15
75489 8942	MULTISPECIES: enoyl-CoA hydratase [Nocardia]	33.54	38.43	1	6	6	8	242	25.5	5.71
65985 2704	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	32.30	29.87	1	5	5	8	231	26.3	5.67
50479 9313	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	30.82	28.71	2	7	7	8	404	41.8	4.81
50480 0020	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	29.43	33.20	2	5	5	6	259	26.2	5.85
50480 0797	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	28.24	23.11	3	4	4	7	264	27.6	5.45
50479 4667	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S4 [Nocardia]	27.98	26.87	1	5	5	8	201	23.5	10.23
65985 6201	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	26.10	20.39	3	5	5	6	407	43.2	5.66
50479 9697	glutamate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	25.91	26.98	2	5	5	6	278	29.8	8.41
50479 4935	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [Nocardia brasiliensis]	25.12	16.83	1	5	5	7	499	53.5	5.40
65985 4229	MULTISPECIES: elongation factor Tu [Nocardia]	25.09	25.76	1	5	5	5	396	43.7	5.26
65985 6213	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	23.71	32.59	2	5	5	6	224	24.2	4.97
65985 1111	succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit [Nocardia brasiliensis]	22.58	22.57	2	6	6	6	257	28.7	7.96

75490 6722	30S ribosomal protein S5 [Nocardia brasiliensis]	22.43	31.82	2	6	6	6	220	22.5	10.96
50479 6198	MULTISPECIES: tryptophan synthase subunit alpha [Nocardia]	22.03	24.44	2	5	5	6	266	27.2	4.89
75490 0531	methyltransferase [Nocardia brasiliensis]	22.03	19.56	1	3	3	5	225	24.0	4.63
65984 9885	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	21.84	17.81	2	5	5	6	494	54.0	5.07
50480 1818	6-phosphogluconate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.61	26.61	3	5	5	5	342	36.9	5.35
65985 6233	MULTISPECIES: dihydrofolate reductase [Nocardia]	19.26	19.74	1	4	4	5	228	25.3	5.36
50479 3802	MULTISPECIES: superoxide dismutase [Nocardia]	17.97	28.50	1	4	4	4	207	23.1	5.66
50479 4955	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	17.70	20.68	1	3	3	4	353	36.6	5.10
65985 5996	YggS family pyridoxal phosphate enzyme [Nocardia brasiliensis]	17.63	17.72	1	3	3	4	254	26.8	5.94
65985 4261	pyridoxal biosynthesis lyase PdxS [Nocardia brasiliensis]	17.58	29.08	2	5	5	5	306	32.5	5.15
50480 1924	LLM class F420-dependent oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	17.57	20.83	3	4	4	4	264	29.0	6.18
50479 5450	aminopeptidase N [Nocardia brasiliensis]	16.61	7.33	3	4	4	4	859	93.8	4.84
50480 1289	acyl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	16.28	12.95	3	3	3	4	386	41.3	5.15
75489 8597	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase [Nocardia brasiliensis]	16.25	28.45	1	4	4	4	355	37.1	4.87
65984 6231	MULTISPECIES: type I glutamate-- ammonia ligase [Nocardia]	15.72	13.81	1	4	4	4	478	53.6	5.15

75489 9184	bacteriocin [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.68	18.05	1	3	3	4	266	28.7	4.96
65985 3475	enoyl-CoA hydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.00	16.14	2	4	4	4	254	26.1	5.21
50480 1706	MULTISPECIES: glucose-6-phosphate dehydrogenase (coenzyme-F420) [<i>Nocardia</i>]	13.90	20.83	1	3	3	3	336	36.9	5.58
50479 4969	FOF1 ATP synthase subunit gamma [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.47	17.03	1	4	4	4	323	34.9	6.18
75489 4958	MBL fold metallo-hydrolase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.18	28.44	1	3	3	3	225	24.0	5.25
65985 5080	MULTISPECIES: L-cystine-binding protein TcyA [<i>Nocardia</i>]	13.13	18.18	2	3	3	3	242	25.4	5.54
50479 6218	branched chain amino acid ABC transporter substrate-binding protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.87	11.81	1	3	3	3	398	40.4	5.86
50479 4723	molecular chaperone GroEL [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.04	14.18	3	3	3	3	536	55.7	5.06
50479 4141	enoyl-CoA hydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.58	19.05	2	3	3	3	273	29.1	5.29
65985 2658	proteasome subunit beta [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.57	20.96	2	3	3	3	272	29.3	5.53
65984 5637	fumarylacetoacetase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.29	14.54	3	3	3	3	392	42.3	5.05
50480 0589	SAM-dependent methyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.24	25.11	2	3	3	3	219	23.9	4.93
75380 7512	delta-aminolevulinic acid dehydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.11	19.08	1	3	3	3	325	34.8	5.07
75490 3813	acetyl-CoA carboxylase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.76	2.19	1	3	3	3	182 7	198.5	5.43

50479 9349	orotidine 5'-phosphate decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	10.71	15.33	3	3	3	3	274	28.1	5.05
50479 9319	haloacid dehalogenase [Nocardia brasiliensis]	10.59	12.12	3	3	3	3	231	25.5	5.01
65985 1383	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase [Nocardia brasiliensis]	10.56	13.28	2	3	3	3	241	24.7	5.90
50479 4970	FOF1 ATP synthase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	10.53	10.17	1	3	3	3	482	52.2	5.14
73865 3668	malate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	10.48	12.04	3	3	3	3	382	39.7	5.05
50479 4068	short-chain dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	10.38	19.11	3	3	3	3	246	24.6	4.70
65985 3162	ATPase [Nocardia brasiliensis]	10.28	10.10	3	3	3	3	406	43.9	5.78
50479 9766	4-hydroxy-tetrahydrodipicolinate reductase [Nocardia brasiliensis]	9.85	17.34	3	3	3	3	248	26.0	5.05

Secuenciación de la banda 24 CSHN.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique Peptides	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
75490 4098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	203.33	83.14	1	19	19	49	255	26.5	5.27
65985 3437	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	137.91	54.97	1	6	8	33	191	20.5	4.64

50480 1077	chemical-damaging agent resistance protein C [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	93.89	42.93	1	3	5	22	191	20.4	4.81
50479 4939	enoyl-CoA hydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	77.44	33.72	2	11	11	21	258	28.2	5.33
75490 2280	MULTISPECIES: acetyl-CoA acetyltransferase [<i>Nocardia</i>]	66.31	48.03	1	11	11	16	406	42.7	5.05
75490 0440	triose-phosphate isomerase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	65.12	67.82	1	12	12	16	261	27.6	5.64
50480 1336	MULTISPECIES: elongation factor G [<i>Nocardia</i>]	64.89	18.43	1	8	8	15	700	77.2	5.00
65985 4229	MULTISPECIES: elongation factor Tu [<i>Nocardia</i>]	62.92	36.87	1	10	10	13	396	43.7	5.26
50479 4667	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S4 [<i>Nocardia</i>]	61.48	51.74	1	8	8	16	201	23.5	10.23
50479 3802	MULTISPECIES: superoxide dismutase [<i>Nocardia</i>]	52.90	49.28	1	6	6	12	207	23.1	5.66
50479 9286	transaldolase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	52.14	39.63	2	9	9	13	376	40.0	4.82
50479 9697	glutamate-binding protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	48.76	52.52	2	9	9	12	278	29.8	8.41
65985 5803	type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	48.41	47.79	1	9	9	11	339	35.8	5.15
75489 9355	phosphonmutase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	46.77	47.60	1	8	8	12	250	26.7	5.11
50479 5976	2-oxoglutarate dehydrogenase, E2 component, dihydrolipoamide succinyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	45.70	14.58	1	7	7	11	590	60.2	4.77
49952 0235	MULTISPECIES: Crp/Fnr family transcriptional regulator [<i>Nocardia</i>]	45.27	47.32	1	6	6	11	224	24.7	9.51
50479 9907	MULTISPECIES: UMP kinase [<i>Nocardia</i>]	44.99	45.04	1	6	6	13	242	26.0	5.34

50479 4935	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [Nocardia brasiliensis]	42.58	27.45	1	8	8	10	499	53.5	5.40
75490 1436	proteasome subunit beta [Nocardia brasiliensis]	41.30	42.81	1	9	9	10	285	30.0	5.15
75489 9132	CoA ester lyase [Nocardia brasiliensis]	38.37	35.93	1	7	7	8	270	28.9	5.41
75490 6722	30S ribosomal protein S5 [Nocardia brasiliensis]	38.27	32.27	2	6	6	10	220	22.5	10.96
65985 4261	pyridoxal biosynthesis lyase PdxS [Nocardia brasiliensis]	37.33	26.80	2	5	5	9	306	32.5	5.15
50480 0020	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	36.56	33.20	2	6	6	8	259	26.2	5.85
50479 9598	polyphosphate glucokinase [Nocardia brasiliensis]	36.33	56.35	3	8	8	9	252	25.9	4.97
75489 8639	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	35.64	33.99	1	7	7	8	353	36.5	5.10
65985 1081	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	35.39	45.30	1	7	7	8	234	25.2	6.09
50479 9313	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	35.19	29.21	2	8	8	9	404	41.8	4.81
50480 0865	MULTISPECIES: Rossmann fold protein, TIGR00730 family [Nocardia]	35.02	21.93	1	5	5	8	269	29.3	5.10
75490 2612	formimidoyltetrahydrofolate cyclodeaminase [Nocardia brasiliensis]	34.46	36.22	1	5	5	8	196	19.8	5.02
65985 2704	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	34.44	37.23	1	5	5	8	231	26.3	5.67
65985 1111	succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit [Nocardia brasiliensis]	33.11	26.07	2	6	6	9	257	28.7	7.96
65985 4213	thiamine biosynthesis protein ThiJ [Nocardia brasiliensis]	31.53	23.38	1	4	4	7	231	24.2	4.72

75380 6759	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	31.05	31.82	2	5	5	7	242	25.5	5.71
50479 7006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	30.98	19.84	1	5	5	8	368	38.6	6.09
75490 0531	methyltransferase [Nocardia brasiliensis]	30.73	26.22	1	5	5	7	225	24.0	4.63
65985 5080	MULTISPECIES: L-cystine-binding protein TcyA [Nocardia]	29.72	37.19	1	6	6	7	242	25.4	5.54
50480 1228	succinate--CoA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	28.88	30.59	2	6	6	7	304	31.2	5.39
50479 4970	FOF1 ATP synthase subunit beta [Nocardia brasiliensis]	28.40	19.29	1	7	7	8	482	52.2	5.14
65985 2030	MULTISPECIES: phosphoribosylformylglycinamide synthase I [Nocardia]	26.87	32.44	1	5	5	7	225	23.5	4.94
65984 5720	MULTISPECIES: thiamine phosphate synthase [Nocardia]	26.19	29.31	2	4	4	6	232	24.4	8.87
65985 5996	YggS family pyridoxal phosphate enzyme [Nocardia brasiliensis]	26.06	24.80	1	4	4	6	254	26.8	5.94
75380 9247	aspartate aminotransferase family protein [Nocardia brasiliensis]	26.01	22.70	1	5	5	6	445	45.5	5.92
75490 6348	aminopeptidase N [Nocardia brasiliensis]	25.19	9.66	1	5	5	6	859	93.8	4.82
75490 1331	MULTISPECIES: anti-anti-sigma regulatory factor [Nocardia]	23.94	21.93	1	4	4	6	301	33.3	4.83
50479 6198	MULTISPECIES: tryptophan synthase subunit alpha [Nocardia]	22.73	40.23	2	5	5	6	266	27.2	4.89
50479 4397	MULTISPECIES: phosphate transport system regulatory protein PhoU [Nocardia]	22.01	39.09	1	5	5	5	220	24.1	4.92

50479 4809	purine-nucleoside phosphorylase [Nocardia brasiliensis]	21.56	26.25	3	4	4	5	259	26.7	5.53
75489 6652	maleylpyruvate isomerase [Nocardia brasiliensis]	21.28	23.87	1	5	5	5	243	26.1	4.94
50479 4382	FABP family protein [Nocardia brasiliensis]	20.90	28.51	2	4	4	6	235	25.1	4.65
50480 1602	MULTISPECIES: molecular chaperone GroEL [Nocardia]	20.69	12.75	2	5	5	5	541	56.2	4.87
73865 0182	hypothetical protein, partial [Nocardia brasiliensis]	20.65	11.13	1	5	5	5	737	81.8	6.18
75489 4958	MBL fold metallo-hydrolase [Nocardia brasiliensis]	20.14	28.44	1	3	3	5	225	24.0	5.25
65985 2658	proteasome subunit beta [Nocardia brasiliensis]	20.01	26.10	2	4	4	5	272	29.3	5.53
75490 4274	orotidine 5'-phosphate decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	19.60	21.53	1	4	4	5	274	28.1	4.84
50480 1258	bacteriocin [Nocardia brasiliensis]	19.07	19.92	2	4	4	5	266	28.7	4.97
75489 7781	MULTISPECIES: enoyl-CoA hydratase [Nocardia]	18.33	35.23	1	4	4	4	264	27.6	5.45
65984 7475	DNA-binding response regulator [Nocardia brasiliensis]	18.30	24.41	1	5	5	5	213	22.8	5.48
65984 6231	MULTISPECIES: type I glutamate-- ammonia ligase [Nocardia]	18.23	13.81	1	4	4	4	478	53.6	5.15
50479 9211	MULTISPECIES: enoyl-[acyl-carrier- protein] reductase [Nocardia]	18.22	20.86	2	4	4	4	278	29.5	4.98
50479 6978	MULTISPECIES: ATP/GTP-binding protein [Nocardia]	17.71	37.81	1	5	5	5	201	21.9	5.05
75490 0124	protease [Nocardia brasiliensis]	17.67	16.55	3	4	4	4	441	45.6	6.58

50479 4049	aspartate-semialdehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	17.66	19.48	2	4	4	4	344	36.0	5.25
50479 4677	5'-methylthioadenosine phosphorylase [Nocardia brasiliensis]	17.54	18.59	2	5	5	5	269	29.0	5.78
65985 4418	deoxycytidine triphosphate deaminase [Nocardia brasiliensis]	17.35	24.48	1	3	3	4	192	20.7	5.50
65985 2288	SDR family oxidoreductase [Nocardia brasiliensis]	17.17	19.67	2	3	3	4	244	26.1	5.38
65985 6233	MULTISPECIES: dihydrofolate reductase [Nocardia]	17.13	21.05	1	4	4	4	228	25.3	5.36
50480 0715	MULTISPECIES: DNA-binding response regulator [Nocardia]	16.70	26.67	1	4	4	4	225	24.8	6.25
65985 6312	alanine racemase [Nocardia brasiliensis]	16.29	18.16	2	3	3	4	369	39.2	5.81
65985 3475	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	16.08	15.35	2	3	3	4	254	26.1	5.21
50479 4865	L-lysine 6-transaminase [Nocardia brasiliensis]	16.08	16.22	3	4	4	4	444	49.1	5.47
75490 1827	MULTISPECIES: haloacid dehalogenase [Nocardia]	16.07	17.13	1	3	3	4	251	27.1	5.02
65984 9885	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	15.91	9.72	2	4	4	4	494	54.0	5.07
50480 1591	dihydrolipoyl dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	15.82	16.70	2	4	4	4	467	49.9	5.44
75490 1753	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	15.63	20.25	2	3	3	4	242	25.7	5.59
75489 8500	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	15.59	23.51	1	4	4	4	251	25.5	4.93
75489 6422	LuxR family transcriptional regulator [Nocardia brasiliensis]	15.57	20.00	1	3	3	4	215	23.6	7.46

50479 4759	isocitrate dehydrogenase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	15.13	16.30	2	4	4	4	405	45.1	5.62
65985 6213	hypothetical protein [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	14.63	17.41	2	3	3	3	224	24.2	4.97
50480 1393	MULTISPECIES: 50S ribosomal protein L1 [<i>Nocardia</i>]	14.39	21.52	1	3	3	3	237	25.1	9.50
75380 7512	delta-aminolevulinic acid dehydratase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	14.30	13.23	1	3	3	4	325	34.8	5.07
50480 0673	MULTISPECIES: hydroxylase [<i>Nocardia</i>]	13.85	21.40	3	3	3	4	229	24.7	4.84
75490 4943	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.82	16.53	1	3	3	3	357	35.9	5.92
50479 4875	septum formation inhibitor Maf [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.77	27.01	2	3	3	3	211	21.9	4.75
50479 9376	elongation factor P [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.52	25.13	2	3	3	3	187	20.4	5.25
50479 4725	MULTISPECIES: RNA polymerase sigma factor SigK [<i>Nocardia</i>]	13.48	26.70	2	3	3	3	191	21.3	5.47
50479 9228	3-ketoacyl-ACP reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.27	19.92	3	4	4	4	261	26.9	6.00
50479 7971	glyceraldehyde 3-phosphate reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.26	15.56	3	3	3	3	347	38.3	5.29
65985 1383	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.22	21.58	2	3	3	3	241	24.7	5.90
75489 9299	deaminase/reductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	13.03	36.32	1	3	3	3	201	21.8	4.55
50480 1924	LLM class F420-dependent oxidoreductase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.84	15.15	3	3	3	3	264	29.0	6.18
50480 0589	SAM-dependent methyltransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.75	25.11	2	3	3	3	219	23.9	4.93

50479 4461	pyridoxamine 5'-phosphate oxidase [Nocardia brasiliensis]	12.03	20.25	3	3	3	3	242	26.4	5.87
50479 4457	phosphoserine aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	11.95	15.78	3	3	3	3	374	39.8	5.10
50480 1818	6-phosphogluconate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	11.76	16.96	3	3	3	3	342	36.9	5.35
73865 3668	malate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	11.41	13.61	3	3	3	3	382	39.7	5.05
50480 0642	2,3-diketo-5-methylthio-1- phosphopentane phosphatase [Nocardia brasiliensis]	11.37	20.52	2	3	3	3	229	24.8	4.98
75489 8599	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	10.78	12.46	1	3	3	3	297	30.1	4.84
65984 6330	phosphopyruvate hydratase [Nocardia brasiliensis]	10.59	12.62	1	3	3	3	428	44.9	4.65
50479 8212	gamma-aminobutyraldehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	10.15	9.66	1	3	3	3	476	50.5	5.99
50479 6018	MULTISPECIES: 3-deoxy-7- phosphoheptulonate synthase [Nocardia]	10.10	10.63	1	3	3	3	461	50.7	5.33

Secuenciación de la banda 24 10CSHN.

Accession	Description	Score	Coverage	# Proteins	# Unique	# Peptides	# PSMs	# AAs	MW [kDa]	calc. pI
-----------	-------------	-------	----------	------------	----------	------------	--------	-------	----------	----------

					Peptides					
75490 4098	3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	132.34	62.35	1	12	12	30	255	26.5	5.27
65985 3437	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	116.50	56.02	1	6	9	27	191	20.5	4.64
50480 1077	chemical-damaging agent resistance protein C [Nocardia brasiliensis]	89.74	43.98	1	3	6	21	191	20.4	4.81
65985 1816	acetyl-CoA acetyltransferase [Nocardia brasiliensis]	48.37	34.24	2	8	8	11	406	42.8	5.05
50479 5976	2-oxoglutarate dehydrogenase, E2 component, dihydrolipoamide succinyltransferase [Nocardia brasiliensis]	48.03	16.10	1	9	9	11	590	60.2	4.77
50479 9907	MULTISPECIES: UMP kinase [Nocardia]	46.31	18.18	1	4	4	13	242	26.0	5.34
50480 1336	MULTISPECIES: elongation factor G [Nocardia]	44.85	13.29	1	7	7	10	700	77.2	5.00
50480 0020	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	37.01	36.68	2	5	5	7	259	26.2	5.85
50479 4667	MULTISPECIES: 30S ribosomal protein S4 [Nocardia]	36.05	31.34	1	7	7	9	201	23.5	10.23
75490 6722	30S ribosomal protein S5 [Nocardia brasiliensis]	35.51	33.18	2	6	6	9	220	22.5	10.96
50479 9286	transaldolase [Nocardia brasiliensis]	34.50	32.98	2	8	8	8	376	40.0	4.82
75490 1436	proteasome subunit beta [Nocardia brasiliensis]	33.65	20.00	1	5	5	7	285	30.0	5.15
65985 6233	MULTISPECIES: dihydrofolate reductase [Nocardia]	32.31	27.19	1	6	6	8	228	25.3	5.36
65985 5807	triose-phosphate isomerase [Nocardia brasiliensis]	31.81	37.93	2	7	7	8	261	27.6	5.85

50479 9314	MULTISPECIES: type I glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Nocardia]	30.16	32.74	2	5	5	6	339	35.8	5.24
75489 8639	threonine synthase [Nocardia brasiliensis]	28.94	25.50	1	6	6	7	353	36.5	5.10
50479 9697	glutamate-binding protein [Nocardia brasiliensis]	28.59	32.73	2	6	6	7	278	29.8	8.41
65985 4229	MULTISPECIES: elongation factor Tu [Nocardia]	28.52	21.72	1	6	6	6	396	43.7	5.26
49952 0235	MULTISPECIES: Crp/Fnr family transcriptional regulator [Nocardia]	28.12	33.48	1	5	5	7	224	24.7	9.51
75490 0531	methyltransferase [Nocardia brasiliensis]	27.71	21.78	1	3	3	6	225	24.0	4.63
50479 4939	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	27.30	23.64	3	5	5	8	258	28.2	5.33
65985 5996	YggS family pyridoxal phosphate enzyme [Nocardia brasiliensis]	23.75	25.59	1	4	4	6	254	26.8	5.94
75489 9132	CoA ester lyase [Nocardia brasiliensis]	22.53	33.33	1	6	6	6	270	28.9	5.41
50480 0797	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	22.47	28.03	3	5	5	6	264	27.6	5.45
50479 4049	aspartate-semialdehyde dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	21.46	19.48	3	4	4	5	344	36.0	5.25
50479 7006	MULTISPECIES: alanine dehydrogenase [Nocardia]	20.89	22.55	1	5	5	5	368	38.6	6.09
75380 6759	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	19.28	22.73	2	3	3	4	242	25.5	5.71
50480 1228	succinate--CoA ligase subunit alpha [Nocardia brasiliensis]	18.68	19.74	3	5	5	5	304	31.2	5.39
50479 4457	phosphoserine aminotransferase [Nocardia brasiliensis]	17.68	15.51	3	3	3	4	374	39.8	5.10

50480 0718	adenosylhomocysteinase [Nocardia brasiliensis]	17.65	11.13	3	4	4	4	494	53.9	5.07
75490 3034	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	17.37	16.90	1	3	3	4	355	35.3	5.21
65985 6213	hypothetical protein [Nocardia brasiliensis]	17.29	18.75	2	3	3	4	224	24.2	4.97
65985 1081	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	16.24	21.37	1	3	3	4	234	25.2	6.09
75490 0436	haloacid dehalogenase [Nocardia brasiliensis]	15.51	18.61	1	4	4	4	231	25.4	5.01
50479 4759	isocitrate dehydrogenase [Nocardia brasiliensis]	15.51	15.06	2	3	3	4	405	45.1	5.62
65984 5720	MULTISPECIES: thiamine phosphate synthase [Nocardia]	14.80	16.38	2	3	3	4	232	24.4	8.87
75490 4274	orotidine 5'-phosphate decarboxylase [Nocardia brasiliensis]	14.18	17.88	1	3	3	3	274	28.1	4.84
75490 4943	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase [Nocardia brasiliensis]	13.38	13.45	1	3	3	3	357	35.9	5.92
50479 9313	phosphoglycerate kinase [Nocardia brasiliensis]	12.85	11.14	3	3	3	3	404	41.8	4.81
65985 1383	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidyltransferase [Nocardia brasiliensis]	12.75	17.84	2	3	3	3	241	24.7	5.90
65985 4261	pyridoxal biosynthesis lyase PdxS [Nocardia brasiliensis]	12.61	16.99	2	3	3	3	306	32.5	5.15
65985 3475	enoyl-CoA hydratase [Nocardia brasiliensis]	12.32	11.42	2	3	3	3	254	26.1	5.21
75490 3813	acetyl-CoA carboxylase [Nocardia brasiliensis]	12.30	2.19	1	3	3	3	182 7	198.5	5.43
65985 5589	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase (acylating) [Nocardia brasiliensis]	12.30	9.42	1	3	3	3	499	53.5	5.47

50479 9598	polyphosphate glucokinase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.26	19.05	3	3	3	3	252	25.9	4.97
75489 6422	LuxR family transcriptional regulator [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.22	23.72	1	3	3	3	215	23.6	7.46
50479 5982	branched chain amino acid aminotransferase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	12.05	16.44	3	3	3	3	365	39.7	5.21
65985 5080	MULTISPECIES: L-cystine-binding protein TcyA [<i>Nocardia</i>]	11.83	16.94	2	3	3	3	242	25.4	5.54
50479 6198	MULTISPECIES: tryptophan synthase subunit alpha [<i>Nocardia</i>]	11.70	15.04	2	3	3	3	266	27.2	4.89
50479 9984	flavodoxin [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.63	14.53	2	3	3	3	234	26.0	5.15
50479 5450	aminopeptidase N [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	11.13	4.77	3	3	3	3	859	93.8	4.84
50479 7431	catalase-peroxidase [<i>Nocardia brasiliensis</i>]	10.98	5.53	3	3	3	3	741	80.9	4.97
75490 2890	MULTISPECIES: short-chain dehydrogenase [<i>Nocardia</i>]	10.88	20.80	2	3	3	3	226	23.3	6.00

