Keity Souza Santos

**Identificação das proteínas do veneno de abelhas africanizadas
(*Apis mellifera L.*) imunoreativas ao soro antiveneno por
abordagem proteômica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Mario Sergio Palma

Co-orientador: Prof. Dr. Fábio Fernandes Morato Castro

**SÃO PAULO
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Keity Souza

Identificação das proteínas do veneno de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) imunoreativas ao soro antiveneno por abordagem proteômica / Keity Souza Santos. -- São Paulo, 2008.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia.

Orientador: Mario Sergio Palma.

Co-orientador: Fábio Fernandes Morato Castro.

Descritores: 1.Venenos de abelha 2.Antivenenos 3.Toxinas biológicas
4.Proteoma/toxicidade 5.Alérgenos 6.Processamento de proteína pós-traducional

USP/FM/SBD-308/08

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURA

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	6
1.1 História natural	6
1.2 Taxonomia.....	6
1.3 História	9
1.3.1 História natural das ferroadas de abelhas.....	11
1.4 Composição e mecanismos de ação dos principais componentes do veneno de abelhas.....	13
1.4.1 Modificações pós-traducionais	19
1.5 Hipersensibilidade IgE-mediada (Tipo I)	19
1.6 Aspectos clínicos de ferroadas de abelhas	22
1.7 Epidemiologia e tratamento de reações a ferroadas de abelhas e vespas	24
1.8 Antiveneno	27
1.8.1 Imunização dos animais.....	29
1.8.2 Imunologia básica e farmacologia de antivenenos.....	29
1.8.3 Anticorpos equinos.....	35
1.8.4 Processo de produção de antivenenos	36
1.8.5. Soroterapia.....	39

1.8.5.1. Indicações e doses	39
2. OBJETIVOS	42
3. MÉTODOS	44
3.1. Veneno e soro antiveneno.....	44
3.2. Cromatografia de Imunoafinidade	44
3.2.1 Imobilização do soro antiveneno de abelhas em resina de Sepharose	44
3.3. Análise proteômica	47
3.3.1 Eletroforese 2-D	47
3.4 Identificação de Proteínas	48
3.4.1 Digestão in gel para spots excisados do gel 2D.....	48
3.4.2 Identificação das proteínas por MALDI TOF-TOF e nano LC-MS/MS	50
3.4.3 Análise dos dados	52
3.5 Eletrotransferência e imunodeteção	53
3.6 Detecção de Glicoproteínas	57
3.7 Atividade hemolítica	57
3.8 Atividade miotóxica – medida da atividade de Creatino Quinase (CK)	59
3.9 Cultura celular e Ensaio de Citotoxicidade	60
3.9.1 Preparo de meio de cultura:	61
3.9.2 Banco de células:	61
3.9.3 Descongelamento celular	62
3.9.4 Subcultivo celular	62
3.9.5 Citotoxicidade.....	63
3.9.6 Soroneutralização	63

3.10 Atividade Hialuronidásica	64
4. RESULTADOS	66
4.1 Cromatografia de afinidade	66
4.2 Ensaio de potência	75
4.2.1 Ensaio biológico.....	75
4.3 Dose recomendada de antiveneno.....	80
4.4 Identificação das proteínas.....	81
4.4 Western Blotting	88
4.5 Modificações pós-traducionais	91
5. DISCUSSÃO	98
5.1 Identificação das proteínas.....	98
5.2 Ensaio biológico.....	105
5.3 Imunodeteção.....	106
5.3.1 Modificações pós-traducionais	106
5.4 Outros aspectos relevantes.....	110
5.5 Mecanismos de ação do veneno.....	111
6. CONCLUSÕES	114
7. REFERÊNCIAS.....	116
8. ANEXOS	126

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

μL – Microlitros	MS/MS – Espectro de massas sequencial (<i>in tandem</i>)
μmol – Micromoles	NaCl – Cloreto de Sódio
μg – Microgramas	nm – Nanômetros
ATV - Associação Tripsina-Versene	nmol - Nanomol
BSA - Albumina Bovina	$^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius
CBB – Coomassie Brilliant Blue	PAGE - Gel de Eletroforese de Poliacrilamida
CHAPS – Sulfato de 3-[(3-Colamidopropil)-dimetil-amônio]-1-propano	PBS – Tampão Fosfato Salino
CHCA - α -Ciano-4-hidroxi ácido cinâmico	pI – Ponto isoelétrico
CID - Dissociação Induzida por Colisão	PLA ₂ – Fosfolipase A ₂
Da – Daltons	PMSF – Fluoreto de Sulfonil Metil Fenil
DDT – Ditioltreitol	PVDF - Fluoreto de Polivinilideno
DMSO - dimetilsulfóxido	SDS - Dodecilsulfato de Sódio
DPP - Dipeptidil peptidase	Ser - Resíduo de aminoácido serina
ECL – Potencializador de Quiluminescência (Enhanced Chemiluminescent)	SFB – Soro Fetal Bovino
EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético	Thr – resíduo de aminoácido treonina
HCl – Ácido Clorídrico	TBS – Tampão Tris Salino
HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Pressão	TFA – Ácido trifluoracético
HRP – Peroxidase de rabanete	TIC – Cromatograma Total de Íons
IgE – Imunoglobulina do tipo E	TOF – Tempo de voo
IgG – Imunoglobulina do tipo G	V – Volts
IPG – Gradiente imobilizado de pH	VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular
LC-ESI-MS/MS - Cromatografia Líquida – Ionização por eletrospray – espectrometria de massas <i>in tandem</i> .	WB – Western Blotting
m/v – Massa por volume	XIC – Cromatograma Extraído do Íon
m/z – Massa/carga	
MALDI – Laser de Desorção e Ionização Assistido por Matriz	
mL - Mililitro	
mM – Milimolar	
MRJP – Principais proteínas da Geléia Real (do inglês <i>Major Royal Jelly Proteins</i>)	
MS – Espectro de massas	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo geral da reação de hipersensibilidade tipo I.

Figura 2. Ligação do alérgeno ao receptor de IgE na superfície de mastócitos induzem a desgranulação causando liberação de substâncias que mediam as manifestações alérgicas.

Figura 3. Ocorrência de acidentes com vespas e abelhas no estado de São Paulo.

Figura 4 – As diferentes formas de preparo de um antiveneno.

Figura 5 – Esquema da cromatografia de imunoafinidade em Sepharose 4B ativada com CNBr.

Figura 6 - Perfil eletroforético do gel do veneno de abelhas dialisado, contendo 300µg de proteínas corado com CBB.

Figura 7 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera* (1:24).

Figura 8 – Géis bidimensionais 12,5% pI 3 a 10 corados com CBB G-250 das frações eluídas da cromatografia de afinidade (1:24).

Figura 9 – Ampliações das regiões marcadas nos géis SDS PAGE (A) e (B) da figura 8, que representam as regiões repetidas em ambos os géis.

Figura 10 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera* (1:250).

Figura 11 – Géis bidimensionais SDS PAGE 12,5% pI 3 a 10 provenientes das frações eluídas em pH ácido e básico, da recromatografia (1:250) corados com prata.

Figura 12 – Gel SDS-PAGE 12,5% pI 3 a 10 do veneno total dialisado na presença de inibidores de protease.

Figura 13 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera* (1:58).

Figura 14 – Gel da fração I (eluída em pH 8).

Figura 15 – Géis das frações II (eluída em pH ácido) e III (eluída em pH básico).

Figura 16. Liberação de creatino-quinase que reflete o efeito miotóxico do veneno.

Figura 17 - Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera* (1:58) com inibidor de protease presente em todas as etapas da cromatografia.

Figura 18 - Gel de Eletroforese Bidimensional em SDS-PAGE 12,5%(m/v) da fração II eluída em pH ácido na cromatografia 1:58 na presença de inibidores de proteases em todas as etapas da cromatografia.

Figura 19 – Géis de Eletroforese Bidimensional em SDS-PAGE 12,5%(m/v) das frações provenientes da cromatografia 1:58 na presença de inibidores de proteases em todas as etapas da cromatografia de afinidade.

Figura 20 - Imagem do WB feito com IgG de coelho anti-IgG de cavalo, 200µg de proteínas de veneno total em gel SDS PAGE 12,5%(m/v) 7cm e pI 3 a 10.

Figura 21. WB com anticorpos de paciente sensível a IgE.

Figura 22 - Imagens dos géis das frações I e II evidenciando os spots escolhidos para busca por MPTs.

Figura 23 – Espectro da proteína identificada como PLA₂ na fração II (eluída em pH ácido).

Figura 24 – Espectro da proteína identificada como PLA₂ na fração I (eluída em pH 8).

Figura 25 – Imagens dos filmes do WB realizados com anticorpos anti-fosfoproteínas a partir de géis 2D 12,5% 13cm, pI 3 a 10.

Figura 26 – Imagem mostrando as proteínas detectadas como glicosiladas.

Figura 27 – Esquema proposto para o provável mecanismo de ação do veneno de *Apis mellifera*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência* de acidentes, óbitos e letalidade por ferroadas de abelhas e vespas no período de 1993 à 1998, no Estado de São Paulo

Tabela 2 - Atividade citotóxica do veneno total de abelhas, variando a quantidade de veneno utilizada.

Tabela 3 - Neutralização da atividade citotóxica do veneno de abelhas pelo antiveneno.

Tabela 4 – Atividade hemolítica do veneno total de abelhas.

Tabela 5. Neutralização da atividade hemolítica do veneno pelo antiveneno.

Tabela 6 – Identificação das proteínas do veneno total dialisado na presença de inibidores de protease.

Tabela 7 – Identificação das proteínas provenientes da fração eluída em pH ácido do gel mostrado na figura 15B.

Tabela 8 - Identificação das proteínas provenientes da fração I – eluídas em pH 8,0, do gel mostrado na figura 14.

Tabela 9 - Identificação das proteínas provenientes da fração III – eluídas em pH 10,7, do gel mostrado na figura 15C.

Tabela 10 - Identificação das proteínas detectadas por WB e reveladas com anti-IgG de cavalo.

Tabela 11 - Identificação das proteínas detectadas por WB com anti-IgE de pacientes sensíveis ao veneno. A coluna “Reatividade a IgG” indica se a proteína foi imunoreativa ou não imunoreativa ao antiveneno no ensaio de WB com anti-IgG .

Tabela 12 – Resultado da busca feita contra o banco do genoma de *Apis mellifera* em busca de MPTs utilizando-se o aplicativo o Protein Pilot versão 9.

Tabela 13 – Proteínas identificadas como glicosiladas e mostradas na figura 26.

RESUMO

O estudo de venenos de artrópodes é de grande interesse para melhorar os tratamentos contra envenenamentos e oferece uma ótima ferramenta para melhor compreensão dos sistemas nervoso e imunológico, coagulação sanguínea e respostas inflamatórias. As abelhas são um dos animais venenosos mais estudados e a elucidação do seu proteoma é de interesse na elucidação de reações tóxicas e alérgicas a ferroadas. O número de acidentes envolvendo estes insetos é crescente, tendo ultrapassado 20.000 notificações entre 2001 e 2006 em todo o país e, apesar disso, não há um tratamento específico para estas vítimas, nem mesmo uma identificação completa dos antígenos presentes nesse veneno. O perfil protéico descrito até então apresenta cerca de 40 proteínas. O objetivo deste trabalho foi identificar o perfil protéico do veneno de abelhas utilizando a união da abordagem proteômica e da cromatografia de afinidade. Identificar também as proteínas alergênicas deste veneno e algumas modificações pós-traducionais como fosforilação e glicosilação. Além disso, um soro antiveneno específico foi produzido e sua ação neutralizadora testada. O veneno de abelhas foi separado por cromatografia de afinidade utilizando o soro antiveneno imobilizado em coluna de Sepharose 4B. Para identificação das proteínas foram utilizadas técnicas de 2D-SDS-PAGE, MALDI TOF/TOF e nanoESI-LC/MS-MS. Ensaios de Western Blotting foram realizados para identificar as proteínas alergênicas e fosforiladas. A utilização da cromatografia de afinidade permitiu a identificação

de proteínas pouco abundantes. Foram identificadas 54 proteínas, dentre as quais 9 nunca haviam sido descritas neste veneno, como MRJP-2, alfa-glicosidase, transferinas, proteases, quinases e um inibidor de protease. Após a identificação destas proteínas foi possível propor um provável mecanismo de ação deste veneno. Dentre as proteínas identificadas como alergênicas, a MRJP-8 foi identificada pela primeira vez, juntamente com fatores relacionados ao PDGF e VEGF. Os resultados dos ensaios de neutralização de atividades citotóxicas, hemolíticas e miotóxicas mostraram a eficiência do soro antiveneno produzido. Chegou-se a um volume de 5,7 mL de soro antiveneno necessários para neutralizar a ação tóxica provocada por 100 ferroadas de abelhas. Este valor está na mesma faixa de eficiência dos melhores antivenenos (ofídicos, aracnídeos e escorpionídeos) produzidos no Brasil e no mundo. O lote de soro antiveneno produzido mostrou resultados satisfatórios para ser utilizado nos testes clínicos.

SUMMARY

The study of Arthropod venoms is of great interest to improve treatments against envenomations and provides a good tool to understand the nervous system, the immunological defense, blood coagulation and inflammatory responses. Honeybee is certainly one of the most studied animal venoms and the elucidation of its proteome is of major interest in viewing its impact on toxicity and allergy to stings. The number of accidents involving these insects is increasing had reached over 20,000 notifications from 2001 to 2006 all over country, but besides this there is no specific treatment for these victims, not even a complete identification of antigens present in this venom. The protein pattern there is known up to now presents around 40 proteins. The aim of this work was to identify the protein profile of honeybee venom using proteomic approach together with immunoaffinity chromatography. Identify also allergenic proteins and some post translational modifications as phosphorylation and glycosylation, Furthermore, a specific antivenom was produced and its neutralizing action was tested. Honeybee venom was separated by immunoaffinity chromatography immobilizing antivenom in a 4B Sepharose column. For identification of proteins 2D-SDS-PAGE, MALDI TOF/TOF and nanoESI-LC/MS-MS were used. Western Blotting assays were performed in order to identify allergenic and phosphorylated proteins. The utilization of immunoaffinity chromatography allowed the identification of 54 proteins, among them 9 were never reported before, as MRJP2, alpha-glicosidase, transferring,

protease, a protease inhibitor and a kinase. After identification of these proteins it was possible to outline a feasible mechanism of action to this venom. Among proteins identified as allergenic MRJP8 was detected for the first time together with PDGF and VEGF related factors. Results of neutralization of citotoxic, hemolytic and myotoxic activities showed the effectiveness of antivenom. The volume of antivenom that is necessary for neutralizing the toxic actions of 100 bee stings was 5.7mL. This value is close to efficiency values of best antivenom (for snakes, spiders and scorpions) produced in Brazil and all over world. The antivenom produced showed suitable results and can be used in clinical assays.

1. INTRODUÇÃO

1.1 *História natural*

As manifestações clínicas resultantes de contatos com himenópteros (abelhas, vespas e formigas) são de natureza, alérgica – reações de hipersensibilidade que podem ser desencadeadas por uma única ferroadinha – e tóxicas, que podem incluir hipotensão, taquicardia, náuseas, sudorese e hipotermia (França, 1994). A importação de linhagens de abelhas da África, mais produtivas e mais agressivas e a crescente ocupação urbana têm contribuído para aumentar o número de ocorrências (de Mello et al., 2003).

A desorganizada ocupação urbana e a conseqüente modificação do *habitat* podem ampliar o contato entre humanos e himenópteros peçonhentos, aumentando sua importância como problema de saúde pública.

Os himenópteros são uma ordem de insetos que inclui abelhas, formigas e vespas. Em relação à taxonomia podemos inserir as abelhas de acordo com a árvore que se segue.

1.2 *Taxonomia*

Reino: *Animalia*

Classe: *Insecta*

Ordem: *Himenóptera*

Sub-ordem: *Apócrita*

Família: *Apidae*

Sub-família: *Apinae*

Super-família: *Apoidea*

Tribo: *Apini*

Gênero: *Apis*

Espécie: *Mellifera*

Abelhas do gênero *Apis*, de grande importância econômica, as abelhas do gênero *Apis* e espécie *Apis mellifera* são divididas em várias subespécies. As subespécies de abelhas introduzidas no Brasil desde o início da prática de apicultura no país foram:

Apis mellifera mellifera

Tem sua origem no Norte e Oeste dos Alpes Europeus e na Rússia Central; são conhecidas popularmente como abelhas do Reino, da Europa ou abelha preta. Antes da introdução das abelhas africanas era a raça predominante no Brasil; estes insetos são grandes, com abdômen largo, de coloração preta e com o corpo recoberto de pelos. Quando puras, são mansas, pouco enxameadeiras e resistentes ao inverno; o cruzamento com italianas produz “híbridos” agressivos, porém bastante produtivos.

Apis mellifera scutellata

É originária do continente africano. São de porte pequeno e constroem células menores; os zangões são amarelados assim como as operárias. São agressivas, enxameadoras e migratórias, entretanto são propolizadoras, produtivas nas linhagens selecionadas, madrugadeiras e trabalham até mais tarde no final do dia. Foi introduzida no Brasil na região de Rio Claro-SP em 1956 para fins científicos e acabou escapando do apiário para a natureza; no cruzamento com as raças européias aqui existentes, produziu um “híbrido” que passou a ser chamado de abelha africanizada. Bastante produtivas e ao

mesmo tempo muito agressivas, as abelhas africanizadas se alastraram rapidamente por todo o continente; sem meios de exterminá-las os apicultores se uniram em associações com o objetivo de controlá-las e utilizá-las como excelentes produtoras de mel. Assim com o desenvolvimento de novas técnicas e a utilização de medidas de segurança, foi possível obter um boa produção de mel e houve um desenvolvimento acentuado na apicultura em nosso País.

Apis mellifera adansonii

Originária do continente africano, foram introduzidas no Brasil por volta de 1956. Seu comportamento é bem diferente quando comparado ao das abelhas européias. As africanas são abelhas muito agressivas, polinizadoras e enxameadoras. Não têm o habito de estocar grandes quantidades de alimento. Apresentam porte menor e cor amarelo-limão no abdômen. São caracterizadas por listras negras transversais que vão aumentando de largura até formar uma parte negra e brilhante.

Apis mellifera ligustica

Conhecida como abelha italiana, está entre as abelhas mais cultivadas no mundo. Foram introduzidas no Brasil em 1879, pelo apicultor Frederico Hanneman. O corpo apresenta coloração amarelo ouro e é coberto por pêlos compridos. No zangão, a cor é mais acentuada e uniforme. A rainha pode ser facilmente localizada entre as operárias. Muito mansas, as abelhas italianas são de fácil manuseio. Ficam calmas nos favos e são pouco enxameadoras. Reproduzem-se bem e costumam produzir opérculos de cor clara.

Apis mellifera carnica

Esta abelha é originária da Eslovênia, mas pode ser encontrada também na Áustria, parte da Hungria, Romênia, Croácia, Bósnia-Herzegovina e Sérvia. Ela se naturalizou e adaptou à região Carniola da Eslovênia, a parte sul dos Alpes austríacos e norte dos Balcãs. Esta raça é a segunda abelha mais popular entre os apicultores. Isto ocorre, pois estas abelhas têm habilidade de se defenderem bem contra insetos praga, além de serem dóceis e de fácil manuseio. Estas abelhas são particularmente adeptas a ajustar a população de operárias à disponibilidade de néctar. Isto se deve aos rápidos ajustes nos níveis populacionais a fim de expandir o número de abelhas operárias à medida que o néctar se torna disponível, como na primavera e, por outro lado, reduzir o crescimento populacional quando o néctar se torna escasso. Como os períodos de alta produção de néctar coincidem com aqueles em que a população de abelhas operárias é alta, ocorre um maior armazenamento de mel e pólen nestes períodos. Além disso, estas abelhas são resistentes a algumas doenças e pragas que podem prejudicar colméias de outras subespécies.

1.3 História

Abelhas produtoras de mel foram trazidas da Tanzânia, África, para o Brasil em 1956, como parte de um programa de cruzamentos. As abelhas africanas, embora tolerassem melhor o clima quente, produziam menor quantidade de mel que as européias, que aqui viviam. Devido a estas características o pesquisador Prof. Dr. Warwick Estevam Kerr, propôs-se a produzir um “híbrido” que fosse mais apropriado para atender ao mercado de

produção de mel nacional, que as abelhas européias que até então habitavam o país. O projeto era conseguir abelhas que produzissem a quantidade de mel produzida pelas abelhas européias ao mesmo tempo em que tolerassem o clima quente, como as abelhas africanas, mas que por outro lado não fossem tão agressivas como as abelhas africanas. Em março de 1957, porém, 26 enxames das abelhas africanas importadas, escaparam das colméias estabelecidas na Floresta de Camaquan (14 km de Rio Claro – SP) e iniciaram o cruzamento com as dóceis abelhas européias estabelecidas na região (Kerr, 1967). As abelhas resultantes desse cruzamento tinham o comportamento agressivo das abelhas africanas, entretanto, produziam muito mel e passaram a ser conhecidas como abelhas africanizadas (AA). Atualmente, as abelhas encontradas no Brasil são esses “poli-híbridos” resultantes dos cruzamentos entre *Apis mellifera scutellata* e as seguintes sub-espécies: *A. m. mellifera*, vinda do norte da Europa; *A. m. ligustica*, proveniente da Itália; *A. m. caucasica*, encontradas na Rússia e repúblicas transcaucasianas; e *A. m. carnica*, encontradas na Península Balcânica (Stort & Gonçalves, 1994). Inicialmente acreditou-se que a hibridização ocorreria, entretanto o que se observou ao longo do tempo foi que as características das AA basicamente se sobrepuseram às características das abelhas européias.

Estas abelhas espalharam-se rapidamente da área de introdução no estado de São Paulo para áreas tão distantes como a Argentina e para o norte do Texas; também se estabelecendo no Arizona, Novo México, Califórnia e Nevada. Dois fatores são os principais para explicar a migração das AA para áreas tão distantes. Primeiramente, sua capacidade de voar longas distâncias, mais longas do que são capazes de voar as abelhas européias; e em segundo

lugar está a frequência incomum de enxameamento destes indivíduos (Schumacher e Egen, 1995; Winston, 1994). O enxameamento ocorre em decorrência de uma superpopulação na colméia; as abelhas, normalmente, se reproduzem a uma taxa que causa o enxameamento 2 ou 3 vezes ao ano; as AA, por sua vez, tendem a enxamear excessivamente, de 6 a 12 vezes ao ano (Mitchell, 2006). AA foram encontradas nos EUA pela primeira vez no Texas, em 1990, se espalharam para o Arizona e Novo México em 1993, e para Califórnia em 1994 (Park, 2006; França, 1994). Em 1996, 4 acidentes fatais provocados por ataques de AA foram relatados nos EUA (Schneider, 2004). Muitos especialistas acreditam que as AA continuarão a migrar, podendo tornar-se “endêmicas” no Sul dos EUA, incluindo os estados da Louisiana, Mississippi, Alabama, Florida e partes da Georgia, representando um grave problema para a saúde pública (Schumacher e Egen, 1995; Kaplan, 2006). Todas as tentativas feitas até então para conter as AA foram mal-sucedidas.

Apesar de apresentarem comportamento agressivo estas abelhas africanizadas têm provocado grande interesse econômico, pois produzem maiores quantidades de mel e apresentam boa resistência a doenças, além de serem excelentes polinizadoras.

1.3.1 História natural das ferroadas de abelhas

É o comportamento das abelhas africanizadas (AA), que parece ser geneticamente modulado, tornando-as mais agressivas e perigosas (Arechavaleta-Velasco, 2003). Muitos ferormônios foram isolados das AA e acredita-se serem os responsáveis pela agressividade destes insetos (Park,

2006; Hunt, 2003). Estas abelhas são consideravelmente mais agressivas que as abelhas européias quando atacam suas vítimas, podendo persegui-la por até 400 m (Sherman, 1995). Além disso, outro fator que facilita os ataques é que as AA tendem a escolher locais próximos a áreas populosas para estabelecer suas colméias. Uma vez perturbada, a colônia poderá permanecer agitada por até 24Hs, continuando seu comportamento de ataque (Winston, 1994; Kaplan, 2006; Abramson e Aquino, 2002).

Durante o ato da ferroadada ocorre autotomia do aparelho de ferroar, que fica preso à pele da vítima, garantindo que a totalidade do veneno (1-10 μ L) seja injetada na vítima de ferroadada, seguido da morte do inseto (Schumacher *et al.*, 1994). Na maioria das vezes, o ferrão fica preso na superfície ferroadada, e quando a abelha tenta voar ou sair do local após a ferroadada ocorre uma ruptura de seu abdômen e conseqüentemente sua morte. O aparelho de ferroar, preso à pele, continua se contraindo por 30 a 60 segundos, ejetando veneno e liberando odores de alarme para atrair outras abelhas para o ataque (Winston, 1994).

Embora uma reação tóxica sistêmica possa ocorrer após 50 ferroadadas simultâneas (Sherman, 1995; Schumacher, 1990), a dose letal considerada é de 500 ferroadadas em crianças (Sherman, 1995) e 1100 em adultos, embora algumas vítimas tenham sobrevivido a mais de 1000 ferroadadas (Sherman, 1995; Schumacher, 1990). A dose média letal estimada de veneno por quilograma de massa corpórea é a quantidade de veneno injetada em 19 ferroadadas (Winston, 1994; Kolečki, 1999). A dose estimada de veneno de 1000 ferroadadas, considerada fatal, é 1,3 mg/kg, ou 90 mg de veneno para um adulto. A fatalidade parece estar relacionada com a quantidade de veneno (expressa

em miligramas) injetada na vítima, por quilograma de massa corpórea (Schumacher e Egen, 1995).

De uma maneira geral os componentes do veneno agem sinergisticamente, produzindo desconforto físico na vítima da ferroadada (Costa, 1996).

1.4 Composição e mecanismos de ação dos principais componentes do veneno de abelhas

Em geral, o estudo de venenos, incluindo o de himenópteros, tem afetado profundamente a bioquímica, a farmacologia e a medicina modernas. Estas secreções oferecem excelentes fontes de altas concentrações de enzimas ativas, citotoxinas e neurotoxinas, que servem como ferramentas para o estudo do funcionamento subcelular dos sistemas nervoso e cardiovascular de mamíferos (Mitchell, 2006). Os venenos de himenópteros também oferecem oportunidades quase ilimitadas de investigar o funcionamento dos sistemas nervoso e muscular dos próprios himenópteros. Inicialmente os venenos de himenópteros apresentavam um pequeno uso direto na medicina moderna, mas esta situação vem mudando rapidamente já que mais informações estão se tornando disponíveis. À medida que novas técnicas de isolamento e identificação, e especialmente técnicas para produção em massa de componentes individuais de venenos vêm sendo desenvolvidas, o papel e os usos de venenos aumentam cada vez mais (Mitchell, 2006).

De maneira geral, todo veneno é primariamente composto de proteínas, peptídeos e aminas (Park, 2006; Winston, 1994); os componentes tóxicos

incluem fosfolipídeos, bradicinina, histamina, acetilcolina, dopamina e serotonina (Park, 2006; Schumacher, 1995).

Venenos de Hymenoptera são compostos por amins biogênicas, peptídeos básicos e proteínas de elevadas massas moleculares, principalmente enzimas (Castro, 1994; Müller, 2002). As principais amins biogênicas presentes no veneno de *A. mellifera* são a histamina, a serotonina, a dopamina e a epinefrina, sendo que as duas primeiras estão relacionadas aos processos que levam à indução da dor. A histamina produz dilatação e aumenta a permeabilidade dos capilares sanguíneos sendo que, em concentrações elevadas, pode causar colapso vascular (Smith et al., 1985). Este deve ser seu papel no veneno, facilitando a difusão das toxinas nos tecidos e fazendo parte da cascata molecular que ativa o processo da dor em mamíferos (Dotimas e Hider, 1987). Acredita-se que a serotonina, bem como a histamina, também seja um agente difusor do veneno (Dotimas e Hider, 1987; Owen e Slosey, 1988).

Os principais componentes protéicos do veneno de abelhas (*A. mellifera*) são: a fosfolipase A₂ (PLA₂) e a hialuronidase, fosfatase ácida. A PLA₂ hidrolisa fosfolipídeos presentes nas membranas plasmáticas, formando poros e causando, assim, a lise celular (Dotimas e Hider, 1987); esta enzima é de natureza glicoprotéica, com uma única unidade de carboidrato ligado à asparagina-13, sendo este o único sítio de N-glicosilação deste polipeptídeo. Há controvérsias na literatura se este seria o epítipo para IgE de indivíduos alérgicos ao veneno de abelhas (Weber et al., 1987; Okano et al., 1999). A PLA₂ apresenta diversas atividades, incluindo neurotoxicidade pré-sináptica e atividade de agregação de plaquetas (Landucci et al., 1994; Huang e Chiang,

1994). Produtos da hidrólise (comumente ácido aracdônico) podem servir como precursores para mediadores da dor tais como: leucotrienos e prostaglandinas; a liberação de lisofosfolídeos pode desencadear padrões de acetilação para formar um fator de agregação plaquetária, um potente promotor da inflamação (Venable et al., 1993). A PLA₂ é um dos principais componentes imunogênicos do veneno de abelhas e pode contribuir para a toxicidade generalizada no envenenamento, por uma interação sinérgica com a melitina (Schumacher e Egen, 1995, 1996; Ownby, 1997).

Os interstícios entre as células são preenchidos por ácido hialurônico, o qual possui propriedades adesivas, promovendo a união das células. Quando o ácido hialurônico é hidrolisado pela enzima hialuronidase, o interstício fica mais fluido, facilitando a difusão de outros componentes do veneno. Por esta razão, a hialuronidase é denominada “fator de difusão” (Dotimas e Hider, 1987).

As fosfolipases e a hialuronidase são capazes de provocar reações imunológicas intensas, sendo consideradas responsáveis pelo início das manifestações alérgicas, induzindo a produção de IgE específica, causando hipersensibilidade em algumas pessoas (Dotimas e Hider, 1987). A fosfatase ácida é também um alérgeno, capaz de liberar histamina de basófilos humanos e induzir formação de pústulas na pele de pessoas sensíveis (Barboni *et al.*, 1987). Charlotte et al. (1997) mostraram que a melitina e a PLA₂ podem atuar sinergisticamente para induzir a mionecrose das células de músculos esqueléticos. Evidências de que estes dois componentes atuam sinergisticamente em outras membranas biológicas e em vesículas fosfolipídicas sintéticas foram relatadas por diversos autores (Mollay e Kreil, 1974; Fletcher & Jiang, 1993). Vogt e colaboradores (1970) mostraram que

uma combinação de melitina e PLA2 lisaram eritrócitos sob condições nas quais nenhum deles atuou isoladamente.

O veneno de abelhas é muito rico em peptídeos, tais como: melitina, apamina, peptídeo desgranulador de mastócitos (MCD – “Mast Cell Degranulation”) e o “cardiopep” (Harves, 1975).

A melitina é encontrada em grande quantidade, segundo Habermann (1972), este peptídeo representa cerca de 50% do peso seco do veneno de *A.mellifera* e é seu principal componente. Apresenta apenas 26 resíduos de aminoácidos, com massa molecular de aproximadamente 3 kDa. No veneno nativo a apresenta-se como dímero e é responsável pela dor provocada durante a ferroada; é um alérgeno fraco, de importância clínica somente em poucos casos (Dotimas e Hider, 1987). Possui atividade hemolítica e segundo Bradrick et al. (1989), dependendo da concentração e do tecido a melitina provoca constrição ou dilatação dos vasos sanguíneos e despolarização da musculatura cardíaca. Causa também necrose de células musculares esqueléticas, quando injetada por via intramuscular em camundongos (Ownby et al., 1997). A melitina também age como fator de dispersão das toxinas do veneno, facilitando a entrada dos demais componentes do veneno no sistema circulatório da vítima da ferroada, sendo alguns destes mais tóxicos que a própria melitina (Habermann, 1972).

Outro peptídeo presente no veneno de abelhas é a apamina. Em contraste à melitina, a apamina possui um modo de ação altamente específico (Habermann, 1972). Consiste de apenas 18 resíduos de aminoácidos, com aproximadamente 2kDa, sendo o menor peptídeo neurotóxico conhecido. A

apamina não é lítica, mas exerce influência sobre as membranas pós-sinápticas do sistema nervoso central e periférico (Habermannn, 1972).

O peptídeo MCD é constituído de 22 resíduos de aminoácidos, que difere da melitina por apresentar duas pontes dissulfídicas, assemelhando-se estruturalmente à apamina. Enquanto a melitina é um forte hemolisante e libera serotonina de trombócitos, o MCD é inativo nestes casos (Habermann, 1972). Segundo Dotimas e Hider (1987), o peptídeo MCD é capaz de degranular mastócitos, mesmo quando presente em baixas concentrações.

Quando este trabalho já estava em andamento, a composição protéica do veneno da abelha *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera, Apidae) foi caracterizada por abordagem proteômica. Das 49 proteínas isoladas desse veneno foram identificadas, dentre elas: fosfolipases A₂, Api m 6 (alérgeno), hialuronidase, melitina, fosfatases ácidas, proteínas de veneno -I, -II e -III (de função desconhecida), serino-proteases, proteínas similares ao fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e proteínas similares às MRJPs (*Major Royal Jelly Protein*) de geléia real de *A. mellifera* (Peiren et al., 2005).

A proteômica é o mais recente objeto na revolução da medicina clínica, pois tem identificado alterações genéticas específicas e perfis protéicos associados com doenças, oferecendo diagnósticos precoces (Plebani, 2005). O proteoma utiliza uma combinação de métodos sofisticados incluindo eletroforese bidimensional, técnicas de cromatografia, análises de imagens e espectrometria de massas, promovendo uma maior oportunidade de exibir e identificar antígenos (Xiang et al., 2004; Canelle et al., 2005).

Alergia aos venenos de Himenópteros e aos extratos produzidos por eles são alvos de alguns estudos proteômicos devido aos severos quadros

clínicos de alergia provocados em suas vítimas. Muitas das alergias causadas por insetos himenópteros são provocadas por ferroadas de abelhas (família Apidae), vespas (família Vespidae) e formigas (família Formicidae). Há um interesse crescente em relação aos componentes químicos dos venenos destes insetos, sobretudo no campo da alergia e imunologia clínica (Ross et al., 2000). Dentre os himenópteros sociais, os venenos de abelhas e vespas endêmicos do hemisfério norte têm sido extensivamente estudados e muitos de seus componentes moleculares, já foram isolados e identificados, enquanto que os componentes dos venenos das espécies Neotropicals como o Brasil, têm sido pouco estudados.

As várias enzimas e componentes vasoativos presentes no veneno induzem a uma inflamação tóxica local na região da ferroadada. Se a ferroadada ocorre em uma área altamente vascularizada ou mesmo intravascularizada, os componentes tóxicos se difundem rapidamente e podem provocar reações sistêmicas. Quando o número de ferroadas é elevado o número de reações é maior.

Ferroadas de um grande número de abelhas causam intoxicação independente de hipersensibilidade, que pode ser causada por apenas uma ou duas ferroadas. Admite-se que a quantidade de veneno seco por abelha varie entre 0,2 e 0,5mg e que uma abelha africanizada seja capaz de injetar cerca de 94ug de veneno em menos de um minuto e em um acidente severo, com mais de 100 ferroadas, os níveis de veneno na circulação sangüínea podem chegar até 3,8μg/mL (Winston, 1994).

1.4.1 Modificações pós-traducionais

A glicosilação é a modificação pós-traducional mais comum de certas proteínas intracelulares de eucariotos. Resíduos de carboidratos podem ser enzimaticamente anexados às proteínas, através da ligação N-glicosídeo via o nitrogênio amida da asparagina, ou através da ligação O-glicosídeo via a hidroxil das serinas, treoninas, hidroxilisinas ou hidroxiprolina; ou ainda, através do ancoramento de glicosilfosfatidilinositol, o qual é subsequentemente removido (Steinberg et al., 2001). A glicosilação contribui para atividades biológicas, imunogenicidade, solubilidade, estabilidade e resistência às proteases.

A introdução de carboidratos nas estruturas das proteínas parece ser relativamente comum entre as toxinas de himenópteros, assim como hialuronidases do veneno das vespas *Vespula vulgaris*, *Dolichovespula maculata* e *Polistes anularis* (Kolarich et al., 2005). PLA₂ dos venenos das vespas *Polybia paulista* e *Agelaia pallipes pallipes* e da abelha *Apis mellifera*, além das PLA₁ do veneno da formiga do gênero *Solenopsis*, já foram previamente descritos como sendo de natureza glicoprotéica (Costa et al., 2000; Hoffman et al., 2006).

1.5 Hipersensibilidade IgE-mediada (Tipo I)

Classicamente, as reações IgE-mediadas envolvem uma fase de sensibilização e desafios subseqüentes com o alérgeno. Uma reação de hipersensibilidade tipo I é induzida por certos tipos de antígenos, os alérgenos, e apresentam todas as características de uma resposta humoral normal. Ou seja, um alérgeno induz uma resposta humoral por anticorpos pelos mesmos

mecanismos promovidos por outros antígenos solúveis, resultando na geração de células produtoras de anticorpos e células de memória. O que distingue uma resposta de hipersensibilidade tipo I de uma resposta humoral normal é que as células secretam IgE. Esta classe de anticorpos com alta afinidade se liga a receptores Fc de alta afinidade (FceRI) na superfície de mastócitos e basófilos, que se tornam sensibilizados. Uma exposição posterior ao mesmo alérgeno promove a ligação deste à IgE ligada à membrana dos mastócitos e basófilos sensibilizados, causando a desgranulação destas células (figs. 1 e 2) e conseqüente liberação e síntese de múltiplos mediadores, incluindo a histamina, leucotrienos, C4, D4 e E4, prostaglandinas e fator ativador de plaquetas (PAF), além de quimiocinas e citocinas (Kay, 2002; Larché et al., 2006).

Figura 1. Mecanismo geral da reação de hipersensibilidade tipo I. A exposição ao alérgeno ativa as células B para ativação de células produtoras de IgE. As moléculas de IgE secretadas se ligam a receptores Fc específicos em basófilos e mastócitos (muitas moléculas de IgE com diferentes especificidades podem se ligar aos receptores Fc para IgE). Uma segunda exposição ao alérgeno leva à ligação deste às moléculas de IgE já ligadas resultando na desgranulação destas células e conseqüente liberação de mediadores farmacologicamente ativos. (Adaptado de Goldsby et al., 2003).

A reação aguda imediata ocorre minutos após o contato com o alérgeno. Os mediadores farmacologicamente ativos liberados dos grânulos atuam nos tecidos circundantes resultando nas manifestações alérgicas, produzindo reações clínicas como rinite, urticária e anafilaxia (Kay, 2002; Larché et al., 2006; Bischoff, 2007). Os principais efeitos podem ser sistêmicos ou locais, dependendo da extensão da liberação dos mediadores.

Observa-se também uma fase tardia da reação alérgica que ocorre de seis a vinte e quatro horas após a exposição ao alérgeno. Ocorre um acúmulo de leucócitos inflamatórios, incluindo neutrófilos, eosinófilos, basófilos e células T CD4⁺. Dependendo do órgão alvo a fase da reação tardia pode ser provocada por mastócitos ou células T (Kay, 2002). As células alérgeno-específicas, sob influência de quimiocinas e citocinas sofrem reativação e expansão clonal. A apresentação de antígenos pelas células apresentadoras facilitada pela IgE também aumenta a ativação das células T. Eosinófilos, mastócitos e basófilos ativados liberam mediadores, quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias (Larché et al., 2006).

Figura 2. Ligação do alérgeno ao receptor de IgE na superfície de mastócitos induzem a desgranulação causando liberação de substâncias que mediam as manifestações alérgicas. (Adaptado de Goldsby et al., 2003).

O ambiente de citocinas em que células T_H se diferenciam determina o conjunto de células que se diferenciara. Em particular, IL-4 é essencial para o desenvolvimento de um perfil de resposta T_H2 , enquanto que IFN- γ , IL-12 e IL-18 são importantes na fisiologia do desenvolvimento de células T_H1 . Existe um consenso geral que a inflamação alérgica seja decorrente da ativação das células T_H2 produzindo IL-4 e IL-13, que contribui para a produção de IgE, e IL-5 que promove a inflamação eosinofílica. (Rengarajan et al., 2000).

1.6 Aspectos clínicos de ferroadas de abelhas

A reação local a uma ferroadas de abelha consiste em eritema, urticária e angioedema (Sheehy, 2002), causando dor e prurido. Se o indivíduo for alérgico pode apresentar coceiras, coriza, dores de cabeça, podendo inclusive

ter um choque anafilático, dependendo da gravidade e do grau de alergenidade.

As reações sistêmicas são devido à grande quantidade de veneno injetado durante um ataque massivo de AA. Sinais e sintomas iniciais incluem edema difuso, inflamação da pele, dor de cabeça, fraqueza, fadiga e tontura (Sheehy, 2002). Quando o número de ferroadas é maior que 50, geralmente observa-se náusea, vômito e diarreia (Schumacher e Egen, 1995; Winston, 1994). Após as manifestações iniciais, hipotensão, taquicardia, estresse respiratório, insuficiência renal aguda, coagulação intravascular disseminada e disfunção múltipla dos órgãos podem ocorrer (Park, 2006; Schumacher, 1990).

Em indivíduos acometidos por múltiplas ferroadas de AA, geralmente detecta-se hemólise intensa, acompanhada por insuficiência renal, causada pela ação da apamina, melitina e fosfolipase A₂ sobre a membrana eritrocitária (Barraviera, 1994). Os indivíduos acometidos por centenas de ferroadas evoluem rapidamente para um quadro clínico grave de insuficiência respiratória e renal agudas. Nos casos letais, os indivíduos apresentam necrose tubular aguda, com presença de cilindros de hemoglobina e/ou mioglobina no interior dos túbulos renais (Barraviera, 1994). Os músculos esqueléticos apresentam proteólise intensa, com liberação de mioglobina e creatinofosfoquinase para a circulação; alguns indivíduos apresentam lesão subendocárdia com presença de necrose muscular. O fígado pode apresentar sinais de degeneração hidrópica decorrente do grave envenenamento (Barraviera, 1994). Ferreira et al. (1995) demonstraram que após a inoculação do veneno de abelhas em ratos, ocorreu lesão necrotizante cardíaca aguda, similar ao infarto humano. O envenenamento provocado experimentalmente por abelhas africanizadas em

ratos Wistar provocou lesões cardíacas que demonstraram inativação de enzimas respiratórias, hiperatividade perilesional de monoamina oxidase e positividade para fosfatase ácida de leucócitos (Ferreira, 1995). Alguns tipos incomuns de reações têm sido descritos, incluindo a doença do soro, doenças renais, manifestações respiratórias e neurológicas, disfunção hepática e fenômeno de hipersensibilidade tardia (Deshmukh e Borse, 1996; França, 1994). Os mecanismos patofisiológicos subjacentes ao envolvimento do rim não estão bem esclarecidos. A falha renal aguda pode ocorrer como resultado tubulopatia pigmentar (mioglobínúria e hemoglobínúria), ou necrose tubular aguda originada por toxicidade direta do veneno nos rins (Bousquet *et al.*, 1984; Sert *et al.*, 1993).

1.7 Epidemiologia e tratamento de reações a ferroadas de abelhas e vespas

A recomendação para uma pessoa que é atacada por AA é cobrir olhos e boca, se possível correr para local seguro, já que as abelhas tendem a se infiltrar em aberturas escuras e úmidas (Sherman, 1995; Kaplan, 2006). O uso de repelentes parece não ajudar. Schmidt *et al.* (2003) utilizaram 3 diferentes repelentes comerciais de insetos em colônias de AA; dois deles não tiveram efeito sobre o comportamento agressivo das abelhas e o terceiro provocou uma resposta agressiva ainda mais intensa. Espirrar água é mais eficiente, pois impede as abelhas de voar (Sherman, 1995; Alaniz, 2006).

Para o tratamento de emergência às vítimas de ferroadas de abelhas tem se empregado antihistamínicos, corticosteróides, broncodilatadores, vasodilatadores, bicarbonato, manitol e ventilação mecânica (Muller *et al.*,

1991; Barraviera, 1994). No entanto, mesmo após esse tratamento, tem se observado a morte dos pacientes, entre 22 e 71 horas após o ataque, alguns apresentando necrose hepatocelular, necrose celular aguda, necrose focal subendocardial e coagulação intravascular disseminada (França *et al.*, 1994).

No Brasil não há estudo epidemiológico sobre a incidência de acidentes com abelhas, sendo estes alérgicos ou tóxicos. Em 1985 a estimativa era de que as abelhas africanizadas teriam causado entre 700 e 1000 mortes (Taylor, 1986), e no México houve mais de 190 mortes por essa causa entre 1988 e 1993, com estimativas futuras de cerca de 60 mortes por ano (Guzman-Novoa e Page, 1994). Escher *et al.* (2001) em um levantamento feito acerca de vítimas de acidentes com himenópteros atendidos no Hospital das Clínicas de São Paulo observaram que as abelhas foram responsáveis por 28,2% dos casos atendidos, entretanto o objetivo dos autores era estudar as vítimas alérgicas, não havendo relatos sobre acidentes envolvendo ataques em massa desses insetos. Segundo dados do Ministério da Saúde e da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo a ocorrência de acidentes envolvendo vespas e abelhas no estado de São Paulo é crescente nos últimos anos, conforme mostra a figura 3. Felizmente esse crescimento não se reflete no número de óbitos provocados por esses insetos (tabela 1).

Figura 3. Ocorrência de acidentes com vespas e abelhas no estado de São Paulo* * Fonte: Ministério da Saúde / Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo.

Tabela 1 - Incidência* de acidentes, óbitos e letalidade por ferroadas de abelhas e vespas no período de 1993 à 1998, no Estado de São Paulo

ANO	NÚMERO	COEF. DE		
		INCIDÊNCIA	ÓBITO	LETALIDADE
1993	243	0,75	0	0,00
1994	349	1,06	4	1,15
1995	388	1,16	1	0,26
1996	426	1,25	0	0,00
1997	503	1,45	0	0,00
1998	553	1,57	2	0,36
TOTAL	2462		7	0,38

*Incidência por 100.000 habitantes. Fonte: Divisão de Zoonoses/CVE

Dados do Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan revelam um número crescente de acidentes entre 2001 e 2006, tendo ultrapassado 20.700 notificações neste período em todo o país. O número de óbitos no mesmo período foi 62.

A maioria das reações a ferroadas de abelhas envolvem uma única ferroada e são severas apenas em 0,15% a 4% das pessoas que apresentam hipersensibilidade sistêmica ao veneno (Schmidt, 1986). Estes indivíduos alérgicos apresentam grandes possibilidades de desenvolver reações

anafilactóides ou IgE mediadas de risco, (conforme descritas no item 1.5) que devem ser tratadas convencionalmente (antihistamínicos, esteróides, agonistas alfa e beta, broncodilatadores e adrenalina). Estes indivíduos não serão beneficiados pela disponibilidade de um antiveneno específico, cujo uso será limitado àqueles que forem acometidos por 50 ferroadas ou mais e que desenvolvam quadro de toxicidade sistêmica.

1.8 Antiveneno

Apesar do alto índice de notificações de acidentes envolvendo ferroadas de abelhas não existe soro antiveneno de abelhas específico, no Brasil ou em outro lugar do mundo. A conduta a ser instituída é o tratamento suporte, principalmente a administração de antihistamínicos, corticosteróides, broncodilatadores, vasodilatadores, bicarbonato, manitol, adrenalina e ventilação mecânica, além de sessões de hemodiálise (França, 1994; Ewan, 1998). Ainda assim muitos indivíduos morrem entre 22 e 72 horas após o ataque, com características histopatológicas de falha renal aguda, necrose hepatocelular, necrose tubular aguda, necrose focal subendocardial e coagulação intravascular disseminada (França *et al.*, 1994).

Em vários países do mundo vem sendo tentado o desenvolvimento de um antiveneno para o tratamento do ataque em massa por abelhas africanizadas. A produção em larga escala, bem como a sua utilização dependem da capacidade neutralizante e da pureza do antiveneno.

Os danos provocados por toxicidade sistêmica se manifestam apenas algumas horas após o ataque, com a maioria das mortes ocorrendo 22 horas após o acidente (França *et al.*, 1944; Kolečki, 1999). Isto sugere que o uso de um antiveneno pode ainda ser benéfico mesmo muitas horas após o acidente

(Jones *et al.*, 1999). Esta hipótese é corroborada pela constatação de que são observados benefícios a quem recebe antiveneno de serpentes mesmo dias após a picada (Meyer, 1997; Warrell, 1995).

Alguns trabalhos já foram realizados na tentativa de produzir um soro antiveneno específico para veneno de abelhas, entretanto, sem sucesso. Schumacher (1996) testou anticorpos produzidos em coelhos imunizados com o veneno total, ou apenas com melitina, e estes foram ineficientes na neutralização do veneno total e apresentaram baixos títulos em ensaio de ELISA. Jones *et al.* (1999) produziram um antiveneno F(ab) em ovelhas para tratamento de ataques massivos de abelhas africanizadas, no qual mostraram apenas o efeito positivo da neutralização da atividade fosfolipásica e a produção de anticorpos específicos para melitina; a neutralização dos efeitos miotóxicos não foi satisfatória e outros ensaios não foram realizados. Além disso, os ensaios clínicos não seguiram adiante para comprovar sua eficácia, e não há outro trabalho posterior que relate a utilização deste soro.

Atualmente o maior problema encontrado na formulação de um soro antiveneno de abelhas é determinar a sua capacidade neutralizante, ou seja, os valores de neutralização em dose letal 50% (DL₅₀) na maioria das vezes não são reprodutíveis, ou utiliza-se uma dose muito alta de desafio para animais, que torna impossível a diluição do produto.

Diante destes resultados e do elevado número de acidentes provocados por ataque em massa de abelhas, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos mais efetivos na produção de anticorpos específicos aos componentes do veneno de abelha como um meio de produzir um antiveneno eficaz para o tratamento de vítimas de múltiplas ferroadas.

1.8.1 Imunização dos animais

A inoculação do veneno total resulta no maior título, entretanto, é muitas vezes mal tolerado pelo animal. Por isso toxóides são preparados por detoxificação biológica do veneno, sem, entretanto alterar sua imunogenicidade. Detoxificado ou não, preparação do veneno é, na maioria das vezes, associada a um adjuvante. O papel exato do adjuvante ainda não está bem esclarecido (Bomford, 1989), mas sabe-se que está envolvido na redução da taxa de liberação de veneno, e que seu papel é crítico para estimular a resposta imunológica (Partidos, 2004). Os adjuvantes mais utilizados são Freund's, bentonite, hidróxido de alumínio e alginato de sódio.

O protocolo de imunização depende da toxicidade e da imunogenicidade do veneno, do modelo animal utilizado e da qualidade da resposta imune do animal (Chippaux e Goyffon, 1991).

Um antiveneno é monoespecífico quando apenas um veneno é utilizado, como no caso da produção de um antiveneno de abelhas; ou poliespecífico se o animal for imunizado por venenos de diferentes espécies. Um antiveneno monoespecífico é mais eficiente no tratamento, exceto por raras exceções.

1.8.2 Imunologia básica e farmacologia de antivenenos

Desde a descoberta da terapia por antivenenos há mais de um século atrás muitos avanços foram feitos. Bon (1996) relata que Physaliz e Bertrand em 1894 demonstraram atividade antitóxica do sangue de animais imunizados contra o veneno de *Vipera aspis* utilizando um veneno aquecido detoxificado.

Simultaneamente, Calmette (1894)* apud Chippaux e Goyffon (1998), trabalhando com o veneno de uma serpente Vietnamita, primeiramente em Saigon e depois no Instituto Pasteur, em Paris, estudou três protocolos de imunização e, tal como Physalix e Bertrand, observou que o soro de animais vacinados possuía efeito terapêutico. Calmette foi o primeiro a preparar um antiveneno comercial para uso médico contra picadas da cobra indiana. Ele então se tornou o real promotor da terapia de antivenenos. Subsequentemente muitos cientistas começaram a desenvolver antivenenos em seus próprios países (McFarland nos EUA em 1899, Tidwell na Austrália em 1902, Vital Brazil no Brasil em 1905, Ishizaka no Japão em 1907) utilizando o protocolo de Calmette (Russell, 1988; Hawgood, 1992).

Os avanços imunológicos levaram rapidamente à vacinação contra difteria e tétano, utilizando toxinas toxóides purificadas bem identificadas para reduzir a toxicidade. Os venenos de serpentes, bem como os de himenópteros, ricos em componentes variados ainda não são utilizados com sucesso para vacinação. Sendo assim, os antivenenos continuam sendo a única terapia específica para envenenamento (Chippaux e Goyffon, 1991). Embora os métodos para a preparação de antivenenos não tenham avançado muito desde sua descoberta, os processos para sua purificação e os modos de utilização mudaram consideravelmente.

A história da produção de antivenenos foi pesquisada por R.D.G. Theakson, que descreve que os primeiros estudos sobre a produção de antivenenos foram realizados por Calmette em 1897 e por Vital Brazil em 1901, ambos baseados na descoberta de Kitasato e von Bering sobre o soro

* Calmette, A. L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. *C. R. Acad. Sci.* 1894; 118(288).

antitetânico e antidiftérico (Russell, 1988; Bon e Goyffon, 1996). Embora o soro total fosse utilizado originalmente para terapia, durante muitos anos os antivenenos foram purificados por etapas sucessivas a fim de reduzir reações anafiláticas (Chippaux e Goyffon, 1998). A utilização do soro imune de cavalos, seguido por precipitação com sal e digestão por pepsina para remoção do fragmento Fc das moléculas de IgG, resultando em fragmentos F(ab')₂, foi adotada pela maioria dos produtores desde então. Após a eliminação de elementos celulares por centrifugação, proteínas não imunes e principalmente a albumina são descartados por precipitação com sulfato de amônio. Os antivenenos produzidos podem ser preparados de três diferentes formas: (Fig.2) a) Fragmentos F(ab')₂, obtidos por clivagem da IgG por pepsina em pH ácido para remoção da porção Fc e posterior purificação; b) Fragmentos F(ab) produzidos por digestão por papaína (pH 7-8); c) IgG intacta (Fig.4). O processo de obtenção de fragmentos F(ab) parece ser mais difícil de se padronizar do que o procedimento com digestão por pepsina. Alguns dados da literatura sugerem que os fragmentos F(ab')₂ sejam melhores do que os F(ab), tanto na distribuição quanto na neutralização no plasma. A explicação seria dada pelas diferenças na farmacocinética entre os dois tipos de fragmentos, embora não tenha sido observada diferença na eficiência da neutralização (Theakston et al. 2003).

Em relação aos efeitos adversos, as reações de hipersensibilidade indicam a seguinte ordem de reações: IgG (30%) > F(ab')₂ (10%) > F(ab) (0.8%). Entretanto, outros dados sugerem que os efeitos adversos não estariam relacionados com o tipo de fragmento utilizado, mas sim com o método de produção do antiveneno escolhido (Theakston, 2003). Sendo

assim, em muitas regiões os antivenenos ainda não estão disponíveis ou são relativamente impuros e associados a uma alta (10-76%) incidência de efeitos adversos (Karlson-Stiber e Persson, 1994; Theakston e Warrell, 2000). Estes efeitos são geralmente atribuídos a contaminantes, incluindo proteínas do soro, Fc e outros fragmentos ou agregados (Malasit et al., 1986; Bleeker et al., 2000). A maioria das reações é de natureza anafilactóide e trabalhos com IgG humana têm sugerido o envolvimento de um componente agregado que se liga aos receptores de Fc estimulando-os, mas que não ativa o sistema complemento (Bleeker et al., 2000).

Figura 4 – As diferentes formas de preparo de um antiveneno.

No workshop para padronização e controle de antivenenos realizado pela OMS na Inglaterra em Fevereiro de 2001, chegou-se a um consenso que é vantajoso remover o fragmento Fc, evitando-se a ativação do sistema complemento, e que os fragmentos $F(ab')_2$ são mais fáceis de produzir que os $F(ab)$, pois o processo pode ser mais prontamente controlado. Além disso,

quanto maior a quantidade de proteínas administradas, maior a quantidade de contaminantes, levando a uma maior incidência de reações adversas. A quantidade total de proteína administrada está relacionada à atividade específica do produto a ser administrado, seja ele IgG, F(ab) ou F(ab')₂. (Theakston, 2003).

O uso de IgG total como antiveneno apresenta algumas desvantagens. A quantidade de proteínas injetada é alta e a porção Fc da IgG reage com o complemento, resultando em efeitos adversos importantes. A escolha entre utilizar fragmentos F(ab) ou F(ab')₂ não é óbvia, havendo vantagens e desvantagens para cada um deles. A maioria dos antivenenos comerciais são fragmentos F(ab')₂ que permitem a redução da quantidade de proteína administrada. Os fragmentos F(ab')₂ não reagem com o complemento, mas ativam a via alternativa, facilitando a liberação da porção C₃' (Morais *et al.*, 1994). Estudos farmacocinéticos mostram que os fragmentos F(ab')₂ apresentam um perfil mais conveniente do que as IgG intactas, pois apresentam maior volume de distribuição e alcançam os compartimentos dos tecidos mais rapidamente (Covell, 1986; Ismail e Abd-Elsalam, 1996). Já os fragmentos F(ab) são, *a priori*, melhor tolerados e sua eficácia na neutralização têm sido amplamente comprovada (Choumet *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1992). De forma controversa, a excelente distribuição dos fragmentos F(ab) em tecidos profundos pode prolongar a permanência de complexos imunes nestes compartimentos, muitas vezes dificultando sua eliminação (Rivière *et al.*, 1997), podendo favorecer a manifestação da doença do soro. Além disso, a curta meia-vida dos fragmentos F(ab) reduz a duração de sua ação. E, ainda, a excreção renal é apenas possível quando os fragmentos F(ab) estão livres ou

combinados com um hapteno, e não quando estão combinados com a maioria das proteínas do veneno (Chippaux e Goyffon, 1997). Pode haver um risco de desenvolvimento de lesões renais devido à formação de imunocomplexos de F(ab), como indicado em muitos pacientes, devido a um decréscimo significativo na taxa de remoção de creatinina (Timsina e Hewick, 1992a,b; Scherrmann, 1994).

A utilização do antiveneno pode, por outro lado, provocar reações na vítima, que são divididas em:

- **Reações imediatas** – as reações imediatas aparecem tanto em indivíduos sensibilizados, que receberam anteriormente algum tratamento de soro de cavalos (como antitetânica, antirábica ou algum antiveneno), ou em indivíduos que nunca receberam qualquer soro terapêutico antes. No primeiro caso ocorre reação anafilática (David, 1988); no segundo, diz-se que o indivíduo teve uma reação anafilactóide. A presença de altas proporções do fragmento Fc, que embora não apresente atividade com o anticorpo, ativa o complemento e pode induzir a um choque anafilactóide (Pugh e Theakston, 1987). A prevalência de tais acidentes é variável (Malasit et al., 1986). Choques anafiláticos severos são muito raros, menos de um em mil tratamentos (Chippaux e Goyffon, 1991).
- **Reações tardias** – Reações de doença do soro são menos imediatas e menos freqüentemente relatadas. A doença do soro é uma reação que ocorre quando um complexo imune é formado pela ligação do antígeno (p.ex. soro heterólogo) a um anticorpo. A deposição desses complexos imunes nos tecidos ou endotélio vascular pode produzir uma lesão tecidual pela ativação do complemento, formação de anafilotoxinas ou quimiotaxia de polimorfonucleares. As regiões mais afetadas incluem a pele (urticária, vasculites),

articulações (artrites) e rins (glomerulonefrite). A recuperação espontânea ocorre entre dois e quatro dias e esteróides ou antihistamínicos podem ser utilizados para o tratamento (Chippaux e Goyffon, 1997).

As reações tardias podem ser minimizadas pela obtenção de soros eqüínos antivenenos com potências elevadas. Isto permite um melhor rendimento durante o processo de produção e purificação dos anticorpos, e como consequência uma menor concentração de proteínas e uma maior especificidade (maior capacidade de neutralização do veneno por uma concentração menor de proteínas).

1.8.3 Anticorpos equinos

Segundo Klinman et al. (1965) no soro de cavalos são encontradas as seguintes classes de imunoglobulinas: IgA, IgE, IgM e IgG, sendo que esta última possui várias subclasses, designadas IgGa, IgGb, IgGc e IgG(T).

Diferenças entre as subclasses de IgG e a IgG(T) foram observadas em relação ao reconhecimento antigênico dos fragmentos Fc (Widders et al., 1986) e também quanto aos produtos de digestão enzimática com papaína. A clivagem de subclasses de IgG por papaína gera dois fragmentos Fab e o fragmento Fc, enquanto que a IgG(T) produz um fragmento bivalente ao lado de pequenos peptídeos. Esta diferença está relacionada à presença de uma ponte dissulfídica extra que liga os fragmentos Fd presente nas cadeias pesadas da IgG(T) (Cohen e Milstein, 1967).

As diferenças nas subclasses de IgG em equinos parecem ser importantes na determinação da atividade protetora dos anticorpos. McGuire et al. (1972), demonstraram que a citotoxicidade mediada por célula dependente

de anticorpo e a ativação do sistema complemento são melhores mediadas pelas subclasses IgGa e IgGb. Por outro lado, a IgG(T) não fixa complemento pela via clássica e tem pouco poder de precipitação (McGuire et al., 1979). A IgGc também não é capaz de fixar complemento pela via clássica, enquanto que a IgGa e a IgGb o são.

Estudos mostraram que após isolamento das subclasses de imunoglobulinas equinas presentes no soro antiofídico, a subclasse IgG(T) foi a principal responsável pelo efeito protetor nos envenenamentos por *Bothrops jararaca* e *Crotalus durissus terrificus* (Fernandes et al., 1997). Estes resultados indicam que o isolamento da subclasse protetora pode ser promissor para uso no tratamento de acidentes, pois o soro desprovido das demais imunoglobulinas diminuiria a quantidade de proteínas heterólogas introduzidas nos pacientes e, portanto, diminuiria o risco de ocorrer reações adversas.

1.8.4 Processo de produção de antivenenos

A produção de antiveneno consiste de quatro etapas distintas: a-) hiperimunização de animais; b-) obtenção do plasma ou soro; c-) purificação da imunoglobulina; d) formulação do produto final (Guidolin, 1990).

A escolha do animal para hiperimunização é uma das etapas mais importantes, pois deve se escolher um animal dócil, de fácil manejo, com boa resposta imunológica e que se possa obter um volume necessário para a produção de alguns milhares de ampolas de soro. Entre os animais utilizados os ovinos e eqüinos são os animais de escolha. No Brasil o animal utilizado para produção de soros antiofídicos é o cavalo, em função do seu manejo, boa

resposta imunológica, excelente volume de plasma, longevidade e principalmente por ser um animal do qual ainda não foi caracterizada a presença de *príons*.

O esquema de imunização consiste em utilizar doses sub-letais em que os fenômenos fisiopatológicos do veneno não sejam observados, ou seja, doses sub-tóxicas, ao redor de 15 a 20mg por ciclo de imunização, onde cada ciclo de imunização consiste-se de uma imunização com adjuvante e três imunizações (em presença de adjuvantes ou não) com intervalo de 15 dias entre cada uma delas.

A obtenção do plasma é feita através da coleta do sangue em bolsas duplas, onde uma receberá o sangue total e outra o plasma após a decantação dos elementos sólidos (eritrócitos e série branca). Os elementos sólidos remanescentes na bolsa são devolvidos ao animal doador de plasma, isto é chamado de plasmaferese. Trabalhos realizados recentemente demonstram que a remoção de volumes de sangue correspondente a 5% do peso vivo do animal, ou seja, um cavalo de 400Kg pode doar até 20 litros de sangue, não impactando em processos de discrasias sanguíneas como anemia ou hipóxia. E após 15 dias de descanso os valores hematopoiéticos voltam aos valores anteriores à obtenção do sangue. Sendo assim, durante todo o processo de imunização e obtenção de plasma os animais utilizados para esta finalidade não passam por processos de enfermidade inaparente. A plasmaferese pode ser realizada por equipamentos automáticos, onde ocorre a separação dos elementos figurados e do plasma em minutos. Embora o custo do equipamento para compra ou mesmo a sua locação para realização desse processo sejam

elevados, em torno de US\$ 300.000,00, em longo prazo o custo seria diluído em função do custo das bolsas (US\$ 60,00) e do rendimento obtido.

A maioria dos processos é realizada com plasmas, pois se obtém um melhor rendimento em volume, porém ao se utilizar o soro (plasma sem fatores de coagulação), cerca de 30% das proteínas (fibrinogênio e trombina) já foram removidas, facilitando o processo de purificação.

A purificação das imunoglobulinas se dá, na maioria das vezes, por processos que utilizam a diferença de solubilidade seja com sais neutros (sulfato de amônia, sulfato de sódio), com aminoácidos (glicina) ou com ácidos orgânicos (ácido caprílico), podendo estar associada ou não à utilização de pepsina. A pepsina, na maioria das vezes, é utilizada para remoção da fração Fc das imunoglobulinas, porém a sua maior aplicação quando se utilizam sais neutros é proporcionar a digestão da albumina, pois para eliminá-la são necessárias altas concentrações de sulfato de amônia ou sulfato de sódio, os quais trazem consigo as imunoglobulinas. Para que a albumina possa ser precipitada com concentrações pequenas de sais é necessário que ela esteja fragmentada (Morais e Massaldi, 2005).

Para que se tenha um produto livre de sais, ou aminoácidos ou ainda ácidos orgânicos é necessário dialisar o produto. Até pouco tempo atrás ainda eram utilizados, em outros países, sacos de papel celofane em banheiras de água corrente. Porém, com a introdução das normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) equipamentos fechados e contínuos foram utilizados para esta etapa do processo. Neste caso especificamente, a filtração tangencial utilizando membranas de ordem molecular (capacidade de reter substâncias de

massa molecular acima do ponto de corte) é utilizada de modo a recircular a imunoglobulina e eliminar os sais, aminoácidos ou o ácido caprílico.

Contudo para que se obtenha um produto com maior grau de pureza é necessário mais uma etapa de purificação, atualmente o mais empregado é a cromatografia de troca iônica, que tem a capacidade de remover 30% do total de proteínas com perda de 5% da atividade total neutralizante. Além disto, a cromatografia de troca iônica tem a capacidade de remover lipídeos, pirogênio e diminui a quantidade de filtrações clarificantes.

A formulação consiste em se obter um produto estéril, apirogênico e com concentração conhecida de sua atividade terapêutica, de modo que ao ser utilizado, possa ser acompanhada da melhora do paciente em relação ao envenenamento.

1.8.5. Soroterapia

1.8.5.1. Indicações e doses

A soroterapia antiveneno (SAV), quando indicada, é um passo fundamental no tratamento adequado dos pacientes atacados pela maioria dos animais peçonhentos. A dose utilizada deve ser a mesma para adultos e crianças, visto que o objetivo do tratamento é neutralizar a maior quantidade possível de veneno circulante, independentemente do peso do paciente. A sua aplicação deve ser preferencialmente realizada em postos de atendimento médico.

A via de administração recomendada é a intravenosa (IV) e o soro diluído ou não deve ser infundido em 20 a 60 minutos, sob estrita vigilância médica e da enfermagem.

A frequência de reações à soroterapia parece ser menor quando o antiveneno é administrado na forma diluída. A diluição pode ser feita, a critério médico, na razão de 1:2 a 1:5, em soro fisiológico ou glicosado 5%, infundindo-se na velocidade de 8 a 12 mL/min, observando-se, entretanto, a possível sobrecarga de volume em crianças e em pacientes com insuficiência cardíaca.

2. OBJETIVOS

Objetivos principais:

- Investigar o proteoma da forma mais completa possível do veneno de abelhas identificando proteínas ainda não descritas neste veneno.
- Certificar a ação neutralizadora do soro antiveneno produzido.

Objetivos específicos:

- Identificar as principais proteínas imunoreativas e não imunoreativas ao soro antiveneno presentes no veneno de *Apis mellifera*.
- Detectar modificações pós-traducionais destas proteínas identificadas.
- A partir das identificações, propor um mecanismo de ação do veneno de *Apis mellifera*.
- Comparar as proteínas reconhecidas pelas IgG presentes no soro antiveneno com aquelas reconhecidas pelas IgE presentes no soro de pacientes sensíveis a este veneno.
- Desenvolver uma estratégia experimental para avaliar *in vitro* a toxicidade do veneno e a eficiência da soroneutralização pelo antiveneno.
- Determinar a proporção mínima de soro antiveneno capaz de neutralizar a ação do veneno.

3. MÉTODOS

3.1. Veneno e soro antiveneno

O veneno de *A. mellifera* foi coletado no apiário do Instituto de Biociências da UNESP – Rio Claro utilizando-se extrator elétrico para obtenção do veneno bruto. O veneno obtido por estímulo elétrico é considerado equivalente ao veneno injetado nas vítimas durante a ferroada. O veneno foi então centrifugado, filtrado, liofilizado e mantido a -20°C antes do uso.

O soro antiveneno F(ab)'_2 de *A. mellifera* de cavalos hiperimunes utilizado foi produzido e cedido pela Fundação Butantan – São Paulo. O processamento do soro encontra-se esquematizado no Anexo 1.

3.2. Cromatografia de Imunoafinidade

3.2.1 Imobilização do soro antiveneno de abelhas em resina de Sepharose

A quantificação de proteínas foi feita pelo método de Bradford segundo descrito por Sedmak e Groosberg (1977). A resina utilizada foi a Sepharose 4B ativada por CNBr (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia). A quantidade de ligante (soro antiveneno de abelhas) imobilizado foi estabelecida experimentalmente em 30mg de proteínas (IgG) para 1g de resina. O empacotamento da resina foi feito segundo as instruções do fabricante. A ligação das proteínas do soro antiveneno de abelhas à resina de Sepharose 4B foi feita à temperatura ambiente sob agitação constante, sem a utilização de

agitador magnético. O ligante foi dissolvido em tampão de ligação (solução de NaHCO_3 0,1M em pH 8,3, contendo 0,5 M NaCl). O excesso de ligante foi lavado com 15 volumes do tampão de ligação. Para bloquear quaisquer grupos reativos, a resina com ligante foi transferida para uma solução tampão Tris-HCl 0,1M pH 8,0. Após 2 horas, o excesso de proteínas do soro antiveneno, que não se ligou à resina, foi lavado com pelo menos três ciclos alternados de pH ácido e básico, utilizando-se as soluções: tampão acetato de sódio 0,1M pH 4,0 (contendo 0,5M NaCl), seguido de lavagem com solução tampão Tris-HCl 0,1M pH 8,0 (contendo 0,5M NaCl), para garantir que nenhuma molécula livre do ligante permanecesse acoplada ao ligante imobilizado. A coluna foi equilibrada com este mesmo tampão.

3.2.2 Cromatografia de imunoafinidade do veneno de abelhas

Para remoção das elevadas concentrações de sais inorgânicos que ocorrem naturalmente no veneno de abelhas (incompatível com etapas posteriores de eletroforese 2-D), o veneno a ser utilizado na cromatografia foi dialisado contra uma solução contendo: PMSF 1mM (inibidor de serinoproteases), leupeptina 2×10^{-3} mM (inibidor de serinoplasmina, porcina e cisteína proteases) e EDTA 100mM (inibidor de metaloproteases); sendo posteriormente liofilizado.

A quantidade de veneno a ser utilizada na cromatografia foi determinada empiricamente. Após várias tentativas foi utilizada a razão de 1:24 vezes (proteínas do veneno: proteínas do soro), e com base nos resultados obtidos nos ensaios biológicos foi posteriormente estabelecida uma razão de 1:58. Foi utilizada uma coluna de 20mL de resina Sepharose 4B, tratada conforme

descrito. O veneno foi solubilizado em 3mL de solução $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ 10mM pH 6,8 e aplicado na coluna. Primeiramente foi realizada uma primeira eluição com tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 contendo NaCl 0,15M a fim de evitar a agregação de proteínas. A eluição foi monitorada por medidas de absorbância em 280 nm, até que a leitura atingisse o valor zero, sendo coletadas frações de 15mL. Para eluição das proteínas que poderiam ter maior afinidade pelos fragmentos de IgG imobilizados na coluna utilizou-se em seguida tampão Tris-Glicina 0,05M pH 2,8, também contendo NaCl 0,15M. E finalmente para a eluição das proteínas que ainda estivessem retidas na coluna foi utilizado tampão Tris-HCl 0,1M pH 11,0 contendo NaCl 0,15M. O esquema da cromatografia encontra-se na figura 5. A quantidade de proteínas de cada fração coletada foi quantificada pelo método Bradford (Sedmak e Groosberg, 1977). As frações correspondentes a cada pico eluído foram reunidas, e então dialisadas para remoção do excesso de sal, incompatível com os protocolos experimentais subsequentes (eletroforese bidimensional).

Em etapa posterior foi adicionado inibidor de protease a todos os tampões da cromatografia. (10mM de EDTA foram utilizadas em todas as etapas).

Figura 5 – Esquema da cromatografia de imunoafinidade em Sepharose 4B ativada com CNBr.

3.3. Análise proteômica

3.3.1 Eletroforese 2-D

Preparação da amostra: Para os ensaios de eletroforese 2D foram utilizadas amostras do veneno bruto total dialisado e das frações I, II e III do veneno bruto coletadas na cromatografia de exclusão molecular.

Primeira dimensão – Focalização isoeletrica (IEF): Para realização da IEF as proteínas foram solubilizadas em uma solução de re-hidratação (DeStreak acrescido de 0,5% de tampão IPG (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia) e azul de bromofenol. Fitas para imobilização de proteínas (Immobiline Dry Strips - IPG), pH 3-10, foram re-hidratadas nesta solução de proteínas por 15h e submetidas ao IEF em um sistema IPGphor (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia) a 500Vh, 1000Vh e 8000Vh.

Segunda dimensão – SDS-PAGE: Após a primeira dimensão as fitas de IPG foram incubadas em tampão de equilíbrio 1 (75mM Tris-HCl, pH 8.8; uréia

6M; 30% de glicerol; 10mg/mL DTT; 2% SDS; iodoacetamida e azul de bromofenol), durante 15 minutos para a redução das pontes dissulfeto e por mais 15 minutos em tampão de equilíbrio 2 (mesmo solução, entretanto substituindo-se DTT por 25mg/mL de iodoacetamida) para alquilação destas pontes. As fitas foram então transferidas para os géis de 12,5% de poli(acrilamida contendo SDS). A corrida dos géis teve duração de aproximadamente 5 horas; os géis foram então corados com Commassie Blue colloidal, segundo descrito por Candiano et al. (2004) ou com nitrato de prata, dependendo da quantidade de proteínas; neste último caso apenas para evidenciar proteínas pouco abundantes e que não foram submetidas à espectrometria de massas. As imagens dos géis foram capturadas utilizando-se o ImageScanner (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia) e analisadas utilizando-se o ImageMaster 2-D Platinum software v. 5.0 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia). Os spots selecionados foram então recortados manualmente e submetidos à digestão e extração dos fragmentos tripticos gerados.

3.4 Identificação de Proteínas

3.4.1 Digestão in gel para spots excisados do gel 2D

A enzima utilizada foi a Tripsina modificada da Promega (Madison, WI, EUA). Todos os demais reagentes, incluindo bicarbonato de amônio e acetonitrila são Aldrich (Milwaukee, WI, EUA).

Após a visualização dos géis 2D os spots foram excisados manualmente em capela de fluxo laminar vertical e colocados em microtubos siliconizados de 1,5mL para subsequente digestão *in gel* e extração dos fragmentos tripticos. A digestão *in gel* e a extração dos fragmentos tripticos foram realizados segundo

protocolo modificado de Schevchenko *et al.* (1996). Os pedaços excisados de gel foram descoloridos com 100 μ L de bicarbonato de amônio 100 mM pH 7.8, contendo acetonitrila 50% (v/v), repetindo-se o processo até a descoloração total dos géis. Não foram feitos os passos de redução e alquilação, uma vez que as amostras eram provenientes de géis bidimensionais e, portanto, estas etapas já haviam sido realizadas durante a preparação das mesmas para os procedimentos de eletroforese bidimensional, antes da realização da segunda dimensão (gel SDS-PAGE). Os pedaços de gel recortados e excisados foram então liofilizados e rehidratados com 15 μ L de uma solução de tripsina 10ng/ μ L em bicarbonato de amônio 40 mM pH 7.8. As amostras foram então incubadas a 37°C, durante 16 horas, sempre em tubos siliconizados.

O sobrenadante contendo os fragmentos trípticos gerados foi removido após centrifugação por 2 minutos a 4000 x *g*, e os peptídeos remanescentes foram então extraídos do gel seguindo-se uma série de etapas de extração. Primeiramente adicionou-se 20 μ L de uma solução acetonitrila 50% (v/v), contendo ácido fórmico 5% (v/v) e incubou-se por 45 minutos a temperatura ambiente, seguido de sonicação por 10 minutos e breve centrifugação. Esta etapa foi repetida mais uma vez a partir do sedimento remanescente da primeira centrifugação e coletado novamente o sobrenadante. Ao sedimento da segunda centrifugação adicionou-se 20 μ L de uma solução acetonitrila 90% (v/v), contendo ácido fórmico 5% (v/v), coletando-se o sobrenadante após 5 minutos e breve centrifugação. Os sobrenadantes das 3 etapas foram coletados em um único tubo siliconizado de 1,5 mL e as amostras foram liofilizadas até o volume ser reduzido a aproximadamente 0,5 μ L em Speedvac SC110 (Thermo Savant, Milford, MA, EUA).

3.4.2 Identificação das proteínas por MALDI TOF-TOF e nano LC-MS/MS

Todas as análises de espectrometria de massas foram realizadas na Facility de Espectrometria de Massas da Universidade de Cornell (Ithaca, NY).

Cada amostra foi reconstituída em 10 μ L de solução acetonitrila 50% (v/v), contendo TFA 0,1% (v/v), anteriormente à análise por espectrometria de massas (MS); 0,5 μ L de cada amostra foi aplicado em uma placa do amostrador do espectrômetro MALDI-TOF/MS. Após a secagem da amostra na placa, adicionou-se 0,5 μ L de uma solução saturada de matriz de α -Ciano-4-hidroxi ácido cinâmico (CHCA) (10mg/mL em acetonitrila 50% (v/v), contendo TFA 0,1% (v/v) e 1mM de fosfato de amônio) sobre cada amostra, que por sua vez foram deixadas à temperatura ambiente até secagem completa. As amostras foram então submetidas à análise por MALDI MS/MS utilizando um instrumento 4700 Proteomics Analyzer (Applied Biosystem, Framingham, MA), equipado com um analisador de massas TOF-TOF óptico e com o software Explorer 4700 versão 3.0. O instrumento foi operado em 1kV no modo reflectron positivo e calibrado com um kit de calibrantes contendo uma mistura de 6 peptídeos padrão (Applied Biosystems, Framingham, MA). A calibração interna foi feita utilizando-se dois íons da autólise da tripsina (m/z 842.508 e m/z 1045.564) para todas as aquisições de espectros. A potência do laser foi ajustada para 2000 V para as análises de MS e 3000 V para as análises de MS/MS, com o sistema CID (Dissociação Induzida por Colisão) desligado. Os espectros de MS foram adquiridos para íons com massas entre 700 e 4000 Da, com uma relação sinal-ruído ajustada para um valor mínimo de mínimo de 20, para seleção de íons precursores. Os espectros de MS/MS foram adquiridos

para os 8 íons precursores mais abundantes em um total de 2000 disparos acumulados de laser .

O restante de algumas amostras selecionadas foi liofilizado e reconstituído em 10 μ L de acetonitrila 2% (v/v), contendo ácido fórmico 0,1% (v/v) para análise em LC-ESI-MS/MS. NanoLC foi realizada em um cromatógrafo Packings Ultimate integrado a um sistema HPLC capilar, com uma unidade de válvula Switchos (Dionex, Sunnyvale, CA, EUA). Os peptídeos extraídos do gel (6,4 μ L) foram injetados utilizando-se um amostrador automático Famous em uma coluna C18 PepMap (5 μ m, 300 μ m $\times$ 5 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, EUA) para dessalinização on-line e posterior separação em uma nano-coluna de fase reversa C-18 PepMap, eluída em um gradiente de acetonitrila entre 5 e 45% (v/v), contendo ácido fórmico 0,1%(v/v), em 30 minutos a um fluxo de 250nL/min. O nanoLC foi conectado *on-line* a um espectrômetro de massa íon trap triplo quadrupolo híbrido linear, modelo 4000 Q Trap ABI/MDS Sciex (Framingham, MA, EUA), equipado com uma micro fonte íon spray.

A aquisição dos dados foi realizada utilizando o software Analyst 1.4.1 (Applied Biosystems) no modo íon positivo, para análise da aquisição dependente de informações (IDA). A voltagem utilizada do nanospray foi 2.0 kV para todos os experimentos no modo positivo. Nitrogênio foi utilizado como gás de arraste (valor 10) e o gás de colisão ajustado para “alto”, com a interface aquecida ligada. O potencial de declusterização foi fixado em 50eV e a pressão de Gas1 ajustada para 15psi. Na análise IDA, após cada varredura na faixa de m/z entre 400 e 1550, e após uma varredura para aumentar a resolução (*enhanced resolution scan*), os três íons mais intensos com estados

de carga múltiplos foram selecionados para MS/MS com energia de colisão aplicada para detecção de íons com base em diferentes estados de carga e valores de m/z .

3.4.3 Análise dos dados de espectrometria de massas

Os dados combinados das análises MS e MS/MS realizadas por MALDI TOF-TOF foram utilizados para análise utilizando-se o software GPS Explorer (versão 3.5), fazendo-se uma busca contra o banco de dados do NCBI nr (taxonomia: Metazoa). Os parâmetros de busca foram ajustados para permitir uma clivagem perdida; modificações variáveis de oxidação da metionina e carboxiamidometilação da cisteína e tolerância para o desvio de massa de 50ppm. Os dados de MS/MS gerados a partir das análises de IDA, baseados nos experimentos de LC/ESI foram submetidos ao Mascot 2.1 para busca nos banco de dados, utilizando-se uma versão com servidor local (Cornell University) e a busca foi realizada contra o banco de dados NCBI nr (taxonomia: Metazoa), com a admissão de uma clivagem perdida; a tolerância de massa do peptídeo foi de + ou - 1,2 Da e a tolerância admitida nas análises de MS/MS foi de + ou - 0,6 Da. As modificações variáveis foram carboxamidometilação da cisteína e oxidação da metionina. Apenas escores significativos para os peptídeos definidos pela análise de probabilidade do Mascot (www.matrixscience.com/help/scoring_help.html#PBM) maior que a identidade foram considerados para a identificação de proteínas.

Para a identificação de quaisquer potenciais modificações biológicas os dados de MS/MS gerados a partir da análise IDA do nanoLC/ESI, foram também submetidos à busca em banco de dados utilizando o software ProteinPilot™ 1.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA), com algoritmo

Paragon contra o banco de dados FASTA de *Apis mellifera*. Uma clivagem perdida, modificações variáveis de oxidação da metionina e carboxiamidometilação da cisteína foram utilizadas para busca da identificação das proteínas com modificações biológicas adicionais. As identificações das proteínas foram reportadas com Protscore total >1,3 para cada proteína, representando >95% de significância estatística.

3.5 Eletrotransferência e imunodeteção

Foram realizados experimentos de Western Blotting para detecção de IgE e IgG específicas e fosfoproteínas.

As proteínas separadas em SDS-PAGE foram eletrotransferidas do gel para membranas de nitrocelulose na cuba de eletrotransferência Semi-Dry TE 70 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia), no caso de membranas 8x8cm, utilizadas para os ensaios de detecção de IgE e IgG específicas e na cuba de eletrotransferência TE 62 (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Suécia) para as membranas de 14x14cm utilizadas para os ensaios de detecção de proteínas fosforiladas. Foram utilizadas membranas de PVDF nos experimentos para detecção de IgE e de nitrocelulose nos demais blottings.

Num reservatório contendo tampão de transferência [Tris 20 mM pH 8,3, contendo Glicina 192 mM, SDS 0,1% (m/v) e metanol a 10% (v/v)] montou-se um “sanduíche” na seguinte ordem: três folhas de papel de filtro comum e uma membrana, gel, três folhas de papel de filtro comum; este conjunto permaneceu em repouso por 10 minutos para o equilíbrio de todo sistema no tampão de transferência. As membranas foram pré-hidratadas por 15 segundos em metanol (PVDF) ou água (nitrocelulose) antes de ser inserida no tampão de transferência. O conjunto foi colocado rapidamente na cuba de

transferência na seguinte ordem: a partir do cátodo da cuba, primeiramente os três papéis filtro, o gel equilibrado, a membrana e os mais três papéis filtro. Os parâmetros utilizados foram: 250 V, 100 mA por 1 hora para géis de 8 x 8 cm e 250 V, 200 mA por 1 hora e meia para géis de 14 x 14 cm. Após a eletrotransferência a membrana foi corada com Ponceau a fim de testemunhar a eficiência da transferência. A membrana foi então descorada com água para remover o corante.

- *Imunodeteção*

Nos ensaios de Western Blotting para detecção de IgE específicas ao veneno de abelhas, foram utilizados plasma de pacientes sensíveis ao veneno de abelhas atendidos no ambulatório de Insetos do Serviço de Alergia e Imunopatologia do Hospital das Clínicas, antes de serem submetidos à imunoterapia. Os anticorpos utilizados foram: Anti-IgE humana produzida em camundongos (ϵ -específica) conjugada à biotina (Zymed Laboratories – South San Francisco, CA); Peroxidase de rabanete (HRP) conjugada à estreptavidina (Zymed Laboratories – South San Francisco, CA). Para detecção de IgG específicas do antiveneno ao veneno de abelhas foi utilizado o antiveneno de abelhas produzido pela Fundação Butantan, segundo o item 4.1 (Anexo 1). O anticorpo utilizado foi Anti-IgG de cavalo (molécula intacta) produzido em coelhos, conjugado à peroxidase (Sigma, Saint Louis, MO). Para a detecção de proteínas fosforiladas foi utilizada uma mistura dos seguintes anticorpos: anti-fosfo-treonina policlonal produzido em coelho, anti-fosfo-treonina-X-arginina policlonal produzido em coelho; anti-fosfo-serina substrato de PKC policlonal produzido em coelho (todos Cell Signaling Technologies, Boston, MA, EUA).

A membrana de nitrocelulose foi bloqueada com TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) e leite em pó desnatado 5% (m/v) por 2 horas, em temperatura ambiente. Para os ensaios utilizando-se plasma de pacientes e anti-IgE humana foram utilizadas 3mg de mioglobina solubilizada em TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) para o bloqueio, para diminuir os ruídos de fundo, já que o leite apresenta biotina. Os plasmas dos pacientes sensibilizados foram solubilizados em TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v). Para membranas de 8 x 8 cm, foram colocados 2 mL de plasma do paciente (anticorpo primário) para 8 mL de TBS-Tween 20 0,1% (v/v). A membrana foi incubada com o plasma dos pacientes a 4° C durante 18 horas sob leve agitação. No caso dos ensaios para detecção de IgG a membrana foi incubada com o antiveneno (anticorpo primário) em um volume correspondente a 11,6mg de proteínas (aproximadamente 200µL), já que a eletrotransferência foi feita com 200µg de proteínas de veneno, acrescido de volume suficiente de TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) para completar 10 mL, utilizando a proporção de 1:58 proteínas de veneno para proteínas de antiveneno. Após essa etapa, a membrana foi lavada com 20 mL de TBS-Tween 20 0,1% (v/v) por 5 vezes, durante 10 minutos cada lavagem à temperatura ambiente. Em seguida, a membrana foi incubada com o anticorpo secundário (anti IgE ou anti IgG ou anti-fosfor) diluído em TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) na proporção 1:250 [(100 µL do anticorpo e 24,9 mL de TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v)] por 2 hs, à temperatura ambiente. Para a detecção colorimétrica a membrana já estava pronta.

As membranas para detecção de IgG específica foram submetidas à detecção colorimétrica. Para isso, foi feita com uma solução contendo o substrato cromogênico 4-cloro-1-naftol (Sigma, Saint Louis, MO) em metanol

contendo 0,003% (v/v) de H_2O_2 e a reação foi interrompida por adição de água deionizada.

Para a detecção por quimioluminescência a membrana foi lavada com 20 mL de TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v), por 5 vezes durante 10 minutos cada lavagem a temperatura ambiente. A membrana foi então incubada com Peroxidase de Rabanete (*Horseradish Peroxidase* (HRP)) no caso da detecção de IgE, ou com a mistura de anticorpos anti-fosfor (*P-Thr-Policlonal*, *PKC Substrate Antibody* e *Phospho-Threonine-X-Arginine*; Cell Signaling Technologies, Beverly, MA, EUA) (no caso da detecção de proteínas fosforiladas) diluído em TBS-Tween 20 a 0,1% (v/v) por 2 horas à temperatura ambiente, na diluição de 1:1000. A membrana foi então lavada com 20 mL de TBS-Tween 20 0,1% (v/v), por 10 vezes durante 10 minutos cada lavagem à temperatura ambiente. Nessa etapa a membrana foi seca com papel filtro e posicionada numa folha de transparência de acetato, que foi colocada no cassete de revelação fotográfica para detecção com o Kit de Imunofluorescência Aumentada “*Enhanced Chemiluminescence* (ECL)” (GE Healthcare Biosciences, Uppsala, Suécia), segundo recomendações do fabricante.

Foram misturados volumes iguais da solução de detecção 1 e 2 do kit, permitindo volume total suficiente para cobrir as membranas. Para membranas de 8 x 8 cm, foi utilizado 1 mL de cada solução de detecção, pipetados sobre a membrana, retirando-se o excesso, para as de 14 x 14cm foram utilizados 2mL de cada solução. A membrana foi exposta ao filme fotográfico *Hyperfilm* (Amersham Biosciences – GE) no cassete de raio-X apropriado. A exposição ocorreu entre 20 segundos e 2 minutos à temperatura ambiente numa câmara

escura. O filme foi removido e substituído por outro a cada tempo de exposição distinto. O filme foi revelado logo após as exposições por revelação convencional de filme fotográfico.

3.6 Detecção de Glicoproteínas

Para identificar as isoformas glicoprotéicas os géis de eletroforese bidimensional foram corados com o kit Pro-Q Emerald 300 (Dye Molecular Probes) como descrito por Steinberg et al. (2001). Esse corante se liga aos grupos de carboidratos oxidados pelo periodato, gerando um sinal fluorescente nas glicoproteínas. Antes da fixação das proteínas em 50% metanol (v/v), as glicoproteínas separadas no gel foram oxidadas a aldeídos por incubação em solução contendo ácido periódico 1% (v/v) e ácido acético 3% (v/v), durante 30 minutos à 25°C. Após essa etapa, o gel foi incubado com o corante Pro-Q Emerald 300 durante 120 minutos a 25°C sob leve agitação. As proteínas glicosiladas foram visualizadas por iluminação de luz ultravioleta a 300 nm e fotodocumentado pelo sistema de documentação para géis de eletroforese VDS Image Master (GE Lifesciences – Uppsala, Suécia).

3.7 Atividade hemolítica

Os experimentos de atividade hemolítica foram realizados com base na metodologia utilizada por de Souza et al. (2005) conforme descrição a seguir.

3.7.1 Obtenção dos eritrócitos

Foram adicionados cerca de 500 μ L de sangue extraído da cauda de ratos Wistar fêmeas em 50 mL de solução salina (NaCl 0,85%, CaCl₂ 10 mM) sob leve agitação, em agitador magnético (MA-089 Marconi, Piracicaba - SP). Esta suspensão de eritrócitos foi mantida por 15 minutos sob agitação leve para evitar coagulação.

A suspensão de eritrócitos foi centrifugada em centrífuga clínica (Z-200A Hermle, Gosheim, Alemanha) a 3000 rpm durante 15 minutos. Retirou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se as células em 10 mL de solução salina, para lavagem dos eritrócitos. Repetiu-se esta operação por mais duas vezes.

O sobrenadante da última centrifugação foi descartado e o concentrado de hemácias obtido ao final das centrifugações foi considerado como sendo 100% de células. Foi preparada uma suspensão de eritrócitos a 1%, diluindo-se a suspensão concentrada descrita acima, com solução salina isotônica. Essa suspensão a 1% foi utilizada nos ensaios de atividade hemolítica.

3.7.2 Ensaio de hemólise

Foi montada uma bateria de ensaios em microplaca (Costar, Acton, MA, EUA), onde cada orifício continha diferente concentração do veneno de abelhas, dissolvido em 10 μ L de solução salina. A cada poço foram adicionados 90 μ L da suspensão de eritrócitos perfazendo um volume final de 100 μ L. Diferentes concentrações do veneno foram testadas, em triplicata, a fim de estabelecer-se a dose mínima capaz de lisar 100% das hemácias. Para o controle de 0% de hemólise foram adicionados 10 μ L de solução salina e 90 μ L da suspensão de eritrócitos e, para o controle de 100% de hemólise, foram

adicionados apenas 10 μ L de solução salina acrescida de 1% (v/v) de Triton X-100 (t-Octilfenoxipoli-etoxietanol, Sigma, Saint Louis, MO), em 90 μ L de suspensão de eritrócitos.

A placa foi incubada à temperatura ambiente por 2 horas sob leve agitação. Após este período de incubação, o conteúdo de cada orifício foi centrifugado por 5 minutos a 3000 rpm, em uma centrífuga Compacta Avanti 30 (Beckman, Fullerton, CA, EUA). Com o sobrenadante, montou-se uma nova placa para realização das leituras de absorbância, que foi realizada em uma leitora de placas (Biotrak II – GE Healthcare Biosciences, Uppsala, Suécia), com filtro de 540 nm.

Para se testar a soroneutralização da atividade hemolítica o veneno foi incubado com o antiveneno, (a partir da concentração mínima obtida nos ensaios de hemólise variando-se a quantidade antiveneno a fim de se estabelecer a concentração mínima de antiveneno capaz de neutralizar a atividade hemolítica) a 37°C por 30 minutos antes de acrescentadas as hemácias.

3.8 Atividade miotóxica – medida da atividade de Creatino Quinase (CK)

3.8.1 Obtenção do sangue

Os ensaios de liberação de creatino quinase (CK) para se testar a atividade miotóxica do veneno de abelhas foram realizados segundo Rocha et al. (2007). Foram injetados 50 μ g de veneno de abelhas total ou da fração I, ou ainda o antiveneno isolado no músculo tibial anterior de camundongos machos Balb/c. Para certificar a ação neutralizadora do antiveneno na atividade miotóxica, o

veneno foi incubado juntamente com o antiveneno na proporção 1:58 a 37°C por meia hora antes de ser injetado.

Solução salina foi utilizada como controle. Após 3 horas os camundongos foram anestesiados, o sangue total, coletado em tubo heparinizado, foi retirado pelo plexo ocular ou por punção cardíaca e os animais foram sacrificados por deslocamento da coluna vertebral. O sangue coletado foi imediatamente centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm, em uma centrífuga Compacta Avanti 30 (Beckman, Fullerton, CA, EUA). Os sobrenadantes foram utilizados para a leitura da atividade de creatino-quinase (CK).

3.8.2 Leitura da atividade de CK

Para a leitura da atividade enzimática foi utilizado o kit método cinético-UV, líquido estável, (Laborlab, Guarulhos, SP, Brasil) seguindo as instruções do fabricante. Para a preparação do reagente de trabalho misturou-se uma parte do Reativo Tampão 1 + 4 partes do Reativo enzimático 2. A reação foi realizada a 25°C. 20µL do sobrenadante do sangue coletado foi misturado com 1mL do reagente de trabalho. Esta solução foi mantida por 3 minutos, disparou-se o cronômetro e foram realizadas leituras a 340nm a cada um minuto durante 4 minutos. Calculou-se o decréscimo médio de absorbância por minuto ($\Delta A/\text{min}$) e aplicou-se a seguinte fórmula para obtenção da atividade enzimática:.

$$\Delta A/\text{min} \times 8095 = \text{U/L}$$

3.9 Cultura celular e Ensaios de Citotoxicidade

Toda a parte de cultura celular e ensaios com células foram realizados no laboratório de vacinas anti-rábicas do Instituto Butantan.

3.9.1 Preparo de meio de cultura:

Foi utilizado meio Eagle suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (SFB) para o crescimento das células a serem cultivadas. Após dissolução do meio, retirou-se amostra para verificar o pH, que deveria estar entre 4,3 e 5,9. Adicionou-se Bicarbonato de Sódio, de grama em grama, retirando-se amostras para medição do pH, após cada adição. Após atingir pH entre 7,1 e 7,3 acrescentou-se SFB em 10% (v/v), retirou-se nova amostra e mediu-se novamente o pH que deveria estar entre 7,2 e 7,5. Realizou-se a filtração do meio em membrana esterilizante e, em seguida, foram retiradas amostras para o Teste de Verificação de Ausência de Bactérias e Fungos.

3.9.2 Banco de células:

Para manter sempre uma quantidade de célula para uso imediato é necessário que se prepare um banco de células, ou seja, após o descongelamento de um criotubo, as células que se reproduziram e não foram utilizadas, foram congeladas em nitrogênio líquido em concentração de 6 a 8×10^6 células/mL.

Para o congelamento, foi realizada uma subcultura, para que em 24 horas, a monocamada atingisse de 70 a 80% de formação (quando as células estariam na fase log de crescimento). Procedeu-se à tripsinização dessas células com Associação Tripsina-Versene (ATV) e diluição com meio Eagle contendo 10% (v/v) de SFB e contagem em câmara de Newbauer (diluição do corante para contagem – 1mL de células e 2 mL de corante). O resultado é o número de células/mL da garrafa. Para congelamento, são necessárias de 6 a 8×10^6 células/mL. Após diluição ou concentração (por centrifugação) para se obter a quantidade desejada, acrescentou-se DMSO (dimetilsulfóxido), 5% (v/v)

e foram realizados os testes de esterilidade. Distribui-se 1 mL de células em cada criotubo e o congelamento foi feito lentamente para que a formação dos cristais fosse o mínimo possível, sem rompimento da membrana celular. Após esta etapa embrulharam-se os criotubos em papel jornal e depois em papel alumínio e foram mantidos em freezer a -80°C por 24 horas. Transcorrido esse período, colocaram-se os criotubos no nitrogênio líquido.

Após 3 dias foi retirado 1 criotubo para Teste de Micoplasma e 1 criotubo para verificar a viabilidade celular e sua concentração.

3.9.3 Descongelamento celular

Para a realização dos testes de citotoxicidade, as células foram descongeladas a partir do Banco de Células.

Retirou-se 1 criotubo da célula escolhida do tambor de nitrogênio líquido (-196°C) que foi colocado diretamente em um recipiente com tampa contendo água a $36,5^{\circ}\text{C}$ para que ocorresse um descongelamento rápido da célula, de modo que ela não se rompesse devido aos cristais formados em seu citoplasma durante o processo de congelamento.

Em capela de fluxo laminar, despejou-se o conteúdo do criotubo em uma garrafa de 25cm^3 para cultura de células e adicionou-se meio Eagle fresco, contendo 10% (v/v) SFB. Após 24 horas o meio foi substituído para remoção do DMSO usado no congelamento das células (para evitar a formação dos cristais no citoplasma),

3.9.4 Subcultivo celular

Após formação da monocamada de células na garrafa, em capela de fluxo laminar, retirou-se todo o meio de cultura da garrafa e as células foram tratadas com ATV para que se descolassem da garrafa e também umas das

outras. Após se descolarem, adicionou-se meio Eagle fresco, contendo 10% de SFB 10% e transferiu-se para outras garrafas, na diluição 1:6.

3.9.5 Citotoxicidade

Nos ensaios de citotoxicidade foram testados diferentes tipos celulares (L-929 – células de inseto, CRFK – células de rim de gato, MDBK – células de rim de boi e CHO – células de ovário de Hamster Chinês).

Em placas de cultura de 96 cavidades, foram realizadas diluições seriadas do veneno em meio Eagle com 10% de SFB. Em seguida, acrescentou-se 5×10^5 células/cavidade, exceto na primeira coluna para leitura do branco. As placas foram incubadas em estufa 36,5°C com 5% de CO₂ pelo período de 1, 2, 3, 4 ou 24 horas. Após o período de incubação, as células foram fixadas com acetona 80% a -20°C por 10 minutos. Secou-se a placa e adicionou-se 100µL por cavidade de Azul de Evans 1:10.000. As células foram então incubadas em estufa a 36,5°C por 1 hora para que as células vivas fossem coradas. Lavou-se com PBS para retirar o excesso de corante e acrescentou-se 100µL de PBS com 10% de SDS (Sodio Dodecil Sulfato), a fim de romper a membrana das células fixadas, liberando o corante, seguindo-se a leitura no leitor de Elisa.

3.9.6 Soroneutralização

Para os ensaios de soroneutralização foram utilizados diferentes lotes de antivenenos produzidos pela Fundação Butantan.

Em placas de cultura de 96 cavidades, foram realizadas diluições seriadas do veneno em meio Eagle contendo 10% (v/v) de SFB, acrescentando-se, em seguida, o mesmo volume de antiveneno. A mistura veneno + antiveneno foi incluída em estufa a 36,5°C com atmosfera de 5%

(v/v) de CO₂ durante 1 hora. Metade do volume foi descartado e acrescentou-se 5 x 10⁵ células/cavidade, com mesmo volume existente na cavidade, exceto na primeira coluna para leitura do branco. Incubou-se novamente a placa pelo período determinado. Após o período de incubação, as células foram fixadas com acetona 80% (v/v) a -20°C por 10 minutos. Secou-se a placa e adicionou-se 100µL de Azul de Evans 1:10.000, por cavidade. As células foram então incubadas em estufa a 36,5°C por 1 hora para corar as células vivas. Lavou-se com PBS para retirar o excesso de corante e 100µL de PBS com 10% de SDS foram adicionados, a fim de romper a membrana das células fixadas, liberando o corante, seguindo-se a leitura no leitor de Elisa a 540nm.

Foram repetidos os mesmos testes, só que ao invés de diluir o veneno, foi diluído o antiveneno, mantendo-se fixa a concentração do veneno.

3.10 Atividade Hialuronidásica

A atividade hialuronidásica, medida pelo método turbidimétrico (Rong Rowe & Burnet, 1994), consiste na hidrólise do substrato sulfato de condroitina. A mistura de reação (150mM de cloreto de cálcio, tampão acetato de sódio 10mM (pH 5,2), sulfato de condroitina 0,05mg/mL em um volume final de 2 mL) após a adição do veneno bruto ou dialisado ao substrato foi incubada à 37°C por 1 hora. Para os teste de neutralização da atividade o veneno bruto ou dialisado foi incubado a 37°C por 1 hora antes da adição do substrato. A leitura foi realizada em 400nm. A atividade hialuronidásica é inversamente proporcional aos valores de absorbância devido à degradação do substrato pela proteína formando produtos que tornam o meio de reação menos turvo, portanto com menor valor de absorbância.

4. RESULTADOS

4.1 Cromatografia de afinidade

O perfil eletroforético em gel bidimensional do veneno bruto de abelhas liofilizado revelou a presença de 92 spots diferenciais (fig. 6).

Figura 6 - Perfil eletroforético do gel do veneno de abelhas dialisado, contendo 300µg de proteínas corado com CBB (um gel de três).

A coluna de afinidade foi montada na proporção 1:24 (5mg de proteínas de veneno:120mg de proteínas de antiveneno imobilizado); as leituras foram realizadas a 280nm, sendo coletadas frações de 15mL. O perfil desta cromatografia de afinidade está mostrado na figura 7. A maior

fração protéica foi eluída em pH básico e a menor em pH ácido. Os géis bidimensionais das frações eluídas em pH 8 (fração I), pH 2,8 (fração II) e pH 11 (fração III) estão mostrados na figura 8.

Figura 7 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera*. O fracionamento foi realizado em coluna Sepharose 4B ativada com CnBr (200mmx20mm), previamente equilibrada e eluída até a remoção de todas as proteínas livres na coluna com tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 e então eluída com tampão Tris-glicina 0,05M pH 2,8 novamente até a remoção de todas as proteínas e finalmente com tampão Tris-HCl 0,1M pH 10,7, sendo todos os tampões contendo NaCl 0,15M, em um fluxo de 1,0mL/min; frações de 15mL foram coletadas. A eluição foi monitorada a uma absorbância de 280nm. A proporção proteínas de veneno:proteínas de antiveneno foi de 1:24.

Os perfis eletroforéticos destas frações revelaram que algumas proteínas presentes na região do gel em torno de 30kDa e pI entre 8-10 apareciam com o mesmo perfil tanto na fração I quanto na fração II (figuras 8A e 8B e ampliações figura 9).

Para se investigar se a eluição das mesmas proteínas simultaneamente nas duas frações seria um problema de saturação da coluna, foi feita uma recromatografia, na qual a fração I foi aplicada novamente na mesma coluna, desta vez isoladamente, na proporção de

1:250 em relação à quantidade de anti-soro imobilizado na coluna (proteínas do veneno : proteínas do antiveneno).

Figura 8 – Géis bidimensionais 12,5% corridos em fita de 13 cm, pI 3 a 10 corados com CBB G-250 das frações eluídas da cromatografia de afinidade (1:24) em pH 8 (fração I - A) em pH 2,8 (fração II - B) e pH 10,7 (fração III - C). Cada gel com 300µg de proteínas. As regiões marcadas em A e B representam as regiões repetidas e que estão ampliadas na figura 9.

Figura 9 – Ampliações das regiões marcadas nos géis SDS PAGE (A) e (B) da figura 8, que representam as regiões repetidas em ambos os géis: (A) região proveniente da fração II eluída em pH ácido e (B) região proveniente da fração I.

O perfil desta recromatografia (figura 10) mostra muita semelhança com o perfil exibido na figura 2, sugerindo que algumas proteínas que haviam sido eluídas na fração I, na primeira cromatografia, ficaram retidas na coluna durante a recromatografia, indicando que poderia ser aumentada a quantidade de anti-veneno imobilizado em Sepharose 4B para que ocorresse o máximo de interações proteína-proteína com a quantidade de proteínas do veneno inicialmente aplicada na primeira cromatografia de afinidade. Quando aumentou-se a proporção para 1:250 ainda existia um pico de proteínas eluindo no primeiro tampão, porém em concentração bastante baixa.

Figura 10 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera*. O fracionamento foi realizado em coluna Sepharose 4B ativada com CnBr (200mmx20mm), previamente equilibrada e eluída até a remoção de todas as proteínas livres na coluna com tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 e então eluída com tampão Tris-glicina 0,05M pH 2,8 novamente até a remoção de todas as proteínas e finalmente com tampão Tris-HCl 0,1M pH 10,7, sendo todos os tampões contendo NaCl 0,15M, em um fluxo de 1,0mL/min; frações de 15mL foram coletadas. A eluição foi monitorada a uma absorbância de 280nm. A proporção proteínas de veneno:proteínas de antiveneno foi de 1:250.

Os géis de eletroforese bidimensional das frações II e III coletadas nesta recromatografia (fig. 11), mostraram que alguns dos spots de proteínas que eram repetidos (fig. 9), ainda estavam presentes naquela mesma região na fração II, porém em bem menor intensidade, indicando que a melhor proporção para a neutralização estaria entre 1:24 e 1:250.

Figura 11 – Géis bidimensionais SDS PAGE 12,5% pI 3 a 10 provenientes das frações II (eluída em pH ácido - A) e III (eluída em pH básico - B), da recromatografia (1:250) corados com prata. A região marcada evidencia spots que estavam presentes na região repetida (fig. 4) e que continuaram presentes no gel.

Para se determinar qual a melhor proporção entre estes extremos foram realizados ensaios de potência e chegou-se a uma proporção de 1:58 (proteínas de veneno : antiveneno).

A partir desta etapa foi feita uma mudança na manipulação do veneno, que até então não era dialisado na presença de inibidores de proteases, o que passou a ser feito a partir deste momento, utilizando-se EDTA, PMSF e Leupeptina. Fazendo-se um gel de eletroforese desta nova amostra foi obtido um perfil diferenciado, com menos spots evidenciados (figura 12). Todos os experimentos daqui por diante foram realizados com veneno dialisado na presença de inibidores de proteases.

Figura 12 – Gel SDS-PAGE 12,5% corrido em fita 13 cm pI 3 a 10 do veneno total dialisado na presença de inibidores de protease corado com CBB G-250 evidenciando 29 spots – 300µg de proteínas.

A coluna foi então montada na proporção 1:58 e o perfil de eluição está mostrado na figura 13. A fração eluída em pH 10,7 continuou sendo a mais abundante. Os géis referentes ao veneno bruto (figura 12) e às frações (figuras 14 e 15) tiveram seus spots recortados para identificação.

Figura 13 – Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera*. O fracionamento foi realizado em coluna Sepharose 4B ativada com CnBr (200mmx20mm), previamente equilibrada e eluída até a remoção de todas as proteínas livres na coluna com tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 e então eluída com tampão Tris-glicina 0,05M pH 2,8 novamente até a remoção de todas as proteínas e finalmente com tampão Tris-HCl 0,1M pH 10,7, sendo todos os tampões contendo NaCl 0,15M, em um fluxo de 1,0mL/min; frações de 15mL foram coletadas. A eluição foi monitorada a uma absorbância de 280nm. A proporção proteínas de veneno:proteínas de antiveneno foi de 1:58.

Figura 14 – Gel da fração I (eluída em pH 8,0) 13cm pl 3 a 10 corado com CBB G-250 (300µg de proteínas).

Figura 15 – Géis das frações II (eluída em pH ácido - A) e III (eluída em pH básico B) 13cm pI 3 a 10 corados com CBB G-250 (300µg de proteína em cada gel).

4.2 Ensaios de potência

4.2.1 Ensaios biológicos

Todos os ensaios biológicos foram realizados com veneno total de abelhas, sem diálise.

Ensaios de citotoxicidade e soroneutralização foram realizados no Instituto Butantan a fim de se estabelecer a melhor proporção de proteínas de veneno : antiveneno para neutralização da atividade citotóxica. Foram testados diferentes tipos celulares e decidiu-se utilizar as células de ovário de hamster chinês (CHO), por questões de susceptibilidade ao veneno e melhor crescimento celular. O melhor período de incubação das células com o veneno foi de 60 minutos.

Realizando-se diluições de veneno para se estabelecer a menor concentração de veneno com atividade citotóxica, chegou-se a uma concentração mínima de 108,24 µg de proteínas de veneno/mL (tabela 2), necessária para matar 100% das células.

Tabela 2 - Atividade citotóxica do veneno total de abelhas, variando a quantidade de veneno utilizada. Controle positivo (meio Eagle com 10% SDS – 100% morte) – abs. 0,159; controle negativo (células em meio Eagle – 100% células vivas) – Abs = 0,020. A concentração destacada em negrito corresponde à mínima de veneno, suficiente para matar 100% das células.

Abs a 550nm	Proteínas veneno (µg/mL)
0,020	11,02
0,018	20,95
0,019	31,08
0,018	48,52
0,020	73,88
0,120	92,69
0,160	108,24
0,160	155,49
0,160	250,32

Foram realizados ensaios de soroneutralização, fixando-se esta concentração de veneno e variando-se a quantidade de antiveneno necessária para neutralizar a atividade citotóxica. Chegou-se a uma quantidade de 6277,92 µg de proteínas de antiveneno/mL necessárias para neutralizar 108,24 µg de proteínas de veneno/mL (tabela 3), ou seja, uma proporção de 1:58 (proteínas de veneno:proteínas de anti-veneno).

Tabela 3 - Neutralização da atividade citotóxica do veneno de abelhas pelo antiveneno. Foi utilizada uma quantidade fixa de 108,24 µg de proteínas de veneno para cada concentração diferente de antiveneno testada. Controle negativo (veneno sem anti-veneno (AV) - 100% morte) – Abs = 0,140; controle positivo (células em meio Eagle - 100% células vivas) – Abs= 0,020. A concentração destacada em negrito corresponde à quantidade mínima de antiveneno capaz de neutralizar totalmente a atividade citotóxica.

<i>Abs a</i> <i>550nm</i>	<i>Proteínas AV</i> <i>(ug/mL)</i>
0,140	237,75
0,140	488,71
0,100	990,63
0,080	1981,24
0,040	3988,92
0,020	6277,92

Foram também realizados testes de atividade hemolítica e soroneutralização desta atividade pelo antiveneno, semelhantemente ao que foi feito para a determinação da atividade citotóxica do veneno. Considerando-se o perfil da atividade hemolítica do veneno bruto de *A. mellifera* (tabela 4), foi escolhida a concentração mínima capaz de lisar 100% das hemácias, no caso 0,3125 µg/µL para os ensaios de neutralização com o anti-veneno.

Tabela 4 – Atividade hemolítica do veneno total de abelhas. A concentração evidenciada em negrito é a mínima capaz de hemolisar 100% das hemácias.

<i>conc. (μg/μL)</i>	<i>% hemólise</i>
5	100,0
2.5	100,0
1.25	100,0
0.625	100,0
0.3125	100,0
0.15625	98,9
0.078125	96,8
0.039063	89,7
0.019531	82,6

Desta maneira, foram realizados ensaios para determinar a quantidade de antiveneno necessária para neutralizar a atividade hemolítica do veneno na concentração de 0,3125 μg/μL. Os resultados obtidos (tabela 5) mostram que a proporção de 1:50 (proteína do veneno: proteína do anti-veneno) foi suficiente para neutralizar a hemólise causada pelo veneno na concentração de 0,3125 μg/μL.

Tabela 5. Neutralização da atividade hemolítica do veneno pelo antiveneno. Foi utilizada uma concentração fixa de 0,3125 μg/μL de proteínas de veneno para cada concentração diferente de antiveneno testada, mostrada como proporção em relação à quantidade de proteínas de veneno. A proporção evidenciada em negrito corresponde à menor quantidade de antiveneno capaz de neutralizar a atividade hemolítica. AV = anti-veneno; hem.= hemólise

<i>proporção AV</i>	<i>% hem. Veneno</i>
0	100,0
5	98,0
10	90,0
15	58,0
20	6,9
25	10,9
30	1,6
35	1.3
40	1.1
45	0.6
50	0.2
55	0.2
60	0.2

Com base nos resultados obtidos nos ensaios de soroneutralização das atividades hemolítica e citotóxica (1:50 e 1:58, respectivamente), foi adotada a maior proporção necessária, ou seja, 1:58 para realização dos ensaios de soroneutralização da atividade miotóxica do veneno. Esta proporção proteínas de veneno:antiveneno mostrou-se eficiente na neutralização da atividade miotóxica testada *in vivo*, conforme mostra a figura 16. Os ensaios de liberação de creatino quinase para verificar a atividade miotóxica do veneno mostraram que, apesar da fração I apresentar atividade miotóxica, o antiveneno quando utilizado na proporção 1:58 foi capaz de neutralizar esta atividade (figura 20). A creatino quinase só é liberada quando ocorre lise no tecido muscular.

Figura 16. Liberação de creatino-quinase que reflete o efeito miotóxico do veneno. Foram testados o veneno total isoladamente e juntamente com o antiveneno (1:58); a fração I e o antiveneno isolado.

Como ensaio adicional para se testar a potência neutralizadora do soro antiveneno foi realizada a neutralização da atividade hialuronidásica. Foi construída uma curva a partir das leituras (abs. 400nm) obtidas a partir

de diferentes concentrações do substrato sulfato de condroitina. A equação da reta obtida foi:

$$y=0,046x + 0,2921$$

$$R^2=0,9971$$

O resultado obtido através da aplicação da equação da reta foi subtraído da massa inicial de substrato = 250µg para se obter a massa consumida de substrato. Os resultados foram:

Somente substrato sem proteína - abs.1,404 = **consumo igual a zero**

Veneno Bruto (VB) – (abs. 0,494) 250 – 88,04 = **161,96 µg** de substrato consumido

VB + antiveneno – (abs. 1,380) 250 – 245,98 = **4,02 µg** de substrato consumido

Veneno dialisado (VD) – (abs. 1,312) 250 – 182,41 ug = **67,59 µg** de substrato consumido

VD + antiveneno – (abs. 1,401) 250 – 249,7 ug = **0,3 µg** de substrato consumido

Os resultados mostraram que a atividade hialuronidásica tanto do veneno bruto quanto do veneno dialisado foi inibida pelo antiveneno.

4.3 Dose recomendada de antiveneno

Os ensaios biológicos para certificação da potência do soro, ou seja, de sua ação neutralizadora, mostraram que o soro antiveneno produzido foi eficiente na neutralização das atividades hemolítica, citotóxica e liberação de creatino-quinase (que reflete o efeito miotóxico).

A dose estimada de veneno inoculado numa vítima adulta de peso 70Kg, que tenha sido vítima de 1000 ferroadas (considerada fatal) é 1,3 mg/kg, ou seja, 91 mg total de veneno (Schumacher e Egen, 1995). Considerando-se que aproximadamente 22,5% do peso seco do veneno de abelhas é constituído de proteínas, que 1000 ferroadas de abelhas contém aproximadamente 91 mg e que a concentração de proteínas no antiveneno produzido é de 20,85 mg/mL, tem-se:

- 1mg de veneno bruto de abelhas contém aproximadamente 0,225mg de proteínas, logo, 91mg de veneno contem 20,475mg de proteínas;

- para neutralizar esta quantidade de proteínas (20,475mg), na proporção avaliada nos testes de potência (1:58) são necessárias 1187,55mg de proteínas do anti-veneno;

- na concentração 20,85mg de proteínas por mL de soro, são necessários 56,95 mL de soro para neutralizar a ação de 1000 ferroadas de abelhas.

- 1mL de soro antiveneno (20,85mg/mL) é capaz de neutralizar 0,36mg de proteínas de veneno que corresponde a aproximadamente 1,6mg de veneno bruto de abelhas liofilizado. Sendo assim a potência do soro

antiveneno produzido é de 1,6 mg/mL , ou seja, 1mL de soro é capaz de neutralizar 1,6mg de veneno bruto liofilizado.

O valor calculado acima está na mesma faixa de eficiência dos melhores anti-venenos (ofídicos, aracnídeos e escorpionídeos) produzidos no Brasil e no mundo.

4.4 Identificação das proteínas

Todos os spots dos quatro géis (veneno total, fração I eluída em pH 8, fração II eluída em pH ácido e fração III eluída em pH básico) provenientes da cromatografia de afinidade realizada na proporção de proteínas veneno:soro igual a 1:58 (veneno extraído na presença de inibidores de protease), foram submetidos às análises proteômicas, realizando-se inicialmente o sequenciamento por espectrometria de massas, perfazendo um total de 122 spots submetidos. Destes, 113 foram identificados.

As tabelas 6 a 9 mostram as identificações. Os relatórios provenientes da ferramenta de busca Mascot utilizados para identificação encontram-se no Anexo 2 para conferência.

Tabela 8 - Identificação das proteínas provenientes da fração I – eluídas em pH 8,0, do gel mostrado na figura 14. As proteínas em negrito estão sendo descritas pela primeira vez no veneno de abelhas.

Identificação da proteína	Número de acesso	% de cobertura	Mascot Score da proteína	Score Total do Íon	pI teórico	MM teórica	Spots
1. precursor de melitina	gi 223015		215	122	4,69	7600,9	1
2. similar a CG11034-PA	gi 66519891	35	222	46	5,74	87132,3	2
3. transferrina	gi 33303622	22 -33	96 - 372	18 - 250	6,77	78607,5	4 a 7
4. alfa-glicosidase	gi 58585164	37	388	277	5,06	65523,06	8
5. similar a homóloga de <i>Sarcophaga</i> 26,29kDa proteinase	gi 66499011	23	75;62	46;43	6,52	38089,4	9;10
6. Proteína Kruppel-like	gb AAR08420	31	283	-			11
7. MRJP2	gi 3676300	30	81	47	6,83	51041,4	12
8. MRJP8	gi 40353251	41-45	285-463	198-362	6	46926,81	13 a 16
9. MRJP9	gi 67010041	47-54	357 - 524	238 - 414	8,7	48657,54	17 a 19
10. Similar a CG15011-PA	ref XP_001122621	25	187	-			22
11. Proteína com domínio de dedo de zinco	ref XP_392980.3	22	198	-			23
12. Proteína similar a Stretchin-Mlck CG18255-PA, isoform A	XM_392462.3	23	317	-			24
13. hialuronidase	gi 58585182	44-61	192-398	113-183	8,67	40822,63	26 a 30
14. Similar aos fatores PDGF- e VEGF- (CG7103-PA)	gi 48094880	44	203	139	6,06	33125	31 a 34
15. Fosfolipase A ₂ (PLA ₂)	gi 443189	50-90	205-372	79-279	7,18	18474,8	35 a 40
Não identificadas							3;20;21;25

Tabela 9 - Identificação das proteínas provenientes da fração III – eluídas em pH 10,7, do gel mostrado na figura 15C.

Identificação da proteína	Número de acesso	% de cobertura	Mascot Score da proteína	Score Total do Íon	pl teórico	MM teórica	Spots
1. Imunoglobulina G cadeia leve [<i>Equus caballus</i>]	gi 9858133	24-28	182-227	141-173	6,4	24185,88	26;28;29
2. Imunoglobulina gama 7 cadeia pesada [<i>Equus caballus</i>]	gi 18996195	18-30	78-208	60-173	7,7	35698,8	33;38;39;41-43
3. Lambda-imunoglobulina	gi 291474	24	139-233	116-183	8,35	17422,5	30;31;32;36;40
4. Imunoglobulina gama 7 cadeia pesada [<i>Equus caballus</i>]	gi 42528291	31	142	107	7,7	35698,8	38
5. Imunoglobulina gama 5 cadeia pesada região constante [<i>Equus caballus</i>]	gi 18996195	18-27	130	100	5,95	35861,8	3;4;8;9
6. Imunoglobulina gama 4 cadeia pesada [<i>Equus caballus</i>]	gi 42528293	30-35	142-320	60-221	7,71	35697,87	16;21
Não identificadas							20;37;44

Observou-se que foi detectada uma série de fragmentos IgGs de cavalos na fração eluída em pH ácido (tabela 7). Na identificação das proteínas da fração eluída em pH básico 33 spots eram IgGs (tabela 9).

Com a verificação de vários spots de fragmentos de IgG concluiu-se que estaria ocorrendo clivagem das imunoglobulinas de cavalo imobilizadas durante a cromatografia. Sendo assim foram acrescentados 10 mM de EDTA em todos os tampões utilizados durante a cromatografia, com a finalidade de se tentar inibir as proteases. Foi empacotada uma nova coluna na proporção 1:58 e realizada uma nova cromatografia de afinidade. O perfil de eluição das frações encontra-se na figura 17.

Figura 17 - Perfil cromatográfico por afinidade do veneno dialisado de *A. mellifera*. O fracionamento foi realizado em coluna Sepharose 4B ativada com CnBr (200mmx20mm), previamente equilibrada e eluída até a remoção de todas as proteínas livres na coluna com tampão Tris-HCl 0,1M pH 8 e então eluída com tampão Tris-glicina 0,05M pH 2,8 novamente até a remoção de todas as proteínas e finalmente com tampão Tris-HCl 0,1M pH 10,7, sendo todos os tampões contendo NaCl 0,15M e inibidor de protease EDTA 10mM, em um fluxo de 1,0mL/min; frações de 15mL foram coletadas. A eluição foi monitorada a uma absorbância de 280nm. A proporção proteínas de veneno:proteínas de antiveneno foi de 1:58 .

As imagens dos géis provenientes desta cromatografia estão nas figuras 18 e 19. O perfil protéico da fração I não se alterou; as imunoglobulinas G continuaram sendo detectadas nas frações II e III, porém em menor quantidade. Além das proteínas já identificadas foi identificada um inibidor de proteinase 2 do tipo alfa-1 (SPI2) (cód. Acesso gi|68067996).

Figura 18 - Gel de Eletroforese Bidimensional em SDS-PAGE 12,5%(m/v) corrido em fita 13cm pI 3 a 10 da fração I eluída em pH 8 na cromatografia de afinidade montada na proporção 1:58 (proteínas de veneno:proteínas antiveneno) na presença de inibidores de proteases em todas as etapas. O gel foi feito com 350µg de proteínas e corado com CBB G-250.

Figura 19 – Géis de Eletroforese Bidimensional em SDS-PAGE 12,5%(m/v) corridos em fita de 13cm pl 3 a 10 das frações provenientes da cromatografia 1:58 na presença de inibidores de proteases em todas as etapas da cromatografia de afinidade montada na proporção 1:58 (proteínas de veneno:proteínas antiveneno). A – fração I eluída em pH 8, B – fração III eluída em pH básico. Os géis foram feitos com 350µg de proteínas cada e corados com CBB.

4.4 Western Blotting

O Western Blotting com IgG de coelho anti-IgG de cavalo (fig. 20) detectou um total de 33 spots de proteínas, sendo que 14 destes spots haviam sido detectados anteriormente na fração I (excetuando-se os spots correspondentes à PLA₂ que não estão sendo contabilizados por aparecerem tanto na fração I quanto na fração II e ser difícil fazer a diferenciação destes spots para saber qual deles está nesta ou naquela fração).

Figura 20 - Imagem do WB feito com IgG de coelho anti-IgG de cavalo, 200µg de proteínas de veneno total em gel SDS PAGE 12,5%(m/v) 7cm e pl 3 a 10.

Com base nas identificações feitas a partir dos géis das frações eluídas na cromatografia de imunoafinidade e do veneno total, foi estabelecida uma relação com as proteínas detectadas no WB com anti-IgG (tabela 10).

Tabela 10 - Identificação das proteínas detectadas por WB reveladas com anti-IgG de cavalo. A coluna “Fração” indica em qual fração o spot havia eluído na cromatografia de afinidade (I, II ou III e VT – Veneno Total).

Spot	Identificação	Fração
21;22;24;29;26;30;31	PLA ₂	VT
23;25;27;28;32;33	PLA ₂	I e II
11;12	MRJP9	I
14;15;16	Hialuronidase	I
5;6;7	Fosfatase ácida	II
8;9;10;13	MRJP8	I
1 - 4	Transferrina	I
18;19	Proteínas relacionadas ao PDGF e VEGF	I
17;20	Não identificada	

Os ensaios realizados para detecção de IgE específicas de pacientes sensíveis ao veneno de abelhas detectaram aproximadamente 20 spots. A figura 21 mostra o WB de um dos pacientes. Duas regiões não ficaram bem definidas, uma em torno de 44kDa, pl básico que corresponde à região onde foram identificadas hialuronidases e a MRJP9; e outra região em torno de 14kDa e pl básico, onde foram identificadas PLA₂ tanto na fração I quanto na II.

Figura 21. WB com anticorpos de paciente sensível a IgE. As regiões marcadas não estão bem definidas, correspondendo às hialuronidases e MRJP9 (A) e outra (B) às PLA₂ e MRJP1 (A).

Comparando-se os spots detectados pelo WB com anti-IgE de pacientes sensíveis ao veneno, foi possível identificar as proteínas que estariam envolvidas no processo alérgico e relacionar com a reatividade ao antiveneno, após o ensaio de WB com anti-IgG (Tabela 11).

Tabela 11 - Identificação das proteínas detectadas por WB com anti-IgE de pacientes sensíveis ao veneno. A coluna “Reatividade a IgG” indica se a proteína foi imunoreativa ou não ao antiveneno no ensaio de WB com anti-IgG .

Spot	Identificação	Reatividade a IgG
1 a 4	Fosfatase ácida	+
5 a 8	MRJP8	+
20	PLA ₂	+
18;19	Proteínas relacionadas ao PDGF e VEGF	+
9 a17	Não identificadas	

4.5 Modificações pós-traducionais

Buscando compreender porque algumas fosfolipases estavam presentes tanto na fração I, quanto na fração II, partiu-se para uma busca *in silico* por modificações pós traducionais (MPTs) nestas proteínas. Após uma busca realizada contra o banco de dados de *Apis mellifera* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/bee/>) com auxílio do aplicativo Protein Pilot (Applied Biosystems), procurando prováveis MPTs, foi detectada uma provável fosforilação presente nas PLA₂ provenientes do gel da fração II, que estava ausente nas mesmas proteínas do gel da fração I (figura 22 e tabela 12). O próximo passo então foi localizar estas modificações através da espectrometria de massas, utilizando LC-MS/MS. Os espectros mostrados nas figuras 23 e 24 confirmaram a presença desta fosforilação.

Figura 22 - Imagens dos géis das frações I – eluída em pH 8 (A) e II – eluída em pH 2,8 (B) evidenciando em vermelho os spots escolhidos para busca por MPTs.

Tabela 12 – Resultado da busca feita contra o banco do genoma de *Apis mellifera* em busca de MPTs utilizando-se o aplicativo Protein Pilot versão 9. Estão mostradas apenas as modificações presentes diferencialmente nas amostras vindas das diferentes frações (II – proveniente da fração eluída em pH ácido; I – proveniente da fração eluída em pH 8).

Spot	Cod. acesso	Identificação	Sequência	Modificações
II 46	gi 58585172	PLA ₂ [Apis mellifera]	THDMCPDVM S pAGESK	Oxidação(M)@4; Carboxamidometilação(C)@5; Oxidação(M)@9; O-Fosforil Perda Neutra(S)@10
II 48	gi 58585172	PLA ₂ [Apis mellifera]	THDMCPDVM S pAGESK	Oxidação(M)@4; Carboxamidometilação(C)@5; Oxidação(M)@9; O-Fosforil Perda Neutra(S)@10
I 36	gi 58585172	PLA ₂ [Apis mellifera]	THDMCPDVM S AGESK	Oxidação(M)@4; Carboxamidometilação(C)@5; Oxidação(M)@9
I 39	gi 58585172	PLA ₂ [Apis mellifera]	THDMCPDVM S AGESK	Oxidação(M)@4; Carboxamidometilação(C)@5; Oxidação(M)@9

Figura 23 – Espectro da proteína identificada como PLA₂ na fração I eluída em pH 8. À esquerda da figura está mostrado o espectro LC-MS/MS proveniente do pico observado aos 17,016 min do cromatograma, obtido para as análises do spot 39, proveniente da fração I eluída em pH ácido. À direita estão mostrados os valores de m/z para íons -y e -b; aqueles assinalados em negrito foram identificados no espectro à esquerda.

Figura 24 – Espectro da proteína identificada como PLA₂ na fração II eluída em pH ácido na cromatografia. À esquerda espectro LC-MS/MS proveniente do pico aos 17,016 min do cromatograma obtido para as análises do spot 46 proveniente da fração II. À direita estão mostrados os valores de m/z para íons -y e -b; aqueles assinalados em negrito foram identificados no espectro à esquerda. Observa-se a fosforilação na serina (S).

A relação entre fosforilação e imunoreatividade foi investigada realizando-se experimentos de blotting com as frações obtidas da cromatografia de imunoafinidade. Embora os resultados tenham mostrado a presença de fosfolipases em ambas as frações (figura 25B e C), não foi possível concluir se tratavam-se da mesma proteína, que estaria presente em ambas as frações ou se seriam isoformas muito próximas no gel. O experimento de Western Blotting utilizando anticorpos anti-fosfoproteínas e o veneno total (figura 25A), mostrou que além das proteínas correspondentes às PLA₂, também as transferrinas apresentavam fosforilação.

Figura 25 – Imagens dos filmes do WB realizados com anticorpos anti-fosfoproteínas a partir de géis 2D de 13cm, pI 3 a 10. A – veneno total; B – fração I eluída em pH 8; C – fração II eluída em pH ácido.

A Figura 26 e a Tabela 13 mostram que foram detectadas 18 glicoproteínas.

Figura 26 – Imagem mostrando as proteínas detectadas como glicosiladas.

Tabela 13 – Proteínas identificadas como glicosiladas e mostradas na figura 26.

Spot	Identificação da proteína
1	Precursor de melitina
2	Similar a CG11034-PA
4 a 7	MRJP8
8	MRJP2
9	MRJP9
10	Hialuronidase
11	MRJP1
12 a 18	PLA ₂
3	Não identificada

5. DISCUSSÃO

5.1 Identificação das proteínas

A separação por cromatografia de afinidade possibilitou a concentração de proteínas menos abundantes e a visualização de spots não visíveis no gel do veneno total, permitindo que se fizesse a detecção e identificação de algumas proteínas nunca antes descritas em veneno de abelhas.

Os alérgenos responsáveis por reações de hipersensibilidade seguem a Nomenclatura de Alérgenos do Sub-Comitê da União Internacional das Sociedades de Imunologia (IUIS) (<http://www.allergen.org/List.htm>).

As FOSFOLIPASES A_2 (PLA_2) são enzimas lipolíticas que clivam especificamente a ligação sn-2-acyl dos fosfolipídeos de membrana para produzir quantidades equimolares de lisofosfatídeos e ácidos graxos livres, principalmente o ácido araquidônico. Estes produtos então se tornam disponíveis para a conversão em potentes mediadores próinflamatórios, como o fator ativador de plaquetas e os eicosanóides (Dennis, 1978). Como já mencionado, é um dos principais componentes imunogênicos presentes no veneno. A PLA_2 é também conhecida como *Api m 1*, sendo um dos principais alérgenos presentes no veneno. Esta enzima representa cerca de 12% do peso seco do veneno bruto de abelhas. No presente estudo foram identificadas 23 isoformas desta proteína, nas frações I e II. Peiren et al. (2005) detectaram 24

spots referentes a esta enzima em gel bidimensional do conteúdo do saco de veneno extraído de *Apis mellifera carnica*.

Foram detectados 4 spots de proteínas similares aos fatores PDGF (do inglês *Platelet derived growth factor*) e VEGF (do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*); Peiren (2005) havia detectado apenas uma isoforma desta proteína. Os fatores PDGF e VEGF de serpentes podem induzir atividade de permeabilidade vascular, potente proliferação celular endotelial e atividade hipotensiva (Yamazaki e Morita, 2006). Estas proteínas, além de auxiliarem na difusão dos componentes do veneno, podem estar relacionadas com a proteção da glândula e reservatório de veneno antes da ferroadada, já que esta proteína apresenta atividade de proliferação celular endotelial.

As MRJPs (do inglês *Major Royal Jelly Proteins*) foram assim denominadas por terem sido identificadas pela primeira vez na geléia real e constituírem a principal família de proteínas presentes naquela secreção. A geléia real é um exudato produzido por glândulas mandibulares e hipofaríngeas de abelhas rainhas da ordem Hymenoptera utilizada para nutrir a prole que se diferenciará em abelhas rainhas (Knecht et al., 1990). Santos et al. (2005) e Sano et al. (2004) elucidaram seqüências parciais das proteínas da família das MRJPs (*Major Royal Jelly Protein*) da geléia real de *Apis mellifera* africanizada e européia, respectivamente, através da análise proteômica. Mais recentemente foi estabelecido que as MRJPs apresentam características físico-químicas muito similares à ovalbumina (proteína de reserva do ovo) ou à soroalbumina (principal proteína do plasma), que são proteínas albuminóides típicas. Por isso as MRJPs foram denominadas apalbuminas. Esta nova terminologia para estas proteínas se enquadra melhor na realidade, pois estas

são importantes proteínas expressas em diferentes tecidos na abelha, como no cérebro e no próprio veneno, e apresentam funções outras além de seu papel nutricional (Simúth, 2004). Um exemplo pode ser dado por Kurchaski et al. (1998) que descobriram que a MRJP1 também é expressa no cérebro das abelhas nutridoras, próximos aos centros de aprendizagem e memória. A MRJP1 é denominada apalbumina- α , é a proteína mais abundante na geléia real, representa 48% das proteínas solúveis presentes e apresenta 55kDa (Simúth, 2004). Esta proteína é produzida nas glândulas cefálicas de abelhas nutridoras e forrageadoras e pode se tratar de um precursor de ALFA-GLICOSIDASE (identificada na fração I), dependendo do papel exercido pela abelha em função da sua idade (polietismo). Em *Apis mellifera*, a alfa-glicosidase é responsável por converter sacarose em néctar, porém em insetos hematófagos; ela é uma das substâncias que atuam no desencadeamento de respostas imunológicas (Peng et al., 2004).

Do ponto de vista médico, o que se conhece é que as MRJPs com 47 kDa (MRJP 8) e 55 kDa (MRJP 1) são as principais proteínas alergênicas presentes na Geléia Real. A MRJP8, eluída na fração I da cromatografia foi reconhecida por anti-IgE de pacientes sensíveis ao veneno de abelhas, além de ter sido detectada como fosforilada. Esta proteína provém de uma sequência parcial de nucleotídeos já descrita como uma EST no cérebro de abelhas (Whitfield et al., 2002). A MRJP8 foi detectada recentemente no veneno de abelhas (Peiren, 2008). A MRJP 1 pode ter sido detectada como proteína alergênica, entretanto a região onde ela se encontrava não ficou bem definida para nenhum dos pacientes testados. Outra proteína desta família que foi identificada foi a MRJP9 que foi detectada no veneno de abelhas pela

primeira vez, embora seu gene já tivesse sido descrito no reservatório de veneno (Drapeau, 2006), podendo encontrar-se referências à presença de MRJPs no veneno descritas no genoma completo da abelha. O papel das MRJPs no veneno de abelhas ainda não está esclarecido.

A TRANSFERRINA, identificada em três spots na fração I, está sendo descrita pela primeira vez em veneno de abelhas. As transferrinas têm importante papel no sistema imune. Esta proteína participa na proliferação de células T e B (Neckers, 1984). Van der Pouw-Kraan e colaboradores (1991) mostraram que a presença de transferrina humana foi indispensável para a produção *in vitro* de IgE quando a densidade celular era baixa. A capacidade de a transferrina promover a proliferação de linfócitos depende da saturação de ferro e da presença de seus receptores (Djeha e Brock, 1992).

Uma QUINASE foi encontrada na fração I. A Stretchin-Mlck (quinase da cadeia leve da miosina) faz parte de uma família que compreende um grande número de proteínas fosforilantes, que têm importante papel na estrutura e função da regulação do citoesqueleto actina/miosina (Benian et al., 1999). Estas proteínas apresentam domínio característico de serina/treonina quinases. Até o presente trabalho não havia sido feito nenhum relato da presença de proteínas quinase no veneno de abelhas, embora a presença de quinases já tenha sido descrita no veneno de serpentes (Kuznetsov et al., 2003).

A PROTEÍNA DA FAMÍLIA KRUPPEL-LIKE, identificada na fração I é um fator de transcrição que apresenta domínios de “dedo de zinco”, e tem papel importante no sincronismo do desenvolvimento e diferenciação celular, inclusive no desenvolvimento neuronal (Grozing et al., 2003). É a primeira vez que esta proteína é descrita no veneno de abelhas, mas já existe relato de

sua presença no cérebro de abelhas (Grozinger et al., 2003), que tem sua expressão controlada por feromônios. Uma PROTEÍNA APRESENTANDO DOMÍNIO DE DEDO DE ZINCO também detectada na fração I pode estar relacionada à Kruppel-like; geralmente trata-se de fatores de transcrição.

A HIALURONIDASE ou *Api m 2* considerada um dos principais alérgenos presentes no veneno, foi detectada em 5 spots no gel da fração I (tabela 3). Também foi detectada como proteína fosforilada (fig. 21B) além de ser reconhecida por IgEs de pacientes sensíveis ao veneno (fig. 15). A hialuronidase hidrolisa o ácido hialurônico aumentando a permeabilidade dos tecidos, auxiliando assim a difusão dos componentes do veneno, além de participar no processo de reação alérgica. Anteriormente somente havia sido detectada uma única forma de hialuronidase em gel bidimensional (Peiren, 2005). A atividade hialuronidásica é uma das mais proeminentes no veneno de abelhas juntamente com a atividade fosfolipásica. Sua neutralização foi utilizada também como medida da eficiência do soro antiveneno.

A FOSFATASE ÁCIDA (*Api m 3*) juntamente com a PLA₂ e a hialuronidase, é um dos principais alérgenos presentes no veneno de abelhas, nomeado como alérgeno B, também é encontrado no veneno de “vespão” (*yellow jacket*) e extratos de reservatórios de venenos de vespas e abelhas do gênero *Bombus* (Hoffman, 1977), conhecidas popularmente como “mamangavas”. Foram detectadas três isoformas no gel do veneno total e também foi identificada no WB com IgE de pacientes sensíveis.

As PROTEASES estão envolvidas na lesão de tecidos e na resposta inflamatória da vítima. As proteases presentes no veneno parecem agir sobre a presa de duas maneiras distintas: (1) degradando as proteínas teciduais da

vítima, de maneira não específica e, (2) clivando proteínas plasmáticas de maneira relativamente específica, gerando compostos de potentes efeitos na homeostasia do indivíduo (Matsui et al. 2000). Em insetos há pouca informação sobre proteases, já que apenas baixos níveis de atividade foram detectados. Entretanto, as proteases já foram detectadas em veneno de abelhas e de outros Hymenoptera, sendo responsáveis por necrose moderada em alguns tecidos (Schmidt, 1980). Neste estudo duas isoformas de protease similares à protease de *Sarcophaga* (mosca) de massa molecular 26,29 kDa; foram identificadas na fração I. Estas enzimas são cisteína proteinases e podem ser as responsáveis pela clivagem das imunoglobulinas durante a cromatografia de imunoafinidade. Um INIBIDOR DE PROTEASES de massa molecular em torno de 47kDa foi identificado na fração II. A proteína Alpha-1-proteinase inibitor 2) (SPI2) é um inibidor de serina ou cisteína protease que ainda não havia sido descrito no veneno de abelhas. Um inibidor de protease de massa molecular aproximada 9kDa é encontrado no veneno de abelhas (Shkenderov, 1973), entretanto devido à etapa de diálise realizada anteriormente à eletroforese, esta proteína é perdida.

Peiren et al. (2005) identificou a proteína *Api m 6* no conteúdo do saco de veneno extraído de *Apis mellifera carnica*. Esta proteína, considerada um alérgeno “menor” (que é reconhecido pela IgE de menos de 50% dos pacientes sensíveis) aparece como uma banda em torno de 8kDa em um gel SDS-PAGE (Peiren, 2005). Como o veneno no presente estudo foi dialisado contra uma membrana de *cutoff* 10kDa anteriormente à eletroforese, era de se esperar que esta proteína não fosse encontrada nas amostras estudadas.

Nenhuma serino-protease foi encontrada neste estudo. A CUB serino protease (*Api m 7*), um alérgeno “maior” (reconhecido pela IgE de mais de 50% dos pacientes sensíveis) com massa molecular em torno de 39kDa (Winningham et al., 2004) não foi identificada neste trabalho. É possível que esta proteína corresponda a um dos spots não identificados. No Western Blotting com plasma de paciente sensível foi detectado um spot (número 16 – figura 15) que apresenta massa molecular em torno de 39 kDa, que corresponde ao spot 20 ou 25 da fração I proveniente da cromatografia (figura 13 A) que não foram identificados. A atividade de serino-protease exibida pelo veneno de abelhas já foi mostrada por De Lima e colaboradores (2000).

A identificação das proteínas das abelhas *Apis mellifera* ficou muito mais fácil após o sequenciamento de seu genoma em 2006 (The Honeybee Genome Sequencing Consortium). As proteínas identificadas neste trabalho tiveram sua ocorrência confirmada no veneno, pela identificação dos genes das mesmas no estudo do genoma total, em especial associados à glândula de veneno.

Vale ressaltar que as proteínas identificadas neste trabalho podem diferir de outros trabalhos que tenham sido feitos com amostras de veneno extraídos do saco de veneno. Isto porque o conteúdo protéico do saco de veneno, bem como sua atividade proteolítica, difere do conteúdo protéico e da atividade proteolítica verificada no veneno obtido por extração elétrica (como é o caso no presente estudo) (De Lima et al., 2000). Isto ocorre pois o veneno extraído manualmente dos reservatórios contém precursores de altas massas moleculares (Kreil, 1980; Gmachl e Kreil, 1995; Banks e Shipolini, 1986; Brochetto-Braga et al.), que se contrapõem às proteínas de menor massa encontradas no veneno obtido por estimulação elétrica (considerado como

veneno processado e praticamente equivalente ao veneno injetado nas vítimas) (De Lima et al., 2000).

5.2 Ensaios biológicos

Durante a determinação da atividade hemolítica e consequente neutralização desta atividade pelo antiveneno, houve dificuldade na determinação da concentração hemolítica mínima, já que a diferença entre a quantidade de veneno que lisa 100% das hemácias é muito pequena quando comparada à quantidade de veneno que não apresenta atividade hemolítica.

Estudos clínicos são essenciais para se avaliar a eficiência deste antiveneno na neutralização do veneno encontrado nos diferentes níveis sistêmicos após um ataque em massa de abelhas. Espera-se que a utilização deste antiveneno possa aliviar as manifestações clínicas e melhorar o prognóstico das vítimas. Diferentemente do que ocorre após a picada por serpentes, nas quais a quantidade de veneno pode variar bastante (ex. 0-1,5g Bdolah, 1979) e é desconhecida; a possibilidade de se estimar a quantidade de veneno injetado pelas abelhas após um ataque contando-se o número de ferroadas pode ser de grande ajuda para determinar se 1) a administração do antiveneno será necessária, e 2) o volume de antiveneno requerido.

Esta foi a primeira vez que tentou-se produzir um soro antiveneno de abelhas em cavalos. Tentativas anteriores utilizaram carneiros e coelhos (Jones et al. 1999; Schumacher, 1996) e não obtiveram sucesso. A grande

dificuldade até então encontrada, que era a determinação da dose letal, foi contornada substituindo este teste por ensaios *in vitro* (citotoxicidade e hemólise) e *in vivo* (miotoxicidade), que responderam satisfatoriamente. Sendo assim, com uma mudança de estratégia foi possível alcançar resultados satisfatórios em relação à eficiência do poder neutralizante do soro antiveneno, que permitem que este seja utilizado nos teste clínicos.

5.3 Imunodetecção

O uso da cromatografia de imunoafinidade possibilitou concentrar na resina aquelas proteínas menos abundantes em sua forma natural, que foram posteriormente eluídas em concentrações que permitiram suas identificações na membrana de WB. As proteínas eluídas na fração I teriam menor afinidade pelos fragmentos $F(ab)'_2$, mas a maioria delas ainda assim são imunoreativas à IgG, pois foram detectadas no ensaio de WB com anti-IgG. É importante enfatizar que esta estratégia possibilitou a identificação de 40 diferentes proteínas (sem considerar as isoformas) no veneno de *A. mellifera*, sendo 9 destas descritas pela primeira vez, além de diversas isoformas.

5.3.1 Modificações pós-traducionais

A quinase encontrada no veneno (spot 24 da fração I) pode ser a responsável pelas fosforilações encontradas, por tratar-se de uma serina-quinase e a fosforilação das PLA₂ ter sido detectada em um resíduo de serina (figura 20).

Os espectros sugerem que exista mistura de proteínas fosforiladas e não fosforiladas nos mesmos spots, com diferentes níveis de fosforilação. Isto pode ser explicado pela presença de proteína quinase e de fosfatases que fariam o balanço entre fosforilação e defosforilação. O manuseio do veneno geralmente desloca o balanço a favor das fosfatases, ocorrendo perda desta modificação pós-traducional criando várias formas com diferentes graus de fosforilação.

Na fração II foram detectados alguns spots que não puderam ser visualizados no gel. Isto pode ocorrer devido à sensibilidade da técnica de revelação com o uso de anticorpos secundários ser muito maior do que a sensibilidade dos métodos utilizados para coloração do gel.

As transferrinas, hialuronidases e PLA2 detectadas como fosforiladas também foram reconhecidas por IgE de pacientes alérgicos ao veneno. O domínio contendo o sítio de fosforilação pode estar relacionado com este reconhecimento, pois já foi descrito como alergênico na caseína do leite de vaca (Otani et al., 1987). Bernard (1998), estudando a alergenicidade das diferentes isoformas da caseína do leite de vaca verificou que três delas, embora tendo um ancestral comum, apresentavam poucos trechos de seqüências homólogas. A principal seqüência conservada entre elas é a região que contém o sítio de fosforilação da proteína, que se mantém inclusive em outras espécies. Neste mesmo trabalho foram detectados elevados níveis de reatividade cruzada entre estas três caseínas por IgE de pacientes alérgicos, sugerindo que esta seqüência conservada poderia estar envolvida na reatividade cruzada que ocorre entre as diferentes isoformas estudadas.

Algumas proteínas detectadas como glicosiladas também foram reconhecidas por IgE dos pacientes alérgicos, as MRJP 8 e 9, a PLA₂ e hialuronidase. Por muito tempo alguns alergistas permaneceram céticos sobre a existência de IgEs contra determinantes de carboidrato. Foi sugerido que a interação entre IgE e o extrato alergênico não fosse uma interação baseada em uma ligação epítopo-parátopo, mas sim em uma ligação entre o carboidrato da IgE e a lectina do alérgeno (Shibasaki et al., 1992). Outros acreditavam que seria impossível a existência de anticorpos IgE específicos ao carboidrato porque estes determinantes seriam supostamente independente de células T (Van Ree, 2001). Muitos grupos confirmaram a existência de anticorpos IgE contra N-glicanos em glicoproteínas de plantas e invertebrados (Lorenzo et al., 2000; Ballmer-Weber, 2001). Imunologicamente as respostas dos anticorpos a estas estruturas podem ser comparadas ao conceito clássico de haptenos (Van Ree, 2001).

Há um longo debate na literatura acerca da relevância clínica das IgEs anti-carboidratos (Van Ree e Aalberse, 1999). Faz-se importante estabelecer uma distinção entre a relevância clínica (que causa sintomas) e a atividade biológica (que causa liberação de mediadores das células efectoras). A capacidade das IgE anti-carboidratos induzirem a liberação de mediadores não se reflete automaticamente em sinais clínicos de alergia. Até agora não se tem nenhuma evidência convincente que suporte a relevância clínica deste tipo de IgE. Geralmente o que ocorre é uma resposta policlonal de IgE anti-carboidratos juntamente com uma grande variedade de outros tipos de IgE, como ocorre nos casos de pacientes alérgicos a pólen. Sendo assim, é

impossível determinar se os anticorpos contra os antígenos N-glicanos estão envolvidos na indução da manifestação dos sintomas clínicos (Van Ree, 2001).

O estudo das reatividades cruzadas parece ser o que melhor responderia a esta questão. Van der Veen et al. (1997) estudaram um grupo de 32 pacientes com rinoconjuntivite desencadeada por pólen que apresentavam reatividade cruzada com amendoim mediada por carboidratos. Nenhum deles, entretanto, apresentava sintomas de alergia quando em contato com amendoim, o que suportaria a idéia da pouca relevância clínica deste tipo de ligação. Tretter et al. (1993) mostraram a reatividade cruzada entre determinantes de carboidrato da PLA₂ do veneno de abelhas e de plantas sem, contudo, relacionar sintomas clínicos.

Weber et al. (1987) mostraram que a PLA₂ do veneno de abelhas sem a glicosilação teve um reconhecimento por IgE menor em relação ao reconhecimento da proteína glicosilada. Estes resultados também não relacionaram as manifestações clínicas. Muller et al (1995) testaram a reação cutânea em pacientes alérgicos ao veneno de abelhas utilizando PLA₂ nativa e uma forma recombinante que não possuía glicosilação. Os resultados das duas isoformas não tiveram diferença estatística.

Fotisch et al. (1999) utilizando basófilos de um paciente com alergia a aipo e à IgE anti-carboidratos, mostraram que, mesmo moderadamente, a liberação de histamina era induzida por neo-glicopeptídeos (moléculas de BSA conjugadas com N-glicanos reativos à IgE, Ishihara, 1979). Infelizmente esta observação foi feita em apenas um paciente e não foi estabelecido se estes anticorpos IgE glicano-específicos seriam fundamentais nos sintomas clínicos do paciente.

Em suma, a impressão geral que se tem é que as IgE contra determinantes de carboidrato têm atividade biológica fraca para a maioria dos pacientes. A relevância clínica em casos individuais não pode ser tomada como regra e estes estudos necessitam ser aprofundados.

5.4 Outros aspectos relevantes

Outro aspecto a ser discutido é o aparecimento de spots de IgGs nas frações II e III. As imunoglobulinas imobilizadas na coluna não podem se soltar da resina devido apenas à mudança de pH, já que as mesmas estão covalentemente imobilizadas. Os spots identificados correspondem às cadeias leves ou pesadas das IgGs, porém apresentando massas moleculares muito menores que os valores esperados para tais proteínas, indicando que as mesmas não se desligaram da resina, mas sim que foram clivadas.

A identificação de proteases no veneno sugere que isso realmente pode ocorrer. A presença de um inibidor de protease identificado na fração II poderia ter papel fundamental nesta dinâmica. Note-se que o aparecimento dos fragmentos de IgG somente aparecem nas frações II e III, mas não na fração I quando o inibidor ainda estaria na solução.

Apesar de todas as etapas do experimento terem sido realizadas na presença de inibidores de proteases, a proteinase identificada na fração I é uma cisteína protease e os inibidores utilizados não são específicos para este tipo de protease. Já o inibidor identificado na fração II é exatamente um inibidor de cisteíno-protease.

5.5 Mecanismos de ação do veneno

Baseando-se na identificação das proteínas, nos ensaios biológicos e nos ensaios de WB foi proposto um provável mecanismo de ação do veneno de *Apis mellifera*.

Os inibidores de protease inibiriam a ação das proteases do veneno antes da inoculação. Fatores de crescimento endoteliais (VEGF) podem estar relacionados com a manutenção da integridade celular da glândula de veneno antes da inoculação, à medida que tais proteínas auxiliariam na proliferação de células endoteliais da parede do próprio reservatório de veneno. Além disto, estas proteínas podem estar relacionadas com a mudança do endotélio, promovendo a difusão mais rápida do veneno do sangue para os tecidos e/ou vice-versa.

A presença de uma proteína quinase, sugere que as proteínas do veneno podem sofrer modificações pós-traducionais como fosforilações, no interior do próprio reservatório. Ao mesmo tempo, o veneno contém fosfatases, que podem catalizar o processo inverso, criando uma enorme gama de proteínas fosforiladas e não fosforiladas.

A inoculação de proteínas como transferrinas, fosfolipases e alfa-glicosidases nas vítimas de ferroadas das abelhas poderia desencadear uma cascata de processos inflamatórios. A melitina, juntamente com a PLA₂, causaria destruição dos eritrócitos, células brancas e plaquetas, danos ao endotélio vascular, liberação de histamina, rabdomiólise, falha renal aguda, dano ao fígado e hipotensão (Schumacher et al. 1990).

Agentes líticos e difusores como hialuronidases, proteases, fatores de crescimento endotelial (VEGF) e fosfolipases lesariam tecidos e auxiliariam na difusão dos demais componentes do veneno pelo sangue e nos tecidos. Além disso, estes componentes apresentam atividade hemolítica e/ou miotóxica.

Algumas proteínas como PLA₂, hialuronidases, alfa-glicosidase, MRJP8, transferinas e fatores VEGF e PDGF podem desencadear reações alérgicas em indivíduos sensíveis provocando sintomas que podem variar desde uma reação local a severos quadros clínicos, podendo inclusive levar à morte.

O mecanismo geral de ação proposto está representado na figura 26.

Figura 27 – Esquema proposto para o provável mecanismo de ação do veneno *Apis mellifera*.

6. CONCLUSÕES

O método de cromatografia de imunoafinidade foi bastante eficiente para concentração das proteínas menos abundantes, possibilitando a identificação das mesmas, algumas das quais até então não haviam sido descritas no veneno.

A presença de fosfolipases tanto na fração I quanto na fração II pode estar relacionada com algum tipo de mecanismo natural, voltado para a defesa do inseto, criando algumas formas protéicas imunoreativas a IgE e outras não. Um fenômeno semelhante também foi observado no veneno da vespa social *Polybia paulista* (Santos, 2007).

A técnica utilizada permitiu a identificação de proteínas detectadas pela primeira vez no veneno, dentre elas: MRJP-2 e -9; alfa-glicosidase; serino-quinase; transferrinas; uma cisteíno-protease; proteína similar à Kruppel e proteína com domínio de dedo de zinco.

Este estudo mostrou que um antiveneno específico pode ser desenvolvido e produzido em cavalos e que este é capaz de neutralizar os componentes tóxicos do veneno de *A. mellifera*, neutralizando as principais ações tóxicas do veneno.

Os ensaios de WB foram eficientes para detectar as proteínas imunoreativas e não imunoreativas ao soro antiveneno.

Transferinas, fosfolipases A2 e hialuronidases foram identificadas como fosforiladas. Dezoito proteínas foram identificadas como glicoprotéicas, a maioria delas descrita pela primeira neste veneno.

Não foi possível estabelecer uma relação entre as proteínas reconhecidas por IgE de pacientes sensíveis e aquelas reconhecidas pelas IgG do soro antiveneno.

Os ensaios *in vitro* de citotoxicidade, hemólise e atividade hialuronidásica mostraram-se eficientes para avaliar a toxicidade do veneno e a eficiência da soroneutralização pelo soro antiveneno.

A proporção de 1:58 (proteínas do veneno : proteínas do antiveneno) parece ser apropriada para ser utilizada nos testes clínicos. Isso significa que um volume de aproximadamente 5,7 mL do soro antiveneno do lote ora testado seria suficiente para neutralizar a quantidade de veneno injetada em 100 ferroadas. Nos ensaios já realizados (citotoxicidade, hemólise e miotoxicidade) esta proporção foi suficiente para neutralizar as ações tóxicas do veneno.

7. REFERÊNCIAS*

Abramson C, Aquino I. Behavioral studies of learning in the Africanized honeybee (*Apis mellifera* L.). *Brain Behav Evol.* 2002; 59:68-86.

Alaniz J. The buzz: health care workers step up training to prepare for killer bee attacks. *Nurseweek* [serial online]. 2006. Available from: <http://www.nurseweek.com/news/features/00-08/bees.html>.

Albert S, Bhattacharya D, Klaudiny J, Schmitzová J, Simúth J. The Family of Major Royal Jelly Proteins and Its Evolution. *J Mol Evol.* 1999; 49:290-7.

Arechavaleta-Velasco ME, Hunt GJ, Elmore C. Quantitative trait loci that influence the expression of guarding and stinging behaviors of individual honey bees. *Behav Genet.* 2003; 33:357-64.

Altmann F, Kubelka V, Staudacher E, Tretter V, Marz L, Hard K et al. Characterization of the Isoforms of Phospholipase-A(2) from Honeybee. *Ven. Insect Biochem.* 1991; 21:467-72.

Ballmer-Weber BK, Wutrich B, Wangorsch A, Fotisch K, Altmann F, Vieths S. Carrot allergy: double-blinded, placebo controlled food challenge and identification of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 301-7.

Banks BEC., Shipolini RA. Chemistry and pharmacology of honeybee venom. In: Diek T, editor. *Venoms of the hymenoptera: biochemical, pharmacological and behavioral aspects*. London: Academy Press; 1986. v.7, p.329-416.

Baramova EN, Shannon JD, Bjarnason JB, Fox JW. Degradation of extracellular-matrix proteins by hemorrhagic metalloproteinases. *Arch. of Biochem. and Biophys.* 1989; 275: 63-71.

Barboni E, Kemeny DM, Campos S, Vernon CA. The purification of acid phosphatase from honeybee venom (*Apis mellifera*). *Toxicon.* 1987; 25:1097-104.

Barraviera B. *Venenos animais: uma visão integrada*. Rio de Janeiro: Ed. de Publicações Científicas; 1994. p.339-44: Acidentes por abelhas e vespas.

Bdolah A, 1979. The venom glands of snakes and venom secretion. In: Lee CY, ed. *Snake Venoms. Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 52. Berlin and Heidelberg: Springer- Verlag, p.41-57.

Benian GM, Ayme-Southgate A, Tinley TL. The genetics and molecular biology of the Titin/Connectin-like proteins of invertebrates. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1999; 138: 235-68.

Hervé Bernard; Christophe Créminon; Mireille Yvon; Jean-Michel Wal. Specificity of the Human IgE Response to the Different Purified Caseins in Allergy to cow's milk proteins. *Int Arch All and Immunol.* 1998; 115: 235-44.

Bischoff SC. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7:93-104.

- Bjarnasson JB, Fox JW. Hemorrhagic metalloproteinases from snake venoms. *Pharmacol. Ther.* 1994; 62: 325-72.
- Bleeker, WK, Teeling JL, Verhoeven AJ, Rigter GM, Agterberg J, Tool AT, Koenderman, AH, Kuijpers TW, Hack CE. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood*. 2000; 95:1856, 2000.
- Bomford R. Adjuvants for Anti-parasite Vaccines. *Parasitology Today* . 1989; 5: 41-6.
- Bon C. The sérum-thérapie was discovered 100 years ago. *Toxicon*. 1996; 34:142-3.
- Bon C, Goyffon M. *Envenomings and their treatments* Lyon: Fond. Marcel Mérieux, 1996, 343 p.
- Bousquet J, Huchard G, Michel FB. Toxic reactions induced by hymenoptera venom. *Ann Allergy*. 1984; 52: 371-74.
- Bradrick TD, Freire E, Georghiou, S. A high-sensitivity differential scanning calorimetric study of the interaction of melittin with dipalmitoylphosphatidylcholine fused unilamellar vesicles biochimica. *Biophys. Acta*. 1989; 982: 94-102.
- Bresolin NL, Carvalho FLC, Goes JEC, Fernandes VR, Barotto AM. Acute renal failure following massive attack by Africanized bee stings. *Pediatr. Nephrol.* 2002; 17: 625-7.
- Brochetto-Braga MR, Palma MS, Carmona EC, Chaud-Netto J, Rodrigues A, Da Silva GP. Influence of the collection methodology on the apis mellifera venom composition : Peptide analysis. *Sociobiology*, 2006; 47: 759-70.
- Candiano G, Bruschi M, Musante, L, Santucci L, Ghiggeri GM, Carnemolla B, Orecchia P, Zardi L, Righetti PG. Blue silver: a very sensitive Colloidal Coomassie G-250 staining for proteome analysis. *Electrophoresis*, 2004; 25: 1327-33.
- Canelle L, Bousquet J, Pionneau C, Deneux L, Imam-Sghiouar N, Caron M, Joubert-Caron R. An efficient proteomics-based approach for the screening of autoantibodies. *J Immunol Methods*, 2005; 299:77-89.
- Castro FFM, Palma MS, Brochetto-Braga MR, Malaspina O, Lazareti J, Baldo MAB, Antila MA, Zupi L, Consermelli W. Biochemical properties and study of cross-reactivity between Africanized honeybee and wasp venom. *J. Invest. Allergol Clin. Immunol.* 1994: 37-41.
- Chippaux JP, Goyffon M. Antivenom serotherapy: its applications, its limitations, its future. *Bull Soc Path E.* 1991; 84: 286-97.
- Chippaux JP, Goyffon M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. 1998; 36: 823-46.
- Chippaux JP, Rakotonirina A, Dzikouk G. Substances médicamenteuses ou végétales antagonistes du venin ou potentialisant le sérum antivenimeux. *Bull Soc Path E.* 1997; 90:282-5.
- Choumet V, Jiang M, Radvanyi F, Ownby C, Bon C. Neutralisation of lethal potency and inhibition of enzymatic activity of phospholipase A2 neurotoxin, crotoxin, by nonprecipitating antibodies (F(ab)). *FEBS Lett.* 1989; 244: 167-73.
- Cohen S, Milstein C. Structure of antibody molecules. *Nature*. 1967; 214: 449-52.

Collins AM, Kubasek KJ. Field-test of honey bee (Hymenoptera, Apidae) colony defensive behavior. *Annals of the Entomological Society of America*. 1982; 75:383-387.

Costa SK, Moreno H Jr, Brain SD, De Nucci G, Antunes E. The effect of Phoneutria nigriventer (armed spider) venom on arterial blood pressure of anaesthetised rats. *Eur J Pharmacol*. 1996;298:113-20.

Collins AM, Rinderer TE, Harbo JR, Bolten AB. Colony defense by Africanized and European honey bees. *Science*. 1982; 218: 72-4.

Covell DG, Barbet J, Holton OD, Black CD, Parker JI, Weinstein JN Pharmacokinetics of monoclonal immunoglobulin G1, F(ab')₂, and Fab' in mice. *Cancer Res*. 1986; 46: 3969-78.

David B. Mécanismes immuno-pathologiques liés à l'allergie. *Techn. Biol*. 1988; 1:6-20.

Dennis EA. Mechanism of Phospholipase A₂ Action Toward Mixed Micelles of Detergent and Phospholipids. In: Gatt S, Freysz L, Mandel P, editores. *Enzymes of Lipid Metabolism*, Plenum Press; 1978. p.165-75.

De Lima PRM, Brochetto-Braga MR, Chaud-Netto J. Proteolytic activity of africanized honeybee (*Apis mellifera*: hymenoptera, apidae) venom. *J Venom Anim Toxins*. 2000; 6:64-76.

de Mello MH, da Silva EA, Natal D. Africanized bees in a metropolitan area of Brazil: shelters and climatic influences. *Rev Saude Publica*. 2003; 37:237-41.

de Souza BM, Mendes MA, Santos LD, Marques MR, César LM, Almeida RNA, Pagnocca FC, Konno K, Palma MS. Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Peptides*. 2005; 26: 2157-64.

Deshmukh LS, Borse BT. Acute renal failure following multiple stings by honeybees. *Indian Pediatr*. 1996; 33: 781-83.

Djeha A, Brock JH. Effect of transferrin, lactoferrin and chelated iron on human T-lymphocytes. *Br J Haematol*. 1992; 80:235-41.

Dotimas EM, Hider RC. Honeybee venom. *Bee world*. 1987; 2: 51-71.

Drapeau MD, Albert S, Kucharski R, Prusko C, Maleszka R. Evolution of the Yellow/Major Royal Jelly Protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Res*. 2006; 16:1385-94.

Escher SHG, Castro APB, Croce J, Palma MS, Malaspina O, Palma MFM, Kalil JE, Castro FFM. Estudos dos métodos laboratoriais utilizados no diagnóstico de alergia a Hymenoptera: análise crítica. *Rev Bras Alerg Imunopatol*. 2001; 24: 46-53.

Ewan PW. ABC of allergies. Venom allergy. *Br Med J*. 1998; 316: 1365-68.

Fernandes I, Takehara HA, Santos AC, Cormont F, Latinne D, Bazin H, Mota I. Neutralization of bothropic and crotalic venom toxic activities by IgG(T) and IgGa subclasses isolated from immune horse serum. *Toxicon*. 1997; 35:931-6.

Ferreira DB, Costa RS, De Oliveira JA, Muccillo G. An infarct-like myocardial lesion experimentally induced in Wistar rats with Africanized bee venom. *J Pathol*. 1995; 177:95-102.

- Fletcher JE, Jiang MS. Possible mechanisms of action of cobra snake venom cardiotoxins and bee venom melittin [review]. *Toxicon*. 1993; 31:669-95.
- França FO, Benvenuti LA, Fan HW, Santos DR, Hain SH, Picchi-Martins FR, Cardoso JL, Kamiguti AS, Theakston RD, Warrell DA. Severe and fatal mass attacks by 'killer' bees (Africanized honey bees - *Apis mellifera scutellata*) in Brazil: clinicopathological studies with measurement of serum venom concentrations. *Q J Med*. 1994; 87: 269-82.
- Fotisch K, Altmann F, Haustein D, Vieths S. Involvement of carbohydrate epitopes in the IgE response of celery-allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999; 120: 30-42.
- Gmachl M, Kreil G. The precursor of the bee venom constituents apamin and MCD peptide are encoded by two genes in a tandem which share the same 3'-exon. *J Biol Chem*. 1995; 270: 12704-8.
- Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. Antibodies: Structure and function. In: *Kuby Immunology*. New York: W.H. Freeman. 2003. Cap. 4. p. 74-104.
- Grozinger CM, Sharabash NM, Whitfield CW, Robinson GE. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100:14519-25.
- Guidolin R, Stephano MA, Higashi HG, Ferreira, OV, Dias Da Silva W. Purificação de Plasma Anticrotálico de origem eqüina. *Memórias do Instituto Butantan*. 1990; 52(1):11-5.
- Gutierrez JM, Rucavado A. Snake venom metalloproteinases: Their role in the pathogenesis of local tissue damage. *Biochimie*. 2000; 82: 841-50.
- Guzman-Novoa E, Page RE. The impact of Africanized bees on Mexican beekeeping. *Am Bee J*. 1994; 134: 101- 106.
- Habermann E. Bee and wasp venoms. *Science*. 1972; 177: 314-22.
- Harves AD, Millikan LE. Current concepts of therapy and pathophysiology in arthropod bites and stings Part 2. *Insects Int J Dermatol*. 1975; 14:621-34.
- Hawgood BJ. Pioneers of anti-venomous serotherapy: Dr. Vital Brazil (1865-1950). *Toxicon*. 1992; 30: 573-79.
- Hoffman DR. Allergens in bee venom III: identification of allergen B of bee venom as an acid phosphatase. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1977; 59:364-66.
- Hoffman DR., Jacobson RS. Allergens in hymenoptera venom XII: how much protein is in a sting? *Ann. Allergy*. 1984; 52: 276-8.
- Huang TF, Chiang HS. Effect on human platelet aggregation of phospholipase A2 purified from *Heloderma horridum* venom. *Biochem, Biophys. Acta*. 1994; 1211: 61-8.
- Humblet Y, Sonnet J, Van Ypersele SC. Bee stings and acute tubular necrosis. *Nephron*. 1982; 31: 187-8.
- Hunt GJ, Wood KV, Guzman-Novoa E. Discovery of 3 methyl-2-buten-1-4-acetate, a new alarm component in the sting apparatus of the Africanized honeybee. *J Chem Ecol*. 2003; 29:453-63.
- Ishihara H, Takahashi N, Oguri S, Tejima S. Complete structure of the carbohydrate moiety of stem bromelain. An application of the almond glycopeptidase for structural studies of glycopeptides. *J Biol Chem*. 1979; 254: 10715-9.

Ismail M, Abd-Elsalam MA. Serotherapy of scorpion envenoming: pharmacokinetics of antivenoms and a critical assessment of their usefulness. In: Proceedings of the 1st International Congress on Envenomations and their Treatments; 1995; Paris. Lyon: Marcel Merieux Foundation; 1995. p. 135-53 .

Ismail M, Aly MHM, Abd-Elsalam MA, Morad AM. A three-compartment open pharmacokinetic model can explain variable toxicities of cobra venoms and their toxins. *Toxicon*. 1996; 34: 1011-26.

Jones RG, Corteling RL, Bhogal G, Landon J. A novel Fab-based antivenom for the treatment of mass bee attacks. *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 61:361-6.

Kaplan J. What's buzzing with Africanized honeybees? *Agri Res*. 2006; 4-8.

Kamiguti AS, Sanomartins IS. South-American Snake-Venoms Affecting Hemostasis Journal of Toxicology. *Toxin Reviews*. 1995; 14: p. 359-74.

Karlson-Stiber C, Persson H. Antivenom treatment in *Vipera berus* envenoming—report of 30 cases. *J Intern Med*. 1994; 235: 57-61.

Kay AB. 100 years of 'Allergy': can Von Pirquet's word be rescued? *Clin Exp Allergy*. 2006; 36:555-9.

Kerr WE. The history of the introduction of African bees to Brazil. *South Afric Bee J*. 1967; 39: 3-5.

Kirkpatrick CH. Allergic histories and reactions of patients treated with digoxin immune Fab (ovine) antibody. *Am J Emerg Med*. 1991; 9: 7–10.

Klinman NR, Rockey JH, Karush F. Equine antihapten antibody ii. the gamma-g(7s-gamma) components and their specific interaction. *Int J Cancer Suppl*. 1965; 47:51-60.

Knecht D, Kaatz HH. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honeybees. *Apidologie*. 1990; 21: 457–68.

Koh Y, Chung K, Kim D. Biochemical characterization of a thrombin-like enzyme and a fibrinolytic serine protease from snake (*Agkistrodon saxatilis*) venom. *Toxicon*. 2001; 39: 555-60.

Kolarich D, Léonard R, Hemmer W, Altmann F. The N-glycans of yellow jacket venom hyaluronidases and the protein sequence of its major isoform in *Vespula vulgaris*. *FEBS J*. 2005 Oct;272(20):5182-90.

Kolecki, P. Delayed toxic reaction following massive bee envenomation. *Ann Emerg Med*. 1999; 33:114-6.

Kreil G., Haiml L., Suchanek G. Stepwise cleavage of the pro part of promelittin by dipeptidylpeptidase IV. *Eur. J. Biochem*. 1980; 111: 49-58.

Kucharski R, Maleszka R, Hayward DC, Ball EE. A royal jelly protein is expressed in a subset of Kenyon cells in the mushroom bodies of the honey bee brain. *Naturwissenschaften*. 1998; 85:343-6.

Kuznetsov DA, Orlova MA, Berdieva AG, Khasigov PZ. ATP-generating creatine kinase: a new compound isolated from Viperidae venom. *Biomed Khim*. 2003; 49:213-7.

Landucci E, Condino-Neto A, Perez AC, Hyslop S, Corrado AP, Novello JC, Marangoni S, Oliveira B, Antunes E, Nucci G. Crotoxin induces aggregation of human washed platelets. *Toxicon*. 1994; 32: 217-26.

- Larché M, Akdis CA, Valenta R. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6:761-71.
- León G, Stiles B, Alape A, Rojas G, Gutiérrez JM. Comparative study on the ability of IgG and F(ab')₂ antivenoms to neutralize lethal and myotoxic effects induced by *Micrurus nigrocinctus* (coral snake) venom. *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 61: 266-71.
- Lorenzo S, Romaris F, Iglesias R, Audicana MT, Alonso JM, Leiro J, et al. O-glycans as a source of cross-reactivity in determination of human serum antibodies to *Anisakis simplex* antigens. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30:551-59.
- Mackessy SP. Characterization of the major metalloprotease isolated from the venom of the Northern Pacific rattlesnake, *Crotalus viridis oreganus*. *Toxicon*. 1996; 34: 1277-85.
- Malasit P, Warrell DA, Chanthavanich P, Viravan C, Mongkolsapaya J, Singhthong B, Supich C. Prediction, prevention, and mechanism of early (anaphylactic) antivenom reactions in victims of snake bites. *Br Med J*. 1986; 292: 17-20.
- Manzoli-Palma MF, Palma MS. Aspectos entológicos das alergias provocadas por ferroadas de Hymenoptera sociais. *Rev Bras Alerg Immunopatol*. 1992; 15: 123-5.
- Matsui T, Fujimura Y, Titani K. Snake venom proteases affecting hemostasis and thrombosis. *Biochim Biophys Acta-Protein Struct and Mol Enzymol*. 2000; 1477: 146-56.
- McGuire TC, Archer BG, Crawford TB. Equine IgG and IgG(T) antibodies: dependence of precipitability on both antigen and antibody structure. *Mol Immunol*. 1979; 16:787-90.
- McGuire TC, Crawford TB. Identification and quantitation of equine serum and secretory immunoglobulin A. *Infect Immun*. 1972; 6: 610-5.
- Mejia G, Arbelaez M, Henao JE, Sus AA, Arango JL. Acute Renal Failure Due To Multiple Stings By Africanized Bees. *Ann Intern Med*. 1986; 104: 210-1.
- Meyer WP, Habib AG, Onayade AA, Yakubu A, Smith DC, Nasidi A, Daudu IJ, Warrell DA, Theakston RDG. First clinical experiences with a new ovine Fab *Echis ocellatus* snake bite antivenom in Nigeria: randomized comparative trial with Institute Pasteur serum (IPSER) Africa antivenom. *Am J Trop Med Hyg*. 1997; 56: 291-300.
- Michener CD. The Brazilian bee problem. *Annu Rev Entomol*. 1975; 20: 399-416.
- Mitchell A. Africanized killer bees: a case study. *Critical Care Nurse*. 2006; 26: 23-32.
- Mollay C, Kreil G. Fluorometric measurements on the interaction of melittin with lecithin. *Biochim Biophys Acta*. 1973; 316: 196-203.
- Morais JF, De Freitas MCW, Yamaguchi IK, Dos Santos, MC, Da Silva, WD. Snake antivenoms from hyperimmunized horses: comparison of the antivenom activity and biological properties of their whole IgG and F(ab')₂ fragments. *Toxicon*. 1994; 32: 725-34.
- Morais V, Massaldi H. Effect of pepsin digestion on the antivenom activity of equine immunoglobulins. *Toxicon*. 2005; 46: 876-82.
- Moran NF, Newman WJ, Theakston RDG, Warrell DA, Wilkinson D. High incidence of early anaphylactoid reaction to SAIMR polyvalent snake antivenom. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998; 92: 69-70.

- Muller U, Mosbech H, Blaauw P, Dreborg S, Malling HJ, Przybilla B, Urbanek R, Pastorello E, Blanca M, Bousquet J, Jarisch R, Youlten L. Emergency treatment of allergic reactions to Hymenoptera stings. *Clin Exp Allergy*. 1991; 21: 281-8.
- Müller UR. Recombinant hymenoptera venom allergens. *Allergy*. 2002; 57: 570-6.
- Muller UR, Dudler T, Schneider T, Cramer R, Fischer H, Skrbic D, Maibach R, Blaser K, Suter M. Type I skin reactivity to native and recombinant phospholipase A₂ from honeybee venom is similar. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995; 96: 395
- Neckers LM, Yenokida G, James SP. The role of the transferrin receptor in human B lymphocyte activation. *J Immunol.* 1984; 133: 2437-41.
- Otani H, Hori H, Hosono A. Antigenic reactivity of dephosphorylated α s1-casein, phosphopeptide from β -casein and O-phospho-1-serine towards the antibody to native α s1-casein. *Agric Biol Chem.* 1987; 51: 2049-54.
- Owen MD, Sloley BD. 5-Hydroxytryptamine in the venom of the honey bee (*Apis mellifera* L): Variation with season and with insect age. *Toxicon.* 1988; 26: 577-82.
- Ownby CL, Powell JR, Jiang MS, Fletcher JE. Melittin and phospholipase A₂ from bee (*Apis mellifera*) venom cause necrosis of murine skeletal muscle *in vivo*. *Toxicon.* 1997; 35: 67-80.
- Park R. Bee and Hymenoptera stings. *eMedicine* [serial online]. 2006 August 21: [1 screen]. Available from: <http://emedicine.com/emerg/topic55.html>.
- Partidos CD, Beignon AS, Briand JP, Muller S. Modulation of immune responses with transcutaneously deliverable adjuvants. *Vaccine.* 2004; 22: 2385-90.
- Peiren N, de Graaf DC, Vanrobaeys F, Danneels EL, Devreese B, Van Beeumen J, Jacobs FJ. Proteomic analysis of the honey bee worker venom gland focusing on the mechanisms of protection against tissue damage. *Toxicon.* 2008, 29 de maio. [Epub ahead of print]
- Peiren N, Vanrobaeys F, de Graaf DC, Devreese B, Van Beeumen J, Jacobs FJ. The protein composition of honeybee venom reconsidered by a proteomic approach. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1752:1-5
- Peng Z, Simons FER. Mosquito allergy: Immune mechanisms and Recombinant Salivary Allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 133:198-209, 2004.
- Plebani M. Proteomics: the next revolution in laboratory medicine? *Clinical Chim Acta.* 2005; 357: 113-22.
- Porter RR. The isolation and properties of a fragment of bovine-serum albumin which retains the ability to combine with rabbit antiserum. *Biochem J.* 1957; 66: 677-86.
- Pugh RNH, Theakston RDG. A clinical study of viper bite poisoning. *Ann Trop Med Parasitol* 1987; 81: 135-49.
- Rengarajan J, Szabo SJ, Glimcher LH. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization [review]. *Immunol Today.* 2000; 21:479-83.
- Rivière G, Choumet V, Audebert F, Sabouraud A, Debray M, Scherrmann JM, Bon C. Effect of antivenom on venom pharmacokinetics in experimentally envenomed rabbits: towards an optimized of antivenom therapy. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997; 281: 1-8.

- Rocha T, Barros LLS, Santos LD, De Souza BM, Palma MS, Cruz-Höfling MA. Phospholipase A2 and mastoparan from *Polybia paulista* wasp (Hymenoptera, Epiponini) venom on mice skeletal muscle. *Toxicon*. 2007; 50: 589-99.
- Ross RN, Nelson HS, Finegols I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of Hymenoptera venom hypersensitivity: a meta-analysis. *Clin Ther*. 2000; 22:351-358.
- Rucavado A, Borkow G, Ovadia M, Gutierrez JM. Immunological studies on bah1 and bap1, two hemorrhagic metalloproteinases from the venom of the snake bothrops-asper. *Toxicon*. 1995; 33: 1103-6.
- Russell FE. Snake venom immunology: historical and practical considerations. *J Toxicol. [Toxin Rev]*. 1988; 7: 1-82.
- Scherrmann JM. Antibody treatment of toxin poisoning: Recent advances. *Clin Toxicol*. 1994; 32: 363-75.
- Sano O, Kunikata T, Kohno K, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis. *J Agric Food Chem*. 2004; 52: 15-20.
- Santos KS, Santos L D, Mendes MA, De Souza BM, Malaspina O, Palma, MS. Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse-honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insect Biochem Mol Biol*. 2005; 35:85-91.
- Santos LD. Caracterização molecular dos antígeno imunodominantes do veneno da vespa social *Polybia paulista* [tese]. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista; 2007.
- Schneider S, DeGrandi-Hoffman G, Smith D. The African honey bee: factors contributing to a successful biological invasion. *Annu Rev Entomol*. 2004; 49:351-76.
- Schmidt JO. Allergy to hymenoptera venoms. In: Piek T, editor. *Venoms of the Hymenoptera. Biochemical, Pharmacological and Behavioural Aspects*. Orlando: Academic Press; 1986. p.509-46.
- Schmidt JO, Johnson AN, Ginter DL, Spangler HG. Olfactory stimulation of Africanized honey bee (Hymenoptera: Apidae) attacks by insect repellents. *J Med Entomol*. 2003; 40:275-8.
- Schmidt JO, Blum MA, Overall WL. Comparative lethality of venom from stinging Hymenoptera. *Toxicon*. 1980; 18: 469-75.
- Schumacher M, Schmidt O, Egen N, Lowry E. Quantity, analysis, and lethality of European and Africanized honey bee venom. *Am J Trop Med Hyg*. 1990; 43:79-86.
- Schumacher MJ, Egen NB. Significance of Africanized bees for public health. *Arch Intern Med*. 1995; 155: 2038-43.
- Schumacher MJ, Egen NB, Tanner D. Neutralization of bee venom lethality by immune serum antibodies. *Am J Trop Med Hyg*. 1996; 55: 197-201.
- Sedmak JJ, Groosberg SE. A rapid, sensitive and versatile assay for protein using Coomassie Brilliant Blue G-250. *Analytical Biochemistry*. 1977; 79: 544-52.
- Sert M, Tetiker T, Paydas S. Rhabdomyolysis and acute renal failure due to honeybee stings as an uncommon cause [letter]. *Nephron*. 1993; 65: 647.
- Sheehy G. *Sheehy's Emergency Nursing: Principles and Practice*. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2002.

- Shibasaki M, Sumazaki R, Isoyama S, Takita H. Interactions of lectin with human IgE: IgE binding property and histamine-releasing of twelve plant lectins. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992; 98: 18-25.
- Shkenderov S. A protease inhibitor in bee venom: Identification, partial purification and some properties. *FEBS Letters*. 1973; 33: 343-7.
- Sherman R. What physicians should know about Africanized honeybees. *West J Med*. 1995; 163:541-6.
- Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass Spectrometric Sequencing of Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. *Anal. Chem*. 1996; 68: 850-8.
- Simúth J, Bíliková K, Kováčová E, Kuzmová Z, Schroder W. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating TNF- α release is a regular component of honey. *J Agric Food Chem*. 2004; 52:2154-8.
- Smith DC, Reddi KR, Laing G, Theakston RDG, Landon J. An affinity purified ovine antivenom for treatment of *Vipera berus* envenoming. *Toxicon*. 1992; 30: 865-71.
- Smith EL, Hill RL, Lehman IR, Lefkowitz RJ, Handler P, White A. *Bioquímica: Aspectos Gerais*. 7a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1985. Cap.3, p.587-9: Metabolismo dos aminoácidos.
- Steinberg TH, Pretty On Top K, Berggren KN, Kemper C, Jones L, Diwu Z, Haugland RP, Patton WF. Rapid and simple single nanogram detection of glycoproteins in polyacrylamide gels and on electroblots. *Proteomics*. 2001; 1:841-55.
- Stort AC; Gonçalves LS. A africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas. In: Barraviera B, editor. *Venenos Animais: uma visão integrada*. 1a ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Científicas Ltda. EPUC; 1994. p. 33-47.
- Taylor OR. Health problems associated with African bees. *Ann Intern Med*. 1986; 104: 267-8.
- Theakston RDG, Warrell DA. Crisis in snake antivenom supply for Africa. *Lancet*. 2000; 356: 2104.
- Theakston RDG, Warrell DA, Griffiths E. Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Toxicon*. 2003; 41: 541-57.
- Timsina MP, Hewick DS. The plasma disposition and renal elimination of digoxin-specific F(ab) fragments and digoxin in the rabbit. *J Pharm Pharmacol*. 1992a; 44: 796-800.
- Timsina MP, Hewick DS. Digoxin-specific F(ab) fragments impair renal function in the rabbit. *J Pharmacol*. 1992b; 44: 867-9.
- Tretter V, Altmann F, Kubelka V, Marz L, Becker WM. Fucose α 1,3 linked to the core region of glycoprotein N-glycans creates an important epitope for IgE from honeybee venom allergic individuals. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1993; 102: 259.
- van Der Pouw-Kraan T, Van Kooten C, Van Oers R, Aarden LA. Human transferrin allows efficient IgE production by anti-CD3-stimulated human lymphocytes at low cell densities. *Eur J Immunol*. 1991; 21: 385-90.
- van der Veen MJ, van Ree R, Aalberse RC, Akkerdaas J, Koopelman SJ, Jansen HM, et al. Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 100: 327-34.

- van Ree R. Carbohydrate Epitopes and Their Relevance for the Diagnosis and Treatment of Allergic Diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002; 129: 189-97.
- van Ree R, Aalberse RC. Specific IgE without clinical allergy. *J Allergy Clin immunol.* 1999; 103: 1000-1.
- Venable ME, Zimmerman, G.A.; McIntyre, T.M.; Prescott, S.M. Platelet activating factor: a phospholipid autacoid with diverse actions. *J Lipid Res.* 1993; 334: 691-702.
- Vogt W, Patzor P, Lede L, Oldigs Hd, Willie G. Synergism between phospholipase A2 and various peptides and reagents in causing haemolysis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1970; 265: 442-7.
- Warrell DA. 1995. Clinical toxicology of snakebite in Asia. In: *Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons*. Meir J, White J, editores. Boca Raton: CRC Press. p.493-594.
- Weber A, Schroder H, Thalberg K, Marz L. Specific interaction of IgE antibodies with a carbohydrate epitope of honey bee venom phospholipase A₂. *Allergy.* 1987; 42: 464-70.
- Weinstock GM, Robinson GE, Gibbs RA, Worley KC, Evans JD, Maleszka R, *et al.* Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature.* 2006; 443: 931-49.
- Whitfield CW, Band MR, Bonaldo MF, Kumar CG, Liu L, Pardinas JR, Robertson HM, Soares MB, Robinson GE. Annotated expressed sequence tags and cDNA microarrays for studies of brain and behavior in the honey bee, *Genome Res.* 2002; 12: 555-66.
- Widders PR, Stokes CR, Bourne FJ. Investigation of the antigenic relationship between equine IgG and IgGT. *Vet Immunol Immunopathol.* 1986; 13: 255-9.
- Winningham KM, Fitch CD, Schmidt M, Hoffman DR. Hymenoptera venom protease allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114: 928-33.
- Winston ML. The Africanized "killer" bee: biology and public health. *Q J Med.* 1994; 87:263-67.
- Xiang Y, Serine T, Nakamura H, Imajoh-Ohmi S, Fukuda H, Nishioka K, Kato T. Proteomic surveillance of autoimmunity in osteoarthritis: identification of triosephosphate isomerase as an autoantigen in patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50: 1511-21.
- Yamazaki Y, Morita T. Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors [review]. *Mol Divers.* 2006; 10: 515-27.

* De acordo com:

Adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*

8. ANEXOS

ANEXO 1

FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO SOROS HIPERIMUNES (por Sulfato de Amônia, Pepsina e Termocoagulação)

ANEXO 2

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity 102306	Database	NCBIInr
Analysis Name	IDs 04285 NCBI metazoa	Creation Date	10/23/2006 17:04:07
Reported By	10/30/2006 11:38:59 - admin	Last Modified	10/25/2006 02:18:56

MS Acq. : Proc. Methods (Unspecified) : (Unspecified)

Interpretation Method (Unspecified)

Gel Idx/Pos		2/A3	Instr./Gel Origin		ab347000122/04285 102306		Process Status		Analysis Succeeded				
Plate [#] Name		[1] 04285	Instrument Sample Name				Spectra		7				
Rank	Protein Name		Species	Accession No.		Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	phospholipase A			gij229378		14664.9	8.42	223	100	80	100	51	14

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4612	0.013	14	15	23 SSGPNELGR					Mascot
1035.4928	1035.4941	0.0013	1	108	115 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5836	0.0156	14	120	127 VYQWFDLR					Mascot
1194.5143	1194.5704	0.0561	47	24	32 FKHTDACC	26	65.282	Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1194.5143	1194.5704	0.0561	47	24	32 FKHTDACC					Mascot
1254.663	1254.6698	0.0068	5	120	128 VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7355	0.0092	6	120	129 VYQWFDLRKY	51	99.898			Mascot
1417.7263	1417.7355	0.0092	6	120	129 VYQWFDLRKY					Mascot
1421.6842	1421.7415	0.0573	40	104	115 TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.7611	-0.0064	-4	108	119 CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1478.7056	1478.7344	0.0288	19	104	115 TEGRCLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1537.7542	1537.6833	-0.0709	-46	81	92 MYFNLINTKCYK					Mascot
1566.8427	1566.8484	0.0057	4	116	127 SKPKVYQWFDLR					Mascot
1615.8049	1615.803	-0.0019	-1	1	14 IIYPGTLWCGHGK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1705.7784	1705.778	-0.0004	0	90	103 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2148.9912	2148.9927	0.0015	1	90	107 CYKLEHPVTGCGERTG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot

2513.2354	2513.2393	0.0039	2	1	23	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
2513.2354	2513.2393	0.0039	2	1	23	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR	2	0 Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot

Gel Idx/Pos	16/A4	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
3	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	347	100	192	100	94	16

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4739	0.0257	28	43	51	SSGPNELGR					Mascot
1126.568	1126.59	0.022	20	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1191.6116	1191.6166	0.005	4	43	53	SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5143	1194.5507	0.0364	30	52	60	FKHTDACC			Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1194.5143	1194.5507	0.0364	30	52	60	FKHTDACC	44	99.4	Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1254.663	1254.6748	0.0118	9	153	161	VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7358	0.0095	7	153	162	VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7358	0.0095	7	153	162	VYQWFDLRKY	55	99.946			Mascot
1475.7675	1475.7589	-0.0086	-6	141	152	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1615.8049	1615.7948	-0.0101	-6	29	42	IIYPGTLWCGHG			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1705.7784	1705.7753	-0.0031	-2	123	136	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2091.9446	2091.9326	-0.012	-6	43	60	SSGPNELGRFKHTDACC			Carbamidomethyl (C)[16,17]		Mascot
2148.9912	2148.9717	-0.0195	-9	123	140	CYKLEHPVTGCGERTEG			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2513.2354	2513.2039	-0.0315	-13	29	51	IIYPGTLWCGHG			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2513.2354	2513.2039	-0.0315	-13	29	51	IIYPGTLWCGHG	94	100	Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2539.9727	2539.7959	-0.1768	-70	54	75	HTDACCRTDMPDMS			Carbamidomethyl (C)[5,6], Oxidation (M)[11,16]		Mascot
2583.3176	2583.29	-0.0276	-11	141	160	CLHYTVDKSKPKVYQWF			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2788.3987	2788.3726	-0.0261	-9	29	53	IIYPGTLWCGHG			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2872.2407	2872.3193	0.0786	27	61	86	THDMPDMSAGESKH			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot

Gel Idx/Pos	3/A5	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	371	100	200	100	56	17

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4633	0.0151	16	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4633	0.0151	16	43	51	SSGPNELGR	56	99.955			Mascot
1035.4928	1035.4973	0.0045	4	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5792	0.0112	10	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5703	0.0046	4	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.6176	0.006	5	43	53	SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.5732	-0.0242	-20	76	86	HGLTNTASHTR	47	99.627			Mascot
1194.5974	1194.5732	-0.0242	-20	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.663	1254.6685	0.0055	4	153	161	VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7297	0.0034	2	153	162	VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7297	0.0034	2	153	162	VYQWFDLRKY	55	99.948			Mascot
1421.6842	1421.7351	0.0509	36	137	148	TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.7565	-0.011	-7	141	152	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1615.8049	1615.7887	-0.0162	-10	29	42	IIYPGTLWCGHGKNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1705.7784	1705.7756	-0.0028	-2	123	136	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
1838.7394	1838.7261	-0.0133	-7	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
2148.9912	2148.9705	-0.0207	-10	123	140	CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2425.9297	2425.821	-0.1087	-45	54	75	HTDACCRTHDMCPDVMS AGESK			Oxidation (M)[11,16]		Mascot
2513.2354	2513.207	-0.0284	-11	29	51	IIYPGTLWCGHGKNKSSGP NELGR			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2513.2354	2513.207	-0.0284	-11	29	51	IIYPGTLWCGHGKNKSSGP NELGR	43	99.175	Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2872.2407	2872.2676	0.0269	9	61	86	THDMCPDVMSAGESKH GLTNTASHTR			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot

Gel Idx/Pos	17/A6	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Structural Studies Of D-Pro Melittin, Nmr, 20 Structures		gi 4139414	2956.7	12.03	226	100	194	100	122	3
	<div>Protein Group</div> melittin		gi 229230	2845.7	12.029 999732 9712						
	<div>Peptide Information</div>										
	Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
	1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	8	21 VLTTGLPALISWIK	72	100			Mascot
	1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	8	21 VLTTGLPALISWIK					Mascot
	1668.0206	1668.0477	0.0271	16	8	22 VLTTGLPALISWIKR					Mascot
	1668.0206	1668.0477	0.0271	16	8	22 VLTTGLPALISWIKR	122	100			Mascot
	1796.1156	1796.0968	-0.0188	-10	8	23 VLTTGLPALISWIKRK					Mascot
2	melittin [Polistes sp. HQL-2001]		gi 14495012	7497.1	10.03	216	100	194	100	122	3
	<div>Peptide Information</div>										
	Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
	1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	48	61 VLTTGLPALISWIK	72	100			Mascot
	1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	48	61 VLTTGLPALISWIK					Mascot
	1668.0206	1668.0477	0.0271	16	48	62 VLTTGLPALISWIKR					Mascot
	1668.0206	1668.0477	0.0271	16	48	62 VLTTGLPALISWIKR	122	100			Mascot
	1796.1156	1796.0968	-0.0188	-10	48	63 VLTTGLPALISWIKRK					Mascot
3	melittin,prepro		gi 223015	7600.9	4.69	215	100	194	100	122	
	<div>Protein Group</div> melittin [Apis mellifera]		gi 58585154	7580	4.6900 000572 2046						
	melittin precursor [Apis cerana cerana]		gi 50831046	7538	4.6900 000572 2046						
	<div>Peptide Information</div>										
	Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type

1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	51	64	VLTTGLPALISWIK	72	99.999	Mascot
1511.9196	1511.8994	-0.0202	-13	51	64	VLTTGLPALISWIK			Mascot
1668.0206	1668.0477	0.0271	16	51	65	VLTTGLPALISWIKR			Mascot
1668.0206	1668.0477	0.0271	16	51	65	VLTTGLPALISWIKR	122	100	Mascot
1796.1156	1796.0968	-0.0188	-10	51	66	VLTTGLPALISWIKRK			Mascot

Gel Idx/Pos	4/A7	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	melittin protein [Apis cerana]		gi 21694359	8509.5	6.03	263	100	222	100	123	5
---	--------------------------------	--	-------------	--------	------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	58	71	VLTTGLPALISWIK	99	100			Mascot
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	58	71	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1525.8889	1525.8828	-0.0061	-4	2	14	KFLVNVALVFYGR					Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	58	72	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	58	72	VLTTGLPALISWIKR	123	100			Mascot
1672.9243	1673.0084	0.0841	50	1	14	MKFLVNVALVFYGR			Oxidation (M)[1]		Mascot
1796.1156	1796.105	-0.0106	-6	58	73	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot

2	melittin		gi 229230	2845.7	12.03	255	100	222	100	123	3
---	----------	--	-----------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	8	21	VLTTGLPALISWIK	99	100			Mascot
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	8	22	VLTTGLPALISWIKR	123	100			Mascot
1796.1156	1796.105	-0.0106	-6	8	23	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot

3	melittin [Polistes sp. HQL-2001]		gi 14495012	7497.1	10.03	255	100	222	100	123	4
---	----------------------------------	--	-------------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	48	61	VLTTGLPALISWIK	99	100			Mascot
1511.9196	1511.8983	-0.0213	-14	48	61	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1515.7876	1515.8939	0.1063	70	6	18	LYAKTFLAEATCK			Carbamidomethyl (C)[12]		Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	48	62	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1668.0206	1668.0175	-0.0031	-2	48	62	VLTTGLPALISWIKR	123	100			Mascot

1796.1156 1796.105 -0.0106 -6 48 63 VLTTGLPALISWIKRK

Mascot

Gel Idx/Pos	18/A8	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	melittin		gi 229230	2845.7	12.03	225	100	177	100	104	4
---	----------	--	-----------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	8	21	VLTTGLPALISWIK	73	100			Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	8	22	VLTTGLPALISWIKR	104	100			Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1796.1156	1796.1195	0.0039	2	8	23	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot
2306.4321	2306.4204	-0.0117	-5	1	22	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKR					Mascot

2	Structural Studies Of D-Pro Melittin, Nmr, 20 Structures		gi 4139414	2956.7	12.03	224	100	177	100	104	4
---	--	--	------------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	8	21	VLTTGLPALISWIK	73	100			Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	8	22	VLTTGLPALISWIKR	104	100			Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1796.1156	1796.1195	0.0039	2	8	23	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot
2306.4321	2306.4204	-0.0117	-5	1	22	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKR					Mascot

3	melittin protein [Apis cerana]		gi 21694359	8509.5	6.03	218	100	177	100	104	5
---	--------------------------------	--	-------------	--------	------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	58	71	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9154	-0.0042	-3	58	71	VLTTGLPALISWIK	73	100			Mascot
1525.8889	1525.8969	0.008	5	2	14	KFLVNVALVFYGR					Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	58	72	VLTTGLPALISWIKR	104	100			Mascot
1668.0206	1668.0349	0.0143	9	58	72	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

1672.9243	1673.0314	0.1071	64	1	14	MKFLVNVALVFYGR	Oxidation (M)[1]	Mascot
1796.1156	1796.1195	0.0039	2	58	73	VLTTGLPALISWIKRK		Mascot

Gel Idx/Pos	5/A9	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	melittin protein [Apis cerana]		gij 21694359	8509.5	6.03	223	100	202	100	127	3
---	--------------------------------	--	--------------	--------	------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9015	-0.0181	-12	58	71	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9015	-0.0181	-12	58	71	VLTTGLPALISWIK	75	100			Mascot
1525.8889	1525.8932	0.0043	3	2	14	KFLVNVALVFYGR					Mascot
1668.0206	1668.0527	0.0321	19	58	72	VLTTGLPALISWIKR	127	100			Mascot
1668.0206	1668.0527	0.0321	19	58	72	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

2	melittin		gij 229230	2845.7	12.03	222	100	202	100	127	2
---	----------	--	------------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9015	-0.0181	-12	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9015	-0.0181	-12	8	21	VLTTGLPALISWIK	75	100			Mascot
1668.0206	1668.0527	0.0321	19	8	22	VLTTGLPALISWIKR	127	100			Mascot
1668.0206	1668.0527	0.0321	19	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

Gel Idx/Pos	19/A10	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	melittin		gi 229230	2845.7	12.03	54	0	30	90.814	30	2
---	----------	--	-----------	--------	-------	----	---	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9041	-0.0155	-10	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	8	22	VLTTGLPALISWIKR	30	90.814			Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

3	melittin [Polistes sp. HQL-2001]		gi 14495012	7497.1	10.03	47	0	30	90.814	30	2
---	----------------------------------	--	-------------	--------	-------	----	---	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9041	-0.0155	-10	48	61	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	48	62	VLTTGLPALISWIKR	30	90.814			Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	48	62	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

4	melittin [Apis mellifera]		gi 58585154	7580	4.69	47	0	30	90.814	30	2
---	---------------------------	--	-------------	------	------	----	---	----	--------	----	---

Protein Group

melittin precursor [Apis cerana cerana]	gi 50831046	7538	4.6900 000572 2046
melittin,prepro	gi 223015	7600.9	4.6900 000572 2046

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9041	-0.0155	-10	51	64	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	51	65	VLTTGLPALISWIKR	30	90.814			Mascot
1668.0206	1668.0275	0.0069	4	51	65	VLTTGLPALISWIKR					Mascot

Gel Idx/Pos	6/A11	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	PREDICTED: similar to CG11034-PA [Apis mellifera]		gi 66519891	87132.3	5.74	222	100	46	99.602	30	28

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
744.4151	744.4144	-0.0007	-1	371	376	FLHATR					Mascot
763.3879	763.377	-0.0109	-14	689	694	RVEGMR			Oxidation (M)[5]		Mascot
763.3879	763.377	-0.0109	-14	689	694	RVEGMR			Oxidation (M)[5]		Mascot
837.3849	837.3879	0.003	4	239	246	YGSPGNSR					Mascot
987.4968	987.4858	-0.011	-11	586	592	MLFEIYR			Oxidation (M)[1]		Mascot
1034.4901	1034.4868	-0.0033	-3	247	254	DQYPNEIR					Mascot
1138.6003	1138.5935	-0.0068	-6	346	354	IQPPLYHDR					Mascot
1143.5979	1143.5879	-0.01	-9	586	593	MLFEIYRR			Oxidation (M)[1]		Mascot
1174.5851	1174.5869	0.0018	2	486	494	QISIWEENR					Mascot
1261.6172	1261.6262	0.009	7	305	315	DGEIVATWTNR					Mascot
1305.7062	1305.7107	0.0045	3	371	380	FLHATRLEYR					Mascot
1305.7062	1305.7107	0.0045	3	371	380	FLHATRLEYR	2	0			Mascot
1316.5753	1316.5645	-0.0108	-8	25	34	YEPLEEDHR					Mascot
1355.6338	1355.6245	-0.0093	-7	510	521	NFNVNANGYTnk					Mascot
1582.7972	1582.7875	-0.0097	-6	510	523	NFNVNANGYTnkVK					Mascot
1599.8951	1599.886	-0.0091	-6	594	607	LGTVEIEDQIIIR					Mascot
1605.8635	1605.8546	-0.0089	-6	410	423	LYYLGTELgKPSHK					Mascot
1707.9065	1707.9028	-0.0037	-2	138	152	TFTDIANGDRIPLFK					Mascot
1730.882	1730.8795	-0.0025	-1	305	319	DGEIVATWTNRVQNK					Mascot
1744.8176	1744.8141	-0.0035	-2	38	51	VPFNLEETYDQSFR	30	83.657			Mascot
1744.8176	1744.8141	-0.0035	-2	38	51	VPFNLEETYDQSFR					Mascot
1755.9963	1755.9816	-0.0147	-8	593	607	RLGTVEIEDQIIIR					Mascot
1812.0166	1812.0129	-0.0037	-2	346	360	IQPPLYHDRVIVAK					Mascot
1812.0166	1812.0129	-0.0037	-2	346	360	IQPPLYHDRVIVAK					Mascot
1832.0428	1832.0295	-0.0133	-7	535	550	KYPLLINVYAGPNTIR					Mascot
1833.0017	1833.0155	0.0138	8	408	423	ARLYYLGTELgKPSHK					Mascot
1852.8573	1852.8527	-0.0046	-2	239	254	YGSPGNSRDQYPNEIR					Mascot

1852.8573	1852.8527	-0.0046	-2	239	254	YGSPGNSRDQYPNEIR	16	0	Mascot
1928.9348	1928.9344	-0.0004	0	61	76	TDREILYSDNYVGDIR			Mascot
2057.9199	2057.9321	0.0122	6	329	345	GNANNIYEEETEGWLR			Mascot
2185.1135	2185.1189	0.0054	2	260	280	AGTTNPFVSLVIDLHDP SSK			Mascot
3005.4902	3005.5203	0.0301	10	158	182	NALIYVHKNDIYYQVFFE GGSDTRR			Mascot
3150.6873	3150.6982	0.0109	3	524	550	LYLPPDFDETKKYPLLINV YAGPNTIR			Mascot

Gel Idx/Pos	20/A12	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
4	PREDICTED: similar to CG6013-PA [Apis mellifera]		gi 48095165	23828.9	9.58	35	0				5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
721.3549	721.3113	-0.0436	-60	77	82	EMANIK			Oxidation (M)[2]		Mascot
842.5318	842.509	-0.0228	-27	12	19	AVAARARK					Mascot
870.5155	870.5307	0.0152	17	87	94	QPAAKVTR					Mascot
877.3686	877.3259	-0.0427	-49	38	44	AWQDDDK					Mascot
1600.7788	1600.7202	-0.0586	-37	191	203	EWMKSPENPLNQK					Mascot

Gel Idx/Pos	7/A13	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	transferrin [Apis mellifera]		gi 33303622	78607.5	6.77	136	100	18	0	15	21

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
754.2745	754.329	0.0545	72	45	50	ECDEMK					Mascot
781.3297	781.3188	-0.0109	-14	495	501	SCHSGYK					Mascot
827.291	827.3134	0.0224	27	45	50	ECDEMK			Carbamidomethyl (C)[2], Oxidation (M)[5]		Mascot
873.3995	873.4	0.0005	1	146	153	SCHTGVGR	3	0	Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
873.3995	873.4	0.0005	1	146	153	SCHTGVGR					Mascot
907.4883	907.4847	-0.0036	-4	371	377	YLDVIER	15	0			Mascot
907.4883	907.4847	-0.0036	-4	371	377	YLDVIER					Mascot
1045.5459	1045.5677	0.0218	21	57	66	GIPVSCISGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1162.6327	1162.6257	-0.007	-6	405	414	AAYSRDVRPK					Mascot
1171.6	1171.5944	-0.0056	-5	143	153	GLKSCHTGVGR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1225.5807	1225.5753	-0.0054	-4	567	577	ATNEETYRGGK					Mascot
1261.6747	1261.6715	-0.0032	-3	481	491	SSSINKLEDLR					Mascot
1503.8125	1503.7939	-0.0186	-12	481	493	SSSINKLEDLRNK					Mascot
1513.7063	1513.6952	-0.0111	-7	565	577	CKATNEETYRGGK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1523.7522	1523.7458	-0.0064	-4	410	421	DVRPKYDCTLEK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1533.802	1533.7914	-0.0106	-7	99	112	LASNAGYNVIEQVR					Mascot
1798.9017	1798.8771	-0.0246	-14	195	210	GCLVGTWSPDPAINRR			Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
1810.9844	1810.972	-0.0124	-7	626	642	CNLGLEPPRVILSSGAK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1943.0555	1943.0392	-0.0163	-8	429	447	AIKENNADLTVVSGGSVL R					Mascot
1963.0607	1963.0265	-0.0342	-17	371	387	YLDVIERNSGATDKIIR					Mascot
2139.032	2139.0244	-0.0076	-4	57	74	GIPVSCISGRDRYECIEK			Carbamidomethyl (C)[6,15]		Mascot
2218.1602	2218.1401	-0.0201	-9	643	663	SPTVLEELTHGTLAASTL YSK					Mascot
3499.7703	3499.7927	0.0224	6	448	480	ATKEYNTVPIIAESYGSG STNFNERPAVAVVSK					Mascot
3500.8181	3500.7593	-0.0588	-17	2	32	MLRCNIWTLAVNVLFVNS FLFVIAAQDSSGR			Oxidation (M)[1]		Mascot

Gel Idx/Pos	21/A14	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	transferrin [Apis mellifera]		gi 33303622	78607.5	6.77	96	99.974	26	75.525	15	15

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
754.2745	754.3199	0.0454	60	45	50	ECDEMK					Mascot
781.3297	781.322	-0.0077	-10	495	501	SCHSGYK					Mascot
827.291	827.3452	0.0542	66	45	50	ECDEMK			Carbamidomethyl (C)[2], Oxidation (M)[5]		Mascot
873.3995	873.4052	0.0057	7	146	153	SCHTGVGR	11	0	Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
873.3995	873.4052	0.0057	7	146	153	SCHTGVGR					Mascot
907.4883	907.4917	0.0034	4	371	377	YLDVIER					Mascot
907.4883	907.4917	0.0034	4	371	377	YLDVIER	15	0			Mascot
1045.5459	1045.5697	0.0238	23	57	66	GIPVSCISGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1162.6327	1162.6299	-0.0028	-2	405	414	AAYSRDVRPK					Mascot
1171.6	1171.6038	0.0038	3	143	153	GLKSCHTGVGR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1225.5807	1225.5889	0.0082	7	567	577	ATNEETYRGGK					Mascot
1513.7063	1513.7119	0.0056	4	565	577	CKATNEETYRGGK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1533.802	1533.7798	-0.0222	-14	99	112	LASNAGYNVIEQVR					Mascot
1798.9017	1798.8977	-0.004	-2	195	210	GCLVGTWSPDPAINRR			Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
1810.9844	1810.9825	-0.0019	-1	626	642	CNLGLEPPRVILSSGAK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1943.0555	1943.0576	0.0021	1	429	447	AIKENNADLTVVSGGSVL R					Mascot
1963.0607	1963.0635	0.0028	1	371	387	YLDVIERNSGATDKIIR					Mascot
2218.1602	2218.1516	-0.0086	-4	643	663	SPTVLEELTHGTAASTL YSK					Mascot

Gel Idx/Pos	8/A15	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	transferrin [Apis mellifera]		gi 33303622	78607.5	6.77	197	100	98	100	37	20

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
781.3297	781.3125	-0.0172	-22	495	501	SCHSGYK					Mascot
907.4883	907.4803	-0.008	-9	371	377	YLDVIER					Mascot
983.4428	983.4532	0.0104	11	567	574	ATNEETYR					Mascot
1045.5459	1045.5564	0.0105	10	57	66	GIPVSCISGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1055.5303	1055.5284	-0.0019	-2	626	634	CNLGLEPPR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1112.504	1112.4955	-0.0085	-8	67	74	DRYECIEK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1186.5885	1186.583	-0.0055	-5	607	617	DLALICPDGGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1227.6117	1227.6095	-0.0022	-2	113	122	TKEEPHAPYR					Mascot
1227.6117	1227.6095	-0.0022	-2	113	122	TKEEPHAPYR	29	84.984			Mascot
1238.6852	1238.6812	-0.004	-3	132	142	DLPINNVQGLR	32	90.655			Mascot
1238.6852	1238.6812	-0.004	-3	132	142	DLPINNVQGLR					Mascot
1261.6747	1261.6719	-0.0028	-2	481	491	SSSINKLEDLR					Mascot
1533.802	1533.7919	-0.0101	-7	99	112	LASNAGYNVIEQVR	37	97.414			Mascot
1533.802	1533.7919	-0.0101	-7	99	112	LASNAGYNVIEQVR					Mascot
1630.8395	1630.8312	-0.0083	-5	432	447	ENNADLTVVSGGSVLR					Mascot
1695.9792	1695.968	-0.0112	-7	352	367	TLAVPAPPVLPENHLK					Mascot
1748.7803	1748.7772	-0.0031	-2	544	558	LCQQCVGNLASNNDR			Carbamidomethyl (C)[2,5]		Mascot
1792.8687	1792.7837	-0.085	-47	385	398	IIRWCTWSEGDLEK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1798.9017	1798.8103	-0.0914	-51	195	210	GCLVGTWSPDPAINRR			Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
2016.9807	2016.9707	-0.01	-5	164	181	LTAMGVLNNLHDPEYSAR			Oxidation (M)[4]		Mascot
2322.1765	2322.1768	0.0003	0	262	283	FFGLPVGVTAAIPTSENPADYR					Mascot
2478.2776	2478.2771	-0.0005	0	261	283	RFFGLPVGVTAAIPTSENPADYR					Mascot
3354.7917	3354.8311	0.0394	12	339	367	ADWWKDIMLLNEKT LAVPAPPVLPENHLK			Oxidation (M)[8]		Mascot

Gel Idx/Pos	22/A16	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	432	100	349	100	82	13

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4525	0.0002	0	290	296	LTVETNR					Mascot
833.4549	833.4568	0.0019	2	127	133	DVLMISR					Mascot
849.4498	849.4414	-0.0084	-10	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4935	-0.0002	0	205	212	ALPAPVER					Mascot
905.5124	905.4868	-0.0256	-28	241	248	VSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1084.611	1084.6068	-0.0042	-4	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.6068	-0.0042	-4	213	222	TISKPTGQPR	63	99.992			Mascot
1119.6885	1119.6677	-0.0208	-19	180	189	VVSVLPIQHK					Mascot
1308.7059	1308.7028	-0.0031	-2	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1308.7059	1308.7028	-0.0031	-2	223	233	EPQVYVLAPHR	82	100			Mascot
1541.7158	1541.696	-0.0198	-13	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
1806.0272	1805.9788	-0.0484	-27	180	195	VVSVLPIQHKDWLSGK	58	99.975			Mascot
1806.0272	1805.9788	-0.0484	-27	180	195	VVSVLPIQHKDWLSGK					Mascot
1880.9865	1880.9852	-0.0013	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK					Mascot
1880.9865	1880.9852	-0.0013	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK	73	99.999			Mascot
2123.1243	2123.1167	-0.0076	-4	223	240	EPQVYVLAPHRDELSKN K					Mascot
2142.9866	2142.9871	0.0005	0	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot
2142.9866	2142.9871	0.0005	0	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K	72	99.999			Mascot
2617.261	2617.084	-0.177	-68	102	126	ECNGGCPAELQVGPSV FIFPPKPK					Mascot

Gel Idx/Pos	9/A17	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	445	100	359	100	86	13

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4526	0.0003	0	290	296	LTVETNR					Mascot
833.4549	833.4554	0.0005	1	127	133	DVLMISR					Mascot
849.4498	849.4412	-0.0086	-10	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
849.4498	849.4412	-0.0086	-10	127	133	DVLMISR	1	0	Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4936	-0.0001	0	205	212	ALPAPVER					Mascot
905.5124	905.4931	-0.0193	-21	241	248	VSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1084.611	1084.6071	-0.0039	-4	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.6071	-0.0039	-4	213	222	TISKPTGQPR	52	99.912			Mascot
1119.6885	1119.6687	-0.0198	-18	180	189	VVSVLPQHK					Mascot
1308.7059	1308.7018	-0.0041	-3	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1308.7059	1308.7018	-0.0041	-3	223	233	EPQVYVLAPHR	86	100			Mascot
1541.7158	1541.6964	-0.0194	-13	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
1541.7158	1541.6964	-0.0194	-13	249	260	DFYPTDIDIEWK	79	100			Mascot
1806.0272	1805.9766	-0.0506	-28	180	195	VVSVLPQHKDWLSGK					Mascot
1880.9865	1880.9855	-0.001	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK	84	100			Mascot
1880.9865	1880.9855	-0.001	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK					Mascot
2142.9866	2142.9844	-0.0022	-1	271	289	YSTTPAQLSDGSYFLYS K					Mascot
2142.9866	2142.9844	-0.0022	-1	271	289	YSTTPAQLSDGSYFLYS K	57	99.972			Mascot
2617.261	2617.0894	-0.1716	-66	102	126	ECNGGCPAECLQVGPSV FIFPPKPK					Mascot
2789.2559	2789.2708	0.0149	5	297	319	WQQGTTFTCAVMHEALH NHYTEK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
2805.2507	2805.2856	0.0349	12	297	319	WQQGTTFTCAVMHEALH NHYTEK			Carbamidomethyl (C)[9], Oxidation (M)[12]		Mascot

Gel Idx/Pos	23/A18	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	432	100	329	100	96	15

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4501	-0.0022	-3	290	296	LTVETNR					Mascot
833.4549	833.4509	-0.004	-5	127	133	DVLMISR					Mascot
849.4498	849.4365	-0.0133	-16	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4888	-0.0049	-6	205	212	ALPAPVER					Mascot
905.5124	905.4839	-0.0285	-31	241	248	VSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1084.611	1084.6014	-0.0096	-9	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.6014	-0.0096	-9	213	222	TISKPTGQPR	58	99.974			Mascot
1119.6885	1119.6582	-0.0303	-27	180	189	VVSVLPIQHK					Mascot
1308.7059	1308.6985	-0.0074	-6	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1308.7059	1308.6985	-0.0074	-6	223	233	EPQVYVLAPHR	96	100			Mascot
1541.7158	1541.6909	-0.0249	-16	249	260	DFYPTDIDIEWK	85	100			Mascot
1541.7158	1541.6909	-0.0249	-16	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
1763.8381	1763.8339	-0.0042	-2	78	93	SQTYICNV AHPASSTK			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1806.0272	1805.9749	-0.0523	-29	180	195	VVSVLPIQHKDWLSGK					Mascot
1880.9865	1880.9849	-0.0016	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK					Mascot
1880.9865	1880.9849	-0.0016	-1	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK	90	100			Mascot
2123.1243	2123.1201	-0.0042	-2	223	240	EPQVYVLAPHRDELSKN K					Mascot
2142.9866	2142.9871	0.0005	0	271	289	YSTTPAQLDS DGSYFLYS K					Mascot
2617.261	2617.0857	-0.1753	-67	102	126	ECNGGCPAECLQVGPSV FIFPPKPK					Mascot
2789.2559	2789.2883	0.0324	12	297	319	WQQTTFTC AVMHEALH NHYTEK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity 102306	Database	NCBI nr
Analysis Name	IDs 04285 NCBI metazoa	Creation Date	10/23/2006 17:04:07
Reported By	10/31/2006 10:35:54 - admin	Last Modified	10/25/2006 02:18:56

MS Acq. : Proc. Methods (Unspecified) : (Unspecified)

Interpretation Method (Unspecified)

Gel Idx/Pos		36/B19		Instr./Gel Origin		ab347000122/04285 102306		Process Status		Analysis Succeeded					
Plate [#] Name		[1] 04285		Instrument Sample Name				Spectra		7					
Rank	Protein Name			Species			Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue						gi 443189	15239.1	8.07	240	100	90	100	51	12
Peptide Information															
		Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank Result Type			
		916.4482	916.4626	0.0144	16	15	23	SSGPNELGR				Mascot			
		1126.568	1126.5725	0.0045	4	125	132	VYQWFDLR				Mascot			
		1126.568	1126.5725	0.0045	4	125	132	VYQWFDLR	32	82.803		Mascot			
		1160.5657	1160.5535	-0.0122	-11	86	94	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot			
		1194.5143	1194.5585	0.0442	37	24	32	FKHTDACC	9	0	Carbamidomethyl (C)[7,8]	Mascot			
		1194.5974	1194.5585	-0.0389	-33	48	58	HGLTNTASHT				Mascot			
		1254.663	1254.6533	-0.0097	-8	125	133	VYQWFDLRK				Mascot			
		1417.7263	1417.7252	-0.0011	-1	125	134	VYQWFDLRKY	51	99.773		Mascot			
		1417.7263	1417.7252	-0.0011	-1	125	134	VYQWFDLRKY				Mascot			
		1421.6842	1421.7275	0.0433	30	109	120	TEGRCLHYTVDK				Mascot			
		1475.7675	1475.7245	-0.043	-29	113	124	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot			
		1705.7784	1705.7598	-0.0186	-11	95	108	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot			
		1838.7394	1838.7191	-0.0203	-11	59	72	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot			
		2148.9912	2148.9795	-0.0117	-5	95	112	CYKLEHPVTGCGERTG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot			
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]						gi 5627	18474.8	7.18	231	100	90	100	51	12

Peptide Information													
Calc. Mass	Obsrv. Mass	$\pm$ da	$\pm$ ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result	Type		
916.4482	916.4626	0.0144	16	43	51 SSGPNELGR						Mascot		
1126.568	1126.5725	0.0045	4	153	160 VYQWFDLR						Mascot		
1126.568	1126.5725	0.0045	4	153	160 VYQWFDLR	32	82.803				Mascot		
1160.5657	1160.5535	-0.0122	-11	114	122 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]			Mascot		
1194.5143	1194.5585	0.0442	37	52	60 FKHTDACC	9		0 Carbamidomethyl (C)[7,8]			Mascot		
1194.5974	1194.5585	-0.0389	-33	76	86 HGLTNTASHTR						Mascot		
1254.663	1254.6533	-0.0097	-8	153	161 VYQWFDLRK						Mascot		
1417.7263	1417.7252	-0.0011	-1	153	162 VYQWFDLRKY	51	99.773				Mascot		
1417.7263	1417.7252	-0.0011	-1	153	162 VYQWFDLRKY						Mascot		
1421.6842	1421.7275	0.0433	30	137	148 TEGRCLHYTVDK						Mascot		
1475.7675	1475.7245	-0.043	-29	141	152 CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]			Mascot		
1705.7784	1705.7598	-0.0186	-11	123	136 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]			Mascot		
1838.7394	1838.7191	-0.0203	-11	87	100 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]			Mascot		
2148.9912	2148.9795	-0.0117	-5	123	140 CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]			Mascot

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity 102306	Database	NCBIInr
Analysis Name	IDs 04285 NCBI metazoa	Creation Date	10/23/2006 17:04:07
Reported By	10/30/2006 11:42:10 - admin	Last Modified	10/25/2006 02:18:56
MS Acq. : Proc. Methods	(Unspecified) : (Unspecified)		
Interpretation Method	(Unspecified)		

Gel Idx/Pos	48/B20	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gil443189	15239.1	8.07	207	100	109	100	36	10

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.458	0.0098	11	15	23	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.458	0.0098	11	15	23	SSGPNELGR	24	27.729			Mascot
1126.568	1126.5636	-0.0044	-4	125	132	VYQWFDLR	23	0			Mascot
1126.568	1126.5636	-0.0044	-4	125	132	VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5411	-0.0246	-21	86	94	MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5143	1194.5751	0.0608	51	24	32	FKHTDACCR	27	58.413	Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1194.5974	1194.5751	-0.0223	-19	48	58	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.663	1254.6421	-0.0209	-17	125	133	VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7195	-0.0068	-5	125	134	VYQWFDLRKY	36	95.355			Mascot
1417.7263	1417.7195	-0.0068	-5	125	134	VYQWFDLRKY					Mascot
1475.7675	1475.7363	-0.0312	-21	113	124	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1705.7784	1705.782	0.0036	2	95	108	CYKLEHPVTGCCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2148.9912	2148.9858	-0.0054	-3	95	112	CYKLEHPVTGCCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gil5627	18474.8	7.18	199	100	109	100	36	
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	--

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.458	0.0098	11	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.458	0.0098	11	43	51 SSGPNELGR	24	41.062			Mascot
1126.568	1126.5636	-0.0044	-4	153	160 VYQWFDLR	23	8.083			Mascot
1126.568	1126.5636	-0.0044	-4	153	160 VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5411	-0.0246	-21	114	122 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5143	1194.5751	0.0608	51	52	60 FKHTDACC	27	66.085	Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1194.5974	1194.5751	-0.0223	-19	76	86 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.663	1254.6421	-0.0209	-17	153	161 VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7195	-0.0068	-5	153	162 VYQWFDLRKY	36	96.212			Mascot
1417.7263	1417.7195	-0.0068	-5	153	162 VYQWFDLRKY					Mascot
1475.7675	1475.7363	-0.0312	-21	141	152 CLHYTVDSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1705.7784	1705.782	0.0036	2	123	136 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2148.9912	2148.9858	-0.0054	-3	123	140 CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot

Gel Idx/Pos	37/B21	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	369	100	229	100	83	14
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4473	-0.0009	-1	15	23	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4473	-0.0009	-1	15	23	SSGPNELGR	60	99.983			Mascot
1035.4928	1035.4763	-0.0165	-16	113	120	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	125	132	VYQWFDLR	47	99.705			Mascot
1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	125	132	VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5471	-0.0186	-16	86	94	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.583	-0.0144	-12	48	58	HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.583	-0.0144	-12	48	58	HGLTNTASHTR	83	100			Mascot
1254.663	1254.6489	-0.0141	-11	125	133	VYQWFDLRK					Mascot
1388.6692	1388.6654	-0.0038	-3	73	85	NSADTISSYFVGK					Mascot
1417.7263	1417.7247	-0.0016	-1	125	134	VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7247	-0.0016	-1	125	134	VYQWFDLRKY	40	98.253			Mascot
1421.6842	1421.726	0.0418	29	109	120	TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.7523	-0.0152	-10	113	124	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1615.8049	1615.7745	-0.0304	-19	1	14	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1705.7784	1705.7754	-0.003	-2	95	108	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
1838.7394	1838.746	0.0066	4	59	72	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
2148.9912	2148.9963	0.0051	2	95	112	CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	358	100	229	100	83	14
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4473	-0.0009	-1	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4473	-0.0009	-1	43	51	SSGPNELGR	60	99.983			Mascot
1035.4928	1035.4763	-0.0165	-16	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	153	160	VYQWFDLR	47	99.705	Mascot
1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	153	160	VYQWFDLR			Mascot
1160.5657	1160.5471	-0.0186	-16	114	122	MYFNIDTK		Oxidation (M)[1]	Mascot
1194.5974	1194.583	-0.0144	-12	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1194.5974	1194.583	-0.0144	-12	76	86	HGLTNTASHTR	83	100	Mascot
1254.663	1254.6489	-0.0141	-11	153	161	VYQWFDLRK			Mascot
1388.6692	1388.6654	-0.0038	-3	101	113	NSADTISSYFVGK			Mascot
1417.7263	1417.7247	-0.0016	-1	153	162	VYQWFDLRKY			Mascot
1417.7263	1417.7247	-0.0016	-1	153	162	VYQWFDLRKY	40	98.755	Mascot
1421.6842	1421.726	0.0418	29	137	148	TEGRCLHYTVDK			Mascot
1475.7675	1475.7523	-0.0152	-10	141	152	CLHYTVDKSKPK		Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1615.8049	1615.7745	-0.0304	-19	29	42	IIYPGTLWCGHGNK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1705.7784	1705.7754	-0.003	-2	123	136	CYKLEHPVTGCGER		Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
1838.7394	1838.746	0.0066	4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK		Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot
2148.9912	2148.9963	0.0051	2	123	140	CYKLEHPVTGCGERTEG R		Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot

Gel Idx/Pos	49/B22	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	205	100	79	100	41	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3178	0.0099	12	26	32 HTDACCR					Mascot
916.4482	916.4551	0.0069	8	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4551	0.0069	8	15	23 SSGPNELGR	19	0			Mascot
1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5529	-0.0128	-11	86	94 MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.5769	-0.0205	-17	48	58 HGLTNTASHTR	19	0			Mascot
1194.5974	1194.5769	-0.0205	-17	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.663	1254.6522	-0.0108	-9	125	133 VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.7131	-0.0132	-9	125	134 VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7131	-0.0132	-9	125	134 VYQWFDLRKY	41	99.148			Mascot
1421.6842	1421.7089	0.0247	17	109	120 TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.729	-0.0385	-26	113	124 CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1615.8049	1615.7566	-0.0483	-30	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1705.7784	1705.7542	-0.0242	-14	95	108 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2148.9912	2148.9561	-0.0351	-16	95	112 CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2513.2354	2513.177	-0.0584	-23	1	23 IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	195	100	79	100	41	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3178	0.0099	12	54	60 HTDACCR					Mascot
916.4482	916.4551	0.0069	8	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4551	0.0069	8	43	51 SSGPNELGR	19	0			Mascot
1126.568	1126.5642	-0.0038	-3	153	160 VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5529	-0.0128	-11	114	122 MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot

1194.5974	1194.5769	-0.0205	-17	76	86	HGLTNTASHTR	19	0	Mascot
1194.5974	1194.5769	-0.0205	-17	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1254.663	1254.6522	-0.0108	-9	153	161	VYQWFDLRK			Mascot
1417.7263	1417.7131	-0.0132	-9	153	162	VYQWFDLRKY			Mascot
1417.7263	1417.7131	-0.0132	-9	153	162	VYQWFDLRKY	41	98.753	Mascot
1421.6842	1421.7089	0.0247	17	137	148	TEGRCLHYTVDK			Mascot
1475.7675	1475.729	-0.0385	-26	141	152	CLHYTVDKSKPK		Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1615.8049	1615.7566	-0.0483	-30	29	42	IIYPGTLWCGHGNK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1705.7784	1705.7542	-0.0242	-14	123	136	CYKLEHPVTGCGER		Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
2148.9912	2148.9561	-0.0351	-16	123	140	CYKLEHPVTGCGERTEG R		Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
2513.2354	2513.177	-0.0584	-23	29	51	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot

Gel Idx/Pos	38/B23	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	208	100	144	100	50	8
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3001	-0.0078	-10	26	32	HTDACCR					Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	15	23	SSGPNELGR	45	99.438			Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	15	23	SSGPNELGR					Mascot
1126.568	1126.5723	0.0043	4	125	132	VYQWFDLR					Mascot
1194.5974	1194.5862	-0.0112	-9	48	58	HGLTNTASHTR	50	99.84			Mascot
1194.5974	1194.5862	-0.0112	-9	48	58	HGLTNTASHTR					Mascot
1417.7263	1417.7267	0.0004	0	125	134	VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7267	0.0004	0	125	134	VYQWFDLRKY	50	99.841			Mascot
1421.6842	1421.728	0.0438	31	109	120	TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.7523	-0.0152	-10	113	124	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2513.2354	2513.2512	0.0158	6	1	23	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	202	100	144	100	50	8
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3001	-0.0078	-10	54	60	HTDACCR					Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	43	51	SSGPNELGR	45	99.438			Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	43	51	SSGPNELGR					Mascot
1126.568	1126.5723	0.0043	4	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1194.5974	1194.5862	-0.0112	-9	76	86	HGLTNTASHTR	50	99.84			Mascot
1194.5974	1194.5862	-0.0112	-9	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1417.7263	1417.7267	0.0004	0	153	162	VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.7267	0.0004	0	153	162	VYQWFDLRKY	50	99.841			Mascot
1421.6842	1421.728	0.0438	31	137	148	TEGRCLHYTVDK					Mascot
1475.7675	1475.7523	-0.0152	-10	141	152	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

2513.2354	2513.2512	0.0158	6	29	51	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR	Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
-----------	-----------	--------	---	----	----	-----------------------------	------------------------	--------

Gel Idx/Pos	50/B24	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 18996195	35861.8	5.95	122	100	57	99.973	56	11

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.4924	-0.0013	-2	204	211 ALPAPVER					Mascot
1084.6183	1084.6023	-0.016	-15	96	105 IVVKGSPCPK	3	0	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1084.6183	1084.6023	-0.016	-15	96	105 IVVKGSPCPK					Mascot
1105.6	1105.59	-0.01	-9	289	297 LSVETSRWK					Mascot
1120.603	1120.5709	-0.0321	-29	238	247 NTVSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1775.969	1775.9199	-0.0491	-28	222	237 VPQVYVLAPHPDELAKE					Mascot
1775.969	1775.9199	-0.0491	-28	222	237 VPQVYVLAPHPDELAKE	56	99.961			Mascot
1805.9908	1805.9459	-0.0449	-25	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGKE					Mascot
2135.1357	2135.0781	-0.0576	-27	106	125 CPAPELPGGPSVFIFPPKE			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2210.1968	2210.1399	-0.0569	-26	179	197 VVSVLPIQHQDWLSGKEFK					Mascot
2210.1968	2210.1399	-0.0569	-26	179	197 VVSVLPIQHQDWLSGKEFK					Mascot
2230.2341	2230.1758	-0.0583	-26	218	237 GQLRVPQVYVLAPHPDELAKE					Mascot
2230.2341	2230.1758	-0.0583	-26	218	237 GQLRVPQVYVLAPHPDELAKE	1	0			Mascot
2429.3662	2429.3047	-0.0615	-25	216	237 AKGQLRVPQVYVLAPHPDELAKE					Mascot
2642.1682	2642.1262	-0.042	-16	248	269 DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGKE					Mascot

Gel Idx/Pos	51/C1	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 18996195	35861.8	5.95	144	100	63	99.994	33	13

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.5092	0.0155	18	204	211	ALPAPVER					Mascot
1084.6183	1084.616	-0.0023	-2	96	105	IVVKGSPCPK	10	0	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1084.6183	1084.616	-0.0023	-2	96	105	IVVKGSPCPK					Mascot
1105.6	1105.604	0.004	4	289	297	LSVETSRWK					Mascot
1269.7161	1269.7163	0.0002	0	204	215	ALPAPVERTTSK					Mascot
1468.8481	1468.8379	-0.0102	-7	204	217	ALPAPVERTTSKAK					Mascot
1541.8104	1541.7983	-0.0121	-8	198	211	CSVTNKALPAPVER	19	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1541.8104	1541.7983	-0.0121	-8	198	211	CSVTNKALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.9496	-0.0194	-11	222	237	VPQVYVLAPHPDELAK					Mascot
2135.1357	2135.1064	-0.0293	-14	106	125	CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2210.1968	2210.1716	-0.0252	-11	179	197	VVSVLPIQHQDWLSGKE FK					Mascot
2230.2341	2230.2043	-0.0298	-13	218	237	GQLRVPQVYVLAPHPDE LAK	1	0			Mascot
2230.2341	2230.2043	-0.0298	-13	218	237	GQLRVPQVYVLAPHPDE LAK					Mascot
2429.3662	2429.3284	-0.0378	-16	216	237	AKGQLRVPQVYVLAPHP DELAK					Mascot
2429.3662	2429.3284	-0.0378	-16	216	237	AKGQLRVPQVYVLAPHP DELAK					Mascot
2590.4102	2590.3645	-0.0457	-18	106	129	CPAPELPGGPSVFIFPPK PKDVLK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2590.4102	2590.3645	-0.0457	-18	106	129	CPAPELPGGPSVFIFPPK PKDVLK	33	93.868	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2946.6272	2946.5283	-0.0989	-34	106	132	CPAPELPGGPSVFIFPPK PKDVLKISR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

Gel Idx/Pos	63/C2	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 18996195	35861.8	5.95	147	100	66	99.997	34	13
---	---	--	-------------	---------	------	-----	-----	----	--------	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.4946	0.0009	1	204	211 ALPAPVER					Mascot
1084.6183	1084.5923	-0.026	-24	96	105 IVVKGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1084.6183	1084.5923	-0.026	-24	96	105 IVVKGSPCPK	15	0	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1105.6	1105.5841	-0.0159	-14	289	297 LSVETSRWK					Mascot
1269.7161	1269.6851	-0.031	-24	204	215 ALPAPVERTTSK	12	0			Mascot
1269.7161	1269.6851	-0.031	-24	204	215 ALPAPVERTTSK					Mascot
1468.8481	1468.7974	-0.0507	-35	204	217 ALPAPVERTTSKAK					Mascot
1541.8104	1541.7617	-0.0487	-32	198	211 CSVTNKALPAPVER	34	93.671	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1541.8104	1541.7617	-0.0487	-32	198	211 CSVTNKALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.8989	-0.0701	-39	222	237 VPQVYVLAPHPDELA					Mascot
2135.1357	2135.0496	-0.0861	-40	106	125 CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2210.1968	2210.1052	-0.0916	-41	179	197 VVSVLPQHQDWLSGKE FK					Mascot
2230.2341	2230.1472	-0.0869	-39	218	237 GQLRVPQVYVLAPHPDE LAK					Mascot
2230.2341	2230.1472	-0.0869	-39	218	237 GQLRVPQVYVLAPHPDE LAK					Mascot
2429.3662	2429.2705	-0.0957	-39	216	237 AKGQLRVPQVYVLAPHP DELAK					Mascot
2429.3662	2429.2705	-0.0957	-39	216	237 AKGQLRVPQVYVLAPHP DELAK	6	0			Mascot
2590.4102	2590.2979	-0.1123	-43	106	129 CPAPELPGGPSVFIFPPK PKDVLK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2946.6272	2946.4194	-0.2078	-71	106	132 CPAPELPGGPSVFIFPPK PKDVLKISR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

2	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	93	99.954	33	92.232	33	11
---	---	--	-------------	---------	------	----	--------	----	--------	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
849.4498	849.4326	-0.0172	-20	127	133 DVLISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4946	0.0009	1	205	212 ALPAPVER					Mascot

1084.611	1084.5923	-0.0187	-17	213	222	TISKPTGQPR			Mascot
1084.611	1084.5923	-0.0187	-17	213	222	TISKPTGQPR	33	92.232	Mascot
1307.743	1307.7007	-0.0423	-32	201	212	VNNKALPAPVER			Mascot
1308.7059	1308.6914	-0.0145	-11	223	233	EPQVYVLAPHR			Mascot
1538.8472	1538.7639	-0.0833	-54	199	212	CKVNNKALPAPVER			Mascot
1541.7158	1541.7617	0.0459	30	249	260	DFYPTDIDIEWK			Mascot
1541.7158	1541.7617	0.0459	30	249	260	DFYPTDIDIEWK			Mascot
1880.9865	1880.9186	-0.0679	-36	223	238	EPQVYVLAPHRDELSK			Mascot
2142.9866	2142.9021	-0.0845	-39	271	289	YSTTPAQLSDGSYFLYS K			Mascot
2210.2332	2210.1052	-0.128	-58	180	198	VVSVLPIQHKDWLSGKEF K			Mascot
2946.5796	2946.4194	-0.1602	-54	213	238	TISKPTGQPREPQVYVLA PHRDELSK			Mascot

Gel Idx/Pos	52/C3	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	64/C4	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	melittin		gij229230	2845.7	12.03	171	100	123	100	103	4
---	----------	--	-----------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	8	21	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	8	21	VLTTGLPALISWIK	103	100			Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	8	22	VLTTGLPALISWIKR	20	53.053			Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	8	22	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1796.1156	1796.1249	0.0093	5	8	23	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot
2150.3311	2150.3682	0.0371	17	1	21	GIGAVLKVLTTGLPALISWIK					Mascot

3	melittin protein [Apis cerana]		gij21694359	8509.5	6.03	153	100	123	100	103	4
---	--------------------------------	--	-------------	--------	------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	58	71	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	58	71	VLTTGLPALISWIK	103	100			Mascot
1525.8889	1525.9089	0.02	13	2	14	KFLVNVALVFYGR					Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	58	72	VLTTGLPALISWIKR	20	53.053			Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	58	72	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1796.1156	1796.1249	0.0093	5	58	73	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot

4	melittin [Polistes sp. HQL-2001]		gij14495012	7497.1	10.03	145	100	123	100	103	3
---	----------------------------------	--	-------------	--------	-------	-----	-----	-----	-----	-----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	48	61	VLTTGLPALISWIK					Mascot
1511.9196	1511.9066	-0.013	-9	48	61	VLTTGLPALISWIK	103	100			Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	48	62	VLTTGLPALISWIKR	20	53.053			Mascot
1668.0206	1668.0198	-0.0008	0	48	62	VLTTGLPALISWIKR					Mascot
1796.1156	1796.1249	0.0093	5	48	63	VLTTGLPALISWIKRK					Mascot

Gel Idx/Pos	53/C5	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	372	100	246	100	74	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4558	0.0076	8	15	23 SSGPNELGR	54	99.925			Mascot
916.4482	916.4558	0.0076	8	15	23 SSGPNELGR					Mascot
1035.4928	1035.4773	-0.0155	-15	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5684	0.0004	0	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1160.5657	1160.5449	-0.0208	-18	86	94 MYFNLDITK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.6082	-0.0034	-3	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.5695	-0.0279	-23	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.5695	-0.0279	-23	48	58 HGLTNTASHTR	74	99.999			Mascot
1254.663	1254.647	-0.016	-13	125	133 VYQWFDLRK					Mascot
1417.7263	1417.712	-0.0143	-10	125	134 VYQWFDLRKY					Mascot
1417.7263	1417.712	-0.0143	-10	125	134 VYQWFDLRKY	52	99.891			Mascot
1475.7675	1475.7351	-0.0324	-22	113	124 CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1475.7675	1475.7351	-0.0324	-22	113	124 CLHYTVDKSKPK	67	99.997	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1705.7784	1705.7538	-0.0246	-14	95	108 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
1918.9803	1918.939	-0.0413	-22	109	124 TEGRCLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2148.9912	2148.9458	-0.0454	-21	95	112 CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
2513.2354	2513.179	-0.0564	-22	1	23 IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	363	100	246	100	74	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
916.4482	916.4558	0.0076	8	43	51 SSGPNELGR	54	99.925			Mascot
916.4482	916.4558	0.0076	8	43	51 SSGPNELGR					Mascot
1035.4928	1035.4773	-0.0155	-15	141	148 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5684	0.0004	0	153	160 VYQWFDLR					Mascot

1160.5657	1160.5449	-0.0208	-18	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.6082	-0.0034	-3	43	53	SSGPNELGRFK				Mascot
1194.5974	1194.5695	-0.0279	-23	76	86	HGLTNTASHTR				Mascot
1194.5974	1194.5695	-0.0279	-23	76	86	HGLTNTASHTR	74	99.999		Mascot
1254.663	1254.647	-0.016	-13	153	161	VYQWFDLRK				Mascot
1417.7263	1417.712	-0.0143	-10	153	162	VYQWFDLRKY				Mascot
1417.7263	1417.712	-0.0143	-10	153	162	VYQWFDLRKY	52	99.891		Mascot
1475.7675	1475.7351	-0.0324	-22	141	152	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1475.7675	1475.7351	-0.0324	-22	141	152	CLHYTVDKSKPK	67	99.997	Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1705.7784	1705.7538	-0.0246	-14	123	136	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
1918.9803	1918.939	-0.0413	-22	137	152	TEGRCLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[5]	Mascot
2148.9912	2148.9458	-0.0454	-21	123	140	CYKLEHPVTGCGERTEG R			Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
2513.2354	2513.179	-0.0564	-22	29	51	IIYPGTLWCGHGNKSSGP NELGR			Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity 102306	Database	NCBIInr
Analysis Name	IDs 04285 F1 through G1	Creation Date	10/26/2006 16:19:25
Reported By	10/30/2006 11:21:01 - admin	Last Modified	10/27/2006 01:40:16
MS Acq. : Proc. Methods	(Unspecified) : (Unspecified)		
Interpretation Method	(Unspecified)		

Gel Idx/Pos		125/F1	Instr./Gel Origin		ab347000122/04285 102306			Process Status		Analysis Succeeded			
Plate [#] Name		[1] 04285	Instrument Sample Name					Spectra		7			
Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count		

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	137/F2	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	126/F3	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
8	major royal jelly protein 9 [Apis mellifera]		gi 67010041	48657.5	8.7	46	0	40	99.838	40	2

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1067.4939	1067.5056	0.0117	11	408	415	YTRCENPK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
1250.7579	1250.7593	0.0014	1	397	407	ILNAPVNQLIR					Mascot
1250.7579	1250.7593	0.0014	1	397	407	ILNAPVNQLIR	40	99.838			Mascot

Gel Idx/Pos	138/F4	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	127/F5	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	404	100	275	100	92	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3765	-0.0097	-11	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.341	0.0116	13	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	15	23 SSGPNELGR	57	99.973			Mascot
919.3508	919.3554	0.0046	5	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4755	-0.0173	-17	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5784	0.0104	9	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5784	0.0104	9	125	132 VYQWFDLR	73	99.999			Mascot
1160.5657	1160.5531	-0.0126	-11	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.5566	-0.055	-46	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	48	58 HGLTNTASHTR	92	100			Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.595	0.0055	4	98	108 LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.595	0.0055	4	98	108 LEHPVTGCGER	56	99.964	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6526	-0.0166	-12	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7949	-0.01	-6	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6489	-0.0122	-7	33	47 THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7374	-0.002	-1	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	394	100	275	100	92	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3765	-0.0097	-11	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.341	0.0116	13	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	43	51 SSGPNELGR	57	99.973			Mascot

919.3508	919.3554	0.0046	5	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.4755	-0.0173	-17	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1126.568	1126.5784	0.0104	9	153	160	VYQWFDLR				Mascot
1126.568	1126.5784	0.0104	9	153	160	VYQWFDLR	73	99.999		Mascot
1160.5657	1160.5531	-0.0126	-11	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.5566	-0.055	-46	43	53	SSGPNELGRFK				Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	76	86	HGLTNTASHTR	92	100		Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	76	86	HGLTNTASHTR				Mascot
1254.5895	1254.595	0.0055	4	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.595	0.0055	4	126	136	LEHPVTGCGER	56	99.97	Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1388.6692	1388.6526	-0.0166	-12	101	113	NSADTISSYFVGK				Mascot
1615.8049	1615.7949	-0.01	-6	29	42	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1696.6611	1696.6489	-0.0122	-7	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7374	-0.002	-1	87	100	LSDCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	139/F6	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	venom allergen acid phosphatase [Apis mellifera]		gi 66821891	43877.5	5.63	367	100	317	100	99	10

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
781.3549	781.3149	-0.04	-51	20	25	NEMYPK					Mascot
888.5301	888.5314	0.0013	1	224	231	LYGGPLLRL					Mascot
888.5301	888.5314	0.0013	1	224	231	LYGGPLLRL	30	87.505			Mascot
889.5253	889.5292	0.0039	4	4	10	QINVIFR					Mascot
1016.6251	1016.6263	0.0012	1	223	231	KLYGGPLLRL	35	96.278			Mascot
1016.6251	1016.6263	0.0012	1	223	231	KLYGGPLLRL					Mascot
1153.6	1153.6017	0.0017	1	49	57	EYQLGQFLR	83	100			Mascot
1153.6	1153.6017	0.0017	1	49	57	EYQLGQFLR					Mascot
1380.7522	1380.75	-0.0022	-2	297	308	IVYYLGIPSEAR	69	99.998			Mascot
1380.7522	1380.75	-0.0022	-2	297	308	IVYYLGIPSEAR					Mascot
1456.7366	1456.7218	-0.0148	-10	47	57	MREYQLGQFLR			Oxidation (M)[1]		Mascot
1753.8108	1753.8074	-0.0034	-2	26	38	DPYLYYDFYPLER	99	100			Mascot
1753.8108	1753.8074	-0.0034	-2	26	38	DPYLYYDFYPLER					Mascot
2446.2646	2446.272	0.0074	3	324	343	YLQLIENVIPSNEELICDKR			Carbamidomethyl (C)[17]		Mascot
2634.1882	2634.2063	0.0181	7	60	82	YGDFLGDIYTEESVSALS SFYDR					Mascot

Gel Idx/Pos	128/F7	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	395	100	288	100	89	12

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.4223	0.0361	43	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4475	-0.0007	-1	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4475	-0.0007	-1	43	51	SSGPNELGR	41	98.942			Mascot
919.3508	919.3505	-0.0003	0	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4789	-0.0139	-13	141	148	CLHYTVDK	28	75.648	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1035.4928	1035.4789	-0.0139	-13	141	148	CLHYTVDK					Mascot
1126.568	1126.5681	0.0001	0	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5681	0.0001	0	153	160	VYQWFDLR	68	99.998			Mascot
1144.5707	1144.5553	-0.0154	-13	114	122	MYFNLIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5469	-0.0188	-16	114	122	MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.5953	-0.0021	-2	76	86	HGLTNTASHTR	89	100			Mascot
1194.5974	1194.5953	-0.0021	-2	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5894	-0.0001	0	126	136	LEHPVTGCGER	64	99.995	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5894	-0.0001	0	126	136	LEHPVTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.651	-0.0182	-13	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1475.7675	1475.755	-0.0125	-8	141	152	CLHYTVDKSKPK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1696.6611	1696.6472	-0.0139	-8	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7335	-0.0059	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	140/F8	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	venom allergen acid phosphatase [Apis mellifera]		gi 66821891	43877.5	5.63	736	100	559	100	166	22

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
781.3549	781.3151	-0.0398	-51	20	25	NEMYPK					Mascot
858.4355	858.4464	0.0109	13	146	152	GKYEFSK					Mascot
888.5301	888.5327	0.0026	3	224	231	LYGGPLLRL					Mascot
888.5301	888.5327	0.0026	3	224	231	LYGGPLLRL	35	95.034			Mascot
889.5253	889.5312	0.0059	7	4	10	QINVIFR					Mascot
990.5254	990.5152	-0.0102	-10	159	166	KLEEWTKG					Mascot
1016.6251	1016.6255	0.0004	0	223	231	KLYGGPLLRL					Mascot
1066.5276	1066.528	0.0004	0	11	19	HGDRIPEK					Mascot
1153.6	1153.6006	0.0006	1	49	57	EYQLGQFLRL					Mascot
1153.6	1153.6006	0.0006	1	49	57	EYQLGQFLRL	83	100			Mascot
1230.6147	1230.589	-0.0257	-21	236	246	HMLDVVSGTQK			Oxidation (M)[2]		Mascot
1380.7522	1380.7502	-0.002	-1	297	308	IVYYLGIPSEAR	76	100			Mascot
1380.7522	1380.7502	-0.002	-1	297	308	IVYYLGIPSEAR					Mascot
1456.7366	1456.7214	-0.0152	-10	47	57	MREYQLGQFLRL			Oxidation (M)[1]		Mascot
1673.9294	1673.9104	-0.019	-11	85	99	MSLQLVLAALYPPNK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1753.8108	1753.8083	-0.0025	-1	26	38	DPYLYYDFYPLER	105	100			Mascot
1753.8108	1753.8083	-0.0025	-1	26	38	DPYLYYDFYPLER					Mascot
1818.9128	1818.901	-0.0118	-6	309	323	ELQLPGCEVLCPLYK			Carbamidomethyl (C)[7,11]		Mascot
1844.8596	1844.8547	-0.0049	-3	11	25	HGDRIPEK NEMYPK			Oxidation (M)[12]		Mascot
1983.9923	1983.9827	-0.0096	-5	100	115	LQQWNEDLNWQPIATK					Mascot
2069.0073	2069.0044	-0.0029	-1	344	361	FVDESANNLSIEELDFVK					Mascot
2225.1084	2225.127	0.0186	8	343	361	RFVDESANNLSIEELDFV K					Mascot
2446.2646	2446.2747	0.0101	4	324	343	YLQLIENVIPSNEELICDK R	93	100	Carbamidomethyl (C)[17]		Mascot
2446.2646	2446.2747	0.0101	4	324	343	YLQLIENVIPSNEELICDK R					Mascot
2515.2061	2515.219	0.0129	5	120	139	YEDNIFLPEDCLLTIELD R			Carbamidomethyl (C)[11]		Mascot
2634.1882	2634.2107	0.0225	9	60	82	YGDFLGDIYTEESVSALS SFYDR	166	100			Mascot

2634.1882	2634.2107	0.0225	9	60	82	YGDFLGDIYTEESVSALS SFYDR		Mascot
2671.3071	2671.3381	0.031	12	119	139	RYEDNIFLPEDCLLFTIEL DR	Carbamidomethyl (C)[12]	Mascot

Gel Idx/Pos	129/F9	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	venom allergen acid phosphatase [Apis mellifera]		gi 66821891	43877.5	5.63	176	100	119	100	48	11

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
781.3549	781.319	-0.0359	-46	20	25	NEMYPK					Mascot
888.5301	888.529	-0.0011	-1	224	231	LYGGPLLRL					Mascot
889.5253	889.5272	0.0019	2	4	10	QINVIFR	28	78.739			Mascot
889.5253	889.5272	0.0019	2	4	10	QINVIFR					Mascot
1016.6251	1016.6033	-0.0218	-21	223	231	KLYGGPLLRL					Mascot
1066.5276	1066.5281	0.0005	0	11	19	HGDRIPDEK					Mascot
1230.6147	1230.6003	-0.0144	-12	236	246	HMLDVVSGTQK			Oxidation (M)[2]		Mascot
1379.6511	1379.6525	0.0014	1	15	25	IPDEKNEMYPK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1380.7522	1380.7477	-0.0045	-3	297	308	IVYYLGIPSEAR					Mascot
1380.7522	1380.7477	-0.0045	-3	297	308	IVYYLGIPSEAR	48	99.771			Mascot
1753.8108	1753.8134	0.0026	1	26	38	DPYLYYDFYPLER					Mascot
2069.0073	2068.9922	-0.0151	-7	344	361	FVDESANNLSIEELDFVK					Mascot
2446.2646	2446.28	0.0154	6	324	343	YLQLIENVIPSNEELICDKR			Carbamidomethyl (C)[17]		Mascot
2446.2646	2446.28	0.0154	6	324	343	YLQLIENVIPSNEELICDKR	43	99.258	Carbamidomethyl (C)[17]		Mascot

Gel Idx/Pos	141/F10	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Chain A, Crystal Structure Of Bee Venom Hyaluronidase In Complex With Hyaluronic Acid Tetramer		gij15988109	40822.6	8.67	375	100	146	100	73	24
---	--	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3656	0.005	7	313	317 CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3656	0.005	7	313	317 CLQFR	22		0 Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
735.426	735.3942	-0.0318	-43	155	159 RRFEK					Mascot
737.3689	737.3684	-0.0005	-1	270	274 YQDRR					Mascot
739.3403	739.3397	-0.0006	-1	254	259 QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4627	0.0054	7	87	92 HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4777	-0.0051	-6	132	138 LSVEVVR					Mascot
801.4828	801.4777	-0.0051	-6	132	138 LSVEVVR	13	0			Mascot
888.4785	888.4792	0.0007	1	281	288 ADLEATLR	59	99.982			Mascot
888.4785	888.4792	0.0007	1	281	288 ADLEATLR					Mascot
929.5778	929.5826	0.0048	5	131	138 KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.477	-0.0029	-3	66	74 DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5684	-0.0189	-17	262	269 VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6099	-0.0222	-19	93	102 DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.53	-0.0034	-3	140	148 EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.53	-0.0034	-3	140	148 EHPFWDDQR	73	99.999			Mascot
1234.6215	1234.6006	-0.0209	-17	121	130 QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5917	-0.0172	-13	36	45 YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6764	-0.0187	-14	318	329 EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6471	-0.0139	-10	160	170 YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6271	-0.0074	-5	139	148 REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8746	-0.0031	-2	140	154 EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8669	-0.016	-8	10	24 EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0238	-0.0112	-6	48	65 GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0908	-0.0008	0	103	120 SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.1035	0.0041	2	212	229 MSWLFESEDVLLPSVYL			Oxidation (M)[1]		Mascot

2	hyaluronidase [Apis mellifera]	2296.2046	2296.208	0.0034	1	46	65	R FRGEEIAILYDPGMFPALL K	Oxidation (M)[14]	Mascot								
		2366.1875	2366.1975	0.01	4	289	310	KITDLGADGFIIWGSSDDI NTK		Mascot								
									gi 58585182	44231.5	8.67	367	100	146	100	73	24	

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I.	% Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3656	0.005	7	345	349	CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3656	0.005	7	345	349	CLQFR	22	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
735.426	735.3942	-0.0318	-43	187	191	RRFEK					Mascot
737.3689	737.3684	-0.0005	-1	302	306	YQDRR					Mascot
739.3403	739.3397	-0.0006	-1	286	291	QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4627	0.0054	7	119	124	HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4777	-0.0051	-6	164	170	LSVEVVR					Mascot
801.4828	801.4777	-0.0051	-6	164	170	LSVEVVR	13	0			Mascot
888.4785	888.4792	0.0007	1	313	320	ADLEATLR	59	99.982			Mascot
888.4785	888.4792	0.0007	1	313	320	ADLEATLR					Mascot
929.5778	929.5826	0.0048	5	163	170	KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.477	-0.0029	-3	98	106	DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5684	-0.0189	-17	294	301	VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6099	-0.0222	-19	125	134	DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.53	-0.0034	-3	172	180	EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.53	-0.0034	-3	172	180	EHPFWDDQR	73	99.999			Mascot
1234.6215	1234.6006	-0.0209	-17	153	162	QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5917	-0.0172	-13	68	77	YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6764	-0.0187	-14	350	361	EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6471	-0.0139	-10	192	202	YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6271	-0.0074	-5	171	180	REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8746	-0.0031	-2	172	186	EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8669	-0.016	-8	42	56	EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0238	-0.0112	-6	80	97	GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0908	-0.0008	0	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.1035	0.0041	2	244	261	MSWLFESDVLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2296.2046	2296.208	0.0034	1	78	97	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]		Mascot
2366.1875	2366.1975	0.01	4	321	342	KITDLGADGFIIWGSSDDI NTK					Mascot

Gel Idx/Pos	130/F11	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 9 [Apis mellifera]		gil67010041	48657.5	8.7	508	100	387	100	89	18

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
819.4722	819.4587	-0.0135	-16	29	35	ANIFQVK					Mascot
849.5192	849.5181	-0.0011	-1	77	83	TFVTILR					Mascot
849.5192	849.5181	-0.0011	-1	77	83	TFVTILR	48	99.82			Mascot
942.573	942.5606	-0.0124	-13	336	343	RNIEIVAK					Mascot
1017.4999	1017.4963	-0.0036	-4	128	135	IAIDEWDR					Mascot
1017.4999	1017.4963	-0.0036	-4	128	135	IAIDEWDR	65	99.996			Mascot
1041.5323	1041.5281	-0.0042	-4	64	72	NNVPIDVDR					Mascot
1109.5586	1109.552	-0.0066	-6	359	367	QISSNIYER					Mascot
1250.7579	1250.756	-0.0019	-2	397	407	ILNAPVNQLIR					Mascot
1250.7579	1250.756	-0.0019	-2	397	407	ILNAPVNQLIR	73	99.999			Mascot
1285.6423	1285.6315	-0.0108	-8	223	233	LTSSTFVYDPR	24	51.989			Mascot
1285.6423	1285.6315	-0.0108	-8	223	233	LTSSTFVYDPR					Mascot
1371.6539	1371.6367	-0.0172	-13	52	63	QAAIQSGEYNYK					Mascot
1384.5692	1384.5581	-0.0111	-8	40	50	YFDYNFGSDEK					Mascot
1443.7438	1443.7286	-0.0152	-11	84	97	NDGVPSLNVISNK					Mascot
1507.7539	1507.7363	-0.0176	-12	368	379	QNNEYIWIVSNK					Mascot
1527.755	1527.7479	-0.0071	-5	51	63	RQAAIQSGEYNYK					Mascot
1540.6703	1540.6719	0.0016	1	40	51	YFDYNFGSDEKR	89	100			Mascot
1540.6703	1540.6719	0.0016	1	40	51	YFDYNFGSDEKR					Mascot
1622.7921	1622.7941	0.002	1	383	396	IANGDLNFNEVNFR					Mascot
1622.7921	1622.7941	0.002	1	383	396	IANGDLNFNEVNFR	87	100			Mascot
2364.0925	2364.1047	0.0122	5	259	278	TQNLYYSAMSSHNLNYV NTK			Oxidation (M)[9]		Mascot
2455.1887	2455.2058	0.0171	7	285	306	FQANDIQYQGASDILWTQ ASAK					Mascot
3066.5352	3066.5742	0.039	13	307	334	AISSETGALFFGLVSDTAL GCWENENRPLK			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	PREDICTED: similar to yellow-h CG1629-PA, partial [Apis mellifera]		gil66544205	22817.6	8.87	264	100	203	100	89	9
---	--	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information															
Calc. Mass	Obsrv. Mass	$\pm$ da	$\pm$ ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score		C. I. % Modification		Rank Result Type					
819.4722	819.4587	-0.0135	-16	29	35 ANIFQVK									Mascot	
849.5192	849.5181	-0.0011	-1	77	83 TFVTILR									Mascot	
849.5192	849.5181	-0.0011	-1	77	83 TFVTILR	48		99.943						Mascot	
1017.4999	1017.4963	-0.0036	-4	128	135 IAIDEWDR									Mascot	
1017.4999	1017.4963	-0.0036	-4	128	135 IAIDEWDR	65		99.999						Mascot	
1041.5323	1041.5281	-0.0042	-4	64	72 NNVPIDVDR									Mascot	
1371.6539	1371.6367	-0.0172	-13	52	63 QAAIQSGEYNYK									Mascot	
1384.5692	1384.5581	-0.0111	-8	40	50 YFDYNFGSDEK									Mascot	
1443.7438	1443.7286	-0.0152	-11	84	97 NDGVPSSLNVISNK									Mascot	
1527.755	1527.7479	-0.0071	-5	51	63 RQAAIQSGEYNYK									Mascot	
1540.6703	1540.6719	0.0016	1	40	51 YFDYNFGSDEKR	89		100						Mascot	
1540.6703	1540.6719	0.0016	1	40	51 YFDYNFGSDEKR									Mascot	

Gel Idx/Pos	142/F12	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	PREDICTED: similar to PDGF- and VEGF-related factor 1 CG7103-PA [Apis mellifera]		gi 48094880	33125	6.06	220	100	165	100	111	10
---	--	--	-------------	-------	------	-----	-----	-----	-----	-----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1549.8472	1549.8235	-0.0237	-15	143	156 NFEILVTILESSGK	33	98.035			Mascot
1549.8472	1549.8235	-0.0237	-15	143	156 NFEILVTILESSGK					Mascot
1571.77	1571.8027	0.0327	21	65	78 DVPKDISFFSSSSR					Mascot
1622.7592	1622.8209	0.0617	38	1	13 MAQLEDTRYPDQR					Mascot
1668.6538	1668.6525	-0.0013	-1	215	226 MWHPDLCSCFCR			Carbamidomethyl (C)[7,9,11]		Mascot
1684.6487	1684.6337	-0.015	-9	215	226 MWHPDLCSCFCR			Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1684.6487	1684.6337	-0.015	-9	215	226 MWHPDLCSCFCR	20	62.378	Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1889.819	1889.8076	-0.0114	-6	164	178 IVPIEEHTQCTCDCK			Carbamidomethyl (C)[10,12,14]		Mascot
2128.8335	2128.8347	0.0012	1	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR			Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2128.8335	2128.8347	0.0012	1	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR	111	100	Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2216.8892	2216.9895	0.1003	45	188	206 QSYVPEECTCACNNVDE QK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
2291.0608	2290.9802	-0.0806	-35	65	84 DVPKDISFFSSSSRMGET ER			Oxidation (M)[15]		Mascot
2307.9937	2307.9963	0.0026	1	123	142 CGGCCTHSLSCQPTAT EIR			Carbamidomethyl (C)[1,4,5,12]		Mascot
2459.0271	2459.022	-0.0051	-2	188	207 QSYVPEECTCACNNVDE QKK			Carbamidomethyl (C)[8,10,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	131/F13	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	471	100	339	100	94	14
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.376	-0.0102	-12	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4476	-0.0006	-1	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4476	-0.0006	-1	43	51	SSGPNELGR	43	99.205			Mascot
919.3508	919.3511	0.0003	0	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.472	-0.0208	-20	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1074.5062	1074.4967	-0.0095	-9	20	28	IGDNELEER					Mascot
1074.5062	1074.4967	-0.0095	-9	20	28	IGDNELEER	60	99.986			Mascot
1080.4713	1080.5419	0.0706	65	52	60	FKHTDACCR					Mascot
1126.568	1126.589	0.021	19	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.589	0.021	19	153	160	VYQWFDLR	72	99.999			Mascot
1160.5657	1160.5546	-0.0111	-10	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.543	-0.0686	-58	43	53	SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.6013	0.0039	3	76	86	HGLTNTASHTR	94	100			Mascot
1194.5974	1194.6013	0.0039	3	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5985	0.009	7	126	136	LEHPVTGCGER	74	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5985	0.009	7	126	136	LEHPVTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.657	-0.0122	-9	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1696.6611	1696.6483	-0.0128	-8	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7391	-0.0003	0	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A2 [Apis mellifera]		gi 58585172	19045.1	7.05	470	100	339	100	94	14
---	-----------------------------------	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.376	-0.0102	-12	100	105	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4476	-0.0006	-1	48	56	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4476	-0.0006	-1	48	56	SSGPNELGR	43	99.205			Mascot

919.3508	919.3511	0.0003	0	59	65	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.472	-0.0208	-20	146	153	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1074.5062	1074.4967	-0.0095	-9	25	33	IGDNELEER				Mascot
1074.5062	1074.4967	-0.0095	-9	25	33	IGDNELEER	60	99.986		Mascot
1080.4713	1080.5419	0.0706	65	57	65	FKHTDACCR				Mascot
1126.568	1126.589	0.021	19	158	165	VYQWFDLR				Mascot
1126.568	1126.589	0.021	19	158	165	VYQWFDLR	72	99.999		Mascot
1160.5657	1160.5546	-0.0111	-10	119	127	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.543	-0.0686	-58	48	58	SSGPNELGRFK				Mascot
1194.5974	1194.6013	0.0039	3	81	91	HGLTNTASHTR	94	100		Mascot
1194.5974	1194.6013	0.0039	3	81	91	HGLTNTASHTR				Mascot
1254.5895	1254.5985	0.009	7	131	141	LEHPVTGCGER	74	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.5985	0.009	7	131	141	LEHPVTGCGER				Mascot
1388.6692	1388.657	-0.0122	-9	106	118	NSADTISSYFVGK				Mascot
1696.6611	1696.6483	-0.0128	-8	66	80	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7391	-0.0003	0	92	105	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	143/F14	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	476	100	369	100	100	12

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3775	-0.0087	-10	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4468	-0.0014	-2	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4468	-0.0014	-2	43	51	SSGPNELGR	34	94.97			Mascot
919.3508	919.3512	0.0004	0	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4716	-0.0212	-20	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1074.5062	1074.5002	-0.006	-6	20	28	IGDNELEER					Mascot
1126.568	1126.5747	0.0067	6	153	160	VYQWFDLR	72	99.999			Mascot
1126.568	1126.5747	0.0067	6	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1144.5707	1144.5569	-0.0138	-12	114	122	MYFNLIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5461	-0.0196	-17	114	122	MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.5955	-0.0019	-2	76	86	HGLTNTASHTR	94	100			Mascot
1194.5974	1194.5955	-0.0019	-2	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5934	0.0039	3	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5934	0.0039	3	126	136	LEHPVTGCGER	70	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6477	-0.0215	-15	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1680.6663	1680.6497	-0.0166	-10	61	75	THDMCPDVM SAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4]		Mascot
1696.6611	1696.6415	-0.0196	-12	61	75	THDMCPDVM SAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7325	-0.0069	-4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
1838.7394	1838.7325	-0.0069	-4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	100	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	132/F15	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	384	100	269	100	84	12
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3887	0.0025	3	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3447	0.0153	18	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4459	-0.0023	-3	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4459	-0.0023	-3	15	23 SSGPNELGR	38	97.867			Mascot
919.3508	919.3519	0.0011	1	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4731	-0.0197	-19	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1080.4713	1080.5437	0.0724	67	24	32 FKHTDACCR					Mascot
1126.568	1126.6012	0.0332	29	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.6012	0.0332	29	125	132 VYQWFDLR	72	99.999			Mascot
1194.5974	1194.6047	0.0073	6	48	58 HGLTNTASHTR	84	100			Mascot
1194.5974	1194.6047	0.0073	6	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.6006	0.0111	9	98	108 LEHPTGCGER	76	100	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.6006	0.0111	9	98	108 LEHPTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6621	-0.0071	-5	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.798	-0.0069	-4	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1838.7394	1838.7429	0.0035	2	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
2507.9829	2508.1599	0.177	71	26	47 HTDACCRTHDMCPDVMS AGESK			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	375	100	269	100	84	12
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3887	0.0025	3	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3447	0.0153	18	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4459	-0.0023	-3	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4459	-0.0023	-3	43	51 SSGPNELGR	38	97.867			Mascot

919.3508	919.3519	0.0011	1	54	60	HTDACCR		Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.4731	-0.0197	-19	141	148	CLHYTVDK		Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1080.4713	1080.5437	0.0724	67	52	60	FKHTDACCR			Mascot
1126.568	1126.6012	0.0332	29	153	160	VYQWFDLR			Mascot
1126.568	1126.6012	0.0332	29	153	160	VYQWFDLR	72	99.999	Mascot
1194.5974	1194.6047	0.0073	6	76	86	HGLTNTASHTR	84	100	Mascot
1194.5974	1194.6047	0.0073	6	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1254.5895	1254.6006	0.0111	9	126	136	LEHPVTGCGER	76	100	Carbamidomethyl (C)[8] Mascot
1254.5895	1254.6006	0.0111	9	126	136	LEHPVTGCGER			Mascot
1388.6692	1388.6621	-0.0071	-5	101	113	NSADTISSYFVGK			Mascot
1615.8049	1615.798	-0.0069	-4	29	42	IIYPGTLWCGHGK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1838.7394	1838.7429	0.0035	2	87	100	LSCDCDDKFYDCLK		Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot
2507.9829	2508.1599	0.177	71	54	75	HTDACCRTDMCPDVMS AGESK		Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot

Gel Idx/Pos	144/F16	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	439	100	332	100	88	12

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.4015	0.0153	18	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3573	0.0279	32	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4674	0.0192	21	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4674	0.0192	21	43	51	SSGPNELGR	38	97.764			Mascot
919.3508	919.3721	0.0213	23	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4974	0.0046	4	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.615	0.047	42	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.615	0.047	42	153	160	VYQWFDLR	72	99.999			Mascot
1144.5707	1144.5779	0.0072	6	114	122	MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5781	0.0124	11	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.6195	0.0221	18	76	86	HGLTNTASHTR	88	100			Mascot
1194.5974	1194.6195	0.0221	18	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.6143	0.0248	20	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.6143	0.0248	20	126	136	LEHPVTGCGER	68	99.998	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6681	-0.0011	-1	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1838.7394	1838.749	0.0096	5	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	67	99.997	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
1838.7394	1838.749	0.0096	5	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[12]		Mascot
2507.9829	2508.1541	0.1712	68	54	75	HTDACCRTHDMCPDVMS AGESK			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
2530.217	2530.1204	-0.0966	-38	101	122	NSADTISSYFVGKMYFN IDTK			Oxidation (M)[14]		Mascot

Gel Idx/Pos	133/F17	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	472	100	368	100	94	11
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3757	-0.0105	-12	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3366	0.0072	8	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4493	0.0011	1	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4493	0.0011	1	15	23 SSGPNELGR	43	99.332			Mascot
919.3508	919.3539	0.0031	3	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.476	-0.0168	-16	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5757	0.0077	7	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5757	0.0077	7	125	132 VYQWFDLR	73	99.999			Mascot
1144.5707	1144.5575	-0.0132	-12	86	94 MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5483	-0.0174	-15	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.5964	-0.001	-1	48	58 HGLTNTASHTR	94	100			Mascot
1194.5974	1194.5964	-0.001	-1	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5913	0.0018	1	98	108 LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5913	0.0018	1	98	108 LEHPVTGCGER	74	100	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6541	-0.0151	-11	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1696.6611	1696.6495	-0.0116	-7	33	47 THDMCPDMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1781.7179	1781.7482	0.0303	17	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5]		Mascot
1838.7394	1838.7323	-0.0071	-4	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
1838.7394	1838.7323	-0.0071	-4	59	72 LSCDCDDKFYDCLK	87	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	464	100	368	100	94	11
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3757	-0.0105	-12	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3366	0.0072	8	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4493	0.0011	1	43	51 SSGPNELGR					Mascot

916.4482	916.4493	0.0011	1	43	51	SSGPNELGR	43	99.328		Mascot
919.3508	919.3539	0.0031	3	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.476	-0.0168	-16	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1126.568	1126.5757	0.0077	7	153	160	VYQWFDLR				Mascot
1126.568	1126.5757	0.0077	7	153	160	VYQWFDLR	73	99.999		Mascot
1144.5707	1144.5575	-0.0132	-12	114	122	MYFNLIDTK				Mascot
1160.5657	1160.5483	-0.0174	-15	114	122	MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1194.5974	1194.5964	-0.001	-1	76	86	HGLTNTASHTR	94	100		Mascot
1194.5974	1194.5964	-0.001	-1	76	86	HGLTNTASHTR				Mascot
1254.5895	1254.5913	0.0018	1	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.5913	0.0018	1	126	136	LEHPVTGCGER	74	100	Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1388.6692	1388.6541	-0.0151	-11	101	113	NSADTISSYFVGK				Mascot
1696.6611	1696.6495	-0.0116	-7	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1781.7179	1781.7482	0.0303	17	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5]	Mascot
1838.7394	1838.7323	-0.0071	-4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot
1838.7394	1838.7323	-0.0071	-4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	87	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	145/F18	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	465	100	322	100	86	14
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.379	-0.0072	-9	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4517	0.0035	4	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4517	0.0035	4	15	23 SSGPNELGR	43	99.301			Mascot
919.3508	919.3556	0.0048	5	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4768	-0.016	-15	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1080.4713	1080.5499	0.0786	73	24	32 FKHTDACCR					Mascot
1126.568	1126.5798	0.0118	10	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5798	0.0118	10	125	132 VYQWFDLR	66	99.997			Mascot
1160.5657	1160.5573	-0.0084	-7	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.6106	-0.001	-1	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.6008	0.0034	3	48	58 HGLTNTASHTR	86	100			Mascot
1194.5974	1194.6008	0.0034	3	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5952	0.0057	5	98	108 LEHPVTGCGER	53	99.936	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5952	0.0057	5	98	108 LEHPVTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6613	-0.0079	-6	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1696.6611	1696.6604	-0.0007	0	33	47 THDMCPDMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1705.7784	1705.7799	0.0015	1	95	108 CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]		Mascot
1838.7394	1838.7371	-0.0023	-1	59	72 LSCDCDDKFYDCLK	76	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
1838.7394	1838.7371	-0.0023	-1	59	72 LSCDCDDKFYDCLK					Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	454	100	322	100	86	14
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.379	-0.0072	-9	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4517	0.0035	4	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4517	0.0035	4	43	51 SSGPNELGR	43	99.301			Mascot

919.3508	919.3556	0.0048	5	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.4768	-0.016	-15	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1080.4713	1080.5499	0.0786	73	52	60	FKHTDACCR				Mascot
1126.568	1126.5798	0.0118	10	153	160	VYQWFDLR				Mascot
1126.568	1126.5798	0.0118	10	153	160	VYQWFDLR	66	99.997		Mascot
1160.5657	1160.5573	-0.0084	-7	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.6106	-0.001	-1	43	53	SSGPNELGRFK				Mascot
1194.5974	1194.6008	0.0034	3	76	86	HGLTNTASHTR	86	100		Mascot
1194.5974	1194.6008	0.0034	3	76	86	HGLTNTASHTR				Mascot
1254.5895	1254.5952	0.0057	5	126	136	LEHPVTGCGER	53	99.935	Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.5952	0.0057	5	126	136	LEHPVTGCGER				Mascot
1388.6692	1388.6613	-0.0079	-6	101	113	NSADTISSYFVGK				Mascot
1696.6611	1696.6604	-0.0007	0	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1705.7784	1705.7799	0.0015	1	123	136	CYKLEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[1,11]	Mascot
1838.7394	1838.7371	-0.0023	-1	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	76	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot
1838.7394	1838.7371	-0.0023	-1	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[12]	Mascot

Gel Idx/Pos	134/F19	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gij 443189	15239.1	8.07	511	100	367	100	97	14
---	---	--	------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3723	-0.0139	-16	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3419	0.0125	14	26	32 HTDACC			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4521	0.0039	4	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4521	0.0039	4	15	23 SSGPNELGR	40	98.717			Mascot
919.3508	919.3561	0.0053	6	26	32 HTDACC			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1012.371	1012.4391	0.0681	67	59	66 LSCDCDDK			Carbamidomethyl (C)[3,5]		Mascot
1035.4928	1035.4698	-0.023	-22	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1080.4713	1080.5443	0.073	68	24	32 FKHTDACC					Mascot
1126.568	1126.6034	0.0354	31	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.6034	0.0354	31	125	132 VYQWFDLR	73	99.999			Mascot
1144.5707	1144.5592	-0.0115	-10	86	94 MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5509	-0.0148	-13	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.5797	-0.0319	-27	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.6035	0.0061	5	48	58 HGLTNTASHTR	85	100			Mascot
1194.5974	1194.6035	0.0061	5	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.601	0.0115	9	98	108 LEHPTGCGER	74	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.601	0.0115	9	98	108 LEHPTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6526	-0.0166	-12	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1696.6611	1696.6403	-0.0208	-12	33	47 THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7333	-0.0061	-3	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot
1838.7394	1838.7333	-0.0061	-3	59	72 LSCDCDDKFYDCLK	97	100	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gij 5627	18474.8	7.18	501	100	367	100	97	14
---	------------------------------------	--	----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3723	-0.0139	-16	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot

862.3294	862.3419	0.0125	14	54	60	HTDACC	Carbamidomethyl (C)[5]	Mascot
916.4482	916.4521	0.0039	4	43	51	SSGPNELGR		Mascot
916.4482	916.4521	0.0039	4	43	51	SSGPNELGR	40 98.548	Mascot
919.3508	919.3561	0.0053	6	54	60	HTDACC	Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1012.371	1012.4391	0.0681	67	87	94	LSCDCDDK	Carbamidomethyl (C)[3,5]	Mascot
1035.4928	1035.4698	-0.023	-22	141	148	CLHYTVDK	Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1080.4713	1080.5443	0.073	68	52	60	FKHTDACC		Mascot
1126.568	1126.6034	0.0354	31	153	160	VYQWFDLR		Mascot
1126.568	1126.6034	0.0354	31	153	160	VYQWFDLR	73 99.999	Mascot
1144.5707	1144.5592	-0.0115	-10	114	122	MYFNIDTK		Mascot
1160.5657	1160.5509	-0.0148	-13	114	122	MYFNIDTK	Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.5797	-0.0319	-27	43	53	SSGPNELGRFK		Mascot
1194.5974	1194.6035	0.0061	5	76	86	HGLTNTASHTR	85 100	Mascot
1194.5974	1194.6035	0.0061	5	76	86	HGLTNTASHTR		Mascot
1254.5895	1254.601	0.0115	9	126	136	LEHPVTGCGER	74 99.999 Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.601	0.0115	9	126	136	LEHPVTGCGER		Mascot
1388.6692	1388.6526	-0.0166	-12	101	113	NSADTISSYFVGK		Mascot
1696.6611	1696.6403	-0.0208	-12	61	75	THDMCPDVMSAGESK	Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7333	-0.0061	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot
1838.7394	1838.7333	-0.0061	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK	97 100 Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	146/F20	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	478	100	348	100	88	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.373	-0.0132	-16	67	72	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3369	0.0075	9	26	32	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4489	0.0007	1	15	23	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4489	0.0007	1	15	23	SSGPNELGR	34	93.834			Mascot
919.3508	919.35	-0.0008	-1	26	32	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4723	-0.0205	-20	113	120	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.576	0.008	7	125	132	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.576	0.008	7	125	132	VYQWFDLR	72	99.999			Mascot
1144.5707	1144.5574	-0.0133	-12	86	94	MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5448	-0.0209	-18	86	94	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.5552	-0.0564	-47	15	25	SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.5978	0.0004	0	48	58	HGLTNTASHTR	88	100			Mascot
1194.5974	1194.5978	0.0004	0	48	58	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5931	0.0036	3	98	108	LEHPVTGCGER	74	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5931	0.0036	3	98	108	LEHPVTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6504	-0.0188	-14	73	85	NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7916	-0.0133	-8	1	14	IIYPGTLWCGHGNGK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1615.8049	1615.7916	-0.0133	-8	1	14	IIYPGTLWCGHGNGK	82	100	Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6471	-0.014	-8	33	47	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7314	-0.008	-4	59	72	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	468	100	348	100	88	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.373	-0.0132	-16	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.3369	0.0075	9	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

916.4482	916.4489	0.0007	1	43	51	SSGPNELGR			Mascot
916.4482	916.4489	0.0007	1	43	51	SSGPNELGR	34	94.275	Mascot
919.3508	919.35	-0.0008	-1	54	60	HTDACCR		Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.4723	-0.0205	-20	141	148	CLHYTVDK		Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1126.568	1126.576	0.008	7	153	160	VYQWFDLR			Mascot
1126.568	1126.576	0.008	7	153	160	VYQWFDLR	72	99.999	Mascot
1144.5707	1144.5574	-0.0133	-12	114	122	MYFNLIDTK			Mascot
1160.5657	1160.5448	-0.0209	-18	114	122	MYFNLIDTK		Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.5552	-0.0564	-47	43	53	SSGPNELGRFK			Mascot
1194.5974	1194.5978	0.0004	0	76	86	HGLTNTASHTR	88	100	Mascot
1194.5974	1194.5978	0.0004	0	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1254.5895	1254.5931	0.0036	3	126	136	LEHPVTGCGER	74	100	Carbamidomethyl (C)[8]
1254.5895	1254.5931	0.0036	3	126	136	LEHPVTGCGER			Mascot
1388.6692	1388.6504	-0.0188	-14	101	113	NSADTISSYFVGK			Mascot
1615.8049	1615.7916	-0.0133	-8	29	42	IIYPGTLWCGHGK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1615.8049	1615.7916	-0.0133	-8	29	42	IIYPGTLWCGHGK	82	100	Carbamidomethyl (C)[9]
1696.6611	1696.6471	-0.014	-8	61	75	THDMCPDMSAGESK		Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7314	-0.008	-4	87	100	LSCDCDDKFYDCLK		Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	135/F21	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	392	100	265	100	92	13

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3718	-0.0144	-17	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4482	0	0	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4482	0	0	15	23 SSGPNELGR	49	99.811			Mascot
919.3508	919.3566	0.0058	6	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.469	-0.0238	-23	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5696	0.0016	1	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5696	0.0016	1	125	132 VYQWFDLR	68	99.998			Mascot
1160.5657	1160.5435	-0.0222	-19	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.5886	-0.023	-19	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.5958	-0.0016	-1	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.5958	-0.0016	-1	48	58 HGLTNTASHTR	92	100			Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	98	108 LEHPTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	98	108 LEHPTGCGER	59	99.981	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6493	-0.0199	-14	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.792	-0.0129	-8	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6412	-0.0199	-12	33	47 THDMCPDMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7347	-0.0047	-3	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	382	100	265	100	92	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3718	-0.0144	-17	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4482	0	0	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4482	0	0	43	51 SSGPNELGR	49	99.811			Mascot
919.3508	919.3566	0.0058	6	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.469	-0.0238	-23	141	148 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

1126.568	1126.5696	0.0016	1	153	160	VYQWFDLR			Mascot
1126.568	1126.5696	0.0016	1	153	160	VYQWFDLR	68	99.998	Mascot
1160.5657	1160.5435	-0.0222	-19	114	122	MYFNIDTK		Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.5886	-0.023	-19	43	53	SSGPNELGRFK			Mascot
1194.5974	1194.5958	-0.0016	-1	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1194.5974	1194.5958	-0.0016	-1	76	86	HGLTNTASHTR	92	100	Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	126	136	LEHPVTGCGER		Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	126	136	LEHPVTGCGER	59	99.981	Carbamidomethyl (C)[8]
1388.6692	1388.6493	-0.0199	-14	101	113	NSADTISSYFVGK			Mascot
1615.8049	1615.792	-0.0129	-8	29	42	IIYPGTLWCGHGK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1696.6611	1696.6412	-0.0199	-12	61	75	THDMCPDVMSAGESK		Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7347	-0.0047	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK		Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	147/F22	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	395	100	268	100	97	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3717	-0.0145	-17	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4469	-0.0013	-1	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4469	-0.0013	-1	15	23 SSGPNELGR	45	99.6			Mascot
919.3508	919.3524	0.0016	2	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4719	-0.0209	-20	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5704	0.0024	2	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5704	0.0024	2	125	132 VYQWFDLR	68	99.998			Mascot
1160.5657	1160.5454	-0.0203	-17	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1191.6116	1191.6	-0.0116	-10	15	25 SSGPNELGRFK					Mascot
1194.5974	1194.5973	-0.0001	0	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.5973	-0.0001	0	48	58 HGLTNTASHTR	97	100			Mascot
1254.5895	1254.5905	0.001	1	98	108 LEHPTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5905	0.001	1	98	108 LEHPTGCGER	60	99.987	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6511	-0.0181	-13	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7894	-0.0155	-10	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6454	-0.0157	-9	33	47 THDMCPDMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7335	-0.0059	-3	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	385	100	268	100	97	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3717	-0.0145	-17	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4469	-0.0013	-1	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4469	-0.0013	-1	43	51 SSGPNELGR	45	99.6			Mascot
919.3508	919.3524	0.0016	2	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4719	-0.0209	-20	141	148 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

1126.568	1126.5704	0.0024	2	153	160	VYQWFDLR			Mascot
1126.568	1126.5704	0.0024	2	153	160	VYQWFDLR	68	99.998	Mascot
1160.5657	1160.5454	-0.0203	-17	114	122	MYFNIDTK		Oxidation (M)[1]	Mascot
1191.6116	1191.6	-0.0116	-10	43	53	SSGPNELGRFK			Mascot
1194.5974	1194.5973	-0.0001	0	76	86	HGLTNTASHTR			Mascot
1194.5974	1194.5973	-0.0001	0	76	86	HGLTNTASHTR	97	100	Mascot
1254.5895	1254.5905	0.001	1	126	136	LEHPVTGCGER		Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.5905	0.001	1	126	136	LEHPVTGCGER	60	99.986	Carbamidomethyl (C)[8]
1388.6692	1388.6511	-0.0181	-13	101	113	NSADTISSYFVGK			Mascot
1615.8049	1615.7894	-0.0155	-10	29	42	IIYPGTLWCGHGK		Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1696.6611	1696.6454	-0.0157	-9	61	75	THDMCPDVMSAGESK		Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7335	-0.0059	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK		Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	136/F23	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	Phospholipase A2 (E.C.3.1.1.4) Complex With The Transition-State Analogue		gi 443189	15239.1	8.07	401	100	273	100	89	13
---	---	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3758	-0.0104	-12	67	72 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.329	-0.0004	0	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	15	23 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	15	23 SSGPNELGR	48	99.785			Mascot
919.3508	919.3514	0.0006	1	26	32 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4722	-0.0206	-20	113	120 CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1080.4713	1080.5419	0.0706	65	24	32 FKHTDACCR					Mascot
1126.568	1126.5809	0.0129	11	125	132 VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5809	0.0129	11	125	132 VYQWFDLR	66	99.996			Mascot
1160.5657	1160.5477	-0.018	-16	86	94 MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	48	58 HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	48	58 HGLTNTASHTR	89	100			Mascot
1254.5895	1254.5969	0.0074	6	98	108 LEHPVTGCGER	72	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5969	0.0074	6	98	108 LEHPVTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6536	-0.0156	-11	73	85 NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7961	-0.0088	-5	1	14 IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6492	-0.0119	-7	33	47 THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7367	-0.0027	-1	59	72 LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	392	100	273	100	89	13
---	------------------------------------	--	---------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3758	-0.0104	-12	95	100 FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
862.3294	862.329	-0.0004	0	54	60 HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	43	51 SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4498	0.0016	2	43	51 SSGPNELGR	48	99.785			Mascot

919.3508	919.3514	0.0006	1	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]	Mascot
1035.4928	1035.4722	-0.0206	-20	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]	Mascot
1080.4713	1080.5419	0.0706	65	52	60	FKHTDACCR				Mascot
1126.568	1126.5809	0.0129	11	153	160	VYQWFDLR				Mascot
1126.568	1126.5809	0.0129	11	153	160	VYQWFDLR	66	99.996		Mascot
1160.5657	1160.5477	-0.018	-16	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]	Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	76	86	HGLTNTASHTR				Mascot
1194.5974	1194.6016	0.0042	4	76	86	HGLTNTASHTR	89	100		Mascot
1254.5895	1254.5969	0.0074	6	126	136	LEHPVTGCGER	72	99.999	Carbamidomethyl (C)[8]	Mascot
1254.5895	1254.5969	0.0074	6	126	136	LEHPVTGCGER				Mascot
1388.6692	1388.6536	-0.0156	-11	101	113	NSADTISSYFVGK				Mascot
1615.8049	1615.7961	-0.0088	-5	29	42	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]	Mascot
1696.6611	1696.6492	-0.0119	-7	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]	Mascot
1838.7394	1838.7367	-0.0027	-1	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]	Mascot

Gel Idx/Pos	148/F24	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	372	100	279	100	97	11

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3801	-0.0061	-7	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4496	0.0014	2	43	51	SSGPNELGR	59	99.98			Mascot
919.3508	919.3564	0.0056	6	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4703	-0.0225	-22	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5699	0.0019	2	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5699	0.0019	2	153	160	VYQWFDLR	69	99.998			Mascot
1160.5657	1160.5482	-0.0175	-15	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.5999	0.0025	2	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.5999	0.0025	2	76	86	HGLTNTASHTR	97	100			Mascot
1254.5895	1254.592	0.0025	2	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.592	0.0025	2	126	136	LEHPVTGCGER	57	99.97	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6542	-0.015	-11	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1696.6611	1696.6473	-0.0138	-8	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.733	-0.0064	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	149/G1	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gj 18996195	35861.8	5.95	199	100	163	100	103	8

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.4927	-0.001	-1	204	211	ALPAPVER					Mascot
1084.6183	1084.6033	-0.015	-14	96	105	IVVKGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1084.6183	1084.6033	-0.015	-14	96	105	IVVKGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1120.603	1120.5989	-0.0041	-4	238	247	NTVSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1541.8104	1541.7024	-0.108	-70	198	211	CSVTKALPAPVER			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1775.969	1775.9528	-0.0162	-9	222	237	VPQVYVLAPHPDELAK					Mascot
1775.969	1775.9528	-0.0162	-9	222	237	VPQVYVLAPHPDELAK	103	100			Mascot
1805.9908	1805.9741	-0.0167	-9	179	194	VVSVLPIQHQDWLSGK					Mascot
1805.9908	1805.9741	-0.0167	-9	179	194	VVSVLPIQHQDWLSGK	60	99.986			Mascot
2135.1357	2135.1296	-0.0061	-3	106	125	CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2642.1682	2642.1782	0.01	4	248	269	DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot

Gel Idx/Pos	161/G2	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	233	100	128	100	51	12

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3101	0.0022	3	54	60	HTDACCR					Mascot
916.4482	916.449	0.0008	1	43	51	SSGPNELGR	27	80.805			Mascot
916.4482	916.449	0.0008	1	43	51	SSGPNELGR					Mascot
919.3508	919.3497	-0.0011	-1	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4785	-0.0143	-14	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5687	0.0007	1	153	160	VYQWFDLR	51	99.93			Mascot
1126.568	1126.5687	0.0007	1	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1144.5707	1144.5607	-0.01	-9	114	122	MYFNLIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5499	-0.0158	-14	114	122	MYFNLIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5143	1194.5945	0.0802	67	52	60	FKHTDACCR			Carbamidomethyl (C)[7,8]		Mascot
1194.5974	1194.5945	-0.0029	-2	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	126	136	LEHPVTGCGER			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.589	-0.0005	0	126	136	LEHPVTGCGER	50	99.91	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1388.6692	1388.6488	-0.0204	-15	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7937	-0.0112	-7	29	42	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.6484	-0.0127	-7	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.7345	-0.0049	-3	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	150/G3	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	234	100	114	100	55	13

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
845.3862	845.3483	-0.0379	-45	95	100	FYDCLK			Carbamidomethyl (C)[4]		Mascot
916.4482	916.5056	0.0574	63	43	51	SSGPNELGR	12	0			Mascot
916.4482	916.5056	0.0574	63	43	51	SSGPNELGR					Mascot
919.3508	919.4131	0.0623	68	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.5339	0.0411	40	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.6295	0.0615	55	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.6295	0.0615	55	153	160	VYQWFDLR	40	98.844			Mascot
1144.5707	1144.6165	0.0458	40	114	122	MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.6085	0.0428	37	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.6609	0.0635	53	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1194.5974	1194.6609	0.0635	53	76	86	HGLTNTASHTR	8	0			Mascot
1254.5895	1254.6525	0.063	50	126	136	LEHPVTGCGER	55	99.959	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.663	1254.6525	-0.0105	-8	153	161	VYQWFDLRK					Mascot
1388.6692	1388.7117	0.0425	31	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.8658	0.0609	38	29	42	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1696.6611	1696.7336	0.0725	43	61	75	THDMCPDVMSAGESK			Carbamidomethyl (C)[5], Oxidation (M)[4,9]		Mascot
1838.7394	1838.8044	0.065	35	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	162/G4	Instr./Gel Origin	ab347000122/04285 102306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 04285	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	phospholipase A-2 [Apis mellifera]		gi 5627	18474.8	7.18	204	100	123	100	47	10

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
805.3079	805.3193	0.0114	14	54	60	HTDACCR					Mascot
916.4482	916.4402	-0.008	-9	43	51	SSGPNELGR					Mascot
916.4482	916.4402	-0.008	-9	43	51	SSGPNELGR	16	0			Mascot
919.3508	919.3499	-0.0009	-1	54	60	HTDACCR			Carbamidomethyl (C)[5,6]		Mascot
1035.4928	1035.4742	-0.0186	-18	141	148	CLHYTVDK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1126.568	1126.5624	-0.0056	-5	153	160	VYQWFDLR					Mascot
1126.568	1126.5624	-0.0056	-5	153	160	VYQWFDLR	36	97.783			Mascot
1144.5707	1144.5603	-0.0104	-9	114	122	MYFNIDTK					Mascot
1160.5657	1160.5387	-0.027	-23	114	122	MYFNIDTK			Oxidation (M)[1]		Mascot
1194.5974	1194.589	-0.0084	-7	76	86	HGLTNTASHTR	26	73.706			Mascot
1194.5974	1194.589	-0.0084	-7	76	86	HGLTNTASHTR					Mascot
1254.5895	1254.5823	-0.0072	-6	126	136	LEHPTGCGER	47	99.796	Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1254.5895	1254.5823	-0.0072	-6	126	136	LEHPTGCGER					Mascot
1388.6692	1388.6453	-0.0239	-17	101	113	NSADTISSYFVGK					Mascot
1615.8049	1615.7977	-0.0072	-4	29	42	IIYPGTLWCGHGNK			Carbamidomethyl (C)[9]		Mascot
1838.7394	1838.7252	-0.0142	-8	87	100	LSCDCDDKFYDCLK			Carbamidomethyl (C)[3,5,12]		Mascot

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity and Viswanatha 101606	Database	NCBIInr
Analysis Name	NCBI from C1 to C24	Creation Date	10/18/2006 16:09:33
Reported By	10/20/2006 10:11:34 - admin	Last Modified	10/18/2006 18:53:44

MS Acq. : Proc. Methods (Unspecified) : (Unspecified)

Interpretation Method (Unspecified)

Gel Idx/Pos		51/C1	Instr./Gel Origin		ab347000122/05729 101306		Process Status		Analysis Succeeded				
Plate [#] Name		[1] 05729	Instrument Sample Name				Spectra		7				
Rank	Protein Name		Species	Accession No.		Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	transferrin [Apis mellifera]			gi 33303622		78607.5	6.77	372	100	250	100	87	22

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
754.2745	754.2947	0.0202	27	45	50 ECDEMK					Mascot
781.3297	781.3089	-0.0208	-27	495	501 SCHSGYK					Mascot
873.3995	873.4136	0.0141	16	146	153 SCHTGVGR			Carbamidomethyl (C)[2]		Mascot
907.4883	907.491	0.0027	3	371	377 YLDVIER	31	88.622			Mascot
907.4883	907.491	0.0027	3	371	377 YLDVIER					Mascot
973.4083	973.428	0.0197	20	284	291 YFCPDGSK			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
983.4428	983.4401	-0.0027	-3	567	574 ATNEETYR					Mascot
998.4689	998.4706	0.0017	2	115	122 EEPHAPYR					Mascot
1029.5728	1029.5464	-0.0264	-26	123	131 YEAVAVIHK					Mascot
1045.5459	1045.552	0.0061	6	57	66 GIPVSCISGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1046.4901	1046.5035	0.0134	13	618	625 AEINEWER					Mascot
1046.4901	1046.5035	0.0134	13	618	625 AEINEWER	27	72.517			Mascot
1055.5303	1055.5283	-0.002	-2	626	634 CNLGGLEPPR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
1112.504	1112.5057	0.0017	2	67	74 DRYECIEK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1186.5885	1186.5864	-0.0021	-2	607	617 DLALICPDGGR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1227.6117	1227.6146	0.0029	2	113	122 TKEEPHAPYR					Mascot

1238.6852	1238.6862	0.001	1	132	142	DLPINNVQGLR	67	99.997	Mascot
1238.6852	1238.6862	0.001	1	132	142	DLPINNVQGLR			Mascot
1533.802	1533.8041	0.0021	1	99	112	LASNAGYNVIEQVR	87	100	Mascot
1533.802	1533.8041	0.0021	1	99	112	LASNAGYNVIEQVR			Mascot
1630.8395	1630.8406	0.0011	1	432	447	ENNADLTVVSGGSVLR			Mascot
1642.8005	1642.8005	0	0	195	209	GCLVGTWSPDPAIR		Carbamidomethyl (C)[2]	Mascot
1695.9792	1695.9666	-0.0126	-7	352	367	TLAVPAPPVLPENHLK			Mascot
1748.7803	1748.7817	0.0014	1	544	558	LCQQCVGNLASNNDR		Carbamidomethyl (C)[2,5]	Mascot
2016.9807	2016.9756	-0.0051	-3	164	181	LTAMGVLNNLHDPEYSAR		Oxidation (M)[4]	Mascot
2322.1765	2322.1792	0.0027	1	262	283	FFGLPVGVTAAIPTSENPADYR	38	97.663	Mascot
2322.1765	2322.1792	0.0027	1	262	283	FFGLPVGVTAAIPTSENPADYR			Mascot

Gel Idx/Pos	63/C2	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	alpha-glucosidase [Apis mellifera]		gi 58585164	65523.1	5.06	388	100	277	100	92	18

Protein Group

alpha-glucosidase [Apis mellifera]

gi|89885579 65537.1 5.0599
999427
7954

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
817.4162	817.413	-0.0032	-4	477	483 EANLNTR					Mascot
854.4267	854.4247	-0.002	-2	215	221 RGFDFGR					Mascot
854.4267	854.4247	-0.002	-2	215	221 RGFDFGR	12	0			Mascot
1044.4415	1044.4281	-0.0134	-13	406	413 ENYQTMSR			Oxidation (M)[6]		Mascot
1050.4713	1050.4597	-0.0116	-11	457	464 NSFFNMFK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1187.5942	1187.5801	-0.0141	-12	272	281 DVLDFPQPK					Mascot
1329.6256	1329.6139	-0.0117	-9	484	494 MLNDNVFAFSR	7	0	Oxidation (M)[1]		Mascot
1329.6256	1329.6139	-0.0117	-9	484	494 MLNDNVFAFSR					Mascot
1394.7314	1394.7302	-0.0012	-1	28	38 EDLIVYQVYPR	89	100			Mascot
1394.7314	1394.7302	-0.0012	-1	28	38 EDLIVYQVYPR					Mascot
1490.7638	1490.7605	-0.0033	-2	270	281 FRDVLDFPQPK					Mascot
1490.7638	1490.7605	-0.0033	-2	270	281 FRDVLDFPQPK	31	86.396			Mascot
1497.6713	1497.6556	-0.0157	-10	222	233 VDALPYICEDMR			Carbamidomethyl (C)[8], Oxidation (M)[11]		Mascot
1608.8995	1608.8824	-0.0171	-11	549	563 VSALGFFILISQDAK					Mascot
1635.7472	1635.7372	-0.01	-6	527	539 LNMFYNNFNNDIK			Oxidation (M)[3]		Mascot
1719.8701	1719.8672	-0.0029	-2	255	268 IYTHDIPETYNVVR					Mascot
1719.8701	1719.8672	-0.0029	-2	255	268 IYTHDIPETYNVVR	92	100			Mascot
1763.8422	1763.8293	-0.0129	-7	526	539 KLNMFYNNFNNDIK			Oxidation (M)[4]		Mascot
1907.9075	1907.8993	-0.0082	-4	138	152 NIEPYNNYIWHPGK					Mascot
1977.9058	1977.897	-0.0088	-4	297	312 YYDYGADFPFNFAFIK					Mascot
2002.9922	2002.9939	0.0017	1	159	176 VPPTNWWGVFGGSAWS WR	59	99.98			Mascot
2002.9922	2002.9939	0.0017	1	159	176 VPPTNWWGVFGGSAWS WR					Mascot
2475.1211	2475.1257	0.0046	2	418	439 TPFQWDDSVSAGFSSSS NTWLR					Mascot

2667.3564	2667.3643	0.0079	3	116	137	IILDFVPNHTSDQHEWFQ LSLK
-----------	-----------	--------	---	-----	-----	----------------------------

Mascot

Gel Idx/Pos	52/C3	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	PREDICTED: similar to homologue of Sarcophaga 26,29kDa proteinase [Apis mellifera]		gi 66499011	38089.4	6.52	75	96.792	46	99.636	36	7

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4505	837.4432	-0.0073	-9	300	305	DYWLIK					Mascot
886.4893	886.4905	0.0012	1	65	71	FIHSINR					Mascot
886.4893	886.4905	0.0012	1	65	71	FIHSINR	36	96.275			Mascot
947.556	947.5353	-0.0207	-22	128	136	LYGAVTPVK					Mascot
1194.5725	1194.5593	-0.0132	-11	13	21	HIYTFNPMR	10	0	Oxidation (M)[8]		Mascot
1194.5725	1194.5593	-0.0132	-11	13	21	HIYTFNPMR					Mascot
1331.7067	1331.6921	-0.0146	-11	250	262	HGPISVAIDASHK					Mascot
2122.0928	2122.0889	-0.0039	-2	75	92	GYQLNVNHLVDHTELELK					Mascot
2369.0833	2369.0935	0.0102	4	22	40	EFVHNYDTHVNEAFEDF KK					Mascot

Gel Idx/Pos	64/C4	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

5	PREDICTED: similar to homologue of Sarcophaga 26,29kDa proteinase [Apis mellifera]		gi 66499011	38089.4	6.52	62	41.623	43	99.344	43	5
---	--	--	-------------	---------	------	----	--------	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4505	837.4423	-0.0082	-10	300	305	DYWLIK					Mascot
886.4893	886.4916	0.0023	3	65	71	FIHSINR					Mascot
886.4893	886.4916	0.0023	3	65	71	FIHSINR	43	99.344			Mascot
1194.5725	1194.5568	-0.0157	-13	13	21	HIYTFNPMR			Oxidation (M)[8]		Mascot
1194.5725	1194.5568	-0.0157	-13	13	21	HIYTFNPMR	2	0	Oxidation (M)[8]		Mascot
1331.7067	1331.6952	-0.0115	-9	250	262	HGPISVAIDASHK					Mascot
2122.0928	2122.0911	-0.0017	-1	75	92	GYQLNVNHLVDHTELELK					Mascot

Gel Idx/Pos	53/C5	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	65/C6	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 8 [Apis mellifera]		gi 40353251	46926.8	6	285	100	198	100	93	15

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4504	837.436	-0.0144	-17	31	36	VIYEWK					Mascot
851.5059	851.4852	-0.0207	-24	74	80	TFVIIMK					Mascot
1067.4496	1067.4376	-0.012	-11	125	132	IEIDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6], Oxidation (M)[5]		Mascot
1073.6201	1073.5964	-0.0237	-22	347	356	ETLQAITGLK					Mascot
1181.5797	1181.5703	-0.0094	-8	224	234	LTSSTFASDPR					Mascot
1260.6583	1260.6366	-0.0217	-17	297	307	ENILWTQASAK					Mascot
1351.5688	1351.5629	-0.0059	-4	37	47	YIDYDFGSDEK					Mascot
1498.8376	1498.8376	0	0	133	145	LWVLDSGLINNVR	66	99.997			Mascot
1498.8376	1498.8376	0	0	133	145	LWVLDSGLINNVR					Mascot
1507.6699	1507.6733	0.0034	2	37	48	YIDYDFGSDEKR					Mascot
1536.719	1536.7112	-0.0078	-5	284	296	SQYQANNVHYQGK					Mascot
1605.7695	1605.7736	0.0041	3	386	398	VIYGDFDNDVNFR					Mascot
1605.7695	1605.7736	0.0041	3	386	398	VIYGDFDNDVNFR	93	100			Mascot
2172.1733	2172.1733	0	0	146	164	SVCPQQLLVFDLNTSLLK			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
2566.3704	2566.3757	0.0053	2	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR	39	98.137			Mascot
2566.3704	2566.3757	0.0053	2	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR					Mascot
2722.4714	2722.4873	0.0159	6	360	382	RISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR					Mascot
2741.2988	2741.3135	0.0147	5	308	332	GISDNGVLFFGLVGDTSLACWNENR			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	major royal jelly protein MRJP2 [Apis mellifera]		gi 3676300	51041.4	6.83	81	99.265	47	99.761	47	9
---	--	--	------------	---------	------	----	--------	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
849.5192	849.5143	-0.0049	-6	77	83	TFVTILR					Mascot
1328.6117	1328.6145	0.0028	2	224	234	LTSNTFDYDPR					Mascot
1339.6066	1339.6077	0.0011	1	65	74	NYPFDVDQWR					Mascot

1427.575	1427.5731	-0.0019	-1	40	50	YFDYDFGSEER			Mascot
1729.7816	1729.7814	-0.0002	0	386	399	IVNDDFNFDVNFR	47	99.737	Mascot
1729.7816	1729.7814	-0.0002	0	386	399	IVNDDFNFDVNFR			Mascot
1820.8562	1820.8657	0.0095	5	208	223	GDALIVYQNADDSFHR			Mascot
2566.4238	2566.3757	-0.0481	-19	77	100	TFVTILRYDGVSTLNVIS GKTGK			Mascot
2566.4238	2566.3757	-0.0481	-19	77	100	TFVTILRYDGVSTLNVIS GKTGK			Mascot
2741.3577	2741.3135	-0.0442	-16	312	336	NGVLFVGLVGNSAVGCW NEHQSLQR		Carbamidomethyl (C)[16]	Mascot
2807.4265	2807.3184	-0.1081	-39	2	26	TRWLFMVACLGIAQCQAI VRENSPR		Oxidation (M)[6]	Mascot

Gel Idx/Pos	54/C7	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 8 [Apis mellifera]		gi 40353251	46926.8	6	350	100	250	100	84	15

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4504	837.4361	-0.0143	-17	31	36	VIYEWK					Mascot
851.5059	851.4776	-0.0283	-33	74	80	TFVIIMK					Mascot
867.5008	867.4702	-0.0306	-35	74	80	TFVIIMK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1067.4496	1067.4399	-0.0097	-9	125	132	IEIDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6], Oxidation (M)[5]		Mascot
1073.6201	1073.5953	-0.0248	-23	347	356	ETLQAITGLK					Mascot
1181.5797	1181.5713	-0.0084	-7	224	234	LTSSTFASDPR	9	0			Mascot
1181.5797	1181.5713	-0.0084	-7	224	234	LTSSTFASDPR					Mascot
1225.7515	1225.7402	-0.0113	-9	399	409	ILIANVNDLIK					Mascot
1260.6583	1260.6406	-0.0177	-14	297	307	ENILWTQASAK					Mascot
1351.5688	1351.5597	-0.0091	-7	37	47	YIDYDFGSDEK					Mascot
1498.8376	1498.8363	-0.0013	-1	133	145	LWVLDSGLINNVR					Mascot
1498.8376	1498.8363	-0.0013	-1	133	145	LWVLDSGLINNVR	63	99.993			Mascot
1507.6699	1507.6665	-0.0034	-2	37	48	YIDYDFGSDEKR					Mascot
1507.6699	1507.6665	-0.0034	-2	37	48	YIDYDFGSDEKR	66	99.996			Mascot
1536.719	1536.7048	-0.0142	-9	284	296	SQYQANNVHYQGK					Mascot
1605.7695	1605.7739	0.0044	3	386	398	VIYGDFDNDVNFR	84	100			Mascot
1605.7695	1605.7739	0.0044	3	386	398	VIYGDFDNDVNFR					Mascot
2172.1733	2172.1682	-0.0051	-2	146	164	SVCPQLLVFDLNTSQLL K			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
2566.3704	2566.3745	0.0041	2	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAV SNR	37	97.251			Mascot
2566.3704	2566.3745	0.0041	2	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAV SNR					Mascot
2741.2988	2741.3242	0.0254	9	308	332	GISDNGVLFFGLVGDTSL ACWNENR			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

3	major royal jelly protein MRJP5 precursor [Apis cerana]		gi 42601246	68243.2	8.66	107	99.998	66	99.996	66	
---	---	--	-------------	---------	------	-----	--------	----	--------	----	--

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
------------	-------------	------	-------	------------	----------	----------	-----------	---------	--------------	------	-------------

781.3443	781.318	-0.0263	-34	506	511	MGRMDR		Oxidation (M)[1]	Mascot
826.3546	826.3948	0.0402	49	444	449	MNKMDR		Oxidation (M)[1,4]	Mascot
837.3818	837.4361	0.0543	65	515	520	MNRMNR		Oxidation (M)[1]	Mascot
977.5414	977.5373	-0.0041	-4	131	138	IAIDKFDR			Mascot
1125.5101	1125.5804	0.0703	62	438	446	MDIMDKMNK			Mascot
1179.5609	1179.5988	0.0379	32	456	464	IDKMDRMDR			Mascot
1308.6147	1308.6869	0.0722	55	484	493	IDTRMDRMDR			Mascot
1351.5688	1351.5597	-0.0091	-7	43	53	YLDYDFGSDEK			Mascot
1507.6699	1507.6665	-0.0034	-2	43	54	YLDYDFGSDEKR			Mascot
1507.6699	1507.6665	-0.0034	-2	43	54	YLDYDFGSDEKR	66	99.996	Mascot
1530.7086	1530.8228	0.1142	75	360	371	MMHLPQSNRMNR		Oxidation (M)[1]	Mascot
1558.7023	1558.7089	0.0066	4	450	461	MDSMIRIDKMDR		Oxidation (M)[1,4,10]	Mascot

Gel Idx/Pos	66/C8	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 8 [Apis mellifera]		gi 40353251	46926.8	6	343	100	242	100	74	16

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4504	837.4307	-0.0197	-24	31	36 VIYEWK					Mascot
851.5059	851.4461	-0.0598	-70	74	80 TFVIIMK					Mascot
1014.5941	1014.521	-0.0731	-72	338	346 NIEVVAKNK					Mascot
1067.4496	1067.4509	0.0013	1	125	132 IEIDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6], Oxidation (M)[5]		Mascot
1073.6201	1073.5964	-0.0237	-22	347	356 ETLQAITGLK					Mascot
1181.5797	1181.5762	-0.0035	-3	224	234 LTSSTFASDPR					Mascot
1181.5797	1181.5762	-0.0035	-3	224	234 LTSSTFASDPR					Mascot
1225.7515	1225.7397	-0.0118	-10	399	409 ILIANVNDLIK					Mascot
1260.6583	1260.6418	-0.0165	-13	297	307 ENILWTQASAK					Mascot
1351.5688	1351.5596	-0.0092	-7	37	47 YIDYDFGSDEK					Mascot
1498.8376	1498.8367	-0.0009	-1	133	145 LWVLD SGLINNVR					Mascot
1498.8376	1498.8367	-0.0009	-1	133	145 LWVLD SGLINNVR	48	99.8			Mascot
1507.6699	1507.6694	-0.0005	0	37	48 YIDYDFGSDEKR	74	99.999			Mascot
1507.6699	1507.6694	-0.0005	0	37	48 YIDYDFGSDEKR					Mascot
1536.719	1536.7075	-0.0115	-7	284	296 SQYQANNVHYQGK	18	0			Mascot
1536.719	1536.7075	-0.0115	-7	284	296 SQYQANNVHYQGK					Mascot
1605.7695	1605.7704	0.0009	1	386	398 VIYGDFDNDVNFR	69	99.998			Mascot
1605.7695	1605.7704	0.0009	1	386	398 VIYGDFDNDVNFR					Mascot
2172.1733	2172.1765	0.0032	1	146	164 SVCPPQLLVFDLNTSLLK			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
2566.3704	2566.3774	0.007	3	361	382 ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR	33	93.639			Mascot
2566.3704	2566.3774	0.007	3	361	382 ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR					Mascot
2741.2988	2741.3066	0.0078	3	308	332 GISDNGVLFFGLVGDTSLACWNENR			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	major royal jelly protein MRJP5 precursor [Apis cerana]		gi 42601246	68243.2	8.66	88	99.85	74	99.999	74	
---	---	--	-------------	---------	------	----	-------	----	--------	----	--

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
------------	-------------	------	-------	------------	-------------------	-----------	---------	--------------	------	-------------

781.3443	781.3153	-0.029	-37	506	511	MGRMDR			Oxidation (M)[1]	Mascot
837.3818	837.4307	0.0489	58	515	520	MNRMNR			Oxidation (M)[1]	Mascot
1179.5609	1179.5999	0.039	33	456	464	IDKMDRMDR				Mascot
1308.6147	1308.6818	0.0671	51	484	493	IDTRMDRMDR				Mascot
1351.5688	1351.5596	-0.0092	-7	43	53	YLDYDFGSDEK				Mascot
1507.6699	1507.6694	-0.0005	0	43	54	YLDYDFGSDEKR	74	99.999		Mascot
1507.6699	1507.6694	-0.0005	0	43	54	YLDYDFGSDEKR				Mascot

Gel Idx/Pos	55/C9	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 8 [Apis mellifera]		gi 40353251	46926.8	6	427	100	327	100	102	16

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4504	837.436	-0.0144	-17	31	36	VIYEWK					Mascot
851.5059	851.4467	-0.0592	-70	74	80	TFVIIMK					Mascot
867.5008	867.4713	-0.0295	-34	74	80	TFVIIMK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1067.4496	1067.4357	-0.0139	-13	125	132	IEDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6], Oxidation (M)[5]		Mascot
1073.6201	1073.5968	-0.0233	-22	347	356	ETLQAITGLK					Mascot
1181.5797	1181.5686	-0.0111	-9	224	234	LTSSTFASDPR					Mascot
1181.5797	1181.5686	-0.0111	-9	224	234	LTSSTFASDPR	23	25.482			Mascot
1225.7515	1225.734	-0.0175	-14	399	409	ILIANVNDLIK					Mascot
1260.6583	1260.6365	-0.0218	-17	297	307	ENILWTQASAK					Mascot
1351.5688	1351.5522	-0.0166	-12	37	47	YIDYDFGSDEK					Mascot
1498.8376	1498.8328	-0.0048	-3	133	145	LWVLDSGLINNVR					Mascot
1498.8376	1498.8328	-0.0048	-3	133	145	LWVLDSGLINNVR	91	100			Mascot
1507.6699	1507.6625	-0.0074	-5	37	48	YIDYDFGSDEKR	64	99.994			Mascot
1507.6699	1507.6625	-0.0074	-5	37	48	YIDYDFGSDEKR					Mascot
1536.719	1536.7021	-0.0169	-11	284	296	SQYQANNVHYQGK					Mascot
1605.7695	1605.7727	0.0032	2	386	398	VIYGDFDNDVNFR					Mascot
1605.7695	1605.7727	0.0032	2	386	398	VIYGDFDNDVNFR	102	100			Mascot
2172.1733	2172.165	-0.0083	-4	146	164	SVCPPQLLVFDLNTSQLL K			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
2566.3704	2566.3699	-0.0005	0	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAV SNR					Mascot
2566.3704	2566.3699	-0.0005	0	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAV SNR	46	99.671			Mascot
2722.4714	2722.4675	-0.0039	-1	360	382	RISFILVHGFPLEYEYVLA VSNR					Mascot
2741.2988	2741.3113	0.0125	5	308	332	GISDNGVLFFGLVGDTSL ACWNENR			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	major royal jelly protein MRJP5 precursor [Apis cerana]		gi 42601246	68243.2	8.66	100	99.99	64	99.994	64
---	---	--	-------------	---------	------	-----	-------	----	--------	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
------------	-------------	------	-------	------------	----------	----------	-----------	---------	--------------	------	-------------

781.3443	781.306	-0.0383	-49	506	511	MGRMDR		Oxidation (M)[1]	Mascot
803.3763	803.3176	-0.0587	-73	503	508	MHRMGR		Oxidation (M)[1]	Mascot
837.3818	837.436	0.0542	65	515	520	MNRMNR		Oxidation (M)[1]	Mascot
845.3868	845.4393	0.0525	62	462	467	MDRMHR			Mascot
1229.5072	1229.5848	0.0776	63	488	496	MDRMDRMDK		Oxidation (M)[1,4]	Mascot
1351.5688	1351.5522	-0.0166	-12	43	53	YLDYDFGSDEK			Mascot
1507.6699	1507.6625	-0.0074	-5	43	54	YLDYDFGSDEKR	64	99.994	Mascot
1507.6699	1507.6625	-0.0074	-5	43	54	YLDYDFGSDEKR			Mascot
1526.7124	1526.824	0.1116	73	450	461	MDSMIRIDKMDR		Oxidation (M)[1]	Mascot
1530.7086	1530.8219	0.1133	74	360	371	MMHLPQSNRMNR		Oxidation (M)[1]	Mascot
1530.7086	1530.8219	0.1133	74	360	371	MMHLPQSNRMNR		Oxidation (M)[1]	Mascot
1558.7023	1558.708	0.0057	4	450	461	MDSMIRIDKMDR		Oxidation (M)[1,4,10]	Mascot
1578.6869	1578.7614	0.0745	47	372	383	MHRMNSMNRMDR			Mascot

Gel Idx/Pos	67/C10	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 8 [Apis mellifera]		gi 40353251	46926.8	6	463	100	362	100	98	16

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
837.4504	837.4356	-0.0148	-18	31	36	VIYEWK					Mascot
851.5059	851.4634	-0.0425	-50	74	80	TFVIIMK					Mascot
867.5008	867.4757	-0.0251	-29	74	80	TFVIIMK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1051.4547	1051.4688	0.0141	13	125	132	IEIDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
1067.4496	1067.4313	-0.0183	-17	125	132	IEIDMCDR			Carbamidomethyl (C)[6], Oxidation (M)[5]		Mascot
1073.6201	1073.6006	-0.0195	-18	347	356	ETLQAITGLK					Mascot
1181.5797	1181.5675	-0.0122	-10	224	234	LTSSTFASDPR					Mascot
1181.5797	1181.5675	-0.0122	-10	224	234	LTSSTFASDPR	9	0			Mascot
1225.7515	1225.7313	-0.0202	-16	399	409	ILIANVNDLIK					Mascot
1260.6583	1260.6338	-0.0245	-19	297	307	ENILWTQASAK					Mascot
1351.5688	1351.546	-0.0228	-17	37	47	YIDYDFGSDEK					Mascot
1498.8376	1498.8359	-0.0017	-1	133	145	LWVLDSGLINNVR	98	100			Mascot
1498.8376	1498.8359	-0.0017	-1	133	145	LWVLDSGLINNVR					Mascot
1507.6699	1507.6616	-0.0083	-6	37	48	YIDYDFGSDEKR	65	99.996			Mascot
1507.6699	1507.6616	-0.0083	-6	37	48	YIDYDFGSDEKR					Mascot
1536.719	1536.7045	-0.0145	-9	284	296	SQYQANNVHYQGK					Mascot
1605.7695	1605.7758	0.0063	4	386	398	VIYGDFDNDVNFR					Mascot
1605.7695	1605.7758	0.0063	4	386	398	VIYGDFDNDVNFR	97	100			Mascot
2172.1733	2172.1658	-0.0075	-3	146	164	SVCPQLLVFDLNTSLLK			Carbamidomethyl (C)[3]		Mascot
2566.3704	2566.3689	-0.0015	-1	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR	92	100			Mascot
2566.3704	2566.3689	-0.0015	-1	361	382	ISFILVHGFPLEYEYVLAVSNR					Mascot
2722.4714	2722.4822	0.0108	4	360	382	RISFILVHGFPLEYEYVLA VSNR					Mascot
2741.2988	2741.3083	0.0095	3	308	332	GISDNGVLFFGLVGDTSLACWNNENR			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	major royal jelly protein MRJP5 precursor [Apis cerana]		gi 42601246	68243.2	8.66	89	99.884	65	99.996	65	8
---	---	--	-------------	---------	------	----	--------	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	$\pm$ da	$\pm$ ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
781.3443	781.2983	-0.046	-59	506	511 MGRMDR			Oxidation (M)[1]		Mascot
837.3818	837.4356	0.0538	64	515	520 MNRMNR			Oxidation (M)[1]		Mascot
845.3868	845.4226	0.0358	42	462	467 MDRMHR					Mascot
1351.5688	1351.546	-0.0228	-17	43	53 YLDYDFGSDEK					Mascot
1507.6699	1507.6616	-0.0083	-6	43	54 YLDYDFGSDEKR	65	99.996			Mascot
1507.6699	1507.6616	-0.0083	-6	43	54 YLDYDFGSDEKR					Mascot
1514.7137	1514.8271	0.1134	75	360	371 MMHLPQSNRMNR					Mascot
1530.7086	1530.8168	0.1082	71	360	371 MMHLPQSNRMNR			Oxidation (M)[1]		Mascot
1558.7023	1558.7037	0.0014	1	450	461 MDSMIRIDKMDR			Oxidation (M)[1,4,10]		Mascot
1578.6869	1578.7545	0.0676	43	372	383 MHRMNSMNRMDR					Mascot

Gel Idx/Pos	56/C11	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 9 [Apis mellifera]		gi 67010041	48657.5	8.7	357	100	238	100	76	18

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
819.4722	819.4526	-0.0196	-24	29	35	ANIFQVK					Mascot
849.5192	849.52	0.0008	1	77	83	TFVTILR					Mascot
849.5192	849.52	0.0008	1	77	83	TFVTILR	31	89.527			Mascot
1017.4999	1017.5004	0.0005	0	128	135	IAIDEWDR	70	99.999			Mascot
1017.4999	1017.5004	0.0005	0	128	135	IAIDEWDR					Mascot
1041.5323	1041.5337	0.0014	1	64	72	NNVPIDVDR					Mascot
1109.5586	1109.5574	-0.0012	-1	359	367	QISSNIYER					Mascot
1250.7579	1250.7577	-0.0002	0	397	407	ILNAPVNQLIR	76	100			Mascot
1250.7579	1250.7577	-0.0002	0	397	407	ILNAPVNQLIR					Mascot
1285.6423	1285.6343	-0.008	-6	223	233	LTSSTFVYDPR	15	0			Mascot
1285.6423	1285.6343	-0.008	-6	223	233	LTSSTFVYDPR					Mascot
1371.6539	1371.6372	-0.0167	-12	52	63	QAAIQSGEYNYK					Mascot
1384.5692	1384.5575	-0.0117	-8	40	50	YFDYNFGSDEK					Mascot
1443.7438	1443.7257	-0.0181	-13	84	97	NDGVPSSLNVISNK					Mascot
1507.7539	1507.73	-0.0239	-16	368	379	QNNIEYIWVSNK					Mascot
1540.6703	1540.6732	0.0029	2	40	51	YFDYNFGSDEKR					Mascot
1540.6703	1540.6732	0.0029	2	40	51	YFDYNFGSDEKR	46	99.712			Mascot
1622.7921	1622.7933	0.0012	1	383	396	IANGDLNFNEVNFR					Mascot
2299.2339	2299.1768	-0.0571	-25	397	415	ILNAPVNQLIRYTRCENP K			Carbamidomethyl (C)[15]		Mascot
2364.0925	2364.0969	0.0044	2	259	278	TQNLYYSAMSSHNLNYV NTK			Oxidation (M)[9]		Mascot
2455.1887	2455.196	0.0073	3	285	306	FQANDIQYQGASDILWTQ ASAK					Mascot
2776.4226	2776.4382	0.0156	6	136	160	LWVLDNGISGETSVCP S QIVVFDLK			Carbamidomethyl (C)[15]		Mascot
3066.5352	3066.5435	0.0083	3	307	334	AISGTGALFFGLVSDTAL GCWNENRPLK			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

Gel Idx/Pos	68/C12	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 9 [Apis mellifera]		gi 67010041	48657.5	8.7	515	100	405	100	98	17

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
786.4719	786.4551	-0.0168	-21	337	343	NIEIVAK					Mascot
819.4722	819.4573	-0.0149	-18	29	35	ANIFQVK					Mascot
849.5192	849.5167	-0.0025	-3	77	83	TFVTILR					Mascot
849.5192	849.5167	-0.0025	-3	77	83	TFVTILR	47	99.742			Mascot
1017.4999	1017.4969	-0.003	-3	128	135	IAIDEWDR					Mascot
1017.4999	1017.4969	-0.003	-3	128	135	IAIDEWDR	79	100			Mascot
1041.5323	1041.5289	-0.0034	-3	64	72	NNVPIDVDR					Mascot
1109.5586	1109.5573	-0.0013	-1	359	367	QISSNIYER					Mascot
1250.7579	1250.7556	-0.0023	-2	397	407	ILNAPVNQLIR	74	100			Mascot
1250.7579	1250.7556	-0.0023	-2	397	407	ILNAPVNQLIR					Mascot
1285.6423	1285.6311	-0.0112	-9	223	233	LTSSTFVYDPR					Mascot
1285.6423	1285.6311	-0.0112	-9	223	233	LTSSTFVYDPR	44	99.496			Mascot
1371.6539	1371.6359	-0.018	-13	52	63	QAAIQSGEYNYK					Mascot
1384.5692	1384.5538	-0.0154	-11	40	50	YFDYNFGSDEK					Mascot
1443.7438	1443.7242	-0.0196	-14	84	97	NDGVPSSLNVISNK					Mascot
1507.7539	1507.7306	-0.0233	-15	368	379	QNNEYIWIVSNK					Mascot
1540.6703	1540.666	-0.0043	-3	40	51	YFDYNFGSDEKR					Mascot
1540.6703	1540.666	-0.0043	-3	40	51	YFDYNFGSDEKR	63	99.993			Mascot
1622.7921	1622.7896	-0.0025	-2	383	396	IANGDLNFNEVNFR					Mascot
1622.7921	1622.7896	-0.0025	-2	383	396	IANGDLNFNEVNFR	98	100			Mascot
2364.0925	2364.0923	-0.0002	0	259	278	TQNLYYSAMSSHNLNYV NTK			Oxidation (M)[9]		Mascot
2455.1887	2455.1936	0.0049	2	285	306	FQANDIQYQGASDILWTQ ASAK					Mascot
3066.5352	3066.5537	0.0185	6	307	334	AISSETGALFFGLVSDTAL GCWNENRPLK			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

Gel Idx/Pos	57/C13	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	major royal jelly protein 9 [Apis mellifera]		gi 67010041	48657.5	8.7	524	100	414	100	118	17

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
819.4722	819.4537	-0.0185	-23	29	35	ANIFQVK					Mascot
849.5192	849.5145	-0.0047	-6	77	83	TFVTILR					Mascot
849.5192	849.5145	-0.0047	-6	77	83	TFVTILR	36	97.08			Mascot
1017.4999	1017.4945	-0.0054	-5	128	135	IAIDEWDR	70	99.999			Mascot
1017.4999	1017.4945	-0.0054	-5	128	135	IAIDEWDR					Mascot
1041.5323	1041.5242	-0.0081	-8	64	72	NNVPIDVDR					Mascot
1109.5586	1109.5557	-0.0029	-3	359	367	QISSNIYER					Mascot
1250.7579	1250.7533	-0.0046	-4	397	407	ILNAPVNQLIR					Mascot
1250.7579	1250.7533	-0.0046	-4	397	407	ILNAPVNQLIR	77	100			Mascot
1285.6423	1285.6287	-0.0136	-11	223	233	LTSSTFVYDPR	56	99.969			Mascot
1285.6423	1285.6287	-0.0136	-11	223	233	LTSSTFVYDPR					Mascot
1371.6539	1371.6313	-0.0226	-16	52	63	QAAIQSGEYNYK					Mascot
1384.5692	1384.557	-0.0122	-9	40	50	YFDYNFGSDEK	57	99.975			Mascot
1384.5692	1384.557	-0.0122	-9	40	50	YFDYNFGSDEK					Mascot
1507.7539	1507.7352	-0.0187	-12	368	379	QNNHEYIWIWSNK					Mascot
1622.7921	1622.7909	-0.0012	-1	383	396	IANGDLNFNEVNFR					Mascot
1622.7921	1622.7909	-0.0012	-1	383	396	IANGDLNFNEVNFR	118	100			Mascot
1999.0072	1998.9987	-0.0085	-4	98	115	IGNGGPLLEPYPNWSWA K					Mascot
2299.2339	2299.1824	-0.0515	-22	397	415	ILNAPVNQLIRYTRCENP K			Carbamidomethyl (C)[15]		Mascot
2364.0925	2364.1045	0.012	5	259	278	TQNLYYSAMSSHNLNYV NTK			Oxidation (M)[9]		Mascot
2455.1887	2455.1992	0.0105	4	285	306	FQANDIQYQGASDILWTQ ASAK					Mascot
2776.4226	2776.4431	0.0205	7	136	160	LWWLDNGISGETSVCPS QIVVFDLK			Carbamidomethyl (C)[15]		Mascot
3066.5352	3066.5627	0.0275	9	307	334	AISETGALFFGLVSDTAL GCWNNRPLK			Carbamidomethyl (C)[20]		Mascot

2	PREDICTED: similar to yellow-h CG1629-PA, partial [Apis mellifera]		gi 66544205	22817.6	8.87	214	100	163	100	70	8
---	--	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information											
Calc. Mass	Obsrv. Mass	$\pm$ da	$\pm$ ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. % Modification		Rank Result Type		
819.4722	819.4537	-0.0185	-23	29	35 ANIFQVK				Mascot		
849.5192	849.5145	-0.0047	-6	77	83 TFWTILR				Mascot		
849.5192	849.5145	-0.0047	-6	77	83 TFWTILR	36	97.08		Mascot		
1017.4999	1017.4945	-0.0054	-5	128	135 IAIDEWDR	70	99.999		Mascot		
1017.4999	1017.4945	-0.0054	-5	128	135 IAIDEWDR				Mascot		
1041.5323	1041.5242	-0.0081	-8	64	72 NNVPIDVDR				Mascot		
1371.6539	1371.6313	-0.0226	-16	52	63 QAAIQSGEYNYK				Mascot		
1384.5692	1384.557	-0.0122	-9	40	50 YFDYNFGSDEK	57	99.975		Mascot		
1384.5692	1384.557	-0.0122	-9	40	50 YFDYNFGSDEK				Mascot		
1999.0072	1998.9987	-0.0085	-4	98	115 IGNGGPLLEYPNWSWA K				Mascot		
2776.4226	2776.4431	0.0205	7	136	160 LWVLDNGISGETSVCP S QIVVFDLK		Carbamidomethyl (C)[15]		Mascot		

Gel Idx/Pos	69/C14	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	58/C15	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	70/C16	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	59/C17	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
2	hyaluronidase [Apis mellifera]		gi 58585182	44231.5	8.67	290	100	113	100	53	21

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3568	-0.0038	-5	345	349	CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3568	-0.0038	-5	345	349	CLQFR	16	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.3506	-0.0183	-25	302	306	YQDRR					Mascot
739.3403	739.3344	-0.0059	-8	286	291	QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4575	0.0002	0	119	124	HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4756	-0.0072	-9	164	170	LSVEVVR					Mascot
888.4785	888.481	0.0025	3	313	320	ADLEATLR	39	98.305			Mascot
888.4785	888.481	0.0025	3	313	320	ADLEATLR					Mascot
941.4799	941.4824	0.0025	3	98	106	DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5646	-0.0227	-20	294	301	VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6077	-0.0244	-20	125	134	DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5315	-0.0019	-2	172	180	EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.5315	-0.0019	-2	172	180	EHPFWDDQR	53	99.929			Mascot
1234.6215	1234.5947	-0.0268	-22	153	162	QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5916	-0.0173	-13	68	77	YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6771	-0.018	-13	350	361	EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6401	-0.0209	-15	192	202	YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6266	-0.0079	-6	171	180	REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8729	-0.0048	-3	172	186	EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8685	-0.0144	-7	42	56	EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0184	-0.0166	-8	80	97	GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0879	-0.0037	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR	21	0			Mascot
2109.0916	2109.0879	-0.0037	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.0986	-0.0008	0	244	261	MSWLFESVDVLLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2296.2046	2296.2031	-0.0015	-1	78	97	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]		Mascot

Gel Idx/Pos	71/C18	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Chain A, Crystal Structure Of Bee Venom Hyaluronidase In Complex With Hyaluronic Acid Tetramer		gij15988109	40822.6	8.67	377	100	169	100	70	24

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.36	-0.0006	-1	313	317 CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.36	-0.0006	-1	313	317 CLQFR	23	24.975	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.3726	0.0037	5	270	274 YQDRR					Mascot
739.3403	739.3367	-0.0036	-5	254	259 QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4609	0.0036	5	87	92 HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4747	-0.0081	-10	132	138 LSVEVVR					Mascot
888.4785	888.476	-0.0025	-3	281	288 ADLEATLR					Mascot
888.4785	888.476	-0.0025	-3	281	288 ADLEATLR	36	96.777			Mascot
929.5778	929.5759	-0.0019	-2	131	138 KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.4769	-0.003	-3	66	74 DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5643	-0.023	-20	262	269 VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6088	-0.0233	-20	93	102 DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5276	-0.0058	-5	140	148 EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.5276	-0.0058	-5	140	148 EHPFWDDQR	70	99.999			Mascot
1234.6215	1234.5979	-0.0236	-19	121	130 QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5853	-0.0236	-18	36	45 YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.676	-0.0191	-14	318	329 EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6389	-0.0221	-16	160	170 YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6221	-0.0124	-9	139	148 REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8682	-0.0095	-5	140	154 EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8672	-0.0157	-8	10	24 EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0198	-0.0152	-8	48	65 GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0876	-0.004	-2	103	120 SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2109.0916	2109.0876	-0.004	-2	103	120 SFPGVGVIDFESWRPIFR	41	98.955			Mascot
2200.0994	2200.0996	0.0002	0	212	229 MSWLFESDVLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2238.0925	2238.093	0.0005	0	290	310 ITDLGADGFIWGSSDDIN					Mascot

2	hyaluronidase [Apis mellifera]	2296.2046	2296.2068	0.0022	1	46	65	TK FRGEEIAILYDPGMFPALL K	gi 58585182	44231.5	8.67	369	100	169	100	70	24	Mascot
		2366.1875	2366.196	0.0085	4	289	310	KITDLGADGFIIWGSSDDI NTK										

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.36	-0.0006	-1	345	349	CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.36	-0.0006	-1	345	349	CLQFR	23	24.975	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.3726	0.0037	5	302	306	YQDRR					Mascot
739.3403	739.3367	-0.0036	-5	286	291	QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4609	0.0036	5	119	124	HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4747	-0.0081	-10	164	170	LSVEVVR					Mascot
888.4785	888.476	-0.0025	-3	313	320	ADLEATLR					Mascot
888.4785	888.476	-0.0025	-3	313	320	ADLEATLR	36	96.777			Mascot
929.5778	929.5759	-0.0019	-2	163	170	KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.4769	-0.003	-3	98	106	DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5643	-0.023	-20	294	301	VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6088	-0.0233	-20	125	134	DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5276	-0.0058	-5	172	180	EHPFWDQQR					Mascot
1229.5334	1229.5276	-0.0058	-5	172	180	EHPFWDQQR	70	99.999			Mascot
1234.6215	1234.5979	-0.0236	-19	153	162	QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5853	-0.0236	-18	68	77	YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.676	-0.0191	-14	350	361	EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6389	-0.0221	-16	192	202	YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6221	-0.0124	-9	171	180	REHPFWDQQR					Mascot
1913.8777	1913.8682	-0.0095	-5	172	186	EHPFWDQQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8672	-0.0157	-8	42	56	EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0198	-0.0152	-8	80	97	GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0876	-0.004	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2109.0916	2109.0876	-0.004	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR	41	98.955			Mascot
2200.0994	2200.0996	0.0002	0	244	261	MSWLFESVDVLLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2238.0925	2238.093	0.0005	0	322	342	ITDLGADGFIIWGSSDDIN TK					Mascot
2296.2046	2296.2068	0.0022	1	78	97	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]		Mascot
2366.1875	2366.196	0.0085	4	321	342	KITDLGADGFIIWGSSDDI NTK					Mascot

Gel Idx/Pos	60/C19	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	PREDICTED: similar to PDGF- and VEGF-related factor 1 CG7103-PA [Apis mellifera]		gi 48094880	33125	6.06	192	100	137	100	89	10
---	--	--	-------------	-------	------	-----	-----	-----	-----	----	----

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1549.8472	1549.8248	-0.0224	-14	143	156 NFEILVTILESSGK					Mascot
1549.8472	1549.8248	-0.0224	-14	143	156 NFEILVTILESSGK	48	99.78			Mascot
1571.77	1571.8168	0.0468	30	65	78 DVPKDISFFSSSSR					Mascot
1622.7592	1622.7838	0.0246	15	1	13 MAQLEDTRYPDQR					Mascot
1684.6487	1684.6375	-0.0112	-7	215	226 MWHPDLCSCFCR			Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1889.819	1889.813	-0.006	-3	164	178 IVPIEHTQCTCDCK			Carbamidomethyl (C)[10,12,14]		Mascot
2071.812	2071.8191	0.0071	3	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2128.8335	2128.8333	-0.0002	0	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR			Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2128.8335	2128.8333	-0.0002	0	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR	89	100	Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2216.8892	2216.9761	0.0869	39	188	206 QSYVPEECTCACNNVDE QK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
2291.0608	2290.9673	-0.0935	-41	65	84 DVPKDISFFSSSSRMGET ER			Oxidation (M)[15]		Mascot
2307.9937	2307.989	-0.0047	-2	123	142 CGGCCTHLLSCQPTAT EIR			Carbamidomethyl (C)[1,4,5,12]		Mascot
2330.9321	2330.9419	0.0098	4	188	206 QSYVPEECTCACNNVDE QK			Carbamidomethyl (C)[8,10,12]		Mascot
2459.0271	2459.033	0.0059	2	188	207 QSYVPEECTCACNNVDE QKK			Carbamidomethyl (C)[8,10,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	72/C20	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Chain A, Crystal Structure Of Bee Venom Hyaluronidase In Complex With Hyaluronic Acid Tetramer		gij15988109	40822.6	8.67	398	100	184	100	67	23

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3574	-0.0032	-4	313	317 CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3574	-0.0032	-4	313	317 CLQFR	19	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.3678	-0.0011	-1	270	274 YQDRR					Mascot
739.3403	739.3333	-0.007	-9	254	259 QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4631	0.0058	7	87	92 HLQVFR					Mascot
801.4828	801.4755	-0.0073	-9	132	138 LSVEVVR					Mascot
801.4828	801.4755	-0.0073	-9	132	138 LSVEVVR	15	0			Mascot
888.4785	888.4768	-0.0017	-2	281	288 ADLEATLR	51	99.889			Mascot
888.4785	888.4768	-0.0017	-2	281	288 ADLEATLR					Mascot
929.5778	929.58	0.0022	2	131	138 KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.491	0.0111	12	66	74 DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5587	-0.0286	-25	262	269 VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6042	-0.0279	-23	93	102 DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5261	-0.0073	-6	140	148 EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.5261	-0.0073	-6	140	148 EHPFWDDQR	67	99.997			Mascot
1234.6215	1234.5951	-0.0264	-21	121	130 QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5812	-0.0277	-22	36	45 YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6729	-0.0222	-16	318	329 EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.637	-0.024	-17	160	170 YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6195	-0.015	-11	139	148 REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8636	-0.0141	-7	140	154 EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8616	-0.0213	-11	10	24 EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.009	-0.026	-13	48	65 GEEIAIYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.083	-0.0086	-4	103	120 SFPGVGVIDFESWRPIFR	50	99.859			Mascot
2109.0916	2109.083	-0.0086	-4	103	120 SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.0906	-0.0088	-4	212	229 MSWLFESVDVLLPSVYL			Oxidation (M)[1]		Mascot

		2238.0925	2238.0833	-0.0092	-4	290	310	R ITDLGADGFIIWGSSDDIN TK									Mascot
		2296.2046	2296.2034	-0.0012	-1	46	65	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]						Mascot
2	hyaluronidase [Apis mellifera]								gi 58585182	44231.5	8.67	390	100	184	100	67	23

Peptide Information																	
Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I.	% Modification	Rank	Result	Type					
723.3606	723.3574	-0.0032	-4	345	349	CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot						
723.3606	723.3574	-0.0032	-4	345	349	CLQFR	19	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot						
737.3689	737.3678	-0.0011	-1	302	306	YQDRR					Mascot						
739.3403	739.3333	-0.007	-9	286	291	QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot						
799.4573	799.4631	0.0058	7	119	124	HLQVFR					Mascot						
801.4828	801.4755	-0.0073	-9	164	170	LSVEVVR					Mascot						
801.4828	801.4755	-0.0073	-9	164	170	LSVEVVR	15	0			Mascot						
888.4785	888.4768	-0.0017	-2	313	320	ADLEATLR	51	99.889			Mascot						
888.4785	888.4768	-0.0017	-2	313	320	ADLEATLR					Mascot						
929.5778	929.58	0.0022	2	163	170	KLSVEVVR					Mascot						
941.4799	941.491	0.0111	12	98	106	DPNGNVVAR					Mascot						
1131.5873	1131.5587	-0.0286	-25	294	301	VLPYYWYK					Mascot						
1192.6321	1192.6042	-0.0279	-23	125	134	DHLINQIPDK					Mascot						
1229.5334	1229.5261	-0.0073	-6	172	180	EHPFWDDQR					Mascot						
1229.5334	1229.5261	-0.0073	-6	172	180	EHPFWDDQR	67	99.997			Mascot						
1234.6215	1234.5951	-0.0264	-21	153	162	QNWASLQPYK					Mascot						
1283.6089	1283.5812	-0.0277	-22	68	77	YGILQNWMKD			Oxidation (M)[8]		Mascot						
1346.6951	1346.6729	-0.0222	-16	350	361	EYLNNELGPAVK					Mascot						
1374.661	1374.637	-0.024	-17	192	202	YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot						
1385.6345	1385.6195	-0.015	-11	171	180	REHPFWDDQR					Mascot						
1913.8777	1913.8636	-0.0141	-7	172	186	EHPFWDDQRVEQAK					Mascot						
1987.8829	1987.8616	-0.0213	-11	42	56	EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot						
1993.035	1993.009	-0.026	-13	80	97	GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot						
2109.0916	2109.083	-0.0086	-4	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR	50	99.859			Mascot						
2109.0916	2109.083	-0.0086	-4	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot						
2200.0994	2200.0906	-0.0088	-4	244	261	MSWLFESQDVLLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot						
2238.0925	2238.0833	-0.0092	-4	322	342	ITDLGADGFIIWGSSDDIN TK					Mascot						
2296.2046	2296.2034	-0.0012	-1	78	97	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]		Mascot						

Gel Idx/Pos	61/C21	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	Chain A, Crystal Structure Of Bee Venom Hyaluronidase In Complex With Hyaluronic Acid Tetramer		gij15988109	40822.6	8.67	378	100	183	100	76	23

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3616	0.001	1	313	317 CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3616	0.001	1	313	317 CLQFR	21	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.372	0.0031	4	270	274 YQDRR					Mascot
739.3403	739.3368	-0.0035	-5	254	259 QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4615	0.0042	5	87	92 HLQVFR					Mascot
801.4828	801.477	-0.0058	-7	132	138 LSVEVVR					Mascot
888.4785	888.4785	0	0	281	288 ADLEATLR	61	99.987			Mascot
888.4785	888.4785	0	0	281	288 ADLEATLR					Mascot
929.5778	929.5754	-0.0024	-3	131	138 KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.4714	-0.0085	-9	66	74 DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5641	-0.0232	-21	262	269 VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6107	-0.0214	-18	93	102 DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5299	-0.0035	-3	140	148 EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.5299	-0.0035	-3	140	148 EHPFWDDQR	76	100			Mascot
1234.6215	1234.6005	-0.021	-17	121	130 QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5861	-0.0228	-18	36	45 YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6807	-0.0144	-11	318	329 EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6412	-0.0198	-14	160	170 YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6246	-0.0099	-7	139	148 REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8739	-0.0038	-2	140	154 EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8701	-0.0128	-6	10	24 EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0232	-0.0118	-6	48	65 GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0874	-0.0042	-2	103	120 SFPGVGVDFESWRPIFR	26	67.896			Mascot
2109.0916	2109.0874	-0.0042	-2	103	120 SFPGVGVDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.0967	-0.0027	-1	212	229 MSWLFESDVLLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2238.0925	2238.0974	0.0049	2	290	310 ITDLGADGFIWGSSDDIN					Mascot

	2296.2046	2296.2104	0.0058	3	46	65	TK FRGEEIAILYDPGMFPALL K		Oxidation (M)[14]					Mascot					
2	hyaluronidase [Apis mellifera]							gi 58585182	44231.5	8.67	370	100	183	100	76	23			

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I.	% Modification	Rank	Result Type
723.3606	723.3616	0.001	1	345	349	CLQFR			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
723.3606	723.3616	0.001	1	345	349	CLQFR	21	0	Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
737.3689	737.372	0.0031	4	302	306	YQDRR					Mascot
739.3403	739.3368	-0.0035	-5	286	291	QMTTSR			Oxidation (M)[2]		Mascot
799.4573	799.4615	0.0042	5	119	124	HLQVFR					Mascot
801.4828	801.477	-0.0058	-7	164	170	LSVEVVR					Mascot
888.4785	888.4785	0	0	313	320	ADLEATLR	61	99.987			Mascot
888.4785	888.4785	0	0	313	320	ADLEATLR					Mascot
929.5778	929.5754	-0.0024	-3	163	170	KLSVEVVR					Mascot
941.4799	941.4714	-0.0085	-9	98	106	DPNGNVVAR					Mascot
1131.5873	1131.5641	-0.0232	-21	294	301	VLPYYWYK					Mascot
1192.6321	1192.6107	-0.0214	-18	125	134	DHLINQIPDK					Mascot
1229.5334	1229.5299	-0.0035	-3	172	180	EHPFWDDQR					Mascot
1229.5334	1229.5299	-0.0035	-3	172	180	EHPFWDDQR	76	100			Mascot
1234.6215	1234.6005	-0.021	-17	153	162	QNWASLQPYK					Mascot
1283.6089	1283.5861	-0.0228	-18	68	77	YGILQNWMDK			Oxidation (M)[8]		Mascot
1346.6951	1346.6807	-0.0144	-11	350	361	EYLNNELGPAVK					Mascot
1374.661	1374.6412	-0.0198	-14	192	202	YGQLFMEETLK			Oxidation (M)[6]		Mascot
1385.6345	1385.6246	-0.0099	-7	171	180	REHPFWDDQR					Mascot
1913.8777	1913.8739	-0.0038	-2	172	186	EHPFWDDQRVEQEA					Mascot
1987.8829	1987.8701	-0.0128	-6	42	56	EFNVYWNVPTFMCHK			Carbamidomethyl (C)[13], Oxidation (M)[12]		Mascot
1993.035	1993.0232	-0.0118	-6	80	97	GEEIAILYDPGMFPALLK			Oxidation (M)[12]		Mascot
2109.0916	2109.0874	-0.0042	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR	26	67.896			Mascot
2109.0916	2109.0874	-0.0042	-2	135	152	SFPGVGVIDFESWRPIFR					Mascot
2200.0994	2200.0967	-0.0027	-1	244	261	MSWLFESEDVLLPSVYL R			Oxidation (M)[1]		Mascot
2238.0925	2238.0974	0.0049	2	322	342	ITDLGADGFIWGSSDDIN TK					Mascot
2296.2046	2296.2104	0.0058	3	78	97	FRGEEIAILYDPGMFPALL K			Oxidation (M)[14]		Mascot

Gel Idx/Pos	73/C22	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	PREDICTED: similar to PDGF- and VEGF-related factor 1 CG7103-PA [Apis mellifera]		gi 48094880	33125	6.06	203	100	139	100	69	11

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
738.3086	738.3049	-0.0037	-5	79	84 MGETER			Oxidation (M)[1]		Mascot
1549.8472	1549.8267	-0.0205	-13	143	156 NFEILVTILESSGK					Mascot
1549.8472	1549.8267	-0.0205	-13	143	156 NFEILVTILESSGK	59	99.988			Mascot
1571.77	1571.8223	0.0523	33	65	78 DVPKDISFFSSSSSR					Mascot
1622.7592	1622.8379	0.0787	48	1	13 MAQLEDTRYPDQR					Mascot
1684.6487	1684.6381	-0.0106	-6	215	226 MWHPDLCSCFCR	10		0 Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1684.6487	1684.6381	-0.0106	-6	215	226 MWHPDLCSCFCR					Mascot
1889.819	1889.8141	-0.0049	-3	164	178 IVPIEHTQCTCDCK			Carbamidomethyl (C)[10,12,14]		Mascot
2045.9202	2045.9153	-0.0049	-2	163	178 RIVPIEHTQCTCDCK			Carbamidomethyl (C)[11,13,15]		Mascot
2128.8335	2128.8403	0.0068	3	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR	69	99.999	Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2128.8335	2128.8403	0.0068	3	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR					Mascot
2216.8892	2216.9832	0.094	42	188	206 QSYVPEECTCACNNVDE QK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
2291.0608	2290.9814	-0.0794	-35	65	84 DVPKDISFFSSSSRMGET ER			Oxidation (M)[15]		Mascot
2307.9937	2307.9927	-0.001	0	123	142 CGGCCTHSLSCQPTAT EIR			Carbamidomethyl (C)[1,4,5,12]		Mascot

Gel Idx/Pos	62/C23	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	74/C24	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	PREDICTED: similar to PDGF- and VEGF-related factor 1 CG7103-PA [Apis mellifera]		gi 48094880	33125	6.06	186	100	130	100	68	10

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
807.3665	807.3407	-0.0258	-32	208	214 CNESNIK					Mascot
1549.8472	1549.8235	-0.0237	-15	143	156 NFEILVTILESSGK	50	99.893			Mascot
1549.8472	1549.8235	-0.0237	-15	143	156 NFEILVTILESSGK					Mascot
1571.77	1571.8252	0.0552	35	65	78 DVPKDISFFSSSSSR					Mascot
1622.7592	1622.7662	0.007	4	1	13 MAQLEDTRYPDQR					Mascot
1684.6487	1684.6362	-0.0125	-7	215	226 MWHPDLCSCFCR			Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1684.6487	1684.6362	-0.0125	-7	215	226 MWHPDLCSCFCR	12	0	Carbamidomethyl (C)[7,9,11], Oxidation (M)[1]		Mascot
1889.819	1889.8158	-0.0032	-2	164	178 IVPIEEHTQCTCDCK			Carbamidomethyl (C)[10,12,14]		Mascot
2128.8335	2128.8381	0.0046	2	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR			Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2128.8335	2128.8381	0.0046	2	227	243 ETQECSTGFYFDQNSCR	68	99.998	Carbamidomethyl (C)[5,16]		Mascot
2216.8892	2216.9868	0.0976	44	188	206 QSYVPEECTCACNNVDE QK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
2291.0608	2290.9797	-0.0811	-35	65	84 DVPKDISFFSSSSRMGET ER			Oxidation (M)[15]		Mascot
2307.9937	2307.9973	0.0036	2	123	142 CGGCCTHSLSCQPTAT EIR			Carbamidomethyl (C)[1,4,5,12]		Mascot

Analysis Information

Report Type	Protein-Peptide Summary by Spot	Analysis Type	Combined (MS+MS/MS)
Sample Set Name	Keity and Viswanatha 101606	Database	NCBIInr
Analysis Name	IDs NCBI metazoa all	Creation Date	10/13/2006 16:53:35
Reported By	10/20/2006 11:25:01 - admin	Last Modified	10/13/2006 20:14:27

MS Acq. : Proc. Methods (Unspecified) : (Unspecified)

Interpretation Method (Unspecified)

Gel Idx/Pos		125/F1	Instr./Gel Origin		ab347000122/05729 101306		Process Status		Analysis Succeeded				
Plate [#] Name		[1] 05729	Instrument Sample Name				Spectra		7				
Rank	Protein Name		Species	Accession No.		Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]			gil18996195		35861.8	5.95	181	100	130	100	85	6

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
791.4257	791.4228	-0.0029	-4	289	295 LSVETSR					Mascot
852.4937	852.4955	0.0018	2	204	211 ALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.9056	-0.0634	-36	222	237 VPQVYVLAPHPDELAK					Mascot
1775.969	1775.9056	-0.0634	-36	222	237 VPQVYVLAPHPDELAK	85	100			Mascot
1805.9908	1805.9241	-0.0667	-37	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK	45	99.881			Mascot
1805.9908	1805.9241	-0.0667	-37	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK					Mascot
2135.1357	2135.0515	-0.0842	-39	106	125 CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2642.1682	2642.0728	-0.0954	-36	248	269 DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot

2	immunoglobulin G heavy chain [Equus caballus]		gil9858135	46904.1	5.7	128	100	85	100	85	6
---	---	--	------------	---------	-----	-----	-----	----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
791.4257	791.4228	-0.0029	-4	404	410 LSVETSR					Mascot
852.4937	852.4955	0.0018	2	319	326 ALPAPVER					Mascot

	1085.5659	1085.5914	0.0255	23	211	220	IVVEGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot					
	1775.969	1775.9056	-0.0634	-36	337	352	VPQVYVLAPHPDELAK					Mascot					
	1775.969	1775.9056	-0.0634	-36	337	352	VPQVYVLAPHPDELAK	85	100			Mascot					
	2135.1357	2135.0515	-0.0842	-39	221	240	CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot					
	2642.1682	2642.0728	-0.0954	-36	363	384	DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot					
3	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]							gi 42528293		35697.9	7.71	82	99.43	28	93.983	26	7

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I.	% Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4374	-0.0149	-18	290	296	LTVETNR					Mascot
849.4498	849.4435	-0.0063	-7	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4955	0.0018	2	205	212	ALPAPVER					Mascot
1084.611	1084.597	-0.014	-13	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.597	-0.014	-13	213	222	TISKPTGQPR	26	90.464			Mascot
1308.7059	1308.6772	-0.0287	-22	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1541.7158	1541.6887	-0.0271	-18	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
2142.9866	2142.9128	-0.0738	-34	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K	2	0			Mascot
2142.9866	2142.9128	-0.0738	-34	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot

Gel Idx/Pos	137/F2	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	126/F3	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 18996195	35861.8	5.95	130	100	100	100	65	4
---	---	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.4946	0.0009	1	204	211	ALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.9058	-0.0632	-36	222	237	VPQVYVLAPHPDELA					Mascot
1775.969	1775.9058	-0.0632	-36	222	237	VPQVYVLAPHPDELA	65	99.999			Mascot
1805.9908	1805.9272	-0.0636	-35	179	194	VVSVLPIQHQDWLSGK	35	98.737			Mascot
1805.9908	1805.9272	-0.0636	-35	179	194	VVSVLPIQHQDWLSGK					Mascot
2135.1357	2135.0562	-0.0795	-37	106	125	CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

2	immunoglobulin G heavy chain [Equus caballus]		gi 9858135	46904.1	5.7	89	99.875	65	99.999	65	4
---	---	--	------------	---------	-----	----	--------	----	--------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
852.4937	852.4946	0.0009	1	319	326	ALPAPVER					Mascot
1085.5659	1085.5927	0.0268	25	211	220	IVVEGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1775.969	1775.9058	-0.0632	-36	337	352	VPQVYVLAPHPDELA					Mascot
1775.969	1775.9058	-0.0632	-36	337	352	VPQVYVLAPHPDELA	65	99.999			Mascot
2135.1357	2135.0562	-0.0795	-37	221	240	CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot

3	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	81	99.175	36	98.89	36	6
---	---	--	-------------	---------	------	----	--------	----	-------	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
849.4498	849.4414	-0.0084	-10	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4946	0.0009	1	205	212	ALPAPVER					Mascot
1084.611	1084.5909	-0.0201	-19	213	222	TISKPTGQPR	36	98.89			Mascot
1084.611	1084.5909	-0.0201	-19	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1308.7059	1308.6769	-0.029	-22	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot

1541.7158	1541.7051	-0.0107	-7	249	260	DFYPTDIDIEWK
2142.9866	2142.9106	-0.076	-35	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K

Mascot

Mascot

Gel Idx/Pos	138/F4	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gij18996195	35861.8	5.95	167	100	116	100	91	6
---	---	--	-------------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
791.4257	791.4264	0.0007	1	289	295 LSVETSR					Mascot
852.4937	852.4973	0.0036	4	204	211 ALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.907	-0.062	-35	222	237 VPQVYVLAPHPDELA					Mascot
1775.969	1775.907	-0.062	-35	222	237 VPQVYVLAPHPDELA	91	100			Mascot
1805.9908	1805.9282	-0.0626	-35	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK	25	82.981			Mascot
1805.9908	1805.9282	-0.0626	-35	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK					Mascot
2135.1357	2135.0581	-0.0776	-36	106	125 CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2642.1682	2642.0894	-0.0788	-30	248	269 DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot

2	immunoglobulin G heavy chain [Equus caballus]		gij9858135	46904.1	5.7	134	100	91	100	91	6
---	---	--	------------	---------	-----	-----	-----	----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
791.4257	791.4264	0.0007	1	404	410 LSVETSR					Mascot
852.4937	852.4973	0.0036	4	319	326 ALPAPVER					Mascot
1085.5659	1085.5946	0.0287	26	211	220 IVVEGSPCPK			Carbamidomethyl (C)[8]		Mascot
1775.969	1775.907	-0.062	-35	337	352 VPQVYVLAPHPDELA					Mascot
1775.969	1775.907	-0.062	-35	337	352 VPQVYVLAPHPDELA	91	100			Mascot
2135.1357	2135.0581	-0.0776	-36	221	240 CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2642.1682	2642.0894	-0.0788	-30	363	384 DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot

Gel Idx/Pos	127/F5	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 5 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 18996195	35861.8	5.95	147	100	95	100	80	6

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Sequence Seq.	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
791.4257	791.4064	-0.0193	-24	289	295 LSVETSR					Mascot
852.4937	852.4936	-0.0001	0	204	211 ALPAPVER					Mascot
1775.969	1775.9047	-0.0643	-36	222	237 VPQVYVLAPHPDELAK					Mascot
1775.969	1775.9047	-0.0643	-36	222	237 VPQVYVLAPHPDELAK	80	100			Mascot
1805.9908	1805.9247	-0.0661	-37	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK	15	0			Mascot
1805.9908	1805.9247	-0.0661	-37	179	194 VVSVLPIQHQDWLSGK					Mascot
2135.1357	2135.0537	-0.082	-38	106	125 CPAPELPGGPSVFIFPPK PK			Carbamidomethyl (C)[1]		Mascot
2642.1682	2642.072	-0.0962	-36	248	269 DFYPPEIDVEWQSNEHP EPEGK					Mascot

Gel Idx/Pos	139/F6	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	142	100	60	99.996	46	9

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.458	0.0057	7	290	296	LTVETNR					Mascot
833.4549	833.4584	0.0035	4	127	133	DVLMISR					Mascot
849.4498	849.4462	-0.0036	-4	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
849.4498	849.4462	-0.0036	-4	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.5027	0.009	11	205	212	ALPAPVER					Mascot
1084.611	1084.6028	-0.0082	-8	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.6028	-0.0082	-8	213	222	TISKPTGQPR	46	99.888			Mascot
1119.6885	1119.6589	-0.0296	-26	180	189	VVSVLPIQHK					Mascot
1308.7059	1308.6799	-0.026	-20	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1541.7158	1541.6653	-0.0505	-33	249	260	DFYPTDIDIEWK	14	0			Mascot
1541.7158	1541.6653	-0.0505	-33	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
1763.8381	1763.7765	-0.0616	-35	78	93	SQTYICNVAHPASSTK			Carbamidomethyl (C)[6]		Mascot
2142.9866	2142.9062	-0.0804	-38	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot
2142.9866	2142.9062	-0.0804	-38	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot

Gel Idx/Pos	128/F7	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	140/F8	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.71	320	100	221	100	86	10

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4489	-0.0034	-4	290	296	LTVETNR					Mascot
833.4549	833.4529	-0.002	-2	127	133	DVLMISR					Mascot
849.4498	849.4382	-0.0116	-14	127	133	DVLMISR			Oxidation (M)[4]		Mascot
849.4498	849.4382	-0.0116	-14	127	133	DVLMISR	2	0	Oxidation (M)[4]		Mascot
852.4937	852.4926	-0.0011	-1	205	212	ALPAPVER					Mascot
905.5124	905.4824	-0.03	-33	241	248	VSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1084.611	1084.6055	-0.0055	-5	213	222	TISKPTGQPR					Mascot
1084.611	1084.6055	-0.0055	-5	213	222	TISKPTGQPR	53	99.972			Mascot
1119.6885	1119.6653	-0.0232	-21	180	189	VVSVLPQHK					Mascot
1308.7059	1308.7037	-0.0022	-2	223	233	EPQVYVLAPHR					Mascot
1308.7059	1308.7037	-0.0022	-2	223	233	EPQVYVLAPHR	83	100			Mascot
1541.7158	1541.7025	-0.0133	-9	249	260	DFYPTDIDIEWK	86	100			Mascot
1541.7158	1541.7025	-0.0133	-9	249	260	DFYPTDIDIEWK					Mascot
2142.9866	2142.9871	0.0005	0	271	289	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot
2617.261	2617.1008	-0.1602	-61	102	126	ECNGGCPAECLQVGPSV FIFPPKPK					Mascot

Gel Idx/Pos	129/F9	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin G light chain [Equus caballus]		gi 9858133	24185.9	6.4	182	100	141	100	81	5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3755	0.008	11	208	213	TSAQWK					Mascot
729.3889	729.3914	0.0025	3	79	85	VSGVPDR					Mascot
1031.5156	1031.5146	-0.001	-1	199	207	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5146	-0.001	-1	199	207	YAASSYLTR	81	100			Mascot
1476.7289	1476.7272	-0.0017	-1	177	190	VNDAVTTDGVQTTR	53	99.975			Mascot
1476.7289	1476.7272	-0.0017	-1	177	190	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1516	-0.0056	-3	157	176	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2221.1572	2221.1516	-0.0056	-3	157	176	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK	6	0	Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

2	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	178	100	141	100	81	4
---	-----------------------	--	-----------	---------	------	-----	-----	-----	-----	----	---

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3755	0.008	11	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.5146	-0.001	-1	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5146	-0.001	-1	127	135	YAASSYLTR	81	100			Mascot
1476.7289	1476.7272	-0.0017	-1	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	53	99.975			Mascot
1476.7289	1476.7272	-0.0017	-1	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1516	-0.0056	-3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2221.1572	2221.1516	-0.0056	-3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK	6	0	Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	141/F10	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin G light chain [Equus caballus]		gi 9858133	24185.9	6.4	227	100	173	100	75	6

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.376	0.0085	12	208	213	TSAQWK					Mascot
720.3675	720.376	0.0085	12	208	213	TSAQWK	17	0			Mascot
729.3889	729.3835	-0.0054	-7	79	85	VSGVPDR					Mascot
1031.5156	1031.515	-0.0006	-1	199	207	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.515	-0.0006	-1	199	207	YAASSYLTR	75	100			Mascot
1144.5303	1144.5319	0.0016	1	214	223	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7291	0.0002	0	177	190	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
1476.7289	1476.7291	0.0002	0	177	190	VNDAVTTDGVQTTR	51	99.954			Mascot
2221.1572	2221.1582	0.001	0	157	176	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK	30	93.303	Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2221.1572	2221.1582	0.001	0	157	176	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK					Mascot

Gel Idx/Pos	130/F11	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin G light chain [Equus caballus]		gi 9858133	24185.9	6.4	208	100	154	100	78	6

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3751	0.0076	11	208	213	TSAQWK					Mascot
729.3889	729.3912	0.0023	3	79	85	VSGVPDR					Mascot
1031.5156	1031.5145	-0.0011	-1	199	207	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5145	-0.0011	-1	199	207	YAASSYLTR	78	100			Mascot
1144.5303	1144.5229	-0.0074	-6	214	223	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7189	-0.01	-7	177	190	VNDAVTTDGVQTTR	76	100			Mascot
1476.7289	1476.7189	-0.01	-7	177	190	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1416	-0.0156	-7	157	176	ATVVCLISDFSPSGLEVIWK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	142/F12	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	191	100	157	100	79	4

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3678	0.0003	0	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.5156	0	0	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5156	0	0	127	135	YAASSYLTR	79	100			Mascot
1144.5303	1144.5366	0.0063	6	142	151	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7157	-0.0132	-9	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	78	100			Mascot
1476.7289	1476.7157	-0.0132	-9	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot

Gel Idx/Pos	131/F13	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	199	100	150	100	75	5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.373	0.0055	8	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.5162	0.0006	1	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5162	0.0006	1	127	135	YAASSYLTR	75	100			Mascot
1144.5303	1144.5132	-0.0171	-15	142	151	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7217	-0.0072	-5	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	74	100			Mascot
1476.7289	1476.7217	-0.0072	-5	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1445	-0.0127	-6	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVIWK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	143/F14	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	139	100	116	100	76	3

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3589	-0.0086	-12	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.5138	-0.0018	-2	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5138	-0.0018	-2	127	135	YAASSYLTR	76	100			Mascot
1476.7289	1476.7196	-0.0093	-6	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	40	99.667			Mascot
1476.7289	1476.7196	-0.0093	-6	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot

Gel Idx/Pos	132/F15	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	179	100	130	100	84	5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3795	0.012	17	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.5159	0.0003	0	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5159	0.0003	0	127	135	YAASSYLTR	84	100			Mascot
1144.5303	1144.5106	-0.0197	-17	142	151	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7236	-0.0053	-4	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	17	5.48			Mascot
1476.7289	1476.7236	-0.0053	-4	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1633	0.0061	3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK	28	93.2	Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2221.1572	2221.1633	0.0061	3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	144/F16	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	233	100	183	100	81	5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3687	0.0012	2	136	141	TSAQWK					Mascot
720.3675	720.3687	0.0012	2	136	141	TSAQWK	13	0			Mascot
1031.5156	1031.5177	0.0021	2	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5177	0.0021	2	127	135	YAASSYLTR	81	100			Mascot
1144.5303	1144.5223	-0.008	-7	142	151	SYSSVSCQVK	31	95.628	Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1144.5303	1144.5223	-0.008	-7	142	151	SYSSVSCQVK					Mascot
1476.7289	1476.7239	-0.005	-3	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
1476.7289	1476.7239	-0.005	-3	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	58	99.991			Mascot
2221.1572	2221.1501	-0.0071	-3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVIWK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	133/F17	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	145/F18	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 7 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528291	35698.8	7.7	142	100	107	100	68	5

Protein Group

immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]

gi|42528293

35697.9

7.7100
000381
4697

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.453	0.0007	1	291	297	LTVETNR					Mascot
905.5124	905.4881	-0.0243	-27	242	249	VSVTCLVK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
1308.7059	1308.6821	-0.0238	-18	224	234	EPQVYVLAPHR					Mascot
1541.7158	1541.6937	-0.0221	-14	250	261	DFYPTDIDIEWK					Mascot
1541.7158	1541.6937	-0.0221	-14	250	261	DFYPTDIDIEWK	68	99.999			Mascot
2142.9866	2142.9805	-0.0061	-3	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K	38	99.392			Mascot
2142.9866	2142.9805	-0.0061	-3	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot

Gel Idx/Pos	134/F19	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

1	immunoglobulin gamma 7 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528291	35698.8	7.7	78	98.534	60	99.996	60	3
---	---	--	-------------	---------	-----	----	--------	----	--------	----	---

Protein Group

	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.7100 000381 4697						
--	---	--	-------------	---------	--------------------------	--	--	--	--	--	--

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4475	-0.0048	-6	291	297	LTVETNR					Mascot
1541.7158	1541.6973	-0.0185	-12	250	261	DFYPTDIDIEWK					Mascot
2142.9866	2142.9844	-0.0022	-1	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K	60	99.996			Mascot
2142.9866	2142.9844	-0.0022	-1	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYS K					Mascot

Gel Idx/Pos	146/F20	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	immunoglobulin gamma 7 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528291	35698.8	7.7	201	100	173	100	97	4
	Protein Group										
	immunoglobulin gamma 4 heavy chain [Equus caballus]		gi 42528293	35697.9	7.7100						
	immunoglobulin gamma 4 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 15027001	36537.2	0003814697						
	immunoglobulin gamma 7 heavy chain constant region [Equus caballus]		gi 15027003	36471.2	7.28000020980835						
					8.03999996185303						

Peptide Information											
Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
832.4523	832.4435	-0.0088	-11	291	297	LTVETNR					Mascot
1308.7059	1308.6874	-0.0185	-14	224	234	EPQVYVLAPHR					Mascot
1541.7158	1541.7	-0.0158	-10	250	261	DFYPTDIDIEWK	76	100			Mascot
1541.7158	1541.7	-0.0158	-10	250	261	DFYPTDIDIEWK					Mascot
2142.9866	2142.9905	0.0039	2	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYSK					Mascot
2142.9866	2142.9905	0.0039	2	272	290	YSTTPAQLDSDGSYFLYSK	97	100			Mascot

Gel Idx/Pos	135/F21	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	98	99.986	83	100	75	2

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1031.5156	1031.5162	0.0006	1	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5162	0.0006	1	127	135	YAASSYLTR	75	100			Mascot
1476.7289	1476.7224	-0.0065	-4	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	8	0			Mascot
1476.7289	1476.7224	-0.0065	-4	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot

Gel Idx/Pos	147/F22	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	143	100	115	100	81	3

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
1031.5156	1031.5159	0.0003	0	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.5159	0.0003	0	127	135	YAASSYLTR	81	100			Mascot
1476.7289	1476.7249	-0.004	-3	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
1476.7289	1476.7249	-0.004	-3	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	34	98.203			Mascot
2221.1572	2221.1497	-0.0075	-3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot
2221.1572	2221.1497	-0.0075	-3	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVI WK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	136/F23	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306	Process Status	Analysis Succeeded
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name		Spectra	7

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
1	lambda-immunoglobulin		gi 291474	17422.5	8.35	208	100	159	100	80	5

Peptide Information

Calc. Mass	Obsrv. Mass	± da	± ppm	Start Seq.	End Seq.	Sequence	Ion Score	C. I. %	Modification	Rank	Result Type
720.3675	720.3713	0.0038	5	136	141	TSAQWK					Mascot
1031.5156	1031.52	0.0044	4	127	135	YAASSYLTR					Mascot
1031.5156	1031.52	0.0044	4	127	135	YAASSYLTR	78	100			Mascot
1144.5303	1144.5171	-0.0132	-12	142	151	SYSSVSCQVK			Carbamidomethyl (C)[7]		Mascot
1476.7289	1476.7183	-0.0106	-7	105	118	VNDAVTTDGVQTTR	80	100			Mascot
1476.7289	1476.7183	-0.0106	-7	105	118	VNDAVTTDGVQTTR					Mascot
2221.1572	2221.1621	0.0049	2	85	104	ATVVCLISDFSPSGLEVIWK			Carbamidomethyl (C)[5]		Mascot

Gel Idx/Pos	149/G1	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	161/G2	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found

Gel Idx/Pos	150/G3	Instr./Gel Origin	ab347000122/05729 101306				Process Status	Analysis Succeeded			
Plate [#] Name	[1] 05729	Instrument Sample Name					Spectra	7			

Rank	Protein Name	Species	Accession No.	Protein MW	Protein PI	Protein Score	Protein Score C. I. %	Total Ion Score	Total Ion C. I. %	Best Ion Score	Pep. Count
------	--------------	---------	---------------	------------	------------	---------------	-----------------------	-----------------	-------------------	----------------	------------

No Confirmed Protein Found