

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 914 176**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.09.2014 PCT/IB2014/002744**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.10.2015 WO15159118**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.09.2014 E 14889702 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2022 EP 3046588**

54 Título: **Composiciones de una vacuna glucídica para inducir respuestas inmunitarias y usos de las mismas en el tratamiento de cáncer**

30 Prioridad:
17.09.2013 US 201361878982 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.06.2022

73 Titular/es:
**OBI PHARMA, INC. (100.0%)
Room W1907, 19F, 3 Yuan-Qu Street, Nanking
District
Tapei City, 11503, TW**

72 Inventor/es:
**YU, CHENG-DER TONY;
WANG, CHENG-CHI IRENE;
LEE, WEI-HAN;
LIN, YU-CHEN;
LIN, YU-HSIN TOM y
CHEN, I-JU**

74 Agente/Representante:
ARIAS SANZ, Juan

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 914 176 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de una vacuna glucídica para inducir respuestas inmunitarias y usos de las mismas en el tratamiento de cáncer

5 **Campo de la invención**

La invención abarca composiciones de inmunoterapia contra el cáncer en general y glucogonjugados inmunogénicos capaces de provocar respuestas inmunitarias anticáncer en particular, como se define en las reivindicaciones.

10 **Antecedentes de la invención**

El uso de conjugados glucídicos sintéticos para provocar anticuerpos se demostró primero por Goebel y Avery en 1929. (Goebel, W. F., y Avery, O. T., J. Exp. Med., 1929, 50, 521; Avery, O. T., y Goebel, W. F., J. Exp. Med., 1929, 50, 533). Los hidratos de carbono estaban unidos a proteínas portadoras a través de los glucósidos de bencenodiazonio. La inmunización de conejos con los antígenos sintéticos generó anticuerpos policlonales. Otros trabajadores (Allen, P. Z., y Goldstein, I. J., Biochemistry, 1967, 6, 3029; Rude, E., y Delius, M. M., Carbohydr. Res., 1968, 8, 219; Himmelspach, K., et al., Eur. J. Immunol., 1971, 1, 106; Fielder, R. J., et al., J. Immunol., 1970, 105, 265) desarrollaron técnicas similares para la conjugación de hidratos de carbono a portadores proteicos.

Los glucoconjugados se pueden usar en inmunoterapia activa generada de vacunaciones para dirigirse específicamente a agentes diana conocidos en células tumorales. La respuesta a antígenos glucídicos normalmente no consigue el uso de células T, que ayudaría en el rechazo del cuerpo del tumor. Mientras se piensa que la probabilidad de rechazo del tumor completo como un resultado de vacunación con un conjugado es improbable, tales tratamientos estimularán la vigilancia inmunitaria y se puede reducir la recidiva de nuevas colonias tumorales (Dennis, J., Oxford Glycosystems Glyconews Second, 1992; Lloyd, K. O., en Specific Immunotherapy of Cancer with Vaccines, 1993, New York Academy of Sciences, 50-58). Toyokuni y Singhal han descrito un glucoconjugado sintético (Toyokuni, T., et al., J. Am. Chem. Soc., 1994, 116, 395) que estimuló un título de IgG cuantificable, un resultado que es significativo ya que una respuesta de IgG en general se asocia con reclutamiento de células T auxiliares.

El antígeno glucídico Globo H (Fuc α 1 \rightarrow 2 Gal β 1 \rightarrow 3 GalNAc β 1 \rightarrow 3 Gal α 1 \rightarrow 4 Gal β 1 \rightarrow 4 Glc) se aisló primero como un glucolípido unido a ceramida y se identificó en 1984 por Hakomori et al. de células de cáncer de mama MCF-7. (Bremer E G, et al. (1984) J Biol Chem 259:14773-14777). Estudios adicionales con anticuerpos monoclonales anti-Globo H mostraron que Globo H estaba presente en muchos otros cánceres, incluyendo cánceres de próstata, gástrico, pancreático, pulmón, ovárico y colon y solo expresión mínima en la superficie luminal de tejido secretor normal que no es fácilmente accesible al sistema inmunitario. (Ragupathi G, et al. (1997) Angew Chem Int Ed 36:125-128). Además, se ha establecido que el suero de paciente de cáncer de mama contiene alto nivel de anticuerpo anti-Globo H. (Gilewski T et al. (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:3270-3275; Huang C-Y, et al. (2006) Proc Natl Acad Sci USA 103:15-20; Wang C-C, et al. (2008) Proc Natl Acad Sci USA 105(33):11661-11666). Pacientes con tumores positivos para Globo H mostraron una supervivencia más corta en comparación con pacientes con tumores negativos para Globo H. (Chang, Y-J, et al. (2007) Proc Natl Acad Sci USA 104(25):10299-10304). Estos hallazgos hacen Globo H, un epítipo hexasacárido, un marcador tumoral atractivo y una diana viable para el desarrollo de vacunas contra el cáncer. El documento US 2004/208884 A1 divulga construcciones multiantigénicas agrupadas y métodos para la síntesis de las mismas, así como métodos para el tratamiento de cáncer, y métodos para inducir anticuerpos en un sujeto.

Se mostró que una vacuna de Globo H sintética basada en un conjugado GloboH-MHCC-KLH en combinación con un adyuvante inmunológico inducía principalmente anticuerpos IgM y a un menor nivel IgG en pacientes tanto de cáncer de próstata como de mama metastásico. En un ensayo clínico en fase I, la vacuna también mostró toxicidad mínima con reacciones en la piel transitorias en el sitio de vacunación. (Gilewski T et al. (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:3270-3275; Ragupathi G, et al. (1997) Angew Chem Int Ed 36:125-128; Slovin S F et al (1997) Proc Natl Acad Sci USA 96:5710-5715). Los síntomas similares a gripe leve que se han observado en algunos de los pacientes estaban probablemente asociados con el efecto secundario de QS-21. Se ha descrito que una vacuna pentavalente que contenía cinco antígenos glucídicos asociados a cáncer de próstata y mama -Globo-H, GM2, STn, TF y Tn- conjugados a la proteína portadora modificada con maleimida KLH produce suero anti-Globo H con títulos mayores de IgG que IgM en ensayos ELISA. (Zhu J. et al. (2009) J. Am. Chem. Soc. 131(26):9298-9303).

Se sabe que KLH contiene subunidades polipeptídicas glucosiladas que se ensamblan para formar partículas decaméricas (10-mero), didecaméricas (20-mero) y mayores. Estas estructuras multiméricas se han caracterizado por técnicas de ultracentrifugación que dan coeficientes de sedimentación de 11-19S para las subunidades disociadas y 92-107S para los multímeros didecaméricos. Se sabe además que una variedad de factores puede afectar la distribución de tamaño de hemocianinas de moluscos, incluyendo KLH. Estos factores incluyen fuerza iónica, pH, temperatura, pO₂, y la disponibilidad de ciertos cationes divalentes, notablemente calcio y magnesio. Los presentes inventores han desarrollado una composición con eficacia aumentada que está compuesta principalmente de dímeros y trímeros de KLH unidos a una pluralidad de fracciones Globo H.

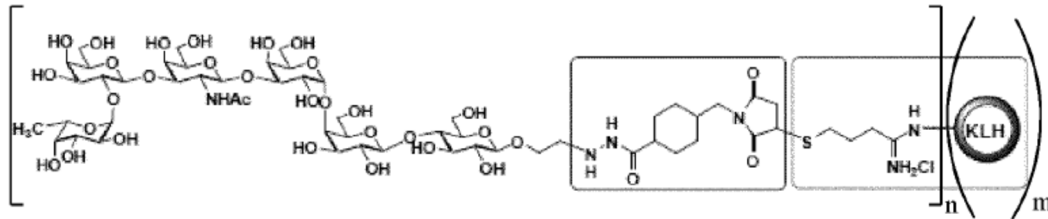
Mientras se han desarrollado vacunas para provocar respuestas de anticuerpos contra Globo H, sus eficacias anticáncer son insatisfactorias debido a la baja antigenicidad de Globo H. Hay una necesidad para una nueva vacuna capaz de provocar altos niveles de respuestas inmunitarias que se dirigen a Globo H.

5 **Compendio de la invención**

La presente invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención se refiere a un compuesto que comprende la estructura:

10



en donde n es independientemente un número entero de 1 a 1500, m es independientemente un número entero de 1 a 10, en donde cada una de las fracciones Globo H está covalentemente unida a la fracción KLH en un residuo de aminoácido básico, en donde el compuesto tiene una proporción de epítipo que varía desde 750 a 3000, y en donde la fracción KLH es una fracción KLH tiolada que se almacena en gas inerte hasta su conjugación con las fracciones Globo H.

15

En algunas formas de realización, m es 1 y n es desde 1 a 150, m es 2 y n es desde 1 a 300, m es 3 y n es desde 1 a 450, m es 4 y n es desde 1 a 600, m es 5 y n es desde 1 a 750, m es 6 y n es desde 1 a 900, m es 7 y n es desde 1 a 1050, m es 8 y n es desde 1 a 1200, m es 9 y n es desde 1 a 1350, o m es 10 y n es desde 1 a 1500.

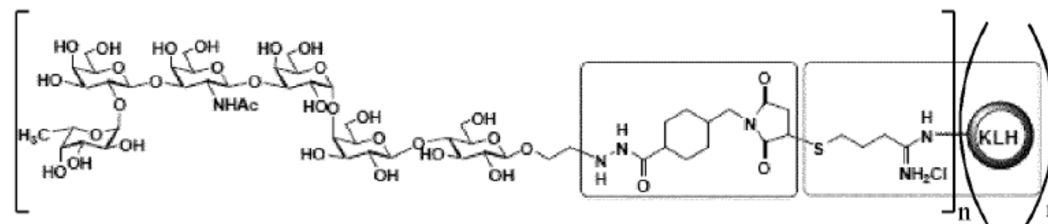
20

En algunas formas de realización, la proporción del número de fracciones Globo H respecto a fracciones KLH es desde 1:1 a 150:1 expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH monomérica, el número de fracciones Globo H es de 1 a 150, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH monomérica, el número de fracciones Globo H es de 1 a 300, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH dimérica, el número de fracciones Globo H es de 1 a 450, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH trimérica, el número de fracciones Globo H es de 1 a 600, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH tetramérica, o el número de fracciones Globo H es de 1 a 750, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH pentamérica.

25

30

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende: un compuesto que comprende la estructura:



35

en donde n es independientemente un número entero de 1 a 1500, m es independientemente un número entero de 1 a 10, y opcionalmente un soporte farmacéuticamente aceptable, en donde cada una de las fracciones Globo H está covalentemente unida a la fracción KLH en un residuo de aminoácido básico, en donde el compuesto tiene una proporción de epítipo que varía desde 750 a 3000, y en donde la fracción KLH es una fracción KLH tiolada que se almacena en gas inerte hasta su conjugación con las fracciones Globo H.

40

En algunas formas de realización, m es 1 y n es desde 1 a 150, m es 2 y n es desde 1 a 300, m es 3 y n es desde 1 a 450, m es 4 y n es desde 1 a 600, m es 5 y n es desde 1 a 750, m es 6 y n es desde 1 a 900, m es 7 y n es desde 1 a 1050, m es 8 y n es desde 1 a 1200, m es 9 y n es desde 1 a 1350, o m es 10 y n es desde 1 a 1500.

45

En algunas formas de realización, el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 150:1, expresado como el número de molécula Globo H respecto a una fracción KLH monomérica, el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracciones KLH es desde 1:1 a 300:1, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH dimérica, el número de fracciones Globo H respecto a subunidades

50

de fracciones KLH es desde 1:1 a 450:1, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH trimérica, el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracciones KLH es desde 1:1 a 600:1, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH tetramérica, o el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracciones KLH es desde 1:1 a 750:1, expresado como el número de moléculas Globo H respecto a una fracción KLH pentamérica.

En algunas formas de realización, el compuesto comprende monómeros, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o combinaciones de los mismos de la fracción KLH. En algunas formas de realización, del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son monómeros, del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son dímeros, del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son trímeros, del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son tetrámeros, del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son pentámeros, o del 1% al 99% de las fracciones KLH en la composición farmacéutica son monómeros, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o combinaciones de los mismos.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica además comprende

- un adyuvante, en donde el adyuvante es adyuvante de Freund completo e incompleto, moléculas de receptores tipo Toll, LPS, lipoproteínas, lipopéptidos, flagelina, ARN bicatenario, ADN vírico, islas CpG sin metilar, levamisol, bacilo de Calmette-Guerin, isoprinosina, zadaxin, antagonistas de PD-1, anticuerpos contra PD-1, antagonistas de CTLA, anticuerpos contra CTLA, interleuquina, citoquinas, GM-CSF, basado en sal de aluminio, fosfato de aluminio, alumbre, hidróxido de aluminio, liposomas, agonistas de TLR2, nanopartículas, monofosforil lípido A, una saponina OBI-821, nanoemulsiones de aceite en agua, y partículas similares a bacterias,
- una citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL-2, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-21, GM-CSF y TGF- β ,
- una quimioquina, o
- un agente seleccionado del grupo que consiste en agentes terapéuticos hormonales, terapia de anticuerpos monoclonales, quimioterapia, moduladores de receptor retinoide, agentes citotóxicos/citostáticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de prenil-proteína transferasa, inhibidores de HMG-CoA reductasa, mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, inhibidores de angiogénesis, inhibidores de la ruta de señalización de proliferación y supervivencia celular, agentes inductores de apoptosis, agentes que interfieren con puntos de control del ciclo celular, agentes que interfieren con receptores tirosinas quinasa (RTK), inhibidores de diana de rapamicina de mamífero (mTOR), inhibidores del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), bloqueantes de integrinas, AINE, agonistas de PPAR, inhibidores de multirresistencia a fármacos (MDR) inherente, agentes antieméticos, agentes útiles en el tratamiento de anemia, agentes útiles en el tratamiento de neutropenia, fármacos de potenciación inmunológica, bifosfonatos, inhibidores de aromatasas, agentes que inducen diferenciación terminal de células neoplásicas, inhibidores de γ -secretasa, vacunas contra el cáncer, inhibidores de PD-1/PD-L1, inmunoterapia de CTLA-4, terapia diana seleccionada de inhibidores de CDK4/6, inhibidores de PI3K, inhibidores de AKT, inhibidores Pan-Her, y cualquier combinación de los mismos.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica además comprende un soporte farmacéuticamente aceptable.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica es una vacuna contra el cáncer.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica se formula para inyección subcutánea, administración intravenosa, o administración intramuscular.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica es para uso en un método de tratar cáncer en un paciente con una dosis eficaz, dicho cáncer se selecciona de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer bucal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer nasofaríngeo, cáncer dérmico, cáncer renal, tumor cerebral, cáncer de próstata, cáncer ovárico, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer intestinal, cáncer pancreático, o cáncer de vejiga. En algunas formas de realización, la dosis eficaz es desde 0,001 μ g/kg a 250 g/kg de peso corporal del paciente.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica es para uso en un método de inducir anticuerpos en un animal o un ser humano para el fin de crear anticuerpos monoclonales para usos terapéuticos o diagnósticos.

Breve descripción de las figuras

Se puede obtener un entendimiento más completo de la invención mediante referencia a los dibujos acompañantes, cuando se consideran junto con la posterior descripción detallada.

La figura 1A muestra la estructura química de Globo H y también varios análogos de Globo H ejemplares. Glc representa glucosa, Gal representa galactosa, GalNAc representa N-acetilgalactosamina, y Fuc representa fucosa. La figura 1B muestra una subunidad Globo H-KLH ejemplar conjugada mediante un enlazador MMCCH.

5 La figura 2A muestra una ruta de síntesis de conjugación Globo H-subunidad KLH ejemplar. La figura 2B muestra dímeros y trímeros de Globo H-KLH de la invención comparados con conjugados de Globo H divulgados en Slovin et al (1999) Proc Natl Acad Sci USA 96:5710-5 y Gilewski T et al. (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98:3270-5.

10 La figura 3 muestra el resultado de espectrometría de dispersión láser multiángulo (MALS) de KLH nativa (8,3 MDa).

La figura 4 muestra el resultado de cromatografía de exclusión molecular de KLH nativa (8,3 MDa).

15 La figura 5A-D muestra la expansión cronológica de poblaciones de células B/T CD3⁺/T CD4⁺/T CD8⁺ en ratas Lewis inmunizadas con un glucoconjugado Globo H-KLH según la invención. Los paneles A-D representaban poblaciones de células B, células T CD3, células T CD4 y células T CD8, respectivamente. Los datos se presentaron como porcentaje de números de células en el grupo indicado normalizado al porcentaje de números de células del grupo PBS. Se analizaron múltiples comparaciones usando ANIOVA bidireccional, seguido por pruebas ad hoc de Bonferroni. *, p<0,05, **, p<0,01, y ***, p<0,001 comparado con PBS.

20 La figura 6A-B muestra los cambios cronológicos en títulos recíprocos de anticuerpos (A) IgM y (B) IgG en la sangre de ratas Lewis inmunizadas con el glucoconjugado (Globo H-KLH) de la invención.

La figura 7 muestra los títulos de anticuerpo IgM en ratones en respuesta al glucoconjugado (Globo H-KLH) de la invención.

25 La figura 8A-B ilustra la inmunogenicidad de ratones C57BL/6 que se inmunizaron con PBS, adyuvante solo, o Globo H-KLH + adyuvante el día 0, 5 y 10. Los sueros se recogieron el día 14 para análisis por ELISA para determinar la producción de IgG e IgM anti-Globo H.

30 La figura 9 ilustra la citotoxicidad dependiente del complemento en que células TOV21G Globo H(+) o Globo H(-) se sembraron en una placa de 96 pocillos. Se añadieron suero anti-Globo H o suero control a una dilución de 1:50 a 1:100. A la placa se añadió después con/sin complemento. Se determinó la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) por ensayo LDH.

35 La figura 10A-C ilustra la citotoxicidad de células TOV21G Globo H(+) o Globo H(-) que se sembraron en una placa de 96 pocillos. Se añadieron suero anti-Globo H o suero control a una dilución de 1:50 a 1:100. Se usaron células NK humanas aisladas de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y activadas con anticuerpo anti-CD3 como células efectoras. Las células efectoras se añadieron después o no para reacción de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) a una proporción ET de 4:1, 2:1 o 1:1. La citotoxicidad se normalizó con sin suero control de ratón de cada célula en diferentes proporciones ET.

40 La figura 11 ilustra ratones NOD-SCID irradiados que se inyectaron por vía intraperitoneal con 1×10^6 células TOV21G positivas para Globo H el día 0. Se recogieron antisueros por separado de ratones C57BL/6 después de 3 vacunaciones de 3 tratamientos diferentes (PBS, adyuvante solo y Globo H-KLH/adyuvante). A los ratones NOD-SCID se dio por vía intraperitoneal 200 μ l de los antisueros anteriormente mencionados para cada ratón el día 0, 2, 4, 6, 9, 11, 13 y 16. Las imágenes de tumores se siguieron por sistema de imagenología IVIS el día 3, 7 y 9.

45 La figura 12 ilustra el crecimiento de tumor LLC1 (una línea celular de cáncer epitelial de cáncer de pulmón) en ratones C57BL/6 inmunizados con Globo H KLH que se vacunaron por vía subcutánea con PBS, adyuvante solo o Globo H-KLH/adyuvante el día 0, 5 y 11. Se inyectaron por vía subcutánea 1×10^5 células LLC1 en cada ratón el día 16. Los tratamientos se administraron después por vía subcutánea el día 29 y 34. Los tamaños tumorales se verificaron el día 16, 21, 25, 29, 32, 34, 37.

50 La figura 13 muestra una tabla resumen de identificación de péptidos.

55 La figura 14 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 1 (1^a LC-MS/MS) para KLH1 (a) y KLH2 (b). La figura 14 divulga las SEQ ID NOS 3-32, respectivamente, en orden de aparición.

60 La figura 15 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 2 (1^a LC-MS/MS) para KLH1 (a) y KLH2 (b). La figura 15 divulga las SEQ ID NOS 33-53, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 16 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 3 (1^a LC-MS/MS) para KLH1 (a) y KLH2 (b). La figura 16 divulga las SEQ ID NOS 54-64, respectivamente, en orden de aparición.

65 La figura 17 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 4 (1^a LC-MS/MS) para KLH1 (a) y KLH2 (b). La figura 17 divulga las SEQ ID NOS 65-83, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 18 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 1 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 18 divulga las SEQ ID NOS 84-111, respectivamente, en orden de aparición.

5 La figura 19 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 2 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 19 divulga las SEQ ID NOS 112-133, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 20 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 3 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 20 divulga las SEQ ID NOS 134-144, respectivamente, en orden de aparición.

10 La figura 21 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a Globo H para la muestra 4 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 21 divulga las SEQ ID NOS 145-164, respectivamente, en orden de aparición.

15 La figura 22 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 1 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 22 divulga las SEQ ID NOS 165-393, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 23 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 2 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 23 divulga las SEQ ID NOS 394-597, respectivamente, en orden de aparición.

20 La figura 24 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 3 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 24 divulga las SEQ ID NOS 598-812, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 25 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 4 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 25 divulga las SEQ ID NOS 813-1008, respectivamente, en orden de aparición.

25 La figura 26 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 1 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 26 divulga las SEQ ID NOS 1009-1212, respectivamente, en orden de aparición.

30 La figura 27 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 2 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 27 divulga las SEQ ID NOS 1213-1404, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 28 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 3 (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 28 divulga las SEQ ID NOS 1405-1616, respectivamente, en orden de aparición.

35 La figura 29 ilustra los detalles de identificación de péptidos conjugados a MMCCH para la muestra 4 (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b). La figura 29 divulga las SEQ ID NOS 1617-1803, respectivamente, en orden de aparición.

La figura 30 ilustra el resumen de identificación de lisinas conjugadas a Globo H para (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b) y (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (c) y K LH2 (d).

40 La figura 31 ilustra el resumen de identificación de lisinas conjugadas a MMCCH para (1ª LC-MS/MS) para K LH1 (a) y K LH2 (b) y (2ª LC-MS/MS) para K LH1 (c) y K LH2 (d).

45 La figura 32 ilustra un resumen de análisis de conjugación a Globo H en la primera (a) y segunda (b) carreras de LC-MS/MS.

La figura 33(a) ilustra la fórmula química: C(56) H(91) N(5) O(33) S(1), adición de MW monoisotópica: 1393,5317 Da. La figura 33(b) ilustra la fórmula química: 1. C(18) H(28) N(4) O(4) S(1), adición de MW monoisotópica: 396,1831 Da; 2. fórmula química: C(24) H(38) N(4) O(9) S(1), adición de MW monoisotópica: 558,2360 Da; 3. fórmula química: C(30) H(48) N(4) O(14) S(1), adición de MW monoisotópica: 720,2888 Da; 4. fórmula química: C(36) H(58) N(4) O(19) S(1), adición de MW monoisotópica: 882,3416 Da; 5. fórmula química: C(44) H(71) N(5) O(24) S(1), adición de MW monoisotópica: 1085,4210 Da.

55 La figura 34(a) ilustra la estructura química del derivado de MMCCH. Fórmula química: C(16) H(24) N(4) O(3) S(1), adición de MW monoisotópica: 352,1569 Da. La figura 34(b) ilustra un derivado de MMCCH desamidado, Fórmula química: C(16) H(22) N(2) O(4) S(1), adición de MW monoisotópica: 338,1300 Da.

Descripción detallada de la invención

60 La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique otra cosa, técnicas convencionales de biología molecular, microbiología, e inmunología, que están dentro de la capacidad de la técnica. Tales técnicas se explican por completo en la bibliografía. Véase, por ejemplo, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2ª Ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989); DNA Cloning, Volúmenes I y II (D. N. Glover ed., 1985); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); el tratado, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller y M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor

Laboratory); Methods In Enzymology, Vols. 154 y 155 (Wu et al. eds.), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer y Walker, eds., Academic Press, Londres, 1987); Antibodies: A Laboratory Manual, por Harlow y Laney (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988); y Handbook Of Experimental Immunology, Volúmenes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., 1986).

5 El uso de la palabra “un” o “una” cuando se usa junto con el término “comprender” en las reivindicaciones y/o la especificación puede significar “uno”, pero también es consistente con el significado de “uno o más”, “al menos uno”, y “uno o más de uno”.

10 A lo largo de esta solicitud, el término “aproximadamente” se usa para indicar que un valor incluye, por ejemplo, la variación inherente de error para un dispositivo de medida, el método que se emplea para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos de estudio. Típicamente, se entiende que el término abarca aproximadamente o menos del 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% o 20% de variabilidad dependiendo de la situación.

15 Como se usa en el presente documento, el término “alquilo” se refiere a un hidrocarburo monovalente lineal o ramificado que contiene, a menos que se indique otra cosa, 1-20 átomos de carbono, por ejemplo, C₁-C₈ o C₁-C₄, que pueden estar sustituidos o sin sustituir. Los ejemplos de alquilo incluyen, pero no están limitados a, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, y t-butilo.

20 El uso del término “o” en las reivindicaciones se usa para significar “y/o” a menos que explícitamente se indique que se refiere a alternativas solo o las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la divulgación apoya una definición que se refiere a solo alternativas e “y/o”.

25 Como se usa en esta especificación y reivindicación(es), las palabras “comprender” (y cualquier forma de comprender, tal como “comprender” y “comprende”), “tener” (y cualquier forma de tener, tal como “tener” y “tiene”), “incluir” (y cualquier forma de incluir, tal como “incluye” e “incluir”) o “contener” (y cualquier forma de contener, tal como “contiene” o “contener”) son inclusivas y abiertas y no excluyen elementos o etapas de método adicionales no enumeradas. Se contempla que cualquier forma de realización discutida en esta especificación se pueda implementar con respecto a cualquier método o composición de la invención, y viceversa. Además, las composiciones de la invención se pueden usar para lograr métodos de la invención.

30 “Tratar” o “tratamiento” se denomina en el presente documento como administración de una composición terapéutica a un sujeto con el fin de curar, aliviar, mitigar, remediar, prevenir o mejorar un trastorno, síntomas del trastorno, un estado de enfermedad secundario al trastorno, o predisposición hacia el trastorno.

35 Una “cantidad eficaz” es una cantidad de una composición terapéutica que es capaz de producir un resultado médicamente deseable como se delinea en el presente documento en un sujeto tratado. El resultado médicamente deseable puede ser objetivo (es decir, cuantificable por alguna prueba o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de o siente un efecto).

40 “Enfermedad susceptible a tratamiento con una composición terapéutica” como se denomina en el presente documento significa cualquier procedimiento, afección, trastorno, dolencia y/o enfermedad que se puede tratar por la administración de las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento.

45 Un “trastorno proliferativo” es uno en el que se producen demasiadas de algún tipo de célula produciendo deterioro de la salud. Un trastorno proliferativo puede ser benigno o maligno. Los trastornos proliferativos pueden incluir, por ejemplo, cáncer.

50 Un “cáncer” que se puede tratar por las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento, es un crecimiento anómalo de células. Las células cancerosas han perdido mecanismos de control normales y por tanto son capaces de expandirse continuamente, invadir tejidos adyacentes, migrar a partes distantes del cuerpo, y fomentar el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos desde los que las células obtienen nutrientes. Como se usa en el presente documento, un cáncer puede ser maligno o benigno. El cáncer se puede desarrollar desde cualquier tejido en el cuerpo. Según las células crecen y se multiplican, forman una masa de tejido, llamado un tumor. El término tumor se refiere a un crecimiento anómalo o masa. Los tumores pueden ser cancerosos (malignos) o no cancerosos (benignos). Los tumores cancerosos pueden invadir tejidos vecinos y propagarse a lo largo del cuerpo (metastatizar). Los tumores benignos, sin embargo, en general no invaden tejidos vecinos y no se propagan por todo el cuerpo. El cáncer se puede dividir en los de la sangre y tejidos que forman la sangre (leucemias y linfomas) y tumores “sólidos”. Los tumores “sólidos” pueden ser carcinomas o sarcomas.

60 Los cánceres que se pueden tratar por las composiciones terapéuticas de la invención incluyen los clasificados por sitio incluyen cáncer de la cavidad oral y faringe (labio, lengua, glándula salivar, suelo de la boca, encía y otro de boca, nasofaringe, anginas, orofaringe, hipofaringe, otro oral/faringe); cánceres del sistema digestivo (esófago; estómago; intestino delgado; colon y recto; ano, canal anal, anorrecto; hígado; conducto biliar intrahepático; vesícula biliar; otro biliar; páncreas; retroperitoneo; peritoneo, omento, y mesenterio; otro digestivo); cánceres del sistema respiratorio

(cavidad nasal, oído medio, y senos; laringe; pulmón y bronquio; pleura; tráquea, mediastino, y otro respiratorio); cánceres del mesotelioma; huesos y articulaciones; y tejido blando, incluyendo corazón; cánceres de piel, incluyendo melanomas y otros cánceres de piel no epiteliales; sarcoma de Kaposi y cáncer de mama; cáncer del sistema genital femenino (cuello del útero; cuerpo del útero; útero, ovario; vagina; vulva; y otro genital femenino); cánceres del sistema genital masculino (glándula de la próstata; testículo; pene; y otro genital masculino); cánceres del sistema urinario (vejiga urinaria; riñón y pelvis renal; uréter; y otro urinario); cánceres del ojo y órbita; cánceres del cerebro y sistema nervioso (cerebro; y otros del sistema nervioso); cánceres del sistema endocrino (glándula tiroidea y otros endocrinos, incluyendo el timo); linfomas (enfermedad de Hodgkin y linfoma no hodgkiniano), mieloma múltiple, y leucemias (leucemia linfocítica; leucemia mieloide; leucemia monocítica; y otras leucemias).

Otros cánceres, clasificados por tipo histológico, que pueden ser dianas adecuadas para las composiciones terapéuticas según la presente invención incluyen, pero no están limitados a, neoplasia, maligna; carcinoma, NOS; carcinoma, sin diferenciar, NOS; carcinoma de células gigantes y huso; carcinoma de células microcíticas, NOS; carcinoma papilar, NOS; carcinoma de células escamosas, NOS; carcinoma linfoepitelial; carcinoma de células basales, NOS; carcinoma pilomatrix; carcinoma de células de transición, NOS; carcinoma de células de transición papilar; adenocarcinoma, NOS; gastrinoma, maligno; colangiocarcinoma; carcinoma hepatocelular, NOS; carcinoma hepatocelular combinado y colangiocarcinoma; adenocarcinoma trabecular; carcinoma quístico adenoide; adenocarcinoma en pólipo adenomatoso; adenocarcinoma, poliposis coli familiar; carcinoma sólido, NOS; tumor carcinoide, maligno; adenocarcinoma bronquioloalveolar; adenocarcinoma papilar, NOS; carcinoma cromóforo; carcinoma acidófilo; adenocarcinoma oxifílico; carcinoma basófilo; adenocarcinoma de células claras, NOS; carcinoma de células granulares; adenocarcinoma folicular, NOS; adenocarcinoma papilar y folicular; carcinoma esclerosante no encapsulante; carcinoma corticosuprarrenal; carcinoma endometroide; carcinoma de apéndice de piel; adenocarcinoma apocrino; adenocarcinoma sebáceo; adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma mucoepidermoide; cistoadenocarcinoma, NOS; cistoadenocarcinoma papilar, NOS; cistoadenocarcinoma seroso papilar; cistoadenocarcinoma mucinoso, NOS; adenocarcinoma mucinoso; carcinoma de células en anillo de sello; carcinoma de conducto infiltrante; carcinoma medular, NOS; carcinoma lobular; carcinoma inflamatorio; enfermedad de Paget, mamario; carcinoma de células acinares; carcinoma adenoescamoso; adenocarcinoma con metaplasia escamosa; timoma, maligno; tumor estromal ovárico, maligno; tecoma, maligno; tumor de células granulosas, maligno; androblastoma, maligno; carcinoma de células de Sertoli; tumor de células de Leydig, maligno; tumor de células lipídicas, maligno; paraganglioma, maligno; paraganglioma extramamario, maligno; feocromocitoma; glomangiosarcoma; melanoma maligno, NOS; melanoma amelanótico; melanoma de propagación superficial; melanoma maligno en nevus pigmentado gigante; melanoma de células epitelioideas; nevus azul, maligno; sarcoma, NOS; fibrosarcoma, NOS; histiocitoma fibroso, maligno; mixosarcoma; liposarcoma, NOS; leiomiomasarcoma, NOS; rabdomiosarcoma, NOS; rabdomiosarcoma embrionario; rabdomiosarcoma alveolar; sarcoma estromal, NOS; tumor mixto, maligno, NOS; tumor mixto mulleriano; nefroblastoma; hepatoblastoma; carcinosarcoma, NOS; mesenquimoma, maligno; tumor de Brenner, maligno; tumor filodes, maligno; sarcoma sinovial, NOS; mesotelioma, maligno; disgerminoma; carcinoma embrionario, NOS; teratoma, maligno, NOS; struma ovarii, maligno; coriocarcinoma; mesonefoma, maligno; hemangiosarcoma; hemangioendotelioma, maligno; sarcoma de Kaposi; hemangiopericitoma, maligno; linfangiosarcoma; osteosarcoma, NOS; osteosarcoma yuxtacortical; condrosarcoma, NOS; condroblastoma, maligno; condrosarcoma mesenquimatoso; tumor de células gigantes del hueso; sarcoma de Ewing; tumor odontogénico, maligno; odontosarcoma ameloblástico; ameloblastoma, maligno; fibrosarcoma ameloblástico; pinealoma, maligno; cordoma; glioma, maligno; ependimoma, NOS; astrocitoma, NOS; astrocitoma protoplásmico; astrocitoma fibrilar; astroblastoma; glioblastoma, NOS; oligodendroglioma, NOS; oligodendroblastoma; neuroectodérmico primitivo; sarcoma cerebelar, NOS; ganglioneuroblastoma; neuroblastoma, NOS; retinoblastoma, NOS; tumor neurogénico olfativo; meningioma, maligno; neurofibrosarcoma; neurilemoma, maligno; tumor de células granulares, maligno; linfoma maligno, NOS; enfermedad de Hodgkin, NOS; Hodgkin; paragranuloma, NOS; linfoma maligno, linfocítico pequeño; linfoma maligno, células grandes, difuso; linfoma maligno, folicular, NOS; micosis fungoides; otros linfomas no hodgkinianos especificados; histiocitosis maligna; mieloma múltiple; sarcoma de células cebadas; enfermedad del intestino delgado inmunoproliferativa; leucemia, NOS; leucemia linfoide, NOS; leucemia de células plasmáticas; eritroleucemia; leucemia de células de linfosarcoma; leucemia mieloide, NOS; leucemia basófila; leucemia eosinofílica; leucemia monocítica, NOS; leucemia de células cebadas; leucemia megacarioblástica; sarcoma mieloide; y leucemia de células pilosas.

“Cánceres epiteliales” como se define en el presente documento se refiere a cáncer(es) que se desarrolla(n) a partir de epitelio o tejidos relacionados en la piel, vísceras huecas, y otros órganos. Los cánceres epiteliales incluyen, pero no están limitados a, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer bucal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer nasofaríngeo, cáncer dérmico, cáncer renal, tumor cerebral, cáncer de próstata, cáncer ovárico, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer intestinal, cáncer pancreático, y cáncer de vejiga.

“Paciente” o “sujeto” como se usa en el presente documento se refiere a un sujeto mamífero diagnosticado con o sospechoso de tener o desarrollar una enfermedad proliferativa tal como cáncer. Los pacientes ejemplares pueden ser seres humanos, simios, perros, cerdos, ganado, gatos, caballos, cabras, ovejas, roedores y otros mamíferos que pueden favorecer el desarrollo de enfermedades proliferativas tal como cáncer.

Como se usa en el presente documento, “sustancialmente purificada” o “sustancialmente aislada” se refiere a una molécula (por ejemplo, un compuesto) en un estado que está separada de sustancialmente todas las otras moléculas

normalmente asociadas con ella en su estado nativo. Preferiblemente, una molécula sustancialmente purificada es la especie predominante presente en una preparación. En particular, una molécula sustancialmente purificada puede estar más del 60% libre, preferiblemente el 75% libre, más preferiblemente el 90% libre, y lo más preferiblemente el 95% libre de las otras moléculas (excluyendo el solvente) presentes en la mezcla natural. El término "sustancialmente purificada" o "sustancialmente aislada" no se pretende que incluya moléculas o sustancias presentes en su estado nativo. En ciertas formas de realización, el término "sustancialmente purificada" o "sustancialmente aislada" incluye purificar una fracción KLH de otra fracción KLH (por ejemplo, purificar sustancialmente o aislar sustancialmente una fracción dímero de KLH de una fracción trímero de KLH). En otra forma de realización, el término "sustancialmente purificada" o "sustancialmente aislada" no incluye purificar una fracción KLH de otra fracción KLH (por ejemplo, dímeros de KLH y trímeros de KLH se incluyen en una composición sustancialmente purificada o sustancialmente aislada), pero las impurezas se eliminan sustancialmente.

En el presente documento, se denomina "administrar" a proporcionar una composición terapéutica de la invención a un paciente. A modo de ejemplo y no limitación, la administración de composición, por ejemplo, inyección, se puede realizar por inyección intravenosa (i.v.), inyección subcutánea (s.c.), inyección intradérmica (i.d.), inyección intraperitoneal (i.p.) o inyección intramuscular (i.m.). Se puede emplear una o más de tales rutas. La administración parenteral puede ser, por ejemplo, por inyección en embolada o por perfusión gradual durante el tiempo. Alternativamente, o al mismo tiempo, la administración puede ser por la ruta oral. Además, la administración también puede ser por deposición quirúrgica de un bolo o colocación de un dispositivo médico.

"Un paciente en necesidad de ello" se denomina en el presente documento a un paciente diagnosticado con o sospechoso de tener un trastorno proliferativo. En una forma de realización, el paciente tiene o es probable que desarrolle cáncer.

Como se usa en el presente documento, el término "antígeno" se define como cualquier sustancia capaz de provocar una respuesta inmunitaria, con o sin la ayuda de una proteína portadora y/o un adyuvante. Preferiblemente, el antígeno de las composiciones inventivas incluye un hidrato de carbono y más preferiblemente antígeno glicano y lo más preferiblemente una fracción Globo H.

Como se usa en el presente documento, el término "inmunogenicidad" se refiere a la capacidad de un inmunógeno, antígeno o vacuna para estimular una respuesta inmunitaria.

Como se usa en el presente documento, el término "inmunoterapia" se refiere a un conjunto de estrategias de tratamiento basadas en el concepto de modular el sistema inmunitario para alcanzar un fin profiláctico y/o terapéutico.

Como se usa en el presente documento, el término "epítipo" se define como las partes de una molécula de antígeno que entran en contacto con el sitio de unión a antígeno de un anticuerpo o un receptor de célula T.

Las "composiciones terapéuticas" de la invención incluyen "conjugados terapéuticos" como se definen en las reivindicaciones.

En una forma de realización, el conjugado terapéutico es:

$\text{Fuca}(1 \rightarrow 2)\text{Gal}\beta(1 \rightarrow 3)\text{GalNAc}\beta(1 \rightarrow 3)\text{Gal}\alpha(1 \rightarrow 4)\text{Gal}\beta(1 \rightarrow 4)\text{Glu}\beta(1 \rightarrow 0\text{-etilhidracil-1-carbonil-ciclohexil-4-(metil-N-maleimido)-3-(tiobutil-imidil)-hemocinina de lapa californiana (KLH) también denominado OBI-822.}$

Los "anticuerpos terapéuticos" se definen como que son anticuerpos (como se definen adicionalmente después) que se unen específicamente a los conjugados terapéuticos inventivos y preferiblemente la porción de fracción Globo H de los conjugados terapéuticos.

Como se usa en el presente documento, el término "vacuna" se refiere a una composición terapéutica que contiene un conjugado terapéutico que se usa para conferir inmunidad contra una enfermedad asociada con el antígeno. Las vacunas del cáncer se diseñan para aumentar la capacidad natural del cuerpo para protegerse a sí mismo, mediante el sistema inmunitario, de peligros representados por células dañadas o anómalas tal como células cancerosas. Una respuesta inmunitaria protectora es una que reduce la gravedad de la enfermedad, incluyendo, pero no limitado a prevención de la enfermedad, retraso en el inicio de la enfermedad, gravedad disminuida de síntomas, morbilidad disminuida, y mortalidad retrasada. Preferiblemente, una vacuna es capaz de activar tanto la respuesta inmunitaria humoral (por ejemplo, estimulación de la producción de anticuerpos por linfocitos B) como respuesta inmunitaria celular (por ejemplo, una respuesta inmunitaria que está mediada por linfocitos T y/u otras células, tal como células NK y macrófagos). Se han desarrollado ensayos estándar para determinar la respuesta inmunitaria tal como ensayo de inmunoenanálisis de adsorción (ELISA), citometría de flujo, ensayo de proliferación celular, ensayos CTL y ensayos ADCC/CDC.

Como se usa en el presente documento, el término "glicano" se refiere a un polisacárido, u oligosacárido. Glicano también se usa en el presente documento para denominar la porción glucídica de un glucoconjugado, tal como una glucoproteína, glucolípido, glucopéptido, glucoproteoma, peptidoglicano, lipopolisacárido o un proteoglicano. Los

glicanos habitualmente consisten solamente de enlaces O-glucosídicos entre monosacáridos. Por ejemplo, la celulosa es un glicano (o más específicamente un glucano) compuesto de D-glucosa con enlaces β -1,4, y quitina es un glicano compuesto de N-acetil-D-glucosamina con enlaces β -1,4. Los glicanos pueden ser homo o heteropolímeros de residuos de monosacárido, y pueden ser lineales o ramificados. Los glicanos se pueden encontrar unidos a proteínas como en glucoproteínas y proteoglicanos. En general se encuentran en la superficie exterior de células. Los glicanos con enlaces O- y N- son muy comunes en eucariotas, pero también se pueden encontrar, aunque de forma menos común, en procariotas. Los N-glicanos se encuentran unidos al nitrógeno (N) del grupo R de asparragina en el sequon. El sequon es una secuencia Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina. El glicano preferido es una fracción Globo H.

Globo H es un hexasacárido, que es un miembro de una familia de carbohidratos antigénicos que están muy expresados en varios tipos de cánceres, especialmente cánceres de mama, próstata, páncreas, estómago, ovario, colon y pulmón. En formas de realización ilustrativas, ciertos pacientes no mostraron niveles de anticuerpos anti-Globo H en el tiempo cero, y después de inmunización con la composición terapéutica de la invención se detectaron títulos altos. En otras formas de realización ilustrativas, ciertos pacientes mostraron niveles de anticuerpos anti-Globo H en el tiempo cero, y después de inmunización con la composición terapéutica de la invención se detectaron títulos altos. En ciertas formas de realización, el anticuerpo anti-Globo H se expresa en la superficie de la célula cancerosa como un glucolípido y posiblemente como una glucoproteína. En otras formas de realización, el suero de pacientes de cáncer de mama contenía altos niveles de anticuerpos contra el epítipo Globo H. En ciertas formas de realización, a este epítipo también se dirigen los anticuerpos monoclonales Mbr1, VK9, y anti-SSEA-3 en estudios inmunohistoquímicos. Aunque ciertos tejidos normales también reaccionan con Mbr1, incluyendo tejido normal de mama, páncreas, intestino delgado y próstata, el antígeno en estos tejidos está predominantemente localizado en los bordes secretorios donde el acceso al sistema inmunitario está restringido.

La "fracción Globo H" se define en el presente documento que es un glicano (es decir, una molécula que contiene una fracción azúcar) que es Globo H o una fragmento o análogo del mismo. Globo H es un glicano que contiene el epítipo hexasacárido (Fuc α 1 \rightarrow 2 Gal β 1 \rightarrow 3 GalNAc β 1 \rightarrow 3 Gal α 1 \rightarrow 4 Gal β 1 \rightarrow 4 Glc), y opcionalmente, una fracción no azúcar. Su fragmento es un glicano que contiene un fragmento del epítipo hexasacárido y, si es aplicable, la fracción no azúcar. Estos oligosacáridos se pueden preparar por métodos rutinarios. (Véase, Huang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:15-20 (2006)). Si se desea, se pueden ligar a una fracción no azúcar. La solicitud de patente en EE UU con No. de serie 12/485.546 se refiere a un método de producir anticuerpo específico para Globo H o su fragmento administrando a un mamífero no humano (por ejemplo, ratón, conejo, cabra, oveja o caballo) la composición inmunitaria descrita anteriormente y aislando del mamífero un anticuerpo que se une a Globo H o su fragmento.

Se pueden generar análogos de Globo H usando micromatriz de glicanos e incluyen los divulgados en Wang et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 19 Agosto 2008; 105(33): 11661-11666 y mostrados en la figura 1.

Los análogos de Globo H preferiblemente se unen a los anticuerpos VK-9, Mbr1 y anti-SSEA-3. Preferiblemente, los análogos de Globo H se unen con una constante de disociación particular ($K_{D,surf}$). Se puede usar la isoterma de Langmuir para analizar las curvas de unión para generar las constantes de disociación en superficie ($K_{D,surf}$). En condiciones de equilibrio durante la incubación, la fluorescencia media de las manchas replicadas (F_{obs}) se puede describir mediante:

$$F_{obs} = F_{max}[P]/(K_{D,surf} + [P])$$

donde F_{max} es la intensidad de fluorescencia máxima, una medida de la cantidad de hidrato de carbono activo en la superficie, [P] es la concentración de anticuerpo total, y $K_{D,surf}$ es la constante de disociación en equilibrio para el hidrato de carbono en superficie y el anticuerpo. Como se describe en Wang et al. En algunas formas de realización, la ($K_{D,surf}$) preferida de análogos de Globo H es al menos, aproximadamente o exactamente 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5 o 1,6 nM con respecto a los anticuerpos VK-9, Mbr1 y anti-SSEA-3 descritos en Wang et al.

La "hemocianina de lapa californiana" (KLH) es un metaloproteína grande, multisubunidad, portadora de oxígeno encontrada en la hemolinfa de la lapa californiana gigante, *Megathura crenulata*. KLH es una proteína heterogéneamente glucosilada que consiste en subunidades con un peso molecular desde aproximadamente 350.000 hasta aproximadamente 390.000 en agregados con pesos moleculares de aproximadamente 400 kDa (por ejemplo, un monómero de KLH) hasta aproximadamente 8000 kDa (por ejemplo, un didecámero de KLH). Cada dominio de una subunidad de KLH contiene dos átomos de cobre que juntos unen una única molécula de oxígeno. Cuando el oxígeno está unido a la hemocianina, la molécula toma un color azul distintivo transparente, opalescente. En ciertas formas de realización, la proteína KLH es potentemente inmunógena aun segura en seres humanos. En ciertas formas de realización, KLH se puede purificar de la hemolinfa de *Megathura crenulata* por una serie de etapas que típicamente incluyen precipitación con sulfato de amonio y diálisis, y puede implicar purificación cromatográfica para obtener la mayor pureza. En ciertas formas de realización, la purificación de KLH también puede incluir eliminación de endotoxina, pero esta etapa puede ser innecesaria porque la endotoxina puede servir como un adyuvante cuando se inyecta para la producción de anticuerpos. Preferiblemente, una preparación de KLH de alta calidad con el color azul transparente opalescente es el mejor indicador de la solubilidad de KLH. En ciertas formas de realización, las unidades

monoméricas de KLH se ensamblan en un multímero grande (decámero o didecámero) con un peso molecular total de aproximadamente 4.000 kDa a 8.000 kDa. "Fracción hemocianina de lapa californiana" o "fracción KLH" se define en el presente documento que es una proteína KLH1 (SEQ ID NO: 1) o KLH2 (SEQ ID NO: 2) o una proteína sustancialmente idéntica a la misma o una mezcla de las mismas. Sustancialmente idéntica en este contexto significa que cada fracción KLH tiene una secuencia de aminoácidos al menos, aproximadamente o exactamente: el 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 89, 88, 87, 86, 85, 84, 83, 82, 81, 80, 79, 78, 77, 76 o 75 por ciento idéntica a la de KLH de tipo salvaje nativa. En ciertas formas de realización, la KLH de la invención tiene actividad inmunógena aumentada, en particular actividad antitumoral aumentada. En ciertas formas de realización, la KLH en la composición de la presente invención comprende una subunidad intacta no degradada de aproximadamente 400.000 de peso molecular. En otras formas de realización, la KLH de la invención comprende multímeros de KLH superiores.

En ciertas formas de realización, los multímeros de KLH superiores tienen pesos moleculares de aproximadamente 8-10 millones con coeficientes de sedimentación de aproximadamente 92-107S. La cantidad de multímero superior de KLH presente se basa en análisis de ultracentrifugación de sedimentación-equilibrio y/o sedimentación-velocidad. En otras formas de realización, la KLH de la invención demuestra una actividad inmunógena aumentada, en particular actividad antitumoral aumentada. La actividad inmunógena aumentada se ve, por ejemplo, pero sin limitar, (a) con inyección de KLH (sin adyuvante), (b) con KLH usada como un adyuvante, (c) con KLH usada como un inmunógeno portador para haptenos o antígenos débilmente inmunogénicos, y (d) con KLH usada como un agente antitumoral. La composición de KLH de la invención muestra actividad antitumoral aumentada para muchos tumores, incluyendo, pero no limitado a, tumores de vejiga, mama, ováricos, etc. En ciertas formas de realización, dos fracciones de KLH pueden formar un dímero a través de un enlace covalente entre monómeros de KLH. Sin querer estar limitado por teoría, se cree que el enlace covalente entre fracciones KLH es a través de un enlace disulfuro. En ciertas formas de realización, dos o más fracciones KLH pueden formar un dímero, trímero, tetrámero, pentámero, etc., a través de un enlace covalente entre monómeros, dímeros, trímeros etc. de KLH. Sin querer estar limitado por teoría, se cree que el enlace covalente entre fracciones KLH es a través de un enlace disulfuro.

Hay una variedad de métodos para la unión de una fracción KLH a un antígeno, incluyendo conjugación directa y conjugación con un grupo enlazador bifuncional tal como 4-(4-N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxil hidracida (MMCCCH). Tales técnicas enlazadoras se divulgan en la patente en EE UU No. 6.544.952. En algunas formas de realización, para preparar los conjugados terapéuticos de la invención, por ejemplo, el glucósido alilo de Globo H se convierte a un aldehído por ozonolisis y el grupo aldehído se une a los grupos NH en el entrecruzador MMCCCH, dando Globo H-MMCCCH; la proteína portadora, KLH, se somete a tiolación para producir KLH-SH; y los grupos sulfhidrilo en KLH tiolada se unen después al grupo maleimida en MMCCCH, produciendo conjugados Globo H-KLH.

En una forma de realización, el glucósido alilo de Globo H se prepara a través de síntesis química. También se usan un reactivo tiolante, 2-iminotiolano y KLH grado cGMP y enlazador 4-(4-N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxil hidracida (MMCCCH). En algunas formas de realización se llevan a cabo las siguientes etapas: 1) conversión de glucósido alilo de Globo H a Globo H-aldehído; 2) acoplamiento de Globo H-aldehído con MMCCCH a Globo H-MMCCCH, por separado; 3) tiolación química de KLH; 4) conjugación de Globo H-MMCCCH a la KLH tiolada; y 5) purificación del conjugado Globo H-KLH (OBI-822). Véase, por ejemplo, la figura 2a.

En ciertas formas de realización, durante la conjugación de una proteína con fracción Globo H a una fracción KLH, una proteína fracción KLH en ciertas formas de realización muestra una reducción de peso molecular comprada con la molécula intacta preferiblemente debido a la disociación de subunidades de la fracción Globo H. En otras formas de realización, los métodos de conjugación divulgados en el presente documento producen una disociación de subunidades KLH no descrita previamente. Sin querer estar vinculado por ninguna teoría particular, se prevé que el alto nivel de glucosilación de los conjugados fracción Globo H-subunidad fracción KLH inventivos produzca la formación de enlaces de hidrógeno entre las fracciones Globo H. Como tal, en ciertas formas de realización, las fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas entre las subunidades de la fracción KLH son desplazadas por enlaces de hidrógeno de Globo H y esto lleva a separación de subunidades de la fracción KLH. Después de la conjugación, las subunidades de la fracción KLH de un conjugado fracción Globo H-fracción KLH preferiblemente agregan para formar nuevos monómeros, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o hexámeros o cualquier combinación de los mismos. Los conjugados fracción Globo H-fracción KLH terapéuticos resultantes tienen una proporción de epítipo inesperadamente grande que produce atributos inmunógenos inesperadamente superiores. En ciertas formas de realización, las fracciones Globo H se conjugan a lisinas en KLH1 y KLH2. En otras formas de realización, las fracciones Globo H no se conjugan a lisinas en KLH1 y KLH2. En ciertas formas de realización, los sitios de lisina conjugados a Globo H se encuentran conservados en el análisis de mapeo de péptidos lo que sugiere que la composición Globo H-KLH es única en su estructura.

En una forma de realización, las composiciones terapéuticas de la invención incluyen una o más subunidades de fracción KLH en donde al menos una de tales subunidades está conjugada al menos, aproximadamente o exactamente 1, 10, 10² o 10³ veces: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139,

140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159 o 160 o más fracciones Globo H.

5 Los inventores encontraron usando análisis espectrométrico de masas que las fracciones Globo H están conjugadas a residuos de lisina de KLH. En ciertas formas de realización, por tanto, se prefiere que las fracciones Globo H se conjuguen a residuos de lisina.

10 En una forma de realización, hay un total de exactamente o aproximadamente 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160 residuos de lisina totales por subunidad de fracción KLH. En otra forma de realización hay exactamente o aproximadamente 150 o 156 residuos de lisina por subunidad de fracción KLH. En otra forma de realización hay exactamente o aproximadamente 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109 o 110 sitios de conjugación de lisina en cada subunidad de fracción KLH disponibles para unión a o realmente unidas a una fracción Globo H. En otra forma de realización, hay 62, 66, 67, 68, 70, 72, 76, 86, 15 87, 88, 90, 92, 93, 100 tales sitios de conjugación de lisina en cada subunidad de fracción KLH. Los sitios de conjugación de lisina son esos residuos de lisina en la fracción KLH que están disponibles para unión o realmente se unen a una fracción Globo H y/o un enlazador a una fracción Globo H tal como, por ejemplo, un enlazador MMCCH.

20 En ciertas formas de realización terapéuticas que contienen una mezcla de subunidades de fracción (por ejemplo, KLH1 y KLH2 o variantes de las mismas), las lisinas disponibles totales (para ambas subunidades) son como contadas juntas a través de los diferentes tipos de subunidades y pueden ser o son exactamente aproximadamente 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309 o 310 en número. En tales formas de realización, hay o puede ser exactamente o aproximadamente 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159 o 160 sitios de conjugación de lisina juntos a través de las diferentes subunidades (por ejemplo, KLH1 y KLH2 o variantes de las mismas). En otras tales formas de realización, hay 136, 137, 141, 140, 143, 147 o 155 sitios de conjugación de lisina.

25 En una forma de realización lo más preferida hay 136, 137, 140, 141, 143, 147 o 155 y sitios de conjugación de lisina entre los 306 residuos de lisina totales en KLH1/KLH2.

30 En ciertas formas de realización, las composiciones terapéuticas de la invención contienen una mezcla de conjugados subunidad de fracción KLH-fracción Globo H en donde tales conjugados permanecen monómeros o forman dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o hexámeros o cualquier combinación de los mismos. En otra forma de realización, las composiciones terapéuticas de la invención incluyen monómeros, dímeros, trímeros o tetrámeros de conjugados subunidad de fracción KLH-fracción Globo H o combinaciones de los mismos. En una forma de realización adicional, las composiciones terapéuticas de la invención incluyen solo dímeros y trímeros de conjugados subunidad de fracción KLH-fracción Globo H.

35 En otra forma de realización, las composiciones terapéuticas de la invención contienen al menos dos subunidades de fracción KLH en donde cada una de las dos subunidades de fracción KLH está unida a glicanos diferentes. Otros antígenos glicanos asociados a tumor unibles a subunidades de fracción KLH pueden incluir, pero no están limitados a GM2, GD2, GD3, fucosilo, GM1, sTn, sialil-Lewis^x, Lewis^x, sialil-Lewis^a, Lewis^a, sTn, TF, ácido polisiálico, Lewis^y, mucinas, antígeno T, y similares. En algunas formas de realización, solo, al menos o aproximadamente el 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 por ciento de las subunidades de la fracción KLH en una composición terapéutica están unidas a una fracción Globo H mientras las subunidades de la fracción KLH restantes en la composición terapéutica están unidas a otros antígenos glicano asociados a tumor.

40 Como se usa en el presente documento, "proporción de epítipo" en relación a los conjugados terapéuticos divulgados en el presente documento se refiere a, por ejemplo, la relación de epítipos de antígeno respecto a moléculas portadoras en un conjugado terapéutico. Preferiblemente, se refiere a la relación de fracciones Globo H respecto a fracciones KLH. Lo más preferiblemente, la proporción de epítipo de un conjugado terapéutico se calcula usando la siguiente fórmula = (peso de la fracción Globo H real/peso molecular de la fracción Globo H)/(peso de la fracción KLH real/peso molecular de la fracción KLH). Las proporciones de epítipo son fácilmente determinables para los expertos en la materia. Preferiblemente, los pesos de Globo H se determinan, por ejemplo, por cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento con detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD).

Ensayos biológicos

45 En una forma de realización, cuando se administra a un paciente, las composiciones terapéuticas que contienen los conjugados terapéuticos de la invención son capaces de inducir títulos de anticuerpos anti-Globo H al menos o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 50, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 4000, o 5000 veces mayores que el mismo título de anticuerpo anti-Globo H antes de la administración (es decir, un título basal pretratamiento) en el mismo experimento. En ciertas formas de realización, los anticuerpos anti-Globo H son anticuerpos IgM. En otra forma de realización, los anticuerpos anti-Globo H son anticuerpos IgG.

Las composiciones terapéuticas de la invención son capaces de inducir respuestas tanto humerales como celulares en un sujeto. En ciertas formas de realización, la composición vacuna de la invención induce la producción de anticuerpos IgG e IgM específicos de la fracción Globo H y la expansión de células B y células T (por ejemplo, células T CD3⁺, células T CD4⁺ y/o células T CD8⁺). Típicamente, estas respuestas inmunitarias se producen cronológicamente después de la administración. En un ejemplo particular, después de la administración, la producción de células B aparece aproximadamente el día 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, o 60 días, seguido por la producción de anticuerpos IgG e IgM aproximadamente el día 10, 20, 30, 60, o 90 y posterior producción de células T aproximadamente el día 24, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, o 180. La composición vacuna de la invención potencialmente proporciona un efecto protector inmunológico a largo plazo que podría prevenir el crecimiento de pequeñas cantidades de células cancerosas, siendo ideal de esta manera para enfermedad residual mínima de modo que se alcance la estabilización de la enfermedad y mejora de supervivencia.

“Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo” y “ADCC” se refiere a una reacción celular en la que células citotóxicas no específicas (por ejemplo, células citolíticas naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente producen lisis de la célula diana. En una forma de realización, tales células son células humanas. Mientras no se quiere estar limitado por ningún mecanismo de acción particular, estas células citotóxicas que median ADCC en general expresan receptores de Fc (FcR). Las células principales para mediar ADCC, células NK, expresan FcγRIII, mientras los monocitos expresan FcγRI, FcγRII, FcγRIII y/o FcγRIV. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9:457-92 (1991). Para evaluar la actividad ADCC de una molécula, se puede realizar un ensayo ADCC *in vitro*, tal como el descrito en las patentes en EE UU No. 5.500.362 o 5.821.337. Las células efectoras útiles para tales ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y células citolíticas naturales (NK). Alternativamente, o además, la actividad ADCC de los conjugados terapéuticos de la invención se puede ensayar *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el divulgado en Clynes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 95:652-656 (1998).

“Citotoxicidad dependiente del complemento” o “CDC” se refiere a la capacidad de un conjugado terapéutico para iniciar la activación del complemento y lisar una diana en presencia del complemento. La ruta de activación del complemento se inicia por la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) en complejo con un antígeno afin. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo CDC, por ejemplo, como se describe en Gazzano-Santaro et al., *J. Immunol. Methods*, 202:163 (1996).

En otra forma de realización, cuando se administra a un paciente las composiciones terapéuticas que contienen conjugados terapéuticos de la invención son capaces de inducir la producción en un paciente/sujeto de suero inmunitario anti-Globo H, que específicamente se une a líneas de células cancerosas positivas para Globo H, por ejemplo, células MCF-7.

Combinaciones

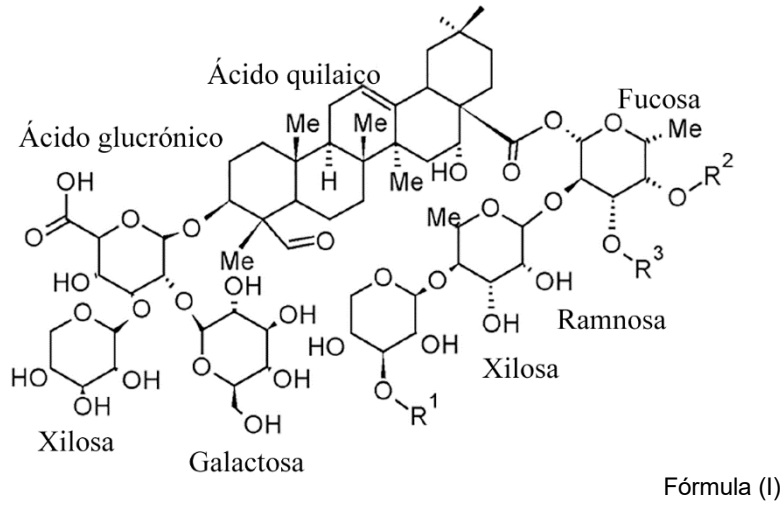
Las composiciones terapéuticas pueden incluir otros fármacos anticáncer/antiproliferativos, así como adyuvantes y otras moléculas inmunomoduladoras tal como citoquinas o quimioquinas. Estos agentes se pueden suministrar todos en un kit juntos en envases separados o un único envase. Los agentes se pueden combinar en el momento de la administración o al menos o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 1,7, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 minutos, horas o días antes de la administración.

Los adyuvantes son agentes farmacológicos o inmunológicos que modifican los efectos de otros agentes. Pueden ser una sustancia química inorgánica u orgánica, macromolécula o células cancerosas enteras o porciones de las mismas que aumentan la respuesta inmunitaria a un antígeno determinado. Los adyuvantes incluyen adyuvante de Freund completo e incompleto, moléculas de receptores tipo Toll y miméticos de las mismas, LPS, lipoproteínas, lipopéptidos, flagelina, ARN bicatenario, islas CpG sin metilar, levamisol, bacilo de Calmette-Guerin, octreótido, isoprinosina, y zadaxin, varias formas de ADN y ARN clásicamente liberadas por bacterias y virus, antagonistas de PD-1 y antagonistas de CTLA. En una forma de realización, el adyuvante es un adyuvante de saponina.

En ciertas formas de realización, el adyuvante de saponina es saponina OBI-821, que está sustancialmente pura. En otras formas de realización, la saponina OBI-821 es un fragmento biológicamente activo de la misma. El adyuvante también puede abarcar formas impuras de saponinas OBI-821. Las saponinas OBI-821 purificadas muestran efecto adyuvante aumentado cuando se administran con una vacuna descrita en el presente documento o mezcladas con otros adyuvantes de saponina o no saponina sustancialmente puros.

Las saponinas OBI-821 son glucósidos naturales, extraídos en alta pureza de la corteza del árbol de Molina *Quillaja saponaria*, por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), cromatografía en sílice líquida de baja presión, y cromatografía interactiva hidrofílica (HILIC) como se describe en, por ejemplo, la patente en EE UU No. 5.057.540 y la patente en EE UU No. 6.524.584. El análisis por cromatografía líquida de alta presión muestra que OBI-821 son una mezcla de compuestos isoméricos estructuralmente relacionados. Se han identificado diferentes compuestos isoméricos purificados de saponinas OBI-821 y se divulgan en el presente documento.

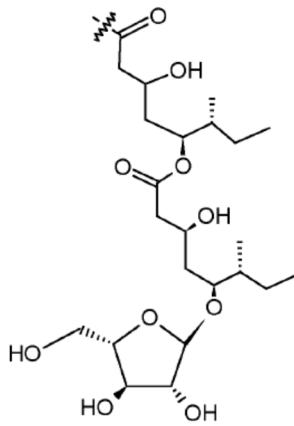
En ciertas formas de realización, la saponina OBI-821 comprende al menos un compuesto aislado de la fórmula I como sigue:



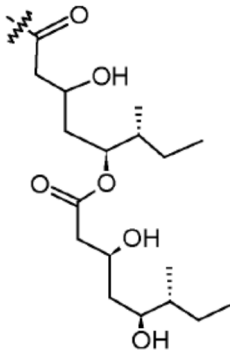
5

en donde

10 R¹ es β-D-apiosa o β-D-xilosa; y
R² y R³ son independientemente H, alquilo,



(fracción acilo graso para el compuesto 1989) o



(fracción acilo graso para el compuesto 1857).

15

La saponina OBI-821 también puede comprender un compuesto aislado de fórmula I, en donde

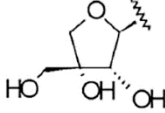
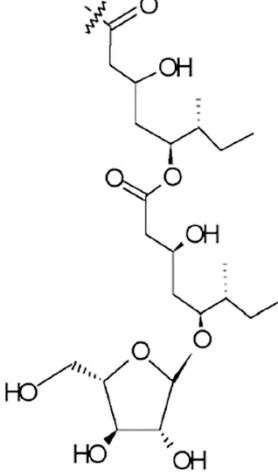
20

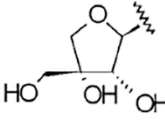
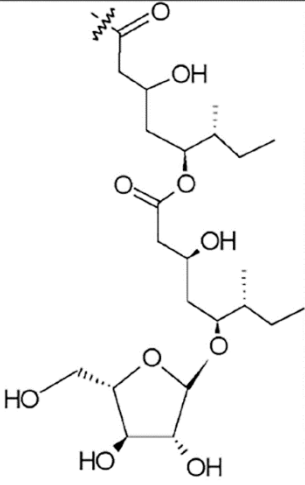
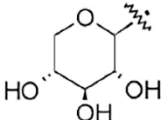
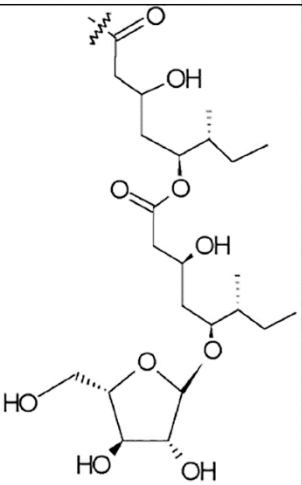
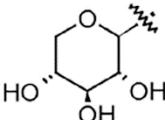
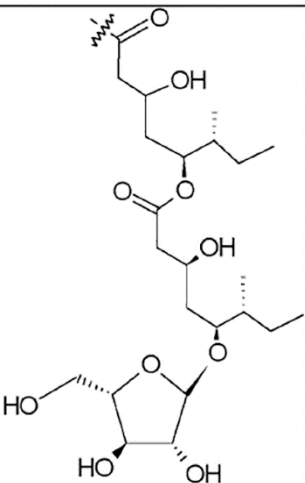
(i) R¹ es β-D-apiosa, R² es la fracción acilo graso para el compuesto 1989 representada anteriormente, y R³ es H (compuesto 1989 V1A);

- (ii) R¹ es β-D-apiosa, R² es H y R³ es la fracción acilo graso para el compuesto 1989 representada anteriormente (compuesto 1989 V1B);
- (iii) R¹ es β-D-xilosa, R² es la fracción acilo graso para el compuesto 1989 representada anteriormente y R³ es H (compuesto 1989 V2A); o
- 5 (iv) R¹ es β-D-xilosa, R² es H y R³ es la fracción acilo graso para el compuesto 1989 representada anteriormente (compuesto 1989 V2B). Colectivamente, el compuesto 1989 V1A, compuesto 1989 V1B, compuesto 1989 V2A y compuesto 1989 V2A se llaman “mezcla de compuestos 1989”.

10 La tabla 1 resume los grupos funcionales de los compuestos 1989 y el % molar de cada compuesto 1857 en la mezcla de compuestos 1857.

Tabla 1

% Molar	R ¹	R ²	R ³
Compuesto 1989 V1A 64.5%	β-D-Apiosa 		H

Compuesto 1989 V1B 1.5%	β -D-Apiosa 	H	
Compuesto 1989 V2A 33.3%	β -D-Xilosa 		H
Compuesto 1989 V2B 0.7%	β -D-Xilosa 	H	

La saponina OBI-821 puede comprender un compuesto aislado de fórmula I, en donde

5

- (i) R^1 es β -D-apiosa, R^2 es la fracción acilo graso para el compuesto 1857 representada anteriormente y R^3 es H (compuesto 1857 V1A);
- (ii) R^1 es β -D-apiosa, R^2 es H y R^3 es la fracción acilo graso para el compuesto 1857 representada anteriormente (compuesto 1857 V1B);

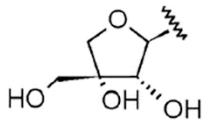
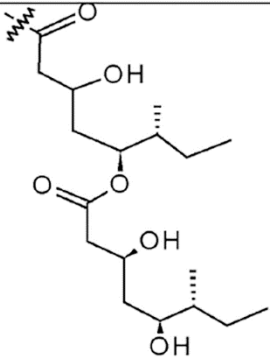
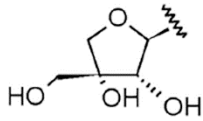
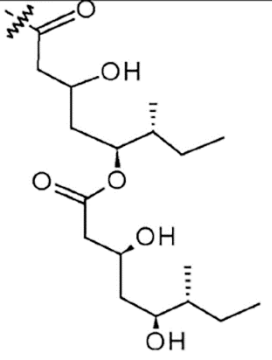
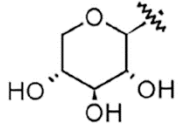
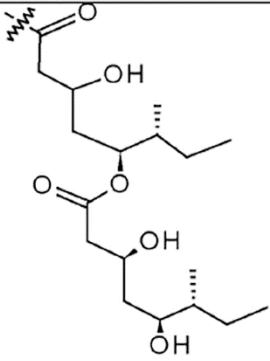
- (iii) R¹ es β-D-xilosa, R² es la fracción acilo graso para el compuesto 1857 representada anteriormente y R³ es H (compuesto 1857 V2A); o
- (iv) R¹ es β-D-xilosa, R² es H y R³ es la fracción acilo graso para el compuesto 1857 representada anteriormente (compuesto 1857 V2B). Colectivamente el compuesto 1857 V1A, compuesto 1857 V1B, compuesto 1857 V2A y compuesto 1857 V2A se llaman "mezcla de compuestos 1857".

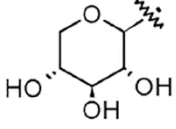
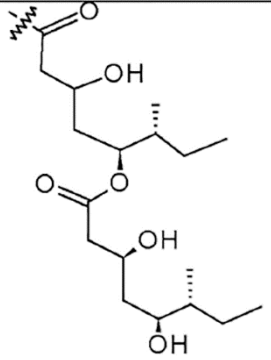
5

La tabla 2 resume los grupos funcionales de los compuestos 1857 y el % molar de cada compuesto 1857 en la mezcla de compuestos 1857. HPLC.

10

Tabla 2

% Molar	R ¹	R ²	R ³
Compuesto 1857 V1A 64.7%	β-D-Apiosa 		H
Compuesto 1857 V1B 1.3%	β-D-Apiosa 	H	
Compuesto 1857 V2A 33.4%	β-D-Xilosa 		H

Compuesto 1857 V2B 0.6%	β-D-Xilosa 	H	
----------------------------------	---	---	--

La saponina OBI-821 comprende uno o más de los siguientes compuestos:

- 5 (i) compuesto 1857 V1A; (ii) compuesto 1857 V1B;
 (ii) compuesto 1857 V2A;
 (iii) compuesto 1857 V2B;
 (iv) compuesto 1989 V1A;
 (v) compuesto 1989 V1B;
 10 (vi) compuesto 1989 V2A; o
 (vii) compuesto 1989 V2B.

Los porcentajes de la mezcla de compuestos 1857 y la mezcla de compuestos 1989 en la saponina OBI-821 pueden variar como sigue:

- 15 (i) de aproximadamente el 1% molar a aproximadamente el 15% molar de OBI-821 que comprende una mezcla de compuestos 1857; y
 (ii) de aproximadamente el 85% molar a aproximadamente el 99% molar de OBI-821 que comprende una mezcla de compuestos 1989.

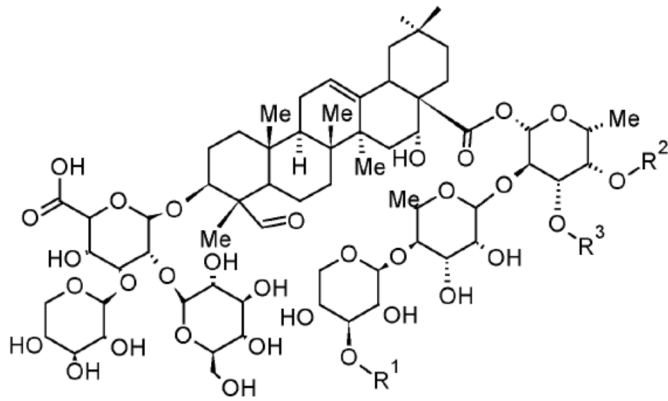
20 Todos los % molares se pueden variar en incremento del 0,1% (por ejemplo, de aproximadamente el 87% a aproximadamente el 90%, de aproximadamente el 90,5% a aproximadamente el 97%, de aproximadamente el 3,5% a aproximadamente el 11%, de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 14%).

25 La mezcla de compuestos 1989 puede comprender aproximadamente el 60-70% molar de compuesto 1989 V1A; aproximadamente el 1-5% molar de compuesto 1989 V1B; aproximadamente el 30-40% molar de compuesto 1989 V2A; aproximadamente el 0,1-3% molar de compuesto 1989 V2B. Todos los % molares se pueden variar en incremento del 0,1% (por ejemplo, 65%, 2,5%, 35,6%).

30 La mezcla de compuestos 1857 puede comprender aproximadamente el 60-70% molar de compuesto 1857 V1A; aproximadamente el 1-5% molar de compuesto 1857 V1B; aproximadamente el 30-40% molar de compuesto 1857 V2A; aproximadamente el 0,1-3% molar de compuesto 1857 V2B. Todos los % molares se pueden variar en incremento del 0,1% (por ejemplo, 65%, 2,5%, 35,6%).

35 En otra forma de realización, la OBI-821 sustancialmente pura se purifica de un extracto de Quillaja saponaria crudo, en donde dicha OBI-821 se caracteriza por un único pico predominante que comprende el 90% o más del área total de todos los picos de un cromatograma, excluyendo el pico de solvente, cuando se analiza en HPLC de fase inversa en una columna Symmetry C18 que tiene tamaño de partícula de 5 μm, poro de 100 Å, 4,6 mm DI x 25 cm L con una programa de elución que comprende una fase móvil de A:B del 95%:5% al 75%:25% en 11 minutos, fase móvil A que es agua destilada con ácido trifluoroacético al 0,1%, y la fase móvil B es acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1% a una velocidad de flujo de 1 ml/min.

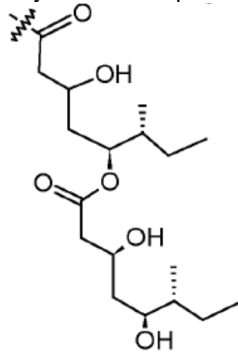
40 En una forma de realización, la composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula (I)



Fórmula (I)

5 en donde,

R¹ es β-D-apiosa o β-D-xilosa; y
R² y R³ son independientemente H, alquilo, o



(fracción acilo graso para el compuesto 1857),

10

y un soporte farmacéuticamente aceptable.

15

La vacuna puede comprender un antígeno glucídico o su fragmento inmunógeno y una saponina OBI-821. En aún otra forma de realización, la vacuna comprende un antígeno glucídico o su fragmento inmunógeno; una proteína portadora y una saponina OBI-821. En aún otra forma de realización, la vacuna comprende un antígeno glucídico seleccionado de Globo H, KLH, y una saponina OBI-821. Los ejemplos no limitantes de proteína portadora incluyen KLH.

20

Como se usa en el presente documento, el término "citoquina" se refiere a cualquiera de numerosas proteínas pequeñas, secretadas que regulan la intensidad y duración de la respuesta inmunitaria afectando el proceso de diferenciación de células inmunitarias que habitualmente implica cambios en la expresión génica por lo que una célula precursora se convierte en un tipo celular especializado distinto. Las citoquinas se han nombrado diversamente como linfoquinas, interleuquinas, y quimioquinas, basado en su presunta función, célula de secreción, o diana de acción. Por ejemplo, algunas interleuquinas comunes incluyen, pero no están limitadas a, IL-2, IL-12, IL-18, IFN-γ, TNF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-21, GM-CSF y TGF-β.

25

30

Como se usa en el presente documento, el término "quimioquina" se refiere a cualquiera de varias citoquinas pequeñas quimiotácticas liberadas en el sitio de infección que proporcionan un medio para la movilización y activación de linfocitos. Las quimioquinas atraen leucocitos a los sitios de infección. Las quimioquinas tienen residuos de cisteína conservados que permite asignarlas a cuatro grupos. Los grupos, con quimioquinas representativas, son quimioquinas C-C (RANTES, MCP-1, MIP-1α, y MIP-1β), quimioquinas C-X-C (IL-8), quimioquinas C (linfotactina) y quimioquinas CXXXC (fractalina).

35

Las composiciones terapéuticas de la invención pueden incluir además inhibidores de PD-1/PD-L1 (inmunoterapia de linfocitos T citotóxicos (CTL)), inmunoterapia de CTLA-4, inhibidores de CDK4/6 (terapia dirigida), inhibidores de PI3K (terapia dirigida), inhibidores de mTOR (terapia dirigida), inhibidores de AKT (terapia dirigida), inhibidores Pan-Her (terapia dirigida). Estos inhibidores se pueden modificar para generar el respectivo anticuerpo monoclonal también. Tales anticuerpos se pueden incluir en composiciones terapéuticas de la invención.

40

Las composiciones terapéuticas pueden incluir otros agentes anticáncer/antiproliferativos o quimioterapéuticos. En algunas formas de realización, los ejemplos de tales agentes se encuentran en Cancer Principles and Practice of Oncology por V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de febrero, 2001), Lippincott Williams & Wilkins

Publishers. Tales agentes anticáncer incluyen, pero no están limitados a, los siguientes: agentes terapéuticos hormonales (por ejemplo, moduladores del receptor de estrógeno selectivos, moduladores del receptor de andrógeno), terapia de anticuerpos monoclonales, quimioterapia, moduladores de receptor retinoide, agentes citotóxicos/citostáticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de prenil-proteína transferasa, inhibidores de HMG-CoA reductasa, mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, inhibidores de angiogénesis (por ejemplo, bevacizumab), inhibidores de la ruta de señalización de proliferación y supervivencia celular, agentes inductores de apoptosis, agentes que interfieren con puntos de control del ciclo celular, agentes que interfieren con receptores tirosinas quinasa (RTK), inhibidores de diana de rapamicina de mamífero (mTOR), inhibidores del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), bloqueantes de integrinas, AINE, agonistas de PPAR, inhibidores de multirresistencia a fármacos (MDR) inherente, agentes antieméticos, agentes útiles en el tratamiento de anemia, agentes útiles en el tratamiento de neutropenia, fármacos de potenciación inmunológica, bifosfonatos, inhibidores de aromatasas, agentes que inducen diferenciación terminal de células neoplásicas, inhibidores de γ -secretasa, vacunas contra el cáncer, y cualquier combinación de los mismos.

Formulaciones de la invención

Las composiciones terapéuticas (también denominadas en el presente documento composiciones farmacéuticas) en general incluyen un soporte farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento la frase "soporte farmacéuticamente aceptable" incluye solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. También se pueden incorporar compuestos activos suplementarios en las composiciones. Una composición farmacéutica se formula para que sea compatible con su ruta de administración pretendida. Los ejemplos de rutas de administración incluyen administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, intramuscular, intraarterial, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosa, y rectal. Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, solución salina tamponada en fosfato, solución salina tamponada en tris, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol, u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tal como alcohol bencílico o metilparabenos; antioxidantes tal como ácido ascórbico o bisulfato de sodio; agentes quelantes tal como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tal como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tal como cloruro de sodio o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tal como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral se puede encerrar en ampollas, jeringas desechables, o viales multidosis hechos de vidrio o plástico.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para un uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (donde sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersión inyectable estéril. Para la administración intravenosa, los soportes adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor EL® (BASF, Parsippany, N.J.) o solución salina tamponada en fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida al nivel de que exista fácil jeringabilidad. Debe ser estable en condiciones de fabricación y almacenamiento y conservarse contra la acción contaminante de microorganismos tal como bacterias y hongos. El soporte puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerida en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede alcanzar por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tal como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede producir incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen secado al vacío y liofilización que da un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo.

Las composiciones orales en general incluyen un diluyente inerte o un soporte comestible. Para el fin de administración terapéutica oral, el principio activo se puede incorporar con excipientes y usar en forma de comprimidos, pastillas, o cápsulas, por ejemplo, cápsulas de gelatina. Las composiciones orales también se pueden preparar usando un soporte fluido para uso como un colutorio. Se pueden incluir agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles, o materiales adyuvantes como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o sterotes; un deslizante

tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o saborizante de naranja.

5 Para la administración por inhalación, los compuestos se administran en forma de un espray aerosol desde un envase o dispensador presurizado que contiene un propelente adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

10 La administración sistémica también puede ser transmucosa o transdérmica. Para la administración transmucosa o transdérmica, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se va a permear. Tales penetrantes en general se conocen en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para la administración transmucosa, detergentes, sales biliares, y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa se puede lograr mediante el uso de espráis nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, ungüentos, geles, o cremas como en general se conoce en la técnica. Los compuestos también se pueden preparar en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tal como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para la administración rectal.

20 Según implementaciones, los compuestos activos se preparan con soportes que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biocompatibles, biodegradables tal como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán aparentes para los expertos en la materia. Los materiales también se pueden obtener comercialmente. También se pueden usar suspensiones liposómicas (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos específicos de célula) como soportes farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar según métodos que conocen los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la patente en EE UU No. 4.522.811.

30 Es ventajoso formular las composiciones orales o parenterales en forma farmacéutica unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosis. Forma farmacéutica unitaria como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas para el sujeto que se va a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el soporte farmacéutico requerido.

Formas farmacéuticas

35 Se puede determinar la toxicidad y eficacia terapéutica de tales composiciones terapéuticas por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La proporción de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como el cociente DL_{50}/DE_{50} . Las composiciones terapéuticas que muestran altos índices terapéuticos son preferidas. Mientras los compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos se pueden usar, se debe tener cuidado para diseñar un sistema de administración que dirija tales compuestos al sitio de localización afectada para minimizar el daño potencial a células sin infectar y, mediante ello, reducir los efectos secundarios.

45 Los datos obtenidos de ensayos de cultivo celular y estudios animales se pueden usar en formular un intervalo de dosis para uso en seres humanos. La dosis de tales compuestos está preferiblemente en un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica empleada y la ruta de administración utilizada. Para cualquier compuesto usado en el método de la divulgación, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración circulante en plasma que incluya la CI_{50} (es decir, la concentración del compuesto de prueba que alcanza una inhibición semimáxima de síntomas) determinada en cultivo celular. Tal información se puede usar para determinar de forma más precisa dosis útiles en seres humanos. Se pueden medir niveles en plasma, por ejemplo, por cromatografía líquida de alto rendimiento.

55 En algunas formas de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición terapéutica (es decir, una dosis eficaz) puede variar de aproximadamente 0,001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta aproximadamente 250 g/kg , de 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 10 g/kg , o de 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 1 g/kg o aproximadamente o al menos: 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009; 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09; 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 125, 150, 175, 200, 225, o 250 gramos o microgramos por kilogramo de peso corporal del paciente, u otros intervalos que serían aparentes y entenderían los expertos en la materia sin experimentación excesiva. El experto en la materia apreciará que ciertos factores pueden influir la dosis y cadencia requeridas para tratar de forma eficaz un sujeto, incluyendo, pero no limitado a, la gravedad de la enfermedad o trastorno, tratamientos previos, la salud general o edad del sujeto, y otras enfermedades presentes.

En otras formas de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de fracción Globo H en la composición terapéutica (es decir, una dosis eficaz) puede variar de aproximadamente 0,001 µg/kg hasta aproximadamente 250 g/kg, de 0,01 µg/kg a 10 g/kg, o de 0,1 µg/kg a 1 g/kg o aproximadamente o al menos: 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009; 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09; 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 125, 150, 175, 200, 225, o 250 gramos o microgramos por kilogramo de peso corporal del paciente, u otros intervalos que serían aparentes y entenderían los expertos en la materia sin experimentación excesiva. El experto en la materia apreciará que ciertos factores pueden influir la dosis y cadencia requeridas para tratar de forma eficaz un sujeto, incluyendo, pero no limitado a, la gravedad de la enfermedad o trastorno, tratamientos previos, la salud general o edad del sujeto, y otras enfermedades presentes.

En ciertas formas de realización, las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento contienen o están asociadas con, al menos un conjugado terapéutico por lo cual cada al menos un conjugado terapéutico está presente en una única dosis a una concentración de aproximadamente, al menos o más que: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 veces cada uno 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} molar por dosis. Preferiblemente, el conjugado terapéutico está presente en una única dosis a una concentración entre aproximadamente: 1-100, 2-60, 3-50, 4-40, 5-30, 6-20, 7-15, 8-10, 2-18, 3-16, 4-14, 5-12, 6-10 o 7-8 µM.

En algunas formas de realización, las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento contienen o están asociadas con, al menos un conjugado terapéutico por lo cual cada al menos un conjugado terapéutico está presente en una única dosis a una concentración de aproximadamente, al menos o más que: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 veces cada uno 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} o 10 microgramos. En ciertas formas de realización aproximadamente o al menos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 o más microgramos de un conjugado terapéuticos se incluye por dosis.

En ciertas formas de realización, las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento son para administración en una dosis aproximadamente o al menos o más que: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 veces al día, semana o mes durante un periodo de aproximadamente o al menos o más que: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 días, semanas, meses o años.

Kits

Según otro aspecto, el experto en la materia puede prever uno o más kits de partes, los kits de partes para realizar al menos uno de los métodos divulgados en el presente documento, el kit de partes comprende uno o más conjugados terapéuticos, agentes anticáncer/antiproliferativos, adyuvantes, citoquinas y/o quimioquinas. Las composiciones terapéuticas que comprenden solo o en combinación una cantidad eficaz de las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento según el al menos uno de los métodos anteriormente mencionados. Los agentes anteriormente mencionados pueden venir en un único envase o en diferentes envases en el kit.

Los kits posiblemente incluyen también identificadores de un suceso biológico, u otros compuestos identificables por un experto en la materia tras leer la presente divulgación. El kit también puede comprender al menos una composición que comprende una cantidad eficaz de las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento. Las composiciones terapéuticas de los kits para realizar el al menos un método divulgado en el presente documento según procedimiento identificable por un experto en la materia.

La divulgación también incluye las composiciones terapéuticas de la invención para uso en métodos de tratar enfermedades proliferativas. En una forma de realización, las composiciones terapéuticas son para uso en métodos que implican el tratamiento de cáncer, por ejemplo, cáncer de mama. Los métodos en general implican proporcionar las composiciones terapéuticas divulgadas en el presente documento a un paciente en necesidad de ello en una cantidad eficaz para tratar el trastorno proliferativo.

En algunas formas de realización, las composiciones terapéuticas de la invención son para administración a un sujeto en necesidad de ello (por ejemplo, uno que tiene un cáncer tal como cáncer de mama) en un método que de media extiende la supervivencia sin evolución o supervivencia global sobre un placebo control, por ejemplo, un placebo de solución salina tamponada con fosfato, en aproximadamente o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,

16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 días, semanas, meses o años.

5 En algunas formas de realización, las composiciones terapéuticas se van a dar por vía subcutánea en la semana 0-2, 6, 14, y 26 en ausencia de una toxicidad inaceptable o evolución de la enfermedad.

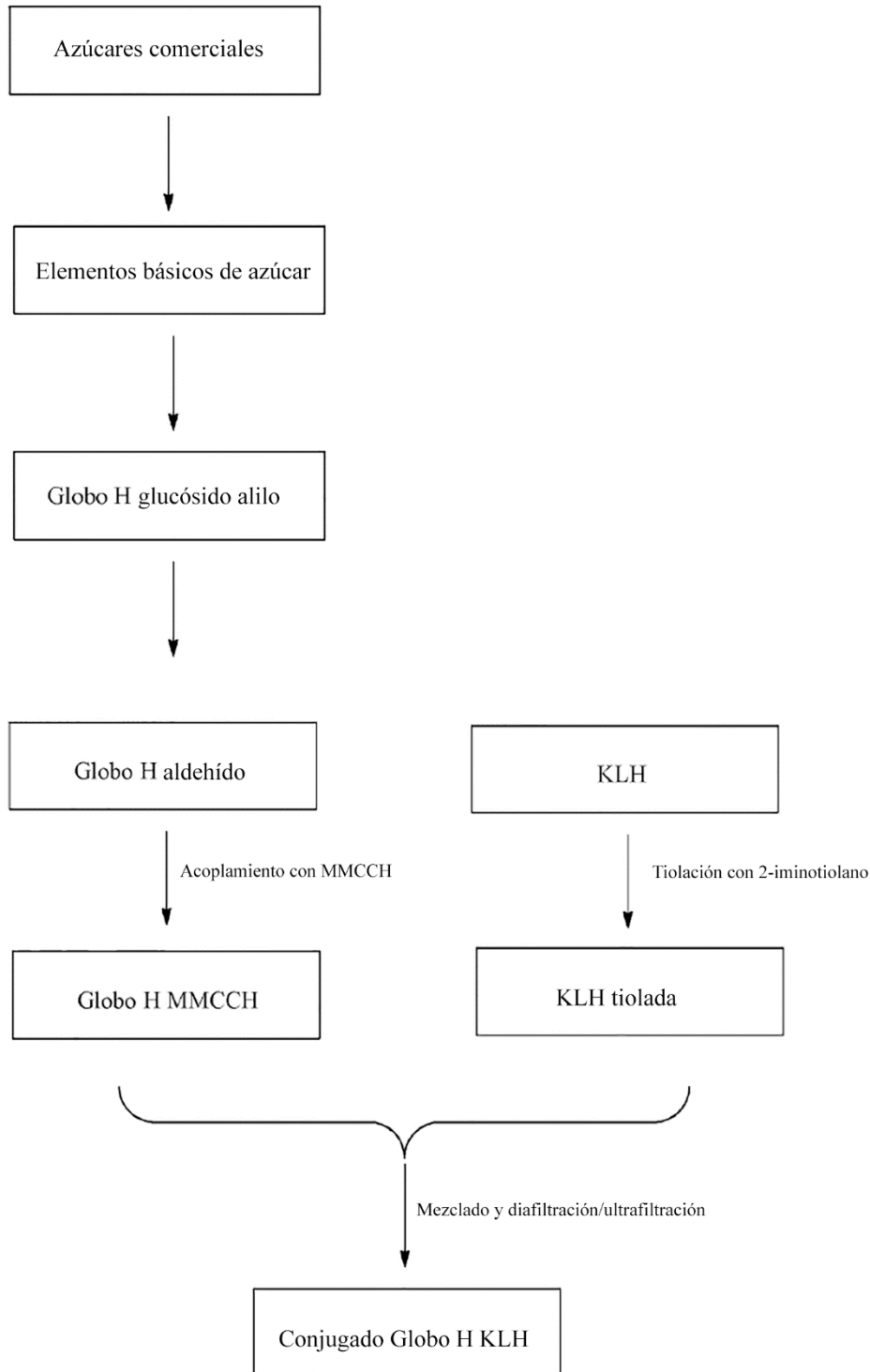
10 En algunas formas de realización, las composiciones terapéuticas de la invención son para administración a un sujeto en necesidad de ello (por ejemplo, uno que tiene un cáncer tal como cáncer de mama) en un método que de media reduce el volumen de un tumor en el paciente relativo a un placebo control, por ejemplo, un placebo de solución salina tamponada con fosfato, en aproximadamente o al menos , 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 o más por ciento sobre el curso de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 días, semanas, meses o años.

15 En algunas formas de realización, los volúmenes tumorales se pueden medir de forma precisa en al menos una dimensión (el diámetro más largo en el plano de medida se va a registrar) con un tamaño mínimo de 10 mm por TAC (se recomienda que el espesor de las porciones del TAC esté entre 2,5 mm y 5 mm).

20 Métodos de sintetizar las composiciones de la invención

25 La porción hexasacárido Globo H de las composiciones terapéuticas de la invención se sintetizó químicamente como el glicósido alilo y después se preparó para conjugación con KLH.

La síntesis química de Globo H puede implicar las siguientes etapas generales:



5 KLH se trató con 2-iminotiolano en un tampón acuoso. La KLH tiolada se aisló después del 2-iminotiolano sin reaccionar, a través de una columna de exclusión molecular de columna de Sephadex G-15. La KLH tiolada se almacenó en una atmósfera de gas inerte (nitrógeno o argón) y se usó inmediatamente para la conjugación con Globo H MMCCH.

Ejemplos

10 Ejemplo 1: Preparación de glucoconjugado de la invención (Globo H-KLH)

Se convirtió Globo H glucósido de alilo (comercialmente disponible) a un aldehído por ozonolisis. Se hizo reaccionar Globo H aldehído con M_2C_2H (enlazador) y $NaCNBH_3$ para dar Globo H-MMCCH. La mezcla se purificó con una

columna para capturar Globo H-MMCCCH. La fracción con Globo H-MMCCCH positivo se confirmó por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y después se juntaron. Se disolvió KLH en tampón de tiolación y se añadió 2-iminotiolano a la reacción en porciones. La reacción se incubó hasta completarse y después se purificó KLH-SH por una columna. Se combinaron Globo H-MMCCCH y KLH-SH. La reacción se agitó hasta completarse. Después se purificó Globo H-KLH para proporcionar el producto final.

Ejemplo 2: Análisis de proporción en peso de Globo H respecto a KLH en el glucoconjugado

La proporción en peso de Globo H y KLH en el glucoconjugado preparado se confirmó por cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento con detección amperométrica pulsada (HPAEC-PAD). Los resultados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: La proporción en peso de Globo H y KLH en el glucoconjugado

Preparaciones de glucoconjugado Proporción de epítipo (didecámero de KLH MW: 8.600.000 Da)	Proporción de epítipo (monómero de KLH MW:400 kDa)	Peso Globo H respecto a peso fracción KLH (mg/mg)
3000	150	0.368
1950	97.5	0.239
1500	75	0.184
1050	52.5	0.129
300	15	0.037
100	5	0.012
20	1	0.002

Ejemplo 3: Análisis de la proporción de epítipo de Globo H respecto a KLH en el glucoconjugado

El peso molecular de un didecámero de KLH (la forma naturalmente agregada) es aproximadamente 7,5 MDa ~ 8,6 MDa, como se describe en la bibliografía, tal como Micron 30 (1999) 597-623. Se confirmó que la KLH nativa por la cromatografía de exclusión molecular y espectrometría de dispersión láser multiángulo (MALS), tenía el peso molecular de aproximadamente 8,6 MDa (véase, Fig. 3 y 4). Los glucoconjugados de la invención (muestra no. 5, la proporción en peso de Globo H a KLH es 0,17:1) se analizaron por cromatografía de exclusión molecular. Los resultados muestran que el glucoconjugado de la invención mostraba una masa reducida en peso molecular en comparación con los didecámeros de KLH agregada. Véase la figura 4. Las proporciones moleculares se calcularon después como en la tabla 4.

Tabla 4: Cálculo de proporciones moleculares de Globo H a KLH

Peso molecular experimental de Globo H-KLH (kDa)	Masa de 75 Globo H por subunidad de KLH en Globo H-KLH: 75 (kDa)	Masa de subunidad de KLH: 359 kDa	Suposición de (Globo H)- (multímero KLH) de los datos experimentales
1142	$3 \times 75 = 225$	$359 \times 3 = 1077$	$225 + 1077 = 1302$ KLH forma un trímero después de la conjugación Globo H-KLH
780	$2 \times 75 = 150$	$359 \times 2 = 718$	$150 + 718 = 868$ KLH forma un dímero después de la conjugación Globo H-KLH
420	$1 \times 75 = 75$	$359 \times 1 = 359$	434 KLH forma un monómero después de la conjugación Globo H-KLH

* La proporción molecular anterior se calcula basada en la fórmula siguiente:

$$\text{proporción molecular} = \frac{\text{Peso de Globo H} / \text{M.W. de Globo H}}{\text{Peso de KLH} / \text{Peso molecular de KLH}^{**}}$$

** El peso molecular de KLH depende de las formas de monómero, dímero o didecámero.

- 5 Dado lo anterior, se concluyó que, en el glucoconjugado de la invención, las unidades monoméricas de KLH forman monómeros, dímeros y/o trímeros después de la conjugación a Globo H.

Ejemplo 4: Preparación de composiciones vacuna e inmunización en ratas

- 10 Diferentes muestras de los glucoconjugados (Globo H-KLH) preparadas en el ejemplo 1 se almacenaron a 4°C, y se mezclaron con un adyuvante de saponina en una campana de flujo laminar. Las composiciones vacuna resultantes se colocaron en hielo y se transportaron a un animalario para posterior inmunización.

Se inmunizaron tres grupos de ratas Lewis con las varias composiciones vacuna como se muestra en la tabla 5.

15

Tabla 5: Grupo de ratas inmunizadas

Grupo	Composiciones vacuna	Número de animales	Vía
I	GH-KLH* (25 µg) + adyuvante saponina (25 µg)	8	SC
II	GH-KLH* (7,5 µg) + adyuvante saponina (25 µg)	4	SC
II	PBS	4	SC

* GH:KLH = 0,17:1 (p/p)

GH: Globo H

20 SC: subcutánea

PBS: solución salina tamponada en fosfato

Las ratas se inmunizaron el día 0, 7, 14 y 21. Se recogieron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y plasma el día 0, 3, 10, 17, 24 y 31. Se recogieron bazo, ganglios linfáticos y lavado peritoneal el día 31.

25

Ejemplo 5: Ensayos para la inducción de respuestas inmunitarias humoral y celular en ratas

Ejemplo 5.1 Análisis de subpoblaciones de células efectoras inmunitarias por citometría de flujo

- 30 Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se aislaron de los animales y después varias subpoblaciones de células efectoras inmunitarias en las CMSP se identificaron por citometría de flujo usando anticuerpos específicos contra diferentes marcadores celulares. Las CMSP, aisladas de las ratas inmunizadas el día 0, 3, 10, 17, 24 y 31, se tiñeron con diferentes anticuerpos conjugados con fluorescencia (FITC) y se colocaron en hielo durante 30 minutos. Después de la incubación, las células se lavaron con el tampón de lavado (seroalbúmina bovina (Sigma) al 1% y NaN₃ (Sigma) al 0,1% en solución salina tamponada con fosfato (UniRegion Biotech) y se centrifugaron a 350 g durante 5 minutos. Las células se resuspendieron en tampón de lavado para la determinación de la fluorescencia por FACS Canto (BD Bioscience). Los datos se analizaron con software BD FACSDiva (BD Bioscience). Los resultados muestran que en las ratas inmunizadas por el glucoconjugado de la presente invención, células T, células B, células T CD4⁺, y células T CD8⁺ estaban significativamente expandidas cuando se comparaban al grupo control de PBS. Específicamente, la población de células B apareció primero el día 3 y posteriormente aparecieron células T CD3⁺, T CD4⁺ y T CD8⁺ el día 24. Véase la figura 5 (A)-(D).

40

Ejemplo 5.2 Prueba de anticuerpo específico para Globo H por ELISA

- 45 La producción de anticuerpos específicos de Globo H en el plasma de las ratas inmunizadas se determinó por ensayo ELISA. Los resultados muestran que los títulos de IgG específica de Globo H empezaron a subir a los 10 días y alcanzaron un pico a los 17 días después de la inmunización. Se observaron patrones similares en la producción de anticuerpo IgM específico de Globo H. Véase la figura 5 (A)-(B). No hubo respuesta de anticuerpo IgG e IgM específico de Globo H en ratas tratadas con PBS, o KLH más adyuvante solo (datos no mostrados).

50

En resumen, en las ratas inmunizadas, la producción de células B aparece el día 3, seguido por la producción de anticuerpo IgM e IgG contra Globo H que aparece el día 10 y posteriormente células T CD3⁺, T CD4⁺ y T CD8⁺ que aparece el día 24. El glucoconjugado (Globo H-KLH) de la invención es eficaz para inducir respuestas tanto humorales como celulares.

55

Ejemplo 6: Inmunización en ratones y ensayo de anticuerpo por ELISA

Se almacenaron diferentes muestras de los glucoconjugados (Globo H-KLH) a 4°C, y se mezclaron con un adyuvante de saponina en una campana de flujo laminar. Las composiciones vacuna resultantes se colocaron en hielo y se transportaron a un animalario para posterior inmunización.

5 Se dio a ratones Balb/c de aproximadamente ocho semanas de edad Globo H-KLH con diferentes proporciones de hidrato de carbono a proteína (Globo H:KLH) una vez cada semana durante cuatro semanas (día 0, 7, 14 y 21) mediante inyección subcutánea. Se recogieron muestras de sangre a través de la vena retro-orbital o facial sin anticoagulante preinmunitario o día 0, y tres días después de cada vacunación (día 10, 17 y 24). Las muestras se
10 centrifugaron después para separar suero y glóbulos rojos. Se recogieron los sueros y almacenaron a -20°C, que se analizaron después por ELISA. Se usó la prueba de la t de Mann-Whitney para análisis estadístico.

Como se muestra en la figura 6, se ha demostrado que el glucoconjugado (Globo H-KLH), en combinación con un adyuvante de saponina, según la invención, induce significativamente las respuestas de anticuerpo IgM específico de
15 Globo H en el modelo animal, en comparación con el grupo control de PBS. Específicamente, el glucoconjugado con una proporción de peso 0,17:1 (Globo H:KLH) indujo un mejor título de anticuerpo que el glucoconjugado con una proporción de peso 0,07:1 (Globo H:KLH).

En resumen, se ha demostrado que el glucoconjugado (Globo H-KLH), en combinación con un adyuvante apropiado, según la invención, induce respuesta inmunitaria humoral y celular inesperadamente superior en el modelo animal,
20 particularmente expansión de células B y células T incluyendo CTL y respuestas de IgM e IgG, que son importantes en inmunoterapia contra el cáncer.

Ejemplo 7: Estudio de inmunogenicidad de Globo H-KLH con o sin vacuna adyuvante en ratones

25 La capacidad de la composición de Globo H de la invención, cuando se empareja con un adyuvante, para provocar una respuesta inmunitaria en ratones se ha llevado a cabo. La cantidad de anticuerpo específico de Globo H inducido por la inmunoterapia se cuantificó por ELISA y FACS.

Se inmunizaron grupos de ratones C57BL/6 hembras de 6 semanas de edad por vía subcutánea con Globo H-KLH y
30 adyuvante. Los niveles de dosis de Globo H-KLH son el equivalente de la cantidad de Globo H (en µg) en Globo H-KLH. Cada inyección contenía un intervalo de dosis equivalentes a de 0,6 µg a 5,0 µg de Globo H en Globo H-KLH y 20 µg de adyuvante. Las inmunizaciones se produjeron los días 0, 8, y 14, y se recogió suero el día 0 (preinyección) y el día 24 para análisis comparativos por ELISA y FACS. Las respuestas serológicas se midieron por ELISA para determinar su título de anticuerpos contra la ceramida Globo H, y FACS para determinar la reactividad de superficie
35 celular a células MCF-7 positivas para Globo H.

A lo largo de la inmunización, no hubo cambio obvio en el comportamiento, apetito, aspecto general, y aseo después de la vacunación. Diez días después de la tercera inmunización, se recogieron sueros para la determinación de los títulos de anticuerpo IgG e IgM anti-Globo H por ELISA, usando un título ≥ 8 veces del valor pretratamiento como un
40 criterio para respuesta positiva. Como se muestra en la figura 2, no hubo respuesta en ratones tratados con Globo H solo, conjugado Globo H KLH, o adyuvante solo. En contraste, 14/15 ratones tratados con Globo H-KLH + adyuvante respondieron con títulos anti-Globo H de IgG significativos que no parecían ser dependientes de la dosis a una dosis de Globo H-KLH de 0,6 a 5 µg. Los títulos de IgG medios para cada dosis aumentaron en 13 a 17,5 veces sobre el valor pretratamiento Respecto a IgM anti-Globo H, uno de los 15 ratones mostró un aumento de 8 veces en el título después de la inmunización con adyuvante + Globo H-KLH. Sin embargo, 5/15 tuvieron un título de IgM ≥ 4 veces de los sueros preinmunitarios y un total de 6/15 tuvieron un título ≥ 2 veces. Los títulos de IgM medios para cada dosis aumentaron en 2,5 veces sobre los valores pretratamiento.

La capacidad de unión de los sueros inmunitarios con la línea de células de cáncer de mama que expresa Globo H, MCF-7, se determinó por análisis FACS a una dilución de suero 1:25. El valor postratamiento del 30% por encima del
50 valor pretratamiento (es decir, $\geq 1,3$ veces de aumento) se consideró como positivo en este ensayo. Como se muestra en la figura 3, los sueros inmunitarios de todos los grupos tratados con adyuvante + Globo H-KLH contenía anticuerpos IgM que reaccionaron con células MCF-7, que variaban de 5~6 veces sobre el basal pretratamiento. Además, los sueros inmunitarios de tres quintos de los ratones tratados con 0,6 µg o 2 µg de Globo H-KLH + adyuvante y dos
55 quintos de los tratados con 5 µg de Globo H-KLH + adyuvante mostraron anticuerpos IgG que se pudieron unir a células MCF-7. Las capacidades de unión medias aumentaron de 1,3 a 2,0 veces sobre el basal pretratamiento.

Se ha demostrado que la vacunación con Globo H-KLH y un adyuvante provoca respuestas anti-Globo H tanto de IgG como IgM en ratones C57BL/6 hembras. Los sueros inmunitarios tenían la capacidad de unirse a células MCF-7 de
60 cáncer de mama que expresan Globo H.

Ejemplo 8: Análisis por LC-MS/MS de los sitios de conjugación de Globo H en KLH

Se identificaron los sitios de conjugación de Globo H en cuatro muestras de KLH usando digestión con múltiples
65 enzimas y LC-MS/MS. Las cuatro muestras de KLH conjugada con Globo H se digirieron primero con cuatro enzimas diferentes y después se analizaron por LC-MS/MS y búsqueda en base de datos Mascot. Se identificaron dos tipos de

derivados: derivado de Globo H (Globo H + MMCCH) y el derivado de MMCCH (MMCCH solo). El derivado de Globo H y sus formas de pérdida neutra se consideraron para la identificación de los sitios de conjugación de Globo H. La forma MMCCH y su forma desamidada se consideraron para la identificación del sitio de conjugación de MMCCH. Se consideraron solo esos péptidos con espectros MS/MS de alta calidad y puntuación Mascot. Para el análisis de conjugación de Globo H, se observaron 31 y 28 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13001-DP (muestra 1); se observaron 19 y 21 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13002-DP (muestra 2); se observaron 10 y 11 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13003-DP (muestra 3); se observaron 18 y 19 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13004-DS (muestra 4). Para análisis de conjugación de MMCCH, se encontraron 155 y 141 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13001-DP (muestra 1); se encontraron 143 y 137 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13002-DP (muestra 2); se encontraron 147 y 143 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13003-DP (muestra 3); se encontraron 140 y 136 lisinas conjugadas de los dos análisis de LC-MS/MS replicados de OBI-822-13004-DS (muestra 4).

Ejemplo 8 Materiales y métodos

Las abreviaturas en esta sección son como sigue: K = lisina; LC-MS/MS = cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem; DTT = ditioneitol; IAM = yodoacetamida; ACN = acetonitrilo; FA = ácido fórmico; Glu-C = endoproteinasa Glu-C; ABC = bicarbonato de amonio; RT = temperatura ambiente; MW = peso molecular.

Las cuatro muestras de KLH, muestra 1-4, se procesaron primero para intercambio de tampón en solución tampón bicarbonato de amonio 50 mM mediante filtros de ultracentrifugación Amicon de límite 100 kDa y se desnaturalizaron con urea 6 M. Las muestras se redujeron después con DTT 10 mM a 37°C durante 1 h, se alquilaron usando IAM 50 mM durante 30 min en la oscuridad a temperatura ambiente y se extinguieron con DTT 50 mM a temperatura ambiente durante 5 min. Las proteínas resultantes se diluyeron hasta que la concentración de urea es 1 M y se sometieron a digestión en solución con diferentes enzimas como se describe en la siguiente sección.

La digestión en solución con diferentes enzimas se realizó con las siguientes condiciones de digestión: (1) digestión con tripsina a 37°C durante 24 h (proteína:enzima = 40:1) (2) digestión con Glu-C a 37°C durante 24 h (proteína:enzima = 25:1); (3) digestión con quimotripsina a temperatura ambiente durante 24 h (proteína:enzima = 25:1); (4) digestión con termolisina a 37°C durante 24 h (proteína:enzima = 25:1).

Las reacciones de digestión se terminaron añadiendo ácido fórmico y las cuatro muestras digeridas se sometieron a análisis de LC-MS/MS.

Las muestras se analizaron con espectrómetro de masas Q Extractive (Thermo Scientific) acoplado con sistema Ultimate 3000 RSLC (Dionex). La separación por LC se realizó usando la columna C18 (Acclaim PepMap RSLC, 75 µm x 150 mm, 2 µm, 100 Å) con el gradiente mostrado a continuación:

Tiempo (min)	A%	B%	Flujo (µL/min)
0	99	1	0.25
5	99	1	0.25
35	90	10	0.25
67	65	35	0.25
77	15	85	0.25
82	99	1	0.25
90	99	1	0.25

Fase móvil A: ACN al 5%/FA al 0,1%

Fase móvil B: ACN al 95%/FA al 0,1%

Se ajustó CID en fuente a 45 eV. Se realizó un barrido MS completo con el intervalo m/z 350-2000, y los diez iones más intensos del barrido MS se sometieron a fragmentación para espectros MS/MS. Los datos crudos se procesaron en listas de picos por Proteome Discoverer 1.4 para búsqueda en bases de datos Mascot.

La búsqueda en bases de datos se realizó con Mascot versión 2.4.1 y Thermo Proteome Discoverer versión 1.4 frente a KLH1 y KLH2 [KLH1, registro en EMBL #CAG28307.1; KLH2, registro en EMBL #CAG28308.1. Los parámetros usados fueron como sigue: Enzima: tripsina, Gluc-C, quimotripsina y termolisina según el método de digestión; modificación fijada: carbamidometilo (C).

Modificaciones variables para derivados de MMCCH (MMCCH solo): desamidado (NQ), oxidación (M), dK_MMCCH-1 (K), dK_MMCCH-2 (K).

5 Modificaciones variables para derivados de Globo H (Globo H + MMCCH): desamidado (NQ), oxidación (M), Globo_H_MMCCH (K), dK_MMCCH_NL997 (K), dK_MMCCH_NL835 (K), dK_MMCCH_NL673 (K), dK_MMCCH_NL511 (K), dK_MMCCH_NL308 (K), desamidado (NQ), Oxidación (M), Tolerancia de masa de péptido: ± 10 ppm; tolerancia a masa de fragmento: $\pm 0,05$ Da; cortes perdidos máx.: 5; tipo de instrumento: ESI-TRAP; puntuación de corte de ion: 13.

10 “dK_MMCCH-1” en los parámetros de búsqueda indica la lisina conjugada a MMCCH con la adición de MW de 352,1569 Da.

“dK_MMCCH-2” en los parámetros de búsqueda indica la forma desamidada de lisina conjugada a MMCCH con la adición de MW de 338,1300 Da.

15 “Globo_H_MMCCH (K)” en los parámetros de búsqueda indica la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 1393,5317 Da.

20 “dK_MMCCH_NL997 (K)” en los parámetros de búsqueda indica la forma de pérdida neutra de la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 396,1831 Da.

“dK_MMCCH_NL835 (K)” en los parámetros de búsqueda indica la forma de pérdida neutra de la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 558,2360 Da.

25 “dK_MMCCH_NL673 (K)” en los parámetros de búsqueda indica la forma de pérdida neutra de la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 720,2888 Da.

“dK_MMCCH_NL511 (K)” en los parámetros de búsqueda indica la forma de pérdida neutra de la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 882,3416 Da.

30 “dK_MMCCH_NL308 (K)” en los parámetros de búsqueda indica la forma de pérdida neutra de la lisina conjugada a Globo H con la adición de MW de 1085,4210 Da.

La “adición de MW” implica la adición de peso molecular comparada con el residuo de lisina intacto.

35 Ejemplo 8: Resultados

Las técnicas basadas en LC-MS/MS son herramientas para la identificación de proteína y caracterización de modificación de aminoácidos. Se puede obtener información detallada respecto a secuencias de péptidos y sitios de modificación por la asignación de iones de fragmentos proporcionados por los espectros de MS/MS. Mascot es una máquina de búsqueda y su algoritmo de puntuación basado en probabilidad se ha aceptado bien. La puntuación Mascot se adoptó en este estudio como una referencia de confianza para secuenciación de proteínas e identificación de sitios de conjugación de Globo H o MMCCH. Para analizar extensamente la distribución de sitios de conjugación de Globo H o MMCCH en las muestras 1-4, estas muestras se digirieron con múltiples enzimas seguido por análisis de LC-MS/MS.

50 La estructura química esperada para el derivado de Globo H (Globo H + MMCCH) se muestra en la figura 33A y la correspondiente adición de MW de 1393,53 Da en péptidos que contienen lisina se puede observar entre los resultados. Además, los polisacáridos lábiles tienden a caerse a través de pérdida neutra durante la ionización de electrospray en el análisis de LC-MS. Por tanto, la adición de peso molecular de 396,18 Da, 558,24 Da, 720,29 Da, 882,34 Da y 1085,42 Da resultante de pérdida neutra también se pudo observar para péptidos glucoconjugados, como se muestra en la figura 33B. Todas las formas derivatizadas se consideraron para la identificación de los sitios de conjugación de Globo H.

55 Además, también se observó el derivado de MMCCH (MMCCH solo) en estas muestras de KLH conjugada a Globo H. La estructura química esperada para el derivado de MMCCH y su forma desamidada se muestran en la figura 34A y 34B y la correspondiente adición de MW de 352,16 Da y 338,13 Da respectivamente en péptidos que contienen lisina se puede observar entre los resultados. Ambas formas derivatizadas se consideraron para la identificación de los sitios de conjugación de MMCCH. La conversión de derivado de Globo H a MMCCH no está clara, pero se supone que sucede durante el tratamiento de la muestra.

60 La precisión de masa de ± 10 ppm para ion precursor y $\pm 0,05$ Da para ion de fragmento se usaron como los criterios para identificación de proteína e interpretación de espectros. El derivado de Globo H, así como sus formas de pérdida neutra se eligieron como modificación variable para identificación de sitios de conjugación de Globo H, y el derivado de MMCCH, así como su forma desamidada se eligió como modificación variable para identificación de sitios de conjugación de MMCCH. La búsqueda en bases de datos se realizó frente a la secuencia de KLH1 y KLH2

proporcionadas por el patrocinador. Solo esos péptidos con espectros MS/MS de alta calidad (puntuación de ion ≥ 13 , $p < 0,05$) se enumeran en el informe.

5 Para demostrar un resultado repetible, el análisis de LC-MS/MS se realizó dos veces seguido por búsqueda de bases de datos Mascot individuales tanto para identificación de sitios de conjugación de Globo H como identificación de sitios de conjugación de MMCCH, como se resume en la figura 17.

10 En el análisis de los sitios de conjugación de Globo H, se encontraron 31 y 28 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 1; se encontraron 19 y 21 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 2; se encontraron 10 y 11 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 3; se encontraron 18 y 19 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 4. Los detalles de identificación se enumeran en las figuras 14-21. En el análisis de conjugación de MMCCH, se encontraron 155 y 141 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 1; se encontraron 143 y 137 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 2; se encontraron 147 y 143 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 3; se encontraron 140 y 136 lisinas respectivamente en el 1^{er} LC-MS/MS y el 2^o LC-MS/MS para la muestra 4. Los detalles de identificación se enumeran en las figuras 22-29.

20 Los sitios de conjugación de Globo H de los experimentos con múltiples enzimas se resumen en la figura 30 y los sitios de conjugación de MMCCH en la figura 31. Los resultados del análisis de sitios de conjugación global para muestras conjugadas con Globo H se resumen en la figura 32.

Ejemplo 8 Conclusión:

25 Las señales de espectrometría de masas de péptidos conjugados con derivado de Globo H son menores que las de los péptidos conjugados a MMCCH debido a múltiples formas de pérdida neutra y menor eficacia de ionización de polisacárido, lo que hace la identificación directa de la conjugación a Globo H más difícil. Esto es por qué los números de péptidos identificados son mayores para análisis de conjugación a MMCCH. Por tanto, los resultados de MMCCH se pueden usar para representar la conjugación de Globo H.

30 El análisis de los sitios de conjugación sugiere que hay 153, 143, 147 y 140 sitios de conjugación de lisina identificados entre el total de 306 residuos de lisina en KLH1/KLH2 para las muestras 1-4, respectivamente. En el análisis replicado, se identificaron 141, 137, 143 y 136 sitios de conjugación para las muestras 1-4, respectivamente.

35 A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos y cualquier acrónimo usados en el presente documento tienen los mismos significados entendidos por un experto en la materia en el campo de esta invención.

40 Lista de secuencias

KLH1 GI: 47169655
3.125 AA, 358.911 Da, Número de lisinas: 156
Didecámero de KLH1, 8.613.864 Da, Número de lisinas: 3744

45 Contenido en hidratos de carbono para klh1:
manosa (aldosa)
galactosa (aldosa)
n-acetilglucosamina (cetosa)
n-acetilgalactosamina (cetosa)

50 SECUENCIA DE KLH1:

1 MTPEELKTYL DERSSRARAF ASFRLKGFGG SANVFVYVCI PDDNDRNDDH CEKAGDFVVL
 61 GGPSEMKWQF YRPYLFDSLSD TVHKMGMKLD GHYTVKAELF SVNGTALPDD LLPHPVVVHH
 121 PEKGFDFPPV KHHQSANLLV RKNINDLTRE EVLNLREAFH KQEDRSVDG YQATAEYHGL
 181 PARCPRDAK DRYACCVHGM PIFPHWHRLF VTQVEDALVG RGATIGIPYW GLPYWDWTEP
 241 MTHIPGLAGN KTYVDSHGAS HTNPFHSSVI AFEENAPHTK RQIDQRLFKP ATFGHHTDLF
 301 NQILYAFEQE DYCDFEVQFE ITHNTIHAWT GGSEHFSMSS LHYYAFDPLF VFHHSNVDRL
 361 WAVWQALQMR RHKPYRAHCA ISLEHMHLPK FAFSSPLNNN EKTHANAMPN KIYDYENVLH
 421 YTYEDLTFGG ISLENIEKMI HENQQEDRIY AGFLLAGIRT SANVDIFIKT TDSVQHKAGT
 481 FAVLGGSKEM KWFDFRVKFK DITHVLKDLT LTADGDFEVT VDITEVDGTE LASSLIPHAS
 541 VIREHARGKL NRVKFDKVP SRIRKNDVDR LSPEEMNELR KALALLKEDK SAGGFQQLGA
 601 FHGEPKWPCS PEASKKFACC VHGM SVFPHW HRLITVQSEN ALRRHGYDGA LPYWDWTSPL
 661 NHLPELADHE KYVDPEDGVE KHNPWFDPGHI DTVDKTTTRS VQNKLFQPE FGHYTSIAKQ
 721 VLLALEQDNF CDFEIQYEA HNYIHALVGG AQPYGMASLR YTAFDPLFYL HHSNTDRIWA
 781 IWQALQKYRG KPYNVANCAV TSMREPLQPF GLSANINTDH VTKEHSVFPN VFQYKTNFNY
 841 EYDTLEFNGL SISQLNKLE AIKSQDRFFA GFLLSGFKS SILKFNICTD SSNCHPAGEF
 901 YLLGDENEMP WAYDRVFKYD ITEKLHDLKL HAEDHFYIDY EVFDLKPSI GKDLFKQPSV
 961 IHEPRIGHHE GEVYQAEVTS ANRIRKNIEN LSLGELESR AAFLEIENDG TYESIAKFHG
 1021 SPGLCQLNGN PISCCVHGMP TFPHWHRLYV VVENALLKX GSSVAVPYWD WTKRIEHLPH
 1081 LISDATYYS RQHMYETNPF HHGKITHENE ITTRDPKDSL FHSDFYEQV LVALEQDNFC
 1141 DFEIQLEILH NALHSLGGK GKYSMSNLDY AAFDPVFFLH HATTDRIWAI WQDLQRFKR
 1201 PYREANCAIQ LMHTPLQPF KSDNNDEATK THATPHDGFY QNSPGYAYD NLELNHYSIP
 1261 QLDHMLQERK RHDRVFAGFL LHNIGTSADG HVFVCLPTGE HTKDCSHEAG MFSILGGQTE
 1321 MSFVDFRLYK LDITKALKKN GVHLQGGDFDL EIEITAVNGS HLDSHVIHSP TILFEAGTDS
 1381 AHTDDGHTEP VMIRKDTQL DKRQQLSIVK ALESMAADHS SGGFQAIASF HALPPLCPSP
 1441 AASKRFACCV HGMATFPQWH RLYTVQFQDS LRKHGAVVGL PYWDWTLPRS ELPELLTVST

ES 2 914 176 T3

1501 IHOPETGRDI PNPFIGSKIE FEGENVHTKR DINRDRLFQ STKTHHNWFI EQALLALEQT
1561 NYCDFEVQFE IMHNGVHTWV GGKPEYIGIGH LHYASYDPLF YIHHSQTDRI WAIWQSLQRF
1621 RGLSGSEANC AVNLMKTPLK PFSFGAPYNL NDHTHDF5KP EDTFDYQKFG YIYDTLEFAG
1681 WSIRGIDHIV RNRQEHSRVF AGFLEGFQGT SATVDFQVCR TAGDCEDAGY FTVLGGEKEM
1741 PWAQDRLYKY DITETLDKMN LRHDEIFQIE VTITSYDGTV LDSGLIPTPS IYDPAHHDI
1801 SSHHLSLNKV RHDLSLTSER DIGSLKYALS SLQADTSADG FAAIASFHGL PAKCNDSSHNN
1861 EVACCIHGMP TFPWHWRLYT LQFEQALRRH GSSVAVPYWD WTKPIHNIPH LFTDKKEYYDV
1921 WRNKVMPNPF ARGVPSHDT YTVRDVQEGE FHLTSTGEHS ALLNQALLAL EQHDYCDFAV
1981 QFEVMHNTIH YLVGGPQVYS LSSLHYASYD PIFFIHHSFV DKVWAVWQAL QEKRGPLSDR
2041 ADCAVSLMTQ NMRPFHYEIN HNOFTKXHAV PNDVFKYELL GYRYDNLEIG GMNLHEIEKE
2101 IKDKQHHVVRV FAGFLLHGIR TSADVQFOIC KTSIEDCHHGG QIFVLGGTKE MAWAYNRLF
2161 YDITHALHDA HITPEDVFHP SEPFFIKVSV TAVNGTVLPA SILHAPTHY EPGLGDHHD
2221 HHSSSMAGHG VRKEINTLTT AEVDNLKDAM RAVMADHGPV GYQAIAAFHG NPPMCPMPDG
2281 KNYSCCTHGM ATFPWHWRLY TKQMEDALTA HGARVGLPYW DGTFTAFTALP TTVTDEEDNP
2341 FHHGHIDYLG VDTTRSPRDK LFNDRPERGSE SFFYRQVLLA LEQTDFCQFE VQFEITHNAI
2401 HSWTGGLTPY GMSTLEYTTY DPLFWLHGAN TDRIWAIWQA LQEYRGLPYD HANCEIQAMK
2461 RPLRPFSDPI NHNAFTHSNA KPTDVFVYSR FNFQYDNLRF HGMTIKKLEH ELEKQKEEDR
2521 TFAAFLHGI KKSADVSFDV CNHDGECHEFA GTFAILGGEH EMPWVSFDRIF RYDITQVLKQ
2581 MHLEYDSDFH FHMRIHDTSG KQLPSDLIKM PTVESHPPGGK HHEKHEDHEDH EDILVRKNIH
2641 SLSHHEAEEL RDALYKQND ESHGGYEHIA GFHGYPNLCP EKGDEKYPCC VHGMISIFPHW
2701 HRLHTIQFER ALKXHGSHLG IPYWDWTQTI SSLPTFFADS GNNNPFKYH IRSINQDTRV
2761 DVNEAIFQQT KFGFESSIFY LALQALEEDN YCDFEVQYEI LHNEVHALIG GAEKYSMSTL
2821 EYSAFDOPYFM IHHASLQKIW IHWQELQKRR VKPAHAGSCA GDIMHVPLHP FNYESVNND
2881 FTRENSLPNA VVDSHRFNKY YDNLNLHGHN IEELEEVLSR LRLKSRVFAG FVLSGIRTTA
2941 VVKVYIKSGT DSDDEYAGSF VILGGAKEMP WAYERLYRFD ITETVHNLNL TDDHVFRFD
3001 LKKYDHTELD ASVLPAPIIV RRPNAVFDI IEIPIGKOVN LPPKVVVKRG TKIMFMSVDE
3061 AVTTPMLNLG SYTAMFKCKV PPF5FHAFEL GKMYSVESGD YFMTASTTEL CNDNNLRIHV
3121 HVDDE

KLH2 GI: 47169657

3.421 AA, 391.539 Da, Número de lisinas: 150

5 Didecámero de KLH2, 9.396.936 Da, Número de lisinas: 3600

Contenido en hidratos de carbono para klh2:

manosa (aldosa)

galactosa (aldosa)

10 n-acetilglucosamina (cetosa)

n-acetilgalactosamina (cetosa)

fucosa (aldosa, desoxihexosa)

SECUENCIA DE KLH2:

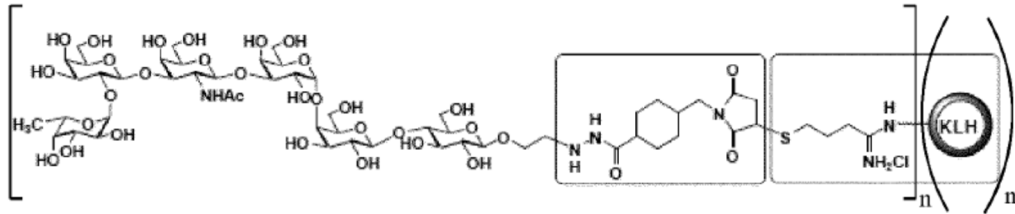
15

1 MWTLALLTA TLLFEGAFSV DTVVRKKNVDS LSSDEVLALE KALDDLQDD SNQGYQAIAG
 61 YHGVPMTCDV KHEKNVACCL HGMPSFPLWH RLYVVQLERA LIRKATISI PYWDWTSELT
 121 HLPVLVSHPL FVGTEGGKAH DNSWYRADIT FLNKKTSRAV DDRLFQVQP GHHTRLMEGI
 181 LDALEQDEFC KFEIQFELAH NAIHYLVGGR HTYSMSHLEY TSYDPLFFLH HSNTDRIFAI
 241 WQRLQQLRGK DPNSADCAHN LIHTPMEPFD RDTNPLDLTR EHAKPADSFD YGRLGYQYDD
 301 LSLNGMSPEE LNVYLGERRA KERTFASFIL SGFGGSANVV VVCRPAHDE ISDDQCIKAG
 361 DFFLLGGPTE MKWGFYBAYH FDVTDSVASI DDDGHGHYVV KSELSVNGS ALSNDILRQP
 421 TLVHRPAKGH FDKPPVPAQ ANLAVRKNIN DLTAETYSL RKAMERFOND KSVGGYQATV
 481 EFHALPARCP RPKAKDRFAC CVHGMATFPH WHRLFVTQVE DALLRRGSTI GLPNWDWTMP
 541 MDHLPELATS ETYLDPVTGE TKNNPFHHAQ VAFENGVTSR NPDAKLFMKP TYGDHTYLFD
 601 SMIYAFEQED FCDFEVQYEL THNAIHAWVG GSEKYSMSSL HYTAFDPIFY LHHSNVDRLW
 661 AIWQALQIRR GKSYKAHCAS SQEREPLKPF AFSSPLNNE KTYHNSVPTN VYDYVGVLYH
 721 RYDDLQFGGM TMSLEEYIH KQTQHORTFA GFFLSYIGTS ASVDIFINRE GHDKYKVGSF
 781 VVLGGSKEMK WGFDRMYKYE ITEALKTLNV AVDDGFSITV EITDVG5PP SADLIPPAI
 841 IFERADAKDF GHSRKIRKAV DSLTVEEQTS LRRAMADLQD DKTSGGFQCI AAFHGEPKWC
 901 PSPEAEKKFA CCVHGMVFP HWHRLTVQG ENALRKHGFT GGLPYWDWTR SMSALPHFVA
 961 DPTYNDAISS QEEDNPWHHG HIDSVGHDTT RDVRDDLYQS PGFGHYTDIA KQVLLAFEQD
 1021 DFCDFEVQFE IAHNFIHALV GGNEPYSMSS LRYTTYDPIF FLHRSNTDRL WAIWQALQKY
 1081 RGKPYNTANC AIASMRKPLQ PFGLDVINP DDETRHSVP FRVFDYKNNF DYEYESLAFN
 1141 GLSIAQLDRE LQRRKSHDRV FAGLLHEIG QSALVKFYVC KHNVSODCHY AGEFYILGDE
 1201 AEMPWRYDRV YKYEITQQLH DLDLHVGDNF FLKYEAFDLN GGSLLG5IFS QPSVIFEPAA
 1261 GSHQADEYRE AVTSASHIRK NIRDLEGEI ESIRSAFLQI QKEGIYENIA KFHGKPGICE
 1321 HDGHPVACCV HGMPTFPHWH RLYVLQVENA LLERGSAAVAV PYWDWTEKAD SLPSLINDAT
 1381 YFNSRSQTFD PNPFRGHIA FENAVTSRDP QPELWDNKDF YENVMLALEQ DNFCDFEIQI
 1441 ELIHNALHSR LGGRAKYSL5 SLDYAFDPV FFLHHANVDR IWAIWQDLQR YRKKPYNEAD

1501 CAVNEMAKPL QPFNNPELNS DSMTLKHNLQ QDSFDYQNR RYQYDNLQFN HFSIQKLDQT
 1561 IQARKQHDRV FAGFILHNIG TSAVVDIYIC VEQGGEQNCX TKAGSFTILG GETEMPFHFD
 1621 RIYKFDITSA LHKLGVPLDG HGFDIKVDVR AVNGSHLDQH ILNEPSLLFV PGERKNIYYD
 1681 GLSQHNLVK EVSSLTLEK HFLRKALKNM QADDSPDGYQ AIASFHALPP LCPSPSAHR
 1741 HACCLHGMAT FPQWHRLTV QFEDSLKRHG SIVGLPYWDW LKPKQSALPDL VTQETYEHLF
 1801 SHKTFPNPFL KANIEFEGEG VTTERDVDAE HLFKGNLVY NNWFCNQALY ALEQENYCDF
 1861 EIQFEILHNG IHSWVGGSKT HSHGLHYAS YDPLFYIHHS QTDRWAIWQ ALOEHRGLSG
 1921 KEAHCALEQM KDPLKPFSG SPYNLNKRTQ EFSKPEDTFD YHRFGYEYDS LEFVGMSVSS
 1981 LHNYKQQQE ADRVFAGFLL KGGFQASVS FDCRDPQSC QEAGYFVSLG GSSEMPWQFD
 2041 RLYKYDITKT LKDMKLRD TFTKVKHKD IAGAELSDI IPTPSVLEE GKHGIVRHV
 2101 GRNRIRMELS ELTERDLASL KSAMRSLQAD DGVNGYQAI SFHGLPASCH DDEGHEIACC
 2161 IHGMPVFPHW HRLYLQMDM ALLSHGSAVA IPYWDWTKPI SKLPDLFTSP EYDPWRDAV
 2221 VNNPFAKGYI KSEDAYTVRD PQDILYHLD ETGTSVLLDQ TLLALEQTD FDFEYQFEVV
 2281 HNAIHYLVGG RQVYALSSQH YASYDPAFFI HHSFVDKIWA VWQALQKPK RPYHKADCAL
 2341 NMMTKPMRPF AHDFNHNGFT KMHAVPNTLF DFQDLFYTD NLEIAGMNVN QLEAEINRRK
 2401 SQTRVFAGFL LHGIGRSADV RFWICKTADD CHASGMIFIL GGSKEMHWAY DRNFKYDITQ
 2461 ALKAQSIHPE DVFDTDAPFF IKVEVHGVNK TALPSSAIPA PTIYSAGEG HTDDHGSDDI
 2521 AGSGVRKQDVT SLTASEIENL RHALQSVMD DGPNGFQAIA AYHGSPPMCH MHDGRDVACC
 2581 THGMASFPHW HRLFVKQMED ALAAGAHIG IPYWDWTSF SHLPALVTDH EHNPFHHGHI
 2641 AHRNVDSRS PRDMLFNDPE HGSEFFYRQ VLLALEQTD FDFEYQFEIT HNAIHSWTGG
 2701 HTPYGMSSLE YTAYDPLFYL HHSNTDRIWA IWQALQKYRG FQYNAACDI QVLKQPKPF
 2761 SESRNPNPVT RANSRAVDSF DYERLNYQYD TLTFHGHSIS ELDAMLQERK KEERTFAAFL
 2821 LHGFGASADV SFDVCTPDGH CAFAGTFAVL GGELEMPWSF ERLFRYDITK VLKQMNLYHD
 2881 SEHFELKIV GTDGTLPD RIKSPTIEHH GGDHGGDTS GHDSERHDG FFRKEVGSLS
 2941 LDEANDLNA LYKLQNDQGP NGYESIAGYH GYPFLCPEHG EDQYACCVHG MPVFPWHRL
 3001 HTIQFERALK EHGSHLIPY WDWTKSMIAL PAFFADSSNS NPFYKYHIMK AGHDTARSPS
 3061 DLLFNQPLH GYDYLYLAL STLEEDNYCD FEVHYEILHN AVHLWLGTE TYSMSSLAFS
 3121 AYDPVPMILH SGLDRLWIIW QELQKLRKIP YNAAKCAGHM MDEPLHPFNY ESANHDSFTR
 3181 ANAKPSTVFD SHKFNYHYDN PDVRGNSIQE ISAIHDLRN QPRVFAGFVL SGIYTSANVK
 3241 IYLVREGHDD ENVGSFVVLG GPKEMPWAYE RIFKYDITEV ANRLNMHHDD TFNFRLEVQS
 3301 YTGEMVTHHL PEPLIYRPA KQEOVLVIP LSGGHKLPK VIVKRGTRIM FHPVDDTVNR
 3361 PVVDLGSHTA LYNVVPFFT YNGYELDHAY SLRDGHYYIA GPTDLCTSG NVRIHIED
 3421 F

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende la estructura:



5

en donde

10

n es independientemente un número entero de 1 a 1500, m es independientemente un número entero de 1 a 10,

en donde cada una de las fracciones Globo H está covalentemente unida a la fracción KLH en un residuo de aminoácido básico,

en donde el compuesto tiene una proporción de epítipo que varía de 750 a 3000, y

15

en donde la fracción KLH es una fracción KLH tiolada que se almacena en gas inerte hasta su conjugación con las fracciones Globo H.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde

20

- m es 1 y n es de 1 a 150,
- m es 2 y n es de 1 a 300,
- m es 3 y n es de 1 a 450,
- m es 4 y n es de 1 a 600,
- m es 5 y n es de 1 a 750,
- m es 6 y n es de 1 a 900,
- m es 7 y n es de 1 a 1050,
- m es 8 y n es de 1 a 1200,
- m es 9 y n es de 1 a 1350, o
- m es 10 y n es de 1 a 1500.

25

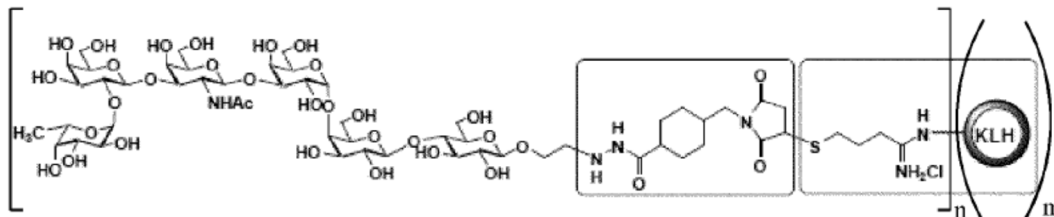
30 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde

35

- la proporción del número de fracciones Globo H respecto a las fracciones KLH es desde 1:1 a 150:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH monomérica,
- el número de fracciones Globo H es desde 1 a 150, expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH monomérica,
- el número de fracciones Globo H es desde 1 a 300, expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH dimérica,
- el número de fracciones Globo H es desde 1 a 450, expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH trimérica,
- el número de fracciones Globo H es desde 1 a 600, expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH tetramérica, o
- el número de fracciones Globo H es desde 1 a 750, expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH pentamérica.

40

45 4. Una composición farmacéutica que comprende: un compuesto que comprende la estructura:



50

en donde n es independientemente un número entero de 1 a aproximadamente 1500, m es independientemente un número entero de 1 a 10, y opcionalmente un soporte farmacéuticamente aceptable,

en donde cada una de las fracciones Globo H está covalentemente unida a la fracción KLH en un residuo de aminoácido básico,

en donde el compuesto tiene una proporción de epítipo que varía de 750 a 3000, y

en donde la fracción KLH es una fracción KLH tiolada que se almacena en gas inerte hasta su conjugación con las fracciones Globo H.

5

5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde

10

- m es 1 y n es de 1 a 150,
- m es 2 y n es de 1 a 300,
- m es 3 y n es de 1 a 450,
- m es 4 y n es de 1 a 600,
- m es 5 y n es de 1 a 750,
- m es 6 y n es de 1 a 900,
- m es 7 y n es de 1 a 1050,
- m es 8 y n es de 1 a 1200,
- m es 9 y n es de 1 a 1350, o
- m es 10 y n es de 1 a 1500.

15

20 6. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde

25

- el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 150:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH monomérica,
- el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 300:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH dimérica,
- el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 450:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH trimérica,
- el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 600:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH tetramérica, o
- el número de fracciones Globo H respecto a subunidades de fracción KLH es desde 1:1 a 750:1 expresado como el número de moléculas de Globo H respecto a una fracción KLH pentamérica

30

35

7. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, en donde el compuesto comprende monómeros, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o combinaciones de los mismos de la fracción KLH.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde

40

- del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son monómeros,
- del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son dímeros,
- del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son trímeros,
- del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son tetrámeros,
- del 1% al 99% de los conjugados terapéuticos en la composición farmacéutica son pentámeros, o
- del 1% al 99% de las fracciones KLH en la composición son monómeros, dímeros, trímeros, tetrámeros, pentámeros o combinaciones de los mismos.

45

9. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, que además comprende

50

- un adyuvante, en donde el adyuvante es adyuvante de Freund completo e incompleto, moléculas de receptores tipo Toll, LPS, lipoproteínas, lipopéptidos, flagelina, ARN bicatenario, ADN vírico, islas CpG sin metilar, levamisol, bacilo de Calmette-Guerin, isoprinosina, zadaxin, antagonistas de PD-1, anticuerpos contra PD-1, antagonistas de CTLA, anticuerpos contra CTLA, interleuquina, citoquinas, GM-CSF, basado en sal de aluminio, fosfato de aluminio, alumbre, hidróxido de aluminio, liposomas, agonistas de TLR2, nanopartículas, monofosforil lípido A, una saponina OBI-821, nanoemulsiones de aceite en agua, y partículas similares a bacterias,

55

- una citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL-2, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF, IL-4, IL-10, IL-13, IL-21, GM-CSF y TGF- β ,
- una quimioquina, o

60

- un agente seleccionado del grupo que consiste en agentes terapéuticos hormonales, terapia de anticuerpos monoclonales, quimioterapia, moduladores de receptor retinoide, agentes citotóxicos/citostáticos, agentes antineoplásicos, agentes antiproliferativos, inhibidores de prenil-proteína transferasa, inhibidores de HMG-CoA reductasa, mostazas de nitrógeno, nitrosoureas, inhibidores de angiogénesis, inhibidores de la ruta de señalización de proliferación y supervivencia celular, agentes inductores de apoptosis, agentes que interfieren con puntos de control del ciclo celular, agentes que interfieren con receptores tirosinas quinasas (RTK), inhibidores de diana de rapamicina de mamífero (mTOR), inhibidores del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), bloqueantes de integrinas, AINE, agonistas de PPAR, inhibidores de multirresistencia a fármacos

65

- 5 (MDR) inherente, agentes antieméticos, agentes útiles en el tratamiento de anemia, agentes útiles en el tratamiento de neutropenia, fármacos de potenciación inmunológica, bifosfonatos, inhibidores de aromatasas, agentes que inducen diferenciación terminal de células neoplásicas, inhibidores de γ -secretasa, vacunas contra el cáncer, inhibidores de PD-1/PD-L1, inmunoterapia de CTLA-4, terapia diana seleccionada de inhibidores de CDK4/6, inhibidores de PI3K, inhibidores de AKT, inhibidores Pan-Her, y cualquier combinación de los mismos.
- 10 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, que además comprende un soporte farmacéuticamente aceptable.
- 10 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10, en donde la composición farmacéutica es una vacuna para el cáncer.
- 15 12. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, formulada para inyección subcutánea, administración intravenosa o administración intramuscular.
- 20 13. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para uso en un método de tratar cáncer en un paciente con una dosis eficaz, dicho cáncer se selecciona de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer bucal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer nasofaríngeo, cáncer dérmico, cáncer renal, tumor cerebral, cáncer de próstata, cáncer ovárico, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer intestinal, cáncer pancreático, o cáncer de vejiga.
- 25 14. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 13, en donde la dosis eficaz es desde 0,001 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 250 g/kg de peso corporal del paciente.
15. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para uso en un método de inducir anticuerpos en un animal o un ser humano para el fin de crear anticuerpos monoclonales para usos diagnósticos o terapéuticos.

Fig. 1A

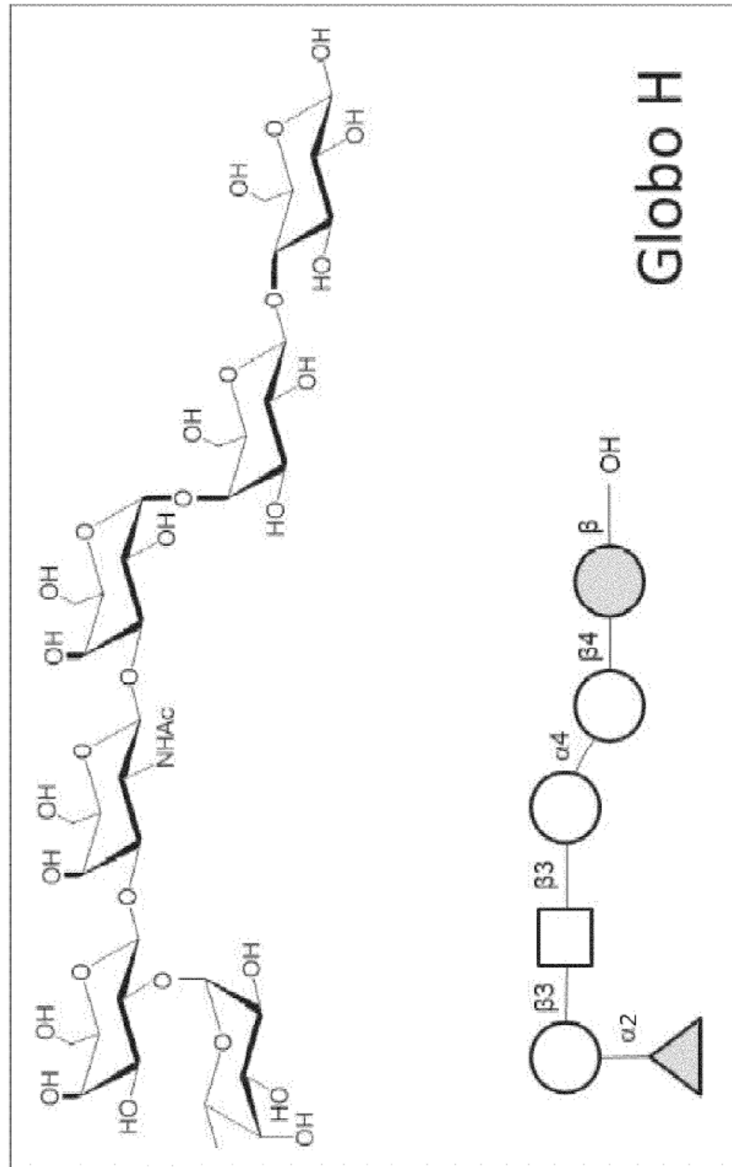


Fig. 1B

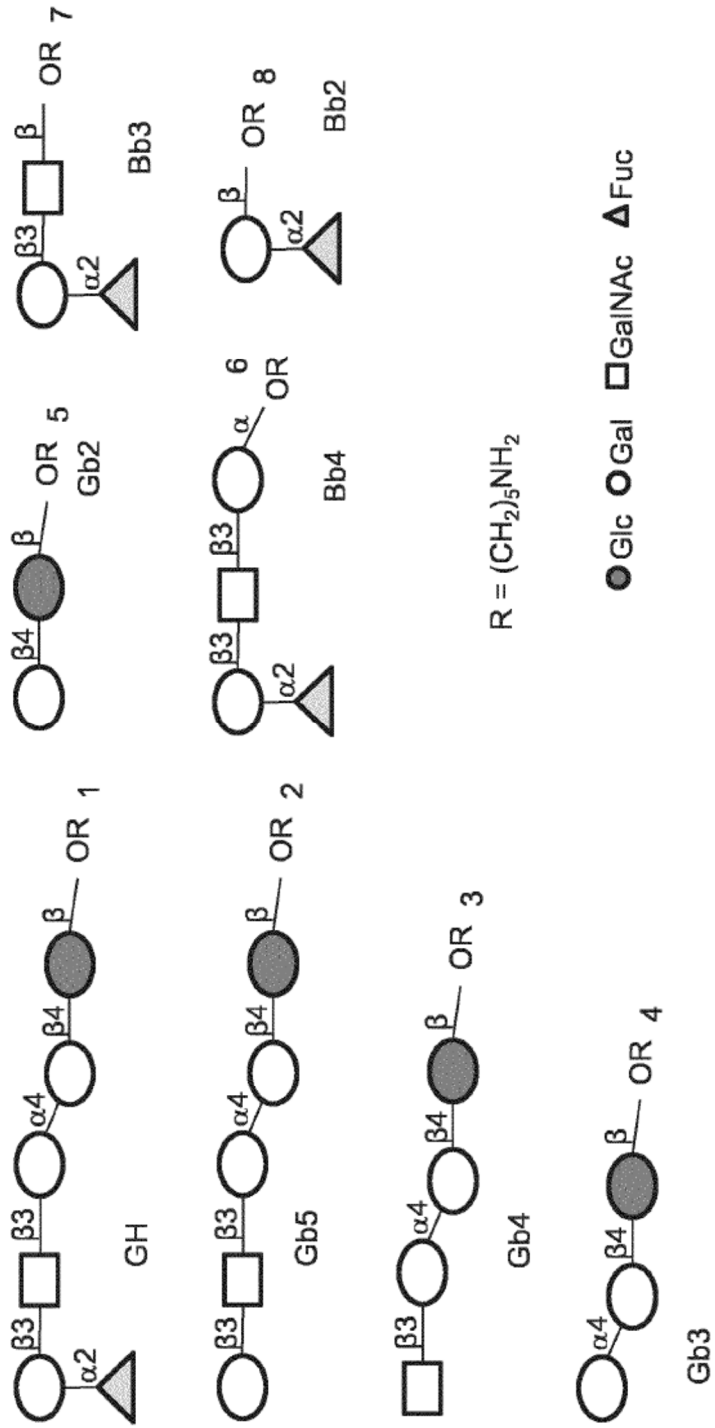


Fig. 1C

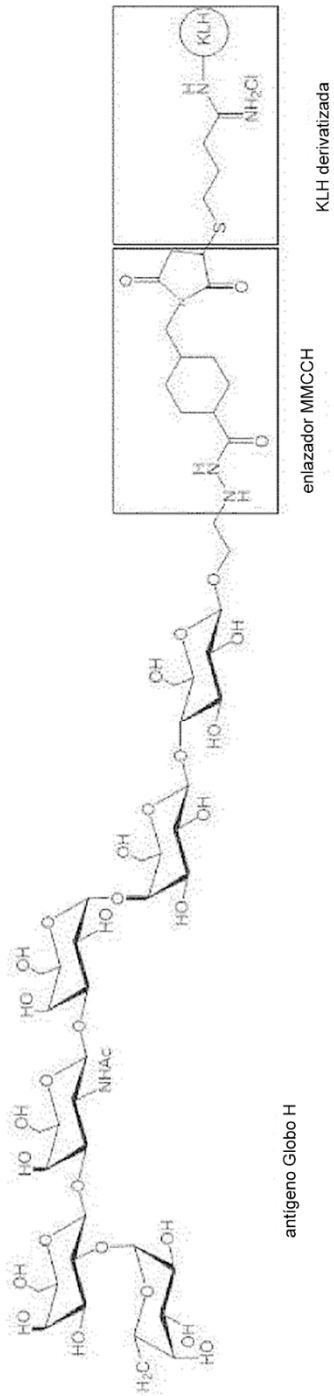


Fig. 2A

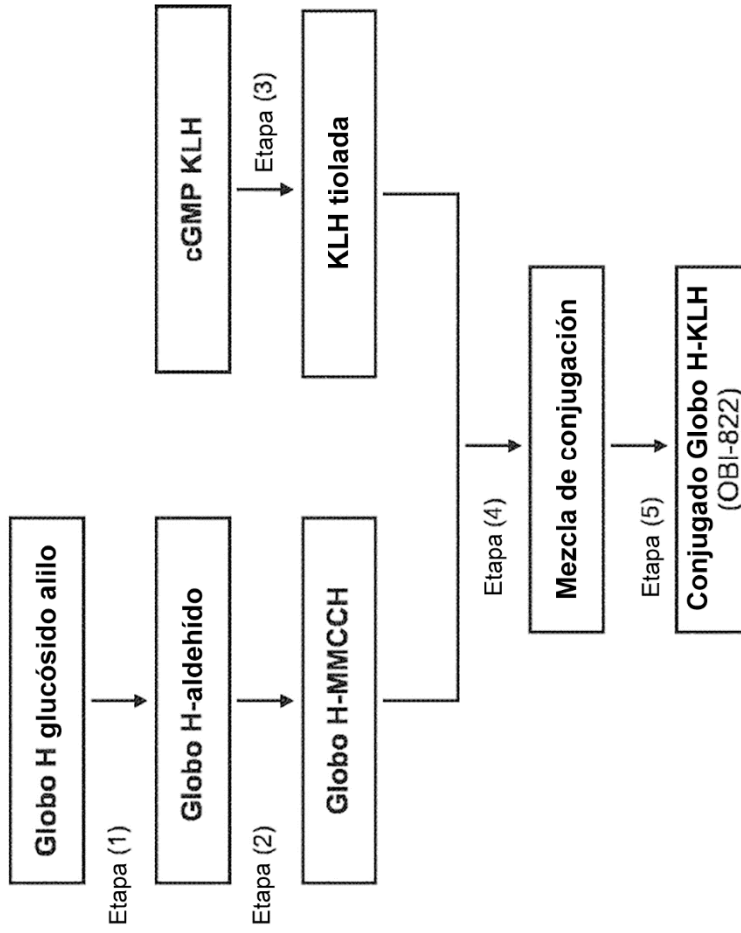


Fig. 2B

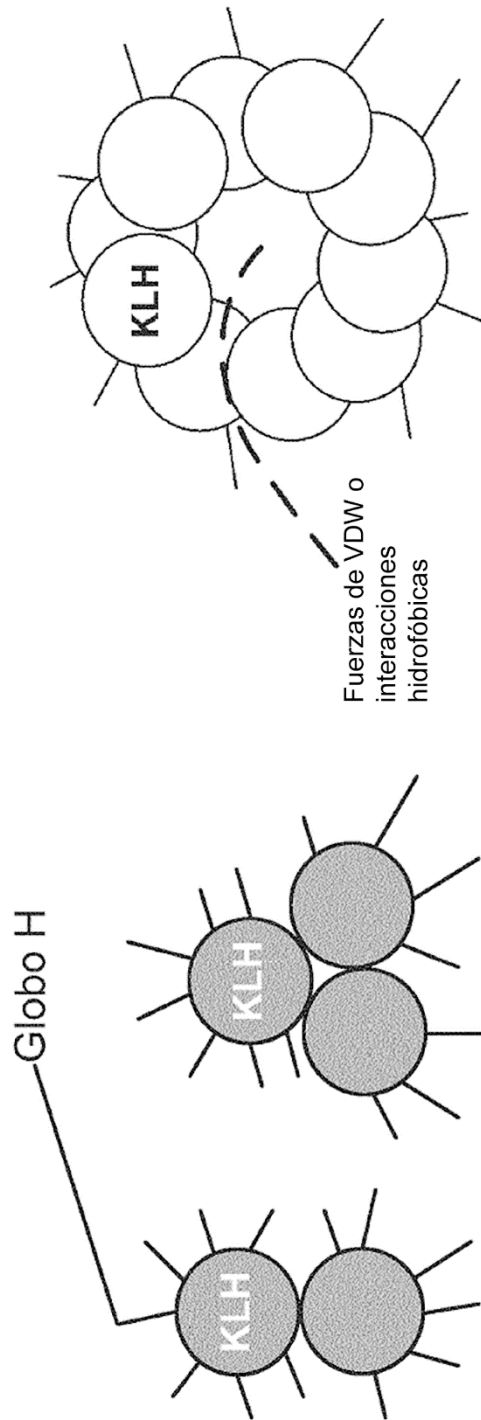


Fig. 3

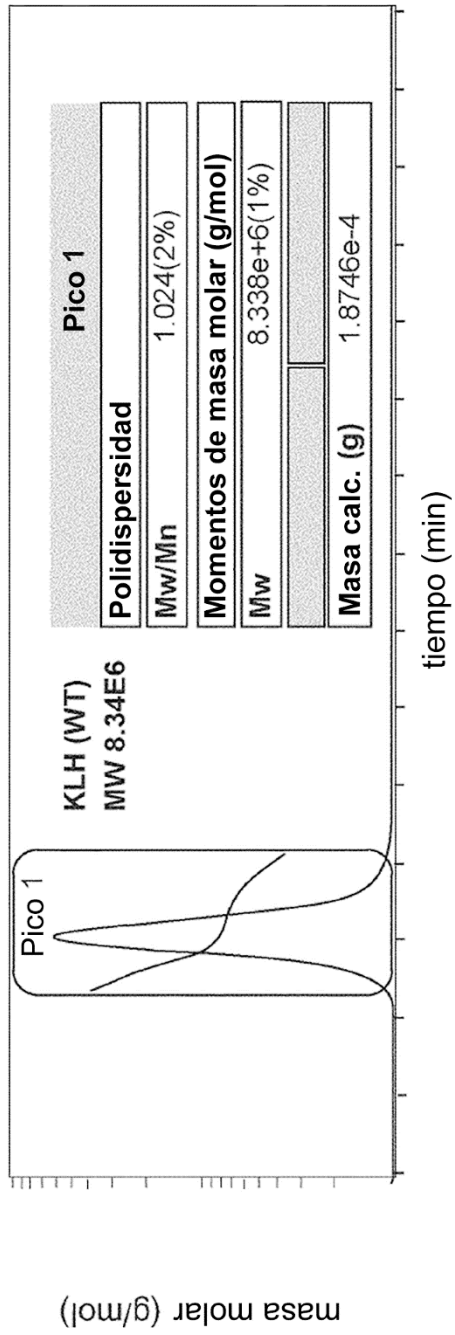


Figura 4

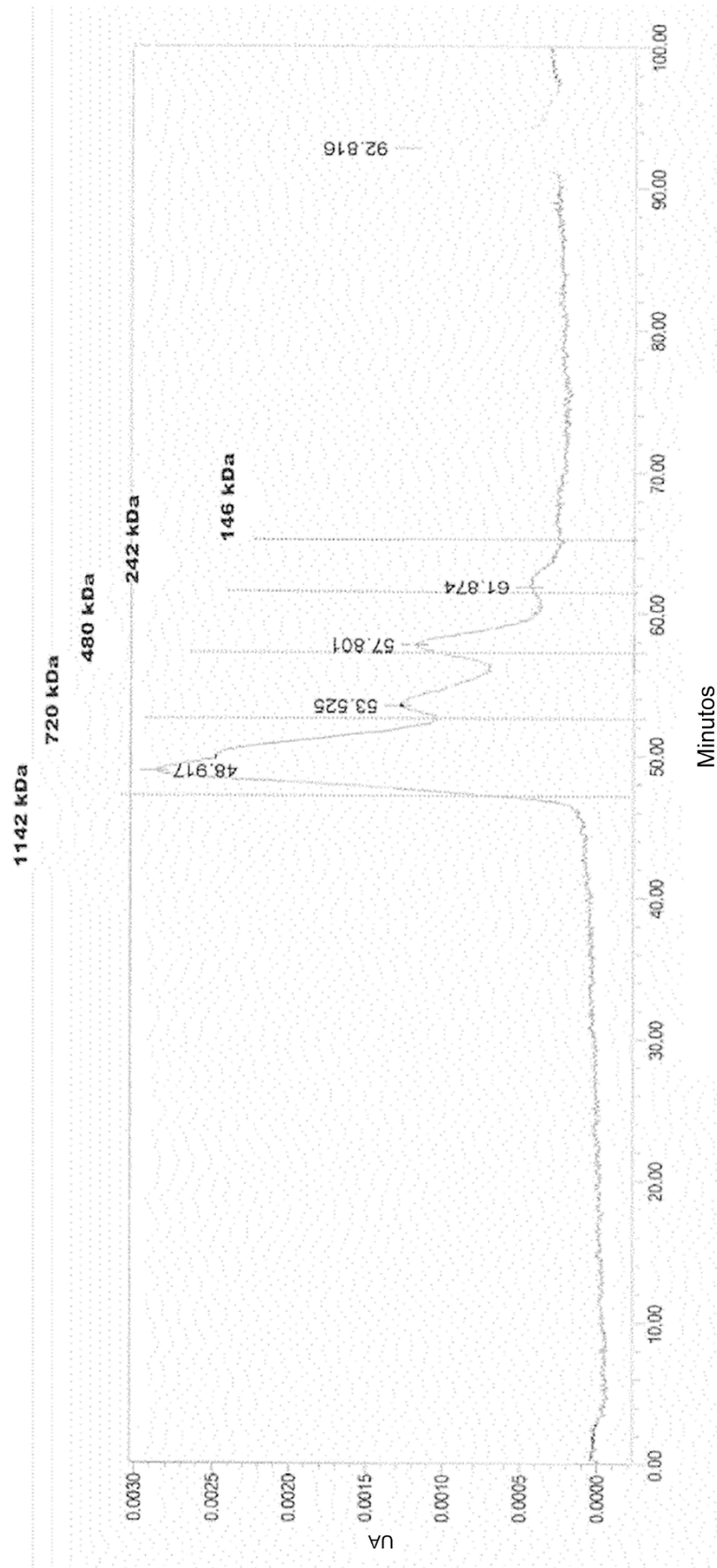


Figura 5

Fig. 5(A)

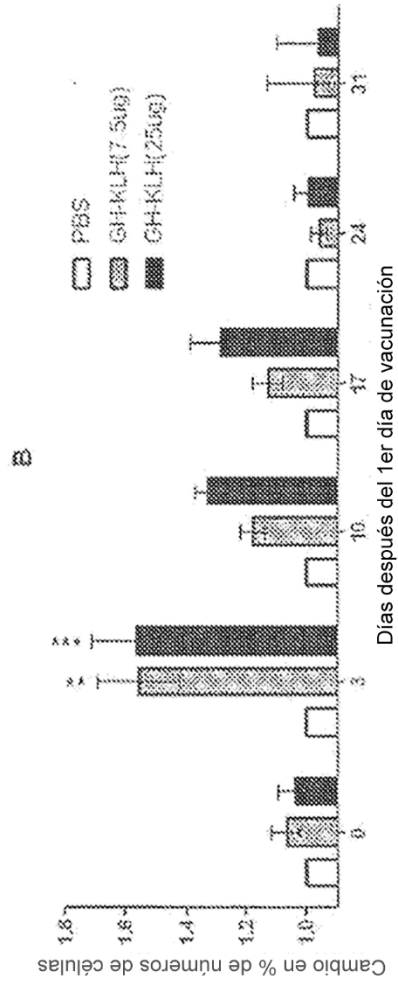


Figura 5 continuación

Fig. 5(B)

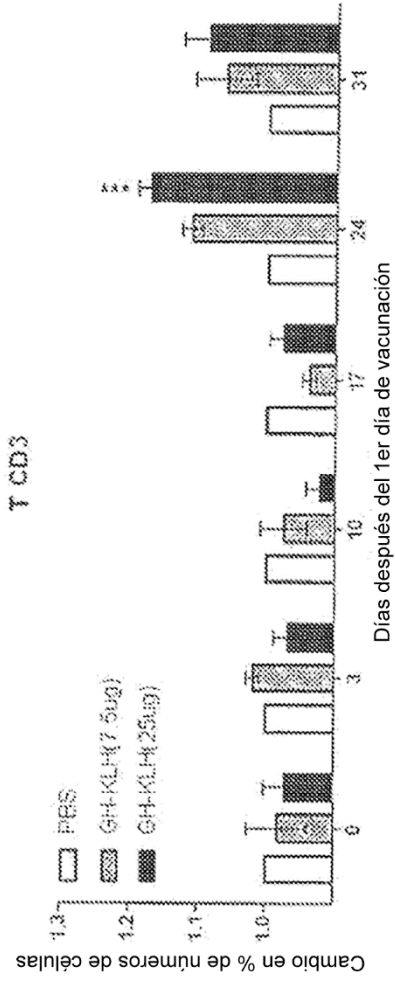


Figura 5 continuación

Fig. 5(C)

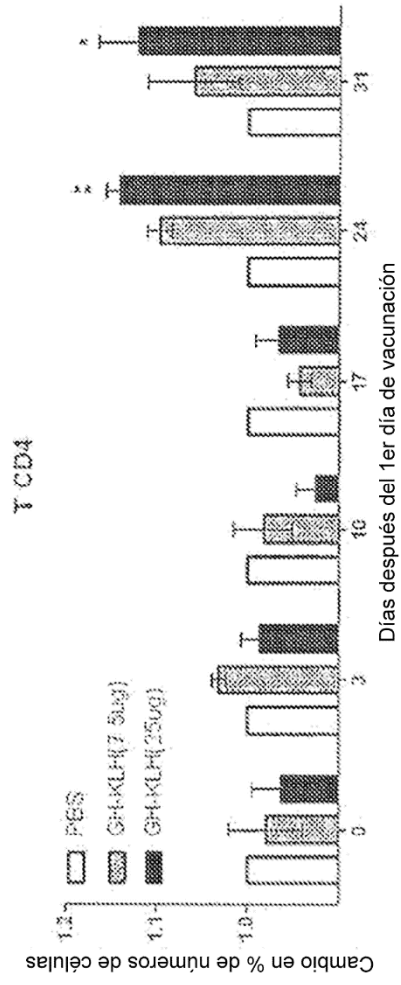


Figura 5 continuación

Fig. 5(D)

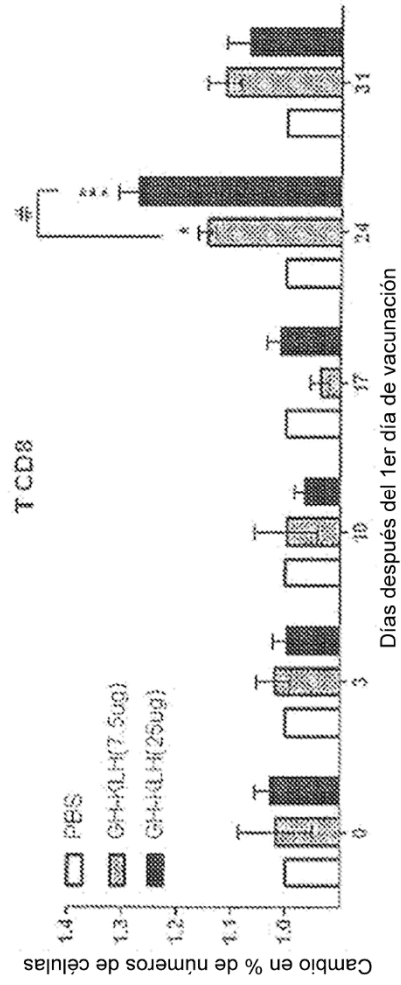


Figura 6

Fig. 6(A)

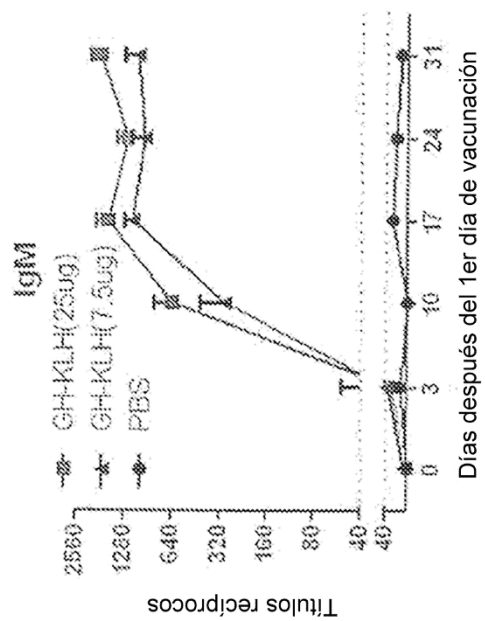


Figura 6 continuación

Fig. 6(B)

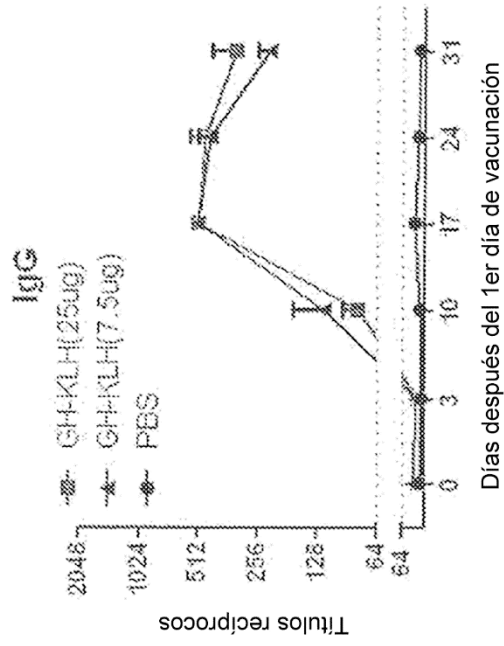


Figura 7

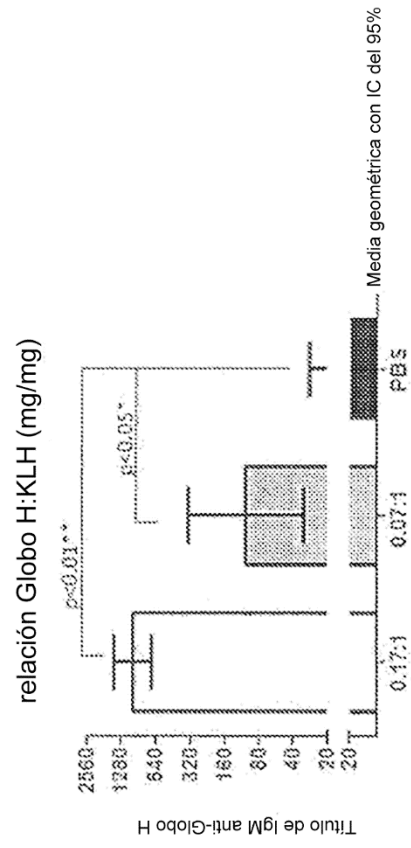


Figura 8

Experimento de inmunogenicidad: inmunización con vacuna Globo H-KLH en ratones C57BL/6

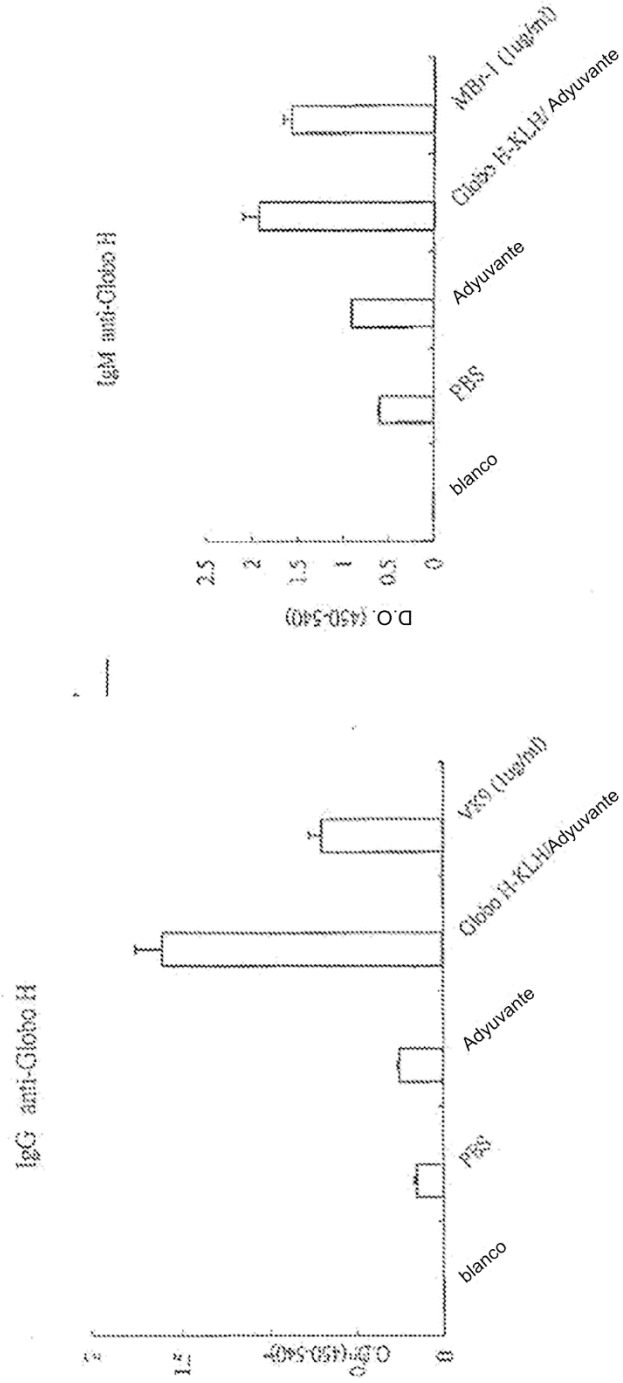


Fig 8(a)

Fig 8(b)

Figura 9

Ensayo de citotoxicidad dependiente del complemento de antisuero anti-Globo H (+) y Globo H (-) de células TOV21G

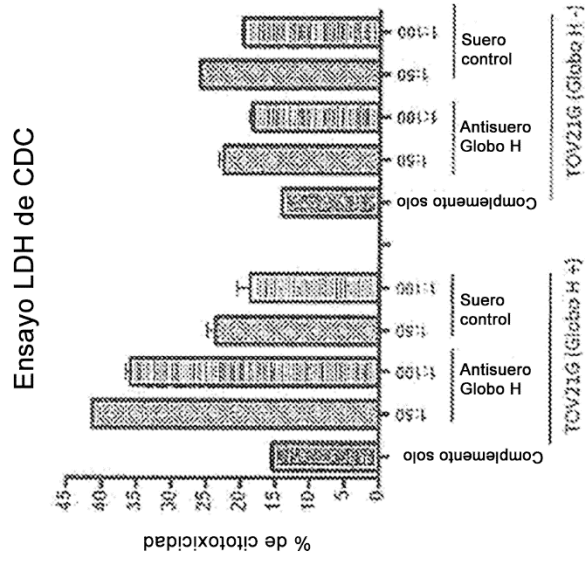


Figura 10

ADCC

Representa por veces de citotoxicidad (normalizado sin suero de ratón control de cada células en diferentes proporciones ET)

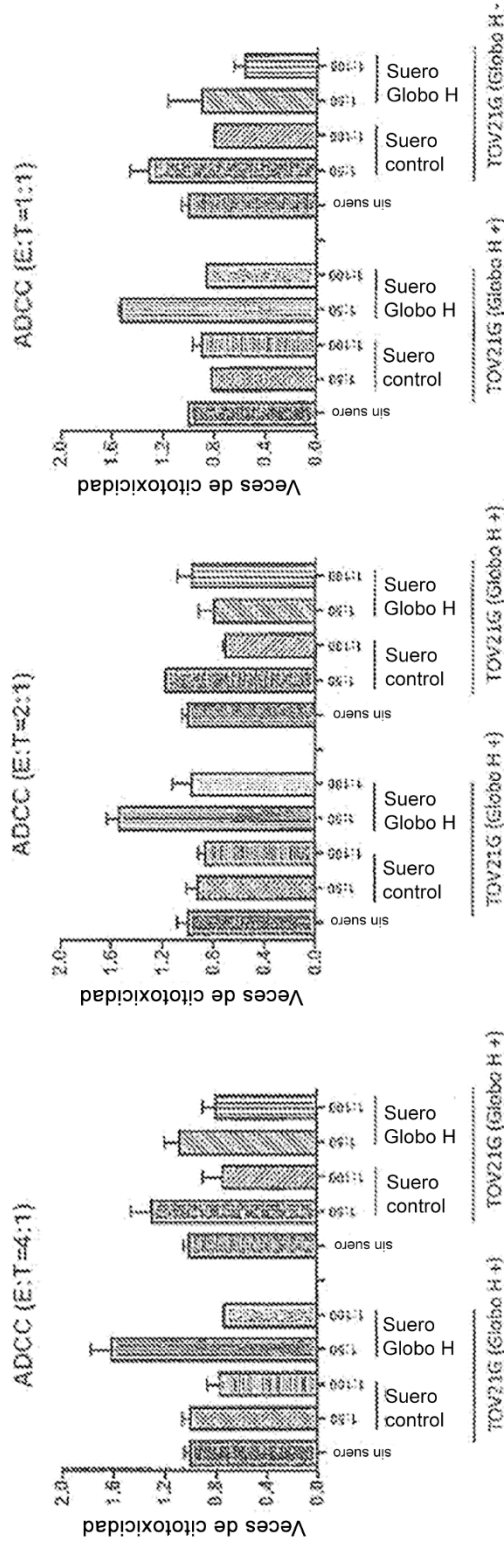


Fig 10(a)

Fig 10(b)

Fig 10(c)

Figura 1

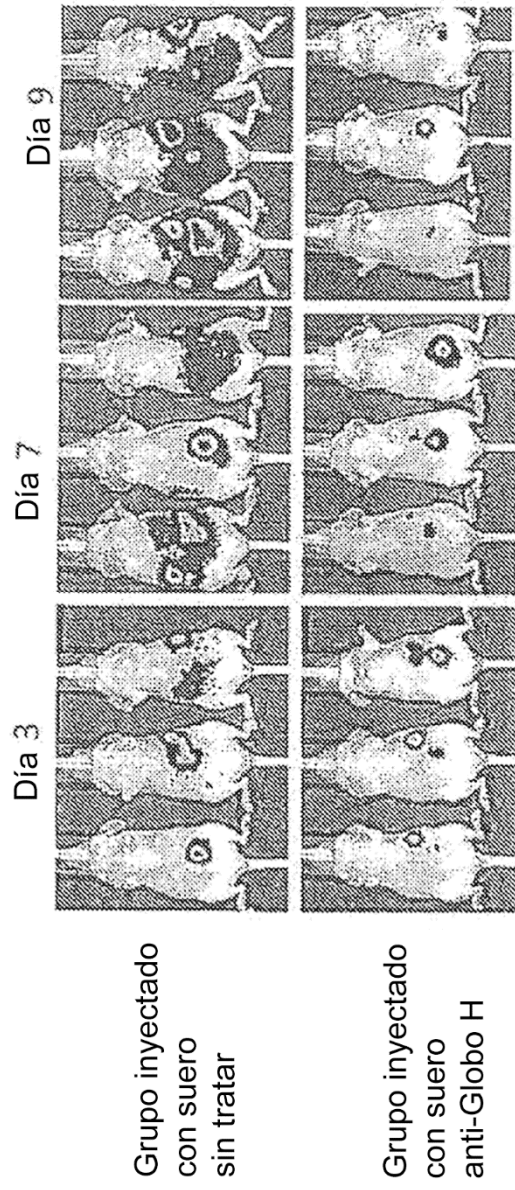


Figura 12

Crecimiento tumoral de LLC1 (una línea de células cancerosas epiteliales de cáncer de pulmón) en ratones C57BL/6 inmunizados con Globo H KLH

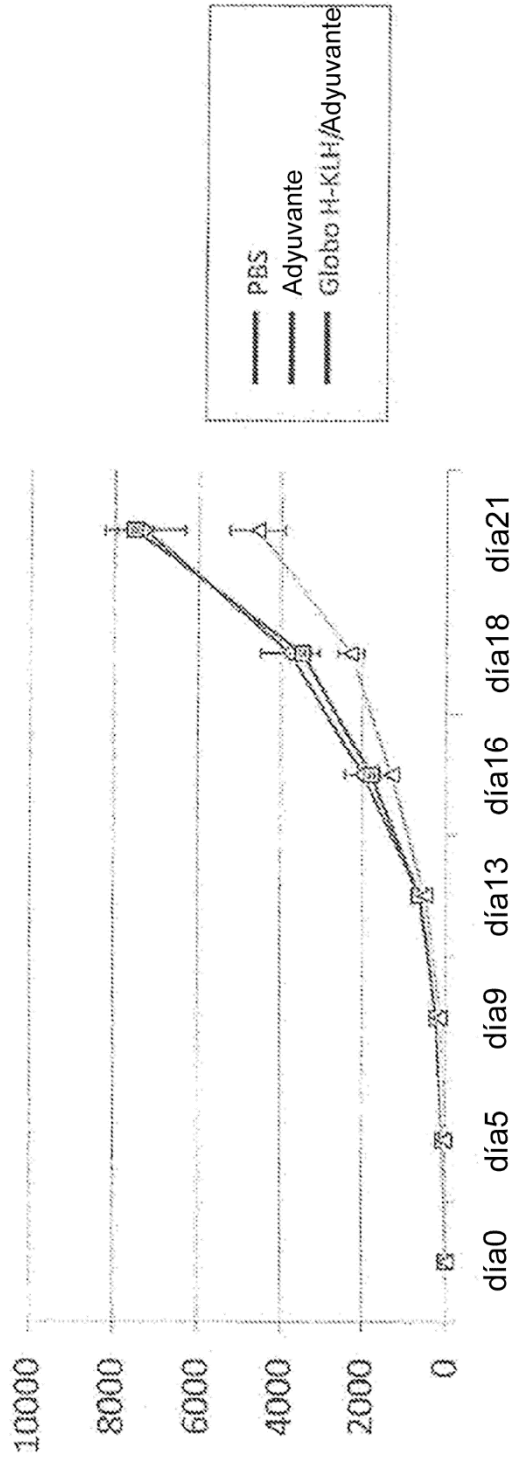


Figura 13

Muestra	1 ^{er} LC-MS/MS	2 ^o LC-MS/MS
1	Tabla 2.	Tabla 5.
2	Tabla 3.	Tabla 7.
3	Tabla 4.	Tabla 8.
4	Tabla 5.	Tabla 9.

Tabla 1B. Análisis del derivado de MMCCH

Muestra	1 ^{er} LC-MS/MS	2 ^o LC-MS/MS
1	Tabla 10.	Tabla 14.
2	Tabla 11.	Tabla 15.
3	Tabla 12.	Tabla 16.
4	Tabla 13.	Tabla 17.

Figura 14

#	Inicio	Final	Observado	Mi (esp.)	Mi{catc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sito_mod
1	142	149	847.4247	1692.8249	1692.8240	6.44	T	1	17	0.02	KMRHEDTR +K_MMCCH_ML573 (K)	142
2	157	166	651.9063	1701.7987	1701.7933	2.82	T	1	14	0.039	LAPHKFQEDR +K_MMCCH_ML997 (K)	161
3	328	306	1132.8336	3395.4790	3395.4652	-2.08	T	1	16	0.022	EEKSAGFGQDLSGPHGSEPK +Gioba_H_MMCCH (K)	390
4	700	719	1015.1623	3042.4652	3042.4532	3.94	T	1	27	0.6019	SVGRKLEFQEFQGHYSIAK +K_MMCCH_ML573 (K)	719
5	953	965	762.7177	2285.1311	2285.1249	2.73	T	1	52	6.305-06	DIFKQPSVHFER +K_MMCCH_ML573 (K)	956
6	986	1000	1036.8500	3107.4631	3107.4578	3.31	T	1	20	0.011	KRIENLSELESIR +Gioba_H_MMCCH (K)	966
7	1092	1114	806.2826	3221.5014	3221.5213	-6.18	T	1	24	0.0038	QRIHYETNPFHHRKITHENEITTR +K_MMCCH_ML997 (K)	1104
8	1473	1489	905.7906	2714.3493	2714.3414	3.15	T	1	25	0.0034	KHGAVVGLPYWQWTEFR +K_MMCCH_ML573 (K)	1473
9	1913	1932	793.8990	1585.7834	1585.7745	5.68	T	1	17	0.02	NKVKPAPFAR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_ML997 (K); Oxidación (M)	1924
10	2359	2367	846.4022	1690.7898	1690.7872	1.54	T	1	19	0.011	EWLENDPFR +K_MMCCH_ML573 (K)	2360
11	2851	2883	1027.9812	4107.8957	4107.8666	7.08	T	0	62	6.30E-07	VKPAHAGSCAGPDPHPIHPFNYESVNHEDFTR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_ML997 (K); Oxidación (M)	2852
12	2897	2919	814.6800	3254.6106	3254.5618	8.91	T	1	39	0.00012	FNYYDRIENLHSHHNELENER +K_MMCCH_ML997 (K)	2900
13	3003	3011	953.1823	2856.4650	2856.4407	6.44	T	1	31	0.00072	KYDRIELDASVEPAPIVR +K_MMCCH_ML573 (K)	3003
14	613	626	1151.5167	2301.0180	2301.0150	1.69	Yb	5	13	0.05	ASKNFACQHGMSV +K_MMCCH_ML573 (K)	616

Figura 14 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr. (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	25	41	1047.4908	3139.4507	3139.4364	4.35	T	1	27	0.002	KNVYDLSSEERLAER +Glibo_H_MMCCCH (K)	26
2	164	175	615.6569	1843.9579	1843.9316	3.42	T	1	37	0.00019	LFKVGQGHHR +K_MMCCCH_NL997 (K)	167
3	249	271	1012.4535	3094.3366	3094.3372	0.40	T	1	26	0.0024	IGKPNYSAICAHKHLHFMPEPDR +Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	250
4	281	293	530.2952	1387.4639	1387.4574	3.44	T	0	44	4.00E-05	EPHAKPADDFDGR +K_MMCCCH_NL997 (K)	284
5	419	445	942.0073	3763.9999	3763.9720	7.44	T	1	28	0.0015	QPTLHFRPAKGHFKPPVVAQANLAVR +Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL673 (K)	433
6	463	488	1131.8618	3492.5636	3492.5918	6.28	T	2	73	5.20E-08	ANERFORERKSDGYCATVFFHAPAR + Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (M); Oxidación (M)	471
7	1097	1115	1608.4838	2022.4295	2022.4216	2.56	T	0	60	1.00E-06	KPLQPFGLDSVNPQDTEK +K_MMCCCH_NL511 (K)	1097
8	1123	1149	1157.0266	4624.0773	4624.0513	5.62	T	1	36	0.00013	VFDYKMFDFEYSLAFAGLSIADLR +Glibo_H_MMCCCH (K)	1127
9	1365	1385	1217.5632	4866.2238	4866.1892	7.11	T	1	18	0.016	GSAAVAVPWENTEKARSLPINDATVNSR +Glibo_H_MMCCCH (K)	1365
10	1455	1480	853.1725	3408.6609	3408.6602	0.21	T	1	30	0.0009	AKVSLSDVTAQDFVFLHAAVDR +K_MMCCCH_NL997 (K)	1456
11	1508	1539	841.0049	4199.9883	4199.9680	4.93	T	1	30	0.0011	KPLQFNNPELRSDSMTLKHAPQDSFDYQNR + Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	1526
12	1949	1963	574.7931	2295.0234	2295.0206	1.44	T	0	51	8.30E-06	TDSEKPEDTFDHR +K_MMCCCH_NL997 (K)	1954
13	1292	1303	908.4032	1814.9719	1814.9713	0.39	G	0	28	0.0015	SRSAPLHDKK +K_MMCCCH_NL997 (K)	1302
14	1681	1691	839.8299	1677.8458	1677.8506	0.28	G	0	15	0.032	GLSCHRIVRKE +2 Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K)	1690
15	1589	1608	1136.1545	3485.4418	3485.4403	0.26	C	0	23	0.005	ICVDEKGEONCITKNSGF +Glibo_H_MMCCCH (K)	1602
16	1585	1965	585.6397	1755.8973	1756.8930	2.45	C	0	16	0.014	IKQGEADRVF +K_MMCCCH_NL997 (K)	1965

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCCH, K_MMCCCH_NL308, K_MMCCCH_NL511, K_MMCCCH_NL673, K_MMCCCH_NL835 o K_MMCCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 15

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (calc)	pam	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	588	605	1132.8397	5995.4979	3385.4262	3.30	T	1	25	0.0035	EDKSNRGGKQLGAFHGERK +Glnfo_K_MMCCH (K)	599
2	700	719	1069.1805	3264.5196	3264.5060	4.51	T	1	28	0.0016	SVQRKLEQFQFEGHYSIAK +K_MMCCH_ML533 (K)	719
3	953	965	654.6852	1961.0337	1961.0193	7.34	T	1	42	6.00E-05	DLFKQPSVHIEPR +K_MMCCH_ML997 (K)	956
4	1082	1114	645.3080	3221.5038	3221.5219	5.43	T	1	29	0.0013	QHHYEINPFPHGMKHEHNETIR +K_MMCCH_ML997 (K)	1104
5	1923	1932	793.9966	1585.7737	1585.7745	2.65	T	1	14	0.04	NRKVMRQPTAR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_ML997 (K); Oxidación (M)	1924
6	2233	2251	711.5986	2982.3652	2881.3776	-4.50	T	2	60	9.30E-07	KENFLITAEVDRLDAMR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_ML673 (K)	2247
7	2851	2859	1027.9795	4107.8889	4107.8666	5.43	T	0	32	0.00058	NRPAHAGSCAGRRHVVPEPFRVNSVNRDFTIR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_ML997 (K); Oxidación (M)	2852
8	358	369	733.6753	2198.0642	2197.9839	9.33	G	2	32	0.00064	APHRFQRDQVD +K_MMCCH_ML573 (K)	361
9	474	480	568.7975	1135.5804	1135.5868	-0.35	TR	1	16	0.024	VQHKAGT +K_MMCCH_ML997 (K)	477

Figura 15 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	26	41	1047.4889	3129.4478	3129.4366	3.63	T	1	29	0.0013	KVYDLSSEVLALEK +Globo_H_MMCCH (K)	26
2	164	175	615.8370	1843.5493	1843.5516	1.25	T	1	36	0.0026	LFERYQGHHR +K_MMCCH_NL997 (K)	167
3	249	280	1015.9750	4059.8708	4059.8513	4.80	T	2	25	0.0025	ISKDFNSADCAHMLHTPMEPPDRDINFLDTR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	250
4	281	293	630.3964	1887.8673	1887.8574	5.30	T	0	50	1.10E-05	EHAFASDFYGR +K_MMCCH_NL997 (K)	284
5	467	498	1125.8617	3374.5632	3374.5500	3.91	T	1	69	1.10E-07	FQNEKVDGYQATVFHAIIPAR +K_MMECH_ML511 (K)	471
6	1097	1115	847.9916	2538.2530	2538.2312	8.59	T	0	42	6.00E-05	KPLDPFGLDSVNRQDETR +2 Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	1097
7	1123	1149	1157.0225	4624.6607	4624.0513	2.03	T	1	35	0.0033	VFDYRNFDYEVESLAFNGLSAQLDR +Globo_H_MMCCH (K)	1127
8	1455	1480	953.3709	3408.6545	3408.6601	-1.64	T	1	26	0.0026	AKYSSELDYAFDFNFFHHANVDR +K_MMCCH_NL997 (K)	1455
9	1509	1539	840.9939	4199.9633	4199.9680	-1.12	T	1	33	0.0054	KFLQPRNPELASDSEMLFRNLPQSEFYQGR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	1526
10	1949	1963	766.0179	2795.0316	2795.0246	2.27	T	0	29	0.0013	FOEFSKFEIDFYER +K_MMECH_NL997 (K)	1954
11	1985	1995	586.6395	1756.8968	1756.8930	2.11	C	0	19	0.014	IKQGGKADRVF +K_MMCCH_NL997 (K)	1986
12	2463	2479	1104.1498	3309.4275	3309.4269	0.18	C	1	20	0.01	KAQSHFEDVFEDAFV +Globo_H_MMCCH (K)	2463

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL673, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 16

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	%fca(alc)	ppm	Enzima	M/C	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	377	402	652.1614	3404.6167	3409.6304	1.85	T	0	18	0.017	AHCALSLEKMRHKEKFFAESSPLMNNER + Desamidado (NQ); K_MNCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	402
2	1022	1114	687.4109	2545.6145	2545.6270	-3.53	T	1	14	0.041	CHHYETNPFHHGKTHRENETTR +K_MNCCCH_NL673 (K)	1104
3	1092	1114	806.3819	3221.4385	3221.5219	-7.08	T	2	27	0.022	QRHYETNPFHHGKTHRENETTR +K_MNCCCH_NL997 (K)	1104
4	2253	2251	721.5988	2832.3662	2862.3776	-1.96	T	2	45	3.30E-05	KENTLTAEVDMLEKAMR + Desamidado (NQ); K_MNCCCH_NL673 (K)	2287
5	2851	2855	1027.9769	4107.6786	4107.8566	2.92	T	0	46	2.60E-05	VEPARAGSAGSDIRNRYPLPPNVEVANDDFTR + Desamidado (NQ); K_MNCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	2852

Figura 16 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	1097	1115	947.0920	2538.2543	2538.2512	9.10	T	0	34	0.00243	KIQDFGLDSVNFDDTR +2 Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	1997
2	1355	1385	1217.5588	4866.2063	4866.1892	3.49	T	1	23	0.0047	GSAAVAVYVDWTEKADSLPINDATYFNR +Globo_H_MMCCH (K)	1968
3	1508	1539	941.0057	4199.8920	4199.8890	5.71	T	1	46	2.80E-05	KPIQPTNPFELNSLSATLNHLPLQDSFYENR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	1526
4	1949	1963	766.0202	2295.0266	2295.0266	5.27	T	0	37	0.0022	TQESSPEDTFENR +K_MMCCH_NL997 (K)	1954
5	2463	2479	1104.1526	3309.4399	3309.4269	2.72	C	1	17	0.019	KADSIPEQDYFDKPF +Globo_H_MMCCH (K)	2463
6	2438	2447	1110.4959	2218.9771	2218.9749	0.99	Th	3	13	0.05	FELGSEVENR +K_MMCCH_NL308 (K); Oxidación (M)	2444

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL673, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 17

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	377	402	1135.5824	3404.6193	3404.6194	2.61	T	0	41	8.60E-05	AHCAISLEHSHLEPPFAEGRFIRNNEK + Desamidado (NQ); K_MMACCH_NL997 (K); Oxidación (K)	402
2	953	955	654.5849	1961.0330	1961.0193	0.99	T	1	27	0.0021	DRFGPSVHEFR + K_MMACCH_NL997 (K)	955
3	1092	1114	806.3821	3221.4955	3221.5213	6.60	T	1	18	0.015	QHNYETNFFHIGKITHENEITTR + K_MMACCH_NL997 (K)	1104
4	1923	1924	793.8579	1585.7812	1585.7745	4.29	T	1	17	0.021	NSVMPAPFAK + Desamidado (NQ); K_MMACCH_NL997 (K); Oxidación (K)	1924
5	2233	2251	721.5667	2862.3657	2862.3776	-4.16	T	2	41	7.90E-05	KEINTLTTAEVEMLSDAVR + Desamidado (NQ); K_MMACCH_NL997 (K)	2247
6	2350	2367	927.4296	1852.8447	1852.8490	2.54	T	1	13	0.0082	DYLENDYFR + K_MMACCH_NL573 (K)	2359
7	2851	2883	1427.9815	4107.8967	4107.8656	7.33	T	0	50	0.00394	VAPAHAGCAGEDRHWFLHPFNYESVWNEDFTR + Desamidado (NQ); K_MMACCH_NL997 (K); Oxidación (K)	2852
8	506	512	850.4159	1698.8173	1698.8209	0.71	Th	2	34	0.037	LRDLDL + K_MMACCH_NL311 (K)	507

Figura 17 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	164	175	615.5588	1943.9544	1843.9516	1.57	T	1	42	5.90E-05	EPEVDPEHHR +K_MMCCH_NL997 (K)	157
2	249	271	1022.4534	3034.3898	3034.3371	0.56	T	1	19	0.013	SKDKASADCAHLHIFPAEPIER +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	259
3	281	293	630.2983	1887.8732	1887.6574	2.37	T	0	41	7.80E-05	ERHPADSFVGR +K_MMCCH_NL997 (K)	284
4	419	440	943.7554	3762.8825	3762.9879	1.20	T	1	26	0.0027	QPTLHRPAKSHFSPVAVACANLAVR +K_MMCCH_NL673 (K)	433
5	467	488	1071.8489	3212.5248	3212.4972	0.59	T	1	75	3.40E-08	FQNDKSVNSYQATVEFHLPAR +K_MMCCH_NL673 (K)	473
6	1097	1115	1178.6574	3533.6405	3533.6118	0.15	T	0	22	0.0069	YPLQPFGLSEVNPDETR +Globo_H_MMCCH (K)	1097
7	1949	1963	766.0211	2295.0415	2295.0268	6.49	T	0	44	4.40E-05	TOEFSKPEPTDYHR +K_MMCCH_NL997 (K)	1354
8	1985	1995	595.6405	1756.8997	1756.8550	3.61	C	0	22	0.0461	IKQCCADRVF +K_MMCCH_NL997 (K)	1986
9	2463	2479	1404.1585	3909.4297	3909.4263	0.85	C	1	16	0.028	KAGSHPEEWFIDAPE +Globo_H_MMCCH (K)	2465
10	1325	1339	865.7426	2594.1060	2594.1959	5.89	Th	3	20	0.015	LKHNLPGDSFYDNR +K_MMCCH_NL673 (K)	1526
11	1952	1963	646.6356	1956.8850	1956.8778	8.77	Th	2	55	3.00E-06	YSKPEEFDYHR +K_MMCCH_NL997 (K)	1954

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL673, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 18

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sito_mod
1	588	606	1132.8378	3395.4915	3395.4962	1.56	T	1	19	0.012	EDKSAGFDRLGAPRGEPR +Globo_H_MMCCCH [K]	590
2	700	719	1035.1627	3042.4663	3042.4532	4.31	T	1	30	0.03092	SVQKRLFEQPEFGHYTSAK +K_MMCCCH_NL673 [K]	719
3	953	965	762.7192	2285.1359	2285.1249	4.81	T	1	47	2.10E-05	DLEKQPSVMEPR +K_MMCCCH_NL673 [K]	956
4	1092	1114	1074.6417	3221.5032	3221.5213	-5.62	T	1	30	0.001	QRRFETNPFHFGRIHENEETR +K_MMCCCH_NL997 [K]	1104
5	1417	1445	980.2136	3916.8154	3916.8135	3.04	T	1	14	0.041	ADHSSEDFGAMASPHALPILCPSPAASER +K_MMCCCH_NL511 [K]	1434
6	1473	1489	905.7894	3734.3463	3734.3414	1.91	T	1	17	0.022	KHGAVVGLPTWDWTLPR +K_MMCCCH_NL673 [K]	1473
7	1923	1932	753.8984	1585.7822	1585.7745	4.86	T	1	15	0.034	IKVWVPPFAR + Desamidado [NO]; K_MMCCCH_NL997 [K]; Oxidación [S]	1924
8	2233	2251	721.5977	2882.5018	2882.3776	-5.48	T	2	23	0.0046	KENTLTIAEVDRLKDMAR + Desamidado [NO]; K_MMCCCH_NL673 [K]	2247
9	2359	2467	1008.4539	2014.8953	2014.8979	0.26	T	1	17	0.022	QKLFNDEPR +K_MMCCCH_NL511 [K]	2360
10	2851	2883	1027.9791	4107.6674	4107.6666	5.66	T	0	35	0.0003	VKPAHAEKSCAGDMMIVLFFHFFAVESVWVVDIETR + Desamidado [NO]; K_MMCCCH_NL997 [K]; Oxidación [M]	2852
11	2897	2919	814.6996	3254.6093	3254.5819	2.45	T	1	36	0.06024	IPNYVDNLRLHGAMIEELIEVLR +K_MMCCCH_NL997 [K]	2900
12	3003	3021	953.1583	2856.4530	2856.4467	2.21	T	1	17	0.021	KYDHFELDASVLPAPVLR +K_MMCCCH_NL673 [K]	3003
13	158	169	731.6757	2198.0053	2197.9838	9.82	G	2	14	0.034	APMKQEDRSVD +K_MMCCCH_NL673 [K]	161

Figura 18 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	26	41	1047.4894	3139.4463	3139.4364	3.15	T	1	17	0.021	KRVQSSDEVLALEK+Globo_K_MMCCH (K)	26
2	164	175	615.6602	1843.5537	1843.9516	3.85	T	1	38	0.0015	LFKVFQGHHR+K_MMCCH_NL997 (K)	167
3	281	293	630.2961	1987.5654	1987.8574	4.82	T	0	47	2.10E-05	SHAKPADSFDYGR+K_MMCCH_NL997 (K)	284
4	419	446	860.9789	5439.6857	3439.8665	5.93	T	1	25	0.0029	QFTLVHHPAKGKHFQPPVVAQANLAVR+Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	433
5	467	468	1125.8600	3374.5531	3374.5500	2.40	T	1	69	1.40E-07	FCINDSVDGYQATVETRALPAR+K_MMCCH_NL511 (K)	471
6	936	950	847.7374	2540.1993	2540.1682	0.70	T	1	15	0.029	KHGTGGGLVNDWTR+K_MMCCH_NL573 (K)	936
7	1097	1115	3008.4823	3022.4251	3022.4216	3.12	T	0	54	3.80E-06	KPLQFFGLDSVNPDETR+K_MMCCH_NL511 (K)	1097
8	1455	1480	953.3719	3408.6562	3408.6501	-1.14	T	1	27	0.0022	AKYBLSLDYAFDVFPLHFAVOR+K_MMCCH_NL997 (K)	1456
9	1528	1549	941.5015	4199.9789	4199.9680	0.59	T	1	37	0.00318	KPLQFFNPENLSDSMLKHNLPQDSFYQNR+Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación [M]	1526
10	1949	1963	574.7651	2295.0315	2295.0266	2.09	T	0	55	3.30E-06	IQEFSKEDTFDYER+K_MMCCH_NL997 (K)	1954
11	2527	2541	691.3613	2071.0620	2071.0619	0.05	T	1	15	0.03	KDVIKLTASERLER+K_MMCCH_NL997 (K)	2527
12	3009	3025	645.4286	2533.2641	2533.2576	1.57	T	1	14	0.043	ALKEHGSHLQPPVWQWTK+K_MMCCH_NL997 (K)	3025
13	1282	1303	605.9986	1814.9745	1814.9713	1.82	G	0	16	0.023	BRSAFIQIQE+K_MMCCH_NL997 (K)	1302
14	2463	2479	1104.1495	3309.4268	3309.4265	-0.03	C	1	19	0.012	KAGQSHPEVDVTDAPF+Globo_K_MMCCH (K)	2463
15	1554	1569	621.8187	1241.6229	1241.6326	-7.73	Th	1	14	0.036	IQKLDQI+Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	1556

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL573, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 19

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	pIpm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sito_mod
1	953	965	554.6624	1961.0253	1961.0192	3.06	T	1	46	2.68E-05	DLKQPSVREPR + K_MMCCH_NL997 (K)	956
2	1092	1114	806.3803	3221.4919	3221.5213	-9.13	T	1	18	0.015	QRHYEINPFRHGKIHENEITR + K_MMCCH_NL997 (K)	1104
3	1417	1445	1108.8071	4427.9992	4428.0696	-0.89	T	1	13	0.046	ADHSSDGFQANSPRAIPPLCFSPASKR + Globo_H_MMCCH (K)	1444
4	2233	2251	721.5986	2882.3654	2882.3776	-4.23	T	2	37	0.0002	KENILTAEDVRELEDAAR + Desamidado (NQ)_K_MMCCH_NL673 (K)	2247
5	2359	2367	937.4279	3852.8413	3852.8409	0.65	T	1	17	0.02	DKLENDER + K_MMCCH_NL673 (K)	2360
6	2851	2883	1027.9756	4107.6742	4107.8666	1.85	T	0	37	0.00018	VNPAHAECCAGDINRIVPLHFFAVESVNIIDFTR + Desamidado (NQ)_K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	2852
7	1689	1664	1104.1271	3308.5584	3309.3654	-1.81	C	2	14	0.038	NLENDIHEEKPEIDF + Globo_H_MMCCH (K)	1639

Figura 19 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	25	41	3047.4501	3139.4485	3139.4364	3.85	T	1	21	0.0089	RNVDELSSDERVALAK+Glibo_H_MMCCCH (K)	36
2	164	175	615.6976	6043.9509	1843.9516	-0.33	T	1	33	0.00246	IFENVQFGRTR+K_MMCCCH_NL997 (K)	167
3	249	271	1012.4529	3034.3368	3034.3373	-0.20	T	1	16	0.025	SEKPSASCAHRLHIFRPFPR+Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	250
4	281	293	630.2961	1887.8656	1887.8574	4.87	T	0	49	1.10E-05	EHAKPADSDYGR+K_MMCCCH_NL997 (K)	264
5	419	446	942.0069	3763.6935	3763.6720	7.04	T	1	30	0.0011	QFTVHRPAGKHFGRKPVYAGANLAVR+Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL673 (N)	433
6	467	468	1125.9863	3374.5471	3374.5390	-0.96	T	1	59	1.20E-06	EQDQKSVDSQAVVEFRHLPAR+K_MMCCCH_NL511 (K)	471
7	1097	1115	847.0906	2538.1501	2538.2312	7.45	T	0	26	0.0024	KPLDFEGDSVNPEDRTR+Z Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K)	1097
8	1955	1365	1217.5374	4866.2004	4866.1892	2.28	T	1	15	0.029	GSAAVYFWQWTEKNDSELSLNEATYFSR+Glibo_H_MMCCCH (K)	1368
9	1508	1526	862.7620	2535.1642	2535.2505	5.30	T	0	15	0.03	KPLDFMPELNGDSMILK+Desamidado (NQ); K_MMCCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	1526
10	1949	1963	928.0576	2781.1811	2781.1853	-1.44	T	0	49	1.20E-05	IQEFSKPEDFDTHR+K_MMCCCH_NL511 (K)	1954
11	2327	2541	691.5518	2071.0635	2071.0619	0.72	T	1	21	0.0083	KDVTSLTASSEFR+K_MMCCCH_NL997 (K)	2527
12	1292	1303	605.9579	1814.9716	1814.9713	0.17	G	0	16	0.024	SRSALQIQKE+K_MMCCCH_NL997 (K)	1302
13	1526	1540	1191.4283	3301.4130	3301.4232	-0.09	C	2	17	0.021	KPMLTQDFDYQPRF+Glibo_H_MMCCCH (K)	1526
14	1985	1995	596.6373	1756.6902	1756.6930	-1.66	C	0	25	0.0049	KQDGEADRVF+K_MMCCCH_NL997 (K)	1985
15	2463	2479	1104.1497	3308.4257	3308.4269	-0.36	C	1	23	0.0025	KAGDHPRELVFDYDAPF+Glibo_H_MMCCCH (K)	2463

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCCH, K_MMCCCH_NL308, K_MMCCCH_NL511, K_MMCCCH_NL673, K_MMCCCH_NL835 o K_MMCCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 20

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	pI	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	377	402	852.1617	3404.6179	3404.6184	2.20	T	0	34	0.037	AMCAISEHMKHLSKFAFSSPLRNRK + Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	402
2	760	719	1069.1809	3204.5209	3204.5080	4.85	T	1	19	0.012	SVGNKLEFDQFESHVTSK + K_MMCCH_NL511 (K)	719
3	1092	1114	836.3923	3221.9999	3221.5213	-6.54	T	1	17	0.019	QPHVETAPPPHQRITHEVEITR + K_MMCCH_NL997 (K)	1104
4	2333	2251	721.9977	2882.3618	2882.3776	-5.48	T	2	28	0.0016	KEINTLTAEVYDLKQKWR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL673 (K)	2247
5	2651	2883	1027.9711	4107.8652	4107.8666	2.78	T	0	32	0.00067	VSPAHSSACGDIMHVLHPENESVINDQFTR + Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	2852
6	158	169	733.6741	2199.0056	2197.9838	7.54	G	2	16	0.025	AFHFFQEDSYD + K_MMCCH_NL673 (K)	161

Figura 20 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	419	446	941.7902	3762.9719	3762.9679	-4.26	Y	1	16	0.028	QPTLVHSPAKGSHFDEKPPVPAQANLAVR +K_MMCCH_NL673 (K)	433
2	1097	1115	847.0919	2538.2539	2538.2312	0.94	Y	0	44	3.60E-05	KPLQPTFSIDSNVDFDETR +2 Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	1357
3	1354	1365	1217.5449	4886.1596	4886.1892	-7.95	Y	1	23	0.0053	GSAVAVPFDWTEKADSLPRLINDATYFNSSK +Globo_H_MMCCH (K)	1368
4	1308	1339	841.0017	4198.9722	4199.9680	0.99	Y	1	55	3.50E-05	KPLQPTNMPFLASDSNITLKHNLPGDSFPYQNR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (59)	1315
5	1224	1235	939.8670	1877.9195	1877.9622	0.21	Th	5	18	0.041	LIVGDNFRRVEE +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K)	1233

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL673, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KLH1 o KLH2.

Figura 21

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mrt(cale)	pzm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	778	789	996.5373	1971.0600	1971.0553	2.44	T	1	17	0.011	MAIINQALQKR +K_MMCCH_NL997 (K)	787
2	953	955	654.6835	1961.0288	1961.0193	4.64	T	1	32	0.00055	ELKQPSVHEPR +K_MMCCH_NL997 (K)	955
3	1092	1114	836.3274	3221.5007	3221.5213	-6.39	T	1	24	0.004	QHHVETNPFHHSHHEMETTR +K_MMCCH_NL997 (K)	1104
4	1923	1932	793.8977	1585.7809	1585.7745	4.04	T	1	19	0.011	NKVMPPAFAR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	1924
5	2253	2251	721.5991	2892.3671	2892.3776	-3.54	T	2	17	0.022	KEIMTLTAEVDRLEAPAR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL673 (K)	2247
6	2951	2863	1027.9812	4107.8557	4107.8686	7.08	T	9	48	1.20E-05	VPAHAGSCAGDIBHVFHPNYESVNDDEFR +Desamidado (NQ); K_MMCCH_NL997 (K); Oxidación (M)	2952
7	1649	1654	1104.1299	3309.8673	3309.8654	0.73	C	2	14	0.042	NINDRHDFSPEDTF +Globo_H_MMCCH (K)	1659
8	601	612	955.9971	2653.1694	2663.1715	-0.79	Th	1	36	0.0026	FHGEPRKWCFSPE +Globo_H_MMCCH (K)	605
9	1580	1587	763.8522	1525.6899	1525.6858	2.69	Th	1	14	0.037	VGSKEPYG +K_MMCCH_NL673 (K)	1563

Figura 2: continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	164	175	615.693	1843.9592	1843.9516	4.12	T	1	40	0.0011	LEERVQFGHHR +K_MMCCH_NL997 (K)	167
2	281	293	630.2977	1887.6714	1887.6574	7.42	T	0	40	0.20E-05	EHAKFADSFVGR +K_MMCCH_NL997 (K)	284
3	457	488	1071.8483	3212.5222	3212.4972	7.78	T	1	60	1.03E-06	FQNDKNSVDGTCATVEFHLPAR +K_MMCCH_NL673 (K)	471
4	1097	1115	1178.8655	3533.6288	3533.6116	4.91	T	0	19	0.014	KPLQPFGLDSVRFQDETR +Globo_H_MMCCH (K)	1097
5	1949	1963	766.0206	2195.0406	2195.0266	6.10	T	0	34	0.00039	TQEFSGPETHFQVHR +K_MMCCH_NL997 (K)	1954
6	2728	2759	586.5373	1971.0600	1971.0553	2.94	T	1	17	0.021	IWAHWQALQKR +K_MMCCH_NL997 (K)	2737
7	1985	1995	386.6405	1756.8997	1756.8930	3.81	C	0	23	0.0046	IKGQGEADRVF +K_MMCCH_NL997 (K)	1986
8	2463	2479	1104.1527	3509.4363	3509.4269	2.84	C	1	14	0.037	KAQSHHPEDVEDTQAPF +Globo_H_MMCCH (K)	2463
9	893	904	655.3971	2863.1694	2863.1715	-0.75	Th	1	26	0.0076	FHGGPRWCPSPF +Globo_H_MMCCH (K)	893
10	1224	1233	1035.4961	2070.9776	2070.9737	3.33	Th	4	25	0.029	LRYGDBFFLK +K_MMCCH_NL511 (K)	1233
11	1957	1963	646.6951	1936.8634	1936.8778	2.89	Th	2	24	0.0041	FEKPEDFQVHR +K_MMCCH_NL997 (K)	1954

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KHL1 o KHL2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de aminoácido de K en que identificado como Globo H_H_MMCCH, K_MMCCH_NL308, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL511, K_MMCCH_NL673, K_MMCCH_NL835 o K_MMCCH_NL997 modificado para la secuencia KHL1 o KHL2.

Figura 2.2

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(zalc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	141	785.4088	2353.2075	2933.2001	3.14	Y	1	21	0.0086	GFTEPPYKHHEUSAKLVR +K_MMCCH-2 (K)	131
2	157	156	823.3666	1644.7387	1644.7242	3.34	T	1	20	0.011	EAFHKFQEDR + Desamidado (NQ); dK_MMCCH-2 (K)	161
3	377	402	833.3975	3329.5607	3329.5784	-5.29	T	0	37	0.00319	AHCAISLEHNGELKFAFSSPINNMEK +K_MMCCH-2 (K)	399
4	460	477	781.3958	2341.3654	2341.1624	1.28	T	1	19	0.014	TSNRVDFIKTTDSVGHK +K_MMCCH-2 (K)	469
5	470	488	748.0436	2241.1091	2241.1100	-0.40	T	1	18	0.017	TIDSVQHKAGTRAVIGSSK +K_MMCCH-2 (K)	477
6	489	496	719.8136	1435.5251	1435.6377	-8.78	Y	1	15	0.029	EMKWEFDR +K_MMCCH-1 (K); Oxidación (R)	491
7	553	560	665.8676	1325.7207	1325.7166	3.09	Y	2	23	0.0051	VKFDKVPK +K_MMCCH-2 (K)	554
8	566	570	485.2430	968.4754	968.4749	0.52	T	1	16	0.028	KRVDR +K_MMCCH-2 (K)	566
9	581	587	547.8376	1093.6606	1093.6569	3.38	T	1	19	0.013	KALALK +K_MMCCH-2 (K)	581
10	588	606	731.0359	2340.8856	2340.5945	0.60	Y	1	31	0.00076	EDKSAEGGQRIGAFHGEPR +K_MMCCH-2 (K)	590
11	591	615	1004.4674	3010.3904	3010.3742	2.06	T	1	16	0.024	SAAGFDQLGAFHGEPRWCSFEASK +K_MMCCH-2 (K)	606
12	645	661	1156.9342	4630.3076	4630.1063	0.28	T	1	26	0.0025	HGYDGLPPWDWTSPIHPELADHRYVDFEGVER +K_MMCCH-2 (K)	671
13	692	699	1239.5814	2477.3483	2477.3434	1.96	T	1	18	0.016	HRPWFDHDTYDKTTK +K_MMCCH-2 (K)	695
14	700	719	887.7795	2660.1967	2660.2905	1.58	T	1	44	4.20E-05	SVQNKLEDFEFGFRVTSIAK +K_MMCCH-2 (K)	704
15	778	789	957.5996	1013.9846	1013.9862	-0.84	T	1	32	0.00059	WAWVQALQKTR + Desamidado (RQ); dK_MMCCH-2 (K)	787
16	790	804	609.3175	2004.9307	2004.9220	4.34	T	0	49	1.20E-05	GRPYVANCAVTSMR +K_MMCCH-2 (K)	791
17	958	863	520.3004	1038.5963	1038.5763	7.70	T	1	19	0.013	NLEAK +K_MMCCH-2 (K)	858
18	953	965	635.9312	1902.9717	1902.9662	2.89	T	1	47	1.90E-05	DVFCQPSVHGEPR +K_MMCCH-2 (K)	956

Figura 22 continuación

19	986	1800	1027.0348	2052.0550	2052.0561	0.54	T	1	84	4.40E-09	KWHEKLSGLESJK +gk_MMCCCH-2 (K)	986
20	1048	1060	913.5302	1825.0459	1825.0423	1.97	T	1	26	0.0024	LVVVVVENALKK +gk_MMCCCH-2 (K)	1060
21	1092	1114	633.9023	3164.4743	3163.4923	7.30	T	1	33	0.00052	QHHHETNPHHKIKTHENETTR + Desamidado (K); gk_MMCCCH-2 (K)	1104
22	1118	1162	1131.7467	5653.6971	5653.6850	2.14	T	1	16	0.014	OSLPHSOYFPEQVYALEQDNFCDPEQLEHRLHLSLGGKKGK +gk_MMCCCH-2 (K)	1162
23	1199	1203	361.1915	1056.5526	1056.5536	-1.23	T	1	37	0.019	KRPYK +gk_MMCCCH-2 (K)	1199
24	1331	1338	620.3547	1238.6949	1238.6944	0.40	T	1	23	0.0054	LDTKALK +gk_MMCCCH-2 (K)	1335
25	1395	1403	485.9956	1453.7651	1453.7599	3.58	T	2	25	0.0031	KDITLQDKR +gk_MMCCCH-2 (K)	1395
26	1395	1403	598.3075	1791.8907	1791.8899	5.97	T	2	21	0.0084	KDITLQDKR +2 gk_MMCCCH-2 (K)	1395, 1402
27	1417	1425	1125.2136	3972.6190	3972.6020	5.07	T	1	27	0.002	ADHSSDGFQAIASHALPPLCPSPAASKR +gk_MMCCCH-2 (K)	1424
28	1473	1489	776.4057	3392.1653	3392.1817	5.40	T	1	46	2.60E-05	KHGAVVGLPYWQWYTLPR +gk_MMCCCH-2 (K)	1473
29	1519	1530	898.6364	1795.8582	1795.8563	1.06	T	1	16	0.025	FEFEGENVHTKR -gk_MMCCCH-2 (K)	1529
30	1721	1746	1092.8095	3275.4065	3275.3886	5.47	T	1	15	0.035	TAGDCEDAGYTYLVGGGENEPPWAFOR +gk_MMCCCH-2 (K); Oxidación (K)	1738
31	1747	1758	613.9775	1838.9108	1838.9012	5.22	T	1	22	0.0067	LRYDYETLQK +gk_MMCCCH-2 (K)	1749
32	1923	1952	756.3798	1510.7451	1510.7425	1.72	T	1	29	0.0012	NKQVPPPPAR +gk_MMCCCH-2 (K)	1924
33	2067	2076	746.8879	1491.7613	1491.7544	4.63	T	1	27	0.0021	KHAVPNDVYK +gk_MMCCCH-2 (K)	2067
34	2088	2083	753.7155	2258.1247	2258.1194	2.35	T	1	16	0.025	HAVPNDVRYELQVR +gk_MMCCCH-2 (K)	2076
35	2111	2149	890.4191	3557.6672	3557.6578	2.64	T	1	37	0.00021	TSARVQFQENTPDDCHGGQIPVLGGTK +gk_MMCCCH-2 (K)	2131
36	2299	2314	715.0181	2142.0324	2142.0238	4.01	T	1	60	9.20E-07	LYTKOMEDALTAHGAAK +gk_MMCCCH-2 (K)	2302
37	2329	2367	736.3492	1470.5859	1470.6813	1.77	T	1	55	0.00034	DELPPDPER +gk_MMCCCH-2 (K)	2360
38	2461	2490	642.8196	3950.8742	3950.8636	2.70	T	0	16	0.026	RPLRPFSDPPIHNFTHENKPEFDVYFSR +gk_MMCCCH-2 (K)	2481
39	2507	2514	687.3518	1362.6669	1362.6683	2.64	T	1	30	0.001	KHELEK +gk_MMCCCH-2 (K)	2507
40	2515	2520	971.7622	1141.5099	1141.5074	2.19	T	1	19	0.012	QKLEDR +gk_MMCCCH-2 (K)	2516

Figura 22 continuación

41	1595	2609	983.5271	1965.0396	1965.0403	-4.99	T	1	17	0.02	HDTSKQELP5DUR +dK_MMCCCH-2 (K)	2602
42	2621	2626	602.7155	2405.1245	2405.1083	6.74	T	1	51	8.60E-06	HHERHEDHEDILVR +dK_MMCCCH-2 (K)	2624
43	2637	2651	1069.5284	2137.0423	2137.0374	2.29	T	1	59	1.40E-06	KMHLSHHEAEER +dK_MMCCCH-2 (K)	2637
44	2652	2682	675.2011	3896.7793	3896.7553	4.90	T	1	14	0.041	DALYKLOHDESHGGYERHAGFNQYMLCFEK +dK_MMCCCH-2 (K)	2636
45	2761	2914	1328.4360	6637.0938	6637.0921	1.76	T	1	20	0.0094	Desamidado (NO); dK_MMCCCH-1 (K)	2771
46	2851	2883	1009.2216	4032.8574	4032.8346	5.05	T	0	69	1.20E-07	WRPFAHAGSCAGORHIVPLHFFNYE5VNRDIFR +dK_MMCCCH-2 (K)	2852
47	2897	2919	1066.5184	3196.5926	3196.5207	1.47	T	1	55	3.20E-06	FNRYDNEHLHGRHNEELEEVLR +dK_MMCCCH-2 (K)	2900
48	2938	2947	730.4154	1458.6183	1458.6156	0.48	T	1	20	0.01	TTAVAVKVK +dK_MMCCCH-2 (K)	2943
49	3003	3021	835.7748	2474.3027	2474.2879	5.98	T	1	45	2.80E-05	KYDHTELDASVUPAPVVR +dK_MMCCCH-2 (K)	3003
50	3022	3024	966.5294	3696.5635	3696.5521	3.94	T	1	15	0.03	RPNNAVDFIEHPKQVNLPPK +dK_MMCCCH-2 (K)	3027
51	123	151	739.7815	3693.9211	3693.9049	4.39	G	2	31	0.00075	KGTFDPPVKKHOSANLLVKKRNDITREE +dK_MMCCCH-2 (K)	131
52	158	175	846.3878	2536.1415	2536.1379	3.59	G	3	25	0.0034	AFHKQEDKSVQVQATAE +dK_MMCCCH-2 (K)	163
53	405	442	676.3239	1340.6373	1340.6312	4.52	G	1	15	0.03	MEKMIHE +dK_MMCCCH-2 (K)	438
54	526	544	777.7507	2936.2304	2936.2304	0.00	G	1	54	0.00028	VDGTLKASSIPVHASURE +dK_MMCCCH-2 (K)	530
55	569	613	1102.8276	3305.4611	3305.4621	-0.30	G	1	13	0.040	DKSAGGFQQLGAFHCEPKVCPSPF +2 dK_MMCCCH-2 (K)	590, 606
56	589	612	990.1173	2967.3301	2967.3320	-0.54	G	1	22	0.0057	DKSAGGFQQLGAFHCEPKVCPSPF +dK_MMCCCH-2 (K)	606
57	711	726	1064.5635	2127.1104	2127.1074	1.41	G	0	16	0.025	FGHYTSAROVLEALE +dK_MMCCCH-2 (K)	719
58	925	841	830.7039	2456.0928	2459.0760	4.76	G	1	26	0.0028	HSUPFNVDYRTRINAVE +Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	845
59	847	860	643.5771	1928.0035	1928.0077	0.93	G	0	26	0.0028	FNGLSISQLNKKE +dK_MMCCCH-2 (K)	858
60	942	971	955.5030	3817.9829	3817.9614	5.64	G	3	17	0.019	VFDKFPASLGDKDFKQSVHREPRIGHHEGE +dK_MMCCCH-2 (K)	946
61	942	970	727.8667	3631.8972	3631.8972	-0.03	G	2	32	0.0007	VFDKFPASLGDKDFKQSVHREPRIGHHE +dK_MMCCCH-2 (K)	956
62	1055	1076	810.1674	3236.5403	3236.6432	0.63	G	1	32	0.0065	NAILKRGSSVAVPVVDATKRRE +2 dK_MMCCCH-2 (K)	1059, 1060

Figura 2.2. continuación

63	1055	1076	725.6325	2895.5012	2898.5102	-3.11	G	1	38	0.00016	NAALKGSSAVPVWVWTKRIE +K_MIMCCH-2 (K)	1060
64	1087	1108	878.4310	1754.8275	1754.8139	4.33	G	0	22	0.0064	INPFRHGRTHE +K_MIMCCH-2 (K)	1104
65	1376	1395	864.3894	2590.1455	2590.1428	1.04	G	3	21	0.0072	AGTDSAHFDGGHTEPVVAREED +K_MIMCCH-2 (K)	1395
66	1397	1415	774.4356	2528.2848	2528.2824	1.03	G	1	29	0.0042	ITQLDKRQQLSIVSALE +K_MIMCCH-2 (K)	1410
67	1506	1522	753.3769	2257.1038	2257.1069	-0.04	G	2	19	0.013	YGRIPNPFEGSKEFE +K_MIMCCH-2 (K)	1518
68	1755	1765	570.6054	1708.7944	1708.7913	1.81	G	2	26	0.0027	TLDKVMLEPHDE +K_MIMCCH-1 (K)	1758
69	2059	2078	692.5958	2760.3703	2766.3588	4.16	G	1	15	0.032	IFHNQFTKRHAVPNEVRYE +K_MIMCCH-2 (K)	2076
70	2089	2100	694.4097	1706.9048	1706.9028	2.34	G	2	22	0.0065	GGMNUHBEKE +K_MIMCCH-2 (K)	2089
71	2647	2661	715.6793	2144.0151	2144.0095	3.08	G	4	24	0.0037	AEELRDALYRLONDE +K_MIMCCH-2 (K)	2656
72	3090	3097	632.6041	1263.5937	1263.5879	4.59	G	0	13	0.048	LGRMYSVE +K_MIMCCH-2 (K)	3092
73	59	68	721.8473	1440.6800	1440.6783	1.32	C	1	37	0.0002	VUSGSEMKAV +K_MIMCCH-2 (K)	67
74	94	100	573.2999	1124.5853	1124.5828	1.21	C	1	15	0.031	TVFAELF +K_MIMCCH-2 (K)	95
75	429	450	690.8061	2969.5964	2969.5995	2.22	C	1	21	0.0078	GGISLENEZAHRENDEDSIV +K_MIMCCH-2 (K); Oxidación (84)	438
76	468	481	635.9773	1865.9400	1869.9235	5.62	C	0	19	0.014	IKTDSVQHEAGTF +K_MIMCCH-2 (K)	468
77	594	595	787.4011	1572.7675	1572.7656	1.14	C	2	40	0.10E-05	ALLNEDSAGGF +K_MIMCCH-1 (K)	590
78	715	722	598.3331	1196.6515	1196.6475	3.42	C	0	22	0.005	YSAKQVL +K_MIMCCH-2 (K)	719
79	783	788	564.7778	1087.5410	1087.5372	3.49	C	1	26	0.0025	QALQRY +K_MIMCCH-2 (K)	787
80	830	838	749.3410	1484.5674	1484.6546	1.89	C	2	19	0.013	NVFDYKTFE +K_MIMCCH-2 (K)	835
81	1013	1018	515.7590	1031.5024	1031.4999	3.49	C	0	14	0.044	EGIAKF +K_MIMCCH-1 (K)	1017
82	1072	1087	744.7218	2231.1435	2231.1409	1.21	C	1	16	0.024	TKREHUPHUSDATY +K_MIMCCH-2 (K)	1073
83	1350	1337	626.5563	1239.6960	1239.6944	2.83	C	1	24	0.0055	KLDHKAJ +K_MIMCCH-2 (K)	1335
84	1643	1664	792.3297	2753.9673	2753.9637	1.60	C	2	18	0.015	RUNDYTHDSKPEDTF +K_MIMCCH-2 (K)	1659
95	1733	1742	792.8754	1583.7363	1583.7354	-0.06	C	1	17	0.02	TVLSGSEMPW +K_MIMCCH-2 (K)	1738

Figura 22 continuación

108	954	959	529.7636	1057.5167	1057.5154	1.23	Th	1	13	0.049	LAKIPS +Desamidado (NO); +K_MMCCCH-2 (K)	956
109	1100	1104	482.2296	962.4447	962.4433	1.45	Th	0	18	0.015	PHHGK +oK_MMCCCH-2 (K)	1104
110	1219	1232	653.5534	1358.8383	1358.8316	3.42	Th	1	21	0.0077	FRSDNRDEATKH +oK_MMCCCH-2 (K)	1250
111	1580	1587	572.7740	1143.5334	1143.5271	5.60	Th	1	15	0.025	VESEKPYE +oK_MMCCCH-2 (K)	1583
112	1657	1668	921.9191	1841.8236	1841.8182	2.95	Th	2	32	0.00063	ENPEDTFDYQK +oK_MMCCCH-2 (K)	1659
113	1957	1969	921.9192	1841.8238	1841.8182	3.04	Th	2	46	2.70E-05	FKPEDTFDYQK +oK_MMCCCH-2 (K)	1968
114	1733	1740	664.3235	1326.6325	1326.6312	1.86	Th	2	30	0.00056	VLGGEKMP +oK_MMCCCH-1 (K); Oxidación (M)	1738
115	1854	1864	850.4174	1698.8103	1698.8116	5.12	Th	5	40	9.40E-05	VAVPWVWVTKP +oK_MMCCCH-2 (K)	1903
116	2064	2068	499.7604	997.5061	997.5055	0.60	Th	0	17	0.02	FTKKH +oK_MMCCCH-2 (K)	2067
117	2094	2100	618.3057	1234.6069	1234.5903	5.55	Th	1	30	0.001	LHEERE +oK_MMCCCH-2 (K)	2099
118	2129	2141	933.8780	1865.7639	1865.7465	3.32	Th	0	19	0.012	CKTSEDCRHGGG +oK_MMCCCH-2 (K)	2131
119	2238	2248	776.8803	1555.7459	1555.7440	1.29	Th	3	43	5.00E-05	LYTAEVDWLDK +oK_MMCCCH-2 (K)	2247
120	2480	2487	622.7991	1243.5836	1243.5755	3.90	Th	2	13	0.045	AKPTDYFE +oK_MMCCCH-2 (K)	2483
121	2512	2521	807.3092	1612.7636	1612.7746	4.40	Th	0	32	0.00058	LEKQKEDRT +oK_MMCCCH-2 (K)	2514
122	2595	2606	806.4045	1610.7945	1610.7862	5.15	Th	2	26	0.0026	HDTSGRQLPSP +oK_MMCCCH-2 (K)	2603
123	2607	2612	520.7803	1033.5461	1033.5445	1.44	Th	2	22	0.0057	URMPY +oK_MMCCCH-2 (K)	2609
124	2746	2771	551.7865	1101.5584	1101.5429	5.08	Th	3	27	0.002	IFQTK +oK_MMCCCH-2 (K)	2771
125	2808	2816	636.8196	1274.6247	1274.6217	2.43	Th	5	11	0.0084	LUGGAEKYS +oK_MMCCCH-2 (K)	2814
126	2946	2960	965.4089	1928.8032	1928.7986	2.38	Th	3	34	0.0004	KSEFTSDDEYAGSF +oK_MMCCCH-2 (K)	2947
127	2980	2996	583.2645	1164.5545	1164.5485	5.15	Th	1	38	0.00017	LTEDHYK +oK_MMCCCH-2 (K)	2996

Figura 2.2. continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	M{cat}	ppm	Enzima	M/C	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	26	41	1043.0238	2086.0330	2084.0347	-0.02	T	1	70	9.50E-06	KNVDSLSGQVLALEK +K_MMCC4-2 (K)	26
2	147	155	694.3724	1388.7362	1386.7217	6.13	T	1	27	0.6018	ADHFNKK +K_MMCC4-2 (K)	155
3	164	175	596.3090	1785.9051	1785.8985	3.70	T	1	37	0.00019	LEKVLPGHTR +K_MMCC4-2 (K)	167
4	249	271	987.4413	2956.3020	2959.3051	-1.05	T	1	32	0.00056	GRDPSADCAHUIPIPIPEFDR +K_MMCC4-2 (K)	250
5	281	293	610.9457	1825.8152	1829.8043	5.95	T	0	54	3.90E-05	EIAKFAUFDYGR +K_MMCC4-2 (K)	284
6	419	446	677.3701	3381.6139	3381.6132	0.23	T	1	45	3.20E-05	QPTLVHPAKGHFDKFPVPAQANLAIV +Desamidado (NQ); +K_MMCC4-2 (K)	436
7	429	445	752.0657	2253.1752	2253.1729	1.02	T	0	52	5.70E-06	GHEDFPVPYAGANLAIV +K_MMCC4-2 (K)	433
8	457	465	948.4582	2830.3529	2830.3365	5.12	T	1	71	8.30E-08	FQNDKSDVGYDAIVFHALPAR +K_MMCC4-2 (K)	471
9	768	795	718.8198	1435.6251	1435.6317	-8.78	T	1	15	0.029	EMKAWGFER +K_MMCC4-1 (K); Oxidación (M)	780
10	936	950	1080.0140	2159.0135	2158.0095	1.85	T	1	51	8.20E-06	RHGFTEGIPYDWR +K_MMCC4-2 (K)	935
11	965	1052	1170.7135	7019.2275	7016.2306	0.98	T	1	15	0.052	DDLYSPGFGHFDIAKQLLAFQDDF(CDFEYDFEFAHNFHAIYSGNEPYSMS +K_MMCC4-2 (K)	1011
12	1052	1066	996.4618	1990.9080	1990.9063	1.36	T	0	77	2.00E-06	IKPFRANCAANR +K_MMCC4-2 (K)	1083
13	1097	1115	827.0768	2478.2087	2476.2101	-0.56	T	0	84	3.50E-09	KPLQPFELDGVHPDETR +K_MMCC4-2 (K)	1097
14	1123	1149	1190.5595	3568.5565	3568.5497	1.95	T	1	73	5.50E-06	YDYKNBDFEYSLAFNGLSIAQLDR +K_MMCC4-2 (K)	1127
15	1295	1311	764.0672	2189.1798	2289.1715	3.63	T	1	17	0.021	S4FLQKKEGVENAK +K_MMCC4-2 (K)	1302
16	1355	1405	1271.2711	3810.7915	3810.7876	1.05	T	1	44	3.90E-05	GSAAVYVDWATEKADSLINDATFNSR +K_MMCC4-2 (K)	1368
17	1409	1450	1097.7112	5482.5195	5482.5213	-0.33	T	1	53	0.00047	DFQFELWDRKDYERNVALEQGNFTEHELELHNALSER +K_MMCC4-2 (K)	1418

Figura 22 continuación

18	1455	1480	1117.8726	7350.5959	2350.6070	-2.34	T	1	63	5.50E-07	KYSLSLDYTRFDPVFEUHHAVR +K_MMACCH-2 (K)	1456
19	1493	1507	721.6653	3161.9742	2163.9594	6.80	T	1	59	1.20E-06	KKPYNEADCAVNEBR +K_MMACCH-2 (K)	1493
20	1493	1507	721.6612	2163.9617	2164.9594	1.05	T	1	70	9.40E-08	KKPYNEADCAVNEBR +K_MMACCH-2 (K)	1494
21	1508	1520	837.7524	2510.2353	2510.2165	6.69	T	0	20	0.01	KPCDFNRPUNSDSMTEK +K_MMACCH-2 (K)	1508
22	1508	1530	825.9995	4124.5032	4124.9360	6.08	T	1	23	0.0047	KPCDFNRPUNSDSMTEK +K_MMACCH-2 (K)	1526
23	1542	1564	802.6925	9207.5407	3207.5448	-1.25	T	1	19	0.012	KYVNHQFNHFSIGNLACTQAR +K_MMACCH-2 (K)	1556
24	1622	1633	591.9809	1772.9209	1772.9171	2.14	T	1	18	0.015	LYKFOITSAUHK +K_MMACCH-2 (K)	1624
25	1690	1700	796.9194	1571.8243	1571.8116	8.09	T	1	13	0.049	KEVSLTTEK +K_MMACCH-2 (K)	1690
26	1690	1704	592.2905	2125.1328	2125.1241	4.05	T	2	28	0.0015	KEVSLTTEK +K_MMACCH-2 (K)	1700
27	1757	1768	612.9786	1835.9141	1835.9128	0.71	T	1	19	0.013	LYVQFEDSLR +K_MMACCH-2 (K)	1767
28	1769	1805	1108.3984	4429.2045	4429.1882	3.70	T	0	28	0.0015	KGRVGLPYWVWLPQSAUPLVTOETFEUFSHK +K_MMACCH-2 (K)	1803
29	1804	1825	945.4654	2633.3745	2633.3673	3.92	T	1	23	0.0047	TPNPFKAMIEFEGEVTER +K_MMACCH-2 (K)	1811
30	1939	1963	560.2615	2136.9767	2236.9735	1.49	T	0	57	1.90E-06	YQEFKPEDFDTHR +K_MMACCH-2 (K)	1954
31	2045	2052	660.3513	1316.5880	1316.5843	2.63	T	1	18	0.015	YDITKTEK +K_MMACCH-2 (K)	2049
32	2116	2125	715.3636	1428.7107	1428.7165	0.14	T	1	15	0.029	BLASKSAMR +K_MMACCH-2 (K)	2121
33	2228	2139	870.4226	1738.8505	1758.8216	3.97	T	1	26	0.0017	KYKSEDAVTVR +K_MMACCH-2 (K)	2231
34	2459	2463	839.9524	1677.8502	1677.8416	3.93	T	1	17	0.021	REKYDIOALK +K_MMACCH-2 (K)	2455
35	2527	2541	3007.5171	2033.0196	2013.0688	5.57	T	1	86	2.86E-09	KDVTBLTASEIEERB +K_MMACCH-2 (K)	2527
36	2726	2739	957.9595	1913.9846	1913.9862	-0.84	T	1	32	0.00059	IWAIVFIALGAKYR +Desamidado (ND); K_MMACCH-2 (K)	2737
37	2755	2764	764.3816	1526.7486	1526.7439	3.06	T	0	25	0.0053	QPLKPFELSR +Desamidado (ND); K_MMACCH-2 (K)	2758
38	3048	3155	639.3348	1256.6551	1256.6587	-2.96	T	1	15	0.052	KAPYNAAK +K_MMACCH-2 (K)	3149
39	167	178	590.9649	1769.8729	1769.8705	1.30	G	0	44	4.30E-05	KYQPGHIFRUME +K_MMACCH-2 (K)	167
40	318	322	456.7347	911.4549	911.4525	1.54	G	0	17	0.021	BAAKE +K_MMACCH-2 (K)	321

Figura 2.2 continuación

41	433	456	975.8586	2924.5539	2924.5429	3.76	G	2	20	0.011	KPPYVACQANLAVRKNINDLTAEE +K_MMCCCH-2 (K)	433
42	466	481	1008.4876	2194.9866	2194.9841	-1.59	G	2	29	0.0013	RFQHEKSVDFEYBATIVE + Desamidado (RC), dK_MMCCCH-2 (K)	471
43	1115	1235	721.8069	2662.3966	2662.3949	1.28	G	3	23	0.0054	ITCQLHOLDHVGDNFRLVYE +K_MMCCCH-2 (K)	1335
44	1292	1303	879.4658	1756.9170	1756.9182	-0.68	G	0	49	1.20E-05	SRSAFUQIME +K_MMCCCH-2 (K)	1302
45	1308	1520	904.9478	1807.9811	1807.8749	3.97	G	0	23	0.0051	NIARFHEKPGUCE +K_MMCCCH-2 (K)	1311
46	1308	1320	603.8335	1807.8786	1807.8749	7.05	G	0	28	0.0014	NIARFHEKPGUCE +K_MMCCCH-2 (K)	1315
47	1409	1422	921.4202	2761.2367	2761.2380	2.06	G	3	19	0.012	NAVTSRDPQPELWDRNDPVE +K_MMCCCH-2 (K)	1413
48	1952	1967	792.6624	2375.8255	2375.8265	2.11	G	3	35	0.00028	ISRPEDTFDVFHRSVE +K_MMCCCH-2 (K)	1954
49	1973	1990	811.7271	2432.1595	2432.1505	3.74	G	0	16	0.023	FVGMVSSLRNVRQODE +K_MMCCCH-2 (K)	1986
50	2477	2494	644.8342	1387.5538	1387.5573	-2.72	G	0	25	0.0034	APPRIVE +K_MMCCCH-2 (K)	2482
51	3396	3405	877.4184	2629.2244	2629.2271	-1.03	G	2	29	0.0013	LDHAYSIRDGHHYIARFTKD +K_MMCCCH-2 (K)	3404
52	38	55	1181.0938	2360.0581	2360.0478	2.25	C	3	27	0.0019	ALEKALDDLQDDENGGY +K_MMCCCH-2 (K)	41
53	152	165	667.6939	2000.0585	2000.0513	4.10	C	2	14	0.041	INKTSRVDORLF +K_MMCCCH-2 (K)	154
54	166	176	547.2655	1639.8349	1639.8302	2.99	C	0	21	0.008	EKVQFGHRTFL +K_MMCCCH-2 (K)	167
55	277	296	683.7525	2648.2957	2648.2329	1.02	C	4	45	3.50E-05	DLTREHAKPADSDYERLGY +K_MMCCCH-2 (K)	284
56	364	373	735.3609	1468.7972	1468.7094	-1.50	C	2	22	0.0056	LLGGFTENRW +K_MMCCCH-2 (K)	372
57	629	685	539.2520	1076.4855	1076.4848	4.27	C	0	25	0.0027	V6GSEKY +K_MMCCCH-2 (K)	634
58	1007	1015	669.8715	1597.7284	1597.7265	1.42	C	1	26	0.0024	TDIAKGVIL +K_MMCCCH-2 (K)	1011
59	1075	1080	544.7778	1087.9410	1087.9371	3.49	C	1	26	0.0025	QALCKY +K_MMCCCH-2 (K)	1079
60	1125	1159	1129.4790	2254.9434	2254.9405	1.33	C	5	18	0.016	DYRNFDEYESLAF +K_MMCCCH-2 (K)	1127
61	1298	1312	824.0845	2469.2316	2469.1324	-0.92	C	2	25	0.0023	LOKREGHENAKF +2 dK_MMCCCH-2 (K)	1302, 1311
62	1298	1312	711.3758	2331.1055	2331.1025	1.50	C	2	27	0.0021	LOKREGHENAKF +K_MMCCCH-2 (K)	1311
63	1526	1534	712.3406	1422.6667	1422.6602	4.57	C	0	15	0.09	KHMLPQGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	1526

Figura 22 continuación

64	1589	1606	784.3575	2259.0506	2330.0392	4.85	C	0	13	0.05	CVYEGGGEONCKTKAGSF +K_ MMCCCH-2 (K)	1600
65	1589	1606	784.3546	2350.0451	2350.0392	2.51	C	0	32	0.00669	CVYEGGGEONCKTKAGSF +K_ MMCCCH-2 (K)	1602
66	1696	1702	607.3010	1212.5994	1212.5949	3.71	C	1	20	0.011	TTLEKPF +K_ MMCCCH-2 (K)	1700
67	1708	1719	839.8415	1677.5655	1677.6651	2.03	C	0	17	0.019	KNMEADDSFDY +K_ MMCCCH-2 (K)	1708
68	1762	1796	1014.5058	2026.9904	2026.9921	2.12	C	1	31	0.00075	NPQSAIDPLVTQTY +K_ MMCCCH-2 (K)	1762
69	1809	1809	706.6381	1411.6617	1411.6595	1.56	C	0	16	0.024	SHKTPNPF +K_ MMCCCH-2 (K)	1803
70	1953	1964	627.2848	1478.9317	1478.9247	4.26	C	2	18	0.017	SEPEDTFDYHRC +K_ MMCCCH-2 (K)	1954
71	1985	1995	850.6291	1698.8437	1698.8399	2.24	C	0	30	0.0011	KQQGEAURVF +K_ MMCCCH-2 (K)	1986
72	2091	2011	736.8453	1451.6761	1451.6755	0.41	C	1	21	0.008	NGFGQASVSF +K_ MMCCCH-2 (K)	2001
73	2455	2462	645.3257	1288.6369	1288.6373	-0.31	C	1	24	0.0038	RYDITGAL +K_ MMCCCH-2 (K)	2455
74	2465	2479	1128.0194	2254.0243	2254.0253	-0.44	C	1	19	0.011	KAOSSHPEOVEDTAPF +K_ MMCCCH-2 (K)	2463
75	2506	2532	751.6026	3042.3813	3042.3738	2.47	C	0	24	0.0042	SAGEGHTDHEGSDHAGSVRRKVTSL +K_ MMCCCH-2 (K)	2527
76	2754	2760	598.3314	1194.6483	1194.6471	1.60	C	1	17	0.022	KQPIKPF +K_ MMCCCH-2 (K)	2754
77	2754	2760	598.3315	1194.6504	1194.6471	2.76	C	1	17	0.022	KQPIKPF +K_ MMCCCH-2 (K)	2758
78	2855	2872	672.5662	1344.7179	1344.7112	4.98	C	1	22	0.0054	RYDITXV1 +K_ MMCCCH-2 (K)	2870
79	3235	3242	617.3142	1252.6139	1232.6111	2.27	C	0	40	0.0009	TSANYEIV +K_ MMCCCH-2 (K)	3240
80	3398	3406	658.3369	1314.6593	1314.6520	4.79	C	1	15	0.029	YIAGPTNDL +K_ MMCCCH-2 (K)	3404
81	69	75	804.2940	1206.5735	1206.5703	2.65	Th	0	13	0.045	VEKHEKQ +K_ MMCCCH-2 (K)	74
82	184	191	703.8044	1405.5942	1405.5854	3.41	Th	1	43	4.30E-05	LEQDECK +K_ MMCCCH-2 (K)	181
83	247	260	631.6201	1391.8364	1391.8305	4.12	Th	2	21	0.0078	LRGRDPRSDCAHN +K_ MMCCCH-2 (K)	250
84	283	293	782.6576	1563.7006	1563.7018	-1.34	Th	3	47	1.80E-05	AKPATSFOYGR +K_ MMCCCH-2 (K)	284
85	364	374	753.8729	1525.7312	1525.7309	0.20	Th	3	33	0.00046	LLGPTENRNVG +K_ MMCCCH-2 (K)	372
86	629	636	582.7682	1163.5219	1163.5109	4.36	Th	1	20	0.01	VEGSEKYS +K_ MMCCCH-2 (K)	634

Figura 22. continuación

87	893	904	8973	1807.7501	1807.7698	5.79	Th	1	22	0.0058	RHGEPAWVCSPE +dK_MMCCH-2 (K)	698
88	1362	1374	968.4312	1934.8479	1934.8397	4.24	Th	4	13	0.045	YVQWTEKADSLPS +dK_MMCCH-2 (K)	1358
89	1525	1538	738.5572	2212.0497	2212.0371	5.70	Th	9	36	0.0026	IKHMLFGDSFDYQHR +dK_MMCCH-2 (K)	1536
90	1569	1605	848.0659	2541.1142	2541.1008	5.27	Th	2	19	0.013	ICVDEGEORGNTRAGS +2 dK_MMCCH-3 (K)	1650, 1602
91	1569	1805	795.3340	2202.9801	2202.9798	4.22	Th	2	38	0.0015	ICVIGGGEORCKTRASS +dK_MMCCH-2 (K)	1692
92	1643	1648	537.7640	1079.5135	1079.5103	2.98	Th	2	14	0.037	EDHYD +dK_MMCCH-3 (K)	1646
93	1800	1809	780.3742	1558.7359	1558.7279	5.18	Th	2	20	0.01	FSHRTTPPF +dK_MMCCH-2 (K)	1863
94	1922	1963	637.2850	1878.6391	1878.6247	4.47	Th	2	55	3.40E-05	FSKPFEDTDYHR +dK_MMCCH-2 (K)	1934
95	1995	1993	727.3631	1452.7115	1452.7031	5.92	Th	1	21	0.0372	RGGGEAER +dK_MMCCH-2 (K)	1986
96	2193	2199	667.3032	1582.5918	1582.5949	5.18	Th	2	24	0.0037	VVDWVTRP +dK_MMCCH-2 (K)	2199
97	2200	2296	562.3082	1122.6018	1122.5995	3.05	Th	2	22	0.0062	SKLPL +dK_MMCCH-2 (K)	2202
98	2225	2229	462.2221	972.6297	972.6259	4.23	Th	2	21	0.0072	PAKSEY +dK_MMCCH-2 (K)	2227
99	2359	2359	909.2915	1016.4485	1016.4460	2.46	Th	1	26	0.0028	TRMSEH +dK_MMCCH-2 (K); Oxidación (M)	2361
100	2941	2950	720.9409	1439.6673	1439.6602	4.93	Th	3	45	3.00E-05	IDEANDLENA +dK_MMCCH-2 (K)	2948
101	3009	3015	573.2771	1144.5386	1144.5335	5.33	Th	0	16	0.022	LEHGGH +dK_MMCCH-2 (K)	3010
102	3499	3405	520.1615	1038.5084	1038.5056	2.70	Th	1	29	0.0011	YAGPTLD +dK_MMCCH-2 (K)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 23

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	174	141	785.4092	2353.2059	2353.2001	2.46	T	1	25	0.0032	GFIDPPYRHHQSRANLVK +4K_MMCCCH-2 (K)	131
2	142	149	655.3433	1310.6736	1310.6653	4.85	T	1	24	0.00046	KNNRDLTR +4K_MMCCCH-2 (K)	142
3	157	166	822.8833	1643.7520	1643.7402	7.18	T	1	18	0.014	LSFRKFGEDR +4K_MMCCCH-2 (K)	151
4	154	192	726.6426	1451.6701	1451.6649	3.58	T	1	20	0.009	LPFRPDALGR +4K_MMCCCH-2 (N)	180
5	553	560	663.8692	1325.7219	1325.7166	4.09	T	2	20	0.011	VRFDKVPK +4K_MMCCCH-2 (K)	554
6	566	570	485.2449	968.4792	968.4749	0.51	T	1	16	0.025	KNVDR +4K_MMCCCH-2 (K)	566
7	581	590	753.9201	1465.8256	1465.8214	2.03	T	2	24	0.0038	KALALKEK +4K_MMCCCH-2 (K)	581
8	589	600	781.0359	2340.0858	2340.0845	0.60	T	1	29	0.0025	IEKSGGGFOIQGFHGEPK +4K_MMCCCH-2 (N)	590
9	645	681	1156.5337	4630.1057	4630.1063	-0.15	T	1	25	0.0032	HGYDGLPVDWVSPINHLPELADREKTYDPEDEVEK +4K_MMCCCH-2 (N)	671
10	682	699	620.3917	1277.1377	1277.1434	-2.54	T	1	18	0.015	HRPWFDGHHETVCKTTR +4K_MMCCCH-2 (K)	695
11	700	719	837.7701	1660.2886	1660.2945	-2.22	T	1	48	1.60E-05	SVENKLIFFEFERHYSIAK +4K_MMCCCH-2 (K)	704
12	778	789	958.0907	1913.9869	1913.9862	0.37	T	1	22	0.0059	WAWVQALQRYK +Desamidado (NQ); 4K_MMCCCH-2 (K)	787
13	790	804	1005.6995	2004.9244	2004.9220	1.20	T	0	56	2.60E-06	GKPYAVANCAVTSME +4K_MMCCCH-2 (K)	791
14	858	863	520.2990	1038.5855	1038.5785	4.91	T	1	16	0.024	KEAK +4K_MMCCCH-2 (K)	858
15	953	965	635.3314	1262.9723	1262.9662	3.15	T	1	54	3.60E-06	DLEKQSVHIEPR +4K_MMCCCH-2 (K)	956
16	986	1000	1027.0339	2052.0531	2052.0561	-1.46	T	1	51	9.60E-06	KRENLKRGSELSR +4K_MMCCCH-2 (K)	986
17	1048	1060	913.5288	1825.0491	1825.0473	0.44	T	1	37	0.0001	LVVVVENALRR +4K_MMCCCH-2 (K)	1060
18	1092	1114	791.8768	1563.4780	1563.4662	3.07	T	1	38	0.00017	QHRVETNFRFHGKTHENETTR +4K_MMCCCH-2 (K)	1104

Figura 23 continuación

19	1199	1203	353.3911	1056.5524	1056.5538	-2.37	T	1	17	0.019	KRPYR +8K_MMCCCH-2 (K)	1199
20	1331	1338	620.3545	1238.6944	1238.6944	0.00	T	1	24	0.0039	LDTKALK +8K_MMCCCH-2 (K)	1335
21	1395	1402	602.8365	1297.6585	1287.6588	-0.15	T	1	21	0.0076	KDITQDX +8K_MMCCCH-2 (K)	1395
22	1473	1489	778.4027	2332.1863	2332.1827	1.54	T	1	47	2.00E-05	KMGAVVGLPFFWWTPE +8K_MMCCCH-2 (K)	1473
25	1721	1746	1067.4764	3259.4075	3259.3997	4.25	T	1	13	0.047	TASDCEADAGYFVIGGEREMVAFDR +8K_MMCCCH-2 (K)	1739
24	1747	1759	613.9770	1838.9091	1838.9012	4.35	T	1	21	0.0079	LVYDITELUK +8K_MMCCCH-2 (K)	1749
25	1929	1932	756.3028	1510.7470	1510.7425	3.04	T	1	27	0.0019	NKVSAPNPE48 +8K_MMCCCH-2 (K)	1924
26	2100	2109	492.2468	1364.9580	1364.9401	-1.07	T	2	19	0.034	ERKQCHVVR +2 8K_MMCCCH-2 (K)	2102, 2104
27	2121	2149	1196.8922	3557.8548	3557.8378	4.78	T	1	46	2.80E-05	TSADVCFDKTISEDCHGGCIPVIGGK +8K_MMCCCH-2 (K)	2131
28	2959	2957	755.3499	1470.6953	1470.6813	2.72	T	1	35	0.00031	DKLFPDFER +8K_MMCCCH-2 (K)	2360
29	2507	2514	682.5525	1362.8905	1362.8833	3.82	T	1	27	0.0019	KRHELEK +8K_MMCCCH-2 (K)	2507
30	2515	2520	571.7522	1141.5099	1141.5074	2.19	T	3	10	0.017	QZEEER +8K_MMCCCH-2 (K)	2516
31	2505	2809	983.5305	1965.0487	1965.0494	-1.27	T	1	21	0.0081	HDTSGKOLPSDLK +8K_MMCCCH-2 (K)	2601
32	2621	2636	802.7119	2405.1121	2405.1083	1.54	T	1	55	3.00E-06	PHHEKHHEDHEDHVR +8K_MMCCCH-2 (K)	2624
33	2637	2651	1069.9327	2137.0509	2137.0374	6.27	T	1	71	8.70E-08	KRHSLSHREAEER +8K_MMCCCH-2 (K)	2637
34	2761	2814	1324.8373	6619.1500	6619.1192	4.65	T	1	13	0.046	DVNEAFQCTKFGFSSPYALQALEEDVYCDYEVQYELHNEVHVLIGSEK +8K_MMCCCH-2 (K)	2771
35	2851	2883	1069.2160	4032.8349	4032.8346	0.07	T	0	30	0.001	VBPAMAGSAGDBRHFVLPFFNFSVWDDFTF +8K_MMCCCH-2 (K)	2852
36	2887	2919	1066.5197	3196.5371	3196.5287	2.63	T	1	59	1.30E-06	FNRYDMNLHSHHELEEVR +8K_MMCCCH-2 (K)	2900
37	2999	3021	1106.2400	3315.6591	3315.6425	1.75	T	2	21	0.0071	FLKRYDHTELDASVLFAPVVR +2 8K_MMCCCH-2 (K)	3002, 3003
38	3009	3021	825.7711	2474.2914	2474.2879	1.37	T	1	27	0.0022	KVCFTELDASVLPAPVVR +8K_MMCCCH-2 (K)	3003
39	123	151	616.6606	3693.9232	3693.9049	4.14	G	2	30	0.0009	KGFTDPPVNHQSAHLVARNHDLTREE +8K_MMCCCH-2 (K)	123
40	123	151	616.6599	3693.9154	3693.9049	7.84	G	2	23	0.005	KGFTDPPVNHQSAHLVARNHDLTREE +8K_MMCCCH-2 (K)	133

Figura 23 continuación

41	156	176	846.5828	2536.1269	2596.1329	-2.48	G	3	24	0.0038	AFHNFQEDRSVDGYQATAE +dK_MMCCCH-2 (K)	1861
42	435	443	676.5245	1350.6344	1350.6312	2.37	G	1	18	0.015	NIERMIHE +dK_MMCCCH-2 (K)	436
43	526	544	777.7901	1330.1285	2330.2504	-0.82	G	1	24	0.0044	YDSTKLASSLIPNASVHE +dK_MMCCCH-2 (K)	530
44	589	612	1102.8262	3305.4567	3305.4621	-1.63	G	1	24	0.00219	EKSAGGFGQLGAFHGEPRKVCPSPE +2 dK_MMCCCH-2 (K)	590, 606
45	589	612	990.1141	2967.5206	2967.5320	5.84	G	1	23	0.0055	EKSAGGFGQLGAFHGEPRKVCPSPE +dK_MMCCCH-2 (K)	606
46	665	676	877.9729	1652.7513	1652.7552	-4.78	G	2	14	0.038	LADHEKYDPE +dK_MMCCCH-2 (K)	671
47	825	841	820.3713	2458.8922	2458.8940	-0.73	G	1	25	0.003	ISVPPRFVFDYKTNPVE +dK_MMCCCH-2 (K)	825
48	847	860	643.6777	1928.0112	1928.0077	1.82	G	0	24	0.0046	ENGLISLQNKLE +dK_MMCCCH-2 (K)	858
49	942	970	727.3804	3631.8658	3631.8973	-8.70	G	2	18	0.016	VFDLRFASLQDFAKDFSVHHPRIQHHE +dK_MMCCCH-2 (K)	956
50	1055	1076	810.1655	3236.6328	3236.6402	-2.32	G	1	30	0.00082	MAILKKGSSVAVPYVDWTKRE +2 dK_MMCCCH-2 (K)	1059, 1060
51	1055	1076	725.6326	2898.5012	2898.5102	-5.11	G	1	37	0.0002	MAILKKGSSVAVPYVDWTKRE +dK_MMCCCH-2 (K)	1060
52	1097	1110	998.9515	1997.9085	1997.9054	1.60	G	1	22	0.0062	INPPRHGRIHENE +dK_MMCCCH-2 (K)	1104
53	1376	1396	964.3895	3590.1471	3590.1478	1.66	G	3	22	0.0067	AGTDSNHTDSDSHTEPVMIRKQ +dK_MMCCCH-2 (K)	1395
54	1376	1413	915.2669	4571.2951	4571.2636	6.89	G	5	21	0.0079	AGTDSNHTDSDSHTEPVMIRKQTELDNRQQLSLYKALE +Desamidado (NQ); dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	1402
55	1397	1413	774.4324	2520.3753	2320.2824	-3.06	G	3	22	0.006	ITQLDRRQQLSLYKALE +dK_MMCCCH-2 (K)	1410
56	1506	1512	753.3741	2257.1004	2257.1089	-3.77	G	2	21	0.0076	TGKDFPFFISSRIEHE +dK_MMCCCH-2 (K)	1518
57	1755	1765	570.6044	1705.7915	1706.7913	0.32	G	2	27	0.0019	TLDNRMIHDE +dK_MMCCCH-2 (K)	1758
58	2089	2100	654.0117	1706.8088	1706.8068	4.75	G	2	41	2.40E-05	IGGRNLHIEHE +dK_MMCCCH-2 (K)	1099
59	2647	2661	715.6783	2144.0130	2144.0055	1.63	G	4	24	0.0043	AEELEDALYKLADE +dK_MMCCCH-2 (N)	2656
60	3090	3097	633.6027	3263.5908	3263.5879	2.30	G	0	14	0.039	LGRMYSVE +dK_MMCCCH-2 (K)	3082
61	59	68	721.3470	1440.6794	1440.6781	0.90	C	1	23	0.00045	VLEGFSEMANV +dK_MMCCCH-2 (K)	67
62	160	171	909.9108	1817.8070	1817.8043	1.49	C	1	19	0.014	HAFQEDRSVDGT +dK_MMCCCH-2 (K)	161

Figura 2.3 continuación

63	584	595	787.4013	1572.7879	1572.7858	1.40	C	2	36	0.05027	ALLKEDKSAGGF +dK_MMCCCH-2 (K)	590
64	715	723	655.6733	1309.7320	1309.7316	0.38	C	1	15	0.032	TSAKQVAL +dK_MMCCCH-2 (K)	739
65	783	788	544.7770	1087.5394	1087.5372	2.02	C	1	16	0.017	QALCQV +dK_MMCCCH-2 (K)	787
66	860	869	789.8865	1577.7584	1577.7548	3.28	C	1	13	0.045	FAKSOORFF +dK_MMCCCH-2 (K)	883
67	944	955	821.4309	1640.8473	1640.8484	-0.67	C	3	15	0.035	DLKPASLGKDLF +dK_MMCCCH-2 (K)	946
68	1013	1018	516.7577	1031.5095	1031.4958	1.16	C	0	22	0.0365	FQAKF +dK_MMCCCH-2 (K)	1017
69	1130	1137	620.3552	1238.6958	1238.6944	1.05	C	1	21	0.0071	KLDTKAL +dK_MMCCCH-2 (K)	1135
70	1515	1521	566.2921	1130.5687	1130.5682	1.33	C	0	17	0.022	IGSKIEF +dK_MMCCCH-2 (K)	1518
71	1649	1664	752.3290	2253.9851	2253.9637	0.62	C	2	15	0.034	RLNDHTHDFSKPEDIF +dK_MMCCCH-2 (K)	1639
72	1818	1827	753.3682	1504.7218	1504.7232	-0.93	C	1	21	0.0077	NEADIGSLKY +dK_MMCCCH-2 (K)	1826
73	2076	2082	612.3054	1222.5862	1222.5944	1.47	C	3	19	0.014	NYLLEGF +dK_MMCCCH-2 (K)	2076
74	2150	2164	1085.5089	3253.5049	3253.5179	-4.00	C	3	32	0.00564	KYDTEALHGHARHPEDVFRPSEPF +dK_MMCCCH-2 (K)	2160
75	2476	2488	923.9213	1845.8260	1845.8241	1.95	C	1	26	0.0025	THSRAKPTWPEY +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
76	2656	2672	747.3219	2239.0039	2239.0034	1.56	C	2	30	0.001	KLQDDESHGQYEHAGF +dK_MMCCCH-2 (K)	2656
77	2728	2749	658.3746	1710.7350	1710.7368	0.12	C	2	21	0.0074	ADSGNNWPFPRY +dK_MMCCCH-2 (K)	2748
78	2946	2960	965.4052	1928.7957	1928.7966	-1.50	C	1	21	0.0072	IKSGTDSDDVEYAGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	2947
79	2964	2971	607.2726	1212.5805	1212.5807	-0.08	C	0	17	0.02	EGAKEMFV +dK_MMCCCH-2 (K)	2967
80	1	9	733.3329	1464.6560	1464.6516	-1.09	Th	2	19	0.034	RAIPEELTY +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	7
81	28	56	661.6808	2582.0205	2582.0188	3.26	Th	2	17	0.019	VLPDUNDNRDDHLEKAGD +dK_MMCCCH-2 (K)	59
82	59	68	785.3759	1568.7971	1568.7967	0.25	Th	3	52	6.98E-06	VLGGSFSEMEVQ +dK_MMCCCH-2 (K)	67
83	78	84	569.2863	1136.5593	1136.5586	4.14	Th	1	34	0.00041	LSDTVHK +dK_MMCCCH-2 (K)	84
84	117	124	620.8127	1239.6109	1239.6070	3.15	Th	1	24	0.0044	VYHPFKG +dK_MMCCCH-2 (K)	123
85	431	439	713.8503	1429.6866	1429.6823	2.38	Th	3	16	0.027	ISLENERMA +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	438

Figura 2.3 continuación

86	521	530	707.8493	1413.6720	1415.6698	1.56	Th	2	59	1.10E-07	VDFEVDGTR +dK_MMCCCH-2 (K)	530
87	585	591	585.8104	1189.8062	1169.8002	5.13	Th	1	85	0.00333	LLKEDKS +dK_MMCCCH-2 (K)	580
98	601	612	904.8862	1807.7779	1807.7698	4.48	Th	1	16	0.016	FHGEFVWCFDPE +dK_MMCCCH-2 (K)	606
89	666	672	607.2816	1212.5486	1212.5485	0.08	Th	2	23	0.0045	LADHERY +dK_MMCCCH-2 (K)	671
90	821	828	617.9116	1233.8086	1233.8064	1.78	Th	1	23	0.005	VTKHSYP +dK_MMCCCH-2 (K)	823
91	831	837	612.7867	1223.5098	1223.5519	4.50	Th	2	22	0.007	VFDYKTN +dK_MMCCCH-2 (K)	835
92	1100	1104	482.2287	962.4428	962.4433	-0.52	Th	0	20	0.0093	FPHGK +dK_MMCCCH-2 (K)	1104
93	1111	1120	742.3818	1482.7491	1482.7388	6.95	Th	1	22	0.0066	ITTRDPEDSL +dK_MMCCCH-2 (K)	1117
94	1186	1184	630.8400	1259.5654	1259.6584	5.56	Th	2	14	0.028	LLSGGRYS +dK_MMCCCH-2 (K)	1182
95	1219	1232	653.9541	1958.8405	1958.8316	4.54	Th	1	30	0.0011	FKSDNNEGATKTH +dK_MMCCCH-2 (K)	1221
96	1219	1232	980.4238	1958.8330	1958.8316	0.71	Th	1	37	0.0062	FDKSDNNEGATKTH +dK_MMCCCH-2 (K)	1230
97	1580	1587	572.7732	1143.5319	1143.5271	4.28	Th	1	16	0.026	VGGKPYG +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
98	1657	1668	921.9167	1841.8189	1841.8182	0.38	Th	2	48	1.10E-05	SKPFEDFDYOR +dK_MMCCCH-2 (K)	1659
99	1657	1668	921.9177	1841.8208	1841.8082	1.41	Th	2	56	2.20E-06	SKPFEDFDYOR +dK_MMCCCH-2 (K)	1668
100	1733	1741	664.3229	1326.6313	1326.6312	0.06	Th	2	17	0.02	VLGGEREMP +dK_MMCCCH-1 (K); Oxidación (M)	1738
101	1736	1760	479.7244	957.4342	957.4300	4.49	Th	1	16	0.024	LDKNN +dK_MMCCCH-2 (K)	1758
102	1894	1904	950.4159	1699.8161	1698.8116	2.65	Th	5	42	5.69E-05	VAVPYVQWVTEP +dK_MMCCCH-2 (K)	1903
103	2064	2068	409.7591	997.5036	997.5035	-2.01	Th	0	18	0.014	FTRKH +dK_MMCCCH-2 (K)	2067
104	2094	2100	616.3030	1234.5914	1234.5903	0.69	Th	1	27	0.0022	LHEJENE +dK_MMCCCH-2 (K)	2099
105	2129	2141	943.8804	1865.7462	1865.7455	-1.77	Th	0	25	0.0035	KCTSEDCCHHSQQ +dK_MMCCCH-2 (K)	2131
106	2238	2248	778.8785	1555.7425	1555.7440	-0.30	Th	3	44	4.10E-05	LTTAFVDRHLD +dK_MMCCCH-2 (K)	2247
107	2475	2487	915.4249	1829.8353	1829.8295	3.22	Th	3	17	0.018	FTHSNKPTDYFE +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
108	2512	2521	807.3982	1612.7819	1612.7766	3.29	Th	0	35	0.0033	LEKNEEDRT +dK_MMCCCH-2 (K)	2514

Figura 2.3 continuación

109	2506	2571	768.0113	1121.0126	2121.0048	3.44	Th	1	14	0.002	LEHELEKREEDRT +6K_MMACH-2 (K)	2516
110	2495	2606	808.4034	1610.7923	1610.7962	3.79	Th	2	35	0.00033	BDTSGKQIPSD +6K_MMACH-2 (K)	2601
111	2607	2612	520.7794	1039.5443	1039.5446	0.29	Th	2	22	0.0058	LINEMPT +6K_MMACH-2 (K)	2602
112	2766	2771	551.7853	1101.5561	1101.5529	3.00	Th	3	24	0.0049	RCQTR +6K_MMACH-2 (K)	2771
113	2808	2816	636.5124	1274.6223	1274.6217	0.47	Th	5	27	0.0039	LUSGAERYS +6K_MMACH-2 (K)	2814
114	2945	2960	965.4048	1428.7950	1428.7946	1.87	Th	3	30	0.001	FKSGTDSOTFYAGSF +6K_MMACH-2 (K)	2967
115	2990	2996	593.2842	1164.5536	1164.5485	4.55	Th	1	38	0.00016	LTDBRHK +6K_MMACH-2 (K)	2995
116	3076	3084	724.3633	1446.7100	1446.7049	4.22	Th	2	13	0.046	FRCKVPPFS +6K_MMACH-2 (K)	3079

Figura 2.3 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mx{zalc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio mod
1	26	41	1043.0243	3064.0326	2084.0947	-0.56	Y	1	44	3.89E-05	KWVDSLSSEVLALEX +dK_MMCCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.3694	1386.7242	1386.7217	1.60	Y	1	22	0.006	ADITFLGKK +dK_MMCCCH-2 (K)	155
3	164	175	596.3101	1785.9085	1785.8985	5.66	Y	1	44	4.40E-05	IFKVVQPGVHNR +dK_MMCCCH-2 (K)	167
4	249	271	987.6429	2959.3069	2959.3051	0.57	T	1	33	0.00051	SEKPNACACAHREHRTPMFFDR +dK_MMCCCH-2 (K)	250
5	281	293	610.9435	1829.8069	1829.8043	2.46	Y	0	56	2.70E-06	EHKXPADSFYGR +dK_MMCCCH-2 (K)	284
6	413	446	384.4591	3981.6079	3381.8132	-1.74	Y	1	24	0.0039	QFTLVHSPAKGPFKPPVAVDQMLAVR + Desamidado (NCL) +dK_MMCCCH-2 (K)	428
7	429	446	751.0683	2253.1770	2253.1729	1.86	Y	0	52	7.00E-06	GHFKPPVAVADANLAVR +dK_MMCCCH-2 (K)	433
8	467	488	708.5934	2830.9448	2830.9385	3.08	Y	1	55	2.90E-07	FONKVSQVGLATVEHHPAR +dK_MMCCCH-2 (K)	471
9	489	497	726.8424	1451.5701	1451.5649	3.59	Y	1	20	0.0029	CFRFPVADR +dK_MMCCCH-2 (K)	489
10	936	950	1060.0117	2156.0089	2156.0095	-0.28	Y	1	46	2.66E-05	NHGFEGLPYVWVTE +dK_MMCCCH-2 (K)	936
11	1082	1096	996.4610	3990.9074	1990.9069	0.60	Y	0	85	3.00E-09	SKPNTANCAIASMR +dK_MMCCCH-2 (K)	1083
12	1097	1115	827.0761	2478.3065	2478.2101	-1.45	T	0	56	2.60E-06	KPLQPFGLDQVNFDETR +dK_MMCCCH-2 (K)	1097
13	1123	1149	1190.5605	3568.6586	3568.6497	2.86	Y	1	63	5.20E-07	VFDYRNFDFEYELAFNGLSIAQLER +dK_MMCCCH-2 (K)	1127
14	1345	1385	1271.7697	3610.7871	3610.7876	-0.10	Y	1	27	0.0019	GSVAVAPPVHWTEKADQLSUNDATYNSR +dK_MMCCCH-2 (K)	1369
15	1406	1450	1371.8669	5483.5241	5483.5213	0.51	Y	1	54	4.16E-06	DPQPELWDNKKDFYENVMLAEQDNCFDFEQLEHFNALHSR +dK_MMCCCH-2 (K)	1419
16	1455	1480	1117.8600	3350.6182	3350.6076	3.31	Y	1	42	6.06E-05	KRYSLSLDYATADFVFFLHARVDR +dK_MMCCCH-2 (K)	1456
17	1493	1507	721.6616	2161.9629	2161.9594	1.57	Y	1	62	6.50E-07	KKPFREACANRENR +dK_MMCCCH-2 (K)	1494
18	1542	1556	1070.1942	3207.5608	3207.5468	4.99	Y	1	33	0.00048	VOYDNELQNHFSKQLDGLGAR +dK_MMCCCH-2 (K)	1546

Figura 2.3 continuación

19	1661	1704	999.5225	1997.0303	1967.0292	0.85	T	1	23	0.0055	EVSLITLERHFLR +dk_MMCCCH-2 (K)	1700
20	1757	1768	612.9769	1885.9146	1835.9128	1.05	T	1	16	0.035	LYVQJEDSLKR +dk_MMCCCH-2 (K)	1757
21	1804	1825	945.4641	2433.3705	2323.3033	2.54	T	1	39	0.00014	TFRNFKANIEFEGVYER +dk_MMCCCH-2 (K)	1811
22	1849	1863	1119.4961	2236.9776	2236.9735	1.03	T	0	45	5.30E-05	ROEFSKPEDTFDHR +dk_MMCCCH-2 (K)	1954
23	2228	2239	870.4186	1738.6227	1738.6236	-0.52	T	1	16	0.026	GVKSEDAVYR +dk_MMCCCH-2 (K)	2231
24	2527	2541	1307.5152	2013.0159	2013.0088	3.48	T	1	79	1.40E-06	KDVTLTASEENR +dk_MMCCCH-2 (K)	2527
25	2728	2739	958.0007	1933.9869	1933.9862	0.57	T	1	22	0.0059	IVAWQALQYR + Desamidado (NO); dk_MMCCCH-2 (K)	2737
26	2755	2764	764.3814	1520.7483	1526.7409	2.69	T	0	33	0.00051	QPLKPTSSR + Desamidado (NO); dk_MMCCCH-2 (K)	2759
27	2856	2879	659.3627	1316.7108	1316.7050	4.40	T	1	21	0.0089	YDTRVVK +dk_MMCCCH-2 (K)	2870
28	3148	3155	629.3956	1256.0507	1256.0507	-1.59	T	1	19	0.013	KKPYNAAK +dk_MMCCCH-2 (K)	3149
29	167	178	590.9629	1789.8658	1759.8705	2.69	G	0	38	0.00014	KVQFGHFLNLS +dk_MMCCCH-2 (K)	167
30	433	456	975.6492	2924.5249	2924.5429	-5.81	G	2	16	0.035	KPPYVACQNLAVRKNRDLTAE +dk_MMCCCH-2 (K)	433
31	466	481	752.3367	2185.9972	2194.0001	-1.22	G	2	25	0.0032	RCORDEKVOGYQATVE +dk_MMCCCH-2 (K)	471
32	1117	1135	1404.1260	2805.2374	2396.2373	0.04	G	3	16	0.024	HSYFRVFDYKMFJVEYE +dk_MMCCCH-2 (K)	1127
33	1215	1235	721.9066	2882.5974	2882.3949	0.87	G	3	25	0.0031	ITGZLHDLHVGDNFFLVE +dk_MMCCCH-2 (K)	1233
34	1292	1309	875.4639	1750.9273	1750.9182	0.45	G	0	42	5.80E-05	SRS4FLQJNE +dk_MMCCCH-2 (K)	1302
35	1308	1320	904.9471	1807.8797	1807.8749	2.66	G	0	21	0.0082	RIAKPHGKFGCE +dk_MMCCCH-2 (K)	1311
36	1308	1320	659.6324	1807.8755	1807.8749	0.93	G	0	26	0.0026	RUAKPHGKFGCE +dk_MMCCCH-2 (K)	1315
37	1952	1967	792.6802	2375.0187	2375.0205	-0.76	G	3	34	0.00037	FSRPEDTFVHRFVEYE +dk_MMCCCH-2 (K)	1954
38	1973	1990	811.7293	2492.1540	2492.1505	1.46	G	0	14	0.041	FVGLSVSVSLRHKDQDE +dk_MMCCCH-2 (K)	1986
39	2471	2484	990.9680	1979.9215	1979.9217	-0.61	G	3	22	0.0069	DVEDTDAFFERKE +dk_MMCCCH-2 (K)	2482
40	3306	3405	650.2167	2629.2377	2629.2271	4.09	G	2	31	0.00087	IDRAVSRDRGHYRAGPTKD +dk_MMCCCH-2 (K)	3404
41	153	165	629.9907	1886.9742	1886.9673	3.66	C	1	15	0.031	RNKTSBAVDDBLF +dk_MMCCCH-2 (K)	154

Figura 2.3 continuación

42	277	296	593.7534	7648.2384	2648.2329	2.08	C	4	41	8.10E-05	DJREHAKPADSFOYGRUY +dk_MMACH-2 (K)	264
43	364	373	735.3509	1468.7083	1468.7094	-2.95	C	2	39	0.0012	LLGGFTENKVN +dk_MMACH-2 (K)	372
44	432	443	793.9158	1585.9171	1585.8174	-0.19	C	0	16	0.027	DKFFVVAQAVL +dk_MMACH-2 (K)	403
45	629	635	545.2513	1076.4881	1076.4846	3.07	C	0	16	0.024	VGSXRY +dk_MMACH-2 (K)	634
46	1075	1080	544.7770	1087.5594	1087.5372	2.02	C	1	39	0.017	OALQNY +dk_MMACH-2 (K)	1079
47	1312	1320	875.0959	2622.3389	2622.2424	-1.33	C	4	17	0.02	KYFHOUHLDHYGDRF +dk_MMACH-2 (K)	1312
48	1298	1312	824.0828	2468.2766	2469.2324	-2.31	C	2	19	0.012	LOQKEGVENIAF +2 dk_MMACH-2 (N)	1302, 1311
49	1298	1312	711.3735	2131.0999	2131.1023	-1.17	C	2	36	0.0025	LOKREGVERIAF +dk_MMACH-2 (K)	1311
50	1526	1556	851.3828	1700.7511	1700.7505	0.85	C	1	19	0.014	KRNLFDSDSFOY +dk_MMACH-2 (K)	1526
51	1589	1606	784.3549	2350.0429	2350.0392	1.53	C	0	23	0.0054	CVFQREQNECKAGSF +dk_MMACH-2 (K)	1602
52	1696	1702	607.3007	1212.5868	1212.5849	1.57	C	3	23	0.0045	ITLEJNF +dk_MMACH-2 (K)	1700
53	1708	1719	839.8433	1677.6720	1677.6651	4.11	C	0	28	0.0015	KNMADDDSPGY +dk_MMACH-2 (K)	1708
54	1801	1809	705.8373	1411.6601	1411.6595	0.50	C	0	19	0.012	SHKTFPRPF +dk_MMACH-2 (K)	1809
55	1995	1995	856.4278	1698.8410	1698.8299	0.65	C	0	32	0.00462	KCGQEAURVF +dk_MMACH-2 (K)	1995
56	2001	2011	736.6445	1451.6744	1451.6755	-0.76	C	1	22	0.0059	AGFGQASVSF +dk_MMACH-2 (N)	2001
57	2424	2438	1032.4364	2062.8582	2062.8621	-1.84	C	0	20	0.011	HCTADDCASGMF +dk_MMACH-2 (K)	2426
58	2455	2462	645.3275	1286.6401	1286.6373	2.17	C	1	19	0.013	KYDTCAL +dk_MMACH-2 (K)	2455
59	2463	2479	752.3495	2254.0277	2254.0259	1.11	C	1	18	0.016	KAOHPEDVFDGAF +dk_MMACH-2 (K)	2463
60	2506	2512	761.6044	3042.3384	3042.3739	4.80	C	0	19	0.012	3AGEHTDGHGADHAGSGNRKWTSL +dk_MMACH-2 (K)	2527
61	2754	2760	598.5299	1194.6452	1194.6471	-1.51	C	1	18	0.017	KOPLKFF +dk_MMACH-2 (K)	2754
62	2754	2760	598.3325	1194.6504	1194.6471	2.76	C	1	23	0.0046	KSPKPF +dk_MMACH-2 (K)	2758
63	2865	2872	673.3627	1344.7109	1344.7112	-0.15	C	1	18	0.032	KYDTCAL +dk_MMACH-2 (K)	2870
64	3235	3242	617.9137	1231.6129	1231.6111	1.46	C	0	22	0.0057	TSANVKY +dk_MMACH-2 (N)	3240

Figura 2.3 continuación

65	3399	3406	576.8025	1151.5904	1151.5896	0.629	C	0	24	0.0026	3AGFTKOL +6K_MMCCCH-2 (K)	3404
66	181	191	655.3784	1704.7363	1704.7375	-0.70	Th	3	58	1.506-06	LDALQDFEFCX +6K_MMCCCH-2 (K)	191
67	247	260	621.6194	1891.8363	1891.8366	3.67	Th	2	18	0.016	LRKDPASRDCARH +6K_MMCCCH-2 (K)	259
68	283	293	782.8565	1563.6985	1563.7028	-2.75	Th	3	31	0.00976	AMPADDFDYGR +6K_MMCCCH-2 (K)	284
69	365	374	715.8289	1428.6421	1428.6418	0.21	Th	2	41	7.20E-05	LGPTMFRWQ +6K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	372
70	431	437	569.3661	1136.5576	1136.5576	0.00	Th	1	13	0.047	5DRPFP +6K_MMCCCH-2 (K)	433
71	467	472	538.7416	1075.4687	1075.4644	4.09	Th	0	13	0.045	FQNEWS +6K_MMCCCH-2 (K)	471
72	529	636	582.7663	1164.5180	1163.5169	1.05	Th	1	24	0.0097	YGGSEKYS +6K_MMCCCH-2 (K)	634
73	893	904	904.8962	1807.7779	1807.7696	4.48	Th	1	18	0.019	PHGEFKWQSPX +6K_MMCCCH-2 (K)	898
74	1414	1419	564.7561	1127.6976	1127.6957	1.69	Th	1	21	0.0075	LAWDKD +6K_MMCCCH-2 (K)	1418
75	1525	1539	738.3647	2212.0424	2212.0971	2.40	Th	3	43	5.16E-05	LKHPLPDSFYQNR +6K_MMCCCH-2 (K)	1526
76	1989	1605	735.3312	2202.9719	2202.9738	0.50	Th	2	29	0.0012	NOVQSSGONCKKAGS +6K_MMCCCH-2 (K)	1609
77	1589	1605	745.3312	2202.5717	2202.8708	0.41	Th	2	34	0.0004	LOVEDISGEQNEFKAGS +6K_MMCCCH-2 (K)	1602
78	1800	1809	780.3710	1558.7274	1558.7279	-0.32	Th	2	28	0.0017	FSHKTEPFPF +6K_MMCCCH-2 (K)	1803
79	1952	1963	627.2840	1878.8302	1878.8247	2.93	Th	2	51	7.96E-06	PSKPEFTDHR +6K_MMCCCH-2 (K)	1954
80	1985	1994	776.8959	1551.7772	1551.7715	3.57	Th	2	23	0.0045	KDQDEADRV +6K_MMCCCH-2 (K)	1986
81	2193	2199	667.3011	1322.5876	1332.5849	2.03	Th	2	27	0.0019	YVDFWTRP +6K_MMCCCH-2 (K)	2199
82	2200	2206	562.3088	1122.6091	1122.5995	3.30	Th	2	22	0.0061	SKLPL +6K_MMCCCH-2 (K)	2202
83	2225	2226	462.2109	922.4251	922.4259	-0.76	Th	2	17	0.021	PAKGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2227
84	2459	2463	509.2524	1016.4509	1016.4460	4.33	Th	1	15	0.034	STERH +6K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	2461
85	2951	2950	720.8391	1439.6635	1439.6602	2.29	Th	3	45	2.30E-05	LDANLKNIA +6K_MMCCCH-2 (K)	2948
86	3009	3015	573.2759	1144.5372	1144.5355	3.25	Th	0	15	0.033	LKEGSH +6K_MMCCCH-2 (K)	3010
87	3020	3026	662.2905	1322.5664	1322.5642	1.66	Th	2	20	0.0092	YVDFWTRK +6K_MMCCCH-2 (K)	3025

Figura 23 continuación

53	3399	5405	5702601	1038.5057	1038.5056	0.10	Th	1	20	0.811	HAQPTKQ +2K_MMSQ+2(K)	3404
----	------	------	---------	-----------	-----------	------	----	---	----	-------	-----------------------	------

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 24

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	ppm	Enzima	M/C	Puntos	Valor E	Peptido	Sitio_mod
1	124	141	589.3095	3353.2089	2313.2201	3.74	T	1	37	0.00619	GFTDPPVKKHQSAMLVK +K_MIMCCH-2 (K)	131
2	142	149	655.3412	1310.6678	1310.6653	1.98	T	1	35	0.00029	KWINDIK +K_MIMCCH-2 (K)	142
3	157	166	832.8796	1643.7446	1643.7402	2.58	F	1	18	0.015	EATKFOEDR +K_MIMCCH-2 (K)	161
4	184	192	716.8427	1451.6707	1451.6649	4.00	T	1	22	0.0063	CFRFDANDR +K_MIMCCH-2 (K)	150
5	377	402	833.4029	3329.5825	3329.5784	1.23	T	0	26	0.0016	AHCAELHVAHLFFAFSPINNEK +K_MIMCCH-2 (K)	389
6	460	477	781.3949	3341.1624	2341.1624	0.21	T	1	32	0.0068	TSARVDYFKITDSSVQK +K_MIMCCH-2 (K)	469
7	470	489	748.0465	2241.1177	2241.1100	3.44	T	1	43	5.20E-05	TTDSSVQHKAGTFAMVGSK +K_MIMCCH-2 (K)	477
8	553	560	663.8680	1325.7214	1325.7166	3.62	T	2	21	0.0073	VYFDKPR +K_MIMCCH-2 (K)	554
9	566	570	485.2459	968.4767	968.4749	1.86	T	1	17	0.033	KAVGR +K_MIMCCH-2 (K)	566
10	581	587	547.8373	1093.6601	1093.6569	2.93	T	1	22	0.006	KALAIK +K_MIMCCH-2 (K)	581
11	588	606	781.0351	2340.0835	2340.0845	-0.43	T	1	30	0.001	EDKSAAGGFOELGAFHGEK +K_MIMCCH-2 (K)	590
12	591	615	753.8043	3010.3581	3010.3742	4.62	T	1	19	0.012	SAGGFQKGFHGERWCPSEAK +K_MIMCCH-2 (K)	608
13	645	661	1158.5398	4630.1801	4630.1883	5.12	T	1	27	0.0018	HGYDQALPYWDNTSPRHPRLAIDHRYVDFEDGK +K_MIMCCH-2 (K)	671
14	662	669	630.2947	2477.1495	2477.1434	2.50	T	1	21	0.0032	MNPFDEHDTVDITR +K_MIMCCH-2 (K)	695
15	700	719	887.7702	2660.2868	2660.2945	2.14	T	1	39	0.00013	SVQKLFQDFEYFHTSINK +K_MIMCCH-2 (K)	704
16	790	804	669.3174	2004.3305	2004.3220	4.24	T	0	38	0.00017	GNPTVAVAVTSNR +K_MIMCCH-2 (K)	791
17	958	863	520.2923	1038.5840	1038.5783	5.39	T	1	23	0.0051	KELAIK +K_MIMCCH-2 (K)	858
18	953	965	615.3319	1302.9737	1302.9662	3.94	T	1	53	4.80E-06	DLEKQPSVIEPR +K_MIMCCH-2 (K)	956

Figura 24 continuación

19	986	1020	1027.0366	3052.0587	2052.0591	1.27	T	1	75	2.90E-08	KWHEHLSLELESB +dk_MMCCCH-2 (K)	5886
20	1048	1060	609.3551	1825.0425	1825.0423	0.69	T	1	44	9.80E-05	IYVVVEMALKK +dk_MMCCCH-2 (K)	1080
21	1092	1114	791.8734	3163.4645	3163.4682	-1.17	T	1	28	0.0018	QHHYEPFPHGKITHENEFTTR +dk_MMCCCH-2 (N)	1104
22	1199	1203	353.1914	1036.5522	1036.5536	-1.51	T	1	17	0.018	KRPYR +dk_MMCCCH-2 (K)	1189
23	1331	1338	620.5551	1239.6956	1239.6934	0.97	T	1	17	0.018	LDTRKALK +dk_MMCCCH-2 (K)	1335
24	1395	1402	649.8379	1297.6612	1297.6598	1.85	T	1	26	0.0022	KDRHLDK +dk_MMCCCH-2 (K)	1395
25	1395	1403	485.5653	1453.7639	1453.7599	2.75	T	2	16	0.035	KDQQLDNR +dk_MMCCCH-2 (K)	1402
26	1417	1445	844.1611	3371.6154	3371.6029	4.00	T	1	19	0.013	ADPSEDFQAHASHALPELCPFAASKR +dk_MMCCCH-2 (K)	1444
27	1473	1489	776.4021	2332.1845	2332.1827	0.77	T	1	47	1.90E-05	KHCAVVGLPYVQVTLPR +dk_MMCCCH-2 (N)	1473
28	1721	1746	1092.8043	3275.3931	3275.3886	0.76	T	1	14	0.044	TAGDEEDAGFTVIGSEKEMPPNPNDR +dk_MMCCCH-2 (K), Oxidación (M)	1738
29	1890	1922	879.8327	4394.1271	4394.1048	5.07	T	1	16	0.024	HGSSVAVPYWDVTPHHPHILFTRDYDQVWR +dk_MMCCCH-2 (K)	1915
30	1923	1932	758.3803	1510.7461	1510.7425	2.38	T	1	26	0.0028	WRARPPAFAR +dk_MMCCCH-2 (K)	1924
31	2067	2076	746.8841	1491.7596	1491.7544	-0.54	T	1	28	0.0014	KHAVPRDVPK +dk_MMCCCH-2 (N)	2067
32	2121	2143	890.4184	3557.6444	3557.6379	1.86	T	1	29	0.0013	TSADVQDFQDFSEDFCHGEGQVUGGTR +dk_MMCCCH-2 (K)	2133
33	2359	2367	736.6409	1471.6672	1471.6653	1.29	T	1	15	0.032	DKLFRDPER + Desamidado (ND); dk_MMCCCH-2 (K)	2366
34	2461	2490	647.6212	3850.8834	3850.8638	5.09	T	0	17	0.02	HPLEFSDPHHKAFTHSNAKPTDVFYER +dk_MMCCCH-2 (K)	2481
35	2507	2514	682.3522	1362.6896	1362.6839	3.30	T	1	40	9.90E-05	KLEHELEK +dk_MMCCCH-2 (K)	2507
36	2515	2520	571.7623	1141.5100	1141.5074	2.26	T	1	19	0.018	QKREEDR +dk_MMCCCH-2 (K)	2516
37	2595	2609	983.5305	1965.0465	1965.0403	3.42	T	1	20	0.01	HDTGKQLPDLAR +dk_MMCCCH-2 (K)	2601
38	2621	2646	802.7097	2405.1044	2405.1083	-1.62	T	1	48	1.50E-05	HREKHHEHHEHHEHLEVR +dk_MMCCCH-2 (K)	2624
39	2637	2651	1069.5508	2137.0470	2137.0374	4.45	T	1	64	8.10E-07	KMHLSNHFQAEUL +dk_MMCCCH-2 (K)	2637
40	2652	2682	975.1997	3896.7695	3896.7503	3.39	T	1	19	0.012	DALYKIONDESHGGEHAGFHGYPLOPEK +dk_MMCCCH-2 (K)	2656
41	2657	2696	994.9150	3785.6311	3785.6358	-1.28	T	1	22	0.0068	LONDLSHGGYEHHAGFHGYPNLCPEKGBEK +dk_MMCCCH-2 (K)	2682

Figura 24 continuación

42	2657	2886	1246.2205	3735.6395	3735.6338	0.99	T	1	24	0.0036	LDNDSEHGEGYHAGHGYKLECPKEK +dk_MMCC-2 (K)	2886
43	2714	2748	1087.7703	4347.0519	4347.0524	-0.12	T	1	32	0.0056	KHGSHGFWYWDVYTOISSPTFADSGNRRFFK +dk_MMCC-2 (K)	2714
44	2851	2883	1059.7175	4032.9410	4032.9346	1.59	T	0	60	1.16E-06	VKPAHAGSAGBMMKRVLPHPAYESYNBODTR +dk_MMCC-2 (K)	2851
45	2997	2919	800.1419	3196.5385	3196.5287	3.07	T	1	56	2.30E-07	FAVRYDNLHGHHEEEVER +dk_MMCC-2 (K)	2900
46	2938	2947	730.9152	1458.8158	1458.8139	0.07	T	1	95	0.00238	TTAVVYK +dk_MMCC-2 (K)	2943
47	3003	3021	825.7698	2474.2877	2474.2879	-0.08	T	1	52	7.09E-07	KVDFTELDASVLPAPVR +dk_MMCC-2 (K)	3003
48	3022	3044	966.5270	2896.5593	2896.5511	2.49	T	1	15	0.03	RPNNAVDFHPIKQVNLPPR +dk_MMCC-2 (K)	3037
49	123	151	616.6582	3693.9058	3693.9049	0.24	G	2	27	0.0018	KGFTDPRVNHOSAKLVRNNDLREE +dk_MMCC-2 (K)	123
50	123	151	739.7917	3693.9271	3693.9649	4.63	G	2	22	0.006	KGFTDPRVYKHOSAKLVRNNDLREE +dk_MMCC-2 (K)	131
51	158	176	886.3843	2536.1510	2536.1329	-0.75	G	3	29	0.011	AFHKFQDSYDGYATAE +dk_MMCC-2 (K)	161
52	526	544	777.7485	2330.2236	2330.2204	2.92	G	1	22	0.0069	VDSTRASSLPHPSVRE +dk_MMCC-2 (K)	530
53	589	612	1192.8267	3305.4582	3305.4621	-1.18	G	1	15	0.029	DKSAGGFCQI GAHGFPRVCPSPPE +2 dk_MMCC-2 (K)	590, 606
54	825	641	620.3707	2458.0902	2458.0940	-1.55	G	1	24	0.004	HSVFFNFDYKTNVE +dk_MMCC-2 (K)	835
55	847	669	644.0853	1928.9941	1928.9917	1.24	G	0	17	0.019	FNGLSISOLAKLE +Desamidado (NQ); dk_MMCC-2 (K)	859
56	942	972	764.6007	3817.8672	3817.8674	1.52	G	3	17	0.021	VFDLKPASLQKDFKQPSVHEPHGHHEE +dk_MMCC-2 (K)	946
57	942	970	908.9828	3631.9022	3631.8973	1.35	G	2	25	0.009	VFDLKPASLQKDFKQPSVHEPHGHHEE +dk_MMCC-2 (K)	956
58	1357	1413	774.8563	2520.2872	2520.2824	2.07	G	1	16	0.024	ITQLDXROQLSVKALE +dk_MMCC-2 (K)	1410
59	1495	1522	866.6916	2482.7473	2482.7381	-0.26	G	3	16	0.023	LLVYSTHDPETGRDIPHPFGSKIEE +dk_MMCC-2 (K)	1518
60	1755	1785	570.6053	1708.7940	1708.7913	1.64	G	2	18	0.016	TLDXMRHHEE +dk_MMCC-2 (K)	1758
61	2099	2100	654.4076	1706.8006	1706.8003	-0.06	G	2	21	0.0077	HGSMRHEE +dk_MMCC-2 (K)	2099
62	2647	2661	715.6776	2144.8108	2144.8265	0.61	G	4	23	0.0019	AEELADALYKQHEE +dk_MMCC-2 (K)	2656
63	3009	3097	632.8022	1263.5896	1263.5879	1.50	G	0	14	0.04	LGRMWSVE +dk_MMCC-2 (K)	3092
64	59	68	729.3446	1056.6750	1056.6731	1.87	C	1	19	0.012	VLGGPSEMKW +dk_MMCC-2 (K), Oxidación (64)	67

Figura 24 continuación

65	94	100	573.2989	1144.5833	1144.5838	-0.44	C	1	23	0.0048	TVKAELEF +dK_MMCCCH-2 (K)	96
66	140	159	692.6202	2766.8519	2766.4486	1.16	C	3	28	0.0018	VRRRINDITREEVNIRGAF +dK_MMCCCH-2 (K)	143
67	180	171	606.9435	1817.8086	1817.9043	2.37	C	1	19	0.012	HWQEDRSVDGY +dK_MMCCCH-2 (K)	161
68	429	450	990.9075	2969.4007	2969.3099	3.64	C	1	36	0.00024	GGSLSENEKKAHHRQQRERY +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	438
69	584	595	787.4017	1572.7888	1572.7658	1.91	C	2	42	6.40E-05	ALLKEDXSASGF +dK_MMCCCH-2 (K)	580
70	715	723	656.8735	1309.7325	1309.7316	0.76	C	1	26	0.0023	TSIAKQVLL +dK_MMCCCH-2 (K)	719
71	783	788	544.7770	1097.3305	1067.5372	2.11	C	1	26	0.0024	QALQRY +dK_MMCCCH-2 (K)	787
72	944	955	821.4324	1640.8903	1640.8494	1.16	C	3	25	0.0034	DKFPASIGKDLF +dK_MMCCCH-2 (K)	946
73	1013	1019	516.7581	1031.5017	1031.4998	1.84	C	0	13	0.049	ESIAKF +dK_MMCCCH-2 (K)	1017
74	1330	1337	630.3546	1238.5947	1238.6984	0.16	C	1	21	0.0089	KDITRAL +dK_MMCCCH-2 (K)	1335
75	1580	1586	544.2614	1086.5093	1066.5056	2.49	C	0	13	0.049	VGSKPEPY +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
76	1649	1664	1127.9930	2253.9654	2253.9637	0.75	C	2	18	0.014	NLNDHTHDFEKPEDTF +dK_MMCCCH-2 (K)	1659
77	1689	1689	929.4319	2885.2738	2925.2759	-0.72	C	4	24	0.0036	NLNDHTHDSSEPEDFDYGNF +dK_MMCCCH-2 (K)	1688
78	1732	1742	792.8744	1583.7342	1583.7364	-1.39	C	1	17	0.02	TVLGEREMPAW +dK_MMCCCH-2 (K)	1739
79	1818	1827	763.3699	1584.7253	1504.7282	1.40	C	1	18	0.018	SERDFGSLRY +dK_MMCCCH-2 (K)	1826
80	2076	2082	612.5045	1222.5944	1222.5944	0.08	C	3	14	0.037	KVELLGY +dK_MMCCCH-2 (K)	2076
81	2160	2184	1095.5149	3259.5210	3253.5179	0.95	C	3	21	0.0089	KYDTHALHDAHTFEDYHPSSEFF +dK_MMCCCH-2 (K)	2160
82	2476	2488	923.9310	1645.8298	1845.8244	2.71	C	1	25	0.0029	THSNAKPFDVFEY +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
83	2656	2672	747.3478	2239.0067	2239.0004	7.81	C	2	30	0.00098	KIQNDESHGGYEHAGF +dK_MMCCCH-2 (K)	2656
84	2739	2749	856.3768	1710.7390	1710.7448	2.46	C	2	24	0.004	AQSSGNRPFFRY +dK_MMCCCH-2 (K)	2748
85	2946	2960	965.4055	1928.7964	1928.7986	-1.14	C	1	40	9.18E-05	KKSGTDSDFRYAGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	2947
86	2961	2971	769.8918	1537.7691	1537.7673	1.24	C	1	21	0.0078	VPLGAKEMPAW +dK_MMCCCH-2 (K)	2967
87	1	9	733.3348	1464.8550	1464.8516	7.32	Th	2	17	0.021	MTPEELKTY +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	7

Figura 24 continuación

88	24	56	561.6805	2582.0198	3.49	Th	2	15	0.033	VCPDDKRDNDHCEKAGD +dK_MMCCCH-2 (K)	53
89	58	69	788.3774	1568.7402	2.23	Th	3	61	7.10E-07	VLGPFSEANVQ +dK_MMCCCH-2 (K)	67
90	78	84	569.2872	1136.5599	5.54	Th	1	49	1.10E-05	LSDTWIK +dK_MMCCCH-2 (K)	84
91	116	124	670.3481	1336.6819	4.78	Th	2	27	0.002	VVWHHPENG +dK_MMCCCH-2 (K)	123
92	125	135	815.8878	1629.7611	0.06	Th	1	14	0.044	FTDPPVHRHGS +dK_MMCCCH-2 (K)	131
93	431	439	707.8528	1413.6461	1.98	Th	3	39	0.00013	ISLENEK(M) +dK_MMCCCH-2 (K)	438
94	521	530	707.8450	1413.6754	3.96	Th	2	74	4.30E-08	VDHEVDSIK +dK_MMCCCH-2 (K)	530
95	585	591	585.8101	1163.9357	4.70	Th	1	35	0.00034	LUMEDKS +dK_MMCCCH-2 (K)	590
96	601	612	904.9956	1807.7767	3.82	Th	1	25	0.0095	RHSEPKWCPSE +dK_MMCCCH-2 (K)	606
97	666	672	607.2932	1212.5519	2.80	Th	2	23	0.0046	LADHERY +dK_MMCCCH-2 (K)	671
98	821	928	617.8120	1233.6095	2.51	Th	1	19	0.012	VTKHNSVH +dK_MMCCCH-2 (K)	823
99	831	837	612.7877	1223.5606	6.19	Th	2	25	0.003	VFDYKTN +dK_MMCCCH-2 (K)	835
100	1064	1074	566.9628	1757.8668	3.05	Th	5	15	0.021	VAVFYVDWTKR +dK_MMCCCH-2 (K)	1073
101	1156	1164	630.6397	1259.6548	5.08	Th	2	22	0.0058	LSGGAGYS +dK_MMCCCH-2 (K)	1162
102	1219	1232	980.4239	1958.8332	0.82	Th	1	53	4.70E-06	PKSDNMDGATKH +dK_MMCCCH-2 (K)	1230
103	1579	1587	665.8146	1329.6146	6.17	Th	2	19	0.012	WVGEKEPFG +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
104	1657	1668	921.9210	1841.8275	5.05	Th	2	42	6.10E-05	FSKPEDFDYOK +dK_MMCCCH-2 (K)	1659
105	1657	1658	921.9207	1841.8269	4.72	Th	2	50	9.90E-06	FSKPEDFDYOK +dK_MMCCCH-2 (K)	1668
106	1733	1741	664.3254	1326.6362	3.77	Th	2	17	0.022	VLGGEKMP +dK_MMCCCH-1 (K); Oxidación (M)	1733
107	1756	1760	479.7249	957.4853	5.64	Th	1	13	0.049	LORNN +dK_MMCCCH-2 (K)	1756
108	1894	1904	650.4139	1698.8131	0.88	Th	5	29	0.0015	VAVPYVDWTKP +dK_MMCCCH-2 (K)	1903
109	2094	2100	618.3031	1234.5916	1.05	Th	1	26	0.0024	LJHEHE +dK_MMCCCH-2 (K)	2099
110	2129	2141	933.9805	1865.7465	-1.61	Th	0	27	0.0019	ICRTSECHHGGO +dK_MMCCCH-2 (K)	2131

Figura 24 continuación

111	2238	2249	834.3991	1626.7837	1626.7811	1.60	Th	4	49	1.30E-05	HTTAEVDNEKDA+K_MMCCCH-2 (K)	2247
112	2475	2484	728.3341	1464.6535	1454.6500	2.41	Th	1	27	0.002	PTHSNKAPTQ+K_MMCCCH-2 (K)	2481
113	2512	2521	536.5510	1612.7810	1612.7766	2.73	Th	0	33	0.00055	LERKREEDRT+K_MMCCCH-2 (K)	2514
114	2555	2607	952.9463	1723.8780	1723.9703	4.52	Th	5	30	0.0011	HCTEKKOIP3DL+K_MMCCCH-2 (K)	2601
115	2667	2612	520.7814	1030.5423	1030.5446	3.56	Th	2	23	0.0056	LRKAPT+K_MMCCCH-2 (K)	2669
116	2766	2771	551.7883	1101.5521	1101.5529	8.35	Th	1	24	0.0041	HFOQTK+K_MMCCCH-2 (K)	2771
117	2908	2816	636.3212	1274.6270	1274.6217	4.94	Th	3	27	0.0019	ILGGAENYS+K_MMCCCH-2 (K)	2814
118	2946	2960	965.4112	1928.8078	1928.7986	4.77	Th	3	54	3.30E-06	IKSGTSDDEYAGSF+K_MMCCCH-2 (K)	2947
119	2951	2970	591.8044	1361.7142	1361.7038	3.18	Th	4	19	0.011	WILGGAEMF+K_MMCCCH-1 (K); Oxidación (M)	2967
120	2990	2996	583.2855	1168.5965	1168.5495	6.97	Th	1	38	0.00015	KUDDHVK+K_MMCCCH-2 (K)	2996

Figura 24 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mz(calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	76	41	1043.0231	2084.0346	2084.0347	-1.49	F	1	50	1.10E-05	KAVDSSSEVLALEX +4K_MMCCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.3697	1386.7249	1386.7247	2.31	F	1	47	2.20E-05	ADTFENK +4K_MMCCCH-2 (K)	155
3	164	175	595.3073	1785.9801	1785.9895	0.50	F	1	36	0.00325	LFEKVGPGHFR +4K_MMCCCH-2 (K)	167
4	249	371	740.6343	2959.3081	2959.3051	0.86	F	1	25	0.0035	GKDPMSRDCARHREHPRMEFFDR +4K_MMCCCH-2 (K)	250
5	261	293	610.9426	1829.8061	1829.8043	0.98	F	0	50	1.09E-05	EPANPAVSEFDYGR +4K_MMCCCH-2 (K)	284
6	359	372	844.0674	2529.1803	2529.1861	-2.29	F	1	17	0.02	AGDFHGGPTENKAWGFR +4K_MMCCCH-2 (K)	372
7	419	446	677.3699	3381.8133	3381.8132	0.03	F	1	55	2.50E-05	QFTLVHRPAKSHFKPPVPAQANLAVR +Desamidado (NC), 4K_MMCCCH-2 (K)	428
8	429	445	752.0684	2253.1833	2253.1739	4.62	F	0	55	2.50E-05	GHEDPPVPAQANLAVR +4K_MMCCCH-2 (K)	433
9	467	488	944.4542	2830.3405	2830.3385	0.55	F	1	66	2.80E-07	PQNDKSYDEYELATVETHALPAR +4K_MMCCCH-2 (K)	471
10	489	497	726.8417	1451.6707	1451.6649	4.00	F	1	22	0.0062	CPREDAQR +4K_MMCCCH-2 (K)	485
11	936	950	730.3431	2138.0674	2138.0655	-0.97	F	1	28	0.0016	KHGFEGPLPWYR +4K_MMCCCH-2 (K)	936
12	1082	1096	996.4633	3980.9120	3980.9063	2.86	F	0	22	0.0065	SKPPTANCAASAR +4K_MMCCCH-2 (K)	1083
13	1097	1115	827.0760	2478.3051	2478.2101	-1.57	F	0	76	1.60E-08	KPLGPFGLSVRPDETR +4K_MMCCCH-2 (K)	1097
14	1123	1149	1190.5605	3565.6596	3565.6497	2.96	F	1	75	3.00E-08	VFTYRNFDFEYCSLAFNGLSIAQLDR +4K_MMCCCH-2 (K)	1127
15	1295	1311	766.0679	2289.1818	2289.1715	4.50	F	1	17	0.018	SAFLQIKESIVENAK +4K_MMCCCH-2 (K)	1302
16	1355	1385	1271.2678	3810.7816	3810.7878	-1.55	F	1	52	6.40E-06	GSVAVPYWDWTERADSLFSLINDATYNSR +4K_MMCCCH-2 (K)	1368
17	1409	1450	1037.7150	5483.5388	5483.5213	3.10	F	1	18	0.016	DPQFELWNNKTYENVYVALIEDNYLDFEUELHNAHPSR +4K_MMCCCH-2 (K)	1418
18	1455	1480	858.6864	3350.6045	3350.6070	0.78	F	1	56	2.76E-06	KRYSLSLDYAFQPFVFLHANYDR +4K_MMCCCH-2 (K)	1455

Figura 24 continuación

19	1493	1507	721.6590	2161.9552	2181.9594	-1.99	T	1	50	1.09E-05	KKPYNEADCAVNEMR +dK_MMCCCH-2 (K)	1494
20	1509	1519	1031.2455	4124.9529	4124.9560	4.07	T	1	28	0.0014	KFLQPPNPFELNSDNLKHNLPQDSFYQNR +dK_MMCCCH-2 (K)	1516
21	1542	1564	1070.1910	3207.5515	3307.5448	2.03	T	1	47	1.89E-05	VQDNLDGPHFSIQLEQIQAR +dK_MMCCCH-2 (K)	1556
22	1757	1768	612.9789	1835.9148	1835.9128	1.09	T	1	22	0.0057	LYTVQFEDSLR +dK_MMCCCH-2 (K)	1787
23	1940	1963	568.2522	2236.9797	2236.9735	2.77	T	0	57	2.09E-06	TOEFSZPEDFEYHR +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
24	2045	2052	660.3506	1318.6867	1318.6843	1.90	T	1	15	0.035	YDTRFLK +dK_MMCCCH-2 (K)	2052
25	2058	2069	909.4624	1916.9182	1916.9070	1.82	T	1	24	0.0043	YDDTFTRVHK +dK_MMCCCH-2 (K)	2065
26	2229	2239	870.4213	1738.8280	1738.8236	2.53	T	1	16	0.032	SVKSEDAITVE +dK_MMCCCH-2 (K)	2231
27	2527	2541	1097.5135	2013.0124	2013.0088	1.79	T	1	50	9.09E-06	KDVTSLTASEE +dK_MMCCCH-2 (K)	2527
28	2755	2764	764.3831	1526.7517	1526.7439	5.11	T	0	19	0.013	QPKRFTSESR + Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	2758
29	2866	2875	659.5611	1316.7076	1316.7050	1.37	T	1	33	0.05	YDTRVVK +dK_MMCCCH-2 (K)	2870
30	3148	3155	626.6955	1256.6565	1256.6587	-1.79	T	1	16	0.016	KSPYNAAK +dK_MMCCCH-2 (K)	3149
31	435	456	976.8550	2924.5552	2924.5429	4.21	G	2	27	0.0019	KPPVPAQANLAVRNRNRDITAE +dK_MMCCCH-2 (K)	439
32	466	481	1098.4969	2198.9781	2198.9841	-2.75	G	2	31	0.0062	RFLNDAVSDGTEATVE + Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	471
33	1215	1235	721.6665	2882.3959	2882.3949	0.85	G	3	28	0.0016	FDGLHDLNHYEDNFFIYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1233
34	1292	1303	879.4652	1756.9159	1756.9192	-3.31	G	0	42	0.89E-05	SRSAPLQKE +dK_MMCCCH-2 (K)	1302
35	1508	1520	603.6326	1907.8761	1807.8749	0.61	G	0	20	0.01	MAKRFKPGICE +dK_MMCCCH-2 (K)	1515
36	1403	1422	921.4208	2761.7407	2761.2340	2.79	G	3	15	0.03	NAVTSKDFQFELWEMKDFE +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
37	1962	1967	792.6837	3375.0243	2375.0205	3.71	G	3	19	0.014	FSKPEDFEYRRGYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
38	2477	2484	644.8373	1287.6600	1287.6573	2.30	G	0	22	0.0068	APFHKVE +dK_MMCCCH-2 (K)	2482
39	3386	3405	877.4165	2629.2277	2629.2271	0.23	G	2	21	0.0573	LDRHYSLRGCHYTAEPKD +dK_MMCCCH-2 (K)	3404
40	39	55	1181.0392	2360.0636	2350.0478	6.78	C	3	14	0.036	ALEKALDLOQDSNQGY +dK_MMCCCH-2 (K)	41
41	277	296	982.7539	2649.2359	2646.2329	2.64	C	4	30	0.00014	DUTREKAPADSPYGRIGY +dK_MMCCCH-2 (K)	284

Figura 24 continuación

42	364	373	735.3539	1468.7066	1468.7094	-1.91	C	2	22	0.0067	ILSGPTMRW +K_MMCC-2 (K)	372
43	432	442	792.9159	1595.8173	1565.8174	-0.06	C	0	26	0.0028	DRPPVPADAML +K_MMCC-2 (K)	433
44	629	635	539.3532	1076.6910	1076.6848	6.60	C	0	30	0.0066	VGSSEKY +K_MMCC-2 (K)	634
45	3007	3015	669.8709	1337.7271	1337.7265	0.52	C	1	16	0.0035	TDRAKWL +K_MMCC-2 (K)	3011
46	3075	3080	544.7770	1087.5395	1087.5372	2.11	C	1	26	0.0024	QALQRY +K_MMCC-2 (K)	3079
47	1125	1134	854.9459	1707.6772	1707.6763	0.59	C	3	33	0.0062	DYRNFDYFY +K_MMCC-2 (K)	1127
48	1162	1177	690.0399	2067.0979	2067.0866	5.61	C	4	38	0.015	AGFLREGSALVRF +K_MMCC-2 (K)	1176
49	1296	1306	715.3727	1428.7809	1428.7335	-0.51	C	1	20	0.03	QJQKESY +K_MMCC-2 (K)	1302
50	1256	1312	824.0860	2469.2422	2469.2324	3.97	C	2	13	0.047	LOKKEGVENIAKF +2_K_MMCC-2 (K)	1302, 1311
51	1416	1426	863.3786	1724.7426	1724.7426	0.06	C	2	27	0.0022	DNKDFYVYML +K_MMCC-2 (K)	1418
52	1526	1540	749.6939	2246.0299	2246.0215	3.74	C	2	47	1.88E-05	RHMLPDSFYQRF +K_MMCC-2 (K)	1526
53	1589	1606	784.8566	2350.0479	2350.0302	3.70	C	0	31	0.0076	IOVEQEGEONLKTNGSF +K_MMCC-2 (K)	1600
54	1569	1606	794.3541	2350.0404	2350.0392	0.51	C	0	30	0.0001	IOVEGSGEQECKTAGSF +K_MMCC-2 (K)	1602
55	1696	1702	607.1995	1212.5844	1212.5849	-0.41	C	1	27	0.002	ITLEKRF +K_MMCC-2 (K)	1700
56	1708	1719	838.9421	1677.6996	1677.6691	2.74	C	0	38	0.00017	KHMCADPFDGY +K_MMCC-2 (K)	1708
57	1901	1809	700.0386	1411.6527	1411.6595	2.27	C	0	24	0.0044	5FKTPNPF +K_MMCC-2 (K)	1803
58	1985	1995	850.4511	1698.8476	1698.8359	4.53	C	0	39	0.00012	IKQRGEADRVF +K_MMCC-2 (K)	1986
59	2001	2011	726.8469	1451.6792	1451.6785	2.48	C	1	27	0.0021	KGFGSASVSF +K_MMCC-2 (K)	2001
60	2104	2207	1042.9249	2083.0563	2083.0489	3.07	C	3	15	0.035	WDWTPISKULOLF +K_MMCC-2 (K)	2202
61	2240	2236	562.2687	1162.5228	1162.5226	1.03	C	0	14	0.042	IKSEDAY +K_MMCC-2 (K)	2231
62	2453	2479	1128.0164	2254.0192	2254.0253	-3.15	C	1	38	0.015	KAGSHFEDVDIDAF +K_MMCC-2 (K)	2463
63	2506	2552	761.6029	3042.3825	3042.3738	2.89	C	0	17	0.021	SAGEHTDHRGDRHSGSVERKDTSL +K_MMCC-2 (K)	2527
64	2754	2760	598.2301	1194.6457	1194.6471	-1.17	C	1	15	0.029	KCPKPF +K_MMCC-2 (K)	2754

Figura 24 continuación

65	2754	2760	598.3317	1194.6459	1194.6471	1.51	C	1	23	0.035	KOPLKFF +K_MMCCH-2 (K)	2759
66	2865	2872	672.3669	1344.7241	1344.7112	2.16	C	1	15	0.046	RYDITXVL +K_MMCCH-2 (K)	2870
67	3235	3242	637.3139	1232.6131	1232.6111	1.62	C	0	20	0.0399	TSANVKIV +K_MMCCH-2 (K)	3240
68	3396	3406	576.8038	1151.5930	1151.5986	2.67	C	0	20	0.0383	IAGFTXDI +K_MMCCH-2 (K)	3404
69	69	75	604.2914	1206.5703	1206.5709	0.00	Th	0	22	0.0069	VDXHEIN +K_MMCCH-2 (K)	74
70	165	175	566.6142	1672.8208	1672.8144	3.83	Th	1	23	0.0353	FEKVCPGHTR +K_MMCCH-2 (K)	167
71	180	191	908.9193	1817.8241	1817.8216	1.38	Th	4	57	2.20E-06	LENAEQDEFCX +K_MMCCH-2 (K)	181
72	247	260	631.6202	1891.8389	1891.8305	4.44	Th	2	15	0.032	LRGRDFNSAUCAHN +K_MMCCH-2 (K)	250
73	283	293	782.8618	1563.7070	1563.7028	2.69	Th	3	39	0.00014	ANPANSFYGR +K_MMCCH-2 (K)	284
74	365	372	565.2805	1169.5465	1169.5461	0.34	Th	1	43	5.50E-05	LGFTEMK +K_MMCCH-2 (K)	372
75	431	437	569.2866	1136.5586	1136.5576	0.79	Th	1	13	0.046	FDFPPVP +K_MMCCH-2 (K)	433
76	467	472	538.7490	1075.4714	1075.4644	6.51	Th	0	14	0.045	FQNDMS +K_MMCCH-2 (K)	471
77	554	566	811.8937	1621.7706	1621.7658	3.14	Th	1	18	0.039	LDPYTGETRANF +K_MMCCH-2 (K)	562
78	629	636	582.7666	1163.5191	1163.5169	1.98	Th	1	22	0.066	VGSESKYS +K_MMCCH-2 (K)	634
79	893	904	904.9956	1807.7767	1807.7698	3.82	Th	1	25	0.0035	FHGEKWCPSPE +K_MMCCH-2 (K)	898
80	1352	1374	868.4326	1934.8567	1934.8397	5.69	Th	4	16	0.026	YWRWTEKADSLFS +K_MMCCH-2 (K)	1358
81	1414	1419	564.7549	1127.8552	1127.8957	-0.44	Th	1	15	0.029	LWDNRD +K_MMCCH-2 (K)	1416
82	1525	1539	738.3549	2212.0429	2212.0371	2.62	Th	3	48	1.56E-05	LKHNPQBSFYDNR +K_MMCCH-2 (K)	1526
83	1586	1605	735.3308	2202.9706	2202.9708	-0.09	Th	2	18	0.017	ICVEGGGQNCXKAGS +K_MMCCH-2 (K)	1600
84	1589	1605	735.3312	2202.9717	2202.9708	0.21	Th	2	39	0.00012	ICVEGGGQNCXKAGS +K_MMCCH-2 (K)	1602
85	1800	1809	780.5749	1958.7353	1958.7279	4.75	Th	2	16	0.016	FSHKTPHPT +K_MMCCH-2 (K)	1803
86	1912	1913	940.4294	1878.8322	1878.8247	4.05	Th	2	28	0.0015	F5KPEDTFYBR +K_MMCCH-2 (K)	1914
87	1965	1994	776.8957	1551.7766	1551.7715	3.42	Th	2	22	0.0062	HCCQGEABRV +K_MMCCH-2 (K)	1986

Figura 24 continuación

88	2192	2199	567.3019	1332.5892	1332.5899	3.29	Th	2	27	0.0021	YWDVTFE +dK_MAKCCH-2 (K)	2198
89	2200	2206	562.3029	1122.0052	1122.5955	5.06	Th	2	24	0.004	ISZLDDI +dK_MAKCCH-2 (N)	2202
90	2225	2229	462.2227	922.4309	922.4259	5.42	Th	2	17	0.022	FAGSY +dK_MAKCCH-2 (K)	2227
91	2359	2363	309.2313	1016.4461	1016.4460	2.07	Th	1	14	0.04	FTKMSI +dK_MAKCCH-2 (K); Oxidación (M)	2361
92	2943	2950	720.8409	1439.6672	1439.6602	4.86	Th	3	42	5.92E-05	IDEANDLINA +dK_MAKCCH-2 (K)	2948
93	3009	3015	572.1752	1144.5159	1144.5335	2.01	Th	0	15	0.031	IKENGSH +dK_MAKCCH-2 (K)	3010
94	3070	3026	662.2963	1322.5661	1322.5842	1.61	Th	2	28	0.0017	YWDVTFE +dK_MAKCCH-2 (N)	3025
95	3399	3405	520.2604	1038.5062	1038.5056	0.58	Th	1	27	0.002	FAGPTKI +dK_MAKCCH-2 (K)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 25

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mf{cat}q	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	141	785.4103	7353.2092	2353.2003	3.87	T	1	15	0.031	GFDPVRIHQSANLVR +dk_MMCCCH-2 (K)	131
2	142	149	686.3425	1310.6705	1310.6653	4.04	T	1	35	0.00234	KKINDLIR +dk_MMCCCH-2 (K)	142
3	157	165	822.8790	1643.7435	1643.7402	2.03	T	1	18	0.016	EAHFHFEEDR +dk_MMCCCH-2 (K)	161
4	194	192	726.8442	1451.6739	1451.6649	6.13	T	1	22	0.0061	CFBPDANDR +dk_MMCCCH-2 (K)	190
5	470	488	748.0502	2241.1269	2241.1100	8.43	T	1	24	0.0039	ITDSVCHKAGTEAVLSGSK +dk_MMCCCH-2 (K)	477
6	553	560	663.6695	1323.7245	1323.7166	5.96	T	2	22	0.0059	WRTDVR +dk_MMCCCH-2 (K)	554
7	583	560	595.6243	1663.8510	1663.8466	2.64	T	2	15	0.029	VNEDVPR +2 dk_MMCCCH-2 (K)	554, 557
8	566	570	485.2455	968.4705	968.4749	1.65	T	1	17	0.022	KNVDR +dk_MMCCCH-2 (K)	569
9	581	590	733.9194	1465.8242	1465.8216	1.91	T	2	40	0.00011	KALALLERK +dk_MMCCCH-2 (K)	583
10	569	606	781.0586	2340.0641	2340.0845	4.10	T	1	21	0.008	EDKAGFEQQLGAFHSEPK +dk_MMCCCH-2 (K)	590
11	593	615	1004.4697	3010.3872	3010.3743	4.32	T	1	18	0.035	SAGFGDNGAFHSEPKWCPSEAK +dk_MMCCCH-2 (K)	606
12	645	681	1158.5369	4630.1145	4630.1063	1.75	T	1	21	0.0072	HGYDGLPYMDWTSPLNHEPELADHEVYDFEDGVEK +dk_MMCCCH-2 (K)	671
13	682	699	620.2941	2477.1474	2477.1434	1.61	T	1	23	0.0045	WRFVFGHIDVDRITTR +dk_MMCCCH-2 (K)	695
14	700	719	887.7753	2660.3040	2660.2945	3.57	T	1	32	0.00064	SVQARKLEDFEFGHTSIK +dk_MMCCCH-2 (K)	708
15	790	804	1003.4777	2004.9409	2004.9220	9.43	T	0	68	5.00E-07	QKPYRVANCAVTSMR +dk_MMCCCH-2 (K)	791
16	953	965	635.3325	1992.9761	1992.9662	5.20	T	1	46	2.40E-05	DLFKOPSVHSEER +dk_MMCCCH-2 (K)	956
17	986	1090	685.0287	2052.0642	2052.0561	4.00	T	1	68	1.80E-07	KNEFMSLGELELER +dk_MMCCCH-2 (K)	986
18	1048	1060	913.5324	1825.0503	1825.0429	4.36	T	1	19	0.013	LIVVVENALLKK +dk_MMCCCH-2 (K)	1060

Figura 2.5 continuación

19	1092	1114	693.7048	3163.4575	5153.4652	6.07	T	1	40	0.0001	QH#KFTNF#H#K#K#H#ENG#TR +dk_MMCC#-2 (K)	1104
20	1199	1205	363.1928	1056.5586	1096.5559	2.65	T	1	17	0.019	NR#VR +dk_MMCC#-2 (K)	1199
21	1395	1403	485.5976	1453.7709	1453.7509	7.57	T	2	29	0.0014	KDIT#LDER +dk_MMCC#-2 (K)	1395
22	1395	1403	598.3081	1791.5025	1791.8899	7.03	T	2	15	0.03	KDIT#LDR +2 dk_MMCC#-2 (K)	1395, 1402
23	1473	1489	778.4055	2332.1946	2332.1827	5.10	T	1	46	2.80E-05	RHS#V#G#P#Y#D#TR +dk_MMCC#-2 (K)	1473
24	1721	1746	1097.1789	3259.6145	3259.3937	6.98	T	1	15	0.031	TAG#CED#ASY#T#L#G#K#E#W#ADR +dk_MMCC#-2 (K)	1738
25	1747	1758	613.9782	1828.9128	1828.9012	6.31	T	1	27	0.0019	RY#D#T#L#DK +dk_MMCC#-2 (K)	1749
26	1890	1922	1069.5339	4394.1067	4394.1048	0.43	T	1	13	0.048	M#SS#V#V#D#W#T#H#R#P#L#T#K#E#Y#D#VR +dk_MMCC#-2 (K)	1915
27	1926	1932	756.5811	1510.7476	1510.7425	3.44	T	1	21	0.0077	NR#M#P#P#AR +dk_MMCC#-2 (K)	1924
28	2100	2109	492.2501	1954.5715	1964.9601	5.70	T	2	21	0.0075	E#K#D#H#VR +2 dk_MMCC#-2 (K)	2102, 2104
29	2111	2149	890.4190	3557.0468	3557.0378	2.55	T	1	29	0.0012	T#AD#V#D#E#K#E#D#H#G#G#P#L#S#T#K +dk_MMCC#-2 (K)	2131
30	2359	2367	736.3516	1470.6887	1470.6613	5.03	T	1	55	0.00032	R#L#F#D#P#ER +dk_MMCC#-2 (K)	2360
31	2507	2514	682.3550	1362.6955	1362.6859	7.48	T	1	22	0.0065	K#L#E#L#K +dk_MMCC#-2 (K)	2507
32	2515	2520	574.7621	1141.5117	1141.5074	3.77	T	1	19	0.053	R#E#E#R +dk_MMCC#-2 (K)	2516
33	2621	2636	902.7125	2405.1157	2405.1028	3.08	T	1	47	2.10E-05	H#N#H#E#D#H#E#D#L#V#R +dk_MMCC#-2 (K)	2624
34	2827	2851	713.8571	2137.0495	2137.0374	5.66	T	1	69	1.40E-07	R#H#L#L#H#E#E#L#L +dk_MMCC#-2 (K)	2837
35	2857	2896	1246.2233	3725.8480	3725.8359	3.24	T	1	17	0.019	L#N#D#E#H#G#Y#H#A#G#P#Y#P#L#E#K#E#K +dk_MMCC#-2 (K)	2866
36	2851	2863	807.5767	4032.6423	4032.8345	1.91	T	0	45	3.50E-05	V#P#A#H#G#S#C#A#G#B#H#V#L#P#H#F#N#E#S#V#N#D#P#R +dk_MMCC#-2 (K)	2852
37	2857	2919	800.1410	3196.5351	3196.5287	2.00	T	1	53	5.10E-06	F#N#Y#D#N#L#H#G#H#N#E#E#L#V#R +dk_MMCC#-2 (K)	2900
38	3005	3021	925.7765	2474.3076	2474.2879	7.96	T	1	41	7.90E-05	K#D#H#E#L#D#A#S#L#E#P#I#V#R +dk_MMCC#-2 (K)	3003
39	123	151	807.4167	4032.0474	4032.0530	3.03	G	2	24	0.0036	K#G#T#P#Y#K#H#G#A#N#L#V#R#N#D#T#R#E#E +2 dk_MMCC#-2 (K)	123, 151
40	123	151	739.7923	3683.9251	3683.9049	5.47	G	2	33	0.00309	R#G#T#E#P#Y#K#H#G#A#N#L#V#R#N#D#T#R#E#E +dk_MMCC#-2 (K)	131
41	153	176	846.7141	2537.1203	2537.1169	1.34	G	0	23	0.0052	AR#H#E#D#R#S#V#G#V#A#E# + Desamado (NO: dk_MMCC#-2 (K)	161

Figura 2.5 continuación

42	435	442	676.3395	1350.6266	1350.6312	4.00	G	1	14	0.038	RUEKMHHE +BK_MMCCCH-2 (K)	438
43	526	544	777.7495	2330.2265	2330.2304	-1.67	G	1	29	0.0013	VECTKLASSUPHASSVIRE +BK_MMCCCH-2 (K)	539
44	589	612	1102.8308	3305.4706	3305.4621	2.60	G	1	14	0.097	BXSAGGFQQLGAFHGEPAWCFSE +2 BK_MMCCCH-2 (K)	590, 605
45	569	612	990.1188	2967.5345	2967.5320	0.84	G	1	26	0.0015	RKSAGGFQQLGAFHGEPAWCFSE +BK_MMCCCH-2 (K)	605
46	825	841	820.3754	2458.1045	2459.0940	4.27	G	1	25	0.063	HSVPWFVFNTHNNE +BK_MMCCCH-2 (K)	885
47	847	860	965.0179	1928.0212	1928.0077	7.00	G	0	17	0.016	FNGLSLSLMLKLE +BK_MMCCCH-2 (K)	858
48	943	970	908.9850	3631.9147	3631.9973	4.79	G	2	20	0.01	NFDLKPASLQKDFKQFVSHHEPRGHHE +BK_MMCCCH-2 (K)	956
49	1095	1076	610.1685	3236.6450	3236.6402	1.45	G	1	14	0.041	NALLKXSSVAVPYWDWNTRE +2 BK_MMCCCH-2 (K)	1059, 1060
50	1055	1076	735.6960	2898.5149	2898.5102	1.62	G	1	18	0.018	MALLKXSSVAVPYWDWTKRE +BK_MMCCCH-2 (K)	1073
51	1097	1110	998.9529	1997.5112	1997.9034	2.90	G	1	20	0.031	TNPHFHGRTHEHE +BK_MMCCCH-2 (K)	1104
51	1376	1396	864.3087	2590.1444	2590.1428	0.58	G	3	27	0.0021	AGTDSAFHDDGHTFPMNRD +BK_MMCCCH-2 (K)	1395
53	1387	1413	774.6371	2320.2894	2320.2924	3.02	G	1	15	0.035	TQDKKQQLSLVRALE +BK_MMCCCH-2 (K)	1402
54	1397	1413	774.6396	2330.2969	2320.2924	6.25	G	1	21	0.0089	TQDKKQQLSLVRALE +BK_MMCCCH-2 (K)	1410
55	1506	1522	753.2802	2257.1187	2257.1093	4.34	G	2	27	0.0022	IGRDPNPHGSKIEFE +BK_MMCCCH-2 (K)	1518
56	1755	1765	570.6056	1708.7949	1708.7913	2.17	G	2	31	0.00077	TLDKRNURHDE +BK_MMCCCH-2 (K)	1758
57	2059	2076	777.1311	3104.4953	3104.4888	2.09	G	1	18	0.018	INHNQFTKRHVPNDVFRYE +2 BK_MMCCCH-2 (K)	2067, 2076
58	2089	2100	854.1106	1706.8066	1706.8028	3.46	G	2	29	0.0012	IIGRNURHEFE +BK_MMCCCH-2 (K)	2099
59	2647	2661	715.6794	2144.0163	2144.0095	3.17	G	4	29	0.0012	AEEIRDALPWLONDE +BK_MMCCCH-2 (K)	2656
60	2765	2774	768.8675	1505.7204	1505.7225	-1.33	G	0	14	0.041	AFCGTFKGE +BK_MMCCCH-2 (K)	2771
61	3090	3097	632.6040	1263.5955	1263.5879	4.43	G	0	16	0.027	IIGKMYSE +BK_MMCCCH-2 (K)	3092
62	94	100	573.2995	3144.5687	3144.5838	0.79	C	1	16	0.037	TVKAELE +BK_MMCCCH-2 (K)	96
63	468	491	935.9765	1869.9287	1869.9295	4.92	C	0	22	0.0061	IKTDSVQURHAGTF +BK_MMCCCH-2 (K)	469
64	084	595	767.3966	1572.7851	1572.7859	-0.38	C	2	32	0.0063	ALLREKDSAGGE +BK_MMCCCH-2 (K)	590

Figura 25 continuación

65	715	723	655.6798	1069.7331	1369.7316	1.22	C	1	15	0.029	TSHAKVIL +6K_MMCCCH-2 (K)	719
66	783	788	544.7775	1087.5404	1087.5372	2.94	C	1	24	0.0004	QALQXY +6K_MMCCCH-2 (K)	787
67	890	898	743.3415	1484.6684	1484.6646	2.56	C	2	16	0.025	WVFDYKTRF +6K_MMCCCH-2 (K)	895
68	660	669	789.8851	1577.7296	1577.7249	0.51	C	1	13	0.047	FAKQDREFF +6K_MMCCCH-2 (K)	663
69	956	974	636.3217	2549.2578	2549.2465	3.65	C	0	15	0.029	KOPSVHEPRGRHREGEVY +6K_MMCCCH-2 (K)	956
70	1350	1337	620.3554	1238.6963	1238.6944	1.05	C	1	26	0.0028	KLDTKAL +6K_MMCCCH-2 (K)	1335
71	1580	1586	544.2807	1096.5069	1086.5056	1.20	C	0	14	0.038	VGGKEPY +6K_MMCCCH-2 (K)	1583
72	1649	1664	732.3309	2253.9768	2253.9637	3.15	C	2	17	0.02	NLNDHTHBFKRETF +6K_MMCCCH-2 (K)	1659
73	1818	1827	753.3695	1504.7245	1504.7232	0.85	C	1	25	0.0031	REBDISLY +6K_MMCCCH-2 (K)	1826
74	2076	2062	612.3039	1222.5932	1222.5944	0.90	C	3	19	0.013	NYELGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2076
75	2476	2486	923.9219	1845.8293	1845.8244	2.71	C	1	20	0.0097	THSRAKPTDVEY +6K_MMCCCH-2 (K)	2481
76	2656	2666	793.3512	1584.6878	1584.6879	0.00	C	1	22	0.0057	KLONDESHGGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2656
77	2713	2723	787.9122	1573.8099	1573.8075	1.52	C	1	14	0.042	KKRGSHGIPY +6K_MMCCCH-2 (K)	2714
78	2809	2815	539.2609	1074.5059	1074.5056	0.37	C	0	19	0.014	GGAEKY +6K_MMCCCH-2 (K)	2814
79	2934	2945	816.4465	1630.8785	1630.8759	1.96	C	0	17	0.02	SGRITAVYVYVY +6K_MMCCCH-2 (K)	2943
80	2946	2960	965.4076	3928.8007	1928.7966	1.09	C	1	26	0.0027	RSOTBDSDEYAGDF +6K_MMCCCH-2 (K)	2947
81	2964	2971	607.2790	1212.5515	1212.5307	0.58	C	0	20	0.0092	GGAKENPW +6K_MMCCCH-2 (K)	2967
82	1	9	725.3405	1448.6667	1448.6587	6.80	Th	2	23	0.0054	MTPEELKY +6K_MMCCCH-2 (K)	7
83	38	56	861.8813	2582.0222	2581.0108	4.42	Th	2	13	0.047	VGIPDNDNRDHDHCKRAGD +6K_MMCCCH-2 (K)	55
84	59	69	783.3785	1568.7424	1568.7367	3.63	Th	3	66	2.50E-07	VLGEPSEMKWQ +6K_MMCCCH-2 (K)	67
85	78	84	569.2871	1136.5597	1136.5536	5.37	Th	1	49	1.20E-05	LSDTVHK +6K_MMCCCH-2 (K)	84
86	116	124	447.2341	1338.6804	1338.6755	3.66	Th	2	31	0.00079	VVWHERKNS +6K_MMCCCH-2 (K)	123
87	125	135	615.8684	1629.7623	1629.7610	0.80	Th	1	16	0.028	FTDFEVKSHQ5 +6K_MMCCCH-2 (K)	131

Figura 25 continuación

88	431	439	757.9542	1413.6938	1413.6633	3.69	Th	3	36	0.0025	ISLEHKM + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	438
89	519	530	807.9087	1613.7868	1613.7658	0.62	Th	3	60	0.0067	VYDITEVSTK + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	530
90	565	591	585.6112	1109.6079	1109.6022	0.58	Th	1	26	0.0023	ILKEDKS + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	590
91	601	612	904.8990	1807.7834	1807.7686	7.52	Th	1	25	0.0032	PHGZPKWCPSE + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	606
92	666	672	607.8226	1212.5507	1212.5485	1.90	Th	2	24	0.0059	KADHERY + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	671
93	829	837	743.3404	1484.6662	1484.6646	1.08	Th	3	21	0.0087	FNVFDYKTN + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	825
94	1086	1074	530.2690	1587.7580	1587.7544	2.27	Th	3	14	0.043	VPTVDWTKR + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1073
95	1111	1120	742.3792	1482.7439	1482.7369	3.37	Th	1	16	0.025	ITTRPKDSL + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1112
96	1219	1232	766.6637	2298.9634	2298.9617	0.74	Th	1	17	0.018	FDKSDNBEATKH +2 <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1221, 1250
97	1216	1232	980.4233	1958.8321	1958.8316	0.26	Th	1	38	0.00014	FDKSDNBEATKH + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1230
98	1657	1668	921.9182	1841.8219	1841.8182	2.01	Th	2	56	2.60E-06	FSRBEFDYOK + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1659
99	1657	1668	921.9215	1841.8289	1841.8182	5.46	Th	2	57	2.20E-06	FSRBEFDYOK + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1669
100	1735	1741	663.3221	1328.6297	1328.6312	-1.19	Th	2	19	0.016	VLGGKEMF + <i>hK</i> _MMCC _H -1 (K); Oxidación (M)	1736
101	1894	1904	850.4122	1698.8096	1698.8116	-1.06	Th	5	37	0.0022	VAVPYWDWTRP + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	1903
102	2064	2068	499.7597	997.5048	997.5055	-0.70	Th	0	21	0.008	FTYKH + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2067
103	2084	2100	618.3042	1234.5938	1234.5903	2.83	Th	1	27	0.0022	ELHEHE + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2099
104	2238	2248	776.9201	1555.7457	1555.7440	1.09	Th	3	48	1.70E-05	ITTAEDVMDKD + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2247
105	2475	2490	746.9550	2236.0481	2236.0259	7.69	Th	4	22	0.006	PTHSNKAPTDFYYSR + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2483
106	2612	2621	807.5979	1612.7803	1612.7766	2.17	Th	0	29	0.0013	LEKKEEDRT + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2614
107	2608	2621	708.0322	2121.0146	2121.0048	4.71	Th	1	17	0.019	LEHELEKOREEDRT + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2616
108	2695	2606	866.4047	1610.7949	1610.7662	5.40	Th	2	28	0.0016	HDTSKQIPLSD + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2601
109	2607	2612	520.7805	1039.5465	1039.5446	1.83	Th	2	19	0.013	LKAMPT + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2609
110	2766	2771	551.7868	1101.5590	1101.5529	5.63	Th	1	29	0.0012	IFGQTK + <i>hK</i> _MMCC _H -2 (K)	2771

Figura 25 continuación

111	2808	2816	638.3200	1274.6255	1274.6217	2.98	Tb	3	27	0.0018	LOGAENYS *K_MMCC4-2 (K)	2814
112	2946	2960	965.4102	1828.6059	1828.7966	3.78	Tb	3	30	0.0011	PKSOTSDDEYASSF *K_MMCC4-2 (K)	2947
113	2963	2970	691.8840	1381.7155	1381.7050	2.68	Tb	4	19	0.016	VRLOGAKMP *K_MMCC4-1 (K): Oxidación (M)	2967
114	2990	2996	583.3845	1164.5544	1164.5485	5.07	Tb	1	38	0.00017	LUDOHAK *K_MMCC4-2 (K)	2996

Figura 25 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr{calc}	ppm	Enzima	M/C	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	76	41	1041.0275	2084.0484	2084.0347	2.74	T	1	49	3.20E-05	KNDPALSSEVLALEK +K_MIMCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.8721	3386.7287	3386.7217	5.77	T	1	35	0.00029	ADDFLNKK +K_MIMCCH-2 (K)	155
3	164	175	596.3124	1783.9155	1785.8985	9.52	T	1	42	6.60E-05	LFKQVGHHR +K_MIMCCH-2 (K)	167
4	249	271	937.4403	2959.3110	2959.3051	1.99	T	1	36	0.00074	GGDPNADCRNHLHPAPPPDR +K_MIMCCH-2 (K)	250
5	281	283	610.9466	1829.8179	1829.8043	7.49	T	0	54	4.36E-06	EHAKPADSDYER +K_MIMCCH-2 (K)	284
6	419	446	577.3707	3381.8173	3381.8132	1.21	T	1	27	0.00022	QPTLVHSPAKGHPDZPPVPAQANLAVR + Desamidado (M/C), +K_MIMCCH-2 (K)	428
7	429	446	752.0662	2253.1829	2253.1729	4.44	T	0	52	5.80E-06	GHFKPPVPAQANLAVR +K_MIMCCH-2 (K)	433
8	467	488	768.5943	2830.3481	2830.3385	3.39	T	1	69	1.36E-07	FONDKSVNGYATVEFHALPAR +K_MIMCCH-2 (K)	471
9	469	497	736.5442	1451.6738	1451.6649	6.13	T	1	22	0.00051	CFRFDKDR +K_MIMCCH-2 (K)	495
10	936	940	720.3452	2158.0386	2158.0365	1.98	T	1	80	0.00097	KMGFFGGIPLYWDYTR +K_MIMCCH-2 (K)	936
11	1082	1096	996.4667	1950.9226	1950.9063	8.29	T	0	46	2.70E-05	GKPTNTANCAISSAR +K_MIMCCH-2 (K)	1082
12	1097	1115	627.0787	2476.2142	2476.2101	1.65	T	0	66	2.30E-07	KFLQPFGLDSVNPDDER +K_MIMCCH-2 (K)	1097
13	1123	1149	1190.5612	3568.8617	3568.8497	2.86	T	1	79	1.20E-08	VFDYKRFVTELRANGLSIAQLDR +K_MIMCCH-2 (K)	1127
14	1355	1365	1271.7694	5010.7684	5010.7676	-0.31	T	1	38	0.00015	GSVAVPYWDWTEKAEGLPSIMETATYNSR +K_MIMCCH-2 (K)	1368
15	1409	1450	1097.7141	5483.5542	5483.5219	2.85	T	1	40	9.60E-05	DPQELWDNKKDFENVMLAEQDFQDFEQLLHNLALPFR +K_MIMCCH-2 (K)	1418
16	1455	1480	1117.8821	3350.6244	3350.6070	5.19	T	1	34	0.00044	KKYSLSLDYATDFQVFLHNAVDR +K_MIMCCH-2 (K)	1455
17	1493	1507	721.6577	2161.9513	2161.9594	-3.75	T	1	66	2.40E-07	KKPYREADCAVRENS +K_MIMCCH-2 (K)	1494
18	1542	1564	902.8964	3207.5566	3207.5448	9.68	T	1	19	0.013	VLYPWQPHSHSQALDQIDLAR +K_MIMCCH-2 (K)	1556

Figura 2.5 continuación

19	1622	1633	591.9822	1772.9227	1772.9171	4.29	T	1	30	0.0085	LYKHDTSAHR +6K_MMCOH-2 (K)	1624
20	1690	1704	582.2886	2125.1293	2125.1241	2.45	T	2	23	0.0086	KEVSSALTLEHFLR +6K_MMCOH-2 (K)	1700
21	1757	1769	612.9798	1835.9176	1835.9129	2.63	T	1	16	0.027	LYVCFEGLKR +6K_MMCOH-2 (K)	1767
22	1909	1963	560.2533	2236.9941	2236.9795	4.74	T	0	48	1.60E-05	FOEFERPEDFDHR +6K_MMCOH-2 (K)	1954
23	2218	2231	937.4639	1872.3532	1872.9484	4.70	T	1	23	0.0049	DAVYMRPFAGTK +6K_MMCOH-2 (K)	2233
24	2409	2404	479.2450	956.4754	956.4749	0.52	T	1	16	0.025	RSQTR +6K_MMCOH-2 (K)	2488
25	2453	2463	639.9330	1677.8515	1677.8436	4.71	T	1	16	0.026	NRKYDTQALK +6K_MMCOH-2 (K)	2455
26	2527	2541	1007.5168	2013.0190	2013.0028	5.07	T	1	18	0.017	NDVTEIASEHELR +6K_MMCOH-2 (K)	2527
27	2755	2764	764.3846	1526.7546	1526.7439	7.03	T	0	37	0.0019	ZPLKPFSEK +Desamidado (NR); 6K_MMCOH-2 (K)	2756
28	2810	2814	455.8921	1364.6544	1364.6468	5.50	T	2	15	0.031	KSEER +2 6K_MMCOH-2 (K)	2810, 2811
29	2866	2873	659.3627	1316.7106	1316.7050	4.40	T	1	16	0.023	YDTPKVK +6K_MMCOH-2 (K)	2870
30	3148	3155	629.3372	1256.6599	1256.6587	0.95	T	1	20	0.0093	KEPYNAAK +6K_MMCOH-2 (K)	3149
31	167	178	590.9643	1769.9710	1769.8705	0.28	G	0	22	0.0059	KVQPSHRTBLME +6K_MMCOH-2 (K)	167
32	311	322	567.6295	1699.8666	1699.8603	3.65	G	1	17	0.022	LRVYGERAAKE +6K_MMCOH-2 (K)	321
33	433	456	975.8561	2924.5464	2924.5419	1.30	G	2	26	0.0023	KPPYVADJABLAVRINDTAEI +6K_MMCOH-2 (K)	433
34	466	481	1098.4999	2194.9852	2194.9841	0.50	G	2	32	0.0061	RFQNDKSYDGYQATVE +Desamidado (NO); 6K_MMCOH-2 (K)	471
35	1117	1123	1298.0626	2534.1507	2534.1314	7.68	G	2	17	0.021	H5UPRHFVDFRNRHFOYE +6K_MMCOH-2 (K)	1127
36	1215	1235	561.8072	2662.3997	2662.3949	1.67	G	3	40	0.0001	ITQQRHDLHVGDKRFLRYE +6K_MMCOH-2 (K)	1235
37	1252	1303	879.4671	1756.9196	1756.9182	0.85	G	0	49	1.20E-05	SRSAPLQIQKE +6K_MMCOH-2 (K)	1302
38	3398	3370	904.9448	1807.8751	1807.8749	0.06	G	0	28	0.0015	NIARHFEPGICE +6K_MMCOH-2 (K)	1311
39	1308	1310	904.9462	1807.8778	1807.8749	1.55	G	0	25	0.00033	NIARHFEPGICE +6K_MMCOH-2 (K)	1315
40	1409	1412	921.4190	2761.2360	2761.2330	0.72	G	3	23	0.0057	NAVTSKOPQPELWONKOFYE +6K_MMCOH-2 (K)	1418
41	1952	1967	792.6818	2375.0236	2375.0205	1.31	G	3	31	0.00086	FSKPEDTDFHRFSYE +6K_MMCOH-2 (K)	1954

Figura 2.5 continuación

42	1973	1990	817.0606	2443.1629	2446.1454	7.15	G	0	22	0.0063	FVGMVSLSHVKKQDE +dK_MMCC+2 (K); Oxidación (M)	1986
43	3386	3405	658.3165	2623.2375	2629.2271	3.95	G	2	24	0.0038	LDHAYSLRDSHYAGPTKQ +dK_MMCC+2 (K)	3404
44	277	295	883.7536	2648.2390	2648.2529	2.27	C	4	41	7.30E-05	DLTRHAK2PADSFDYGRLOY +dK_MMCC+2 (K)	284
45	629	635	539.2515	1076.4885	1076.3848	3.44	C	0	29	0.0034	VGGSEKY +dK_MMCC+2 (K)	634
46	1075	1080	544.7775	1087.5404	1087.5372	2.94	C	3	94	0.0004	DALQKY +dK_MMCC+2 (K)	1079
47	1212	1240	875.0881	2622.2424	2622.2424	-0.04	C	4	20	0.01	KYETIQJHDLRHVGNF +dK_MMCC+2 (K)	1212
48	1286	1306	715.3740	1428.7334	1428.7323	0.77	C	1	18	0.016	LQIQREGY +dK_MMCC+2 (K)	1302
49	1416	1471	570.2391	1136.4637	1136.4541	-0.35	C	1	16	0.022	DNKQFY +dK_MMCC+2 (K)	1416
50	1526	1540	749.8825	2246.0257	2246.0215	1.87	C	2	92	0.00061	KMMLPQDSFYQGRF +dK_MMCC+2 (K)	1526
51	1589	1605	784.3539	2350.0400	2350.0392	0.34	C	0	19	0.011	ICVQGGHONCKVSGF +dK_MMCC+2 (K)	1602
52	1696	1702	607.8019	1212.5893	1212.5849	3.63	C	1	17	0.02	TLEKHF +dK_MMCC+2 (K)	1700
53	1803	1809	706.8394	1411.6543	1411.6595	3.40	C	0	14	0.043	SHKTFNPF +dK_MMCC+2 (K)	1803
54	1985	1995	850.4769	1698.9432	1698.8399	1.94	C	0	26	0.0023	KQGGADRVF +dK_MMCC+2 (K)	1986
55	2455	2452	645.3775	1288.6405	1288.6373	2.48	C	1	22	0.0055	RYDFOAL +dK_MMCC+2 (K)	2455
56	2463	2479	1128.0192	2254.0238	2254.0253	-0.67	C	1	16	0.027	KADSHFEDVFDAPF +dK_MMCC+2 (K)	2463
57	2665	2872	671.8657	1344.7169	1344.7112	4.16	C	3	22	0.0067	RYDTRVL +dK_MMCC+2 (K)	2670
58	3235	3242	617.3148	1232.6150	1232.6113	3.16	C	0	27	0.002	TSRWVNV +dK_MMCC+2 (K)	3240
59	3399	3496	576.8029	1151.5912	1151.5896	1.50	C	0	39	0.0012	IAGPTKDI +dK_MMCC+2 (K)	3404
60	165	175	559.6147	1672.8224	1672.8344	4.78	Th	1	22	0.0058	FEKVQPGHTR +dK_MMCC+2 (K)	167
61	180	193	909.9202	1617.8259	1617.8216	2.37	Th	4	65	2.30E-07	ILDAEQDEFCK +dK_MMCC+2 (K)	191
62	247	260	631.6701	1891.8365	1891.8205	4.23	Th	2	13	0.046	LRSKDPNSADCAHN +dK_MMCC+2 (K)	250
63	263	293	782.8600	1503.7654	1503.7628	1.73	Th	3	34	0.00038	KRPADSFDYGR +dK_MMCC+2 (K)	264
64	364	372	642.3246	1282.6301	1282.6301	3.62	Th	2	41	7.30E-05	LUGPTEBK +dK_MMCC+2 (K)	372

Figura 25 continuación

65	481	437	569.2877	1136.5559	1136.5570	2.02	Th	1	13	0.045	FEKPPYP +dK_MMCCCH-2 (K)	433
66	629	626	582.7666	1163.5186	1163.5169	1.55	Th	1	32	0.00069	VGGSEKYS +dK_MMCCCH-2 (K)	624
67	893	904	904.8990	1607.7834	1607.7656	7.52	Th	1	25	0.0032	PHGEPRWCPSPF +dK_MMCCCH-2 (K)	898
68	1123	1129	619.2655	1256.5664	1256.5485	6.99	Th	2	14	0.042	VFFYKNN +dK_MMCCCH-2 (K)	1127
69	1414	1419	564.7574	1127.5003	1127.4957	4.08	Th	1	14	0.039	DAWNRFD +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
70	1525	1539	739.3556	2212.0457	2212.0371	5.84	Th	2	48	1.50E-05	IAHNEPRDPSFTGNR +dK_MMCCCH-2 (K)	1526
71	1589	1605	735.3370	2202.9741	2202.9709	1.50	Th	2	22	0.0068	ICVEEQEGEONCKTRAGS +dK_MMCCCH-2 (K)	1600
72	1589	1605	735.3943	2202.9610	2202.9708	4.68	Th	2	36	0.00016	ICLVEQEGEONCKTRAGS +dK_MMCCCH-2 (K)	1602
73	1800	1809	780.5723	1558.7301	1558.7279	1.41	Th	2	26	0.0025	FSHKTTPAPF +dK_MMCCCH-2 (K)	1803
74	1952	1963	627.2842	1873.8309	1876.8247	5.30	Th	2	47	1.90E-05	FSSEFENTFYHR +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
75	1985	1994	518.2667	1551.7783	1551.7715	4.59	Th	2	25	0.0034	IKOOOEADRY +dK_MMCCCH-2 (K)	1986
76	2193	2199	667.9905	1332.5964	1332.5849	1.43	Th	2	22	0.0057	YWDWTKP +dK_MMCCCH-2 (K)	2198
77	2230	2205	562.3985	1122.6025	1122.5965	2.67	Th	2	22	0.0057	ISKLPDI +dK_MMCCCH-2 (K)	2202
78	2225	2229	462.2214	922.4262	922.4250	2.49	Th	2	14	0.036	FAKGY +dK_MMCCCH-2 (K)	2227
79	2359	2363	509.2317	1016.4489	1016.4469	2.96	Th	1	17	0.019	PTKDRH +dK_MMCCCH-2 (K), Oxidación (K)	2361
80	2941	2950	770.8408	1439.6670	1439.6602	4.72	Th	3	45	2.88E-05	IDEANDLQKRA +dK_MMCCCH-2 (K)	2948
81	3029	3015	573.2736	1143.5327	1144.5339	-0.70	Th	0	14	0.041	IKFHGSH +dK_MMCCCH-2 (K)	3030
82	3399	3405	530.2607	1028.5059	1028.5055	1.75	Th	1	25	0.0029	AGPTKID +dK_MMCCCH-2 (K)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KHL1 o KHL2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KHL1 o KHL2.

Figura 26

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(rate)	ppms	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	141	785.4114	2353.2125	2353.2003	5.27	T	1	14	0.037	GFPPPKHGIGANLHYR +dK_MMCCCH-2 (K)	131
2	142	149	856.3405	1510.6655	1310.8658	0.97	T	1	25	0.003	RINDLIR +dK_MMCCCH-2 (K)	142
3	157	166	548.9218	1643.7436	1643.7402	2.07	T	1	20	0.011	EAPRWFQELDR +dK_MMCCCH-2 (K)	161
4	460	477	761.3956	2341.1649	2341.1624	1.07	T	1	15	0.035	TSRNYDFIKITDSVQHK +dK_MMCCCH-2 (K)	469
5	470	488	748.0444	2241.1115	2241.1100	0.87	T	1	25	0.0034	TTDSVQHRAGTFAVLGSSK +dK_MMCCCH-2 (K)	477
6	553	560	663.9981	1325.7216	1325.7166	3.85	T	2	24	0.0041	VRFDKVPR +dK_MMCCCH-2 (K)	554
7	566	570	488.2447	968.8748	968.8749	-0.10	T	1	19	0.014	KRWYDR +dK_MMCCCH-2 (K)	565
8	581	597	547.4375	1093.6600	1093.6569	2.83	T	1	20	0.03	KALALIK +dK_MMCCCH-2 (K)	581
9	588	606	781.0350	2340.0931	2340.0945	-0.60	T	1	29	0.0013	EDKSAGGQGLDLSGFHGEFK +dK_MMCCCH-2 (K)	590
10	645	651	1158.5393	4630.1281	4630.1065	4.71	T	1	18	0.014	HGYDGLFVYDWTSPINHLPELADHRSYDPEDEGVYK +dK_MMCCCH-2 (K)	671
11	682	699	1239.5804	2477.3463	2477.1434	1.17	T	1	16	0.025	HNPFVDEGHDFVDKTTIR +dK_MMCCCH-2 (K)	685
12	700	719	687.7752	2660.2977	2660.2945	1.24	T	1	44	1.70E-05	SVQNKIHFQPEFGHTSIK +dK_MMCCCH-2 (K)	704
13	778	789	958.6048	1913.9950	1913.9862	4.60	T	1	31	0.00574	HWAKQALQNYR + Desamidado (NQ); dK_MMCCCH-2 (K)	787
14	790	804	669.3164	2004.9274	2004.9220	1.69	T	0	37	0.00039	GKPPWVAVLAVTSMBR +dK_MMCCCH-2 (K)	791
15	850	863	520.2980	1038.5814	1038.5783	2.98	T	1	17	0.019	KLEAIK +dK_MMCCCH-2 (K)	858
16	953	965	635.3507	1902.9704	1902.9662	2.21	T	1	49	1.70E-05	ELFKQFSVHIEPR +dK_MMCCCH-2 (K)	956
17	986	1000	685.0263	2052.0571	2052.0541	0.49	T	1	55	1.10E-06	KRMENLSLGRFESLR +dK_MMCCCH-2 (K)	986
18	1092	1114	791.8780	3163.4829	3163.4682	4.62	T	1	38	0.00015	QHNYETRPFRHGGKTHENEITTR +dK_MMCCCH-2 (K)	1104

Figura 2.6 continuación

19	1118	1182	1414.4275	5658.8810	5623.6850	-0.71	Y	1	28	0.0015	DSLPHSDYFEQVYALEQDMFCDFEQLEHJMAHSHLGGK +6K_MMCCCH-2 (K)	1182
20	1199	1203	353.1812	1056.5517	1056.5538	-1.99	Y	1	17	0.019	MRPYR +6K_MMCCCH-2 (K)	1199
21	1385	1403	485.5965	1453.7577	1453.7599	5.37	Y	2	33	0.0054	KOITQIDKR +6K_MMCCCH-2 (K)	1385
22	1473	1489	778.4053	2332.1942	2332.1827	4.95	Y	1	45	3.10E-05	NHSAVYGLPYNDVTLPR +6K_MMCCCH-2 (K)	1473
23	1923	1932	756.9799	1510.7452	1510.7425	1.79	Y	1	30	0.0099	NKUNPAPFAR +6K_MMCCCH-2 (K)	1924
24	2057	2076	746.8892	1491.7555	1491.7541	6.10	Y	1	19	0.041	KHAPNDVFK +6K_MMCCCH-2 (K)	2057
25	2058	2083	753.7155	2258.1247	2256.1194	2.35	Y	1	13	0.047	HAPNDVFEYELGVR +6K_MMCCCH-2 (K)	2076
26	2121	2149	830.4212	3557.8557	3557.8378	5.09	Y	1	31	0.0073	YSADVQFCCKTBECHHGQFVLSGTR +6K_MMCCCH-2 (K)	2131
27	2233	2251	834.9938	2499.2596	2499.2349	9.68	Y	2	16	0.025	KEHTTTAGVPRKADAMB +6K_MMCCCH-2 (K)	2247
28	2299	2314	715.0192	2142.0357	2142.0236	5.56	Y	1	14	0.057	LYTKOMEDALTAFHGAR +6K_MMCCCH-2 (K)	2302
29	2359	2367	736.3490	1470.6834	1470.6813	1.43	Y	1	34	0.0039	DNLFDPER +6K_MMCCCH-2 (K)	2360
30	2461	2490	642.8185	3850.8691	3850.8638	1.58	Y	0	15	0.019	BPBPDPBPBPAFHSPAPTEVEYSR +6K_MMCCCH-2 (K)	2461
31	2507	2514	602.3505	1362.5805	1362.5859	0.86	Y	1	33	0.0053	NLEHELEK +6K_MMCCCH-2 (K)	2507
32	2515	2520	573.7624	1141.5102	1141.5074	2.63	Y	1	22	0.0558	QREEDR +6K_MMCCCH-2 (K)	2516
33	2621	2636	802.7112	2405.1119	2405.1083	1.50	Y	1	47	2.00E-05	HHEKHEDHPEBELVR +6K_MMCCCH-2 (K)	2624
34	2637	2653	1069.5295	2137.0425	2137.0374	3.32	Y	1	59	1.40E-06	KREHSHHEAEER +6K_MMCCCH-2 (K)	2637
35	2657	2686	934.9169	3735.6384	3735.5938	0.67	Y	1	18	0.014	LONDESHGVEYHAGFYHYPNLPENGDEN +6K_MMCCCH-2 (K)	2686
36	2763	2814	1328.4535	6637.1313	6637.0821	7.41	Y	1	17	0.022	DVNEAFQCKRFEFSGHYLAIQALEEDNYCDEVEQYELHREYHALIGGAER +4 Desamado (NO); 6K_MMCCCH-1 (K)	2771
37	2851	2863	807.5799	4032.8031	4032.8346	7.07	Y	0	16	0.0023	NKPAHAGSCAGIMBVPFLHFFNYESVNDDEFR +6K_MMCCCH-2 (K)	2852
38	2857	2919	1066.5194	3196.5364	3196.5287	2.41	Y	1	68	1.50E-07	FNXYORINUMHRPHEEVEYR +6K_MMCCCH-2 (K)	2900
39	3003	3021	625.7721	2474.2944	2474.2879	2.63	Y	1	39	0.0024	KYDHTELDASVPAPTVR +6K_MMCCCH-2 (K)	3003

Figura 26 continuación

40	123	151	516.6594	3693.9136	3693.9049	2.19	G	2	15	0.013	KGFTDFVVKHOSANLVRNINDTREE +HK_MMCCCH-2 (K)	123
41	123	151	759.7917	3693.9221	3693.9049	4.63	G	2	16	0.0015	KGFTDFVVKHOSANLVRNINDTREE +HK_MMCCCH-2 (K)	131
42	159	176	646.3860	2536.1422	2536.1329	3.67	G	3	27	0.002	AFHKRQEDRSNDGYATAE +HK_MMCCCH-2 (K)	161
43	526	544	777.7497	2330.2272	2330.2304	-1.37	G	1	22	0.0064	VQGTBLASSLUPHASVRC +HK_MMCCCH-2 (K)	520
44	589	612	990.1368	2967.3266	2967.3320	-1.35	G	1	28	0.0015	DKSAGGFCQLGAFHGEPNWCFSFE +HK_MMCCCH-2 (K)	606
45	825	841	820.7065	2459.2678	2459.0783	8.05	G	1	25	0.003	HSVPTNVEFKTRNVE +Desamidado (NO): #K_MMCCCH-2 (K)	835
46	942	972	764.6027	3817.9772	3817.9634	4.14	G	3	14	0.035	YFDLKPASLQKDLFKQPSVHPEPRHGHNEGE +HK_MMCCCH-2 (K)	946
47	942	970	727.3896	3631.3116	3631.6373	3.91	G	2	16	0.024	VFDLFPASLQKDLFKQPSVHPEPRHGHNE +HK_MMCCCH-2 (K)	956
48	1055	1076	810.1589	5236.6464	5236.6402	1.92	G	1	30	0.00399	MALLKRGSSVAVPYVDWTKRRE +2 #K_MMCCCH-2 (K)	1060, 1080
49	1055	1076	725.6539	2898.5063	2898.5102	-1.35	G	1	41	7.10E-05	MALLKRGSSVAVPYVDWTKRRE +HK_MMCCCH-2 (K)	1060
50	1055	1076	725.6342	4699.5076	2898.5102	-0.90	G	1	21	0.0085	MALLKRGSSVAVPYVDWTKRRE +HK_MMCCCH-2 (K)	1073
51	1097	1110	998.9632	1997.9118	1997.9054	3.25	G	1	18	0.016	FNPFHGHKITHEME +HK_MMCCCH-2 (K)	1104
52	1376	1396	648.5449	2590.1506	2590.1428	3.01	G	9	29	0.0012	AGTDSAHIDGERTPEPVMIRKO +HK_MMCCCH-2 (K)	1395
53	1397	1413	774.4335	2320.2786	2320.3824	-1.64	G	1	25	0.0034	IFOLDKRQGLSLVKALE +HK_MMCCCH-2 (K)	1410
54	1506	1522	752.3776	2257.1110	2257.1069	0.93	G	2	26	0.0028	TGRDPNPFHGHKETE +HK_MMCCCH-2 (K)	1516
55	1755	1765	570.8055	1708.7946	1708.7913	1.93	G	2	35	0.0031	TLDKMMNLRHDE +HK_MMCCCH-2 (K)	1758
56	2089	2100	654.4105	1706.9361	1706.8028	3.16	G	2	30	0.00094	HGGANLHEENE +HK_MMCCCH-2 (K)	2099
57	2647	2651	715.5782	2144.0130	2144.0085	1.65	G	4	18	0.016	AFFLRDALYRLONDE +HK_MMCCCH-2 (K)	2656
58	3090	3097	632.8034	1263.5829	1263.5879	3.40	G	0	16	0.026	LKKMYGVE +HK_MMCCCH-2 (K)	3092
59	59	68	721.3486	1440.6627	1440.6783	3.19	C	1	21	0.0084	YLGGFSENNRY +HK_MMCCCH-2 (K)	67
60	94	100	573.2925	1144.5884	1144.5838	0.52	C	1	17	0.03	TVKAELE +HK_MMCCCH-2 (K)	96
61	429	450	990.8052	2969.3937	2969.3899	1.51	C	1	14	0.036	GELENEKRAHHEHRCQEDRY +HK_MMCCCH-2 (K), Oxidación (M)	438
62	584	595	767.4013	1671.7679	1671.7659	1.40	C	2	46	2.60E-05	ALLKEDKAGGTF +HK_MMCCCH-2 (K)	590

Figura 26: continuación

63	715	723	655.8741	1309.7336	1399.7335	1.60	C	1	15	0.032	YSARQVAL +dK_MMCCCH-2 (K)	719
64	753	768	544.7768	1087.5390	1087.5372	1.66	C	1	23	0.0054	IQALQRY +dK_MMCCCH-2 (K)	767
65	830	838	743.3419	1484.6522	1484.6846	3.10	C	2	22	0.006	NVFDYKTNF +dK_MMCCCH-2 (K)	835
66	944	955	921.4310	1640.8475	1640.8424	-0.55	C	3	18	0.016	QURPAGSGDLF +dK_MMCCCH-2 (K)	946
67	1130	1137	620.3552	1288.6978	1288.6944	2.74	C	1	22	0.0064	KLDTKAL +dK_MMCCCH-2 (K)	1135
68	1580	1586	544.2618	1086.5091	1086.5056	3.22	C	0	21	0.0055	VGGREPY +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
69	1818	1827	753.9697	1504.7249	1504.7152	1.20	C	1	18	0.015	SEBDGSLKY +dK_MMCCCH-2 (K)	1825
70	2076	2082	611.3051	1222.5955	1222.5944	0.98	C	3	15	0.031	KVELLSY +dK_MMCCCH-2 (K)	2076
71	2160	2184	814.3658	1253.5180	1253.5179	0.02	C	3	14	0.036	KVDTHALHDAHTPFDYHPSEFF +dK_MMCCCH-2 (K)	2160
72	2476	2488	823.9227	1845.9388	1845.8244	3.58	C	1	28	0.0017	THSNAKPTDNFFY +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
73	2856	2872	747.3438	2235.0094	2235.0094	4.02	C	2	26	0.0026	MLOWDESHGGYCHVAF +dK_MMCCCH-2 (K)	2856
74	2738	2749	856.3782	1710.7358	1710.7346	0.56	C	2	15	0.033	ADSSNNVPPRY +dK_MMCCCH-2 (K)	2748
75	2946	2960	965.4056	1928.7956	1928.7966	-1.04	C	1	24	0.0044	IKSGTSDSEYAGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	2947
76	2961	2971	769.8948	1537.7751	1537.7673	5.07	C	1	16	0.024	VLGGAKEMPNV +dK_MMCCCH-2 (K)	2967
77	1	8	643.8057	1285.5968	1285.5934	2.64	Th	1	26	0.0016	KATPEELAT +dK_MMCCCH-2 (K)	7
78	38	56	661.6873	2582.0251	2582.0108	5.54	Th	2	17	0.022	VQIPDRDRMEDHCKRAGD +dK_MMCCCH-2 (K)	53
79	59	69	785.9758	1568.7970	1568.7367	0.19	Th	3	59	1.40E-05	VLGSPSENKWQ +dK_MMCCCH-2 (K)	67
80	79	84	565.2848	1136.5590	1136.5586	4.75	Th	1	42	6.90E-05	ESDTVHK +dK_MMCCCH-2 (K)	84
81	117	124	620.6154	1299.6162	1299.6070	7.34	Th	1	38	0.0016	VVHPPEKG +dK_MMCCCH-2 (K)	123
82	269	282	660.6024	1976.9855	1976.9778	3.89	Th	4	27	0.0019	VIAAFENAPHTEBQ +dK_MMCCCH-2 (K)	280
83	431	459	707.8527	1413.6908	1413.6653	1.70	Th	3	42	6.60E-05	ISRNFRM +dK_MMCCCH-2 (K)	438
84	521	530	707.6467	1413.6788	1413.6269	6.37	Th	2	74	4.30E-08	VDTEVDGTR +dK_MMCCCH-2 (K)	530
85	585	591	585.8110	1169.6074	1169.6062	6.16	Th	1	85	0.00033	LKEDKS +dK_MMCCCH-2 (K)	590

Figura 2.6 continuación

85	601	612	904.895.5	1207.776.5	1807.759.8	3.55	Th	1	21	0.0086	PHGAPKWCPSPF +K_ MMCCCH-2 (K)	606
87	606	672	607.284.2	1212.553.9	1212.548.5	4.45	Th	2	23	0.0046	LADNEYK +K_ MMCCCH-2 (K)	671
88	631	837	611.787.7	1223.560.9	1223.555.5	6.13	Th	2	17	0.019	VFDYKTN +K_ MMCCCH-2 (K)	836
89	954	959	529.766.0	1057.517.5	1057.515.4	1.99	Th	1	16	0.027	LFKQFS +Desamidado (NO); +K_ MMCCCH-2 (K)	956
90	1100	1104	487.229.0	952.443.4	952.443.3	0.10	Th	0	16	0.023	PHHERK +K_ MMCCCH-2 (K)	1104
91	1111	1120	742.379.6	1482.744.6	1482.739.8	3.91	Th	1	18	0.017	TTTBPKDSL +K_ MMCCCH-2 (K)	1117
92	1156	1184	630.849.6	1250.566.6	1259.658.4	6.51	Th	2	17	0.019	LLGKGRYS +K_ MMCCCH-2 (K)	1162
93	1219	1732	980.423.8	1958.837.0	1958.833.6	2.76	Th	1	58	1.60E-05	PKSDNDDEATKTH +K_ MMCCCH-2 (K)	1730
94	1580	1587	572.774.7	1143.534.8	1143.527.1	6.73	Th	1	14	0.043	VGKRPYG +K_ MMCCCH-2 (K)	1583
95	1657	1668	921.915.8	1841.813.1	1841.818.2	2.56	Th	2	34	0.00043	FSKPEDFDYOK +K_ MMCCCH-2 (K)	1659
96	1657	1668	921.918.5	1841.823.5	1841.818.2	2.35	Th	2	39	0.00012	FSKPEDFDYOK +K_ MMCCCH-2 (K)	1669
97	1723	1741	664.322.5	1326.630.5	1526.633.2	-0.53	Th	2	17	0.021	VLGKKEPMP +K_ MMCCCH-1 (K); Oxidación (M)	1738
98	1898	1904	667.801.8	1332.569.1	1332.588.9	9.15	Th	2	27	0.0021	YWDWTKP +K_ MMCCCH-2 (K)	1903
99	2094	2066	490.750.6	997.506.7	997.505.5	1.20	Th	0	22	0.007	PTKTH +K_ MMCCCH-2 (K)	2067
100	2094	2100	618.306.3	1294.602.0	1234.590.3	0.48	Th	1	26	0.0033	PHEREKE +K_ MMCCCH-2 (K)	2099
101	2129	2141	622.975.6	1865.755.0	1865.749.5	2.95	Th	0	24	0.0041	FKTSEDEHHGGQ +K_ MMCCCH-2 (K)	2131
102	2238	2249	778.879.3	1555.744.0	1555.744.0	0.00	Th	3	42	6.50E-05	LTIAEVDBHEKD +K_ MMCCCH-2 (K)	2247
103	2480	2467	622.798.3	1243.582.0	1243.575.5	2.01	Th	2	20	0.0094	AKPTDVE +K_ MMCCCH-2 (K)	2481
104	2512	2521	807.397.0	1612.779.4	1612.774.6	1.67	Th	0	52	0.00051	LEKQKEEDRT +K_ MMCCCH-2 (K)	2514
105	2595	2606	806.403.0	1610.791.5	1610.786.2	3.29	Th	2	34	0.00039	HDTSKQQLPSD +K_ MMCCCH-2 (K)	2601
106	2607	2612	520.779.7	1039.544.9	1039.544.6	0.29	Th	2	19	0.014	LRKMPY +K_ MMCCCH-2 (K)	2609
107	2766	2771	551.785.4	1101.550.2	1101.552.9	3.09	Th	1	25	0.0029	IFQDTH +K_ MMCCCH-2 (K)	2771
108	2808	2816	638.318.7	1274.622.9	1274.623.7	1.02	Th	3	27	0.002	LGGAERYK +K_ MMCCCH-2 (K)	2814

Figura 26 continuación

109	2946	2960	965.4091	1928.8637	1928.7965	2.64	T _h	3	43	5.50E-05	KXSTBSEDEYAESF +dK_MMCCM-2 (K)	2947
110	2950	2956	523.2850	1354.5555	1154.5465	6.01	T _h	1	38	0.00018	LTIDHVK +dK_MMCCM-2 (K)	2955
111	3076	3054	724.3611	1846.7077	1846.7040	2.63	T _h	2	15	0.03	FKCRPPFS +dK_MMCCM-2 (K)	3079

Figura 26 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr(tcfc)	pIsm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	25	41	1043.0270	2084.0394	2084.0347	2.26	T	1	49	1.36E-05	KNVQSLSSDEVIALEK +gk_MMCCCH-2 [K]	26
2	147	175	694.3710	1386.7275	1386.7217	4.16	T	1	19	0.014	ADIFHLRK +gk_MMCCCH-2 [K]	155
3	164	175	596.3166	1785.9100	1785.8965	5.44	T	1	43	5.03E-06	LFENYVFGHFR +gk_MMCCCH-2 [N]	187
4	249	271	987.4466	2959.3030	2959.3051	-1.72	T	1	30	0.001	GKPKNSADCAHHLHPSAEFR +gk_MMCCCH-2 [K]	250
5	291	293	610.9454	1820.9143	1820.9043	5.47	T	0	54	3.80E-06	GRAPADSEFYGR +gk_MMCCCH-2 [K]	284
6	419	446	846.4622	3381.9195	3381.9137	1.86	T	1	27	0.0021	QFTLVHFPKGRDKPPVVAQNLAVR + Desamidado (NO) gk_MMCCCH-2 [K]	428
7	429	446	752.0668	2253.1785	2253.1729	2.49	T	0	41	7.30E-05	GHEKPPVADANLAVR +gk_MMCCCH-2 [K]	433
8	462	466	486.7967	971.4589	971.4568	2.16	T	1	13	0.048	KADMR Lgk_MMCCCH-2 [K]	462
9	467	488	738.5959	2330.3539	2330.3365	5.48	T	1	69	1.10E-07	FQKMKVEGQATVEHALFAR +gk_MMCCCH-2 [K]	471
10	946	950	720.3436	2159.0089	2159.0065	-0.29	T	1	34	0.00037	NHGFTGGIPYRWTR +gk_MMCCCH-2 [K]	936
11	965	1052	1170.7141	7918.2410	7918.2306	1.48	T	1	13	0.047	DDLVSPGQHWTDIAKQVLLNFEDDFDFEYQFEHHPHALVSGNPPYMS SLR +gk_MMCCCH-2 [K]	1031
12	1062	1096	996.4616	1990.9087	1990.9068	1.21	T	0	76	2.92E-08	GKPYNTANCAIASAR +gk_MMCCCH-2 [K]	1063
13	1097	1115	827.0759	2478.2060	2478.2101	-1.05	T	0	66	1.50E-07	KPLGPFGLDSVINPDETR +gk_MMCCCH-2 [K]	1097
14	1113	1149	1190.5593	3568.6562	3568.6497	1.82	T	1	69	1.30E-07	VFDYKRNDFEYSLAFNGLSAGLER +gk_MMCCCH-2 [K]	1127
15	1395	1385	1271.2737	2810.7991	2810.7976	1.04	T	1	49	1.30E-05	GSAYAVPYQWYTKADSLPELRDATYFASR +gk_MMCCCH-2 [K]	1368
16	1409	1450	1371.8909	5483.5244	5483.5213	2.39	T	1	50	1.00E-05	DFQPELWLNKDFEYAVVMALEQNFCDTEQLLEHIALHSR +gk_MMCCCH-2 (K)	1418
17	1455	1480	1117.8749	3450.9028	3450.9070	-1.25	T	1	69	1.40E-07	ARYSLSLDYTAGDVFELHFAVVR +gk_MMCCCH-2 [N]	1456

Figura 26 continuación

18	1493	1507	721.6581	2161.9766	2161.9596	7.93	T	1	37	0.00031	KPPNEADCAVNER +OK_MMCCCH-2 (K)	1493
19	1493	1507	721.6617	2161.9834	2161.9594	1.85	T	1	49	1.306-05	KPPNEADCAVNER +OK_MMCCCH-2 (K)	1494
20	1508	1526	697.7535	2510.1351	2510.2185	5.61	T	0	20	0.011	KPQFFRMPPELNSDSMTLK +OK_MMCCCH-2 (K)	1508
21	1508	1539	625.9982	4124.9545	4124.9360	4.48	T	1	24	0.0041	KPQFFRMPPELNSDSMTLHNLPQDSFDYQNR +OK_MMCCCH-2 (K)	1525
22	1543	1564	1070.1987	3207.5652	3207.5448	6.39	T	1	23	0.0049	KYQNLQPHHFSKLNQIQAR +OK_MMCCCH-2 (K)	1555
23	1690	1704	531.2901	2125.1318	2125.1241	3.58	T	2	17	0.032	KEVSSITTEAHPER +OK_MMCCCH-2 (K)	1700
24	1757	1766	612.9799	1835.9150	1835.9128	1.20	T	1	14	0.041	LTVQFEDSKRR +OK_MMCCCH-2 (K)	1767
25	1949	1963	746.6661	2236.9824	2236.9795	3.98	T	0	39	0.00313	TQFYSKPEDFDNHR +OK_MMCCCH-2 (K)	1954
26	2085	2052	666.3516	1318.4887	1318.5243	3.34	T	1	21	0.0684	YDBKTK +OK_MMCCCH-2 (K)	2049
27	2116	2125	715.9641	1428.7136	1428.7105	2.17	T	1	21	0.0083	DIARISARR +OK_MMCCCH-2 (K)	2121
28	2218	2231	937.4800	1872.9454	1872.9444	0.53	T	1	19	0.014	DAVYVNPFAKGVK +OK_MMCCCH-2 (K)	2227
29	2228	2230	870.4218	1738.6291	1738.6235	3.16	T	1	20	0.011	GHSSEDAYTVR +OK_MMCCCH-2 (K)	2231
30	2527	2541	1067.5172	2013.0197	2013.0268	5.41	T	1	26	0.0627	KDYSLTASSEHNR +OK_MMCCCH-2 (K)	2527
31	2728	2739	958.0048	1913.9950	1913.9862	4.60	T	1	21	0.0074	IWAHWGALQYR +Desamidado (N3); OK_MMCCCH-2 (K)	2737
32	2755	2764	764.3823	1526.7500	1526.7439	4.00	T	0	33	0.00945	QPIKPFSESR +Desamidado (N3); OK_MMCCCH-2 (K)	2758
33	2866	2873	659.3026	1316.7107	1316.7050	4.33	T	1	15	0.029	YDITRYK +OK_MMCCCH-2 (K)	2870
34	3149	3155	629.3355	1256.6565	1256.6567	-1.75	T	1	19	0.013	KPYRRAAK +OK_MMCCCH-2 (K)	3149
35	167	178	590.9645	1769.8716	1769.8705	0.62	G	0	35	0.00027	KYQFGHTRLME +OK_MMCCCH-2 (K)	167
36	433	456	975.8562	2624.5466	2624.5429	1.30	G	2	21	0.0089	KPPYVADANLAVRNHRDLFAEE +OK_MMCCCH-2 (K)	433
37	456	461	1096.4998	2194.9950	2194.9941	0.41	G	2	35	0.00032	RFUNDKSYDGYEATVE +Desamidado (N3); OK_MMCCCH-2 (K)	471
38	1215	1235	721.6072	2882.9999	2882.9949	1.70	G	3	28	0.0017	HCKHDLHVSQDRFFLYE +OK_MMCCCH-2 (K)	1233
39	1292	1303	879.6667	1756.9189	1756.9182	0.46	G	0	49	1.29E-05	SIRSNFQIQKE +OK_MMCCCH-1 (K)	1302
40	1308	1320	904.9512	1607.8878	1607.8749	7.08	G	0	17	0.018	NIRKPHRFLICE +OK_MMCCCH-2 (K)	1311

Figura 26 continuación

41	1568	1320	904.9452	1807.8758	1807.8759	0.50	G	0	27	0.0022	MANFHGKPSLGE +dk_MIMCCH-2 (K)	1315
42	1554	1378	1043.5070	3127.4991	3127.4961	0.55	G	3	17	0.019	RGSVAVPYVWVTEKADSLPSLND +dk_MIMCCH-2 (K)	1368
43	1403	1422	911.4295	2761.2491	2791.2340	3.83	G	3	20	0.0092	NAVTSRDPQFELWLNKOPFE +dk_MIMCCH-2 (K)	1418
44	1952	1967	792.6805	2375.0195	2375.0205	-0.38	G	3	37	0.00021	FSZPEDTDFYHRRGYE +dk_MIMCCH-2 (K)	1954
45	1973	1990	817.0591	2449.1556	2448.1454	4.17	G	0	19	0.012	PVGMVSLSLHRYKESIGE +dk_MIMCCH-2 (K); Oxidación (H)	1986
46	2477	2484	644.8305	1287.6565	1287.6575	0.95	G	0	15	0.017	APFHRE +dk_MIMCCH-2 (K)	2482
47	3386	3405	659.3146	2629.2292	2629.2271	0.80	G	2	25	0.0032	LDHAVSLRQGHYHAEFTEK +dk_MIMCCH-2 (K)	3404
48	152	165	697.6934	2020.0584	2020.0513	3.95	C	2	13	0.047	ANKTSBAVDRIE +dk_MIMCCH-2 (K)	155
49	165	176	547.2858	1638.6555	1638.6593	3.39	C	0	24	0.0036	EKYQFQHHTL +dk_MIMCCH-2 (K)	167
50	277	296	993.7568	2648.2497	2648.2329	5.97	C	4	39	0.0014	DLTREHANPADSFDYGRLOY +dk_MIMCCH-2 (K)	284
51	354	379	743.3495	1484.7094	1483.7044	1.35	C	2	19	0.012	ILGAPTEMKV +dk_MIMCCH-2 (K); Oxidación (H)	372
52	423	445	872.8033	2615.3720	2615.3795	0.96	C	1	13	0.05	VHRPARGHEDRPPVACIARI +dk_MIMCCH-2 (K)	428
53	529	635	530.2519	1076.4892	1076.4848	4.09	C	0	19	0.014	VGGSENY +dk_MIMCCH-2 (K)	634
54	1007	1015	669.8724	1357.7902	1357.7465	2.77	C	1	30	0.0011	TDIAKIVLU +dk_MIMCCH-2 (K)	1011
55	1075	1080	544.7769	1087.5390	1087.5372	1.66	C	1	23	0.0054	QALQRY +dk_MIMCCH-2 (K)	1079
56	1798	1806	715.3770	1428.7995	1428.7323	3.04	C	1	14	0.041	LOHKEGY +dk_MIMCCH-2 (K)	1802
57	1526	1540	740.6843	2245.0312	2245.0235	4.32	C	2	36	0.0028	KHMIPDSFYGRIF +dk_MIMCCH-2 (K)	1526
58	1809	1806	784.9560	2350.0461	2350.0392	2.94	C	0	34	0.0045	FCVEGQGEONCKTRASSF +dk_MIMCCH-2 (K)	1802
59	1696	1702	607.3021	1212.5896	1212.5849	3.68	C	1	16	0.027	TLEKIF +dk_MIMCCH-2 (K)	1700
60	1708	1719	839.8457	1677.6768	1677.6651	7.03	C	0	16	0.023	KMNOADUSFDGY +dk_MIMCCH-2 (K)	1708
61	1801	1808	766.8377	1411.6607	1411.6595	0.52	C	0	15	0.035	SHRTFPPF +dk_MIMCCH-2 (K)	1803
62	1985	1995	850.4290	1698.8435	1698.8269	2.12	C	0	42	6.2E-05	IKGQGEADRVF +dk_MIMCCH-2 (K)	1986
63	1999	2003	459.2544	914.4942	914.4916	0.77	C	2	29	0.0046	ILKGF +dk_MIMCCH-2 (K)	2001

Figura 26 continuación

64	2455	2462	685.3270	1258.6395	1285.6373	1.71	C	1	18	0.017	KYEDTAL +8K_MMCCCH-2 (K)	2455
65	3403	2479	1128.0105	2254.0167	2254.0213	0.67	C	1	13	0.048	KACBHFEDVFDIAPF +8K_MMCCCH-2 (K)	2453
66	2754	2760	588.3320	1194.6494	1194.6471	1.95	C	1	22	0.0058	KQPLKPF +8K_MMCCCH-2 (K)	2754
67	2754	2760	588.3327	1194.6529	1194.6471	4.85	C	1	24	0.0041	KQPLKPF +8K_MMCCCH-2 (K)	2756
68	3235	3242	617.5142	1232.6139	1232.6111	2.27	C	0	27	0.002	TSARVKY +8K_MMCCCH-2 (K)	3240
69	365	175	556.6147	1672.0224	1672.8144	4.78	Th	1	16	0.025	FEKVOPGHR +8K_MMCCCH-2 (K)	167
70	164	191	703.8036	1405.5927	1405.5894	2.42	Th	1	33	0.00052	LEQDEFCS +8K_MMCCCH-2 (K)	161
71	247	260	631.6269	1691.8407	1691.8385	5.39	Th	2	17	0.021	LRGKDPESADCAHN +8K_MMCCCH-2 (K)	250
72	383	293	782.8985	1563.7015	1563.7028	-0.19	Th	3	47	2.00E-05	AKPADSFYGR +8K_MMCCCH-2 (K)	284
73	365	374	707.5312	1612.5478	1412.6469	0.71	Th	2	42	6.90E-05	LGGPTEBWRWS +8K_MMCCCH-2 (K)	372
74	467	472	538.7419	1075.4693	1075.4646	4.56	Th	0	33	0.046	FCNDK5 +8K_MMCCCH-2 (K)	471
75	554	565	911.8957	1621.7768	1621.7658	6.94	Th	1	18	0.016	LDPYTGTGRNP +8K_MMCCCH-2 (K)	562
76	629	636	582.7667	1163.5189	1163.5169	1.72	Th	1	16	0.024	VSGSERYS +8K_MMCCCH-2 (K)	634
77	893	904	904.8955	1807.7765	1807.7698	3.65	Th	1	21	0.0086	PHSEPKWOPSTE +8K_MMCCCH-2 (K)	898
78	1300	1308	716.3455	1430.6765	1430.6751	0.91	Th	2	25	0.0048	ICKEGHN +8K_MMCCCH-2 (K)	1302
79	1414	1419	564.7546	1127.4947	1127.4957	-0.99	Th	1	24	0.04	LWDNKG +8K_MMCCCH-2 (K)	1418
80	1525	1539	738.3547	2212.0422	2212.0371	2.31	Th	3	39	0.00027	LKHRLPUDSFYDNR +8K_MMCCCH-2 (K)	1526
81	1589	1605	735.3315	2202.9725	2202.9706	0.82	Th	2	18	0.017	ICVFQGGGONCKTRAGS +8K_MMCCCH-2 (K)	1600
82	1589	1605	735.3328	2202.9766	2202.9708	2.68	Th	2	21	0.0076	ICVFQGGGONCKTRAGS +8K_MMCCCH-2 (K)	1602
83	1800	1809	780.3729	1558.7313	1558.7279	2.18	Th	2	34	0.043	FSHKTFNPF +8K_MMCCCH-2 (K)	1803
84	1952	1963	627.2849	1678.8327	1678.8247	4.26	Th	2	48	1.70E-05	PSK9EDTFDYHR +8K_MMCCCH-2 (K)	1954
85	1985	1994	776.8962	1551.7778	1551.7715	4.06	Th	2	28	0.00015	KQDEEABRV +8K_MMCCCH-2 (K)	1986
86	2193	2199	667.3018	1332.5691	1332.5809	3.15	Th	2	27	0.0021	YWDWTKP +8K_MMCCCH-2 (K)	2199

Figura 26 continuación

87	2200	2206	562.3079	1122.6012	1122.5995	1.51	Th	2	19	0.013	MSKLPRL+dk_MNACCH-2 [K]	2202
88	2225	2229	462.2217	922.4269	922.4259	3.35	Th	2	32	0.0056	FANGV+dk_MNACCH-2 [K]	2227
89	2230	2237	632.7946	1253.3747	1253.5693	4.27	Th	2	18	0.016	KSEDAYT+dk_MNACCH-2 [K]	2231
90	2804	2815	937.4586	1872.9026	1872.9073	2.31	Th	2	15	0.024	MANLOEKKKERR+Desamidado [K]; dk_MNACCH-2 [K]; Oxidación [K]	2811
91	2941	2950	720.8495	1439.6663	1439.6662	4.74	Th	9	49	1.90E-03	IDEANDLQNA+dk_MNACCH-2 [K]	2948
92	3009	3015	573.2770	1144.5395	1144.5335	5.24	Th	0	16	0.023	KEHEGSH+dk_MNACCH-2 [K]	3010
93	3309	3405	520.2615	1038.5085	1038.5056	2.79	Th	1	28	0.0015	IAGPTKD+dk_MNACCH-2 [K]	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 27

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	M _r (calc)	ppm	Enzima	M/C	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	141	785.4103	2953.2092	2553.2001	3.87	Y	1	17	0.02	GETDPYKHFDSAMLYR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	131
2	142	149	556.3403	1310.6661	1310.6653	0.69	Y	1	29	0.0013	RMNDLYR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	142
3	157	166	823.3675	1644.7204	1644.7242	-2.32	Y	1	24	0.0036	EAHKKFEDR +Desamidado (NQ); +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	151
4	184	192	726.9430	1451.0715	1451.0549	4.48	Y	1	26	0.0026	CPREDAKDR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	150
5	553	560	683.8685	1325.7224	1325.7266	4.37	Y	2	25	0.0026	VKFDKVPK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	554
6	566	570	485.2447	988.4743	988.4749	-0.21	Y	1	19	0.014	RNVDR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	566
7	581	587	547.8374	1093.6602	1093.6569	3.02	Y	1	18	0.018	KALALK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	581
8	588	606	781.0366	1340.0879	1340.0845	1.45	Y	1	14	0.036	EDRSAGFGCLGAFHGEPK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	590
9	645	661	1156.5381	4630.1233	4630.1069	3.65	Y	1	18	0.015	HEFDGALFYWDWTSPLNHPELADHEAVYDFEDGVEK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	671
10	682	699	620.2961	2477.1555	2477.1434	4.84	Y	1	21	0.0075	HNPWFDSHIDYDKTIR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	685
11	700	719	987.7724	2660.2954	2660.2945	0.34	Y	1	20	0.01	SVQKLFDFEFGHYSIAK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	704
12	776	789	957.9297	1913.9846	1913.9862	-0.68	Y	1	39	0.0012	RYAWQALQYK +Desamidated (ND); +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	787
13	790	804	1003.4713	2004.9281	2004.9270	3.04	Y	0	48	1.60E-05	GKPYRVANCRVTSAR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	791
14	858	863	520.2980	1038.5932	1038.5793	4.72	Y	1	17	0.023	KLEAK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	858
15	916	924	740.9735	1479.7924	1479.7539	0.27	Y	1	16	0.025	VRYDITEK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	918
16	953	965	633.3304	1902.9693	1902.9662	1.63	Y	1	43	5.20E-05	DLFKQPSVHHEPK +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	956
17	986	1000	1027.0563	2052.9579	2052.0561	0.93	Y	1	66	2.50E-07	KHEMLSLGEFSIR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	989
18	1092	1114	791.8748	2163.4629	2163.4682	0.54	Y	1	41	8.30E-05	ORHYETNPHHGKITHENEITR +K ₁ MMCC ₂ -2 (K)	1104

Figura Z7 continuación

19	1118	1162	1414.4266	5653.6775	5653.6850	-1.34	T	1	23	0.0049	DSEFHSDFYEDVVAUQDNFCDEQLEUENAUHLSGGK	1162
20	1159	1203	353.1902	1056.5487	1056.5538	-4.93	T	1	17	0.02	+K_MMCCCH-2 (K)	1199
21	1395	1403	727.8665	1453.7585	1453.7599	-0.96	T	2	30	0.0092	KEITELDKR +K_MMCCCH-2 (K)	1395
22	1395	1403	598.3055	1791.8946	1791.8999	2.62	T	2	15	0.031	KEITELDKR +2 +K_MMCCCH-2 (K)	1395, 1402
23	1417	1445	1125.2129	3172.5168	3172.5020	4.42	T	1	16	0.024	ADHSSGFGAIASHAIPLCPRAAKR +K_MMCCCH-2 (K)	1444
24	1479	1489	778.4003	2332.1790	2332.1827	-1.59	T	1	46	2.606-05	KHGAVYGLPYVWVTLR +K_MMCCCH-2 (K)	1473
25	1747	1758	613.9767	1838.9082	1838.9012	9.81	T	1	21	0.0094	LRYDITELDK +K_MMCCCH-2 (K)	1749
26	1913	1932	758.3794	1510.7442	1510.7425	1.19	T	1	28	0.0016	KRVNPPPFAB +K_MMCCCH-2 (K)	1924
27	2190	2199	482.2465	1964.9570	1964.9593	-1.58	T	2	20	0.0094	EIKKQHVVR +2 +K_MMCCCH-2 (K)	2192, 2194
28	2121	2149	846.4189	3557.5464	3557.5678	2.42	T	1	40	9.106-05	TSADYQFQKTFEDCHHSQVLOGTK +K_MMCCCH-2 (K)	2131
29	2299	2324	715.0167	2142.0253	2142.0236	2.15	T	1	32	0.00069	LYTKOMEDALTAHGAR +K_MMCCCH-2 (K)	2302
30	2359	2367	798.3493	1470.6836	1470.6813	1.56	T	1	35	0.00031	DKLENDPER +K_MMCCCH-2 (K)	2360
31	2507	2514	682.9539	1362.6932	1362.6953	5.80	T	1	40	0.0003	KLEHFELEK +K_MMCCCH-2 (K)	2507
32	2515	2520	571.7606	1441.3066	1441.5074	-0.70	T	1	21	0.0086	QKEEDR +K_MMCCCH-2 (K)	2516
33	2595	2609	983.5398	1965.0571	1965.0493	4.02	T	1	15	0.035	HPTGNGCLPBDLK +K_MMCCCH-2 (K)	2601
34	2621	2636	902.7097	2405.1073	2405.1065	-0.42	T	1	51	8.80E-05	FHEKHECHHEIDIVR +K_MMCCCH-2 (K)	2624
35	2637	2651	1069.5260	2137.0374	2137.0374	0.00	T	1	74	4.00E-08	KRHSLSHFEAEER +K_MMCCCH-2 (K)	2637
36	2761	2818	1324.8440	6619.1856	6619.1192	9.73	T	1	16	0.023	DYNEAFQCTKFGFSSPYLALGALLEDNKCFEYQVREHREHVAUSSAER +K_MMCCCH-2 (K)	2771
37	2851	2883	1009.2193	4032.8483	4032.8246	3.35	T	0	51	7.2DE-06	VYFAHAGSCASDIAHVPHPFNVESVNDQFTR +K_MMCCCH-2 (K)	2852
38	2897	2919	1066.5216	3196.5430	3196.5287	4.47	T	1	75	3.50E-08	FNKFTBLNLSHGHHEEEELR +K_MMCCCH-2 (K)	2909
39	2938	2947	730.4158	1458.8170	1458.8056	0.96	T	1	17	0.02	TIAYVYVYK +K_MMCCCH-2 (K)	2943

Figura 27 continuación

40	3903	3921	625.7742	2474.3007	2474.2879	5.17	1	3	29	0.0013	RYOHELDASLUPAPIVE +6K_MMCCCH-2 (K)	3003
41	123	151	616.0595	3693.9132	3693.9049	2.25	6	2	21	0.0073	KSFDPFVYBZUSANLVRKRNDEUREE +6K_MMCCCH-2 (K)	123
42	123	151	673.0134	4033.0366	4033.0350	0.40	6	2	16	0.033	KGFTDPVYKHOSANLVRNINDEUREE +2 6K_MMCCCH-2 (K)	123, 142
43	123	151	739.7915	3693.9211	3693.9049	4.39	6	2	22	0.0063	KGFTDPVYKHOSANLVRNINDEUREE +6K_MMCCCH-2 (K)	131
44	158	176	846.8878	2536.1407	2536.1329	3.08	6	3	19	0.011	APFKFQEDRSYGYOATAE +6K_MMCCCH-2 (K)	151
45	435	442	676.3240	1350.6335	1350.6312	1.78	6	1	25	0.0026	NIERMIHE +6K_MMCCCH-2 (K)	438
46	526	544	777.7499	3330.7280	3330.7264	1.03	6	1	17	0.0021	YDSTIKLASSLPHASVIRE +6K_MMCCCH-2 (K)	530
47	589	612	990.1188	2967.3345	2967.3320	0.84	6	1	16	0.024	OKSAGSFOQLGAPHFGEFKWCPSE +6K_MMCCCH-2 (K)	606
48	825	841	820.3725	2458.0957	2458.0940	0.69	6	1	38	0.00015	HSVFRVFDYKTRFNVE +6K_MMCCCH-2 (K)	835
49	847	860	965.0152	1928.0158	1928.0077	4.20	6	0	23	0.085	FNGLSISQIKKLE +6K_MMCCCH-2 (K)	858
50	1055	1076	810.1688	3236.6462	3236.6402	1.92	6	1	24	0.0041	NALLKGSVAVPPYDWTYKRIE +2 6K_MMCCCH-2 (K)	1053, 1060
51	1095	1076	725.6330	2896.5029	2896.5102	-2.52	6	1	37	0.00021	NALLKGSVAVPPYDWTYKRIE +6K_MMCCCH-2 (K)	1060
52	1097	1110	989.8601	1997.5057	1997.5054	0.15	6	1	23	0.0051	TWPFHGHKITHENE +6K_MMCCCH-2 (K)	1104
53	1376	1396	864.3901	2590.1494	2590.1428	2.16	6	3	20	0.011	ASTDSMHTDEGHTPEYVBERQ +6K_MMCCCH-2 (K)	1395
54	1397	1413	665.6099	2658.1103	2658.1125	-0.79	6	1	13	0.046	ITOLDKRCQLSIVKALE +2 6K_MMCCCH-2 (K)	1402, 1410
55	1397	1413	774.4366	2320.2879	2320.2828	2.37	6	1	22	0.0664	ITOLDKRCQLSIVKALE +6K_MMCCCH-2 (K)	1410
56	1495	1522	866.6912	3462.7358	3462.7381	-0.66	6	3	21	0.0086	LLTVSHTDPETGRDIPNFFGSRIFE +6K_MMCCCH-2 (K)	1518
57	1755	1765	570.8042	3708.7909	3708.7913	-0.18	6	2	27	0.002	TLDKMANLKHDE +6K_MMCCCH-2 (K)	1758
58	2069	2100	854.4125	1706.6104	1706.6098	5.68	6	2	20	0.011	IGGMNLUHEERE +6K_MMCCCH-2 (K)	2069
59	2647	2661	715.6751	2144.0035	2144.0095	-2.60	6	4	35	0.00935	AEEILDALYRQHDE +6K_MMCCCH-2 (K)	2656
60	3090	3097	652.8023	1363.5901	1363.5879	1.66	6	0	15	0.028	IGKAVSYE +6K_MMCCCH-2 (K)	3093
61	59	68	725.3450	1456.6755	1456.6731	1.65	6	1	17	0.022	VLSGPFSEMRW +6K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	67
62	94	100	573.2991	3144.5836	3144.5838	-0.17	6	1	20	0.011	TVKAELEF +6K_MMCCCH-2 (K)	96

Figura 27 continuación

63	150	171	605.9445	1617.8116	1817.8043	4.02	C	1	17	0.021	HKCEDRSVDGY +dK_MMCCCH-2 (K)	151
64	587	595	638.7999	1275.5852	1275.5805	3.66	C	0	31	0.00081	KEDKSAAGGF +dK_MMCCCH-2 (K)	590
65	715	723	655.8767	1308.7387	1309.7336	5.50	C	1	20	0.0094	TSIAKQVLL +dK_MMCCCH-2 (K)	719
66	763	768	544.7769	1087.5581	1087.5472	0.83	C	1	22	0.0087	QALQNY +dK_MMCCCH-2 (K)	767
67	918	928	856.8350	1711.8515	1711.8491	1.40	C	2	14	0.0058	KYDTERIHD. +dK_MMCCCH-2 (K)	924
68	1330	1337	620.3548	1238.6950	1238.6944	0.48	C	1	24	0.004	KLDITKAL +dK_MMCCCH-2 (K)	1335
69	1431	1446	536.3694	2086.0473	2086.0492	-0.91	C	1	13	0.045	HALPPLCPAPASURF +dK_MMCCCH-2 (K)	1444
70	1583	1586	544.2603	1086.5861	1086.5856	0.46	C	0	13	0.046	VGGNEFY +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
71	1649	1654	752.3298	2253.9675	2253.9657	1.69	C	2	14	0.044	MINDHTHDFSKPEDI +dK_MMCCCH-2 (K)	1659
72	1816	1827	753.6887	1504.7227	1504.7232	-0.27	C	1	22	0.0051	SEBCHSILKY +dK_MMCCCH-2 (K)	1826
73	2476	2488	923.9230	1845.8315	1845.8244	3.90	C	1	22	0.0063	THSNAPTIQVFEY +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
74	2656	2656	793.3514	1584.6882	1584.6879	0.25	C	1	32	0.00057	ALQNFESKGGY +dK_MMCCCH-2 (K)	2656
75	2738	2749	856.3745	1710.7343	1710.7343	-0.29	C	2	19	0.013	ADSGSNBFFPKY +dK_MMCCCH-2 (K)	2748
76	2946	2960	945.4053	1928.7960	1928.7885	-1.35	C	1	23	0.0059	HSGTOSDDEYAGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	2947
77	2961	2971	769.8809	1537.7673	1537.7673	0.00	C	1	19	0.013	VILGGAKEMPW +dK_MMCCCH-2 (K)	2967
78	1	9	725.3376	1448.6606	1448.6567	2.69	Th	2	25	0.0032	MTPEELKY +dK_MMCCCH-2 (K)	7
79	38	56	661.8804	2582.0183	2582.0108	2.90	Th	2	15	0.03	VCPDNDNRNDPCHERAGD +dK_MMCCCH-2 (K)	53
80	59	69	785.3757	1568.7368	1568.7367	0.06	Th	3	58	1.70E-06	VLSGSPBEMKIQ +dK_MMCCCH-2 (K)	67
81	78	84	569.2871	1136.5595	1136.5530	5.19	Th	1	50	9.20E-06	LSDFVHK +dK_MMCCCH-2 (K)	84
82	138	124	571.2761	1140.5417	1140.5386	2.72	Th	0	23	0.0046	VHF#EKG +dK_MMCCCH-2 (K)	123
83	431	439	707.8539	1413.6893	1413.6883	0.71	Th	3	24	0.004	SELEHEKM +dK_MMCCCH-2 (K)	438
84	521	531	764.3844	1526.7542	1526.7538	0.26	Th	3	44	3.80E-05	VDHEVDSTKL +dK_MMCCCH-2 (K)	530
85	585	591	585.8102	1169.6958	1169.6902	4.79	Th	1	55	0.00031	ULKEERS +dK_MMCCCH-2 (K)	590

Figura 27 continuación

86	601	612	906.8973	1807.7801	1807.7698	5.70	Th	1	18	0.018	FHGEPRWCFSE +dK_MMCOH-2 (K)	606
87	666	672	607.2836	1212.5526	1212.5485	3.86	Th	2	23	0.0095	LADHERY +dK_MMCOH-2 (K)	671
88	673	685	930.4165	1858.6186	1858.6105	-0.65	Th	2	14	0.044	YDFEDEVKRNPN +dK_MMCOH-2 (K)	681
89	831	837	612.7872	1223.5568	1223.5533	5.31	Th	2	26	0.0023	VFQYNTN +dK_MMCOH-2 (K)	835
90	1156	1164	690.8394	1259.6642	1259.6584	4.60	Th	2	15	0.028	ILGGKGRYS +dK_MMCOH-2 (K)	1162
91	1119	1121	768.6633	1296.9682	1296.9617	2.83	Th	1	17	0.02	FOKSDNDEATKTH +2 dK_MMCOH-2 (K)	1221, 1230
92	1219	1232	653.9581	1458.9376	1458.8916	3.01	Th	1	26	0.0024	FOKSDNDEATKTH +dK_MMCOH-2 (K)	1230
93	1580	1587	572.7737	1143.5329	1143.5271	5.16	Th	1	18	0.016	VGGRKPYG +dK_MMCOH-2 (K)	1583
94	1657	1668	921.9181	1841.8216	1841.8182	1.85	Th	2	34	0.00042	FSKFEDTFDYCK +dK_MMCOH-2 (K)	1659
95	1657	1668	921.9170	1841.8194	1841.8182	0.65	Th	2	45	3.20E-05	FSKPEFTFYCK +dK_MMCOH-2 (K)	1668
96	1733	1741	664.3219	1326.6292	1326.6312	-1.43	Th	2	17	0.019	VLGGKEMP +dK_MMCOH-1 (K); Oxidación (M)	1738
97	1894	1904	850.4182	1698.8178	1698.8116	3.65	Th	5	36	0.00024	NAVFTWQNTVP +dK_MMCOH-2 (K)	1903
98	2084	2088	469.7590	987.5035	987.5055	-2.01	Th	0	20	0.0095	FTRKH +dK_MMCOH-2 (K)	2067
99	2094	2100	618.3051	1234.5957	1234.5905	4.29	Th	1	29	0.0019	LHEJKE +dK_MMCOH-2 (K)	2099
100	2129	2141	622.9244	1865.7415	1865.7495	1.07	Th	0	16	0.0025	HKXSEDCHPGGQ +dK_MMCOH-2 (K)	2131
101	2236	2249	614.3950	1626.7815	1626.7811	1.54	Th	4	45	3.49E-05	ITTAEYDNLKDA +dK_MMCOH-2 (K)	2247
102	2512	2521	807.3978	1612.7810	1612.7786	2.67	Th	0	25	0.0035	LEKXKEEDRY +dK_MMCOH-2 (K)	2514
103	2595	2606	806.4025	1610.7904	1610.7882	2.61	Th	2	31	0.00079	HPTSGKQIPSD +dK_MMCOH-2 (K)	2601
104	2607	2612	570.7792	1039.5439	1039.5446	-0.67	Th	2	26	0.0027	LKMPY +dK_MMCOH-2 (K)	2609
105	2786	2773	551.7890	1101.5634	1101.5529	9.62	Th	1	29	0.0013	IFQQYK +dK_MMCOH-2 (K)	2771
106	2808	2816	638.3207	1274.6268	1274.6217	4.09	Th	3	27	0.0018	LGGAEKYS +dK_MMCOH-2 (K)	2814
107	2946	2950	963.4058	1926.7372	1926.7386	-0.73	Th	3	37	0.0002	IKSRTDSDEYAGSF +dK_MMCOH-2 (K)	2947
108	2990	2996	583.2842	1164.5539	1164.5485	4.55	Th	1	33	0.00017	LTEDHYK +dK_MMCOH-2 (K)	2996

Figura 27 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mórfact	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	26	41	1043.6210	2034.0274	2084.0347	-2.50	Y	1	32	0.00666	KNVDSLSDEVALIK +K_MMCCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.3692	1386.7236	1385.7217	2.51	Y	1	15	0.021	AGTFLEKK +K_MMCCCH-2 (K)	155
3	164	175	596.3080	1785.9223	1785.6985	2.13	Y	1	33	0.00008	IFERKLPQHTR +K_MMCCCH-2 (K)	167
4	249	271	987.4402	2959.2989	2959.3051	-2.10	Y	1	39	0.00012	GKDPNSADCAHRLHFFPPEFDR +K_MMCCCH-2 (K)	250
5	261	293	610.9490	1929.8169	1829.8049	6.56	Y	0	55	3.40E-06	EHAKPADSFDYGR +K_MMCCCH-2 (K)	284
6	359	377	949.4008	2945.1805	2945.1810	-0.16	Y	1	14	0.041	AGDFLLGGFFEMKVGQYR +K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	372
7	429	446	751.0674	2253.1805	2253.1729	3.97	Y	0	52	6.60E-06	GHFIDQPPVPAZARLAVR +K_MMCCCH-2 (K)	433
8	467	489	706.5944	2830.3483	2830.5385	2.50	Y	1	55	2.90E-07	FQNDKSDVGYATVGFHALPAR +K_MMCCCH-2 (K)	471
9	489	497	726.8430	1451.6715	1451.6649	4.48	Y	1	26	0.0026	CFAPDAER +K_MMCCCH-2 (K)	495
10	936	950	1080.0154	2158.0152	2158.0095	3.10	Y	1	43	5.40E-05	KHGFTGGLPTWDWTR +K_MMCCCH-2 (K)	936
11	1062	1096	696.4625	1990.9104	1990.9063	2.06	Y	0	38	0.00014	GRPYTRNCANR +K_MMCCCH-2 (K)	1083
12	1097	1115	827.0796	2478.2169	2478.2101	2.78	Y	0	65	3.10E-07	KPLDFGLDVRPDETR +K_MMCCCH-2 (K)	1097
13	1123	1143	1130.9587	3568.0543	3568.0497	1.32	Y	1	70	1.10E-07	VFDYKNNFDYESLAPNGLSLQDR +K_MMCCCH-2 (K)	1127
14	1355	1365	1271.2097	3810.7971	3810.7876	-0.10	Y	1	27	0.00018	GSAAVPTVDWTEKADSLPINDATYNER +K_MMCCCH-2 (K)	1368
15	1409	1450	1037.7139	5483.5330	5483.5213	2.13	Y	1	37	0.00028	DFCFELVDRDFYENVMALAEIDMFCDFEELHFNALHSR +K_MMCCCH-2 (K)	1418
16	1455	1480	836.6586	3350.6054	3350.6070	-0.48	Y	1	54	3.80E-06	AKYLSLDYTFADPVEFLHANYDR +K_MMCCCH-2 (K)	1456
17	1493	1507	731.6621	2161.9645	2161.9564	2.36	Y	1	40	1.60E-05	KKFTNEARCAVNEAR +K_MMCCCH-2 (K)	1494
18	1542	1566	1070.1956	3207.5449	3207.5416	6.77	Y	1	22	0.0058	VGYNDLDFHFSIGRLDQIQAR +K_MMCCCH-2 (K)	1556
19	1660	1704	709.3653	2125.1324	2125.1243	4.33	Y	2	16	0.026	KEVSSUTLEKRLR +K_MMCCCH-2 (K)	1700

Figura 27 continuación

20	1767	1768	612.9789	1635.9176	1855.9138	2.61	F	1	14	0.043	RYVCFERSLR +K_MMCCH-2 (K)	1767
21	1804	1825	945.4659	2683.3760	2883.3533	4.48	F	1	14	0.044	TPNPFKARIEFEGEVYTER +K_MMCCH-2 (K)	1811
22	1949	1963	555.7521	2236.9795	2236.9725	2.64	F	0	55	2.90E-06	TOEFKPEDTQVHR +K_MMCCH-2 (K)	1954
23	2045	2052	680.9509	3318.6872	3318.6843	2.27	F	1	15	0.034	YDHTKIK +K_MMCCH-2 (K)	2049
24	2228	2239	870.4226	1738.8507	1738.8236	4.08	F	1	14	0.038	GVKSEDAYTVR +K_MMCCH-2 (K)	2231
25	2463	2463	838.9299	1677.8492	1677.8436	0.95	F	1	13	0.048	RFKYHTDALK +K_MMCCH-2 (K)	2455
26	2527	2541	1007.5158	2013.0130	2013.0028	2.09	F	1	66	2.60E-07	KDVTSTASEIELR +K_MMCCH-2 (K)	2527
27	2728	2759	957.9997	1911.9848	1913.9862	-0.68	F	1	39	0.00012	HWAWQALQVYR +Desamidado (NQ); +K_MMCCH-2 (K)	2737
28	2795	2796	764.3805	1526.7464	1526.7439	1.54	F	0	33	0.00054	QPLRFFSESIR +Desamidado (NQ); +K_MMCCH-2 (K)	2758
29	2856	2873	650.3618	1316.7099	1316.7050	2.51	F	1	18	0.016	YDHTVKIK +K_MMCCH-2 (K)	2870
30	3148	3155	629.3543	1256.6541	1256.6587	-3.58	F	1	16	0.020	KRPYNAAK +K_MMCCH-2 (K)	3149
31	167	178	590.3642	1769.8707	1769.8785	0.11	G	0	27	0.0018	KVOPGHTRLME +K_MMCCH-2 (K)	167
32	466	461	1098.4980	2194.3815	2194.3841	-1.18	G	2	24	0.0036	RFOHKSVDGELATVE +Desamidado (NQ); +K_MMCCH-2 (K)	471
33	1215	1235	721.6050	2882.3908	2982.3949	-1.42	G	3	36	0.00026	HTOQHDLRHRVGRFRKYE +K_MMCCH-2 (K)	1235
34	1292	1303	879.4659	1756.3172	1756.9182	-0.37	G	0	36	0.00028	SRSAPLOKQE +K_MMCCH-2 (K)	1302
35	1308	1330	904.9471	1807.8796	1807.8749	2.60	G	0	29	0.0014	NRANRHRGPGICE +K_MMCCH-2 (K)	1315
36	1403	1422	921.4155	2761.2246	2761.2330	-2.97	G	3	73	0.0054	NAVTSRDPQPELWENKDFYE +K_MMCCH-2 (K)	1418
37	1952	1967	792.6802	2375.0189	2375.0205	-0.67	G	3	38	0.00092	FSKPEDTQVHRFGYE +K_MMCCH-2 (K)	1954
38	1973	1990	811.7284	2432.3535	2432.3505	5.39	G	0	21	0.008	PVGMVSSSHRYKQKQE +K_MMCCH-2 (K)	1986
39	2477	2484	644.8361	1787.6576	1787.6573	0.16	G	0	25	0.003	APFERKYE +K_MMCCH-2 (K)	2482
40	3097	3011	677.7571	953.4956	955.5004	-0.94	G	0	13	0.045	RAKKE +K_MMCCH-2 (K)	3010
41	3386	3405	658.3147	2629.2297	2629.2271	0.99	G	2	30	0.00091	LDHAYSIRDGHRHAGPTKD +K_MMCCH-2 (K)	3404
42	277	296	683.7569	2648.2489	2648.2329	6.00	C	4	32	0.00056	DLTRHAKFASTDYGRIGY +K_MMCCH-2 (K)	284

Figura 2.7 continuación

43	304	373	743.3618	1484.7091	1484.7044	3.17	C	2	13	0.047	ILGGPTENKRW +K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	372
44	432	443	793.9136	1585.8166	1585.8174	-0.50	C	0	18	0.018	DRPPYPVACQRL +K_MMCCCH-2 (K)	432
45	629	635	539.2512	1076.4678	1076.4648	2.69	C	0	13	0.048	VGGSEKY +K_MMCCCH-2 (K)	634
46	1075	1080	544.7763	1087.5381	1087.5372	0.83	C	1	22	0.0067	ICALBRY +K_MMCCCH-2 (K)	1079
47	1212	1220	875.0869	1622.1371	1622.2424	-2.06	C	4	14	0.04	RYEITQQLHDLHUVGNF +K_MMCCCH-2 (K)	1212
48	1416	1421	570.7307	1138.4646	1136.4641	0.61	C	1	17	0.018	IRNRDFY +K_MMCCCH-2 (K)	1416
49	1599	1606	784.9536	2350.0391	2350.0392	-0.04	C	0	20	0.01	ICVEGGGFONCKYAGSF +K_MMCCCH-2 (K)	1602
50	1696	1702	602.9007	1212.5869	1212.5849	1.65	C	1	21	0.0086	ITLRKRF +K_MMCCCH-2 (K)	1700
51	1708	1719	938.8414	1677.6683	1677.6651	1.91	C	0	22	0.007	IKNNOAIDSPOGY +K_MMCCCH-2 (K)	1708
52	1782	1786	1014.5062	2025.9976	2026.9921	2.76	C	1	25	0.0029	KPOSALPOLYDREY +K_MMCCCH-2 (K)	1782
53	1801	1809	706.8369	1411.6591	1411.6595	-0.21	C	0	28	0.0017	SHKTFNRF +K_MMCCCH-2 (K)	1801
54	1992	1995	709.9458	2112.0155	2112.0061	4.92	C	1	25	0.0031	IRNWKQDQDADRVF +K_MMCCCH-2 (K)	1996
55	1999	2003	456.2542	914.4939	914.4936	0.44	C	2	26	0.0027	LURGF +K_MMCCCH-2 (K)	2001
56	2455	2462	645.3264	1298.6361	1269.6373	0.67	C	1	18	0.017	RYDTQAL +K_MMCCCH-2 (K)	2455
57	2463	2479	1128.0186	2254.0225	2254.0253	-1.20	C	1	20	0.013	KAQSHPEWDFDPAFF +K_MMCCCH-2 (K)	2463
58	2754	2760	598.3123	1194.6501	1194.6471	2.51	C	1	23	0.0045	KCPKLPF +K_MMCCCH-2 (K)	2758
59	2885	2872	675.3627	1344.7108	1344.7112	-0.30	C	1	18	0.014	RYDQKVL +K_MMCCCH-2 (K)	2870
60	3255	3252	617.3138	1232.6190	1292.6111	1.54	C	0	19	0.012	ITSANWRY +K_MMCCCH-2 (K)	3240
61	3399	3406	576.8050	1151.6954	1151.6886	5.04	C	0	17	0.022	IAGFTKDL +K_MMCCCH-2 (K)	3404
62	184	191	703.8036	1405.9926	1405.9894	2.28	Th	1	41	8.50E-05	LEODFFCK +K_MMCCCH-2 (K)	191
63	247	260	631.6191	1261.6956	1261.6905	1.70	Th	2	15	0.035	LRRGDPNSADCAHN +K_MMCCCH-2 (K)	250
64	283	293	782.6574	1563.7002	1563.7029	-1.66	Th	3	32	0.00071	AKPADSFYGR +K_MMCCCH-2 (K)	284
65	365	372	585.7805	1169.5464	1169.5461	0.26	Th	1	40	9.60E-05	LGGFTEMY +K_MMCCCH-2 (K)	372

Figura 27 continuación

66	467	472	528.7411	1075.4677	1075.4644	3.07	Th	0	13	0.049	FRNDSS +dK_MMCCCH-2 (N)	471
67	629	636	582.7669	1163.5191	1163.5160	1.88	Th	1	21	0.0374	VGSSEKYS +dK_MMCCCH-2 (K)	534
68	893	904	934.8973	1807.7801	1807.7698	5.70	Th	1	18	0.032	RHGEPAWCPSPF +dK_MMCCCH-2 (K)	898
69	1300	1308	716.3438	1430.6731	1430.6751	-1.47	Th	2	14	0.044	KRREGREN +dK_MMCCCH-2 (N)	1302
70	1414	1419	564.7560	1127.4975	1127.4957	1.60	Th	1	21	0.0277	LWDRRD +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
71	1525	1539	736.3560	2211.0451	2212.0371	4.02	Th	0	40	0.78E-05	LRHNEFQDSFDYGNR +dK_MMCCCH-2 (K)	1576
72	1589	1605	735.3304	2202.9695	2202.9708	-0.59	Th	2	15	0.03	RVQGGEDNCKTRASS +dK_MMCCCH-2 (K)	1600
73	1589	1605	735.3321	2202.9744	2202.9708	1.58	Th	2	38	0.00018	EVVEGGEQNCETKASS +dK_MMCCCH-2 (N)	1602
74	1800	1809	783.3717	1558.7288	1558.7279	0.54	Th	2	16	0.026	FSHKTFPAPF +dK_MMCCCH-2 (N)	1805
75	1952	1953	627.2238	1878.8294	1878.8247	2.50	Th	2	52	6.28E-05	FSKPEPTFRYR +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
76	1985	1994	776.9353	1551.7760	1551.7715	2.90	Th	2	24	0.0038	RQDLEADRV +dK_MMCCCH-2 (K)	1986
77	2193	2196	667.5086	1332.5856	1332.5849	1.28	Th	2	27	0.032	VWDAWTRP +dK_MMCCCH-2 (K)	2198
78	2300	2306	562.3071	1122.5997	1122.5995	0.18	Th	2	19	0.014	ISKLPDL +dK_MMCCCH-2 (K)	2302
79	2325	2329	482.2312	922.4278	922.4259	2.66	Th	2	22	0.0067	FAKSY +dK_MMCCCH-2 (K)	2327
80	2330	2337	632.7943	1283.5739	1283.5693	3.72	Th	2	18	0.016	IRSEDAVT +dK_MMCCCH-2 (K)	2331
81	2459	2465	509.2319	1016.4482	1016.4460	3.25	Th	1	21	0.0082	FTKMA +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (N)	2461
82	2941	2950	710.8395	1499.6645	1499.6602	2.99	Th	3	46	2.60E-05	LDYAKDKMA +dK_MMCCCH-2 (K)	2948
83	3009	3015	573.2796	1144.5325	1144.5325	-0.87	Th	0	17	0.02	IKGIGSH +dK_MMCCCH-2 (K)	3010
84	3309	3405	520.7633	1038.5080	1038.5056	2.31	Th	1	27	0.0022	IASPTED +dK_MMCCCH-2 (K)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Peptido". "Sitio_mod" indica el sitio de conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 28

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (calc)	p.p.m	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	143	589.3978	2553.2020	2353.1001	0.81	Y	1	27	0.0018	GFDPVRRHQSANLVR +K_MIMCCH-2 (K)	131
2	142	149	656.3417	1510.6669	1310.6655	2.82	F	1	26	0.0026	KNINDLR +6K_MIMCCH-2 (K)	142
3	157	166	822.8806	1643.7467	1643.7402	3.95	F	1	18	0.015	EAFHFQETR +6K_MIMCCH-2 (K)	161
4	252	281	735.7524	3673.7255	3673.7008	6.72	Y	1	20	0.011	TYVDSHGASINRPHSSVIAFEENAPRTR +6K_MIMCCH-2 (K)	280
5	460	477	781.3948	2341.1625	2341.1624	0.04	Y	1	29	0.0012	TSANVDFIKTTDSVQHK +6K_MIMCCH-2 (K)	469
6	470	488	748.0457	2241.1153	2241.1100	2.36	Y	1	41	7.70E-05	TIDSQHKAGIFAVLGGK +6K_MIMCCH-2 (K)	477
7	555	560	663.6673	1325.7201	1325.7186	2.64	F	2	21	0.0076	VAFDSVPR +6K_MIMCCH-2 (K)	554
8	553	560	442.9155	1325.7240	1325.7166	5.59	Y	2	15	0.033	VAFKQVPR +6K_MIMCCH-2 (K)	557
9	566	570	485.2460	968.4774	968.4743	3.48	Y	1	15	0.029	RQVDR +6K_MIMCCH-2 (K)	566
10	591	587	547.8371	1093.6596	1093.6569	2.47	Y	1	29	0.0014	KALALK +6K_MIMCCH-2 (K)	581
11	598	606	781.0366	2340.0820	2340.0805	1.07	Y	1	29	0.0014	EPKSAGGFQIGAFHSEK +6K_MIMCCH-2 (K)	593
12	591	615	1004.4717	3010.3834	3010.3742	6.38	F	1	18	0.017	SAGGFQOLSAPFSGEKWQSPLEAK +6K_MIMCCH-2 (K)	606
13	645	681	1544.3801	4630.1185	4630.1063	2.63	F	1	27	0.0021	HOYEGALPVDWDTSPHHLPELADHEKYVDFEDGYEK +6K_MIMCCH-2 (K)	671
14	683	699	620.2958	2477.1540	2477.1434	4.28	Y	1	26	0.0027	HMPWFDGHDFYDKTTR +6K_MIMCCH-2 (K)	685
15	700	719	867.7756	2660.2959	2660.2945	0.53	Y	1	51	6.89E-05	SVQNKLFQPFEGWVTSIAK +6K_MIMCCH-2 (K)	704
16	700	804	669.3168	2004.5237	2004.9120	3.34	F	0	35	0.0053	GEPFWANLAVISMK +6K_MIMCCH-2 (K)	791
17	805	835	777.1814	3880.8796	3880.8771	1.67	F	1	14	0.044	EPLPEFELSANITDHTVHSVPPRWFYK +6K_MIMCCH-2 (K)	823
18	855	863	520.2996	1036.5846	1036.5783	5.97	Y	1	13	0.046	KLEAK +6K_MIMCCH-2 (K)	858

Figura 28 continuación

19	679	804	500.2816	956.5487	998.9470	1.60	T	1	14	0.042	KSSLVK +6K_MMCCCH-2 (K)	879
20	953	965	635.3298	1902.9577	1902.9662	0.79	T	1	42	0.506-05	DLFKQPSVHFPR +6K_MMCCCH-2 (K)	936
21	986	1000	1027.0387	2052.0628	2052.0561	3.21	T	1	77	2.23E-08	KMIHLISGELELR +6K_MMCCCH-2 (K)	986
22	1048	1060	809.3545	1825.0416	1825.0423	0.38	T	3	36	0.0025	LVVYVENALUKK +6K_MMCCCH-2 (K)	1060
23	1092	1114	791.8783	3169.4681	3169.4682	4.71	T	1	34	0.0041	IQHRYETFFHGRKTHENETFR +6K_MMCCCH-2 (K)	1104
24	1199	1203	353.1910	1056.5512	1056.5538	-2.46	T	1	17	0.019	KRRYB +6K_MMCCCH-2 (K)	1199
25	1331	1338	620.9541	1238.6937	1238.6944	0.57	T	1	18	0.014	LDITLALK +6K_MMCCCH-2 (K)	1338
26	1395	1403	596.9055	1791.8948	1791.8899	2.75	T	2	17	0.021	KDITGLDKR +2 6K_MMCCCH-2 (K)	1395, 1402
27	1395	1403	488.5956	1453.7648	1453.7599	9.37	T	2	17	0.019	KDITGLDKR +6K_MMCCCH-2 (K)	1402
28	1417	1445	1125.2156	3372.6249	3372.6020	6.82	T	1	30	0.0092	ADHSSDSFQALASPHALPFCSPAASRS +6K_MMCCCH-2 (K)	1444
29	1473	1489	779.4014	2332.1823	2332.1827	0.17	T	1	42	6.06E-05	RKGAVVGLPYWVWVFLPR +6K_MMCCCH-2 (K)	1473
30	1721	1746	1067.4750	3259.4031	3259.3937	2.68	T	1	34	0.0042	TASDCEADGYFVLGGEEAPWAFDR +6K_MMCCCH-2 (K)	1738
31	1890	1912	879.9322	4394.1247	4394.1048	4.53	T	1	14	0.043	HGSSVAVPYWDWTKRPHRPHLFTDKKEYDYDWR +6K_MMCCCH-2 (K)	1915
32	1923	1932	756.9902	1510.7458	1510.7425	2.25	T	1	25	0.0052	NKVWPSPEAR +6K_MMCCCH-2 (K)	1924
33	2067	2076	748.8656	1491.7567	1491.7544	1.54	T	1	25	0.0032	KHAUPNDVFK +6K_MMCCCH-2 (K)	2067
34	2068	2093	759.7166	2256.1280	2256.1194	3.61	T	1	14	0.041	HAVPNDVFKYELGYR +6K_MMCCCH-2 (K)	2076
35	2100	2109	492.2479	1962.9526	1962.9601	1.27	T	2	22	0.0068	EKDKQHFVR +2 6K_MMCCCH-2 (K)	2102, 2104
36	2123	2149	890.4148	3557.6501	3557.6376	-2.19	T	1	34	0.0036	TSADYQFQKTKTSECHHGGOIFVGGTK +6K_MMCCCH-2 (K)	2131
37	2359	2367	736.9485	1470.6825	1470.6813	0.82	T	1	32	0.0009	DKLFRDPER +6K_MMCCCH-2 (K)	2360
38	2461	2490	642.8189	3650.8694	3650.8636	1.45	T	0	16	0.024	BPFRFSDPNSHATHSNAPKPTDVFVEYR +6K_MMCCCH-2 (K)	2481
39	2507	2514	682.9516	1362.6906	1362.6893	3.89	T	1	33	0.0049	KLEHELEK +6K_MMCCCH-2 (K)	2507
40	2508	2516	746.3801	1490.7457	1490.7439	1.21	T	1	21	0.0082	LEHELEKQK +6K_MMCCCH-2 (K)	2516
41	2595	2609	983.5291	1965.0437	1965.0403	-2.95	T	1	18	0.018	HETSEKOLFSDLR +6K_MMCCCH-2 (K)	2601

Figura 28 continuación

65	84	100	573.2996	1144.5846	1144.5836	0.61	C	1	23	0.0048	TVKAELE +6K_MMCCCH-2 (K)	96
66	160	171	606.9437	1817.8152	1817.8053	5.00	C	1	15	0.0035	RKFDRESDVGY +6K_MMCCCH-2 (K)	161
67	429	450	990.8041	2969.3906	2969.3899	0.24	C	1	41	7.40E-05	EGEELNENRQIHERKOEORPY +6K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	436
68	584	595	787.4019	1572.7891	1572.7898	2.16	C	2	37	0.0002	ALLKEKNSAGGF +6K_MMCCCH-2 (K)	350
69	715	723	655.9740	1309.7334	1309.7316	1.57	C	1	20	0.0062	TSIAKQVEL +6K_MMCCCH-2 (K)	719
70	783	786	544.7759	1087.5373	1087.5372	0.09	C	1	30	0.0011	QALQRY +6K_MMCCCH-2 (K)	787
71	830	838	741.3391	1494.6635	1484.6646	-0.74	C	2	27	0.002	NVFDYKTRF +6K_MMCCCH-2 (K)	835
72	918	928	856.9315	1711.8484	1711.8491	-0.41	C	2	42	7.10E-05	XVDITERUHL +6K_MMCCCH-2 (K)	924
73	944	955	621.4181	1640.9517	1640.8494	2.01	C	3	24	0.0036	DLKPAISLQDLF +6K_MMCCCH-2 (K)	946
74	1013	1018	516.7581	1031.5017	1031.4998	1.84	C	0	14	0.0028	ESIAKF +6K_MMCCCH-2 (K)	1017
75	1130	1137	630.3596	1238.6965	1238.6944	1.76	C	1	21	0.0073	RLDTRAL +6K_MMCCCH-2 (K)	1135
76	1649	1648	1127.8058	2253.3591	2253.3637	-2.04	C	2	24	0.0037	NINDHTRDFSKPDTF +6K_MMCCCH-2 (K)	1659
77	1649	1669	979.4358	2935.2705	2935.2759	-1.84	C	4	15	0.009	NLNDHTRDFSKPDTFYQKF +6K_MMCCCH-2 (K)	1668
78	1732	1742	792.8743	1583.7340	1583.7364	-1.52	C	1	14	0.009	TVLEGEREDRW +6K_MMCCCH-2 (K)	1738
79	1818	1827	753.8698	1504.7253	1504.7232	1.40	C	1	22	0.0067	SEEDIGSLKY +6K_MMCCCH-2 (K)	1826
80	1913	1921	778.6339	1555.6532	1555.6541	-0.58	C	2	13	0.048	TDKSYDVM +6K_MMCCCH-2 (K)	1915
81	2476	2488	923.9221	1845.8199	1845.8244	3.02	C	3	25	0.0092	THSNRKFIDVFFY +6K_MMCCCH-2 (K)	2481
82	2656	2666	793.3526	1564.6910	1564.6879	2.02	C	1	23	0.0052	ZLQDDESHGGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2656
83	2713	2723	787.9119	1573.8092	1573.8075	1.14	C	1	17	0.001	RKHGSHRGPY +6K_MMCCCH-2 (K)	2714
84	2809	2815	538.2600	1074.5055	1074.5056	-0.09	C	0	31	0.00079	IGGAEKY +6K_MMCCCH-2 (K)	2814
85	2946	2960	965.4038	1928.7931	1928.7986	-2.85	C	3	27	0.0021	RKSGTDSDDTVAGSF +6K_MMCCCH-2 (K)	2947
86	2961	2971	769.8021	1537.7606	1537.7673	1.50	C	1	13	0.048	VILGGAREAPW +6K_MMCCCH-2 (K)	2967
87	1	9	733.2350	1464.6554	1464.6516	2.53	Th	2	25	0.003	MTFELKTY +6K_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	7

Figura 28 continuación

88	36	56	551.6832	2582.9279	2582.9108	6.58	Th	2	75	0.0029	VCFDNDNRNDHCEKAGD +dK_MMCCCH-2 (K)	53
89	59	69	795.3786	1566.7426	1566.7367	3.76	Th	3	54	4.20E-06	VUGFSEMKWQ +dK_MMCCCH-2 (K)	67
90	78	84	559.2875	1136.5504	1136.5535	5.56	Th	1	45	3.20E-05	LSDTWIK +dK_MMCCCH-2 (K)	84
91	116	124	571.2790	1140.5435	1140.5365	4.30	Th	0	74	0.0042	VHSPERG +dK_MMCCCH-2 (K)	123
92	125	135	815.8901	1629.7856	1629.7610	2.82	Th	1	17	0.02	FTDPPVWFHQS +dK_MMCCCH-2 (K)	151
93	272	282	848.3809	1694.7673	1694.7717	-2.89	Th	1	22	0.0055	FEERAPHTRKQ +Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	280
94	431	439	797.8525	1413.6904	1413.6883	1.49	Th	3	40	0.00011	ISLENEZM +dK_MMCCCH-2 (K)	428
95	571	590	797.8452	1413.6759	1413.6698	4.32	Th	2	69	1.20E-07	YDTEVEVDTK +dK_MMCCCH-2 (K)	539
96	595	591	585.9106	1169.6955	1169.6902	5.47	Th	1	35	0.00032	LUREKS +dK_MMCCCH-2 (K)	596
97	601	612	904.8967	1807.7789	1807.7696	5.03	Th	1	22	0.0064	FHGEFKWCPSPE +dK_MMCCCH-2 (K)	606
98	666	672	607.2630	1212.5514	1212.5485	2.59	Th	2	23	0.0047	LADHEKY +dK_MMCCCH-2 (K)	671
99	821	829	617.8124	1233.6102	1233.6084	3.08	Th	1	22	0.0063	YTKESHVP +dK_MMCCCH-2 (K)	823
100	692	697	565.2518	1124.4891	1124.4848	3.62	Th	1	29	0.0014	FDYKTN +dK_MMCCCH-2 (K)	695
101	954	959	529.7658	1057.5169	1057.5154	1.42	Th	1	14	0.042	LFKUPS +Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	956
102	1111	1120	741.3787	1492.7429	1492.7386	2.77	Th	1	18	0.017	ITTRPKDEL +dK_MMCCCH-2 (K)	1117
103	1156	1164	630.8383	1259.6621	1259.6584	2.94	Th	2	18	0.013	LLGKSKYS +dK_MMCCCH-2 (K)	1162
104	1219	1232	653.9537	1298.8392	1298.8316	3.88	Th	1	25	0.0032	FDKSDNNDFATKH +dK_MMCCCH-2 (K)	1230
105	1579	1587	665.8126	1329.6106	1329.6064	3.16	Th	2	20	0.011	VVGGKEPYG +dK_MMCCCH-2 (K)	1583
106	1657	1666	921.9197	1841.8249	1841.8182	3.64	Th	2	32	0.00358	FSKPEDTFDYCK +dK_MMCCCH-2 (K)	1659
107	1657	1666	921.9213	1841.8280	1841.8182	5.32	Th	2	44	4.20E-05	FSKPEDTFDYCK +dK_MMCCCH-2 (K)	1668
108	1733	1741	664.3256	1326.6367	1326.6312	4.15	Th	2	14	0.04	VJGGNEMP +dK_MMCCCH-1 (K); Oxidación (N)	1738
109	1894	1904	850.4187	1698.8228	1698.8116	6.59	Th	5	34	0.00044	VAVPYDOWTIP +dK_MMCCCH-2 (K)	1903
110	2064	2069	499.7599	997.5052	997.5055	-0.60	Th	0	19	0.016	FTRRH +dK_MMCCCH-2 (K)	2067

Figura 23 continuación

111	2094	2100	618.3057	1234.5968	1234.5903	5.10	Th	1	26	0.0023	HEHRE +BK_MMCC4-2 (K)	2099
112	2129	2141	622.9242	1865.7507	1865.7495	0.64	Th	0	26	0.0026	KCTBEDCHRGSO +BK_MMCC4-2 (K)	2131
113	2236	2249	614.4017	1636.7888	1626.7811	4.75	Th	4	38	0.0015	LTTAEVONLKDA +BK_MMCC4-2 (K)	2247
114	2480	2487	622.7998	1243.5692	1243.5795	4.56	Th	2	17	0.019	KAPYDVE +BK_MMCC4-2 (K)	2483
115	2512	2521	536.6098	1612.7799	1612.7766	2.05	Th	0	41	8.60E-05	LEKKEEDRT +BK_MMCC4-2 (K)	2514
116	2595	2596	806.4045	1610.7845	1610.7862	5.15	Th	2	26	0.0025	HETSGRQIPSD +BK_MMCC4-2 (K)	2601
117	2607	2612	520.7819	1039.5493	1039.5416	4.52	Th	2	25	0.0035	ELKMPY +BK_MMCC4-2 (K)	2609
118	2756	2771	551.7871	1103.5597	1103.5529	6.17	Th	3	25	0.0029	HFQTR +BK_MMCC4-2 (K)	2773
119	2809	2816	581.7783	1161.5416	1161.5375	3.44	Th	2	19	0.045	HGGAEVYS +BK_MMCC4-2 (K)	2814
120	2946	2960	965.4075	1928.6004	1928.7986	0.93	Th	3	68	1.40E-07	HKSGTQSDRYAGSF +BK_MMCC4-2 (K)	2947
121	2990	2996	581.2851	1104.5556	1104.5485	5.10	Th	1	33	0.0047	LTDDHVK +BK_MMCC4-2 (K)	2996

Figura 2.8 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	M{catc}	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	25	41	1043.0237	2084.0328	2094.0347	-0.31	T	1	54	4.20E-06	RNYDGLSSDRVLALEK +K_MIMCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.9700	1386.7254	1386.7217	2.67	T	1	22	0.007	ADTFILNKA +K_MIMCCH-2 (K)	155
3	164	175	596.3071	1785.8996	1785.9285	0.62	T	1	36	0.0024	LPEKVDPSHRT +K_MIMCCH-2 (K)	167
4	249	271	987.4432	2959.3077	2959.3051	0.68	T	1	28	0.0018	GKDPKSADEAHRIHHPMEFFDR +K_MIMCCH-2 (K)	250
5	281	295	610.9421	18229.8079	18229.8046	1.97	T	0	55	3.30E-06	RHAKPADSEDYGR +K_MIMCCH-2 (K)	284
6	359	377	849.5962	2545.1869	2545.1810	-5.39	T	1	14	0.041	AGDFLLGEPTEMKWGFYR +K_MIMCCH-2 (K); Oxidación (M)	372
7	419	446	677.3699	3381.6130	3381.6152	-0.06	T	1	45	3.20E-05	QPTLVHHPAKERDKPPVVAQANLAVR +K_MIMCCH-2 (K); Desamidado (M); +K_MIMCCH-2 (K)	428
8	429	446	754.0659	2253.1759	2253.1729	1.26	T	0	50	1.10E-05	GHFDRPPVACANLAVR +K_MIMCCH-2 (K)	433
9	467	486	904.4543	2630.3410	2630.3365	0.88	T	1	70	9.50E-08	FQNDKSDGVDATVEHFAIPAR +K_MIMCCH-2 (K)	471
10	908	924	620.2817	3477.0979	3477.1186	-7.59	T	1	18	0.017	KEACCVHSMVAVPPHVR +K_MIMCCH-2 (K)	908
11	936	950	1080.0153	2158.0121	2158.0095	1.20	T	1	40	0.0061	KHGFTSGIPTYDWR +K_MIMCCH-2 (K)	936
12	1082	1096	998.4623	1990.0100	1990.0083	1.86	T	0	14	0.041	GEPPYNTANCAIASMR +K_MIMCCH-2 (K)	1083
13	1097	1115	827.0796	2478.2169	2478.2101	2.78	T	0	81	6.40E-09	NFLQPFGLDVMNPDETR +K_MIMCCH-2 (K)	1097
14	1123	1149	1490.9598	3568.6576	3568.6467	2.21	T	1	57	1.80E-07	VFDYKMFEDYCSLAFNGLSAQLDR +K_MIMCCH-2 (K)	1127
15	1295	1311	764.0689	2289.1849	2289.1715	9.88	T	1	17	0.012	SAPFOIKKGEYENIAS +K_MIMCCH-2 (K)	1302
16	1355	1365	953.7957	3810.7937	3810.7876	1.60	T	1	61	8.90E-07	GSAVAVPYDWDWTEKDSLINDATYR +K_MIMCCH-2 (K)	1369
17	1409	1450	1371.8844	5463.5085	5463.5213	-2.33	T	1	33	0.00017	DFQPELWDRDPTFENVMLALFDNFDQFQLELHVALHVR +K_MIMCCH-2 (K)	1419
18	1455	1480	1117.8724	3550.5955	3550.6070	-4.49	T	1	58	1.50E-06	ARYSLSLDYTFAPDFVFLHFAVDK +K_MIMCCH-2 (K)	1455

Figura 28 continuación

19	1483	1307	721.6637	2161.9693	2161.9594	4.53	T	1	55	1.50E-06	KRPYNADCAVREAR +dk_MIMCCH-2 (K)	1484
20	1508	1339	825.9695	4124.9609	4124.9560	6.04	T	1	35	0.0033	KPLDPPNNFELNSDSBFLKRLPQDSFYQNR +dk_MIMCCH-2 (K)	1536
21	1542	1364	1070.1924	3297.5553	3297.5448	3.50	T	1	18	0.018	YOYDNLQNFHSQKLDQIQAR +dk_MIMCCH-2 (K)	1556
22	1625	1446	906.8055	2717.5946	2717.5887	2.17	T	1	22	0.0062	FCHS4LRHLGVPLESHGFDK +dk_MIMCCH-2 (K)	1633
23	1757	1765	612.9796	1835.9108	1835.9129	2.23	T	1	18	0.013	LVTYQFEDSLR +dk_MIMCCH-2 (K)	1767
24	1949	1963	560.2521	2236.5792	2236.5735	2.55	T	0	52	6.90E-05	TOEFSRPFDTQYFR +dk_MIMCCH-2 (K)	1954
25	2095	2052	660.3497	1318.6848	1318.6843	0.98	T	1	21	0.0073	YDIEKTLK +dk_MIMCCH-2 (K)	2049
26	2058	2059	509.4533	4816.9121	4816.9070	2.81	T	1	14	0.036	YDDTFKRVHR +dk_MIMCCH-2 (K)	2065
27	2228	2199	870.4176	1738.8706	1738.8735	-1.73	T	1	14	0.036	GVRKSDAYTVR +dk_MIMCCH-2 (K)	2231
28	2527	2541	1607.5128	2013.0110	2013.0069	1.04	T	1	56	2.30E-06	KDVTSLJASHENLR +dk_MIMCCH-2 (K)	2527
29	2755	2764	764.3820	1526.7494	1526.7439	3.60	T	0	19	0.012	QPLRPFSEK +Desamidado (ND); dk_MIMCCH-2 (K)	2758
30	2866	2873	659.3597	1316.7086	1316.7050	-0.15	T	1	13	0.016	YDIEKVLK +dk_MIMCCH-2 (K)	2873
31	3148	3155	629.3353	1256.6561	1256.6587	-2.07	T	1	17	0.02	KRPYNAK +dk_MIMCCH-2 (K)	3149
32	466	481	1098.4951	2194.9757	2194.9641	-3.83	G	2	25	0.0035	RFQNDKSYDGYGATVE +Desamidado (ND); dk_MIMCCH-2 (K)	471
33	1215	1155	962.1380	2883.8922	2883.3769	4.58	G	3	15	0.093	ITQRLHDLQVUGHFFLRYE +Desamidado (ND); dk_MIMCCH-2 (K)	1233
34	2477	2464	644.8370	1287.6594	1287.6573	1.63	G	0	15	0.031	APFKVE +dk_MIMCCH-2 (K)	2482
35	1252	1303	596.6456	1756.9153	1756.9182	-1.76	G	0	21	0.098	SRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302
36	1293	1309	879.4651	1756.9156	1756.9182	-1.42	G	0	39	0.00011	SRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302
37	1292	1303	879.4656	1756.9170	1756.9182	-0.68	G	0	39	0.00012	SRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302
38	1292	1305	879.4707	1756.9259	1756.9162	4.36	G	0	25	0.0026	SRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302
39	1306	1320	603.6327	1867.8762	1867.8749	0.72	G	0	16	0.023	MRS4FRKPGICE +dk_MIMCCH-2 (K)	1315
40	1790	1303	667.3554	1999.0444	1999.0448	-0.20	G	1	17	0.02	HESRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302
41	1290	1303	1600.5361	1999.0476	1999.0468	6.40	G	1	65	3.00E-05	HESRS4FLOKRE +dk_MIMCCH-2 (K)	1302

Figura 28 continuación

42	466	461	732.3397	2193.9973	2194.0001	-1.28	G	2	15	0.032	RFQNDKSVGGYQATVE +dK_MMCCCH-2 (K)	471
43	466	461	1008.0266	2193.9986	2194.0001	-0.68	G	2	16	0.036	RFQNDKSVGGYQATVE +dK_MMCCCH-2 (K)	471
44	466	461	732.3409	2194.0058	2194.0001	0.32	G	2	16	0.026	RFQNDKSVGGYQATVE +dK_MMCCCH-2 (K)	471
45	1952	1967	594.7676	2375.0212	2375.0205	0.29	G	5	19	0.037	FSXPEDTFDTHREBYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
46	1952	1967	792.6822	2375.0247	2375.0205	1.77	G	5	21	0.0099	FSXPEDTFDTHREBYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
47	3286	3405	677.4151	2629.2235	2629.2271	-1.57	G	2	15	0.081	LDHAYSIRDSGHYIAGPIKD +dK_MMCCCH-2 (K)	3404
48	3286	3405	658.2136	2629.2253	2629.2271	-0.68	G	2	13	0.045	LDHAYSIRDSGHYIAGPIKD +dK_MMCCCH-2 (K)	3404
49	1403	1422	931.4198	2761.2376	2761.2330	1.67	G	3	14	0.028	MAVTSRDPPELWDRKDRYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
50	1215	1235	961.6065	2892.3976	2892.3949	0.90	G	3	32	0.0065	ITQQLHDLHDLHVGNFFFLXE +dK_MMCCCH-2 (K)	1233
51	1215	1235	721.6078	2892.4021	2892.3949	2.46	G	3	18	0.038	ITQQLHDLHDLHVGNFFFLXE +dK_MMCCCH-2 (K)	1233
52	1973	1990	617.0586	2948.1541	2948.1454	3.59	G	0	16	0.036	PVGMSSVSSIRHINQOQDE +dK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	1986
53	277	296	865.7546	2648.2419	2648.2329	2.40	C	4	32	0.0017	DLTRHAKPAPDSFDYGRIGY +dK_MMCCCH-2 (K)	284
54	315	325	808.4200	1614.8254	1614.8188	4.09	C	1	13	0.049	IGERAAKERTF +dK_MMCCCH-2 (K)	321
55	629	635	539.2531	1076.4917	1076.4848	6.37	C	0	19	0.034	VGGSEKY +dK_MMCCCH-2 (K)	624
56	1075	1080	564.7759	1087.5373	1087.5372	0.09	C	1	30	0.0011	QALZKY +dK_MMCCCH-2 (K)	1079
57	1125	1134	854.8457	1707.6768	1707.6763	0.35	C	3	20	0.011	DYKARFEDYEY +dK_MMCCCH-2 (K)	1127
58	1165	1177	696.9915	1791.9685	1791.9593	5.13	C	3	15	0.031	LIHERGQSALVRF +dK_MMCCCH-2 (K)	1176
59	1526	1540	749.6949	2246.0590	2246.0245	5.12	C	2	38	0.0015	RHMLPQDSFDYGNRF +dK_MMCCCH-2 (K)	1525
60	1696	1702	607.3009	1212.5872	1212.5849	1.90	C	1	17	0.022	TTLERHF +dK_MMCCCH-2 (K)	1700
61	1706	1719	639.8434	1677.6723	1677.6651	4.35	C	0	28	0.0035	MMQADDSPEGY +dK_MMCCCH-2 (K)	1708
62	1803	1809	706.8369	1411.6522	1411.6595	2.62	C	0	16	0.026	SHKTFPRFF +dK_MMCCCH-2 (K)	1802
63	1985	1995	850.4283	1698.6421	1698.6399	1.30	C	0	39	0.0014	IKDGEADREVF +dK_MMCCCH-2 (K)	1996
64	2001	2011	736.8464	1451.6763	1451.6755	1.93	C	1	28	0.0014	IKGFEQSASVSE +dK_MMCCCH-2 (K)	2001

Figura 28 continuación

65	2463	2479	1128.0177	2254.0208	2254.0253	-1.95	C	1	23	0.0055	KAOSSHPEDFDADPF +BK_MMCCCH-2 (K)	2463
66	2754	2760	598.3302	1194.6458	1194.6471	-1.00	C	1	25	0.0033	KOPFKPF +BK_MMCCCH-2 (K)	2754
67	2754	2760	598.3841	1194.6537	1194.6471	5.32	C	1	14	0.0041	KOPFKPF +BK_MMCCCH-3 (K)	2758
68	2865	2872	573.3649	1344.7152	1344.7112	2.97	C	1	19	0.012	RYDHSVL +BK_MMCCCH-2 (K)	2870
69	3235	3242	517.3129	1232.6112	1232.6111	0.09	C	0	34	0.00039	TSANVKN +BK_MMCCCH-2 (K)	3240
70	3399	3406	576.8040	1151.5934	1151.5896	3.21	C	0	23	0.005	JAGPTKOL +BK_MMCCCH-2 (K)	3404
71	184	191	709.3063	1408.5980	1408.5894	6.12	Th	1	29	0.0013	LEQBEFCX +BK_MMCCCH-2 (K)	191
72	247	257	785.8502	1509.6979	1509.6916	4.01	Th	1	20	0.0099	URGKOPNSADC +BK_MMCCCH-2 (K)	250
73	283	293	782.8611	1563.7077	1563.7026	3.28	Th	3	34	0.00038	JAKPADSFDYGR +BK_MMCCCH-2 (K)	284
74	365	372	585.7808	1169.5461	1169.5461	0.00	Th	1	31	0.00085	UGGPTEMA +BK_MMCCCH-2 (K)	372
75	431	437	569.2877	1136.5609	1136.5576	2.90	Th	1	15	0.034	KORPPVP +BK_MMCCCH-2 (K)	433
76	629	636	502.7676	1163.5208	1163.5169	2.18	Th	1	22	0.0064	VGGSERYS +BK_MMCCCH-2 (K)	634
77	895	904	904.8957	1807.7799	1807.7696	5.03	Th	1	22	0.0064	PHGPPVVEPPE +BK_MMCCCH-2 (K)	896
78	1124	1129	569.7510	1137.4875	1137.4801	6.51	Th	1	13	0.049	4DYNN +BK_MMCCCH-2 (K)	1127
79	1525	1539	738.3566	1212.0481	1212.0371	4.93	Th	3	49	1.30E-05	UKH8HPOUSFDYQNR +BK_MMCCCH-2 (K)	1526
80	1589	1605	735.3315	1202.9728	1202.9708	0.31	Th	2	18	0.015	ICVEDEGEQNCXKAGS +BK_MMCCCH-2 (K)	1600
81	1589	1605	735.3331	1202.9776	1202.9709	3.09	Th	2	34	0.00042	ICVEDEGEQNCXKAGS +BK_MMCCCH-2 (K)	1602
82	1800	1809	780.3743	1558.7540	1558.7279	3.91	Th	2	24	0.004	PSHRTFPNPF +BK_MMCCCH-2 (K)	1805
83	1952	1963	627.2844	1878.8314	1878.8247	3.57	Th	2	47	2.00E-05	FSXPEDFDYHR +BK_MMCCCH-2 (K)	1954
84	1985	1994	776.8969	1551.7780	1551.7715	4.29	Th	2	20	0.0095	IKGCEADRV +BK_MMCCCH-2 (K)	1986
85	2193	2199	667.3088	1332.5931	1332.5869	6.39	Th	2	30	0.0011	YWDWTRP +BK_MMCCCH-2 (K)	2199
86	2700	2705	562.3095	1127.6045	1127.5995	4.45	Th	2	21	0.0077	PKLPPDL +BK_MMCCCH-2 (K)	2702
87	2725	2729	462.2244	922.4301	922.4259	4.66	Th	2	24	0.0099	FAKDY +BK_MMCCCH-2 (K)	2727

Figura 28 continuación

28	2941	2950	720.5015	1439.6684	1438.5502	5.70	Th	3	46	2.60E-05	LDKANDKWA +cK_MMCCH-2 (K)	2948
29	3009	3015	573.2734	1144.5322	1144.5335	-1.14	Th	0	16	0.025	LKHGSH +cK_MMCCH-2 (R)	3010
30	3020	3026	582.1909	1322.5671	1322.5642	2.29	Th	2	19	0.011	YWDWTKS +cK_MMCCH-2 (K)	3025
31	3399	3405	520.2607	1038.5069	1038.5059	1.25	Th	1	27	0.002	IAQPTKD +cK_MMCCH-2 (R)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KLH1 o KLH2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio de conjugación de lisina para KLH1 o KLH2.

Figura 29

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (calc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	124	141	785.4094	2559.2064	2353.2403	2.68	T	1	15	0.034	GETDPVVK-HQ5ANLVK +K_MMCCCH-2 (K)	131
2	142	149	653.3414	1310.6682	1310.6653	2.21	T	1	29	0.0012	KMHQETR +K_MMCCCH-2 (K)	142
3	157	165	548.9237	1643.7464	1643.7402	3.71	T	1	21	0.008	EAFHKFQEDR +K_MMCCCH-2 (K)	163
4	184	192	485.9379	1451.6719	1451.6643	4.82	T	1	14	0.039	EPRDPAER +K_MMCCCH-2 (K)	190
5	553	560	663.6693	1323.7240	1323.7166	5.58	T	2	22	0.0058	NRFDVFR +K_MMCCCH-2 (K)	554
6	565	570	485.2459	968.4772	968.4749	2.37	T	1	19	0.034	KNDVR +K_MMCCCH-2 (K)	566
7	581	590	733.9166	1465.8246	1465.8214	2.18	T	2	30	0.0011	KALALSEDK +K_MMCCCH-2 (K)	581
8	588	605	781.0376	2340.0917	2340.0845	3.05	T	1	15	0.031	EDKSGAGFDQLGAPHGPK +K_MMCCCH-2 (K)	590
9	591	615	1603.4722	3010.3949	3010.3742	5.88	T	1	16	0.027	SAGSFDQLGAFHSEPKWPSFASR +K_MMCCCH-2 (K)	606
10	582	609	620.2965	2477.1567	2477.1434	5.97	T	1	15	0.03	HHPWFQGHGHTVDKTTTR +K_MMCCCH-2 (K)	605
11	760	719	887.7751	2660.3034	2660.2945	3.98	T	1	20	0.0097	AVQNKLFQEPFEGHVTSIK +K_MMCCCH-2 (K)	704
12	778	789	958.0043	1813.9041	1813.9862	4.13	T	1	15	0.03	HWAWQALQKYR +Desamidado (NQ); +K_MMCCCH-2 (K)	787
13	790	804	1003.4770	2604.9394	2604.9230	8.73	T	0	31	7.20E-09	GRPNVANCAVTSIR +K_MMCCCH-2 (K)	791
14	858	863	520.3001	1028.5957	1028.5783	7.05	T	1	15	0.028	RLEAK +K_MMCCCH-2 (K)	858
15	859	867	699.5604	1396.7061	1396.7030	2.91	T	1	15	0.034	LEAKSODR +K_MMCCCH-2 (K)	863
16	879	884	520.2828	998.5511	998.5470	4.11	T	1	14	0.04	KSSLVK +K_MMCCCH-2 (K)	879
17	953	965	638.3318	1502.9735	1502.9662	3.64	T	1	48	1.50E-05	DLFQPSVHFEPR +K_MMCCCH-2 (K)	956
18	986	1000	655.0270	2052.0591	2052.0561	1.46	T	1	23	0.0047	KRIEMSLGELESIR +K_MMCCCH-2 (K)	986

Figura 29 continuación

19	1048	1060	913.5313	1825.0481	1825.0473	2.48	Y	1	35	0.0023	UVVVVFNALLK+dk_MMCCCH-2 (K)	1060
20	1092	1124	791.8763	2163.4760	2163.4692	2.47	Y	1	42	6.40E-05	QHMYETFPFHGKHENEHETR+dk_MMCCCH-2 (K)	1104
21	1199	1203	353.1923	1056.5556	1056.5538	1.61	Y	1	17	0.018	IKRFR+dk_MMCCCH-2 (K)	1189
22	1395	1409	486.5970	1453.7692	1453.7569	6.40	Y	2	31	0.00982	KDHQLDRE+dk_MMCCCH-2 (K)	1395
23	1473	1489	778.4048	2332.1925	2332.1827	4.20	Y	1	36	0.00219	RHGAVVGLPYWVWILFR+dk_MMCCCH-2 (K)	1473
24	1519	1530	598.6281	1795.8623	1795.8563	3.34	Y	1	20	0.0096	REFESENVHTKR+dk_MMCCCH-2 (K)	1529
25	1747	1758	613.9781	1838.9124	1838.9012	6.14	Y	1	18	0.014	LVRYDHELEK+dk_MMCCCH-2 (K)	1749
26	1923	1932	756.3818	1510.7491	1510.7425	4.43	Y	1	22	0.0064	NRVMPNPFAR+dk_MMCCCH-2 (K)	1924
27	2100	2109	492.2497	1964.9698	1964.9601	4.94	Y	2	16	0.027	FRKRCGHVR+dk_MMCCCH-2 (K)	2102, 2104
28	2121	2149	890.4396	3557.6494	3557.6376	3.26	Y	1	23	0.0049	TSADVQFCIKTSEDCIHGSGHFVIGTK+dk_MMCCCH-2 (K)	2131
29	2299	2314	715.0388	2142.0346	2142.0238	5.04	Y	1	37	0.00019	LYTKQNEBALTAHGAR+dk_MMCCCH-2 (K)	2302
30	2369	2367	730.3524	1470.6903	1470.6813	6.12	Y	1	32	0.00964	DKLFNDPER+dk_MMCCCH-2 (K)	2360
31	2461	2490	642.8185	3260.8672	3260.8639	0.88	Y	0	18	0.015	RPL8FSDPRINAFTHSMARFDVFEYS+dk_MMCCCH-2 (K)	2481
32	2507	2514	682.3542	1362.6908	1362.6653	6.24	Y	1	33	0.00951	KLEHELEK+dk_MMCCCH-2 (K)	2507
33	2515	2520	571.7616	1141.5086	1141.5074	1.14	Y	1	17	0.018	DRFEER+dk_MMCCCH-2 (K)	2516
34	2621	2636	802.7122	2405.1147	2405.1083	2.62	Y	1	51	8.10E-06	RHEKHEDHEDILVR+dk_MMCCCH-2 (K)	2624
35	2637	2651	713.3541	2137.0404	2137.0374	1.35	Y	1	59	1.20E-06	KRHLSHRHAEELS+dk_MMCCCH-2 (K)	2637
36	2851	2883	807.5740	4032.8335	4032.8546	-0.27	Y	0	42	6.80E-05	VKPAHAGSCAEDMMVPLPPNYSVKNDDFR+dk_MMCCCH-2 (K)	2852
37	2897	2919	800.1400	3196.5307	3196.5257	0.63	Y	1	45	3.50E-05	PRKYDNIHLGHRHELEEVLR+dk_MMCCCH-2 (K)	2900
38	3003	3021	825.7792	2474.3036	2474.2879	6.35	Y	1	17	0.019	KVCHTELOASVLEAFHVR+dk_MMCCCH-2 (K)	3003
39	123	151	673.0145	4032.6434	4032.6359	2.08	G	2	16	0.017	KGFTDPPVKHQSARLVRNINDLREE+2 dk_MMCCCH-2 (K)	123, 131
40	129	151	739.7904	3693.9206	3693.9049	4.30	G	2	32	0.0068	KGFTDPPVKHQSARLVRNINDLREE+dk_MMCCCH-2 (K)	131
41	158	169	606.2845	1615.8318	1615.8230	3.74	G	2	27	0.0019	AFHRKTOEDRSVD+dk_MMCCCH-2 (K)	161

Figura 29 continuación

42	435	442	676.3252	1350.6356	1350.6312	3.48	G	1	21	0.0028	NIKMIHE +dk_MMCCCH-2 (K)	458
43	526	544	777.7501	2330.2285	2330.2304	-0.82	G	1	15	0.0029	VDGTRKASSPHASURE +dk_MMCCCH-2 (K)	536
44	589	612	990.1262	2967.5589	2967.3320	2.23	G	1	31	0.0028	BKAGGPOQLGAPNGEPAWCPSE +dk_MMCCCH-2 (K)	606
45	625	641	830.3759	2458.1057	2458.0940	4.76	G	1	25	0.0031	MSVPEVFNSTBNFE +dk_MMCCCH-2 (K)	825
46	647	660	965.0205	1928.0265	1928.0077	9.75	G	0	19	0.013	FNGLRQUNKKE +dk_MMCCCH-2 (K)	858
47	642	670	908.9841	3031.9074	3031.8979	2.78	G	2	15	0.0035	WFLKPAKQKDLKPFVHFEPRIGIHE +dk_MMCCCH-2 (K)	956
48	1097	1110	995.9612	1997.9078	1997.9054	1.20	G	1	23	0.0049	TNPFHGHETHERE +dk_MMCCCH-2 (K)	1104
49	1376	1396	649.5447	2590.1496	2590.1428	7.63	G	3	22	0.0066	ACTDSAHITDDGHTEPVNRKD +dk_MMCCCH-2 (K)	1395
50	1997	1413	774.4385	7320.2876	7320.2824	2.20	G	1	14	0.044	ITGLDKRQRLSVKALE +dk_MMCCCH-2 (K)	1402
51	1997	1413	774.4928	2320.2797	2320.2834	-1.16	G	1	29	0.0011	ITGLDKRQRLSVKALE +dk_MMCCCH-2 (K)	1410
52	1495	1522	1155.5980	3463.7422	3463.7223	5.90	G	3	20	0.0096	LLVSTHDPETGRDHPNPFSSRIHE +Desamidado (NQ); dk_MMCCCH-2 (K)	1518
53	1755	1765	579.6062	1768.7968	1768.7913	3.22	G	2	37	0.0002	TLDKMANERHDE +dk_MMCCCH-2 (K)	1758
54	2089	2100	654.4081	1706.8016	1706.8003	0.53	G	2	41	8.90E-05	IGSMNLEHERE +dk_MMCCCH-2 (K)	2099
55	2624	2646	637.9164	3184.5458	3184.5373	2.67	G	4	14	0.036	RHHEHDEHEDLVHKNHSHSRIHE +dk_MMCCCH-2 (K)	2624
56	2647	2661	715.9800	2144.0181	2144.0095	4.01	G	4	22	0.0066	AEEERDALYALORDE +dk_MMCCCH-2 (K)	2656
57	3090	3097	632.8943	1263.5940	1263.5879	4.75	G	0	16	0.027	LOKMSYSE +dk_MMCCCH-2 (K)	3092
58	59	68	729.3447	1456.6749	1456.6731	1.74	C	1	30	0.0093	VLGQPSNNKW +dk_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	67
59	160	177	628.0412	2481.1018	2481.0907	4.47	C	2	14	0.043	HKFGEBEBSVQATARY +dk_MMCCCH-2 (K)	161
60	587	595	698.8013	1275.5980	1275.5805	5.88	C	0	53	0.0092	REDASAGGF +dk_MMCCCH-2 (K)	590
61	715	723	655.8773	1909.7320	1909.7316	0.36	C	1	23	0.0056	TSIAKQVLL +dk_MMCCCH-2 (K)	719
62	753	786	543.7773	1087.5400	1087.5372	2.57	C	1	30	0.0011	QALORY +dk_MMCCCH-2 (K)	787
63	830	838	743.3406	1484.6687	1484.6646	2.76	C	2	13	0.047	NVFDYKTRF +dk_MMCCCH-2 (K)	835
64	860	908	716.2497	1480.6848	1480.6864	-1.12	C	0	14	0.038	EMHSOBERF +dk_MMCCCH-2 (K)	863

Figura 29 continuación

65	944	955	821.4307	1640.8469	1640.8469	0.91	C	3	20	0.011	DLKPAISGKDLF +6K_MMCCCH-2 (K)	946
66	1370	1337	620.9547	1238.6949	1238.6949	0.40	C	1	22	0.007	KLDHKAJ +6K_MMCCCH-2 (K)	1335
67	1431	1446	696.5586	2086.0541	2086.0541	2.15	C	1	16	0.026	HALPPLCPSPAASXSF +6K_MMCCCH-2 (K)	1444
68	1580	1586	544.7618	1086.5056	1086.5056	2.85	C	0	17	0.02	VGGREPY +6K_MMCCCH-2 (K)	1583
69	1618	1617	793.3709	1504.7260	1504.7260	1.93	C	1	22	0.0062	SERDGSLSRY +6K_MMCCCH-2 (K)	1626
70	1676	2082	512.3033	1222.5920	1222.5920	1.96	C	3	14	0.037	KYELUGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2076
71	2476	2488	925.9218	1845.8291	1845.8244	2.55	C	1	17	0.02	TRHJAXFTDFREY +6K_MMCCCH-2 (K)	2481
72	2626	2666	793.3574	1584.6902	1584.6879	1.45	C	1	24	0.0045	KLQNDREHGGY +6K_MMCCCH-2 (K)	2656
73	2964	2971	607.2731	1212.5317	1212.5307	0.82	C	0	13	0.047	GGAKEMFW +6K_MMCCCH-2 (K)	2957
74	1	9	725.3636	1448.6526	1448.6567	2.90	Th	2	28	0.0015	MYPEELTY +6K_MMCCCH-2 (K)	7
75	36	56	863.6756	2592.0174	2582.9168	2.56	Th	2	19	0.015	VQFDDRDRNDHCKEAGD +6K_MMCCCH-2 (K)	53
76	59	69	765.3771	1568.7397	1568.7367	1.91	Th	3	54	3.80E-06	VJGQSPENMWD +6K_MMCCCH-2 (K)	67
77	78	84	569.2875	1136.5904	1136.5536	5.96	Th	1	52	6.40E-06	LSDTVHK +6K_MMCCCH-2 (K)	84
78	118	124	571.2795	1140.5446	1140.5386	5.09	Th	0	24	0.0042	VYHPENG +6K_MMCCCH-2 (K)	123
79	431	439	707.8488	1413.6831	1413.6883	1.75	Th	3	19	0.012	ISLENERM +6K_MMCCCH-2 (K)	438
80	523	530	707.8455	1413.6765	1413.6698	4.74	Th	2	57	2.06E-06	VDFTEVDETK +6K_MMCCCH-2 (K)	530
81	585	591	585.8108	1169.6060	1169.6302	5.04	Th	1	25	0.0029	ILNEDSS +6K_MMCCCH-2 (K)	593
82	601	612	904.8980	1807.7813	1807.7598	6.56	Th	1	21	0.0084	RHGEPKWQSPF +6K_MMCCCH-2 (K)	606
83	666	672	607.2825	1212.5505	1212.5465	1.65	Th	2	25	0.0034	LADHEKY +6K_MMCCCH-2 (K)	671
84	831	837	612.7657	1223.5539	1223.5635	4.66	Th	2	28	0.0017	VFDYKTN +6K_MMCCCH-2 (K)	835
85	1219	1232	766.6623	2296.9650	2296.9617	1.48	Th	1	15	0.034	FQKSDRNDDEATKTH +2 6K_MMCCCH-2 (K)	1221, 1230
86	1563	1587	572.7716	1143.5287	1143.5271	1.40	Th	1	17	0.019	VGGREPPYS +6K_MMCCCH-2 (K)	1583
87	1657	1668	921.9177	1841.6208	1841.6192	1.41	Th	2	55	0.00335	FSKPEDTFOYOK +6K_MMCCCH-2 (K)	1659

Figura 2.9 continuación

88	1657	1658	921.9194	1841.8242	1841.8182	3.26	Th	2	30	0.00099	FSKPEDFDYQK +dK_MMCCCH-2 (K)	1668
89	1733	1741	664.3220	1326.6294	1326.6312	-1.36	Th	2	18	0.015	WGGSEKEMP +dK_MMCCCH-1 (K); Oxidación (R)	1738
90	1894	1904	850.4149	1698.6152	1698.6116	2.12	Th	5	39	0.00012	YAVFVWDWTQP +dK_MMCCCH-2 (K)	1803
91	2054	2066	499.7595	997.5085	997.5055	-1.00	Th	0	20	0.011	PTKNI +dK_MMCCCH-2 (K)	2067
92	2094	2100	618.3040	1234.5924	1234.5963	2.43	Th	1	29	0.0093	LHEEKE +dK_MMCCCH-2 (K)	2099
93	2129	2141	622.9755	1245.7546	1245.7495	2.73	Th	0	19	0.034	ICKTSFDCHGGG +dK_MMCCCH-2 (K)	2131
94	2238	2248	779.9811	1559.7476	1559.7440	2.38	Th	3	23	0.0051	LTTAEVGNLXD +dK_MMCCCH-2 (K)	2247
95	2480	2490	835.8084	1649.7822	1649.7759	3.82	Th	3	26	0.0024	AKPTDVFYSR +dK_MMCCCH-2 (K)	2481
96	2512	2521	538.6002	1077.7767	1077.7766	3.24	Th	0	39	0.00919	LEKKEEDRI +dK_MMCCCH-2 (K)	2514
97	2532	2531	807.8967	1612.7768	1612.7766	1.30	Th	0	30	0.0096	LEKKEEDRI +dK_MMCCCH-2 (K)	2516
98	2505	2506	805.4057	1610.7988	1610.7962	7.62	Th	2	34	0.00817	HDTSKGLPQD +dK_MMCCCH-2 (K)	2601
99	2607	2612	520.7801	1039.5456	1039.5446	0.96	Th	2	23	0.0052	LRSNPT +dK_MMCCCH-2 (K)	2609
100	2766	2771	551.7974	1101.5603	1101.5529	6.72	Th	0	36	0.00025	FDQIK +dK_MMCCCH-2 (K)	2771
101	2808	2810	636.5197	1274.6248	1274.6217	2.51	Th	3	26	0.0037	LUGGAEKYS +dK_MMCCCH-2 (K)	2814
102	2946	2960	965.4052	1928.8016	1928.7986	3.66	Th	3	34	0.00039	IKSGTDSDYAGSF +dK_MMCCCH-2 (K)	2947
103	2990	2995	593.2842	1184.5520	1184.5485	4.64	Th	1	38	0.00014	LTDDHVK +dK_MMCCCH-2 (K)	2996

Figura 29 continuación

#	Inicio	Final	Observado	Mr (esp.)	Mr (ratc)	ppm	Enzima	MC	Puntos	Valor E	Péptido	Sitio_mod
1	26	41	1043.0733	2084.0921	2084.0947	-1.25	Y	1	56	2.30E-06	KKVDLSLSENVLALEK +dK_MMCCCH-2 (K)	26
2	147	155	694.3710	1386.7274	1386.7217	4.11	Y	1	32	0.00062	ADITFLMK +dK_MMCCCH-2 (K)	155
3	164	175	536.3118	1785.9135	1785.9065	8.40	Y	1	41	9.70E-05	LPERVQFSHTR +dK_MMCCCH-2 (K)	167
4	249	271	987.4451	2959.3136	2959.3051	2.84	Y	1	25	0.003	GGPNAGCAGHRLRTPMPEFR +dK_MMCCCH-2 (K)	250
5	281	293	510.2456	1629.8150	1629.8043	5.90	Y	0	54	3.60E-06	EHRPADSDFYER +dK_MMCCCH-2 (K)	284
6	419	446	946.4617	3581.8176	3581.8132	1.30	Y	1	26	0.0025	QFELVRRFAKGFEDRPPVPAQAQLAVR + Desamidado (NO), dK_MMCCCH-2 (K)	428
7	429	446	751.6691	2253.1854	2253.1728	5.59	Y	0	50	9.70E-06	SHFDRPPVPAQAQLAVR +dK_MMCCCH-2 (K)	433
8	467	488	944.4572	2630.3496	2630.3385	3.99	Y	1	65	2.90E-07	FONDKSVGYQATVFRHALPAR +dK_MMCCCH-2 (K)	471
9	489	497	464.8979	1451.6719	1451.6649	4.82	Y	1	14	0.039	CPRPDAKDS +dK_MMCCCH-2 (K)	495
10	936	950	720.3440	2158.0101	2158.0095	0.32	Y	1	32	0.0007	RHGFTEGLPYWQWTR +dK_MMCCCH-2 (K)	936
11	1082	1096	996.4645	3990.9144	3990.9068	4.07	Y	0	77	1.90E-06	GKPYNTAKCAASMR +dK_MMCCCH-2 (K)	1083
12	1097	1115	827.0785	2478.2158	2478.2101	1.49	Y	0	66	2.50E-07	KPLQPFGLDSVMPDQETR +dK_MMCCCH-2 (K)	1097
13	1123	1146	1190.5604	3569.6594	3568.6497	2.75	Y	1	68	1.79E-07	VFYKMFQVYVESLAFNGLSAGLDR +dK_MMCCCH-2 (K)	1127
14	1295	1311	764.0660	2289.1821	2289.1715	4.67	Y	1	13	0.05	SAFLQKKEGIVERRAK +dK_MMCCCH-2 (K)	1302
15	1355	1385	1371.2700	3810.7981	3810.7876	0.16	Y	1	27	0.0022	GSAAVPPYDQWTEKADSFSLINDATYNSR +dK_MMCCCH-2 (K)	1358
16	1499	1450	1371.8911	5483.5353	5483.5213	2.55	Y	1	17	0.022	DFPPELWDNRDQFENYVVALEQDHFQFEGELGELHVAHSR +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
17	1455	1480	1117.8634	3350.6284	3350.6070	6.39	Y	1	40	0.0031	KKYSLSLDTIADPRFFLRHAYVTR +dK_MMCCCH-2 (K)	1456
18	1493	1502	721.6597	2161.9574	2161.9504	-0.97	Y	1	55	3.20E-06	KKPYEAUCVAVNEMR +dK_MMCCCH-2 (K)	1494

Figura 29 continuación

19	1542	1564	802.8948	5207.5509	3207.5446	1.71	T	1	30	0.00094	VQVBNLQPNHFSQKQDQUDAR +dK_MMCCCH-2 (K)	1556
20	1622	1633	591.9822	1772.9247	1772.9171	4.29	T	1	23	0.0047	LYRFHISALHK +dK_MMCCCH-2 (K)	1624
21	1690	1704	532.2689	2125.1267	2125.1241	1.18	T	2	21	0.0085	KEYSULTLEKHFH +dK_MMCCCH-2 (K)	1700
22	1949	1953	560.2532	2236.9836	2236.9735	4.47	T	0	46	2.30E-05	TQEFKPEDFDYHR +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
23	2400	2404	479.2446	956.4746	956.4749	-0.42	T	1	14	0.043	KSQTR +dK_MMCCCH-2 (K)	2499
24	2527	2541	1007.5180	2013.0215	2013.0098	6.26	T	1	59	1.40E-07	KDVTSLTASFIHR +dK_MMCCCH-2 (K)	2527
25	2728	2739	958.0043	1913.9941	1913.9852	4.13	T	1	15	0.03	HWAWQALOKYR + Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	2737
26	2755	2764	764.3857	1526.7569	1526.7439	8.51	T	0	34	0.00048	QPLKPFSEK + Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	2758
27	41	49	592.3369	1382.6472	1382.6386	5.08	G	2	20	0.01	KALDLOLD +dK_MMCCCH-2 (K)	41
28	167	178	590.9647	1769.8723	1769.8705	1.02	G	0	24	0.0036	KUQPSHFHLMF +dK_MMCCCH-1 (K)	167
29	318	322	456.7346	911.4547	911.4535	1.63	G	0	19	0.018	WAAME +dK_MMCCCH-2 (K)	323
30	493	456	975.8574	2924.5504	2924.5429	2.56	G	2	21	0.0074	KPPVYADARLARVRNRNDTAFE +dK_MMCCCH-3 (K)	433
31	466	481	1098.5017	2194.9899	2194.9843	2.19	G	2	36	0.00023	RFENDKSYDYGATVE +Desamidado (NO); dK_MMCCCH-2 (K)	473
32	1117	1135	1404.1268	2806.7391	2806.7373	0.64	G	3	17	0.021	HSVPRFVDFYKRNHFYENE +dK_MMCCCH-2 (K)	1127
33	1115	1235	961.8077	3887.4014	2882.9949	2.26	G	3	40	9.80E-05	HQQLHLEHUHGSDNFKLYE +dK_MMCCCH-1 (K)	1235
34	1792	1903	879.4660	1756.9174	1756.9192	-0.40	G	0	44	4.30E-05	SIRGAPLQJKE +dK_MMCCCH-2 (K)	1902
35	1308	1320	904.9488	1807.8791	1807.8749	2.32	G	0	22	0.0066	NWAFHKGKGLCE +dK_MMCCCH-2 (K)	1311
35	1308	1320	904.9480	1807.8614	1807.8749	3.60	G	0	34	0.00036	NWAFHKGKGLCE +dK_MMCCCH-2 (K)	1315
37	1354	1376	1043.5093	3127.5060	3127.4961	3.17	G	3	16	0.022	WSSAVVYWDWTELADSIPLIND +dK_MMCCCH-2 (K)	1368
38	1403	1422	921.5252	2761.2537	2761.2336	7.50	G	3	17	0.018	NAVTSRDPQPELWENKDFYE +dK_MMCCCH-2 (K)	1418
39	1952	1967	792.6854	2375.0284	2375.0205	3.93	G	3	34	0.00036	FSAPREDTFHRIYVE +dK_MMCCCH-2 (K)	1954
40	1973	1990	811.7241	2432.1566	2432.1505	2.51	G	0	24	0.0097	PVGMSVSSLHVNRKOOQE +dK_MMCCCH-2 (K)	1986
41	2475	2484	752.8744	1503.7342	1503.7320	1.53	G	1	19	0.033	TDANPFIRVE +dK_MMCCCH-2 (K)	2482

Figura 29 continuación

42	3286	3405	558.3157	7629.2328	2679.2271	2.59	G	2	22	0.007	LDHAYSRDGRHHAAPTGD +BK_MMCCCH-2 (K)	3404
43	277	296	683.7536	2648.2390	2548.2329	2.27	C	4	35	0.00334	DLTREHAKPADSEYGRLOY +BK_MMCCCH-2 (K)	284
44	529	635	539.2529	1076.4913	1076.4848	6.04	C	0	21	0.0076	YGGSEKY +BK_MMCCCH-2 (K)	634
45	1007	1015	669.9713	1337.7280	1337.7265	1.12	C	3	27	0.0021	TDHAKQVLL +BK_MMCCCH-2 (R)	1011
46	1075	1080	544.7773	1087.5400	1087.5372	2.57	C	1	30	0.0011	QALQKY +BK_MMCCCH-2 (K)	1079
47	1298	1306	715.3745	1428.7345	1428.7323	1.47	C	3	14	0.045	LQJQKESH +BK_MMCCCH-2 (K)	1302
48	1589	1606	784.3547	1350.0422	2350.0392	1.28	C	0	22	0.0068	ICYEGGECQCKTQAGSF +BK_MMCCCH-2 (K)	1602
49	1696	1702	607.3019	1212.5892	1212.5849	3.59	C	1	23	0.0054	TTLERHF +BK_MMCCCH-2 (K)	1705
50	1782	1796	1014.5057	2026.5968	2026.5921	2.32	C	1	14	0.041	RPOSAUFQVYQJTY +BK_MMCCCH-2 (K)	1781
51	1801	1809	706.8389	1411.6632	1411.6585	2.62	C	0	19	0.093	SHRTKPF +BK_MMCCCH-2 (K)	1803
52	1865	1905	850.4291	1698.8436	1698.8399	2.18	C	0	31	0.0089	KQJQKQADQVVF +BK_MMCCCH-2 (K)	1906
53	2001	2011	726.8444	1451.6743	1451.6725	-0.83	C	1	34	0.00042	KGFGSASVSF +BK_MMCCCH-2 (K)	2001
54	2455	2462	643.3267	1288.5988	1288.6973	1.16	C	1	21	0.0378	RYDTQAL +BK_MMCCCH-2 (N)	2455
55	2463	2479	752.9476	2254.0210	2254.0253	-1.91	C	1	14	0.037	RAGSHREDVFDQAF +BK_MMCCCH-2 (K)	2463
56	2794	2760	598.3323	1194.6501	1194.6471	2.51	C	3	14	0.04	KGPLSPF +BK_MMCCCH-2 (R)	2758
57	2855	2872	673.9555	1344.7164	1344.7112	3.94	C	3	14	0.041	RYDITVL +BK_MMCCCH-2 (K)	2870
58	3235	3242	617.8137	1232.6129	1232.6111	1.48	C	0	29	0.0014	TSARVKIY +BK_MMCCCH-2 (K)	3240
59	3406	3406	576.8931	1151.8916	1151.8896	1.74	C	0	19	0.014	IASFTKUL +BK_MMCCCH-2 (K)	3404
60	69	75	604.2934	1206.5723	1206.5705	1.66	Th	0	17	0.022	VDRHFN +BK_MMCCCH-2 (K)	74
61	165	175	558.6143	1672.6211	1672.6244	4.01	Th	1	19	0.040	FERYDQFHTR +BK_MMCCCH-2 (K)	167
62	181	191	853.5782	1704.7419	1704.7375	2.58	Th	3	58	1.606-06	LDALQDEFCK +BK_MMCCCH-2 (K)	191
63	247	257	785.8571	1569.6995	1569.6916	5.10	Th	1	13	0.046	LAKDPNSADC +BK_MMCCCH-2 (K)	250
64	278	293	734.3531	2200.0374	2200.0371	0.14	Th	4	26	0.0027	LTRHAKPADSFDYGR +BK_MMCCCH-2 (K)	284

Figura 29 continuación

65	365	372	585.7816	1169.5466	1189.5461	0.45	Th	1	50	9.10E-05	IGSPTFEBK +EK_MMCCCH-2 (K)	372
66	431	437	569.2895	1136.5644	1136.5576	5.98	Th	1	16	0.025	FDKPPVP +EK_MMCCCH-2 (K)	433
67	629	636	581.7663	1363.5180	1193.5169	1.03	Th	1	31	0.00077	VGGSEKYS +EK_MMCCCH-2 (K)	634
68	893	904	904.6980	1807.7613	1807.7608	6.36	Th	1	23	0.0064	FHGEPKWCDSPE +EK_MMCCCH-2 (K)	894
69	1123	1129	619.2853	1239.5560	1239.5485	6.07	Th	2	18	0.014	FDYNNR +EK_MMCCCH-2 (K)	1127
70	1414	1419	564.7567	1127.4979	1117.4957	1.95	Th	1	17	0.011	LWUNKD +EK_MMCCCH-2 (K)	1418
71	1525	1539	738.3549	2212.0428	2212.0371	2.53	Th	3	36	0.00024	LHRAIPGSEFYQNR +EK_MMCCCH-2 (K)	1528
72	1589	1605	735.3313	2202.9721	2202.9700	0.59	Th	2	15	0.028	IOVDSGSEONCKTRAGS +EK_MMCCCH-2 (K)	1600
73	1593	1605	735.3325	2207.9757	2202.9708	2.27	Th	2	39	0.00013	IOVDSGSEONCKTRAGS +EK_MMCCCH-2 (K)	1602
74	1800	1809	780.3741	1558.7337	1559.7279	3.79	Th	2	18	0.016	FSRHTFNFF +EK_MMCCCH-2 (K)	1803
75	1952	1963	627.2640	1678.8302	1876.8747	2.93	Th	2	44	3.90E-05	FSKPEDTIDYHR +EK_MMCCCH-2 (K)	1954
76	1985	1994	776.8959	1551.7772	1551.7715	3.67	Th	2	22	0.0064	KQDGEADRV +EK_MMCCCH-2 (K)	1986
77	2194	2199	667.3612	1332.5877	1332.5849	2.10	Th	2	25	0.0034	NWEDWTRP +EK_MMCCCH-2 (K)	2198
78	2200	2206	562.3086	1172.5026	1172.5995	2.85	Th	2	22	0.0062	ISSLPDL +EK_MMCCCH-2 (K)	2202
79	2225	2229	462.2211	922.4277	922.4259	1.95	Th	2	23	0.0059	FAKGY +EK_MMCCCH-2 (K)	2227
80	2230	2237	631.7936	1263.5726	1263.5693	2.61	Th	2	14	0.045	KSEDAVT +EK_MMCCCH-2 (K)	2231
81	2359	2363	509.2314	1016.4482	1016.4460	2.16	Th	1	26	0.0026	FTKGMH +EK_MMCCCH-2 (K); Oxidación (M)	2361
82	2901	2909	720.8408	1439.6570	1439.6602	4.72	Th	3	45	3.20E-05	LDEAMDLRMA +EK_MMCCCH-2 (K)	2906
83	3006	3015	573.2726	1149.5307	1144.5355	2.45	Th	0	14	0.043	LKHGSH +EK_MMCCCH-2 (K)	3010
84	3399	3405	520.2607	1038.5069	1038.5056	1.25	Th	1	25	0.0029	IAGPTRO +EK_MMCCCH-2 (K)	3404

"Inicio" y "Final" indica el número de residuo de KHL1 o KHL2. La columna "Observado" implica el valor m/z observado en el barrido del estudio mientras "Mr(esp.)", "Mr(calc)", "ppm" indican el peso molecular experimental (MW), MW calculado, y la diferencia entre el MW observado y MW teórico, respectivamente. En la columna "Enzima", T, C, G, y Th representan tripsina, quimotripsina, Glu-C y termolisina, respectivamente. MC representa corte perdido. Los puntos son la puntuación de ion de péptido directamente descrito de la máquina de búsqueda en base de datos Mascot. Valor E indica el valor de expectativa para cada péptido identificado. Las secuencias peptídicas, así como sus modificaciones se enumeran en la columna "Péptido". "Sitio_mod" indica el sitio d conjugación de lisina para KHL1 o KHL2.

Figura 30 continuación

N	sitio K	muestra				N	sitio K	muestra				N	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 255	0	0			51	K 1127	0	0			102	K 2138				
2	K 32					52	K 1155					103	K 2152				
3	K 72					53	K 1178					104	K 2227				
4	K 24					54	K 1181					105	K 2221				
5	K 203					55	K 1212					106	K 2317				
6	K 105					56	K 1228					107	K 2327				
7	K 238					57	K 1285					108	K 2378				
8	K 154					58	K 1302	0				109	K 2320				
9	K 153					59	K 1311					110	K 2325				
10	K 167	0	0		0	60	K 1325					111	K 2345				
11	K 151					61	K 1368	0		0		112	K 2381				
12	K 259	0	0		0	62	K 1416					113	K 2425				
13	K 289	0	0		0	63	K 1428	0	0			114	K 2476				
14	K 311					64	K 1435					115	K 2444			0	
15	K 358					65	K 1494					116	K 2455				0
16	K 572					66	K 1508	0				117	K 2463		0	0	0
17	K 491					67	K 1526	0	0	0	0	118	K 2492				
18	K 428					68	K 1556					119	K 2495				
19	K 433	0			0	69	K 1555					120	K 2527				
20	K 447					70	K 1600					121	K 2586				
21	K 652					71	K 1621	0				122	K 2737				
22	K 671	0	0		0	72	K 1629					123	K 2754				
23	K 695					73	K 1633					124	K 2798				
24	K 892					74	K 1648					125	K 2810				
25	K 505					75	K 1675					126	K 2811				
26	K 189					76	K 1680	0				127	K 2879				
27	K 634					77	K 1705					128	K 2875				
28	K 672					78	K 1705					129	K 2888				
29	K 675					79	K 1708					130	K 2883				
30	K 618					80	K 1767					131	K 2934				
31	K 752					81	K 1782					132	K 2948				
32	K 741					82	K 1803					133	K 2955				
33	K 774					83	K 1811					134	K 3010				
34	K 776					84	K 1835					135	K 3028				
35	K 787					85	K 1826					136	K 3043				
36	K 780					86	K 1921					137	K 3050				
37	K 768					87	K 1931					138	K 3145				
38	K 800					88	K 1935					139	K 3148				
39	K 840					89	K 1947					140	K 3209				
40	K 830					90	K 1934	0	0	0	0	141	K 3255				
41	K 859					91	K 1988	0	0		0	142	K 3284				
42	K 882					92	K 2001					143	K 3293				
43	K 898					93	K 2044					144	K 3340				
44	K 907					94	K 2048					145	K 3363				
45	K 900					95	K 2052					146	K 3374				
46	K 936					96	K 2052					147	K 3321				
47	K 1011					97	K 2065					148	K 3335				
48	K 1079					98	K 2060					149	K 3340				
49	K 1083					99	K 2092					150	K 3343				
50	K 1097	0	0	0	0	100	K 2123					151	K 3401				
total:													17	12	6	10	

Figura 30 continuación

#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 7					51	K 879					101	K 2033					151	K 2044				
2	K 26					52	K 884					102	K 2036					152	K 2048				
3	K 53					53	K 918					103	K 2037					153	K 2052				
4	K 57					54	K 924					104	K 2076					154	K 2077				
5	K 84					55	K 926					105	K 2056					155	K 2079				
6	K 88					56	K 946					106	K 2122					156	K 2062				
7	K 95					57	K 952					107	K 2114						total	13	7	6	9
8	K 123					58	K 956	0	0	0		108	K 2131										
9	K 151					59	K 986					109	K 2149										
10	K 142					60	K 1017					110	K 2150										
11	K 161	0		0		61	K 1056					111	K 2187										
12	K 180					62	K 1060					112	K 2133										
13	K 251					63	K 1073					113	K 2247	0	0	0	0						
14	K 250					64	K 1104	0	0	0	0	114	K 2251										
15	K 283					65	K 1117					115	K 2301										
16	K 373					66	K 1160					116	K 2360	0	0								
17	K 386					67	K 1162					117	K 2460										
18	K 402			0		68	K 1180					118	K 2481										
19	K 411					69	K 1221					119	K 2506										
20	K 436					70	K 1220					120	K 2507										
21	K 458					71	K 1270					121	K 2514										
22	K 477					72	K 1303					122	K 2516										
23	K 488					73	K 1330					123	K 2511										
24	K 491					74	K 1335					124	K 2533										
25	K 499					75	K 1336					125	K 2575										
26	K 507					76	K 1339					126	K 2501										
27	K 535					77	K 1385					127	K 2609										
28	K 549					78	K 1402					128	K 2620										
29	K 554					79	K 1410					129	K 2614										
30	K 597					80	K 1416					130	K 2637										
31	K 586					81	K 1444	0	0			131	K 2638										
32	K 581					82	K 1471	0				132	K 2682										
33	K 587					83	K 1518					133	K 2636										
34	K 595	0				84	K 1529					134	K 2711										
35	K 606			0		85	K 1548					135	K 2714										
36	K 615					86	K 1583			0		136	K 2748										
37	K 618					87	K 1636					137	K 2771										
38	K 671					88	K 1680					138	K 2815										
39	K 681					89	K 1689		0	0		139	K 2818										
40	K 695					90	K 1668					140	K 2838										
41	K 704					91	K 1738					141	K 2852	0	0	0	0						
42	K 718	0		0		92	K 1760					142	K 2860	0									
43	K 737			0		93	K 1758					143	K 2878										
44	K 751					94	K 1809					144	K 2943										
45	K 823					95	K 1816					145	K 2947										
46	K 831					96	K 1859					146	K 2867										
47	K 837					97	K 1900					147	K 2996										
48	K 852					98	K 1915					148	K 3002										
49	K 863					99	K 1924	0		0		149	K 3001	0									
50	K 878					100	K 2012					150	K 3017										

Figura 30 continuación

#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 26	○	○			51	K 1127					103	K 2188				
2	K 31					52	K 1158					102	K 2202				
3	K 71					53	K 1176					102	K 2227				
4	K 74					54	K 1181					104	K 2281				
5	K 105					55	K 1242					105	K 2317				
6	K 105					56	K 1249			○	○	106	K 2327				
7	K 128					57	K 1280					107	K 2328				
8	K 154					58	K 1302	○	○			108	K 2330				
9	K 158					59	K 1331					109	K 2335				
10	K 167	○	○		○	60	K 1335					110	K 2345				
11	K 192					61	K 1368			○	○	111	K 2361				
12	K 200		○			62	K 1418					112	K 2406				
13	K 208	○	○		○	63	K 1485	○				113	K 2426				
14	K 221					64	K 1493					114	K 2444				
15	K 208					65	K 1484					115	K 2453				
16	K 372					66	K 1508					116	K 2463	○	○		○
17	K 493					67	K 1526	○	○	○		117	K 2482				
18	K 428					68	K 1556	○				118	K 2500				
19	K 412	○	○	○		69	K 1568					119	K 2527	○	○		
20	K 447					70	K 1600					120	K 2536				
21	K 460					71	K 1602					121	K 2737				○
22	K 471	○	○		○	72	K 1629					122	K 2754				
23	K 498					73	K 1635					123	K 2758				
24	K 563					74	K 1646					124	K 2810				
25	K 580					75	K 1675					125	K 2811				
26	K 589					76	K 1680					126	K 2870				
27	K 634					77	K 1700					127	K 2879				
28	K 672					78	K 1709					128	K 2886				
29	K 675					79	K 1709					128	K 2903				
30	K 688					80	K 1767					130	K 2934				
31	K 791					81	K 1782					131	K 2948				
32	K 741					82	K 1803					132	K 2951				
33	K 774					83	K 1811					133	K 3016				
34	K 776					84	K 1836					134	K 3023	○			
35	K 787					85	K 1870					135	K 3045				
36	K 780					86	K 1892					136	K 3050				
37	K 788					87	K 1931					137	K 3045				
38	K 806					88	K 1985					138	K 3148				
39	K 848					89	K 1947					139	K 3146				
40	K 853					90	K 1954	○	○		○	140	K 3155				
41	K 858					91	K 1986		○		○	141	K 3184				
42	K 882					92	K 2001					142	K 3183				
43	K 886				○	93	K 2044					143	K 3240				
44	K 917					94	K 2063					144	K 3263				
45	K 908					95	K 2062					145	K 3274				
46	K 939	○				96	K 2055					146	K 3282				
47	K 1011					97	K 2055					147	K 3296				
48	K 1070					98	K 2089					148	K 3300				
49	K 1081					98	K 2092					149	K 3304				
50	K 1087	○	○	○	○	100	K 2101					150	K 3464				
													total	15	14	5	10

Figura 31

#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 7	0	0	0	0	21	K 172					101	K 2088					131	K 3044				
2	K 26					22	K 184					102	K 2080					132	K 3048				
3	K 25	0	0	0	0	23	K 182					103	K 2087	0	0	0	0	133	K 3052				
4	K 47	0	0	0	0	24	K 183					104	K 2076	0	0	0	0	134	K 3077				
5	K 84	0	0	0	0	25	K 182					105	K 2098	0	0	0	0	135	K 3079		0		
6	K 88					26	K 182	0	0	0		106	K 2102		0			136	K 3092	0	0	0	0
7	K 95	0		0	0	27	K 182					107	K 2094		0				total	86	83	86	84
8	K 123	0	0	0	0	28	K 186	0	0	0		108	K 2131	0	0	0	0						
9	K 151	0	0	0	0	29	K 186	0	0	0		109	K 2148										
10	K 142		0	0	0	30	K 1817	0	0	0		110	K 2160	0	0	0							
11	K 161	0	0	0	0	31	K 1059	0	0	0		111	K 2187										
12	K 190		0	0	0	32	K 1060	0	0	0		112	K 2239										
13	K 251					33	K 1072	0		0		113	K 2247	0	0	0	0						
14	K 280					34	K 1104	0	0	0		114	K 2280										
15	K 285					35	K 1117		0			115	K 2302	0									
16	K 373					36	K 1165					116	K 2350	0	0	0	0						
17	K 388	0		0		37	K 1167	0	0	0		117	K 2480										
18	K 402					38	K 1193	0	0	0		118	K 2491	0	0	0	0						
19	K 451					39	K 1221		0			119	K 2508										
20	K 438	0	0	0	0	40	K 1239	0	0	0		120	K 2507	0	0	0	0						
21	K 469	0		0	0	41	K 1270					121	K 2514	0	0	0	0						
22	K 477	0		0	0	42	K 1303					122	K 2556	0	0	0	0						
23	K 488					43	K 1380					123	K 2581										
24	K 491	0				44	K 1385	0	0	0		124	K 2582										
25	K 499					45	K 1338					125	K 2579										
26	K 507					46	K 1339					126	K 2601	0	0	0	0						
27	K 530	0	0	0	0	47	K 1395	0	0	0		127	K 2609	0	0	0	0						
28	K 549					48	K 1452	0	0	0		128	K 2620										
29	K 554	0	0	0	0	49	K 1450	0	0	0		129	K 2624	0	0	0	0						
30	K 557				0	50	K 1459					130	K 2637	0	0	0	0						
31	K 566	0	0	0	0	51	K 1444	0		0		131	K 2654	0	0	0	0						
32	K 581	0	0	0	0	52	K 1473	0	0	0		132	K 2682										
33	K 587					53	K 1518	0	0	0		133	K 2686										
34	K 580	0	0	0	0	54	K 1529	0				134	K 2713										
35	K 606	0	0	0	0	55	K 1543					135	K 2733										
36	K 612					56	K 1583	0	0	0		136	K 2748	0	0	0							
37	K 616					57	K 1635					137	K 2771	0	0	0	0						
38	K 671	0	0	0	0	58	K 1640					138	K 2814	0	0	0	0						
39	K 683	0				59	K 1659	0	0	0		139	K 2838										
40	K 695	0	0	0	0	60	K 1668	0	0	0		140	K 2848										
41	K 704	0	0	0	0	61	K 1738	0	0	0		141	K 2852	0	0	0	0						
42	K 718	0	0	0	0	62	K 1748	0	0	0		142	K 2890	0	0	0	0						
43	K 787	0	0	0	0	63	K 1768	0	0	0		143	K 2924										
44	K 791	0	0	0	0	64	K 1806					144	K 2943	0									
45	K 822	0	0	0	0	65	K 1826	0	0	0		145	K 2947	0	0	0	0						
46	K 839	0	0	0	0	66	K 1853					146	K 2987	0	0	0	0						
47	K 857					67	K 1899	0	0	0		147	K 2996	0	0	0	0						
48	K 859	0	0	0	0	68	K 1915			0		148	K 3002										
49	K 868		0		0	69	K 1924	0	0	0		149	K 3008	0	0	0	0						
50	K 878					70	K 2022					150	K 3027	0									

Figura 31. continuación

#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 21	0	0	0	0	51	F 2127	0	0	0	0	101	K 2138	0	0	0	0
2	K 62	0	0	0	0	52	N 2159					102	K 2202	0	0	0	0
3	K 71	0	0	0	0	53	N 1176			0		103	K 2227	0	0	0	0
4	K 79	0	0	0	0	54	K 1181					104	K 2282	0	0	0	0
5	F 104					55	K 1212		0		0	105	K 2317				
6	F 105					56	K 1233	0	0	0	0	106	F 2327				
7	K 138					57	F 1281					107	K 2328				
8	K 154	0	0			58	F 1302	0	0	0	0	108	K 2330				
9	K 155	0	0	0	0	59	K 1312	0	0	0	0	109	K 2335				
10	K 157	0	0	0	0	60	K 1323	0	0	0	0	110	K 2345				
11	K 191	0	0	0	0	61	K 1368	0	0	0	0	111	K 2353	0	0	0	0
12	F 256	0	0	0	0	62	K 1418	0	0	0	0	112	K 2406				0
13	F 286	0	0	0	0	63	K 1436	0	0	0	0	113	F 2425			0	
14	K 321	0	0			64	F 1453	0				114	K 2444				
15	K 368					65	F 1494	0	0	0	0	115	K 2452	0	0		0
16	K 372	0	0	0	0	66	F 1509					116	K 2465	0	0	0	0
17	K 403					67	F 1528	0	0	0	0	117	K 2482	0	0	0	0
18	K 428	0	0	0	0	68	K 1538	0	0	0	0	118	K 2490				
19	K 439	0	0	0	0	69	K 1565					119	K 2527	0	0	0	0
20	F 447					70	K 1580	0	0	0	0	120	K 2598				
21	F 462					71	K 1662	0	0	0	0	121	K 2737	0	0	0	0
22	K 475	0	0	0	0	72	F 1684	0			0	122	K 2754	0	0	0	0
23	K 485	0	0	0	0	73	F 1693					123	K 2758	0	0	0	0
24	K 562			0		74	K 1646	0				124	K 2810				0
25	K 585					75	K 1675					125	K 2821				0
26	K 589					76	K 1680	0				126	K 2870	0	0	0	0
27	K 634	0	0	0	0	77	K 1700	0	0	0	0	127	K 2873				
28	K 671					78	K 1755					128	K 2886				
29	F 675					79	K 1758	0	0	0		129	K 2903				
30	K 688					80	F 1767	0	0	0	0	130	K 2934				
31	K 701					81	K 1782	0				131	K 2948	0	0	0	0
32	K 741					82	K 1803	0	0	0	0	132	K 2952				
33	K 774					83	K 1812	0	0			133	K 3010	0	0	0	0
34	F 775					84	K 1835					134	F 3023	0	0		
35	F 787					85	K 1879					135	K 3045				
36	F 790	0				86	K 1921					136	K 3050				
37	K 798					87	F 1982					137	K 3145				
38	K 806					88	K 1985					138	K 3148				
39	K 848					89	K 1987					139	K 3149	0	0	0	0
40	K 853					90	K 1984	0	0	0	0	140	K 3152				
41	K 893					91	K 1986	0	0	0	0	141	K 3184				
42	F 882					92	K 2052	0	0	0		142	K 3193				
43	K 898	0	0	0	0	93	F 2044					143	K 3240	0	0	0	0
44	K 907					94	F 2059	0				144	K 3263				
45	K 908					95	K 2052			0		145	K 3271				
46	K 936	0	0	0	0	96	K 2055					146	K 3321				
47	F 1011	0		0		97	K 2095			0		147	K 3336				
48	K 1079	0	0	0	0	98	K 2098					148	K 3382				
49	K 1082	0	0	0	0	99	F 2092					149	K 3394				
50	K 1087	0	0	0	0	100	F 2121	0				150	K 3424	0	0	0	0
												10291	68	60	61	56	

Figura 31 continuación

N	sitio K	muestra				N	sitio K	muestra				N	sitio K	muestra				N	sitio K	muestra			
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4
1	K 7	0	0	0	0	51	K 879			0	0	101	K 2533					151	K 3084				
2	K 26	0	0	0	0	52	K 894					102	K 2556					152	K 3069				
3	K 55	0	0	0	0	53	K 918			0		103	K 2567	0	0	0	0	153	K 3032				
4	K 57	0	0	0	0	54	K 824			0	0	104	K 2576	0		0	0	154	K 3577				
5	K 84	0	0	0	0	55	K 925					105	K 2099	0	0	0	0	155	K 3079	0			
6	K 88					56	K 946	0		0	0	106	K 2102		0	0	0	156	K 3092	0	0		0
7	K 96	0	0	0		57	K 992					107	K 2154		0	0	0		total	80	81	86	78
8	K 123	0	0	0	0	58	K 956	0	0	0	0	108	K 2131	0	0	0	0						
9	K 132	0	0	0	0	59	K 985	0	0	0	0	109	K 2149										
10	K 142	0	0	0	0	60	K 1017					110	K 2160	0									
11	K 181	0	0	0	0	61	K 1050	0	0			111	K 2187										
12	K 190		0		0	62	K 1060	0	0	0	0	112	K 2183										
13	K 251					63	K 1073	0				113	K 2247	0	0	0	0						
14	K 280	0		0		64	K 1104	0	0	0	0	114	K 2191										
15	K 283					65	K 1117	0	0			115	K 2302	0	0								
16	K 373					66	K 1189					116	K 2360	0	0	0	0						
17	K 383					67	K 1162	0	0	0		117	K 2460										
18	K 403					68	K 1189	0	0	0	0	118	K 2481	0	0	0	0						
19	K 411					69	K 1221				0	119	K 2508										
20	K 438	0	0	0	0	70	K 1230	0	0	0	0	120	K 2507	0	0	0	0						
21	K 469	0		0		71	K 1270					121	K 2316	0	0	0	0						
22	K 477	0		0		72	K 1303					122	K 2514	0	0	0	0						
23	K 488					73	K 1350					123	K 2591										
24	K 491					74	K 1325	0	0	0	0	124	K 2533										
25	K 499					75	K 1334					125	K 2579										
26	K 507					76	K 1339					126	K 2601	0	0	0	0						
27	K 530	0	0	0	0	77	K 1395	0	0	0	0	127	K 2609	0	0	0	0						
28	K 549					78	K 1462		0	0	0	128	K 2620										
29	K 554	0	0	0	0	79	K 1410	0	0	0	0	129	K 2624	0	0	0	0						
30	K 597			0		80	K 1415					130	K 2637	0	0	0	0						
31	K 568	0	0	0	0	81	K 1424		0	0	0	131	K 2658	0	0	0	0						
32	K 581	0	0	0	0	82	K 1473	0	0	0	0	132	K 2692										
33	K 587					83	K 1518	0	0	0	0	133	K 2638	0		0							
34	K 590	0	0	0	0	84	K 1429					134	K 2713										
35	K 606	0	0	0	0	85	K 1743					135	K 2712										
36	K 615					86	K 1583	0	0	0	0	136	K 2748	0	0								
37	K 616					87	K 1850					137	K 2771	0	0	0	0						
38	K 671	0	0	0	0	88	K 1540					138	K 2814	0	0	0	0						
39	K 691		0			89	K 1859	0	0	0	0	139	K 2838										
40	K 695	0	0	0	0	90	K 1568	0	0	0	0	140	K 2848										
41	K 704	0	0	0	0	91	K 1751	0	0	0	0	141	K 2852	0	0	0	0						
42	K 719	0	0	0	0	92	K 1748		0		0	142	K 2980	0	0	0	0						
43	K 737	0	0	0	0	93	K 1798	0	0	0	0	143	K 2926										
44	K 791	0	0	0	0	94	K 1850					144	K 2943			0	0						
45	K 821				0	95	K 1926	0	0	0	0	145	K 2947	0	0	0	0						
46	K 835	0	0	0	0	96	K 1859					146	K 2947	0	0	0	0						
47	K 857					97	K 1903	0	0	0	0	147	K 2996	0	0	0	0						
48	K 858	0	0	0	0	98	K 1915					148	K 3001										
49	K 863				0	99	K 1924	0	0	0	0	149	K 3053	0	0	0	0						
50	K 876					100	K 2022					150	K 3057			0							

Figura 31 continuación

#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				#	sitio K	muestra				
		1	2	3	4			1	2	3	4			1	2	3	4	
1	K 26	0	0	0	0	51	K 1127	0	0	0	0	104	K 2198	0	0	0	0	
2	K 41				0	52	K 1155					105	K 2201	0	0	0	0	
3	K 71					53	K 1136				0	106	K 2227	0	0	0	0	
4	K 77				0	54	K 1181					107	K 2231	0	0	0	0	
5	K 108					55	K 1212		0			108	K 2247					
6	K 105					56	K 1232	0	0	0	0	109	K 2247					
7	K 138					57	K 1280					110	K 2322					
8	K 134					58	K 1302	0	0	0	0	111	K 2330					
9	K 158	0	0	0	0	59	K 1311	0			0	112	K 2355					
10	K 187	0	0	0	0	60	K 1315	0	0	0	0	113	K 2345					
11	K 183	0	0	0	0	61	K 1358	0	0	0	0	114	K 2361		0		0	
12	K 232	0	0	0	0	62	K 1418	0	0	0	0	115	K 2400				0	
13	K 284	0	0	0	0	63	K 1450	0	0	0	0	116	K 2428					
14	K 321			0	0	64	K 1483	0				117	K 2444					
15	K 308					65	K 1484	0	0	0	0	118	K 2455	0	0		0	
16	K 372	0	0	0	0	66	K 1508	0				119	K 2467	0	0	0	0	
17	K 405					67	K 1526	0	0	0	0	120	K 2481	0	0	0	0	
18	K 418	0		0	0	68	K 1546	0	0	0	0	121	K 2480					
19	K 413	0	0	0	0	69	K 1585					122	K 2527	0	0	0	0	
20	K 447					70	K 1600	0	0	0	0	123	K 2566					
21	K 462	0				71	K 1602	0	0	0	0	124	K 2577	0	0		0	
22	K 475	0	0	0	0	72	K 1624				0	125	K 2584	0		0		
23	K 495		0		0	73	K 1638				0	126	K 2588	0	0	0	0	
24	K 502	0				74	K 1646					127	K 2530					
25	K 505					75	K 1675					128	K 2611	0				
26	K 508					76	K 1680					129	K 2670	0	0	0	0	
27	K 634	0	0	0	0	77	K 1750	0	0	0	0	130	K 2673					
28	K 673					78	K 1790					131	K 2688					
29	K 675					79	K 1798	0	0	0	0	132	K 2805					
30	K 608					80	K 1767	0	0	0	0	133	K 2824					
31	K 703					81	K 1781	0		0	0	134	K 2848	0	0	0	0	
32	K 741					82	K 1803	0	0	0	0	135	K 2858					
33	K 774					83	K 1817	0				136	K 3030	0	0	0	0	
34	K 775					84	K 1835					137	K 3075			0		
35	K 787					85	K 1878					138	K 3045					
36	K 790					86	K 1921					139	K 3050					
37	K 788					87	K 1931					140	K 3145					
38	K 806					88	K 1937					141	K 3148					
39	K 848					89	K 1947					142	K 3149	0	0	0		
40	K 855					90	K 1954	0	0	0	0	143	K 3150					
41	K 828					91	K 1988	0	0	0	0	144	K 3184					
42	K 883					92	K 2051	0	0	0	0	145	K 3189					
43	K 898	0	0	0	0	93	K 2044					146	K 3240	0	0	0	0	
44	K 907					94	K 2086	0	0	0		147	K 3263					
45	K 908			0		95	K 2052					148	K 3274					
46	K 938	0	0	0	0	96	K 2055					149	K 3321					
47	K 1013	0				97	K 2068				0	150	K 3350					
48	K 1075	0	0	0	0	98	K 2069					151	K 3360					
49	K 1083	0	0	0	0	99	K 2082					152	K 3364					
50	K 1097	0	0	0	0	100	K 2121	0				153	K 3404	0	0	0	0	
														total	61	56	57	58

Figura 32

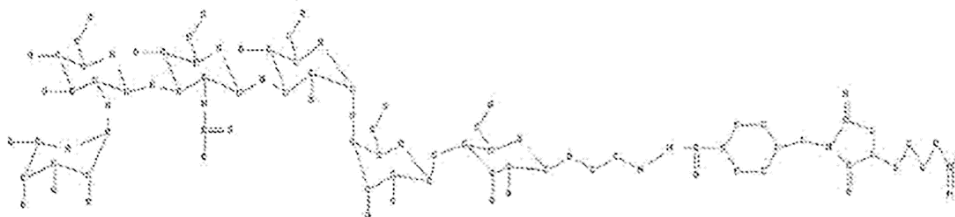
Muestra	1			2			3			4		
	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total
KLH1/KLH2												
K totales	156	150	306	156	150	306	156	150	306	156	150	306
K conjugadas a Globo H	14	17	31	7	12	19	4	6	10	8	10	18
K conjugadas a MMCCH	86	69	155	83	60	143	86	61	147	84	56	140

Muestra	1			2			3			4		
	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total	KLH1	KLH2	total
KLH1/KLH2												
K totales	156	150	306	156	150	306	156	150	306	156	150	306
K conjugadas a Globo H	13	15	28	7	14	21	6	5	11	9	10	19
K conjugadas a MMCCH	80	61	141	81	56	137	86	57	143	78	58	136

"K totales" indica los números de residuos de lisina de las secuencias de KLH1 y KLH2. "K conjugadas a Globo H" indica los números de lisinas conjugadas de Globo H identificadas. "K conjugadas a MMCCH" indica los números de lisinas conjugadas de MMCCH identificadas.

Figura 33

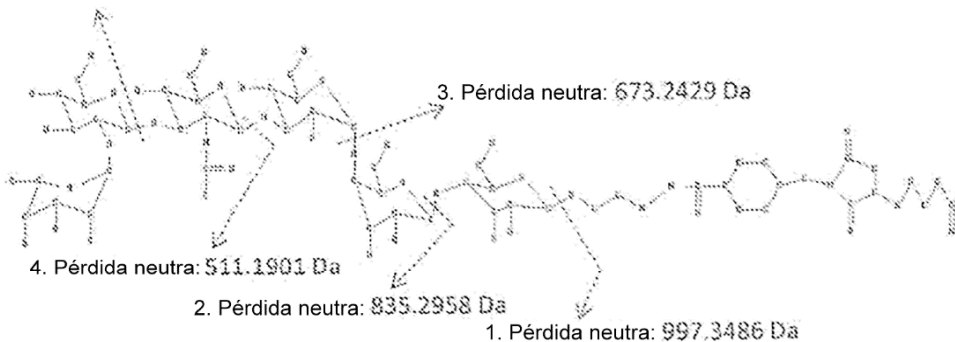
Derivado de Globo H



Fórmula química: C(56) H(91) N(9) O(33) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 1363.5317 Da

Las formas de pérdida neutra del derivado de Globo H

5. Pérdida neutra: 308.1107 Da



1. Fórmula química: C(18) H(28) N(4) O(4) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 396.1831 Da

2. Fórmula química: C(24) H(38) N(4) O(9) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 558.2360 Da

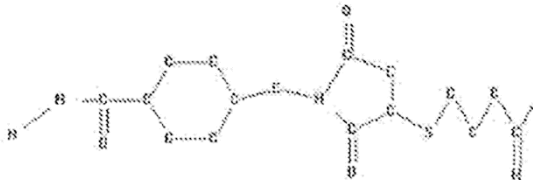
3. Fórmula química: C(30) H(48) N(4) O(14) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 720.2888 Da

4. Fórmula química: C(36) H(58) N(4) O(19) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 882.3416 Da

5. Fórmula química: C(44) H(71) N(5) O(24) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 1085.4210 Da

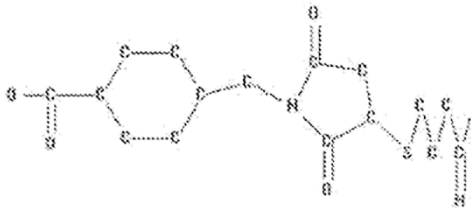
Figura 34

derivado de MMCCH



Fórmula química: C(16) H(24) N(4) O(3) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 352.1569 Da

derivado de MMCCH desamidado



Fórmula química: C(16) H(22) N(2) O(4) S(1)
 Adición de MW monoisotópica: 338.1300 Da