

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

LAYS OLIVEIRA ROCHA

ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS DA CROMATINA ESPERMÁTICA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM A PROTEÔMICA DA CABEÇA DO ESPERMATOZOIDE EM
BOVINOS (BOS TAURUS)

UBERLÂNDIA 2019

LAYS OLIVEIRA ROCHA

ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS DA CROMATINA ESPERMÁTICA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM A PROTEÔMICA DA CABEÇA DO ESPERMATOZOIDE EM
BOVINOS (BOS TAURUS)

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural Aplicadas da Universidade Federal
de Uberlândia como requisito parcial à
obtenção do título de mestre em Biologia
Celular

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

UBERLÂNDIA 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da
UFU, MG, Brasil.

R672a Rocha, Lays Oliveira, 1987
2019 Alterações ultraestruturais da cromatina espermática e sua associação
com a proteômica da cabeça do espermatozoide em bovinos (*Bos taurus*)
[recurso eletrônico] / Lays Oliveira Rocha. - 2019.

Orientador: Marcelo Emílio Beletti.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1360> Inclui
bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Citologia. 2. Cromatina. 3. Proteínas. 4. Microscopia eletrônica de
transmissão. I. Beletti, Marcelo Emílio, 1964, (Orient.) II. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural Aplicadas. III. Título.

CDU: 576.3

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

LAYS OLIVEIRA ROCHA

ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS DA CROMATINA ESPERMÁTICA E
SUA ASSOCIAÇÃO COM A PROTEÔMICA DA CABEÇA DO ESPERMATOZOIDE EM
BOVINOS (BOS TAURUS)

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural Aplicadas da Universidade Federal
de Uberlândia como requisito parcial à
obtenção do título de mestre em Biologia
Celular

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

Uberlândia, 31 de Julho de 2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti

(Orientador – UFU-MG)

Prof. Dra. Neide Maria da Silva

(Examinador – UFU-MG)

Prof. Dr. André Belico de Vasconcelos

(Examinador UNIUBE- MG –externo)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA

Programa de Pós-Graduação em:	Biologia Celular e Estrutural Aplicadas				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico número 006/2019, do PPGBC				
Data:	31 de Julho de 2019	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:21
Matrícula do Discente:	11722BCE004				
Nome do Discente:	Lays Oliveira Rocha				
Título do Trabalho:	Alterações ultraestruturais da cromatina espermática e sua associação com a proteômica da cabeça do espermatozoide de bovinos (<i>Bos taurus</i>)				
Área de concentração:	Biologia Celular				
Linha de pesquisa:	Biologia da Reprodução				
Projeto de Pesquisa de vinculação:					

Reuniu-se na sala 2B236, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, assim composta: Professores Doutores: **André Belico de Vasconcelos – UNIUBE; Neide Maria da Silva – UFU e Marcelo Emílio Beletti** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). **Marcelo Emílio Beletti**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Emílio Beletti, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/08/2019, às 09:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Neide Maria da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/08/2019, às 10:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **André Belico de Vasconcelos, Usuário Externo**, em 05/08/2019, às 15:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1438245** e o código CRC **D965B95F**.

Referência: Processo nº 23117.058833/2019-76

SEI nº 1438245

Criado por [rcgiembinsky](#), versão 2 por [rcgiembinsky](#) em 02/08/2019 16:47:48.

AGRADECIMENTOS

Ao professor, amigo e orientador, Dr. Marcelo Emílio Beletti, por ser meu exemplo de ética e amor pela pesquisa. Pela sua disposição em me ajudar sempre, mesmo em seu período de descanso. Sou muito grata pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos ao longo de todos esses anos que se iniciaram no começo da graduação, me ensinando com paciência e excelência. E, principalmente, obrigada por acreditar e depositar em mim confiança para realizar esse trabalho.

Ao Robledo, pelo companheirismo, apoio e compreensão. Por acreditar na minha capacidade e mostrar o quanto posso ir mais adiante do que penso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro para desenvolvimento do projeto.

*“O que sabemos é uma gota,
o que ignoramos é um oceano.”*

Isaac Newton

RESUMO

Alterações da cromatina espermática em touros podem interferir no processo de fertilização e no desenvolvimento embrionário. Atualmente são utilizados diversos métodos para a avaliar a cromatina espermática, que usam desde microscopia de luz à citometria de fluxo. Mais recentemente tem sido utilizado microscopia eletrônica de transmissão (MET). Essas metodologias identificam desde fragmentação do DNA, até a intensidade de compactação da cromatina, que se não for adequada, torna o DNA suscetível a diversos danos ou pode ser a expressão morfológica de alterações epigenéticas. Objetivou-se com o presente trabalho correlacionar alterações cromatínicas identificadas por MET com a constituição proteica da cabeça do espermatozoide de touro. Foram utilizadas amostras de sêmen de quatro touros Girolando, as quais foram avaliadas por MET. Parte das amostras também foram utilizadas em rotinas de produção in vitro de embriões (PIVE) e para análise em espectrometria de massa avançada, obtendo-se a composição proteica semiquantitativa da cabeça dos espermatozoides. Na avaliação por MET as alterações de compactação da cromatina foram divididas em dois tipos: leves (presença de até 6 pequenos pontos claros ou região mais clara ocupando até um quarto da cabeça) e graves (presença mais de seis pontos claros ou região mais clara ocupando mais de um quarto da área nuclear). Para identificar possíveis correlações entre as alterações de cromatina com o processo de fertilização e o desenvolvimento embrionário inicial, foi realizado o teste de correlação de Pearson entre a quantidade porcentual de cada tipo de alteração com as taxas de clivagem e de blastocisto obtidas nas PIVEs, respectivamente. Considerando que ao contrário das alterações graves, as alterações cromatínicas leves não apresentaram correlação significativa com os resultados das PIVEs, foi avaliada apenas a existência de correlação entre o conteúdo proteico da cabeça e as alterações cromatínicas graves. Para identificar estas correlações foi utilizado o teste de correlação de Pearson entre a quantidade de cada uma das proteínas e a porcentagem de alterações cromatínicas graves. Dentre as 766 proteínas identificadas pela espectrometria de massa, as proteínas “60S ribosomal protein L12”, “60 kDa heat shock protein”, “Acetyl-CoA acetyltransferase”, “Cytochrome b-c1 complex subunit 6”, “ATP 342 synthase subunit delta”, “Limbin”, “40S ribosomal protein S7”, “DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2” e “Activated CDC42 kinase1” apresentaram correlação positiva significativa com as alterações de cromatina graves. Essas proteínas podem estar participando diretamente ou indiretamente do processo de compactação ou apenas estar presente em grande quantidade quando as condições ideais para compactação estão presentes. Já as proteínas “Serine/threonine-protein phosphatase 2A”, “60S ribosomal protein L9”, “Plasma serine protease inhibitor”, “Coiled-coil domain-containing protein 63”, “Signal peptidase complex subunit 3”, “Serine racemase”, “3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase”, “T-complex protein 1 subunit gamma”, “Inositol monophosphatase 1”, “Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase” apresentaram correlação negativa significativa com as alterações de cromatina graves. A presença destas proteínas pode estar prejudicando diretamente ou indiretamente o processo de compactação cromatínica ou mesmo, elas estão apenas presentes em grande quantidade quando as condições para compactação cromatínica não forem boas. De qualquer forma, elas possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de subfertilidade e fertilidade, respectivamente.

Palavras-chave: Compactação cromatínica. Proteínas. Microscopia eletrônica de transmissão.

ABSTRACT

Changes in sperm chromatin in bulls may interfere with the fertilization process and embryonic development. Several methods are currently used to evaluate sperm chromatin, which use light microscopy to cytometry flow. Transmission electronic microscopy (TEM) has been used most frequently. These methodologies may identify from DNA fragmentation, to the intensity of chromatin compaction, which, if not adequate, makes the DNA susceptible to several damages or may be the morphological expression of epigenetic alterations. The objective of this work was to correlate chromatin alterations identified by TEM with the protein constitution of the bull spermatozoa head. Semen samples from four Girolando bulls were used, which were evaluated by TEM. Part of the samples were also used in *in vitro* embryo production routines (IVEP) and for analysis in advanced mass spectrometry, obtaining the semiquantitative protein composition of the spermatozoa head. In the TEM evaluation, chromatin compaction changes were divided into two types: mild (presence of up to 6 small clear spots or lighter region occupying up to a quarter of the head) and severe (presence of more than six light spots or occupying clearer region more than a quarter of the nuclear area). To identify possible correlations between the chromatin changes with the fertilization process and the initial embryonic development, the Pearson correlation test was performed between the percentage amount of each type of alteration with the cleavage and blastocyst rates obtained in the IVEPs, respectively. Considering that, despite to the severe alterations, mild chromatin alterations did not present a significant correlation with the results of the IVEPs, only the existence of a correlation between the protein content of the head and the severe chromatin alterations was evaluated. To identify these correlations, Pearson's correlation test was used between the amount of each protein and the percentage of severe chromatin changes. To identify these correlations, Pearson's correlation test was used between the amount of each protein and the percentage of severe chromatin changes. Among the 766 proteins identified by mass spectrometry, the "60S ribosomal protein L12", "60 kDa heat shock protein", "Acetyl-CoA acetyltransferase", "Cytochrome b-c1 complex subunit 6", "ATP 342 synthase subunit delta ", "Limbin ", "40S ribosomal protein S7 ", "DNA replication ATP-dependent helicase / nuclease DNA2 "and" Activated CDC42 kinase1 "showed a significant positive correlation with severe chromatin alterations. These proteins may be directly or indirectly participating in the compaction process or only be present in large quantities when optimal conditions for compaction are present. On the other hand, the proteins Serine / threonine-protein phosphatase 2A, 60S ribosomal protein L9, Plasma serine protease inhibitor, Coiled-coil domain-containing protein 63, Signal peptidase complex subunit 3, Serine racemase, , "3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase", "T-complex protein 1 subunit gamma", "Inositol monophosphatase 1", "Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase" showed significant negative correlation with severe chromatin alterations. The presence of these proteins may be directly or indirectly damaging the chromatographic compaction process or even they are only present in large quantities when the conditions for chromatographic compaction are not good. In any case, they have the potential to be used as molecular markers of subfertility and fertility, respectively.

Keywords: Chromatin compaction. Proteins. Transmission electronic microscopy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Tabela 1:** Taxas de clivagem e de blastocistos normalizadas obtidas nas PIVEs de touros de diferentes fertilidades 29
- Tabela 2:** Porcentagem dos graus de alteração cromatínica em cada touro 29
- Tabela 3:** Coeficientes de correlação de Pearson entre os graus de alterações cromatínicas e as taxas de clivagem e blastocistos normalizadas obtidas em PIVEs 30
- Figura 1-** Corte de uma cabeça de espermatozoide sem alteração cromatínica (touro 1) 31
- Figura 2-** Corte de uma cabeça de espermatozoide que apresenta quatro pontos claros (setas) apenas, sendo portanto classificado como alteração leve. (Touro 2) 32
- Figura 3 -** Corte de uma cabeça de espermatozoide com presença de vários pontos claros (acima de 6), sendo portanto classificado como alteração grave. (Touro 4) 33
- Tabela 4:** Proteínas que apresentaram correlação positiva significativa com alterações cromatínicas graves 34
- Tabela 5:** Proteínas que apresentaram correlação negativa significativa com alterações cromatínicas graves 35
- Anexo 1** 63

LISTA DE SIGLAS

ACK1	Activated CDC42 kinase1
ADP	Adenosina difosfato
BSA	Bovine serum albumin
CASA	Computer-assisted Sperm Analysis
CCDC63	Coiled-coil domain-containing protein 63
COC	Complexos ovócitos cumulus
CPAS	Computational Proteomics Analysis System
DTT	Ditiotreitol
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EMS	Electron Microscopy Sciences
G0	Grupo 0
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
IP	Iodeto de propídeo
I.A.	Iodoacetamida
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MgCl₂	Cloreto de magnésio
MTHFD1L	Metilendetrahidrofolato desidrogenase (dependente de NADP + 1)
(NH₄)₂S₄	Sulfato de Amônio
PIVE	Produção in vitro de embriões
pH	potencial Hidrogeniônico
PP2A	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta
RPL12	60S ribosomal protein L12
RNA	Ácido Ribonucleico
RPS7	40S ribosomal protein S7
SPCS3	Signal peptidase complex subunit 3
SR	Serine Racemase
SCSA	Sperm chromatin structure assay
TC	Tiolase citosólica
TUNEL	Transferase dUTP nick end labeling
Tris HCl	(hidroximetil)aminometano ácido clorídrico
TNK2	Tyrosine Kinase Non Receptor 2

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	11
2- REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1. Espermatogênese	12
2.2. Espermiogênese	13
2.3. Cromatina	14
2.3.1. Métodos de avaliação de cromatina	16
3. OBJETIVO	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Produção in vitro de embriões	20
4.2. Espectrometria de massa avançada das cabeças dos espermatozoides	21
4.2.1. Isolamento das cabeças dos espermatozoides	21
4.2.2. Extração da Cromatina e Matriz Nuclear	22
4.2.3. Identificação das Proteínas.	23
4.2.4. Processamento das Amostras	24
4.2.5. Análise no espectrômetro de massa	25
4.3. Análise de alterações cromatínicas do sêmen por microscopia eletrônica de transmissão (MET)	25
4.3.1. Microscopia eletrônica de transmissão	25
4.9. Análise estatística	27
5. RESULTADOS	28
6. DISCUSSÃO	36
7- CONCLUSÃO	47
8- REFERÊNCIAS	48

1- INTRODUÇÃO

A espermatogênese consiste na formação dos gametas masculinos. É um processo no qual acontecem alterações morfológicas e fisiológicas e espermatogônias diploides se transformam em espermatozoides haploides diferenciados, possuindo núcleo condensado, acrossoma e flagelo (NISHIMURA et al., 2017). A espermatogênese ocorre em duas fases distintas, espermatocitogênese e espermiogênese.

A espermatocitogênese é um estágio do desenvolvimento em que uma série de divisões mitóticas e meióticas ocorrem e durante as quais as espermatogônias se diferenciam em espermátides. No final da espermatogênese ocorre a espermiogênese, onde as espermátides se transformam em espermatozoides maduros e totalmente diferenciados (GUNES et al., 2015). É durante a espermiogênese que as histonas (proteínas básicas, ricas em lisina, principal proteína associada ao DNA constituindo a cromatina de células somática) são parcialmente substituídas por protaminas (proteína extremamente básicas, ricas em arginina, principal proteína associada ao DNA constituindo a cromatina super condensada de espermatozoides)(GOLDBERG et al., 2018).

São essas proteínas que tornam a cromatina altamente compactada e são de extrema importância, pois a expressão anormal das nucleoproteínas específicas do espermatozoide ou sua associação anormal com a cromatina, altera a estrutura da cromatina espermática. Essa cromatina íntegra é importante para a fertilidade do macho e bom desenvolvimento embrionário (EVENSON, 2017).

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Espermatogênese

Espermatogênese é composta por três fases distintas, que incluem autorrenovação de espermatogônias por meio da mitose, espermatócitos submetidos a meiose I e II e desenvolvimento pós-meiótico de espermátides haploides via espermiogênese (FRANÇA et al., 2005).

Duas estruturas principais constituem o testículo dos mamíferos: o interstício e o túbulo seminífero. É no interstício que se localizam as células de Leydig, que são responsáveis pela produção de testosterona e vascularização testicular. O túbulo seminífero contém as células de Sertoli somáticas e células germinativas em desenvolvimento que se associam com as células de Sertoli e é onde ocorre a espermatogênese (CHEN et al., 2017). Na meiose acontece duas divisões; as células antes da primeira divisão são chamadas de espermatócitos primários e antes da segunda divisão de espermatócitos secundários. As maiores células germinativas do epitélio germinativo são os espermatócitos primários. O aspecto de sua cromatina nuclear representa os estágios meióticos. A meiose de espermatócitos começa com o estágio de leptóteno da prófase já na parte basal do epitélio germinativo (JÉGOU et al., 2017).

Após a passagem da barreira das células de Sertoli, os espermatócitos alcançam o compartimento adluminal e continuam com os estágios seguinte da prófase, ou seja, o estágio do zigóteno, paquíteno e diplóteno. Durante essa fase da meiose ocorre a duplicação do DNA, a condensação dos cromossomos, o emparelhamento dos cromossomos homólogos e o *crossing over*. Após a divisão, as células germinativas tornam-se espermatócitos secundários.

Que por sua vez, não sofrem replicação de DNA e se dividem rapidamente em espermatídes, resultado de duas divisões de maturação de cada espermatócito originando quatro células haploides. A diferenciação das espermatídes acontece com a espermiogênese (HOLSTEIN et al. 2003; ALVES, 2016).

2.2. Espermiogênese

A espermiogênese pode ser dividida em duas fases. Na primeira fase, o núcleo é arredondado, contém histonas como principal proteína nuclear básica e é transcricionalmente ativo. Na segunda fase, mudanças acontecem na estrutura da cromatina, no formato e na condensação do núcleo. É então durante essa fase que as histonas são substituídas por protaminas, que são ricas em arginina e cisteína. De caráter alcalino, a arginina garante que as ligações do DNA sejam fortificadas e as cisteínas facilitam a formação de ligações dissulfeto inter e intra-protamina essenciais para a formação de cromatina altamente compactada (BELETTI, 2013; SOUZA, 2014; RATHKE et al., 2014). Como resultado, o DNA do espermatozoide torna-se extremamente estável, compacto e resistente a danos (ESKANDARI et al., 2018). Essa substituição é feita de forma gradual. Inicialmente, algumas das histonas são substituídas por variantes de histonas específicas dos espermatozoides. Posteriormente, as chamadas proteínas intermediárias são incorporadas à medida que os nucleossomos são removidos e, finalmente, as protaminas geram o núcleo do espermatozoide empacotado (RATHKE et al., 2014).

As protaminas e o DNA do espermatozoide se interagem de uma maneira que esse material genético se enrola em subunidades toroidais, ou *donut*, que contêm cerca de 50 kb de DNA. De modo que ao final do processo de espermiogênese poderá haver até 50.000

estruturas toroidais contidas no núcleo dos espermatozoides dos mamíferos (BELETTI et al., 2005; D'OCCHIO et al., 2007).

2.3. Cromatina

A cromatina é um complexo de DNA, RNA, histonas e outras proteínas cromossômicas que se encontram no interior do núcleo celular sendo as histonas suas principais proteínas. As histonas H2A, H2B, H3 e H4 se arranjam formando um octâmero, denominado nucleossomo, que é a unidade fundamental da cromatina em células somáticas (MENDITI et al., 2007; BLACK et al., 2011; BELETTI, 2013).

Nos eucariontes, são as histonas que formam bobinas ao redor das quais o DNA se enrola, que tem como função organizar o DNA e de torná-lo mais compacto. Durante a espermiogênese dos mamíferos, as histonas são substituídas por protaminas, mas não totalmente. A quantidade de histonas que não são substituídas vai variar de acordo com a espécie (BELETTI et al., 2005; MILLER et al., 2010).

As protaminas são proteínas específicas dos espermatozoides e possuem um caráter básico por conter grande quantidade de arginina. O DNA é enrolado firmemente pelas protaminas formando uma estrutura em forma de “donut” (rosca) (BELETTI, 2013). Após esse processo de remodelamento da histona-protamina, a estrutura da cromatina adquire uma compactação seis vezes mais que a das células somáticas, o que é indispensável para o desenvolvimento normal dos espermatozoides (HAO et al., 2019). A cromatina do espermatozoide também transporta metade do material genômico para a prole e a integridade da cromatina do espermatozoide tem importância fundamental para a transmissão equilibrada para as gerações futuras (POURMASUMI et al., 2019).

Em espermatozoides, especula-se que as histonas podem ter um papel estrutural, como associado a regiões genômicas repetidas, como a cromatina centrosomal. Elas podem contribuir com informações estruturais epigenéticas no embrião inicial. Como outro aspecto, sugere-se que as histonas espermáticas sejam retidas nos genes necessários para o desenvolvimento, maturação e fertilização espermática, pois esses genes são transcricionalmente ativos pouco antes da transição da histona para a protamina (SILLASTE et al., 2016). Acredita-se que as histonas que não são substituídas pela protamina são ubiquinadas e levam à formação de cromatina parcialmente inconsciente, que é propensa a danos no DNA (ESKANDARI et al., 2018).

Quando se observam núcleos de células somáticas corados ao microscópio óptico, nota-se que certas regiões da cromatina se coram mais intensamente do que outras. Regiões mais coradas correspondem a regiões dos cromossomos mais enroladas, ou mais condensadas, do que outras. Existem dois tipos diferentes de cromatina de várias células de eucariotos superiores: uma forma altamente condensada, chamada de heterocromatina, e uma forma menos condensada, chamada de eucromatina (ALBERTS et al., 2017). No entanto, no espermatozoide a compactação é extrema, dificultando o acesso dos corantes catiônicos aos fosfatos do DNA, fazendo com que a cromatina espermática geralmente se core mal, o que em células somáticas seria característica de eucromatina, mas na realidade o espermatozoide é composto praticamente só de heterocromatina (BELETTI, 2013).

Alterações da cromatina espermática em touros podem interferir no processo de fertilização e no desenvolvimento embrionário. Atualmente são utilizados diversos métodos para avaliar a cromatina espermática, que usam desde microscopia de luz à citometria de fluxo. Mais recentemente tem sido utilizado microscopia eletrônica de transmissão (MET). Essas metodologias identificam desde fragmentação do DNA, até a intensidade de

compactação da cromatina, que se não for adequada, torna o DNA suscetível a diversos danos e pode ser a expressão morfológica de alterações epigenéticas (BELETTI, 2013).

2.3.1. Métodos de avaliação de cromatina

As sondas fluorescentes tem se mostrado um método eficiente na avaliação da viabilidade espermática. Elas possuem a capacidade de se ligarem a compartimentos específicos das células que permitem avaliar a integridade da membrana plasmática. A leitura é realizada em microscópio de fluorescência ou em citômetro de fluxo. As sondas fluorescentes são agentes não penetrantes nas membranas íntegras, dentre estes agentes destacam-se o Hoechst 33258, que é usado como marcador de células e cora espermatozoides com a membrana intacta em azul. YoPro-1 e iodeto de propídeo (IP) são sondas que possuem afinidade ao DNA e penetram em células com membrana plasmática danificada e emitindo as fluorescências verde e vermelho, respectivamente (BERGSTEIN et al., 2014).

Vários métodos foram desenvolvidos para avaliar a maturidade da integridade do DNA e da cromatina espermática. O ensaio da estrutura da cromatina espermática, do inglês sperm chromatin structure assay (SCSA), que é considerado o ensaio mais eficiente e bem sucedido para avaliar a estrutura da cromatina espermática, usa análise citométrica de fluxo para avaliar a fluorescência dos espermatozoides corados com laranja de acridina (BUNGUM et al., 2010; EVENSON, 2016). Os ensaios TUNEL e Cometa também são usados para medir a fragmentação do DNA (ZIDI-JRAH et al., 2016; ESKANDARI et al., 2018). No entanto, o alto custo desses métodos restringe seu uso em rotinas (BELETTI et al., 2004). Técnicas simples de coloração como azul de anilina ácida e azul de toluidina, são métodos

considerados como sendo fáceis e baratos para a avaliação de algumas anormalidades da cromatina (ZIDI-JRAH et al., 2016; POURMASUMI et al., 2019).

Estes métodos baseiam-se na capacidade de algumas colorações para avaliar a conformação da cromatina espermática, que por sua vez depende da interação do DNA com as proteínas. A coloração azul de anilina discrimina entre histonas ricas em lisina e protaminas ricas em arginina / cisteína. Este método fornece uma reação positiva específica para a lisina e revela diferenças na composição de proteína nuclear básica de espermatozoides humanos (POURMASUMI et al., 2019).

O azul de toluidina é um corante nuclear básico usado para coloração de metacromasia induzida da cromatina. Metacromasia é o fenômeno onde um corante muda de cor em algumas situações específicas. Quando espermatozoides são corados com azul de toluidina, alguns poucos podem se corar em azul-escuro ou até mesmo violeta (metacromasia). Isso indica compactação cromatínica deficiente, o que permite que maior número de moléculas do corante se fixem ao DNA, permitindo a ressonância de elétrons entre essas moléculas, levando à mudança de cor, ou seja, à metacromasia. O método da metacromasia induzida é assim denominado, porque antes da coloração, os espermatozoides passam por uma hidrólise ácida, fazendo que mesmo os espermatozoides com descompactação leve, não diferenciados pela coloração com azul de toluidina simples, sofram a retirada de proteínas e consequente exposição de radicais fosfatos antes bloqueados, fazendo assim com que se torne metacromáticos (indução da metacromasia), ou seja, aumentando a sensibilidade do método.

Enfim, os espermatozoides que apresentem qualquer alteração na cromatina, serão corados em tons de azul-escuro, podendo chegar a violeta se possuírem cromatina altamente descondensada. Já os espermatozoides que possuem compactação cromatínica normal, serão corados em tons de azul claro, não apresentando metacromasia (BELETTI, 2013). Até agora,

esses testes foram introduzidos como simples e rápidos para a análise da integridade da cromatina espermática. Além disso, esses métodos não exigem instrumentação complexa (BELETTI et al., 2005; KIM et al., 2013; HAMIDI et al., 2015; POURMASUMI et al., 2019). No entanto, existe um grau de subjetividade na avaliação das cores e suas intensidades. Com intuito de diminuir a subjetividade das análises, tem sido usado análise de imagem computacional aplicada a “metacromasia induzida”, diminuindo a subjetividade e possibilitando uma avaliação quantitativa da descompactação e da heterogeneidade da cromatina (LUCIO et al., 2016), bem como a classificação das alterações da cromatina de acordo com a região da cabeça afetada (SOUZA et al., 2018).

Uma outra técnica de coloração, é a reação de Feulgen, um método que permite revelar o DNA como um componente da cromatina e dos cromossomos. Imagens Feulgen-positivas revelam uma cor vermelho-púrpura quando são observadas sob microscopia de luz comum. Espermatozoide de touros subférteis têm uma fase de depuração de feulgen mais rápida do que os espermatozoides normais e, como resultado, eles se mancham mais intensamente (MELLO et al., 2017).

A microscopia eletrônica pode ser utilizada para a identificação e classificação das características estruturais e morfológicas dos espermatozoides. Esse método permite a identificação de defeitos, bem como alterações na compactação do material genético na cabeça do espermatozoide (NUSSDORFER et al., 2018). Com o avanço da tecnologia, o microscópio eletrônico sofreu mudanças positivas no que diz respeito ao aumento da qualidade de resolução de imagens. É importante ressaltar que essa poderosa resolução supera as limitações do microscópio de luz e permite excelente observação da estrutura interna e visualização do arranjo das organelas espermáticas. Esta metodologia é essencial para fornecer uma abordagem mais abrangente da patologia espermática, evitando erros de análise

e permitindo o diagnóstico eficiente e uma compreensão mais profunda dos mecanismos de reprodução anormal em machos inférteis (MORETTI et al., 2012). Das técnicas ultraestruturais, a microscopia eletrônica de transmissão é a única que assegura a exploração da organização interna das células, viabilizando uma abordagem mais completa ao estudo da patologia espermática (MORETTI et al., 2016).

Especificamente em relação à avaliação da cromatina espermática, Alves (2016) classificou as alterações da cromatina de espermatozoides de touro em cinco categorias que não mostraram correlação com a eficiência da produção *in vitro* de embriões (PIVE). Como neste trabalho as avaliações foram realizadas imediatamente após o descongelamento das amostras de sêmen e durante a execução da PIVE os espermatozoides são selecionados com gradiente de percoll, os espermatozoides com as alterações ultraestruturais na cromatina podem ter sido eliminados pela seleção, assim, não influenciaram os resultados das PIVEs.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é correlacionar alterações de compactação de cromatina identificadas por microscopia eletrônica de transmissão com a constituição proteica da cabeça do espermatozoide de touro.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de sêmen congeladas em meio TRIS-gema de quatro touros Girolandos de diferentes graus de fertilidade.

Parte das amostras de sêmen foi utilizada para realização de rotinas de produção *in vitro* de embriões, parte foi utilizada para avaliação da cromatina em microscopia eletrônica de transmissão (MET) e parte foi utilizada para análise semiquantitativa da composição proteica da cabeça do espermatozoide por espectrometria de massa avançada.

4.1 Produção *in vitro* de embriões

Foram realizadas 13 rotinas de produção *in vitro* de embriões de acordo com o protocolo do laboratório de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Uberlândia (LUCIO et al., 2016). Utilizou-se 419 ovócitos em PIVEs para os touros considerados férteis (204 para o touro 1 e 215 para o touro 2) e 336 em PIVEs para os touros considerados subférteis (155 para o touro 3 e 181 para o touro 4).

Os dados obtidos utilizando sêmen testado foram normalizados tendo como referência os resultados obtidos com um touro fértil, previamente testado em nossos laboratórios e com resultados bastante estáveis. Tal ação foi realizada como forma de neutralização dos efeitos da PIVE que não são controláveis. Para isso, em todas as placas onde foram realizadas as rotinas de PIVE utilizando as amostras de sêmen avaliadas quanto à proteômica nuclear, também foram realizadas PIVEs utilizando sêmen deste touro referência (510 ovócitos). Para a normalização, as taxas de clivagem e de blastocistos das amostras testadas foram transformadas em porcentagem das taxas obtidas com o sêmen do touro referência, na mesma rotina de PIVE.

Foram realizadas coletas de ovários provenientes de vacas *post mortem* no abatedouro comercial da cidade de Uberlândia e transportados para o laboratório de biologia da reprodução em garrafa térmica contendo soro fisiológico na temperatura de 37°C. Logo em

seguida, os ovários foram lavados em solução fisiológica e ainda mantidos em banho-maria a 37°C até aspiração dos folículos antrais, com auxílio de seringa de 10mL e agulha 18G. O fluido ovariano foi cuidadosamente inserido em tubos de 50mL para que as estruturas sedimentassem e a partir analisadas com auxílio de estereoscópio para rastreamento e seleção de complexos ovócitos cumulus (COCs). Os COCs foram recuperados dos folículos e classificados morfológicamente de acordo com a homogeneidade e coloração do citoplasma, número de camadas e aspecto das células do cúmulo em viáveis (qualidade 1 e 2) e não viáveis (qualidade 3 e 4). Apenas ovócitos classificados como grau 1 e 2 foram utilizados no sistema de produção *in vitro* de embriões. Após maturação desses ovócitos, foi realizada a fertilização *in vitro*.

A taxa de clivagem foi determinada 48 horas após a fertilização *in vitro* por meio de contagem dos zigotos que apresentavam duas ou mais células com o auxílio de estereoscópio. Após o sétimo dia de fertilização a taxa de blastocistos foi determinada e calculada a partir da contagem da quantidade de embriões que alcançaram esse estágio de desenvolvimento e o número de ovócitos que iniciaram a clivagem.

4.2. Espectrometria de massa avançada das cabeças dos espermatozoides

4.2.1. Isolamento das cabeças dos espermatozoides

Amostras de sêmen a serem avaliadas foram descongeladas a 37°C por 3 minutos, em seguida acondicionadas em tubos de fundo cônico de 15ml contendo, 8ml de tampão 50mM de Tris-HCl 7,5 pH e 1mM de EDTA. Procedeu-se a centrifugação das amostras a 750 x G por 15 minutos à 4°C e remoção do sobrenadante. O pellet foi ressuspensionado em 8ml do

mesmo tampão e novamente realizados centrifugação e descarte do sobrenadante. O procedimento foi repetido três vezes.

Após a terceira centrifugação a amostra foi ressuspensa em 1,5ml da solução tampão, o material foi sonificado em gelo por 20 minutos com pulsos de 30 segundos e intervalos de 5 segundos, em seguida centrifugado a 1000 x G por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado foi adicionado 2,0 ml de tampão 50mM Tris-HCl e sacarose 1,1 M, pH 7,5.

A separação de cabeças e caudas dos espermatozoides foi realizada segundo os procedimentos descritos (MENDONÇA, 2015). A metodologia se deu por ultracentrifugação, onde a amostra foi submetida a 75.600 x G por 45 minutos a 4°C; em um gradiente de 2ml de cloreto de cério (CsCl) a 2,82M, 25mM de Tris-EDTA, 5mM de MgCl₂ e 0,5% triton X-100) em tubo de 12ml para ultracentrífuga, sobreposto por 4ml de sacarose 2,2M e recoberto por 2ml de amostra em tampão 50mM Tris-HCl e sacarose 1,1 M, pH 7,5.

Após a ultracentrifugação foi, cuidadosamente, retirado o sobrenadante (pipetagem) contendo caudas e o sedimento ressuspensa com tampão Tris 25mM e este lavado três vezes por centrifugação a 1000 x G por 30 minutos a 4 °C em tampão Tris 25mM para a retirada do excesso de Cloreto de Césio. Neste momento o pellet era composto basicamente por cabeças de espermatozoides isoladas, contudo, ainda existia pequena contaminação por fragmentos de cauda.

4.2.2. Extração da Cromatina e Matriz Nuclear

Para a extração da cromatina foi adotado o protocolo modificada (MORANDI, 2013), onde a amostra contendo cabeças isoladas foi ressuspensa em 500µL de solução contendo

1% de Triton X- 100, 50mM tris-HCl, pH 7,5, 1mM EDTA e 5 μ L de coquetel inibidor de proteases, e agitadas em Vortex por 20 minutos em temperatura ambiente. As amostras foram lavadas 3 (três) vezes por centrifugação a 1100 x G por 30 minutos com 1,5ml de 50mM Tris-HCl, pH 7,5. O material foi ressuscitado, após a última lavagem, em 500 μ L de tampão de descondensação (40mM 1,4-ditiotreitol (DTT), 0,25M (NH₄)₂S₄, 25mM Tris-Hcl, pH 7,5, e 5 μ L de coquetel inibidor de protease), permanecendo por 40 minutos em temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 4000U de desoxirribonuclease I livre de RNase e homogeneizado por 60 minutos sob Vortex em temperatura ambiente. A amostra foi precipitada, evaporada em estufa à 43°C *overnight*.

4.2.3. Identificação das Proteínas.

Inicialmente, as amostras precipitadas foram ressuscitadas em 100 μ L de tampão Tris-HCl 0,1M pH 8.8 contendo ureia 8M. Para a quantificação de proteínas foi utilizado o método de Bradford (BRADFORD, 1976) com o reagente Protein Assay Dye Reagent Concentrate (Bio-Rad, cód. 500-0006, Lote L9700067 Rev J). A curva padrão foi realizada com diferentes diluições de BSA, preparada a partir de estoque adquirido comercialmente (Protein Standard 200mg/ml, Sigma, Cód. #P5369-10 ml Lote 110M6005). As amostras foram distribuídas em duplicatas em microplacas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Molecular Devices, SpectraMax Plus 384), em comprimento de onda de 595nm. Pelos dados obtidos na quantificação, foi estimada a massa total de proteínas presentes nas amostras.

4.2.4. Processamento das Amostras

A preparação das amostras para a espectrometria de massas avançada consistiu basicamente de três etapas principais: i) redução e alquilação das proteínas, ii) digestão enzimática das proteínas com tripsina e iii) “clean up/desalting” das amostras. Foram utilizados 38 μ L da amostra (50 μ g).

Em resumo, as amostras foram submetidas à redução das pontes de dissulfeto das proteínas pela adição de DTT (ditiotreitól) na proporção 1mg DTT/mg proteína e incubação por 2 horas em temperatura ambiente seguida da alquilação pela adição de I.A. (iodoacetamida) na proporção 3 mg I.A./mg proteína e incubação por 1 hora em temperatura ambiente, no escuro.

O volume das amostras foi diluído 5 vezes em solução de 0,1 M de bicarbonato de amônio pH \geq 8,0 obtendo-se um volume final de 500 μ L. As amostras foram então incubadas com 1 μ g de tripsina (Promega,V511A, Lote 30551310) à 37°C *overnight*. Previamente a aplicação das amostras no espectrômetro de massas foi realizado o “clean-up”/ desalting” das amostras, utilizando-se a coluna OASIS HLB Cartridge 1cc (cat. number: 186000383, Waters), conforme descrição do fabricante.

Brevemente, a coluna foi equilibrada com solução acetonitrila 5% contendo ácido fórmico 0,1% e a eluição do material de interesse foi realizada com acetonitrila 80%. As amostras foram em seguida secas em *speed vac* e aplicadas em espectrômetro de massas, conforme descrito a seguir.

4.2.5. Análise no espectrômetro de massa

As amostras foram analisadas em espectrômetro de massas do tipo LTQ Orbitrap ELITE (Thermo-Finnigan) acoplado a um sistema de cromatografia de nanoflow (LC-MS/MS). Os dados adquiridos foram automaticamente processados pelo “Computational Proteomics Analysis System - CPAS” (SILVA, 2018).

Os peptídeos identificados que atingiram o critério mínimo de qualidade foram então agrupados em proteínas, utilizando-se o algoritmo “Protein Prophet” e foi gerada uma lista de identificações com taxa de erro inferior a 2.0%. Foi utilizado um banco de dados específicos de bovinos. Todas as amostras foram avaliadas em duplicata. O número de peptídeos observados por proteína foi utilizado como indicativo aproximado de abundância.

4.3. Análise de alterações cromatínicas do sêmen por microscopia eletrônica de transmissão (MET)

4.3.1. Microscopia eletrônica de transmissão

Para cada amostra de sêmen, após o descongelamento de quatro palhetas (0,5 mL) de sêmen contendo aproximadamente 40.000.000 de espermatozoides cada, o conteúdo foi colocado em um microtubo de fundo cônico de 2 mL contendo 500 µL de solução de glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato a 0,1 M pH 7,4, por aproximadamente 2 horas. Posteriormente, os microtubos foram submetidos à centrifugação a 70 x g durante 5 minutos, o sobrenadante descartado e para remoção dos fixadores, o volume do microtubo foi recomposto com solução tampão fosfato pH 7,4, e o microtubo agitado. Este foi novamente

submetido a centrifugação a 70 x g por 5 minutos e o sobrenadante descartado. Esse procedimento foi repetido por três vezes. Após a última lavagem foi adicionado aos microtubos 500 µL de solução de tetróxido de ósmio a 1%, por 30 minutos. Este foi novamente submetido a centrifugação a 70 x g por 5 minutos e o sobrenadante descartado. Posteriormente foi realizada a retirada do tetróxido de ósmio de forma semelhante ao que foi feito para retirada do glutaraldeído. Após a última lavagem, adicionou-se ágar 3% a 50°C ao precipitado de células e misturado de forma a introduzir o ágar entre as células, mas mantendo-as no fundo do microtubo. Este foi levado à geladeira (4°C) até a solidificação do ágar.

Ao retirar o material incluído em ágar do microtubo, este foi partido em fragmentos de 1mm³. Os fragmentos foram colocados em frascos de vidro e desidratados em banhos de 5 minutos em solução de concentrações crescentes de álcool (50%, 70%, 80%, 90% e 95%) e depois três banhos de 10 minutos cada em álcool 100%.

Descartado o álcool da última etapa da desidratação, foi adicionado solução contendo 1 porção de álcool para 1 porção de resina Epon EMS (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, UK) e o frasco de vidro foi tampado, permanecendo assim por 12 horas. Após este período, os frascos foram destampados e colocados em estufa à temperatura de 37°C por 4 horas. Então, a solução 1:1 de álcool e resina foi retirada e uma nova solução pura de resina Epon adicionadas aos frascos. Estes foram novamente colocados em estufa à temperatura de 37°C por mais 4 horas. Em seguida a resina foi novamente retirada dos frascos e cada fragmento do material colocado em uma forma de silicone e identificado. Foi adicionado nova solução de resina Epon até completar a forma e colocada em estufa à temperatura de 60°C por pelo menos 72 horas.

Após solidificação (polimerização) na estufa, os blocos foram retirados das formas e o material foi cortado com ultramicrótomo Reichert-Jung (Leica Microsystems Inc., Buffalo Grove, IL, EUA) e os cortes, entre 60 e 90 nm de espessura, foram colocados em telas de cobre e contrastados em acetato de uranila e citrato de chumbo conforme descrito por Bozzola e Russel (1998).

Os cortes foram analisados e documentados fotograficamente em microscópio eletrônico Hitachi HT 7700, e imagens digitais as cabeças de espermatozoides foram obtidas.

Foi realizada a avaliação de pelo menos 100 cabeças de espermatozoides de cada amostra verificando-se a porcentagem de ocorrências de modificações na cromatina espermática, seguindo critérios modificados de Alves (2016), ou seja, cada cabeça de espermatozoide das imagens capturadas foi classificada em um dos seguintes grupos:

G0 – Ausência de alteração cromatínica;

G1 – Alterações leves: Presença de até 6 pequenos pontos claros ou região mais clara ocupando até $\frac{1}{4}$ da cabeça;

G2 – Alterações graves: Presença de vários pontos claros (acima de 6) ou região mais clara ocupando mais de um quarto da área nuclear.

4.9. Análise estatística

As taxas de clivagem e de blastocistos quando utilizado sêmen testado foram normalizados tendo como referência os resultados obtidos com um touro fértil, previamente testado em nossos laboratórios e com resultados bastante estáveis. Tal ação foi realizada como forma de neutralização dos efeitos da PIVE que não são controláveis. Para a normalização, as

taxas de clivagem e de blastocistos das amostras testadas foram transformadas em porcentagem das taxas obtidas com o sêmen do touro referência, na mesma rotina de PIVE.

Para avaliar se os dois graus de alterações cromatínicas avaliados tinha influência no processo de fertilização e de desenvolvimento embrionário, foi utilizado o teste de correlação de Pearson entre a porcentagem de cada grau de alteração com as taxas normalizadas de clivagem e de blastocisto.

Para obter um número representativo da quantidade de cada proteína em cada amostra, também foi realizada uma normalização das análises, transformando-se o número de peptídeo de cada proteína em porcentagem do número total de peptídeo encontrado na amostra.

Para identificar possíveis associações da quantidade de cada proteína encontrada e as alterações de cromatina identificadas por MET foi utilizado o teste de correlação de Pearson entre a porcentagem de cada proteína e a porcentagem de cada tipo de alteração cromatínica. Esta correlação foi avaliada apenas quanto às alterações cromatínicas graves, já que as leves não apresentaram correlação significativa com o processo de fertilização (taxa de clivagem) e com o desenvolvimento embrionário inicial (taxa de blastocistos).

Em todos os teste foram consideradas correlações significativas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

As taxas de clivagem e de blastocistos normalizadas obtidas nas PIVEs estão demonstradas na tabela 1, demonstrando os diferentes níveis de fertilidade dos touros.

Tabela 1: Taxas de clivagem e de blastocistos normalizadas obtidas nas PIVEs de touros de diferentes fertilidades

Touro	Taxa de clivagem normalizada	Taxa de blastocisto normalizada
1	111,57	108,52
2	85,81	78,15
3	49,67	6,00
4	75,19	7,14

Foram avaliadas por microscopia eletrônica de transmissão 4 amostras de sêmen com aproximadamente 100 cortes de cabeça de espermatozoide por amostra, totalizando em torno de 400 cabeças analisadas. A porcentagem de cada grau de alteração cromatínica em cada touro está na tabela 2. Já as correlações entre os graus de alteração cromatínica e as taxas de clivagem e blastocistos normalizadas estão representadas na tabela 3. As figuras de 1 a 3, adquiridas por MET, ilustram os diferentes graus de descompactação da cromatina espermática nas cabeças dos espermatozoides.

Tabela 2: Porcentagem dos graus de alteração cromatínica em cada touro

Touro	Alterações leves	Alterações graves	Sem alteração
1	49,66	4,7	46,64
2	87,66	12,31	0,03
3	36,36	61,36	2,28
4	41,13	51,77	7,1

Tabela 3: Coeficientes de correlação de Pearson entre os graus de alterações cromatínicas e as taxas de clivagem e blastocistos normalizadas obtidas em PIVEs.

	Clivagem	Blastocisto
G1	0,34	0,56
G2	-0,91	-0,98*

*Coeficiente de correlação estatisticamente significativo. * (P menor ou igual a 0.05). G1= Alterações leves (Presença de até 6 pequenos pontos claros ou região mais clara ocupando até um quarto da cabeça). G2= Alterações graves (Presença de mais de seis pontos claros ou região mais clara ocupando mais de um quarto da área nuclear).*

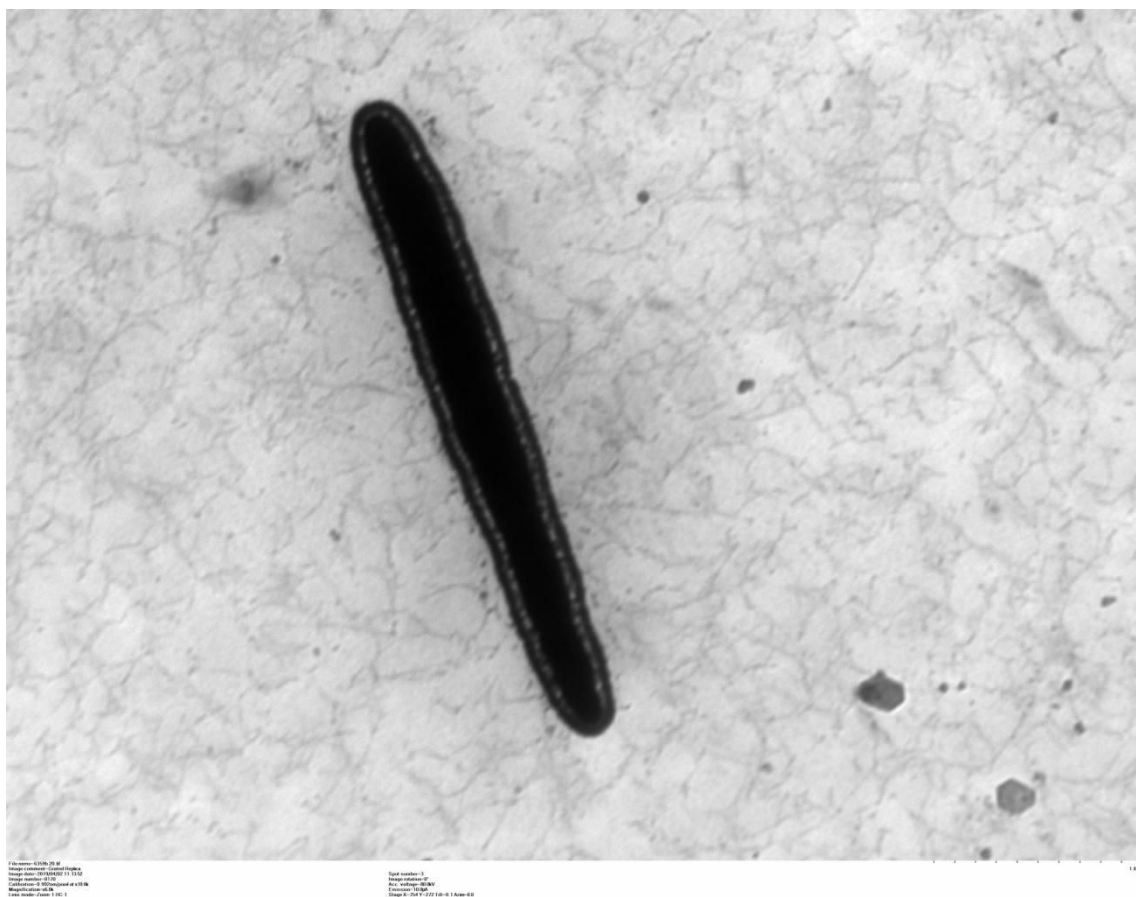


Figura 1 - Corte de uma cabeça de espermatozoide sem alteração cromatínica. (Touro 1)

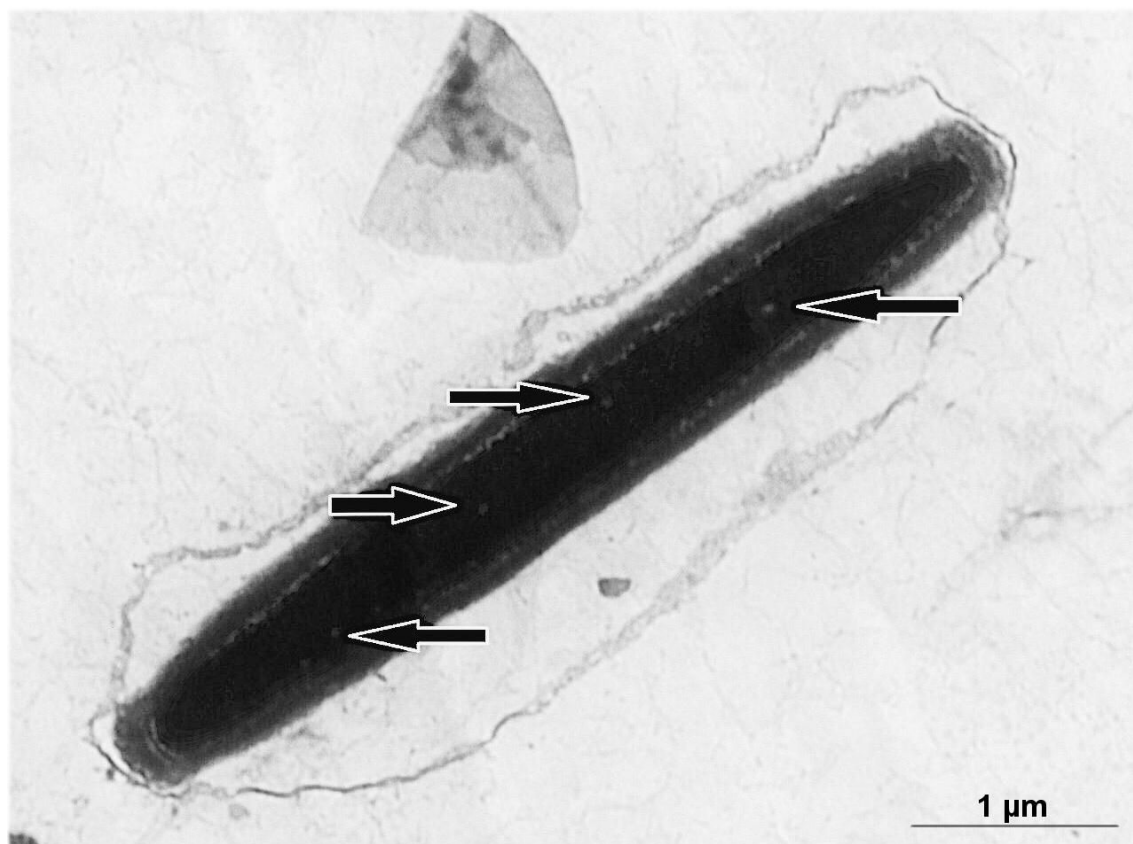


Figura 2 - Corte de uma cabeça de espermatozoide que apresenta quatro pontos claros (setas) apenas, sendo portanto classificado como alteração leve. (Touro 2)

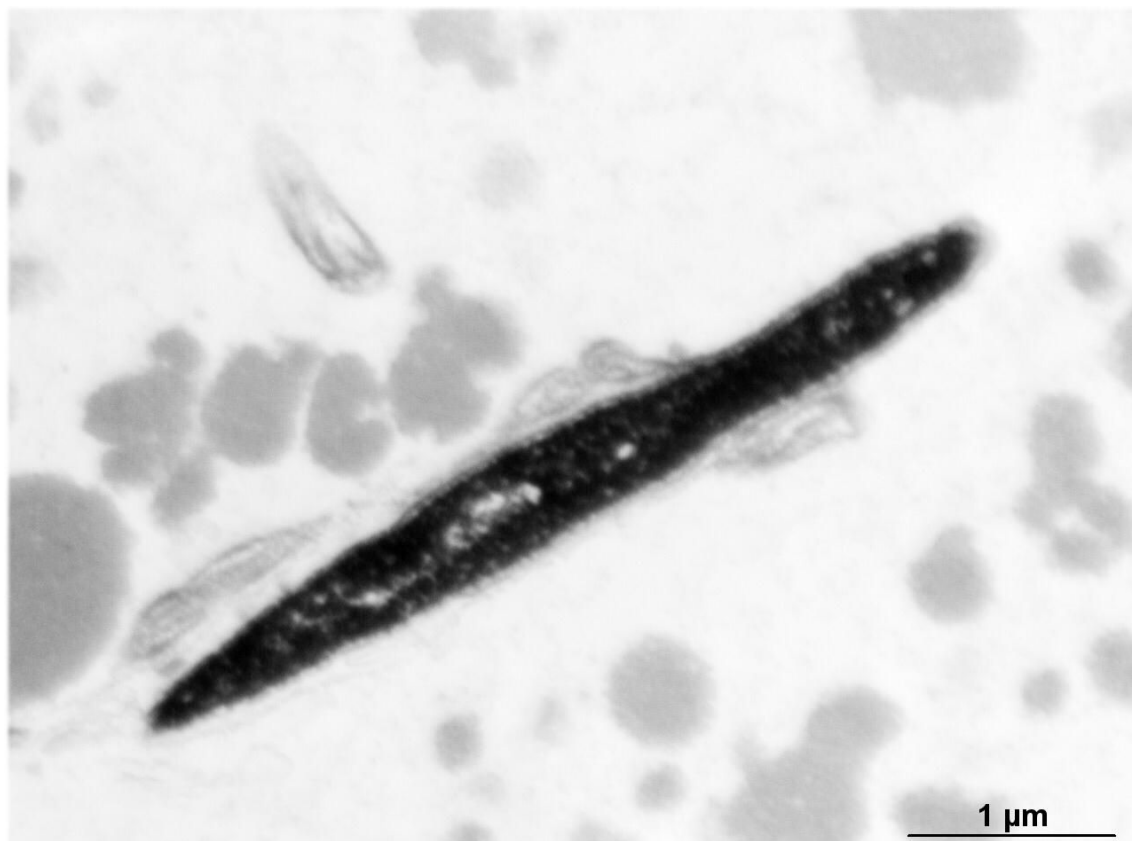


Figura 3 - Corte de cabeça de espermatozoide com presença de vários pontos claros (acima de 6), sendo portanto classificado como alteração grave. (Touro 4).

Na análise por espectrometria de massas foram identificadas 767 diferentes proteínas, sendo 452 encontradas em pelo menos dois touros e 300 proteínas encontradas apenas em amostras de um animal (Anexo 1).

As proteínas que tiveram correlações significativas positivas (9) e negativas (10) com a porcentagem de espermatozoides com alterações graves na compactação cromatínica são mostradas nas tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 Proteínas que apresentaram correlação positiva significativa com alterações cromatínicas graves:

PROTEÍNAS	valor de P	
DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2 (DNA replication ATP-dependent helicase-like homolog) [Includes: DNA replication nuclease DNA2 (EC 3.1.-.-); DNA replication ATP-dependent helicase DNA2 (EC 3.6.4.12)]	0.013	0.987
Activated CDC42 kinase1(ACK-1)(EC2.7.10.2)(EC2.7.11.1) (Activated CDC42 kinase 2) (Tyrosine kinase non-receptor protein2)	0.013	0.987
60S ribosomal protein L12	0.014	0.986
ATP synthase subunit delta, mitochondrial (F-ATPase delta subunit)	0.019	0.981
Limbin	0.024	0.976
Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial (EC 2.3.1.9) (Acetoacetyl-CoA thiolase)	0.028	0.972
Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial (Complex III subunit 6) (Complex III subunit VIII) (Cytochrome c1 non-heme 11 kDa protein) (Mitochondrial hinge protein) (Ubiquinol-cytochrome c reductase complex 11 kDa protein)	0.033	0.967
60 kDa heat shock protein, mitochondrial (EC 3.6.4.9) (60 kDa chaperonin) (Chaperonin 60) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Hsp60) (Mitochondrial matrix protein P1)	0.040	0.959
40S ribosomal protein S7	0.041	0.960

Tabela 5: Proteínas que apresentaram correlação negativa significativa com alterações cromatínicas graves:

PROTEÍNAS	valor de P	
Signal peptidase complex subunit 3 (Microsomal signal peptidase 22/23 kDa subunit) (SPC22/23) (SPase 22/23 kDa subunit)	0.0009	-0.999
Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta isoform (PP2A subunit B isoform B55-beta) (PP2A subunit B isoform PR55-beta) (PP2A subunit B isoform R2-beta) (PP2A subunit B isoform beta)	0.009	-0.991
Plasma serine protease inhibitor (Protein C inhibitor) (PCI) (Serpin A5)	0.015	-0.986
Coiled-coil domain-containing protein 63	0.015	-0.985
60S ribosomal protein L9	0.027	-0.973
Serine racemase (EC 4.3.1.17) (EC 4.3.1.18) (EC 5.1.1.18) (D-serine ammonia-lyase) (D-serine dehydratase) (L-serine ammonia-lyase) (L-serine dehydratase)	0.027	-0.973
3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, mitochondrial (HIBADH) (EC 1.1.1.31)	0.027	-0.973
Inositol monophosphatase 1 (IMP 1) (IMPase 1) (EC 3.1.3.25) (D-galactose 1-phosphate phosphatase) (EC 3.1.3.94) (Inositol-1(or 4)-monophosphatase 1) (Lithium-sensitive myo-inositol monophosphatase A1)	0.027	-0.973
Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase, mitochondrial (EC 6.3.4.3) (Formyltetrahydrofolate synthetase)	0.027	-0.974
T-complex protein 1 subunit gamma (TCP-1-gamma) (CCT-gamma)	0.046	-0.954

6. DISCUSSÃO

As diversas rotinas de PIVEs realizadas foram importantes para demonstrar os diferentes níveis de fertilidade dos touros utilizados (Tabela 1). O uso de touros altamente férteis provavelmente não geraria resultados com variação suficiente de alterações cromatínicas, como foi obtido (Tabela 2), que possibilitassem identificar possíveis correlações destas alterações com o conteúdo proteico da cabeça do espermatozoide.

A classificação das alterações cromatínicas (alteradas de Alves (2016)) em dois diferentes graus (leve e grave) e sua correlação com a taxa de clivagem e de blastocisto demonstraram que nem toda alteração cromatínica identificada por MET interfere no processo de fertilização ou no desenvolvimento embrionário inicial (Tabela 3). Fica evidente que as alterações graves possuem grande interferência no desenvolvimento embrionário inicial, corroborando com Beletti (2013) que sugeriu tal possibilidade. Contrariamente, Alves (2016) não encontrou qualquer correlação de alterações cromatínicas identificadas por MET com os resultados de PIVEs.

Considerando a grande variedade de proteínas encontradas nas cabeças de espermatozoide e a baixa correlação das alterações cromatínicas leves com a fertilidade e desenvolvimento embrionário, no presente trabalho foi dado ênfase apenas às proteínas com correlação significativa com as alterações cromatínicas graves.

Silva (2018) identificou diversas proteínas em cabeças do espermatozoide de touro que interferem no processo de fertilização e no desenvolvimento inicial de embriões *in vitro*. Ele afirma que uma das possibilidades de como essas proteínas poderiam interferir na fertilização e em especial no desenvolvimento embrionário, seria provocando alterações na cromatina, as quais não foram avaliadas em seu trabalho. No presente trabalho, foi realizada a correlação

das proteínas com as alterações cromatínicas graves identificadas por MET, sendo identificadas nove proteínas com correlação positiva significativa e 10 com correlação negativa.

Dentre as proteínas que apresentaram correlação positiva com alterações cromatínicas graves está a “DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2”, que foi identificada sendo prejudicial ao desenvolvimento embrionário inicial (SILVA, 2018). A “DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2” é uma enzima chave envolvida na replicação e reparo do DNA no núcleo e na mitocôndria. Possui diferentes atividades enzimáticas, como ATPase dependente de DNA de fita simples (ssDNA), helicase 5'-3' e atividades de endonuclease (KIM et al., 2006; FORTINI, 2011). Sua presença em grande quantidade pode indicar que o DNA do espermatozoide ainda está passando por processos de correção, de alteração ou até mesmo de compactação. Esses processos são praticamente inexistentes em espermatozoides normais, com cromatina altamente compactada e, portanto, os espermatozoides com presença abundante desta proteína deve ter sofrido espermição precocemente, antes do fim da espermiogênese e conseqüentemente possuem regiões de cromatina descompactada e possivelmente com alterações epigenéticas (BELETTI, 2013).

Outra proteína identificada por Silva (2018) como sendo prejudicial ao desenvolvimento embrionário inicial e que também apresentou alta correlação positiva com alterações cromatínicas graves foi a “Activated CDC42 kinase1”, também conhecida como ACK1 ou TNK2. Essa proteína foi inicialmente identificada como um efetora a jusante da GTPase Cdc42. ACK é um membro da família de tirosina quinase do tipo VIII e possui vários domínios funcionais. Estudos bioquímicos mostraram que a ACK funciona na regulação da degradação de EGFR (“epidermal growth factor receptor”) induzida por ligante e da adesão e migração celular mediadas por integrinas. A ACK é amplificada e superexpressa em múltiplos

cânceres, e associada à progressão tumoral através da promoção do crescimento e migração celular (LIN et al., 2012). Ou seja, é uma proteína importante para o metabolismo do DNA e provavelmente participe do processo de compactação.

A “60S ribosomal protein L12 (RPL12)” é outra proteína que apresentou correlação positiva com alterações graves no presente trabalho e que também foi identificada com expressão exacerbada em touros subfêrteis e como sendo prejudicial ao desenvolvimento embrionário inicial por SILVA (2018). Essa proteína é descrita como sendo responsável por ativar a transcrição mitocondrial (SUROVTSEVA et al., 2011) e contribuir para um mecanismo de regulação da síntese e/ou maturação do ribossoma (PLAFKER et al., 2002). Considerando essas funções, não é esperado que esta proteína seja encontrada na cabeça do espermatozoide e sua presença em grande quantidade, provavelmente, seja marcador de espermiogênese tardia, podendo ela estar interferindo ou não diretamente no processo de compactação.

A proteína “ATP synthase subunit delta, mitochondrial (F-ATPase delta subunit)” que também apresentou correlação positiva com as alterações cromatínicas graves é uma proteína localizada na membrana interna da mitocôndria e que faz parte do complexo ATP sintase (cadeia de transporte de elétrons mitocondrial) da célula espermática, e a cadeia delta é a sua subunidade catalítica. Sabe-se que o metabolismo energético é fundamental para a função espermática, sobretudo para a motilidade dos espermatozoides. Dentre as funções do complexo da ATP sintase está ligar o fosfato (P_i) à adenosina difosfato (ADP) para formar o ATP. A redução na ATP sintase pode resultar em um complexo disfuncional ATP sintase e, portanto, menos ATP são produzidos, afetando diretamente a produção energética dos espermatozoides, o que pode levar à sua redução de motilidade (MIKI, 2007). Portanto, provavelmente esta proteína seja um contaminante do processo de isolamento da cabeça. No

entanto, Silva (2018) também encontrou alta expressão desta proteína em touros subférteis, quando também utilizou processo semelhante no isolamento da cabeça do espermatozoide. Por isso, não se pode descartar a possibilidade desta proteína estar presente na cabeça de espermatozoides em situações inadequadas e de alguma maneira atrapalhar o processo de compactação.

A proteína “Limbin” detectada apresentando correlação positiva com alterações cromatínicas graves é descrita como sendo um componente do corpúsculo basal e do cílio. Além disso também é encontrada no núcleo de diversas células (BLAIR et al., 2011). Não existem descrições desta proteína em espermatozoides, mas se ela é encontrada em cílios e em corpúsculo basais, é possível que seja também encontrada nos centríolos e no flagelo (cauda) dos espermatozoides. Além desta função, mutações do gene codificador da “Limbin” estão relacionadas com a síndrome de Ellis-van Creveld, que gera malformação do esqueleto, em especial da face, o que gerou a denominação do gene, EVC2 (ZHANG et al., 2015). A limbin também foi encontrada por Silva (2018) como tendo alta correlação negativa com o desenvolvimento embrionário. Como já sabido (BELETTI, 2013), correlações cromatínicas de espermatozoides pode ser uma causa de morte embrionária inicial, portanto, é de se esperar que a Limbin esteja correlacionada positivamente com alterações cromatínicas. No entanto, no presente trabalho não foi possível saber se ela interfere diretamente na compactação cromatínica ou está presente em maior quantidade em condições desfavoráveis para a compactação eficiente.

Dentre as proteínas que tiveram correlação positiva com alterações de cromatina graves está a “Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial” também conhecida como “acetoacetyl-CoA thiolase”, “beta-ketothiolase”, ou thiolase II”. Esta proteína é uma enzima ubíqua que catalisa a clivagem de acetoacetyl-CoA em acetyl-CoA e sua reação reversa, a

síntese de acetoacetyl-CoA. Em mamíferos, ela localiza-se em compartimentos celulares distintos: o citosol, mitocôndrias e peroxissomo. A tiolase citosólica (TC) desempenha um papel fundamental no passo inicial da via da síntese do colesterol (NAKAO et al., 2016). A princípio a “Acetyl-CoA acetyltransferase” identificada na cabeça de espermatozoide de touro é a mitocondrial, que provavelmente não estaria agindo diretamente no processo de compactação. Essa proteína também foi identificada por Silva (2018) como sendo encontrada em maior quantidade em espermatozoides de touros subfêrteis e como tendo correlação negativa com o desenvolvimento embrionário inicial. Portanto, provavelmente esta proteína está apenas associada indiretamente com as alterações cromatínicas.

A proteína “Cytochrome b-c1 complex subunit 6” é uma subunidade do complexo citocromo b-c1 e também foi identificada como tendo correlação positiva com as alterações cromatínicas. Trata-se de um complexo proteico oligomérico de membrana, um componente da cadeia respiratória mitocondrial que gera um potencial eletroquímico acoplado à síntese de ATP (BOTTANI et al., 2017). Sabendo-se que essa proteína desempenha um papel crítico na geração bioquímica de ATP (fosforilação oxidativa), poderia então levar a uma diminuição da produção de energia e consequentemente afetar a motilidade espermática (PARK et al., 2012). Choi e colaboradores (2008) relataram que a “Cytochrome b-c1” regula a fosforilação da tirosina durante a capacitação e a reação acrossômica em espermatozoides de suínos. Apesar de ser uma proteína importante para o espermatozoide, sua maior presença na cabeça está associada a alterações cromatínicas graves, não sendo possível afirmar se por ação direta ou indireta no processo de compactação.

A proteína “60 kDa heat shock protein” é uma chaperona expressa exclusivamente em testículos. São proteínas envolvidas na resposta ao estresse térmico, que é considerado uma das principais causas de subfertilidade transitória de touros em clima tropical. (KAPPÉ et al.,

2001; XUN et al., 2015). Está associada também a uma ampla variedade de processos celulares, incluindo proteção do proteoma contra estresse, dobramento e transporte de polipeptídeos recém-sintetizados, ativação de proteólise de proteínas mal dobradas e a formação e dissociação de complexos proteicos (RADONS, 2016). A presença dessa proteína em espermatozoides com alterações graves na cromatina pode estar associada a uma tentativa de correção e ou proteção da estrutura cromatínica alterada. Apesar de Silva (2018) não ter encontrado esta proteína como tendo correlação negativa com o desenvolvimento embrionário inicial, ele verificou que em touros subfêrteis ela é encontrada em maior quantidade na cabeça dos espermatozoides.

Por fim, a proteína “40S ribosomal protein S7 (RPS7)” localizada no citoplasma, pertence à família S7E de proteínas ribossômicas, estando associada ao stress ribossômico. Em condições fisiológicas normais, o RPS7 localiza-se principalmente nos ribossomos e participa do processo de tradução para realizar o crescimento celular (BA et al., 2017). O fato dessa proteína ter sido encontrada apresentando alta correlação positiva com alterações cromatínicas graves, pode ser explicado pelo fato de que durante a espermiogênese, as histonas serem parcialmente substituídas pelas protaminas, levando a uma mudança da estrutura cromatínica. A transcrição nuclear é interrompida durante esse processo e, ao longo do amadurecimento do espermatozóide, acontece uma grande perda do citoplasma. Uma explicação para os mRNAs encontrados em espermatozoides maduros é que eles representam remanescentes da fase de espermatogênese que são deixados para trás durante a maturação dos espermatozoides (BETTINA et al., 2012). Provavelmente a presença desta proteína deva estar associada a uma espermiogênese tardia, sendo, portanto, espermatozoides imaturos. Silva (2018) verificou que esta proteína é encontrada em maior quantidade em touros subfêrteis e que ela possui correlação negativa com o desenvolvimento embrionário inicial.

Todas estas proteínas com correlação positiva com as alterações cromatínicas graves identificadas por MET possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de subfertilidade em touros

Dentre as proteínas que apresentaram correlação negativa com alterações cromatínicas graves, está a proteína “Signal peptidase complex subunit 3 (SPCS3)”. É uma proteína sinalizadora de peptidase essencial para a viabilidade celular. Ela é responsável pela clivagem de peptídeos sinalizadores tendo sua ação relacionada aos processos proteolíticos (CHEN et al., 2016). Os resultados do presente trabalho sugerem sua participação no processo de compactação da cromatina espermática. Corroborando com estes resultados, Silva (2018) encontrou correlação positiva desta proteína com o desenvolvimento embrionário inicial.

A proteína “Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta isoform (PP2A)” está identificada na cabeça do espermatozoide e é descrita como uma proteína que desempenha um papel crucial na capacitação, motilidade, interação zona pelúcida e reação acrossômica (FARDILHA et al., 2013). Silva (2018) verificou que esta proteína é encontrada em maior quantidade em touros altamente férteis, corroborando com sua importância para as funções espermáticas. Janssens (2001) realizou um experimento com clonagem molecular das subunidades PP2A da *Drosophila melanogaster* para melhor fornecer informações sobre o papel dessa proteína. Ele concluiu que a PP2A está envolvida no controle de eventos estruturais associados à mitose e que sua função está ligada a uma regulação adequada da atividade enzimática, uma vez que essa proteína desempenha um papel na regulação de cascatas de transdução de sinal específicas (JANSSENS et al., 2001). Com isso, sugere-se que esta proteína esteja associada direta ou indiretamente ao processo de compactação da cromatina.

A “Plasma serine protease inhibitor” é outra proteína que apresentou correlação negativa com alterações graves no presente trabalho e dentre suas diversas funções, ela atua no plasma seminal inativando várias proteases de serina envolvidas no sistema reprodutivo. Protege indiretamente o componente do trato genital masculino de ser degradado pela acrosina, controla a motilidade e fertilização do espermatozóide, inibe a degradação catalisada pela proteína C e regula a degradação da semenogelina durante o processo de transferência de espermatozoides do trato reprodutor masculino para o trato feminino. (SUZUKI et al., 1990; YUASA et al., 2000). Silva (2018) encontrou maior quantidade desta proteína em espermatozoides de touros férteis e uma correlação positiva da “Plasma serine protease inhibitor” com o desenvolvimento embrionário inicial. Portanto, os resultados deste trabalho sugerem a participação direta desta proteína no processo de compactação da cromatina espermática ou na proteção da estrutura cromatínica já consolidada.

Expressa fortemente nos testículos, a proteína “Coiled-coil domain-containing protein 63 (CCDC63)” apresentou correlação negativa com alterações graves de compactação cromatínica. A CCDC63 é incorporada ao complexo dineína tardiamente na espermatogênese, indicando que esta proteína desempenha uma importante função na formação de cabeças de espermatozoides e na formação de flagelos, conferindo ao espermatozoide a capacidade de se mover em direção ao ovócito e realizar a transferência da informação genética (YOUNG et al., 2015). Sabe-se que as dineínas estão associadas aos microtúbulos tornando-as um grupo de proteínas essenciais para o movimento dos flagelos. O movimento flagelar se dá pelo deslizamento dos microtúbulos pelas dineínas axonemais. Caso haja problemas na formação ou função destes complexos de dineína, o macho apresentará problemas de fertilidade (YOUNG et al., 2015). Silva (2018) verificou correlação positiva desta proteína com o desenvolvimento embrionário inicial. Martins (2018) demonstrou que a última região a ter a

cromatina compactada no espermatozoide de touro é a base da cabeça, próximo a implantação da cauda. A correlação negativa desta proteína com as alterações graves de compactação cromatínica encontrada no presente trabalho, sugere que ela não só é importante para a formação da cauda, como também para a compactação da cromatina na base da cabeça.

A proteína “60S ribosomal protein L9” está descrita como sendo um componente do ribossomo, responsável pela síntese de proteínas na célula (CHEN et al., 2015), possui influência na fidelidade da tradução reduzindo erros de codificação (NAGANATHAN et al., 2015). A transcrição de proteínas ribossômicas assegura seu papel nas vias metabólicas, como polimerização e despolimerização da actina e sua regulação, importação de proteínas no núcleo, glicólise e regulação da atividade da quinase MAP, regulação da motilidade celular, maturação celular e regulação da secreção (BANSAL et al., 2015). É difícil explicar o porquê desta proteína estar associada a ausência de alterações cromatínicas, já que a síntese proteica (tradução) não ocorre em espermatozoides maduros. Talvez esta proteína participe de outros processos associados além de constituir os ribossomas, processos esses associados à compactação cromatínica. É interessante salientar que a proteína “60S ribosomal protein L9” também foi descrita com sendo encontrada em maior quantidade em touros férteis e com correlação positiva com o desenvolvimento embrionário inicial (SILVA, 2018).

A “Serine racemase (SR)” é a primeira enzima racemase a ser identificada na biologia humana e converte a L-serina em D-serina, uma importante molécula de sinalização neuronal que atua como co-agonista do receptor NMDAR (N-metil-D-aspartato) (GRAHAM et al., 2019). O RNAm de SR humano foi principalmente identificado nos tecidos do cérebro, coração, músculo esquelético, rim e fígado. Essa proteína é regulada negativamente durante a fase inicial da apoptose (CANU et al., 2014). Tais fatos poderiam justificar a correlação negativa da SR com a compactação da cromatina, pois processos apoptóticos levam à

fragmentação internucleossômica do material genético, o que certamente causa alterações na compactação da cromatina espermática. Silva (2018) também encontrou correlação positiva desta proteína com o desenvolvimento embrionário inicial.

Ainda sobre proteínas que possuem correlação negativa com alterações graves de compactação da cromatina da cabeça do espermatozoide, temos a “3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase” que foi descrita como relacionada à função mitocondrial dos espermatozoides e responsável por manter a motilidade espermática, podendo servir como um marcador de mobilidade de espermatozoides (TASI et al., 2013). O achado desta proteína na cabeça dos espermatozoides poderia ser considerado como um contaminante da cauda, mas isso não explica a correlação encontrada, sendo difícil associá-la ao processo de compactação da cromatina.

A proteína “Inositol monophosphatase 1” foi descrita por HO (2001) como uma proteína localizada na região do pescoço do espermatozoide conferindo vantagens anatômicas e fisiológicas para regular sua motilidade. Ela foi apresentada nesse trabalho como apresentando correlação negativa com alterações cromatínicas graves. No entanto, fica difícil associar tal característica ao processo de compactação de cromatina na região da cabeça do espermatozoide.

Outra proteína mitocondrial que apresentou uma correlação negativa com alterações cromatínicas graves, foi a “Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase, mitochondrial”. É também conhecida como sintetase de formiltetra-hidrofolato, se trata de uma enzima que em humanos é codificada pelo gene MTHFD1L (metilenetetrahydrofolato desidrogenase (dependente de NADP + 1)) (CHRISTENSEN et al., 2008). Detectada em mitocôndrias embrionárias e células MEF (fibroblastos embrionários de rato), a MTHFD1L catalisa a etapa final na conversão mitocondrial de unidades 1-C (metabolismo de 1 carbono) para formar em

embriões (PIKE, 2010). De acordo com essas informações, fica difícil sugerir qualquer mecanismo que justifique a correlação negativa entre a grande presença da proteína Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase, mitochondrial e a compactação cromatínica.

E enfim, a proteína “T-complex protein 1 subunit gamma”, apontada como uma proteína que apresentou uma correlação negativa com alterações cromatínicas graves., se trata de uma chaperona molecular da subunidade gama da proteína 1 do complexo T e foi descrita como um complexo que dobra várias proteínas, incluindo actina e tubulina. Essa proteína é encontrada tanto no centrossoma como nos microtúbulos, embora seja essencialmente citoplasmático, alguns relatos sugerem que um subconjunto pode ter uma localização nuclear (SOUÈS et al., 2003). O fato desta proteína estar associada à heterocromatina constitutiva e à compactação da cromatina levanta a possibilidade de que ela possa estar implicada diretamente na compactação da cromatina.

Todas estas proteínas com correlação negativa com as alterações cromatínicas graves identificadas por MET possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de fertilidade em touros.

O fato da maioria das proteínas com correlação positiva com as alterações cromatínicas também estarem associadas negativamente com o desenvolvimento embrionário, mas não com a fertilização (SILVA, 2018) e que a maioria das proteínas com correlação negativa com as alterações cromatínicas também estarem associadas positivamente com o desenvolvimento embrionário (SILVA, 2018), corrobora com a hipótese de que as alterações cromatínicas influenciam muito mais o desenvolvimento embrionário do que o processo de fertilização propriamente dito.

7- CONCLUSÃO

As proteínas “60S ribosomal protein L12”, “60 kDa heat shock protein”, “Acetyl-CoA acetyltransferase”, “Cytochrome b-c1 complex subunit 6”, “ATP 342 synthase subunit delta”, “Limbin”, “40S ribosomal protein S7”, “DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2” e “Activated CDC42 kinase1” estão associadas positivamente com as alterações de cromatina graves identificadas por MET e possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de subfertilidade.

Já as proteínas “Serine/threonine-protein phosphatase 2A”, “60S ribosomal protein L9”, “Plasma serine protease inhibitor”, “Coiled-coil domain-containing protein 63”, “Signal peptidase complex subunit 3”, “Serine racemase”, “3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase”, “T-complex protein 1 subunit gamma”, “Inositol monophosphatase 1”, “Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase” estão associadas negativamente com as alterações de cromatina graves identificadas por MET e possuem potencial para serem utilizadas como marcadores moleculares de fertilidade.

Alterações de cromatina de espermatozoides identificadas por MET interferem o desenvolvimento inicial em bovinos, muito mais do que no processo de fertilização propriamente dito.

8- REFERÊNCIAS¹

ALBERTS B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda, 2017.

ALVES, P. H. M. **Correlação entre alterações nucleares de espermatozoides de touro identificados por microscopia eletrônica de transmissão e a eficiência na produção in vitro de embriões**. 2016. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

AMARAL, A. et al. Human Sperm Tail Proteome Suggests New Endogenous Metabolic Pathways. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 12, n. 2, p.330-342, 2012. <http://dx.doi.org/10.1074/mcp.m112.020552>.

BA Q. et al. BCCIP β modulates the ribosomal and extraribosomal function of S7 through a direct interaction. **Journal of Molecular and Cellular Biology**. v. 9, n. 3, p.209-219, 2017. <http://dx.doi.org/10.1093/jmcb/mjx019>.

BANSAL S. K. et al. Differential Genes Expression between Fertile and Infertile Spermatozoa Revealed by Transcriptome Analysis. **PLOS One**. v. 10, n. 5, p.e0127007, 2015. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0127007>.

¹ “Baseado na ABNT NBR 6023/2002”.

BELETTI, M. E. Cromatina espermática: quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 92-96, 2013.

BELETTI, M. E.; MELLO, M. L. S. Comparison between the toluidine blue stain and the feulgen reaction for evaluation of rabbit sperm chromatin condensation and their relationship with sperm morphology. **Theriogenology**, v. 62, n. 3-4, p.398-402, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2003.10.016>.

BELETTI, M. E.; COSTA, L. F.; GUARDIEIRO, M. M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v.22, n.2, p.85-90, 2005.

BETTINA E. F. et al. Conserved properties of Drosophila and human spermatozoal mRNA repertoires. **Proceedings. Biological sciences / The Royal Society**. v. 279, n. 1738, p.2636-2644, 2012. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2012.0153>.

BERGSTEIN T. G.; WEISS R. R.; BICUDO S. D. Técnicas de análise de sêmen. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. v.38, n.4, p.189-194, 2014. Disponível em www.cbra.org.br

BLAIR H. J. et al. Evc2 is a positive modulator of Hedgehog signalling that interacts with Evc at the cilia membrane and is also found in the nucleus. **BMC Biology**. v. 9, n. 1, p.14, 2011. <http://dx.doi.org/10.1186/1741-7007-9-14>.

BOTTANI E. et al. TTC19 Plays a Husbandry Role on UQCRCFS1 Turnover in the Biogenesis

of Mitochondrial Respiratory Complex III. **Molecules and Cells**. v. 67, n. 1, p.96-105, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.001>

BUNGUM M.; BUNGUM L.; GIWERCMAN A. Sperm chromatin structure assay (SCSA): a tool in diagnosis and treatment of infertility. **Asian Journal of Andrology**. v. 13, n. 1, p.69-75, 2010. <http://dx.doi.org/10.1038/aja.2010.73>.

BLACK J. C.; WHETSTINE J. R. Chromatin landscape: Methylation beyond transcription. **Epigenetics**. v. 6, n. 1, p.9-15, 2011. <http://dx.doi.org/10.4161/epi.6.1.13331>

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p.248-254, 1976. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.

CANU N.; CIOTTI M. T.; POLLEGIONI L. Serine racemase: a key player in apoptosis and necrosis. **Frontiers in Synaptic Neuroscience**. v. 6, p.6-9. 2014. <http://dx.doi.org/10.3389/fnsyn.2014.00009>

CHEN J. J. et al. Identification and comparison of gonadal transcripts of testis and ovary of adult common carp *Cyprinus carpio* using suppression subtractive hybridization. **Theriogenology**. v. 83, n. 9, p.1416-1427, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.001>

CHEN Q. et al. Inverting the topology of a transmembrane protein by regulating the translocation of the first transmembrane helix. **Molecular Cell**. v. 63, n. 4, p.567-578, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2016.06.032>

CHEN H. et al. Leydig cell stem cells: Identification, proliferation and differentiation. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v.445, p.65-73, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2016.10.010>

CHRISTENSEN K. E.; MACKENZIE R. E. Mitochondrial methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase, and formyltetrahydrofolate synthetases. **Folic Acid And Folates**. v. 79, n.1, p.393-410, 2008. [http://dx.doi.org/10.1016/s0083-6729\(08\)00414-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0083-6729(08)00414-7).

CHOI Y. J. et al. Cytochrome c upregulation during capacitation and spontaneous acrosome reaction determines the fate of pig sperm cells: linking proteome analysis. **Journal of reproduction and development**. v. 54, n. 1, p.68-83, 2008. <http://dx.doi.org/10.1262/jrd.19116>.

DADOUNE J. P. Expression of Mammalian Spermatozoal Nucleoproteins. **Microscopy Research and Technique**. v. 61, n. 1, p.56-75, 2003. <http://dx.doi.org/10.1002/jemt.10317>.

D'OCCHIO M. J.; HENGSTBERGER K. J.; JOHNSTO S. D. Biology of sperm chromatin structure and relationship to male fertility and embryonic survival. **Animal Reproduction Science**. v. 101, n. 1-2, p.1-17, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.01.005>.

DUN M. D. et al. The Chaperonin Containing TCP1 Complex (CCT/TRiC) Is Involved in Mediating Sperm-Oocyte Interaction. **Journal of Biological Chemistry**. v. 286, n. 42, p.36875-36887, 2011. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m110.188888>.

ESKANDARI N. et al. Association between total globozoospermia and sperm chromatin defects. **Andrologia**. v. 50, n. 2, p.12843, 2017. <http://dx.doi.org/10.1111/and.12843>.

EVENSON D. P.; LARSON K. L.; JOST L. K. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques. **Journal of Andrology**. v. 23, n. 1, p.25-43, 2002. <http://dx.doi.org/10.1002/j.1939-4640.2002.tb02599.x>.

EVENSON D. P. Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment. **Translational Andrology and Urology**. v. 6, n. 4, p.495-500, 2017. <http://dx.doi.org/10.21037/tau.2017.07.20>.

EVENSON D. P. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. **Animal Reproduction Science**. v. 169, n.1, p.56-75, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.01.017>.

FARDILHA M. et al. "Omics" of human sperm: profiling protein phosphatases. **Omics**. v. 17, n. 9, p. 460-472, 2013. <http://dx.doi.org/10.1089/omi.2012.0119>.

FRANÇA L. R.; AVELAR G. F.; ALMEIDA F. F. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**. v. 63, n. 2, p.300-318, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.014>.

FORTINI B. K. et al. Characterization of the endonuclease and ATP-dependent flap endo/exonuclease of Dna2. **Journal of Biological Chemistry**. v. 286, n. 27, p.23763-23770, 2011. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m111.243071>

GOLDBERG E.; ZIRKIN B. R. Spermatogenesis: Overview. **Encyclopedia of Reproduction**. p.13-18, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.64422-7>.

GRAHAM D. L. et al. Human Serine Racemase: Key Residues/Active Site Motifs and Their Relation to Enzyme Function. **Frontiers in molecular biosciences**. v. 6, n. 8, p.1-9, 2019. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2019.00008>.

GUNES S.; ALSADAANASAN M.; AGARWAL A. Spermatogenesis, DNA damage and DNA repair mechanisms in male infertility. **Reproductive BioMedicine Online**. v. 31, n. 3, p.309-319, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.06.010>.

HAMIDI J. et al. A double-blinded comparison of in situ TUNEL and aniline blue versus flow cytometry acridine orange for the determination of sperm DNA fragmentation and nucleus decondensation state index. **Zygote**. v. 23, n. 4, p.556-562, 2014. <http://dx.doi.org/10.1017/s0967199414000288>.

HAMMADEH, M. E. et al. Predictive value of sperm chromatin condensation (aniline blue staining) in the assessment of male fertility. **Archives of Andrology**. v. 46, n. 2, p.99-104, 2001. <http://dx.doi.org/10.1080/01485010151093958>.

HAO S. L.; NI F. D.; YANG W. X. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. **Gene**. v. 706, p. 201-210, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.027>.

HO H. C.; SUAREZ S. S. An inositol 1,4,5-trisphosphate receptor-gated intracellular Ca(2+) store is involved in regulating sperm hyperactivated motility. **Biology of Reproduction**. v. 65, n. 5, p. 1606-1615, 2001. <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod65.5.1606>.

HOLSTEIN A. F.; SCHULZE W.; DAVIDOFF M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. **Reproductive Biology and Endocrinology**. v. 1, n. 1, p.107, 2003. <http://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-1-107>.

JANSSENS V.; GORIS J. Protein phosphatase 2A: a highly regulated family of serine/threonine phosphatases implicated in cell growth and signalling. **Biochemical Journal**. v. 353, n. 3, p. 417, 2001. <http://dx.doi.org/10.1042/0264-6021:3530417>.

JÉGOU B. et al. Meiotic Genes Are Enriched in Regions of Reduced Archaic Ancestry. **Molecular Biology and Evolution**. v. 34, n. 8, p. 1974-1980, 2017. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msx141>.

KAPPÉ G. et al. Characterization of two novel human small heat shock proteins: protein kinase-related HspB8 and testis-specific HspB9. **Biochimica Et Biophysica Acta**. v. 1520, n. 1, p. 1-6, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-4781\(01\)00237-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-4781(01)00237-8).

KIM J. H. et al. Isolation of human Dna2 endonuclease and characterization of its enzymatic properties. **Nucleic Acids Research**. v. 34, n. 6, p. 1854-1864, 2006. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkl102>.

KIM H. S. et al. The utility of sperm DNA damage assay using toluidine blue and aniline blue staining in routine semen analysis. **Clinical And Experimental Reproductive Medicine**. v. 40, n. 1, p. 23-28, 2013. <http://dx.doi.org/10.5653/cerm.2013.40.1.23>.

LIEBERMAN D. et al. Maintaining semen quality by improving cold chain equipment used in cattle artificial insemination. **Scientific Reports**. v. 6, n. 1, p.28108, 2016. <http://dx.doi.org/10.1038/srep28108>.

LIN Q. et al. The activation mechanism of ACK1 (activated Cdc42-associated tyrosine kinase 1). **The Biochemical Journal**. v. 445, n. 2, p. 255-264, 2012. <http://dx.doi.org/10.1042/bj20111575>.

LUCIO A. C. et al. Selected sperm traits are simultaneously altered after scrotal heat stress and play specific roles in in vitro fertilization and embryonic development. **Theriogenology**. v. 86, n. 4, p. 924-933, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.03.015>.

MARTINS, M. C.. **Avaliação da compactação de cromatina durante a maturação epididimária do espermatozoide de touro**. 2018. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

MELLO M. L. S.; VIDAL B. C. The Feulgen reaction: A brief review and new perspectives. **Acta Histochemica**. v. 119, n. 6, p. 603-609, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2017.07.002>.

MENDITI K. B. C.; KANG H. C. O Papel das Proteínas Histonas nas Neoplasias Hematológicas . **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 53, p.453-460, 2007. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/rbc/n_53/v04/pdf/revisao2.pdf

MENDONÇA G. A. **Proteômica da matriz nuclear espermática suína**. 2015. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

MIKI K. Energy metabolism and sperm function. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**. n. 65, p. 309-25, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17644971>

MILLER D.; BRINKWORTH M.; ILES D. Paternal DNA packaging in spermatozoa: more than the sum of its parts? DNA, histones, protamines and epigenetics. **Reproduction**. v. 139, n. 2, p. 287-301, 2010. <http://dx.doi.org/10.1530/rep-09-0281>.

MORANDI R. F. **Análise da estrutura e identificação de proteínas da cromatina nuclear espermática de bovinos**. 2013. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

MORETTI E.; COLLODEL G.; SANTA O. Electron microscopy in the study of human sperm pathologies. **Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology**. p. 343-351, 2012. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/5ca8/08efd0bc9235eb2426239e843f4fb76a360e.pdf?_ga=2.148701758.828753568.1572540937-147110681.1559323971

MORETTI E.; SUTERA G.; COLLODEL G. The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: Diagnostic applications and basic research. 2016 **Systems Biology in Reproductive Medicine**. v. 62, n. 3, p. 171-183, 2016. <http://dx.doi.org/10.3109/19396368.2016.1155242>.

MURGIANO L. et al. Deletion in the EVC2 gene causes chondrodysplastic dwarfism in Tyrolean Grey cattle. **Plos one**. v. 9, n. 4, p. 94861, 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0094861>.

NAGANATHAN A.; WOOD M. P.; MOORE S. D. The large ribosomal subunit protein L9 enables the growth of EF-P deficient cells and enhances small subunit maturation. **Plos One**. v. 10, n. 4, p. e0120060, 2015. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120060>.

NAKAMOTO R. K.; BAYLIS SCANLON J. A.; AL-SHAWI M. K. The rotary mechanism of the ATP synthase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 476, n. 1, p. 43-50, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2008.05.004>.

NAKAO N. et al. Characterization of primary structure and post-hatching increase in chicken cytosolic acetoacetyl-coA thiolase in the liver. **Poultry Science**. v. 95, n. 6, p. 1406-1410, 2016. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pew045>.

NAVARRO-AVIÑÓ J. P.; BELLÉS J. M.; SERRANO R. Yeast inositol mono- and trisphosphate levels are modulated by inositol monophosphatase activity and nutrients. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 302, n. 1, p. 41-45, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00051-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00051-2).

NISHIMURA H.; L'HERNAULT S. W. Spermatogenesis. **Current Biology**. v. 27, n. 18, p. 988-994, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.067>.

NUSSDORFER P. et al. Adapted methods for scanning electron microscopy (SEM) in assessment of human sperm morphology. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**. v. 18, n. 1, p. 43-48, 2017. <http://dx.doi.org/10.17305/bjbms.2017.2173>.

PARK Y. JL. et al. Fertility-related proteomic profiling bull spermatozoa separated by percoll. **Journal of Proteome Research**. v. 11, n. 8, p. 4162-4168, 2012. <http://dx.doi.org/10.1021/pr300248s>.

PARTHASARATHY R.; PARTHASARATHY L.; VADNALA R. Brain inositol monophosphatase identified as a galactose 1-phosphatase. **Brain Research**. v. 778, n. 1, p. 99-106, 1997. [http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993\(97\)01042-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01042-1).

PLAFKER S. M.; MACARA I. G. Ribosomal protein L12 uses a distinct nuclear import pathway mediated by importin 11. **Molecular and Cellular Biology**. v. 22, n. 4, p. 1266-1275, 2002. <http://dx.doi.org/10.1128/mcb.22.4.1266-1275.2002>.

POURMASUMI S. et al. Evaluation of sperm chromatin integrity using aniline blue and toluidine blue staining in infertile and normozoospermic men. **Journal of Reproduction & Infertility**. v. 20, n. 2, p. 95-101, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6486564/>

PIKE S. T. et al. Mitochondrial C1-tetrahydrofolate synthase (MTHFD1L) supports the flow of mitochondrial one-carbon units into the methyl cycle in embryos. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 285, n. 7, p. 4612-4620, 2009. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m109.079855>.

RATHKE C. et al. Chromatin dynamics during spermiogenesis. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1839, n. 3, p. 155-168, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2013.08.004>.

RADONS J. The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? **Cell Stress and Chaperones**. v. 21, n. 3, p. 379-404, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s12192-016-0676-6>.

SANTOS J. F. P. et al. Andrologia e criopreservação de sêmen em cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 40, n. 4, p. 167-179, 2016. Disponível em: www.cbpa.org.br

SILLASTE G. et al. A novel hypothesis for histone-to-protamine transition in *Bos taurus* spermatozoa. **Reproduction**. v. 153, n. 3, p. 241-251, 2017. <http://dx.doi.org/10.1530/rep-16-0441>.

SILVA, R. T. **Proteoma nuclear e micro-rnas de espermatozoides de bovinos férteis e subférteis**. 2018. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2018.457>

SOTO G. et al. Acetoacetyl-CoA thiolase regulates the mevalonate pathway during abiotic stress adaptation. **Journal of Experimental Botany**. v. 62, n. 15, p. 5699-5711, 2011. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/err287>.

SOUÈS S. et al. The cytosolic chaperonin CCT associates to cytoplasmic microtubular structures during mammalian spermiogenesis and to heterochromatin in germline and somatic cells. **Experimental Cell Research**. v. 288, n. 2, p. 363-373, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/s0014-4827\(03\)00248-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0014-4827(03)00248-9).

SOUZA E. T. **Localização de alterações cromatínicas em espermatozoides de touro e sua relação com a marcação imunocitoquímica de protamina**. 2014. 41 f. Dissertação

(Mestrado em Ciências Biomédicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

SOUZA E. T. et al. Sperm chromatin alterations in fertile and subfertile bulls. **Reproductive Biology**. v. 18, n. 2, p. 177-181, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.repbio.2018.04.001>.

SUROVTSEVA Y. V. et al. Mitochondrial Ribosomal Protein L12 selectively associates with human mitochondrial RNA polymerase to activate transcription. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 108, n. 44, p. 17921-17926, 2011. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1108852108>.

SUZUKI K. et al. Bovine plasma protein C inhibitor with structural and functional homologous properties to human plasma protein C inhibitor. **The Journal of Biochemistry**. v. 107, n. 3, p. 381-388, 1990. <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a123054>.

TASI Y. C. et al. Characterization of 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, HIBADH, as a sperm-motility marker. **Journal of assisted reproduction and genetics**. 2013 Apr;30(4):505-12. doi: 10.1007/s10815-013-9954-8. Epub 2013 Feb 20

XUN W., et al. Dual Functions in Response to Heat Stress and Spermatogenesis: Characterization of Expression Profile of Small Heat Shock Proteins 9 and 10 in Goat Testis. **BioMed Research International**. v. 30, n. 4, p. 505-512, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-013-9954-8>.

YOUNG, S. A. M. et al. CRISPR/Cas9-Mediated Rapid Generation of Multiple Mouse Lines Identified Ccdc63 as Essential for Spermiogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 16, n. 10, p. 24732-24750, 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms161024732>.

YUASA H. et al. Bovine protein C inhibitor has a unique reactive site and can transiently inhibit plasmin. **Thrombosis and haemostasis**. v. 83, n. 02, p. 262-267, 2000. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1613797>.

ZHANG H. et al. Generation of Evc2/Limbin global and conditional KO mice and its roles during mineralized tissue formation. **Genesis**. v. 53, n. 9, p. 612-626, 2015. <http://dx.doi.org/10.1002/dvg.22879>.

ZIDI-JRAH I. et al. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss. **Fertility and Sterility**. v. 105, n. 1, p. 58-64, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.041>.

ANEXO 1

Quadro com todas as proteínas encontradas nos espermatozoides de cada touro com a quantidade de peptídeo encontrada em cada amostra (total e em cada touro)

ProteinA	Massa (Da)	Total de peptídeos	7142	5391	6970	6131	6682	6646	6543	5781
		TOURO 1	TOURO 1	TOURO 2	TOURO 2	TOURO 3	TOURO 3	TOURO 4	TOURO 4	
Chymotrypsinogen B (EC 3.4.21.1) [Cleaved into: Chymotrypsin B chain A; Chymotrypsin B chain B; Chymotrypsin B chain C]	25,755	5582	760	626	544	418	1043	1020	620	551
Serum albumin (BSA) (allergen Bos d 6)	69,293	3770	487	395	324	267	624	631	557	485
Deoxyribonuclease-1 (EC 3.1.21.1) (Deoxyribonuclease I) (DNase I)	31,346	3388	466	404	248	198	637	628	442	365
Chymotrypsinogen A (EC 3.4.21.1) [Cleaved into: Chymotrypsin A chain A; Chymotrypsin A chain B; Chymotrypsin A chain C]	25,666	2542	359	287	297	200	398	410	299	292
Outer dense fiber protein 2 (Cenexin) (Outer dense fiber of sperm tails protein 2)	75,498	1623	135	118	462	446	107	97	138	120
Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, mitochondrial (PHGPx) (EC 1.11.1.12) (Glutathione peroxidase 4) (GPx-4) (GSHPx-4)	22,240	1513	160	142	235	212	241	236	159	128
Tubulin beta-4B chain (Tubulin beta-2C chain)	49,831	1142	112	101	242	216	97	87	158	129
Histone H2B subacrosomal variant (SubH2Bv)	14,224	1046	153	126	162	144	140	143	99	79
Outer dense fiber protein 1	29,435	1040	101	113	249	299	64	60	87	67
Lithostathine (Islet cells regeneration factor) (ICRF) (Islet of Langerhans regenerating protein) (REG) (Pancreatic stone protein) (PSP) (Pancreatic thread protein) (PTP) [Cleaved into: Lithostathine A chain; Lithostathine B chain]	19,334	979	157	121	65	75	162	154	125	120
F-actin-capping protein subunit beta (CapZ beta)	33,741	675	130	87	99	80	49	46	103	81
Calicin	66,890	657	119	88	88	82	61	55	82	82
Voltage-dependent anion-selective channel protein 2 (VDAC-2) (Outer mitochondrial membrane protein porin 2)	31,620	594	45	31	115	96	58	64	98	87
Histone H2A.J (H2a/j)	14,019	589	114	77	94	68	67	67	60	42
Actin-related protein T2 (ARP-T2)	41,913	588	73	74	76	84	60	66	86	69
Tubulin alpha-3 chain (Alpha-tubulin 3) [Cleaved into: Detyrosinated tubulin alpha-3 chain]	49,926	585	64	50	113	100	52	52	84	70
40S ribosomal protein S3 (EC 4.2.99.18)	26,688	576	85	73	52	49	106	101	58	52

Actin-like protein 7A	49,016	564	99	76	104	73	32	25	88	67
Keratin, type I cytoskeletal 19 (Cytokeratin-19) (CK-19) (Keratin-19) (K19)	43,885	551	25	21	43	49	0	0	192	221
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, testis-specific (EC 1.2.1.12) (Spermatogenic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)	43,288	535	69	43	87	59	64	68	76	69
Fibronectin type III domain-containing protein 8	35,412	465	82	57	56	48	43	44	68	67
Actin-like protein 9	45,566	367	63	44	50	37	34	36	55	48
Keratin, type II cytoskeletal 5 (Cytokeratin-5) (CK-5) (Keratin-5) (K5) (Type-II keratin Kb5)	62,937	363	43	28	56	58	14	19	78	67
Histone H2A type 2-C	13,988	358	92	70	80	0	57	59	0	0
Pancreatic trypsin inhibitor (Aprotinin) (Basic protease inhibitor) (BPI) (BPTI)	10,903	342	50	38	36	31	50	54	41	42
A-kinase anchor protein 3 (AKAP-3) (A-kinase anchor protein 110 kDa) (AKAP 110) (Protein kinase A-anchoring protein 3) (PRKA3)	94,672	334	45	29	62	50	34	31	47	36
Uncharacterized protein C7orf61 homolog	23,438	307	62	47	35	27	45	46	28	17
Tubulin beta-2B chain	49,953	292	0	0	0	0	54	55	96	87
Tubulin alpha-1B chain (Alpha-tubulin ubiquitous) (Tubulin K-alpha-1) (Tubulin alpha-ubiquitous chain) [Cleaved into: Detyrosinated tubulin alpha-1B chain]	50,152	281	43	0	75	64	0	0	56	43
Calmodulin (CaM)	16,838	274	43	14	47	19	28	19	63	41
Keratin, type I cytoskeletal 10 (Cytokeratin VIb) (Cytokeratin-10) (CK-10) (Cytokeratin-6B) (Keratin-10) (K10)	54,848	267	39	39	77	66	22	24	0	0
ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	59,720	267	22	18	37	37	40	42	37	34
Seminal plasma protein BSP-30 kDa (BSP-30K)	21,269	266	48	31	39	31	2	2	58	55
Histone H4 (H4.1)	11,367	262	68	53	30	24	24	25	21	17
Hemoglobin subunit beta (Beta-globin) (Hemoglobin beta chain) [Cleaved into: Spinorphin]	15,954	257	30	33	27	24	40	40	32	31
Histone H2B type 1	13,906	247	47	39	23	23	32	36	21	26
Cylicin-1 (Cylicin I) (Multiple-band polypeptide I)	74,817	246	43	19	26	16	11	9	70	52
Protein FAM205C	45,146	243	25	24	36	30	30	33	32	33
Keratin, type II cytoskeletal 78 (Cytokeratin-78) (CK-78) (Keratin-78) (K78) (Type-II keratin Kb40)	57,464	242	14	0	34	35	0	0	81	78
Voltage-dependent anion-selective channel protein 3 (VDAC-3) (Outer mitochondrial membrane protein porin 3)	30,739	230	22	16	46	33	28	27	32	26
Heat shock protein beta-9 (HspB9)	16,784	228	26	22	23	29	33	31	37	27
Keratin, type I cytoskeletal 17 (Cytokeratin-17) (CK-17) (Keratin-17) (K17)	48,712	227	21	25	26	36	18	19	41	41

ATP synthase subunit beta, mitochondrial (EC 3.6.3.14)	56,284	224	22	20	29	29	35	30	31	28
Serine/threonine-protein phosphatase PP1-gamma catalytic subunit (PP-1G) (EC 3.1.3.16) (Protein phosphatase 1C catalytic subunit)	36,984	217	32	29	32	36	24	25	21	18
Tektin-5	56,504	214	21	17	45	49	20	17	21	24
Inactive serine/threonine-protein kinase VRK3 (Serine/threonine-protein pseudokinase VRK3) (Vaccinia-related kinase 3)	50,549	212	22	20	30	28	26	29	29	28
Glutamine synthetase (GS) (EC 6.3.1.2) (Glutamate decarboxylase) (EC 4.1.1.15) (Glutamate--ammonia ligase)	42,031	204	20	13	43	22	36	27	22	21
Tubulin beta-4A chain (Tubulin beta-4 chain)	49,586	199	0	0	0	199	0	0	0	0
Keratin, type II cytoskeletal 7 (Cytokeratin-7) (CK-7) (Keratin-7) (K7) (Type-II keratin Kb7)	51,578	185	0	18	0	0	18	18	73	58
Profilin-3	14,629	185	33	24	20	16	26	20	25	21
Seminal ribonuclease (S-RNase) (Seminal RNase) (EC 3.1.27.5) (Ribonuclease BS-1)	16,377	182	20	11	46	27	2	2	50	24
Small nuclear ribonucleoprotein Sm D1 (Sm-D1) (snRNP core protein D1)	13,282	181	45	24	19	19	21	22	17	14
Triosephosphate isomerase (TIM) (EC 5.3.1.1) (Triose-phosphate isomerase)	26,690	176	10	5	32	36	20	17	27	29
Vitamin D-binding protein (DBP) (VDB) (Gc-globulin) (Group-specific component)	53,342	174	26	20	19	8	25	22	25	29
Ferritin light chain (Ferritin L subunit)	19,988	173	16	16	15	14	29	31	26	26
Elongation factor 1-alpha 1 (EF-1-alpha-1) (Elongation factor Tu) (EF-Tu) (Eukaryotic elongation factor 1 A-1) (eEF1A-1)	50,141	173	26	18	18	15	35	30	14	17
Seminal plasma protein PDC-109 (BSP-A1 and BSP-A2) (Seminal vesicle secretory protein 109) (SVSP109)	15,481	168	34	27	20	24	2	2	29	30
Tubulin beta-5 chain	49,671	161	0	0	0	161	0	0	0	0
Protein FAM71D	44,289	157	28	19	24	19	16	18	17	16
Rho GDP-dissociation inhibitor 1 (Rho GDI 1) (Rho-GDI alpha)	23,421	156	30	17	15	12	26	26	20	10
Vesicle-associated membrane protein-associated protein A (VAMP-A) (VAMP-associated protein A) (VAP-A)	27,856	150	23	16	16	12	14	14	30	25
Actin, cytoplasmic 1 (Beta-actin) [Cleaved into: Actin, cytoplasmic 1, N-terminally processed]	41,737	145	37	19	18	14	14	12	18	13
Sperm protamine P1 (Cysteine-rich protamine)	6,758	144	6	17	17	20	30	32	11	11
Heat shock 70 kDa protein 1-like (Heat shock 70 kDa protein 1L)	70,389	143	29	18	19	11	15	11	20	20
Ropporin-1 (Rhopilin-associated protein 1)	23,969	143	12	15	21	26	11	13	21	24
Tektin-3	56,681	141	14	11	30	26	15	13	16	16
Actin-like protein 7B	45,563	141	31	20	18	14	6	11	24	17

40S ribosomal protein S8	24,205	139	30	16	20	18	15	13	14	13
Proteasome subunit alpha type-6 (EC 3.4.25.1)	27,399	136	24	17	23	15	18	16	10	13
Proteasome subunit alpha type-4 (EC 3.4.25.1)	29,484	136	19	8	21	18	22	21	16	11
Elongation factor 1-delta (EF-1-delta)	31,142	132	22	13	9	9	25	23	15	16
Chymotrypsin-like elastase family member 1 (EC 3.4.21.36) (Elastase I) (Elastase-1)	28,518	132	23	14	15	12	17	21	16	14
Heat shock-related 70 kDa protein 2 (Heat shock 70 kDa protein 3) (HSP70.3)	69,740	131	20	21	17	16	11	11	18	17
Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase (EC 3.4.19.5) (EC 3.5.1.1) (Asparaginase-like protein 1) (Beta-aspartyl-peptidase) (Isoaspartyl dipeptidase) (L-asparagine amidohydrolase) [Cleaved into: Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase alpha chain; Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase beta chain]	32,050	131	10	8	26	22	17	14	17	17
Proteasome subunit alpha type-1 (EC 3.4.25.1)	29,586	130	20	9	20	17	26	20	10	8
Tubulin alpha-1D chain [Cleaved into: Detyrosinated tubulin alpha-1D chain]	50,283	129	0	43	0	0	44	42	0	0
Tektin-4	51,945	127	13	8	30	29	12	10	13	12
Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit (PP-1B) (EC 3.1.3.16) (EC 3.1.3.53)	37,187	122	0	0	28	33	22	23	0	16
78 kDa glucose-regulated protein (GRP-78) (Heat shock 70 kDa protein 5)	72,400	117	24	10	12	7	20	16	14	14
Tubulin beta-3 chain	50,433	117	0	0	117	0	0	0	0	0
Keratin, type II cytoskeletal 79 (Cytokeratin-79) (CK-79) (Keratin-79) (K79) (Type-II keratin Kb38)	57,721	116	0	13	28	24	0	0	30	21
Cylicin-2 (Cylicin II) (Multiple-band polypeptide II)	53,562	115	16	12	8	6	6	10	31	26
Histone H1.2 (CTL-1)	21,356	112	30	26	10	7	8	11	11	9
Heat shock cognate 71 kDa protein (Heat shock 70 kDa protein 8)	71,241	112	19	16	14	11	11	9	18	14
C-type natriuretic peptide (SVSP15) [Cleaved into: CNP-22; CNP-29; CNP-53]	13,291	111	8	9	15	21	1	0	23	34
Glycerol kinase (GK) (Glycerokinase) (EC 2.7.1.30) (ATP:glycerol 3-phosphotransferase)	61,261	106	8	6	18	17	16	17	13	11
1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase zeta-1 (EC 3.1.4.11) (Phosphoinositide phospholipase C-zeta-1) (Phospholipase C-zeta-1) (PLC-zeta-1)	73,732	104	15	11	16	15	11	11	12	13
Saccharopine dehydrogenase-like oxidoreductase (EC 1.-.-.-)	47,320	104	6	1	28	16	10	8	24	11
Keratin, type II cytoskeletal 74 (Cytokeratin-74) (CK-74) (Keratin-74) (K74) (Type II inner root sheath-specific keratin-K6irs4) (Type-II keratin Kb37)	59,952	102	12	7	15	14	0	5	25	24
Protamine-2 (Sperm histone P2) (Sperm protamine P2)	13,646	101	15	10	14	10	16	13	12	11
10 kDa heat shock protein, mitochondrial (Hsp10) (10 kDa chaperonin) (Chaperonin 10) (CPN10)	10,932	101	14	11	6	8	23	21	10	8

ADP/ATP translocase 4 (ADP,ATP carrier protein 4) (Adenine nucleotide translocator 4) (ANT 4) (Solute carrier family 25 member 31)	35,694	101	7	3	18	14	16	17	12	14
Proproteinase E (Procarboxypeptidase A complex component III) (Procarboxypeptidase A-S6 subunit III) (PROCPA-S6 III)	27,338	98	16	12	12	10	11	13	11	13
L-lactate dehydrogenase A chain (LDH-A) (EC 1.1.1.27) (LDH muscle subunit) (LDH-M)	36,598	98	10	7	24	16	8	10	14	9
Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.2) (Tryptophanyl-tRNA synthetase) (TrpRS) [Cleaved into: T1-TrpRS; T2-TrpRS]	53,812	96	15	10	8	10	15	15	14	9
Proteasome subunit beta type-4 (EC 3.4.25.1)	29,031	96	13	9	21	10	15	11	7	10
Keratin, type I cytoskeletal 14 (Cytokeratin VII) (Cytokeratin-14) (CK-14) (Cytokeratin-7) (Keratin-14) (K14) (Fragment)	10,722	95	9	9	13	15	7	6	18	18
Histone H2A.Z (H2A/z)	13,553	95	24	19	10	10	8	8	9	7
Tektin-2	49,886	93	3	7	24	21	7	9	10	12
Sperm acrosome membrane-associated protein 1	30,939	92	14	14	12	12	7	8	15	10
Alpha-enolase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydro-lyase) (Enolase 1) (HAP47) (Non-neural enolase) (NNE) (Phosphopyruvate hydratase)	47,326	89	16	13	13	10	11	17	4	5
Protein CutA (Brain acetylcholinesterase putative membrane anchor)	18,976	88	12	11	10	10	12	11	13	9
Late cornified envelope-like proline-rich protein 1	11,767	87	9	7	13	11	12	11	12	12
Clusterin (Glycoprotein III) (GpIII) [Cleaved into: Clusterin beta chain; Clusterin alpha chain]	51,114	86	23	16	8	6	8	5	9	11
Keratin, type II cytoskeletal 75 (Cytokeratin-75) (CK-75) (Keratin-6 hair follicle) (Keratin-75) (K75) (Type II keratin-K6hf) (Type-II keratin Kb18)	59,036	86	23	16	0	27	9	11	0	0
Glycerol-3-phosphate dehydrogenase, mitochondrial (GPD-M) (GPDH-M) (EC 1.1.1.53)	80,763	84	2	1	19	17	14	10	7	14
Mitochondria-eating protein (Spermatogenesis-associated protein 18)	60,584	83	24	10	9	7	5	3	14	11
Proteasome subunit alpha type-3 (EC 3.4.25.1)	28,405	82	13	9	13	12	13	11	7	4
Endoplasmic reticulum resident protein 27 (ER protein 27) (ERp27)	22,972	81	14	12	8	8	12	14	6	7
Proteasome subunit beta type-1 (EC 3.4.25.1)	26,246	78	16	4	15	12	14	13	2	2
Anionic trypsin (EC 3.4.21.4)	26,290	77	11	11	8	6	11	11	10	9
Proteasome subunit beta type-5 (EC 3.4.25.1)	28,609	76	7	8	17	12	13	12	2	5
Proteasome subunit alpha type-5 (EC 3.4.25.1)	26,411	76	11	5	13	9	12	14	6	6
Thioredoxin (Trx)	11,813	75	18	8	6	3	16	14	4	6
Proteasome assembly chaperone 2	29,224	75	10	6	12	9	11	10	8	9
Poly(rC)-binding protein 1 (Alpha-CP1)	37,498	73	13	7	8	6	12	11	8	8

Transcription factor A, mitochondrial (mtTFA)	28,907	71	9	6	10	6	11	14	7	8
Annexin A1 (Annexin I) (Annexin-1) (Calpactin II) (Calpactin-2) (Chromobindin-9) (Lipocortin I) (Phospholipase A2 inhibitory protein) (p35)	38,952	70	6	4	12	8	0	0	22	18
Adiponectin (30 kDa adipocyte complement-related protein) (Adipocyte complement-related 30 kDa protein) (ACRP30) (Adipocyte, C1q and collagen domain-containing protein) (Adipose most abundant gene transcript 1 protein) (apM-1)	26,133	70	9	11	8	5	11	11	6	9
60S acidic ribosomal protein P2	11,702	67	8	8	6	3	9	10	12	11
Barrier-to-autointegration factor [Cleaved into: Barrier-to-autointegration factor, N-terminally processed]	10,059	67	8	6	13	10	9	14	2	5
Myeloid leukemia factor 1 (Myelodysplasia-myeloid leukemia factor 1)	31,227	67	10	5	11	8	14	12	5	2
60S acidic ribosomal protein P1	11,514	67	11	10	6	5	11	9	7	8
Proteasome subunit beta type-3 (EC 3.4.25.1) (Proteasome chain 13) (Proteasome component C10-II) (Proteasome theta chain)	22,993	65	10	7	11	11	8	9	3	6
Dynein light chain 2, cytoplasmic	10,350	65	5	4	11	7	9	9	11	9
Keratin, type II cytoskeletal 59 kDa, component IV (Keratin K6-gamma) (Fragment)	18,670	64	12	6	19	16	0	0	6	5
Alpha-2-HS-glycoprotein (Asialofetuin) (Fetuin-A)	38,419	63	3	5	23	19	2	4	5	2
Ubiquitin-fold modifier 1	9,168	63	8	8	9	6	9	9	8	6
Transitional endoplasmic reticulum ATPase (TER ATPase) (EC 3.6.4.6) (15S Mg(2+)-ATPase p97 subunit) (Valosin-containing protein) (VCP)	89,330	62	6	2	9	6	12	11	7	9
Peroxiredoxin-5, mitochondrial (EC 1.11.1.15) (Peroxiredoxin V) (Prx-V) (Thioredoxin peroxidase)	23,253	62	13	9	8	5	7	6	7	7
GTP:AMP phosphotransferase AK3, mitochondrial (EC 2.7.4.10) (Adenylate kinase 3) (AK 3) (Adenylate kinase 3 alpha-like 1)	25,671	61	17	7	2	2	12	14	2	5
Histone H3.1	15,404	61	32	24	5	0	0	0	0	0
Dynein light chain 1, cytoplasmic (Dynein light chain LC8-type 1)	10,366	60	6	3	11	8	9	8	9	6
Ran guanine nucleotide release factor (RanGNRF) (Ran-binding protein MOG1)	20,680	60	8	5	7	7	10	10	7	6
60S ribosomal protein L11	20,252	60	8	7	5	7	10	9	7	7
Proteasome subunit alpha type-7 (EC 3.4.25.1)	27,869	60	6	6	13	9	8	10	4	4
cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit [Cleaved into: cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit, N-terminally processed]	42,893	59	24	12	7	3	3	1	7	2
60S ribosomal protein L35	14,566	58	17	15	5	7	6	6	2	0
IQ domain-containing protein F1	24,194	57	18	6	7	3	1	2	11	9
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B (PPIase B) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin B) (Rotamase B) (S-cyclophilin) (SCYLP)	23,744	56	9	6	5	5	11	10	5	5

Spermatid-specific manchette-related protein 1 (Ciliated bronchial epithelial protein 1)	35,066	56	4	3	15	13	4	4	8	5
60S ribosomal protein L8	28,025	55	3	6	5	3	12	9	10	7
Histone H3.3C	15,376	53	21	0	6	5	5	6	5	5
High mobility group protein B4	23,021	53	12	6	5	7	5	10	5	3
Phospholipase A2 (EC 3.1.1.4) (Group IB phospholipase A2) (Phosphatidylcholine 2-acylhydrolase 1B)	16,002	52	9	7	3	3	8	9	6	7
Proteasome subunit beta type-6 (EC 3.4.25.1)	25,542	52	7	4	12	6	5	8	5	5
Keratin, type II cytoskeletal 71 (Cytokeratin-71) (CK-71) (Keratin-71) (K71) (Type II inner root sheath-specific keratin-K6irs1) (Type-II keratin Kb34)	57,408	51	10	8	17	16	0	0	0	0
Proteasome subunit alpha type-2 (EC 3.4.25.1)	25,899	49	5	1	13	13	6	6	1	4
Mitochondrial carrier homolog 2	33,294	49	5	1	9	8	4	9	4	9
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (EC 1.2.1.12) (Peptidyl-cysteine S-nitrosylase GAPDH) (EC 2.6.99.-)	35,868	48	8	5	5	5	6	7	6	6
Proteasome assembly chaperone 1	33,015	48	5	8	9	7	8	10	1	0
Spermatid maturation protein 1	35,332	47	7	4	8	8	5	5	5	5
Actin, gamma-enteric smooth muscle (Gamma-2-actin) (Smooth muscle gamma-actin)	41,877	47	22	13	0	0	0	0	12	0
Colipase	12,051	46	10	5	1	1	14	9	2	4
40S ribosomal protein S3a	29,945	45	6	4	4	4	8	11	5	3
Coiled-coil domain-containing protein 58	16,708	44	6	8	4	5	6	7	4	4
Protein S100-A8 (BEE11) (Calgranulin-A) (Neutrophil cytosolic 7 kDa protein) (P7) (S100 calcium-binding protein A8)	10,460	44	7	3	3	2	2	1	20	6
Histone H3.3C-like	15,678	44	13	11	2	4	5	5	2	2
60S ribosomal protein L7a	30,026	43	12	9	2	1	6	7	2	4
Very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial (VLCAD) (EC 1.3.8.9)	70,649	42	3	3	11	6	0	0	10	9
Trimeric intracellular cation channel type B (TRIC-B) (TRICB) (Transmembrane protein 38B)	32,451	42	3	4	3	4	9	10	4	5
Proteasome subunit beta type-2 (EC 3.4.25.1)	22,896	42	9	3	6	7	6	5	3	3
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial (PDHE1-B) (EC 1.2.4.1)	39,126	41	3	2	11	9	5	5	3	3
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 D2 (EC 2.3.2.23) ((E3-independent) E2 ubiquitin-conjugating enzyme D2) (EC 2.3.2.24) (E2 ubiquitin-conjugating enzyme D2) (Ubiquitin carrier protein D2) (Ubiquitin-protein ligase D2)	16,735	41	8	5	6	4	4	4	5	5
Catenin alpha-1	100,133	41	7	1	7	1	10	8	3	4

NADH-cytochrome b5 reductase 1 (b5R.1) (EC 1.6.2.2)	33,861	41	2	3	11	6	3	7	4	5
Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha (NAC-alpha) (Alpha-NAC)	23,370	41	7	4	4	2	7	13	1	3
cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory subunit	45,094	40	4	3	3	1	2	2	12	13
60S ribosomal protein L30	12,784	40	5	4	4	4	6	6	6	5
Adenine phosphoribosyltransferase (APRT) (EC 2.4.2.7)	19,537	40	10	0	9	3	3	1	10	4
Diazepam-binding inhibitor-like 5 (Endozepine-like peptide) (ELP)	9,788	40	4	5	5	5	3	7	5	6
60S ribosomal protein L13	24,292	39	7	6	3	3	6	8	3	3
Phosphoglycerate kinase 1 (EC 2.7.2.3)	44,538	38	7	6	3	3	6	6	3	4
Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial (EC 2.3.1.61) (2-oxoglutarate dehydrogenase complex component E2) (OGDC-E2) (Dihydrolipoamide succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex) (E2K)	48,973	37	6	3	8	4	4	5	4	3
Protein HP-20 homolog	20,646	37	7	5	5	3	5	6	3	3
L-lactate dehydrogenase A-like 6B (EC 1.1.1.27)	41,592	36	0	6	0	7	5	6	7	5
Peptidoglycan recognition protein 1 (Oligosaccharide-binding protein) (OBP) (Peptidoglycan recognition protein short) (PGRP-S)	21,063	36	1	4	10	10	0	0	7	4
Postacrosomal sheath WW domain-binding protein (WW domain-binding protein 2-like)	31,966	35	5	3	3	2	3	4	7	8
14-3-3 protein zeta/delta (Factor activating exoenzyme S) (FAS) (Protein kinase C inhibitor protein 1) (KCIP-1)	27,745	35	12	5	3	1	2	1	6	5
Interferon-inducible GTPase 5 (EC 3.6.5.-) (Immunity-related GTPase cinema 1)	50,698	35	2	0	10	5	3	3	6	6
PDZ and LIM domain protein 1 (Elfin)	35,881	35	3	4	6	2	6	7	4	3
UBX domain-containing protein 6 (UBX domain-containing protein 1)	49,733	34	3	4	5	4	4	5	3	6
Sperm equatorial segment protein 1	41,410	34	5	2	1	0	0	0	16	10
Alpha-2-macroglobulin (Alpha-2-M)	167,576	34	8	0	3	3	9	8	2	1
Spermadhesin-1 (Acidic seminal fluid protein) (ASFP)	15,036	33	4	0	16	13	0	0	0	0
Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial (Complex III subunit 1) (Core protein I) (Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex core protein 1)	52,736	33	0	2	7	5	6	7	4	2
IQ domain-containing protein F5	18,051	33	5	4	4	3	3	3	3	8
Nucleoredoxin (EC 1.8.1.8)	48,331	32	2	3	4	7	5	6	2	3
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit, mitochondrial (EC 1.3.5.1) (Flavoprotein subunit of complex II) (Fp)	72,944	32	3	2	4	5	4	5	4	5
Keratin, type II cytoskeletal 72 (Cytokeratin-72) (CK-72) (Keratin-72) (K72) (Type II inner root sheath-specific keratin-K6irs2) (Type-II keratin Kb35)	56,930	31	12	0	19	0	0	0	0	0

Nucleoside diphosphate kinase 7 (NDK 7) (NDP kinase 7) (EC 2.7.4.6)	42,599	31	1	2	11	9	1	0	5	2
Hemoglobin subunit alpha (Alpha-globin) (Hemoglobin alpha chain)	15,184	30	8	3	1	0	7	4	5	2
Proteasome subunit beta type-7 (EC 3.4.25.1)	30,009	30	6	2	6	2	6	7	1	0
Elongation factor 2 (EF-2)	95,368	30	10	4	0	2	4	3	5	2
Glycerophosphodiester phosphodiesterase 1 (EC 3.1.4.-) (EC 3.1.4.44) (Membrane-interacting protein of RGS16)	37,653	30	3	2	6	3	5	8	2	1
Copper transport protein ATOX1 (Metal transport protein ATX1)	7,365	29	5	4	2	3	4	2	5	4
Keratin, type II cytoskeletal 8 (Cytokeratin-8) (CK-8) (Cytokeratin-A) (Keratin-8) (K8) (Type-II keratin Kb8)	53,627	28	18	10	0	0	0	0	0	0
Cytochrome b-c1 complex subunit 2, mitochondrial (Complex III subunit 2) (Core protein II) (Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex core protein 2)	48,149	28	2	1	4	5	5	7	2	2
2-oxoglutarate dehydrogenase, mitochondrial (EC 1.2.4.2) (2-oxoglutarate dehydrogenase complex component E1) (OGDC-E1) (Alpha-ketoglutarate dehydrogenase)	115,808	28	1	0	7	3	3	5	6	3
Tektin-1	48,719	28	2	1	10	8	1	1	5	0
Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial	30,606	28	5	4	1	2	5	5	4	2
Serine/threonine-protein phosphatase 2A 55 kDa regulatory subunit B beta isoform (PP2A subunit B isoform B55-beta) (PP2A subunit B isoform PR55-beta) (PP2A subunit B isoform R2-beta) (PP2A subunit B isoform beta)	51,710	27	6	3	4	4	3	2	2	3
Alpha-1-antitrypsin (Alpha-1-antitrypsin) (Alpha-1-proteinase inhibitor) (Serpina1)	46,104	26	1	4	8	3	4	2	3	1
AP-2 complex subunit beta (AP105B) (Adaptor protein complex AP-2 subunit beta) (Adaptor-related protein complex 2 subunit beta) (Beta-2-adaptin) (Beta-adaptin) (Clathrin assembly protein complex 2 beta large chain) (Plasma membrane adaptor HA2/AP2 adaptin beta subunit)	104,567	26	7	2	1	0	5	7	2	2
Barrier-to-autointegration factor-like protein (BAF-L) (Barrier-to-autointegration factor 2)	10,358	26	4	2	6	4	4	4	0	2
Aconitate hydratase, mitochondrial (Aconitase) (EC 4.2.1.3) (Citrate hydro-lyase)	85,359	25	0	1	2	4	7	8	1	2
N-acylneuraminyl transferase (EC 2.7.7.43) (CMP-N-acetylneuraminic acid synthase) (CMP-NeuNAc synthase)	48,438	25	4	4	1	3	4	5	2	2
60S ribosomal protein L32	15,874	25	6	4	1	1	4	6	1	2
Testis-specific serine/threonine-protein kinase 1 (TSK-1) (TSK1) (TSSK-1) (Testis-specific kinase 1) (EC 2.7.11.1)	41,569	25	7	0	4	2	1	1	5	5
60S ribosomal protein L18	21,535	25	5	7	1	1	3	4	1	3
Tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI-2)	26,675	25	1	2	8	6	0	0	5	3
Histone H1.3	22,154	24	0	24	0	0	0	0	0	0

Keratin, type II cytoskeletal 68 kDa, component IA (Fragment)	18,135	24	0	0	0	0	13	11	0	0
Seminal plasma protein A3 (BSP-A3)	16,140	24	7	6	3	3	0	0	2	3
Acyl-coenzyme A thioesterase 9, mitochondrial (Acyl-CoA thioesterase 9) (EC 3.1.2.-) (Acyl-CoA thioester hydrolase 9)	49,853	24	2	1	4	4	3	2	4	4
Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1 (NHERF-1) (Ezrin-radixin-moesin-binding phosphoprotein 50) (EBP50) (Regulatory cofactor of Na(+)/H(+) exchanger) (Sodium-hydrogen exchanger regulatory factor 1) (Solute carrier family 9 isoform A3 regulatory factor 1)	39,603	24	4	4	1	0	5	5	3	2
Spermatogenesis-associated protein 19, mitochondrial	17,899	24	3	2	3	4	3	2	3	4
Hemopexin	52,209	24	6	1	1	1	6	4	4	1
Annexin A2 (Annexin II) (Annexin-2) (Calpactin I heavy chain) (Calpactin-1 heavy chain) (Chromobindin-8) (Lipocortin II) (Placental anticoagulant protein IV) (PAP-IV) (Protein I) (p36)	38,612	23	2	0	2	1	0	0	8	10
ATP synthase subunit O, mitochondrial (Oligomycin sensitivity conferral protein) (OSCP)	23,320	23	2	0	7	4	4	4	2	0
Malate dehydrogenase, mitochondrial (EC 1.1.1.37)	35,668	23	3	2	7	6	0	2	2	1
Acyl-protein thioesterase 1 (APT-1) (EC 3.1.2.-) (Lysophospholipase 1) (Lysophospholipase I) (LPL-I) (LysoPLA I)	24,596	23	5	6	4	3	1	1	2	1
40S ribosomal protein S6	28,667	23	8	3	1	1	3	2	3	2
ATP synthase subunit gamma, mitochondrial (F-ATPase gamma subunit)	33,072	22	0	2	0	8	7	5	0	0
Conglutinin	37,995	22	3	2	4	1	4	4	2	2
Protein/nucleic acid deglycase DJ-1 (EC 3.1.2.-) (EC 3.5.1.-) (EC 3.5.1.124) (Maillard deglycase) (Parkinson disease protein 7 homolog) (Parkinsonism-associated deglycase) (Protein DJ-1) (DJ-1)	20,035	22	4	4	1	0	5	7	1	0
Serpin B6 (Proteinase inhibitor 6) (Serine proteinase inhibitor B-43)	42,561	21	0	0	3	4	7	5	0	2
Cathelicidin-1 (Bactenecin-1) (Bac1) (Cyclic dodecapeptide)	17,600	21	4	3	0	2	0	0	8	4
Spermadhesin Z13	13,383	21	4	1	6	5	0	0	2	3
60S ribosomal protein L9	21,876	21	4	3	3	3	2	2	2	2

Cytochrome c oxidase subunit 2 (Cytochrome c oxidase polypeptide II)	26,021	20	1	0	3	2	5	4	3	2
Coiled-coil domain-containing protein 184	20,580	20	4	2	3	2	2	3	2	2
Carnitine O-palmitoyltransferase 1, muscle isoform (CPT1-M) (EC 2.3.1.21) (Carnitine O-palmitoyltransferase 1, muscle isoform) (CPT I) (CPT1-M) (Carnitine palmitoyltransferase 1B)	88,512	20	2	1	4	3	3	5	1	1
Histone H3.3	15,328	20	0	20	0	0	0	0	0	0
Plasma serine protease inhibitor (Protein C inhibitor) (PCI) (Serpin A5)	45,297	20	4	4	4	3	1	1	2	1
Specifically androgen-regulated gene protein	63,052	19	6	3	0	0	4	3	2	1
Casein kinase II subunit alpha (CK II alpha) (EC 2.7.11.1)	45,144	19	5	0	5	2	0	0	5	2
Epididymal secretory protein E1 (EPV20) (Niemann Pick type C2 protein homolog)	16,640	19	3	2	5	0	5	4	0	0
Histone H3.2	15,388	19	19	0	0	0	0	0	0	0
Lumican (Corneal keratan sulfate proteoglycan 37B core protein) (Keratan sulfate proteoglycan) (KSPG)	38,756	19	7	0	1	0	6	3	1	1
Prohibitin-2	33,357	19	0	0	2	3	4	5	2	3
Programmed cell death protein 5	14,226	19	3	4	1	1	3	3	2	2
40S ribosomal protein S18	17,719	19	5	4	2	1	2	3	1	1
Cilia- and flagella-associated protein 20	22,748	19	4	1	6	6	0	1	0	1
Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial (Cytochrome c oxidase polypeptide Va)	16,735	18	1	1	1	1	5	4	4	1
ATP synthase subunit gamma, mitochondrial (F-ATPase gamma subunit)	33,072	18	3	0	8	0	0	0	5	2
Polyubiquitin-B [Cleaved into: Ubiquitin]	34,308	18	0	2	3	2	2	3	3	3
60S ribosomal protein L12	17,819	18	2	1	1	2	3	3	3	3
Polyadenylate-binding protein 1 (PABP-1) (Poly(A)-binding protein 1)	70,671	18	2	2	0	0	4	1	7	2
Uncharacterized protein C1orf185 homolog	26,092	18	2	1	6	2	3	1	2	1
40S ribosomal protein S20	13,373	18	4	2	1	1	4	3	1	2
40S ribosomal protein S25	13,742	18	3	3	1	1	4	2	2	2
60S ribosomal protein L27a	16,577	18	3	3	1	1	4	3	1	2
Flap endonuclease 1 (FEN-1) (EC 3.1.-.-) (Flap structure-specific endonuclease 1)	42,510	18	13	5	0	0	0	0	0	0
Cadherin-1 (Epithelial cadherin) (E-cadherin) (CD antigen CD324) [Cleaved into: E-Cad/CTF1; E-Cad/CTF2; E-Cad/CTF3]	97,938	18	3	2	2	1	3	3	3	1
60 kDa heat shock protein, mitochondrial (EC 3.6.4.9) (60 kDa chaperonin) (Chaperonin 60) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Hsp60) (Mitochondrial matrix protein P1)	61,108	17	2	0	1	0	4	4	3	3

Beta-defensin 10 (BNBD-10) (BNDB-10) (Neutrophil beta-defensin 10)	6,928	17	8	5	1	1	0	0	1	1
Alpha-1B-glycoprotein (Alpha-1-B glycoprotein)	53,554	17	3	2	2	2	3	3	1	1
Ferritin, mitochondrial (EC 1.16.3.1)	27,366	17	0	0	4	3	2	2	3	3
Phosphoglycerate mutase 2 (EC 5.4.2.11) (EC 5.4.2.4) (BPG-dependent PGAM 2)	28,685	17	6	1	4	0	1	3	0	2
Translation initiation factor eIF-2B subunit delta (eIF-2B GDP-GTP exchange factor subunit delta)	57,469	17	3	3	1	0	1	4	3	2
Prohibitin	29,804	17	0	0	3	4	3	2	2	3
Chromogranin-A (CgA) (Pituitary secretory protein I) (SP-I) [Cleaved into: Vasostatin-1; Chromofungin; Chromostatin; Chromacin; Pancreastatin; WE-14; Catestatin; GE-25; Serpinin-RRG; Serpinin; p-Glu serpinin precursor]	50,015	16	1	2	1	2	4	3	0	3
60S ribosomal protein L23a	17,695	16	6	1	0	1	3	3	1	1
Uncharacterized protein C19orf71 homolog	24,500	16	0	0	5	7	0	2	0	2
Sperm acrosome membrane-associated protein 4	12,964	16	1	0	1	1	4	6	1	2
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1 (UEV-1)	16,495	16	0	2	3	0	4	6	0	1
60S ribosomal protein L17	21,397	16	3	2	1	1	3	2	3	1
60S ribosomal protein L14	23,436	16	3	2	2	1	2	2	2	2
Glutathione S-transferase Mu 1 (EC 2.5.1.18) (GST class-mu 1) (GSTM1-1)	25,635	16	2	2	3	2	2	1	2	2
Protein PROCA1	42,242	15	2	2	4	2	1	1	1	2
Beta-nerve growth factor (Beta-NGF)	26,669	15	4	4	2	3	0	0	0	2
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5 (Complex I subunit B13) (Complex I-13kD-B) (CI-13kD-B) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 13 kDa-B subunit)	13,316	15	1	0	2	1	3	4	2	2
Acetyl-CoA acetyltransferase, mitochondrial (EC 2.3.1.9) (Acetoacetyl-CoA thiolase)	44,889	15	0	1	2	0	4	3	3	2
40S ribosomal protein S23	15,808	15	3	3	0	0	3	2	1	3
Thymopoietin-2 (Thymopoietin II)	5,574	14	1	3	1	1	3	2	2	1
Metalloproteinase inhibitor 2 (Collagenase inhibitor) (Tissue inhibitor of metalloproteinases 2) (TIMP-2)	24,355	14	3	0	3	4	0	0	1	3
Ras-related protein Rab-30	23,058	14	0	0	3	0	5	6	0	0
LIM and SH3 domain protein 1 (LASP-1)	29,677	14	3	2	1	0	4	3	0	1
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 9 (26S proteasome regulatory subunit p27)	24,266	14	1	2	2	2	2	2	1	2
60S ribosomal protein L7	29,169	14	7	3	1	0	0	1	2	0

Partner of Y14 and mago (PYM homolog 1 exon junction complex-associated factor) (Protein wibg homolog)	22,663	13	5	2	1	1	1	2	1	0
Dysferlin (Dystrophy-associated fer-1-like protein) (Fer-1-like protein 1)	239,314	13	1	3	3	1	1	0	3	1
cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha (PKA C-alpha) (EC 2.7.11.11)	40,620	13	4	2	2	2	1	1	1	0
Hexokinase-1 (EC 2.7.1.1) (Brain form hexokinase) (Hexokinase type I) (HK I)	103,064	13	5	1	2	1	0	0	2	2
Ras-related protein Rab-1B	22,202	13	2	1	3	2	0	0	2	3
Serine/threonine-protein phosphatase 2A activator (EC 5.2.1.8) (PP2A, subunit B', PR53 isoform) (Phosphotyrosyl phosphatase activator) (PTPA) (Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory subunit 4) (Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory subunit B')	36,882	13	1	0	3	1	2	4	1	1
Isochorismatase domain-containing protein 2	22,420	13	0	0	4	4	1	4	0	0
60S ribosomal protein L36a	12,441	13	2	1	2	0	3	3	1	1
60S ribosomal protein L15	24,146	13	2	2	3	2	2	2	0	0
Eukaryotic translation initiation factor 6 (eIF-6) (Imc-415 homolog)	26,513	13	2	3	0	2	2	1	0	3
Caltrin (Calcium transport inhibitor) (Peptide YY-2) (Peptide YY2) (Seminalplasmin) (SPLN)	8,977	12	2	2	1	4	0	0	2	1
Pyruvate dehydrogenase protein X component (Dihydrolipoamide dehydrogenase-binding protein of pyruvate dehydrogenase complex) (E3-binding protein) (E3BP) (proX)	53,886	12	0	0	2	3	1	2	2	2
Casein kinase II subunit beta (CK II beta) (Phosvitin)	24,942	12	2	1	2	2	1	1	2	1
Coiled-coil domain-containing protein 105	57,643	12	3	0	3	3	0	0	2	1
Protein FAM71E1	24,228	12	3	0	4	2	1	2	0	0
40S ribosomal protein S26	13,015	12	2	2	1	1	2	2	1	1
Heat shock protein HSP 90-alpha	84,731	12	6	3	0	0	0	0	1	2
Polypyrimidine tract-binding protein 1 (PTB)	57,105	12	1	2	2	1	2	1	2	1
Prolargin (Proline-arginine-rich end leucine-rich repeat protein)	43,683	12	2	1	1	1	3	3	0	1
Serpin A3-2	46,237	11	2	0	1	2	3	1	1	1
40S ribosomal protein S9	22,591	11	3	2	2	0	3	1	0	0
ATP synthase F(0) complex subunit B1, mitochondrial (ATP synthase subunit b) (ATPase subunit b)	28,822	11	1	0	1	1	2	4	1	1
Bile salt-activated lipase (BAL) (EC 3.1.1.13) (EC 3.1.1.3) (Bile salt-stimulated lipase) (BSSL) (Carboxyl ester lipase) (Cholesterol esterase) (Pancreatic lysophospholipase) (Sterol esterase) (Fragment)	65,162	11	3	1	1	0	2	1	1	2
ATP synthase subunit f, mitochondrial	10,297	11	0	0	2	3	2	2	1	1

Succinate--CoA ligase [GDP-forming] subunit beta, mitochondrial (EC 6.2.1.4) (GTP-specific succinyl-CoA synthetase subunit beta) (G-SCS) (GTPSCS) (Succinyl-CoA synthetase beta-G chain) (SCS-betaG)	46,691	11	3	1	0	0	3	3	1	0
40S ribosomal protein S10	18,898	11	2	2	1	1	2	2	0	1
40S ribosomal protein S28	7,841	11	1	1	1	0	4	2	1	1
Succinate--CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha, mitochondrial (EC 6.2.1.4) (EC 6.2.1.5) (Succinyl-CoA synthetase subunit alpha) (SCS-alpha)	36,167	11	2	2	2	1	0	2	1	1
Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial (Complex III subunit 6) (Complex III subunit VIII) (Cytochrome c1 non-heme 11 kDa protein) (Mitochondrial hinge protein) (Ubiquinol-cytochrome c reductase complex 11 kDa protein)	10,624	10	1	1	1	1	2	1	2	1
Collagen alpha-1(I) chain (Alpha-1 type I collagen)	138,938	10	1	1	1	1	2	2	1	1
NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial (EC 1.6.5.3) (EC 1.6.99.3) (Complex I-30kD) (CI-30kD) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 30 kDa subunit)	30,284	10	0	0	0	2	2	3	1	2
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 10, mitochondrial (Complex I-42kD) (CI-42kD) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 42 kDa subunit)	39,264	10	0	0	4	2	2	1	1	0
Histidine triad nucleotide-binding protein 1 (EC 3.-.-.-) (17 kDa inhibitor of protein kinase C) (Adenosine 5'-monophosphoramidase) (Protein kinase C inhibitor 1) (Protein kinase C-interacting protein 1) (PKCI-1)	13,779	10	2	1	1	1	1	2	1	1
Protein dpy-30 homolog (Dpy-30-like protein) (Dpy-30L)	11,250	10	2	0	1	0	0	0	3	4
60S ribosomal protein L18a	20,762	10	3	2	0	0	3	2	0	0
THO complex subunit 4 (Tho4) (Ally of AML-1 and LEF-1) (Aly/REF export factor) (Transcriptional coactivator Aly/REF) (bZIP-enhancing factor BEF)	26,953	10	3	0	0	0	3	3	1	0
40S ribosomal protein S11	18,431	10	4	1	0	0	0	3	1	1
40S ribosomal protein S16	16,445	10	3	0	1	1	1	3	0	1
Peroxiredoxin-1 (EC 1.11.1.15)	22,210	10	3	2	1	0	0	0	2	2
Transcobalamin-2 (TC-2) (Transcobalamin II) (TC II) (TCII)	47,958	10	0	0	5	5	0	0	0	0
Craniofacial development protein 2 (p97 bucentaur protein)	66,325	9	5	0	0	0	1	2	0	1
C-C motif chemokine 2 (Acidic seminal fluid protein) (Monocyte chemotactic protein 1A) (MCP-1) (MCP-1A) (Small-inducible cytokine A2)	11,114	9	1	0	4	4	0	0	0	0
Microtubule-associated protein 4 (MAP-4) (Microtubule-associated protein U) (MAP-U)	111,915	9	2	0	3	0	2	1	1	0
Fatty acid-binding protein, adipocyte (Adipocyte lipid-binding protein) (ALBP) (Adipocyte-type fatty acid-binding protein) (A-FABP) (AFABP) (Fatty acid-binding protein 4)	14,678	9	1	2	0	0	3	3	0	0
Endoplasmic reticulum resident protein 29 (ERp29)	28,806	9	2	0	0	1	3	3	0	0

Radial spoke head protein 9 homolog	31,294	9	1	1	1	1	0	0	2	3
T-complex protein 1 subunit delta (TCP-1-delta) (CCT-delta)	58,206	9	7	1	0	0	0	0	0	1
c-Myc-binding protein (Associate of Myc 1) (AMY-1)	11,997	9	3	1	0	0	1	2	2	0
Heat shock protein beta-1 (HspB1) (Heat shock 27 kDa protein) (HSP 27)	22,393	9	0	0	1	0	0	0	5	3
Cytochrome c1, heme protein, mitochondrial (Complex III subunit 4) (Complex III subunit IV) (Cytochrome b-c1 complex subunit 4) (Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex cytochrome c1 subunit) (Cytochrome c-1)	35,297	8	0	0	1	0	3	2	0	2
Acyl-CoA synthetase family member 2, mitochondrial (EC 6.2.1.-)	68,201	8	0	0	0	0	0	0	4	4
Myosin light chain kinase, smooth muscle (MLCK) (smMLCK) (EC 2.7.11.18) (Telokin) [Cleaved into: Myosin light chain kinase, smooth muscle, deglutamylated form]	128,825	8	2	0	0	0	4	2	0	0
Aspartyl aminopeptidase (EC 3.4.11.21)	51,828	8	2	0	4	0	1	0	0	1
2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase (EC 3.5.99.10) (Translation inhibitor L-PSP ribonuclease) (EC 3.1.-.-)	14,272	8	1	1	2	0	2	1	1	0
60S ribosomal protein L6	32,690	8	3	1	0	0	3	1	0	0
Testis-expressed sequence 37 protein	20,352	7	1	0	3	1	1	1	0	0
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha, somatic form, mitochondrial (EC 1.2.4.1) (PDHE1-A type I)	43,388	7	0	0	2	1	1	1	1	1
ATP synthase subunit delta, mitochondrial (F-ATPase delta subunit)	17,612	7	0	0	0	0	2	2	2	1
NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial (EC 1.6.5.3) (EC 1.6.99.3) (Complex I-75kD) (CI-75kD)	79,442	7	0	0	0	2	1	1	0	3
Histone H3-like centromeric protein A (Centromere protein A) (CENP-A)	15,678	7	1	0	2	0	1	1	0	2
Renin receptor (ATPase H(+)-transporting lysosomal accessory protein 2) (ATPase H(+)-transporting lysosomal-interacting protein 2) (Renin/prorenin receptor) (Vacuolar ATP synthase membrane sector-associated protein M8-9) (V-ATPase M8.9 subunit)	39,491	7	4	3	0	0	0	0	0	0
Elongation factor 1-gamma (EF-1-gamma) (eEF-1B gamma)	50,378	7	3	0	0	0	1	1	1	1
60S ribosomal protein L31	14,463	7	2	1	0	1	2	1	0	0
Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial (EC 4.2.1.17) (Enoyl-CoA hydratase 1) (Short-chain enoyl-CoA hydratase) (SCEH)	31,243	7	2	1	1	0	0	2	1	0
60S ribosomal protein L4	47,412	7	2	2	0	0	1	1	1	0
Lon protease homolog, mitochondrial (EC 3.4.21.53) (Lon protease-like protein) (LONP) (Mitochondrial ATP-dependent protease Lon) (Serine protease 15)	106,670	7	0	0	4	0	0	0	3	0
Tubulin-folding cofactor B (Cytoskeleton-associated protein 1) (Cytoskeleton-associated protein CKAPI) (Tubulin-specific chaperone B)	27,518	7	0	1	1	0	1	1	1	2
Limbin	137,812	7	0	0	0	0	0	4	3	0

Diacylglycerol kinase alpha (DAG kinase alpha) (EC 2.7.1.107) (Diglyceride kinase alpha) (DGK-alpha)	82,672	6	0	1	1	0	1	1	1	1
Galactokinase (EC 2.7.1.6) (Galactose kinase)	42,227	6	6	0	0	0	0	0	0	0
3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2 (EC 1.1.1.35) (17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 10) (17-beta-HSD 10) (EC 1.1.1.51) (3-hydroxy-2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase) (EC 1.1.1.178) (3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type II) (Mitochondrial ribonuclease P protein 2) (Mitochondrial RNase P protein 2) (Type II HADH)	27,140	6	3	0	0	0	1	2	0	0
Cytochrome c oxidase subunit 5B, mitochondrial (Cytochrome c oxidase polypeptide VIa) (Cytochrome c oxidase polypeptide Vb)	13,834	6	1	1	0	0	1	2	0	1
ATP synthase subunit d, mitochondrial (ATPase subunit d)	18,692	6	0	0	0	1	3	1	1	0
Ribonuclease 4 (RNase 4) (EC 3.1.27.-) (Ribonuclease BL4)	13,741	6	1	0	3	2	0	0	0	0
Aldose reductase (AR) (EC 1.1.1.21) (20-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase) (20-alpha-HSD) (EC 1.1.1.149) (Aldehyde reductase)	35,919	6	4	2	0	0	0	0	0	0
Prosaposin (Proactivator polypeptide) [Cleaved into: Saposin-A (Protein A); Saposin-B (Cerebroside sulfate activator) (CSAct) (Dispersin) (Sphingolipid activator protein 1) (SAP-1) (Sulfatide/GM1 activator); Saposin-C (A1 activator) (Co-beta-glucosidase) (Glucosylceramidase activator) (Sphingolipid activator protein 2) (SAP-2); Saposin-D (Component C) (Protein C)]	58,051	6	3	0	0	0	1	2	0	0
Centrosomal protein of 44 kDa (Cep44)	43,580	6	0	0	4	2	0	0	0	0
Cornifelin	12,313	6	0	0	2	2	0	0	1	1
Coiled-coil domain-containing protein 63	65,966	6	3	0	2	1	0	0	0	0
Complement C3 [Cleaved into: Complement C3 beta chain; Complement C3 alpha chain; C3a anaphylatoxin; C3-beta-c (C3bc); Acylation stimulating protein (ASP) (C3adesArg); Complement C3b alpha' chain; Complement C3c alpha' chain fragment 1; Complement C3dg fragment; Complement C3g fragment; Complement C3d fragment; Complement C3f fragment; Complement C3c alpha' chain fragment 2]	187,253	6	0	1	1	1	1	1	1	0
Testis, prostate and placenta-expressed protein	17,717	6	0	0	2	3	0	0	1	0
RIB43A-like with coiled-coils protein 2	36,958	6	1	0	1	2	0	0	2	0
14 kDa phosphohistidine phosphatase (EC 3.9.1.3) (Phosphohistidine phosphatase 1) (PHPT1) (Protein histidine phosphatase) (PHP)	13,931	6	1	0	2	1	0	0	2	0
Protein S100-A14 (S100 calcium-binding protein A14)	11,410	6	0	0	0	1	0	0	2	3
Double-strand-break repair protein rad21 homolog	71,514	6	1	0	0	0	2	1	1	1
N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 (DDAH-2) (Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2) (EC 3.5.3.18) (DDAHII) (Dimethylargininase-2)	29,780	6	2	1	0	0	1	1	0	1
Signal peptidase complex subunit 3 (EC 3.4.-.-) (Microsomal signal peptidase 22/23 kDa subunit) (SPC22/23) (SPase 22/23 kDa subunit)	20,313	6	1	1	1	1	0	1	1	0

60S ribosomal protein L28	15,692	6	1	0	2	0	2	1	0	0
Stress-70 protein, mitochondrial (75 kDa glucose-regulated protein) (GRP-75) (Heat shock 70 kDa protein 9)	73,742	6	1	0	0	0	1	2	1	1
Sorbitol dehydrogenase (EC 1.1.1.14) (L-idoitol 2-dehydrogenase)	38,099	6	3	3	0	0	0	0	0	0
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 (eIF-5A-1) (eIF-5A1) (Eukaryotic initiation factor 5A isoform 1) (eIF-5A) (eIF-4D)	16,832	6	2	0	0	0	2	2	0	0
Keratin, type II cuticular Hb3 (Keratin-83) (K83) (Type II hair keratin Hb3) (Type-II keratin Kb23)	53,989	5	0	0	5	0	0	0	0	0
E3 ubiquitin-protein ligase SH3RF1 (EC 2.3.2.27) (Plenty of SH3s) (Protein POSH) (RING-type E3 ubiquitin transferase SH3RF1) (SH3 domain-containing RING finger protein 1)	87,592	5	1	1	0	2	0	1	0	0
40S ribosomal protein S7	22,127	5	0	0	1	0	1	1	1	1
Leucine-rich repeat protein SHOC-2 (Protein soc-2 homolog) (Protein sur-8 homolog)	64,860	5	1	0	1	0	0	0	3	0
Radial spoke head protein 3 homolog (A-kinase anchor protein RSPH3) (Radial spoke head-like protein 2)	68,700	5	0	0	2	0	0	0	2	1
Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial (EC 1.1.1.41) (Isocitrate dehydrogenase subunits 3/4) (Isocitric dehydrogenase subunit alpha) (NAD(+)-specific ICDH subunit alpha)	39,668	5	2	0	0	1	1	0	1	0
Small ubiquitin-related modifier 2 (SUMO-2) (Ubiquitin-like protein SMT3B) (Smt3B)	10,871	5	1	0	1	1	0	1	1	0
Ubiquitin-60S ribosomal protein L40 (Ubiquitin A-52 residue ribosomal protein fusion product 1) [Cleaved into: Ubiquitin; 60S ribosomal protein L40 (CEP52)]	14,728	5	5	0	0	0	0	0	0	0
Casein kinase I isoform alpha (CKI-alpha) (EC 2.7.11.1) (CK1)	37,567	5	2	0	0	0	0	1	1	1
BTB/POZ domain-containing protein KCTD15 (Potassium channel tetramerization domain-containing protein 15)	31,885	5	2	0	0	1	1	1	0	0
Actin-related protein 2/3 complex subunit 4 (Arp2/3 complex 20 kDa subunit) (p20-ARC)	19,667	5	0	0	2	0	1	0	2	0
Leukocyte elastase inhibitor (LEI) (Serpine B1)	42,236	5	5	0	0	0	0	0	0	0
ADP-ribosylation factor-like protein 8B	21,511	5	2	0	0	0	1	2	0	0
Tetraspanin-8 (Tspan-8)	26,208	5	1	0	0	0	1	1	1	1
Transcription factor BTF3 homolog 4 (Basic transcription factor 3-like 4)	17,315	5	1	1	0	0	1	1	0	1
Cytochrome c oxidase assembly factor 6 homolog	9,417	5	0	1	0	0	1	1	1	1
T-complex protein 1 subunit alpha (TCP-1-alpha) (CCT-alpha)	60,206	5	1	1	1	0	0	0	1	1
Radixin	68,568	5	2	0	1	0	0	0	2	0
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2	16,363	5	4	0	0	1	0	0	0	0

Ropporin-1-like protein	24,426	5	0	0	2	0	0	0	1	2
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP K)	51,019	5	1	0	0	0	2	1	1	0
60S ribosomal protein L36	12,224	5	2	0	0	0	2	1	0	0
40S ribosomal protein S24	15,197	5	2	1	0	0	1	1	0	0
40S ribosomal protein S13	17,222	5	0	1	1	1	1	1	0	0
40S ribosomal protein S15	17,026	5	1	1	0	0	2	1	0	0
40S ribosomal protein S5 [Cleaved into: 40S ribosomal protein S5, N-terminally processed]	22,876	5	2	0	1	1	0	0	1	0
Secretoglobulin family 1D member (LppAB)	11,294	4	1	0	2	1	0	0	0	0
Cell division cycle protein 23 homolog (Anaphase-promoting complex subunit 8) (APC8) (Cyclosome subunit 8)	68,780	4	1	1	0	0	1	0	1	0
Enteric beta-defensin	7,127	4	2	2	0	0	0	0	0	0
Prothrombin (EC 3.4.21.5) (Coagulation factor II) [Cleaved into: Activation peptide fragment 1; Activation peptide fragment 2; Thrombin light chain; Thrombin heavy chain]	70,506	4	1	0	1	0	0	1	0	1
Capsid protein VP1 (Coat protein VP1) [Cleaved into: Capsid protein VP2 (Coat protein VP2)]	75,103	4	0	1	0	1	1	1	0	0
NAD(P) transhydrogenase, mitochondrial (EC 1.6.1.2) (Nicotinamide nucleotide transhydrogenase) (Pyridine nucleotide transhydrogenase)	113,854	4	1	0	1	0	1	1	0	0
Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial (EC 1.2.1.3) (ALDH class 2) (ALDH-E2) (ALDHI)	56,653	4	0	0	2	0	0	0	1	1
ADP/ATP translocase 3 (ADP,ATP carrier protein 3) (ADP,ATP carrier protein, isoform T2) (ANT 2) (Adenine nucleotide translocator 3) (ANT 3) (Solute carrier family 25 member 6) [Cleaved into: ADP/ATP translocase 3, N-terminally processed]	32,877	4	0	0	4	0	0	0	0	0
Pulmonary surfactant-associated protein D (PSP-D) (SP-D) (Lung surfactant protein D)	37,405	4	1	1	0	0	1	1	0	0
NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7, mitochondrial (EC 1.6.5.3) (EC 1.6.99.3) (Complex I-20kD) (CI-20kD) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 20 kDa subunit) (PSST subunit)	23,771	4	0	0	2	0	1	0	0	1
Beta-defensin 12 (BNBD-12) (BNDB-12)	4,106	4	2	2	0	0	0	0	0	0
Lingual antimicrobial peptide	7,041	4	0	2	0	1	0	0	1	0
Lysosomal alpha-mannosidase (Laman) (EC 3.2.1.24) (Lysosomal acid alpha-mannosidase) (Mannosidase alpha class 2B member 1) (Mannosidase alpha-B) [Cleaved into: Lysosomal alpha-mannosidase A peptide; Lysosomal alpha-mannosidase B peptide; Lysosomal alpha-mannosidase C peptide; Lysosomal alpha-mannosidase D peptide; Lysosomal alpha-mannosidase E peptide]	112,919	4	1	0	0	0	1	1	1	0
Leptin receptor overlapping transcript-like 1	14,405	4	0	0	1	1	0	0	2	0
14-3-3 protein theta	27,764	4	1	0	0	0	0	0	1	2

LRP chaperone MESD (LDLR chaperone MESD) (Mesoderm development candidate 2) (Mesoderm development protein)	25,977	4	0	0	0	0	2	2	0	0
Syntaxin-7	29,656	4	1	0	0	0	1	1	1	0
Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (EC 1.17.4.4) (Vitamin K1 2,3-epoxide reductase subunit 1)	17,967	4	0	1	0	0	1	1	0	1
Hepatoma-derived growth factor (HDGF)	26,604	4	1	0	0	0	2	1	0	0
Junctional adhesion molecule A (JAM-A) (Junctional adhesion molecule 1) (JAM-1) (CD antigen CD321)	32,456	4	1	0	0	0	1	2	0	0
DIS3-like exonuclease 1 (EC 3.1.13.-)	120,594	3	0	0	1	1	1	0	0	0
Serine racemase (EC 4.3.1.17) (EC 4.3.1.18) (EC 5.1.1.18) (D-serine ammonia-lyase) (D-serine dehydratase) (L-serine ammonia-lyase) (L-serine dehydratase)	36,181	3	2	0	0	1	0	0	0	0
Prefoldin subunit 2	16,648	3	1	1	0	0	0	1	0	0
Serpin A3-7	46,942	3	1	1	0	0	0	1	0	0
Diphosphoinositol polyphosphate phosphohydrolase 1 (DIPP-1) (EC 3.6.1.52) (Diadenosine 5',5'''-P1,P6-hexaphosphate hydrolase 1) (EC 3.6.1.-) (Nucleoside diphosphate-linked moiety X motif 3) (Nudix motif 3)	19,362	3	1	0	0	0	1	1	0	0
D-dopachrome decarboxylase (EC 4.1.1.84) (D-dopachrome tautomerase)	12,877	3	2	0	0	0	1	0	0	0
Secretogranin-3 (Secretogranin III) (SgIII)	53,751	3	2	0	0	0	0	0	1	0
Coiled-coil domain-containing protein 151	72,044	3	0	0	0	0	0	1	0	2
Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 2 (ADAM 2) (Fertilin subunit beta) (PH-30) (PH30) (PH30-beta)	83,150	3	0	0	0	0	0	0	2	1
Adenylate kinase isoenzyme 1 (AK 1) (EC 2.7.4.3) (EC 2.7.4.6) (ATP-AMP transphosphorylase 1) (ATP:AMP phosphotransferase) (Adenylate monophosphate kinase) (Myokinase)	21,664	3	0	3	0	0	0	0	0	0
Pancreatic prohormone (Pancreatic polypeptide) (PP) [Cleaved into: Pancreatic hormone; C-terminal peptide 1; C-terminal peptide 2]	14,376	3	1	0	0	0	1	0	1	0
Elastin (Tropoelastin)	64,229	3	0	0	0	0	2	1	0	0
Phosphate carrier protein, mitochondrial (Phosphate transport protein) (PTP) (Solute carrier family 25 member 3)	40,140	3	0	0	0	0	2	1	0	0
Cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-liver/heart) (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-L)	9,305	3	0	0	0	2	0	1	0	0
A-type inclusion protein A25 (ATI)	84,351	3	0	0	0	0	1	2	0	0
Antithrombin-III (ATIII) (Serpin C1)	52,347	3	1	0	0	0	1	1	0	0
General vesicular transport factor p115 (Protein USO1 homolog) (Transcytosis-associated protein) (TAP) (Vesicle-docking protein)	107,515	3	2	0	0	0	0	1	0	0

Beta-defensin 2 (BNBD-2) (BNDB-2)	4,649	3	3	0	0	0	0	0	0	0
Dynein light chain Tctex-type 1 (T-complex testis-specific protein 1 homolog)	12,452	3	0	0	0	0	0	0	2	1
Macrophage migration inhibitory factor (MIF) (EC 5.3.2.1) (L-dopachrome isomerase) (L-dopachrome tautomerase) (EC 5.3.3.12) (Phenylpyruvate tautomerase) (p12A)	12,343	3	1	0	0	1	0	1	0	0
Apolipoprotein A-II (Apo-AII) (ApoA-II) (Antimicrobial peptide BAMP-1) (Apolipoprotein A2) [Cleaved into: Proapolipoprotein A-II (ProapoA-II); Truncated apolipoprotein A-II (Apolipoprotein A-II(1-76))]	11,202	3	0	0	0	1	1	1	0	0
Zinc finger protein 350	57,586	3	0	1	0	0	0	1	0	1
IQ domain-containing protein D	51,623	3	0	0	0	1	0	0	0	2
ADP-ribosylation factor GTPase-activating protein 3 (ARF GAP 3)	56,766	3	1	0	0	0	1	1	0	0
3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase, mitochondrial (HIBADH) (EC 1.1.1.31)	35,410	3	2	0	0	1	0	0	0	0
Plasma kallikrein (EC 3.4.21.34) (Fletcher factor) (Kininogenin) (Plasma prekallikrein) [Cleaved into: Plasma kallikrein heavy chain; Plasma kallikrein light chain]	70,994	3	2	0	0	0	0	0	1	0
Microsomal glutathione S-transferase 2 (Microsomal GST-2) (EC 2.5.1.18)	16,483	3	0	1	0	1	0	1	0	0
IQ domain-containing protein F2	19,535	3	1	0	0	1	0	0	1	0
Methionine--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.10) (Methionyl-tRNA synthetase) (MetRS)	100,634	3	3	0	0	0	0	0	0	0
Testis-expressed protein 35	24,496	3	2	0	0	0	0	1	0	0
B-cell receptor-associated protein 29 (BCR-associated protein 29) (Bap29)	28,212	3	1	0	1	0	0	0	1	0
V-type proton ATPase subunit E 2 (V-ATPase subunit E 2) (Vacuolar proton pump subunit E 2)	26,171	3	3	0	0	0	0	0	0	0
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2 (PPIase FKBP2) (EC 5.2.1.8) (FK506-binding protein 2) (FKBP-2) (Rotamase)	15,404	3	1	0	0	0	1	1	0	0
40S ribosomal protein S19	16,060	3	1	1	0	0	0	1	0	0
C-type lectin domain family 6 member A (Dendritic cell-associated C-type lectin 2) (DC-associated C-type lectin 2) (Dectin-2)	23,738	3	0	0	1	0	1	0	1	0
T-complex protein 1 subunit zeta (TCP-1-zeta) (CCT-zeta) (CCT-zeta-1)	57,956	3	2	1	0	0	0	0	0	0
Gelsolin (Actin-depolymerizing factor) (ADF) (Brevin)	80,731	3	1	2	0	0	0	0	0	0
60S ribosomal protein L23	14,865	3	1	0	0	0	1	0	0	1
T-complex protein 1 subunit gamma (TCP-1-gamma) (CCT-gamma)	60,586	3	2	0	1	0	0	0	0	0
Malate dehydrogenase, cytoplasmic (EC 1.1.1.37) (Cytosolic malate dehydrogenase)	36,438	3	0	0	0	1	0	0	1	1
T-complex protein 1 subunit theta (TCP-1-theta) (CCT-theta)	59,609	3	2	1	0	0	0	0	0	0
FAST kinase domain-containing protein 3, mitochondrial	75,487	3	0	0	2	0	0	1	0	0

L-lactate dehydrogenase B chain (LDH-B) (EC 1.1.1.27)	36,724	3	3	0	0	0	0	0	0	0
D-3-phosphoglycerate dehydrogenase (3-PGDH) (EC 1.1.1.95) (2-oxoglutarate reductase) (EC 1.1.1.399) (Malate dehydrogenase) (EC 1.1.1.37)	56,452	3	2	0	0	0	1	0	0	0
Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (Rho GDI 2) (D4-GDP-dissociation inhibitor) (D4-GDI) (Ly-GDI) (Rho-GDI beta)	22,794	3	0	1	0	0	2	0	0	0
Serpin A3-4	46,311	2	0	2	0	0	0	0	0	0
EF-hand domain-containing protein D2 (Swiprosin-1)	26,918	2	1	0	0	0	0	1	0	0
40S ribosomal protein S17	15,582	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Serine/threonine-protein phosphatase 4 catalytic subunit (PP4C) (Pp4) (EC 3.1.3.16)	35,080	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Methionine aminopeptidase 1 (MAP 1) (MetAP 1) (EC 3.4.11.18) (Peptidase M 1)	43,183	2	0	0	0	1	1	0	0	0
Uncharacterized protein C10orf82 homolog	26,639	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Putative sodium-coupled neutral amino acid transporter 7 (Solute carrier family 38 member 7)	49,853	2	0	0	0	1	0	0	1	0
Transmembrane protein 190	19,743	2	0	0	0	0	1	1	0	0
DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2 (DNA replication ATP-dependent helicase-like homolog) [Includes: DNA replication nuclease DNA2 (EC 3.1.-.-); DNA replication ATP-dependent helicase DNA2 (EC 3.6.4.12)]	120,485	2	0	0	0	0	0	1	0	1
Thioredoxin domain-containing protein 9 (Protein 1-4)	26,504	2	1	0	0	0	0	0	1	0
Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial (TP-beta) [Includes: 3-ketoacyl-CoA thiolase (EC 2.3.1.16) (Acetyl-CoA acyltransferase) (Beta-ketothiolase)]	51,345	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Keratocan (KTN) (Corneal keratan sulfate proteoglycan 37A core protein) (Keratan sulfate proteoglycan keratocan) (KSPG keratocan)	40,406	2	0	0	0	1	1	0	0	0
Kelch repeat and BTB domain-containing protein 1	64,826	2	0	0	0	0	0	0	0	2
Adhesion G protein-coupled receptor L2 (Calcium-independent alpha-latrotoxin receptor 2) (CIRL-2) (Latrophilin-2)	165,547	2	0	0	0	2	0	0	0	0
Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1, mitochondrial (Cytochrome c oxidase polypeptide IV) (Cytochrome c oxidase subunit IV isoform 1) (COX IV-1)	19,572	2	0	0	0	0	0	2	0	0
Angiogenin-1 (EC 3.1.27.-)	16,970	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 (PEBP-1) (Basic cytosolic 21 kDa protein) (HCNPPP) [Cleaved into: Hippocampal cholinergic neurostimulating peptide (HCNP)]	20,986	2	1	0	0	0	0	1	0	0
Inositol monophosphatase 1 (IMP 1) (IMPase 1) (EC 3.1.3.25) (D-galactose 1-phosphate phosphatase) (EC 3.1.3.94) (Inositol-1(or 4)-monophosphatase 1) (Lithium-sensitive myo-inositol monophosphatase A1)	30,056	2	1	0	0	1	0	0	0	0
Matrix protein	38,285	2	0	0	0	0	0	0	1	1

NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 9, mitochondrial (Complex I-39kD) (CI-39kD) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 39 kDa subunit)	42,849	2	0	0	1	0	0	1	0	0
60S ribosomal protein L3	46,024	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial (EC 1.15.1.1)	24,638	2	1	0	0	0	0	1	0	0
Beta-defensin 8 (BNBD-8) (BNDB-8)	4,359	2	0	1	0	0	0	0	1	0
Ribonucleoside-diphosphate reductase large subunit (R1) (EC 1.17.4.1) (Ribonucleotide reductase large subunit)	86,010	2	0	0	1	0	1	0	0	0
60S ribosomal protein L27	15,798	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Integrin alpha-L (CD11 antigen-like family member A) (Leukocyte adhesion glycoprotein LFA-1 alpha chain) (LFA-1A) (Leukocyte function-associated molecule 1 alpha chain) (CD antigen CD11a)	128,726	2	0	0	0	0	0	0	2	0
Lactoperoxidase (LPO) (EC 1.11.1.7)	80,642	2	0	0	0	0	0	0	1	1
Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial (IDH) (EC 1.1.1.42) (ICD-M) (IDP) (NADP(+)-specific ICDH) (Oxalosuccinate decarboxylase)	50,739	2	0	0	0	0	1	1	0	0
2',5'-phosphodiesterase 12 (2'-PDE) (2-PDE) (EC 3.1.4.-) (Mitochondrial deadenylase) (EC 3.1.13.4)	67,264	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Cytoplasmic dynein 1 intermediate chain 2 (Cytoplasmic dynein intermediate chain 2) (Dynein intermediate chain 2, cytosolic) (DH IC-2)	68,377	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Asparagine synthetase domain-containing protein 1	71,009	2	0	0	0	0	2	0	0	0
Monofunctional C1-tetrahydrofolate synthase, mitochondrial (EC 6.3.4.3) (Formyltetrahydrofolate synthetase)	105,227	2	1	0	0	1	0	0	0	0
Vacuolar fusion protein CCZ1 homolog	55,502	2	0	0	0	1	1	0	0	0
Activated CDC42 kinase 1 (ACK-1) (EC 2.7.10.2) (EC 2.7.11.1) (Activated CDC42 kinase 2) (Tyrosine kinase non-receptor protein 2)	114,868	2	0	0	0	0	0	1	0	1
Mitochondrial import receptor subunit TOM40 homolog (Translocase of outer membrane 40 kDa subunit homolog)	37,725	2	0	0	2	0	0	0	0	0
Non-muscle caldesmon (CDM) (L-caldesmon) (Fragment)	9,920	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Protein S100-A7 (Calcium-binding protein in amniotic fluid 2) (CAAF2) (Dander minor allergen BDA11) (Dermal allergen BDA11) (S100 calcium-binding protein A7) (allergen Bos d 3)	11,544	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Tissue-type plasminogen activator (t-PA) (t-plasminogen activator) (tPA) (EC 3.4.21.68) [Cleaved into: Tissue-type plasminogen activator chain A; Tissue-type plasminogen activator chain B]	63,701	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Serotransferrin (Transferrin) (Beta-1 metal-binding globulin) (Siderophilin)	77,753	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Citrate synthase, mitochondrial (EC 2.3.3.1) (Citrate (Si)-synthase)	51,773	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Moessin (Membrane-organizing extension spike protein)	67,975	2	0	1	0	0	0	0	0	1

Protein SGT1 homolog (Suppressor of G2 allele of SKP1 homolog)	38,074	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Protein tweety homolog 1	49,230	2	0	0	0	0	0	2	0	0
Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial (Alpha-ETF)	34,961	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Spermatogenesis-associated protein 6	56,137	2	0	1	1	0	0	0	0	0
AFG3-like protein 2 (EC 3.4.24.-)	89,388	2	0	0	0	1	0	0	1	0
Glycerol-3-phosphate phosphatase (G3PP) (EC 3.1.3.21) (Aspartate-based ubiquitous Mg(2+)-dependent phosphatase) (AUM) (EC 3.1.3.48) (Phosphoglycolate phosphatase) (PGP)	34,320	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Outer dense fiber protein 3 (Outer dense fiber of sperm tails protein 3)	27,634	2	0	0	0	0	0	0	2	0
Nuclear transport factor 2 (NTF-2)	14,478	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Dynein intermediate chain 1, axonemal (Axonemal dynein intermediate chain 1)	79,894	2	1	0	1	0	0	0	0	0
F-box only protein 39	52,771	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Folliculin	64,204	2	0	1	0	0	1	0	0	0
60S ribosomal protein L37a	10,275	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C (eIF3c) (Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit 8) (eIF3 p110)	105,366	2	1	0	0	0	0	0	1	0
PDZ and LIM domain protein 3	34,353	2	0	1	0	0	0	1	0	0
Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex assembly factor 2 (Mitochondrial nucleoid factor 1) (Mitochondrial protein M19)	15,975	2	0	0	0	0	0	1	0	1
Eukaryotic initiation factor 4A-I (eIF-4A-I) (eIF4A-I) (EC 3.6.4.13) (ATP-dependent RNA helicase eIF4A-1)	46,154	2	1	0	0	0	0	0	1	0
Fructose-1,6-bisphosphatase 1 (FBPase 1) (EC 3.1.3.11) (D-fructose-1,6-bisphosphate 1-phosphohydrolase 1) (Liver FBPase)	36,728	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Fructose-bisphosphate aldolase B (EC 4.1.2.13) (Liver-type aldolase)	39,543	2	2	0	0	0	0	0	0	0
45 kDa calcium-binding protein (Cab45) (Stromal cell-derived factor 4) (SDF-4)	41,106	2	1	1	0	0	0	0	0	0
Coiled-coil domain-containing protein 47	55,742	2	0	0	0	2	0	0	0	0
Triokinase/FMN cyclase (Bifunctional ATP-dependent dihydroxyacetone kinase/FAD-AMP lyase (cyclizing)) [Includes: ATP-dependent dihydroxyacetone kinase (DHA kinase) (EC 2.7.1.28) (EC 2.7.1.29) (Glycerone kinase) (Triokinase) (Triose kinase); FAD-AMP lyase (cyclizing) (EC 4.6.1.15) (FAD-AMP lyase (cyclic FMN forming)) (FMN cyclase)]	59,124	2	1	0	0	0	1	0	0	0
Dual specificity protein phosphatase 18 (EC 3.1.3.16) (EC 3.1.3.48)	21,028	2	0	0	1	1	0	0	0	0
Serpin B8	42,173	2	0	2	0	0	0	0	0	0
60S ribosomal protein L10a	24,831	2	1	0	0	0	0	1	0	0

Leucine-rich repeat-containing protein 51	22,107	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Toll-like receptor 3 (CD antigen CD283)	103,658	2	0	0	0	0	1	0	0	1
40S ribosomal protein S12	14,515	2	0	0	0	0	0	2	0	0
40S ribosomal protein S15a	14,840	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Junction plakoglobin (Desmoplakin III) (Desmoplakin-3)	81,821	2	0	0	0	0	0	0	2	0
Poly(A) polymerase catalytic subunit (EC 2.7.7.19) (Poly(A) polymerase large subunit) (PAP-L)	54,565	2	1	0	0	0	0	1	0	0
60S acidic ribosomal protein P0 (60S ribosomal protein L10E)	34,371	2	1	0	0	0	0	0	1	0
Transgelin (25 kDa F-actin-binding protein) (Smooth muscle protein 22-alpha) (SM22-alpha)	22,599	2	0	0	0	0	1	1	0	0
Leucine-rich repeat neuronal protein 1 (Neuronal leucine-rich repeat protein 1) (NLRP-1)	80,831	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Spastin (EC 3.6.4.3)	67,225	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Protein VAC14 homolog	87,843	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Serine incorporator 3	52,418	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Exocyst complex component 8	81,840	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Transmembrane 9 superfamily member 1	69,162	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Transmembrane 9 superfamily member 4	74,367	1	0	0	0	0	0	0	1	0
M-phase inducer phosphatase 3 (EC 3.1.3.48) (Dual specificity phosphatase Cdc25C)	53,794	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Septin-12	41,210	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Nuclear pore complex protein Nup93 (93 kDa nucleoporin) (Nucleoporin Nup93)	93,458	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Oxidation resistance protein 1	98,112	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Protein FAM124B	51,630	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Tudor domain-containing protein 7	123,899	1	1	0	0	0	0	0	0	0
ERI1 exoribonuclease 3 (EC 3.1.-.-) (Prion interactor 1) (Prion protein-interacting protein)	37,330	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Thioredoxin reductase-like selenoprotein T (SelT) (EC 1.8.1.9)	22,248	1	0	0	0	0	0	1	0	0
ALS2 C-terminal-like protein	107,869	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Vacuolar protein sorting-associated protein 51 homolog (Protein fat-free homolog)	85,930	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Septin-14	50,146	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Maestro heat-like repeat-containing protein family member 1 (HEAT repeat-containing protein 7A)	182,135	1	0	0	0	0	1	0	0	0

Histone-lysine N-methyltransferase EZH1 (EC 2.1.1.43) (Enhancer of zeste homolog 1)	85,285	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Pyridoxal-dependent decarboxylase domain-containing protein 1 (EC 4.1.1.-)	86,615	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Selenoprotein F	17,975	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Non-structural protein 5 (NSP5) (NS26)	21,697	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Integrin alpha-3 (CD49 antigen-like family member C) (Galactoprotein B3) (GAPB3) (VLA-3 subunit alpha) (CD antigen CD49c) [Cleaved into: Integrin alpha-3 heavy chain; Integrin alpha-3 light chain]	116,407	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Prostaglandin-H2 D-isomerase (EC 5.3.99.2) (Glutathione-independent PGD synthase) (Lipocalin-type prostaglandin-D synthase) (Prostaglandin-D2 synthase) (PGD2 synthase) (PGDS) (PGDS2)	21,229	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Growth/differentiation factor 8 (GDF-8) (Myostatin)	42,551	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Transthyretin (Prealbumin)	15,727	1	0	0	0	1	0	0	0	0
ADM [Cleaved into: Adrenomedullin (AM); Adrenomedullin-11-26 (AM 11-26); Proadrenomedullin N-20 terminal peptide (ProAM N-terminal 20 peptide) (PAMP) (ProAM-N20)]	20,963	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Protein phosphatase 1A (EC 3.1.3.16) (Protein phosphatase 2C isoform alpha) (PP2C-alpha)	42,530	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Structural maintenance of chromosomes protein 1A (SMC protein 1A) (SMC-1A)	143,248	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Structural maintenance of chromosomes protein 3 (SMC protein 3) (SMC-3) (Chondroitin sulfate proteoglycan 6)	142,024	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Coagulation factor X (EC 3.4.21.6) (Stuart factor) [Cleaved into: Factor X light chain; Factor X heavy chain; Activated factor Xa heavy chain]	54,510	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Protein AMBP [Cleaved into: Alpha-1-microglobulin; Inter-alpha-trypsin inhibitor light chain (ITI-LC) (BI-14) (Bikunin) (Cumulus extracellular matrix-stabilizing factor) (ESF) (HI-30); Trypstatin]	39,235	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Serine protease inhibitor Kazal-type 6 (Acrosin inhibitor 2) (Acrosin inhibitor IIA) (BUSI-II)	8,663	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Beta-2-microglobulin (Lactollin)	13,677	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Envelope glycoprotein (Env polyprotein) [Cleaved into: Surface protein (SU) (Glycoprotein 51) (gp51); Transmembrane protein (TM) (Glycoprotein 30) (gp30)]	58,472	1	0	1	0	0	0	0	0	0
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (EC 1.6.5.3) (NADH dehydrogenase subunit 1)	35,670	1	0	0	0	0	0	0	0	1
ATP synthase protein 8 (A6L) (F-ATPase subunit 8)	7,937	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Cytochrome c oxidase subunit 6C (Cytochrome c oxidase polypeptide VIc) (Cytochrome c oxidase subunit STA)	8,610	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Non-structural protein 3 (NSP3) (NCVP4) (Non-structural RNA-binding protein 34) (NS34)	36,153	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Cytochrome c oxidase subunit 7A1, mitochondrial (Cytochrome c oxidase subunit VIIIc) (VIIIc) (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-heart) (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-H) (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-muscle) (Cytochrome c oxidase subunit VIIa-M)	9,063	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Fibronectin (FN) [Cleaved into: Anastellin]	272,154	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 22 (EC 3.4.19.12) (Deubiquitinating enzyme 22) (Ubiquitin thioesterase 22) (Ubiquitin-specific-processing protease 22)	58,737	1	0	0	0	1	0	0	0	0
High mobility group protein B1 (High mobility group protein 1) (HMG-1)	24,908	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Mitochondrial brown fat uncoupling protein 1 (UCP 1) (Solute carrier family 25 member 7) (Thermogenin)	33,360	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate (MARCKS) (ACAMP-81)	31,665	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibrinogen gamma-B chain (Gamma')	50,244	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske, mitochondrial (EC 1.10.2.2) (Complex III subunit 5) (Cytochrome b-c1 complex subunit 5) (Rieske iron-sulfur protein) (RISP) (Rieske protein UQCRFS1) (Ubiquinol-cytochrome c reductase iron-sulfur subunit) [Cleaved into: Cytochrome b-c1 complex subunit 9 (Su9) (Subunit 9) (8 kDa subunit 9) (Complex III subunit IX) (Cytochrome b-c1 complex subunit 11) (Ubiquinol-cytochrome c reductase 8 kDa protein)]	29,547	1	0	0	0	0	0	0	1	0
RNA-directed RNA polymerase L (Protein L) (Large structural protein) (Replicase) (Transcriptase) [Includes: RNA-directed RNA polymerase (EC 2.7.7.48); mRNA (guanine-N(7)-)-methyltransferase (EC 2.1.1.56); GDP polyribonucleotidyltransferase (EC 2.7.7.88); Cap-specific mRNA (nucleoside-2'-O)-methyltransferase 2 (EC 2.1.1.296)]	241,613	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Hormone-sensitive lipase (HSL) (EC 3.1.1.79)	82,641	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Synapsin-1 (Synapsin I)	74,518	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Endothelin-1 receptor (Endothelin receptor type A) (ET-A) (ET-AR)	48,515	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Pleiotrophin (PTN) (Heparin-binding brain mitogen) (HBBM) (Heparin-binding growth factor 8) (HBGF-8) (Heparin-binding growth-associated molecule) (HB-GAM) (Heparin-binding neurite-promoting factor) (p18)	18,902	1	0	1	0	0	0	0	0	0
DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase (EC 3.1.-.-) (EC 4.2.99.18) (APEX nuclease) (APEN) (Apurinic-apyrimidinic endonuclease 1) (AP endonuclease 1) (REF-1) (Redox factor-1) [Cleaved into: DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase, mitochondrial]	35,570	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Lactotransferrin (Lactoferrin) (EC 3.4.21.-) [Cleaved into: Lactoferricin-B (Lfcin-B)]	78,056	1	1	0	0	0	0	0	0	0
40S ribosomal protein SA (37 kDa laminin receptor precursor) (37LRP) (37/67 kDa laminin receptor) (LRP/LR) (67 kDa laminin receptor) (67LR) (Laminin receptor 1) (LamR) (Laminin-binding protein precursor p40) (LBP/p40) (Protein C10)	32,884	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Interleukin-7 (IL-7)	20,023	1	0	1	0	0	0	0	0	0

RNA-directed RNA polymerase L (Protein L) (EC 2.7.7.48) (Large structural protein) (Replicase) (Transcriptase)	243,591	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Nitric oxide synthase, endothelial (EC 1.14.13.39) (Constitutive NOS) (cNOS) (EC-NOS) (Endothelial NOS) (eNOS) (NOS type III) (NOSIII)	133,287	1	0	0	0	0	0	0	1	0
V-type proton ATPase catalytic subunit A (V-ATPase subunit A) (EC 3.6.3.14) (V-ATPase 69 kDa subunit) (Vacuolar proton pump subunit alpha)	68,344	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Non-structural glycoprotein GNS	68,812	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Non-structural protein 3 (NSP3) [Cleaved into: p38; p8]	45,081	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Adrenocorticotrophic hormone receptor (ACTH receptor) (ACTH-R) (Adrenocorticotropin receptor) (Melanocortin receptor 2) (MC2-R)	33,293	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) (ATP-binding cassette sub-family C member 7) (Channel conductance-controlling ATPase) (EC 3.6.3.49) (cAMP-dependent chloride channel)	167,758	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Casein kinase I isoform delta (CKI-delta) (CKId) (EC 2.7.11.1) (Tau-protein kinase CSNK1D) (EC 2.7.11.26)	47,330	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Outer capsid protein VP4 (Hemagglutinin) [Cleaved into: Outer capsid protein VP8*; Outer capsid protein VP5*]	86,336	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Glutathione peroxidase 3 (GPx-3) (GSHPx-3) (EC 1.11.1.9) (Plasma glutathione peroxidase) (GPx-P) (GSHPx-P)	25,663	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Protein disulfide-isomerase A3 (EC 5.3.4.1) (58 kDa glucose-regulated protein) (58 kDa microsomal protein) (p58) (Disulfide isomerase ER-60) (Endoplasmic reticulum resident protein 57) (ER protein 57) (ERp57) (Endoplasmic reticulum resident protein 60) (ER protein 60) (ERp60)	56,930	1	0	0	0	0	0	0	1	0
NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 8, mitochondrial (EC 1.6.5.3) (EC 1.6.99.3) (Complex I-23kD) (CI-23kD) (NADH-ubiquinone oxidoreductase 23 kDa subunit) (TYKY subunit)	23,896	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Tubulin-specific chaperone A (TCP1-chaperonin cofactor A) (Tubulin-folding cofactor A) (CFA)	12,707	1	0	1	0	0	0	0	0	0
E3 SUMO-protein ligase RanBP2 (EC 6.3.2.-) (358 kDa nucleoporin) (Nuclear pore complex protein Nup358) (Nucleoporin Nup358) (Ran-binding protein 2) (RanBP2) (p270) (Fragment)	120,456	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Follistatin (FS) (Activin-binding protein)	37,958	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2 (EC 2.3.2.13) (Tissue transglutaminase) (Transglutaminase C) (TG(C)) (TGase C) (Transglutaminase-2) (TGase-2)	77,112	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM-1) (CD antigen CD31)	82,586	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Calcium-activated chloride channel regulator 1 (EC 3.4.-.-) (Calcium-activated chloride channel) (Epithelial chloride channel protein)	100,306	1	0	0	0	0	0	0	1	0

26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 (26S proteasome regulatory subunit RPN1) (26S proteasome regulatory subunit S2) (26S proteasome subunit p97) (Tumor necrosis factor type 1 receptor-associated protein 2)	100,258	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Retinol dehydrogenase 12 (EC 1.1.1.-) (Double substrate specificity short-chain dehydrogenase/reductase 2)	35,171	1	0	0	0	0	0	0	1	0
14-3-3 protein epsilon (14-3-3E)	29,174	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Ubiquitin-like protein FUBI	7,756	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Receptor of activated protein C kinase 1 (Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1) (Receptor for activated C kinase) (Receptor of activated protein kinase C 1) [Cleaved into: Receptor of activated protein C kinase 1, N-terminally processed]	35,077	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Uncharacterized 9.3 kDa protein	9,319	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Late transcription factor 1 (VLTf-1) (Trans-activator protein GK1)	29,911	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Complement control protein C3 (28 kDa protein) (Secretory protein 35) (Protein C3) (VCP)	28,629	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Unconventional myosin-X (Unconventional myosin-10)	235,839	1	0	1	0	0	0	0	0	0
von Willebrand factor (vWF) (Fragment)	102,599	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Acylamino-acid-releasing enzyme (AARE) (EC 3.4.19.1) (Acyl-peptide hydrolase) (APH) (Acylaminoacyl-peptidase)	81,093	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Integrin alpha-V (Vitronectin receptor subunit alpha) (CD antigen CD51) [Cleaved into: Integrin alpha-V heavy chain; Integrin alpha-V light chain]	116,132	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Complement factor B (EC 3.4.21.47) (C3/C5 convertase) (EC-VMFB) [Cleaved into: Complement factor B Ba fragment; Complement factor B Bb fragment]	85,366	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130 (CD antigen CD163) [Cleaved into: Soluble CD163 (sCD163)]	121,806	1	0	1	0	0	0	0	0	0
SCO-spondin	543,593	1	0	0	1	0	0	0	0	0
D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase, mitochondrial (EC 1.1.1.30) (3-hydroxybutyrate dehydrogenase) (BDH)	38,391	1	0	0	1	0	0	0	0	0
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10 (Complex I-PDSW) (CI-PDSW) (NADH-ubiquinone oxidoreductase PDSW subunit)	20,965	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Putative transcription activator BRLF1 homolog	60,963	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Insulin-like growth factor 1 receptor (EC 2.7.10.1) (Insulin-like growth factor I receptor) (IGF-I receptor) (CD antigen CD221) [Cleaved into: Insulin-like growth factor 1 receptor alpha chain; Insulin-like growth factor 1 receptor beta chain] (Fragment)	72,511	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Serum response factor-binding protein 1 (SRF-dependent transcription regulation-associated protein)	48,938	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Zinc finger FYVE domain-containing protein 21	27,997	1	0	1	0	0	0	0	0	0

Replication factor C subunit 2 (Activator 1 subunit 2)	38,730	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Putative homeodomain transcription factor 1	87,159	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Voltage-dependent calcium channel gamma-1 subunit (Dihydropyridine-sensitive L-type, skeletal muscle calcium channel subunit gamma)	24,694	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Heterochromatin protein 1-binding protein 3	61,477	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Trans-acting T-cell-specific transcription factor GATA-3 (GATA-binding factor 3)	47,807	1	0	1	0	0	0	0	0	0
DNA damage-inducible transcript 3 protein (DDIT-3) (C/EBP zeta) (C/EBP-homologous protein) (CHOP) (C/EBP-homologous protein 10) (CHOP-10) (CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein) (Growth arrest and DNA-damage-inducible protein GADD153)	19,003	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Probable arginine--tRNA ligase, mitochondrial (EC 6.1.1.19) (Arginyl-tRNA synthetase) (ArgRS)	65,631	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Striatin-interacting protein 1 (Protein FAM40A)	95,687	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Proline-rich protein 19	39,305	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Putative helicase MOV-10 (EC 3.6.4.13)	113,885	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Pro-interleukin-16 [Cleaved into: Interleukin-16 (IL-16) (Lymphocyte chemoattractant factor) (LCF)]	66,428	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Phospholysine phosphohistidine inorganic pyrophosphate phosphatase (EC 3.1.3.-) (EC 3.6.1.1)	29,180	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Nicotinamide/nicotinic acid mononucleotide adenylyltransferase 1 (NMN/NaMN adenylyltransferase 1) (EC 2.7.7.1) (EC 2.7.7.18) (Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1) (NMN adenylyltransferase 1) (Nicotinate-nucleotide adenylyltransferase 1) (NaMN adenylyltransferase 1)	32,200	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Glucose-6-phosphatase 3 (G-6-Pase 3) (G6Pase 3) (EC 3.1.3.9)	38,742	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Prefoldin subunit 6	14,555	1	0	0	0	0	0	1	0	0
AP-2 complex subunit sigma (Adaptor protein complex AP-2 subunit sigma) (Adaptor-related protein complex 2 subunit sigma) (Clathrin assembly protein 2 sigma small chain) (Clathrin coat assembly protein AP17) (Clathrin coat-associated protein AP17) (Plasma membrane adaptor AP-2 17 kDa protein) (Sigma2-adaptin)	17,018	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Nuclear migration protein nudC (Nuclear distribution protein C homolog)	38,243	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Coiled-coil domain-containing protein 137	33,517	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Unconventional myosin-Id	115,939	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Xaa-Pro aminopeptidase 1 (EC 3.4.11.9) (Aminoacylproline aminopeptidase) (Cytosolic aminopeptidase P) (Soluble aminopeptidase P) (sAmp) (X-Pro aminopeptidase 1) (X-prolyl aminopeptidase 1, soluble)	69,790	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Regulator of microtubule dynamics protein 3 (RMD-3) (Protein FAM82A2) (Protein FAM82C)	51,906	1	0	1	0	0	0	0	0	0

Solute carrier family 25 member 33	35,378	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 6 (PPIase) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin-like protein PPIL6) (Rotamase PPIL6)	34,679	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Integrator complex subunit 7 (Int7)	106,771	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase CYLD (EC 3.4.19.12) (Deubiquitinating enzyme CYLD) (Ubiquitin thioesterase CYLD) (Ubiquitin-specific-processing protease CYLD)	106,805	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Keratin-associated protein 3-1	10,408	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Cytosolic Fe-S cluster assembly factor NUBP1 (Nucleotide-binding protein 1) (NBP 1)	34,182	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Protein DPCD	23,247	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Voltage-gated potassium channel subunit beta-2 (EC 1.1.1.-) (K(+)) channel subunit beta-2) (Kv-beta-2)	40,985	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Aspartyl/asparaginyl beta-hydroxylase (EC 1.14.11.16) (Aspartate beta-hydroxylase) (ASP beta-hydroxylase) (Peptide-aspartate beta-dioxygenase)	84,999	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Coagulation factor V (Activated protein C cofactor) [Cleaved into: Coagulation factor V heavy chain; Coagulation factor V light chain]	248,983	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Plakophilin-1 (Band-6 protein) (B6P)	80,180	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Advanced glycosylation end product-specific receptor (Receptor for advanced glycosylation end products)	44,182	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Cyclic nucleotide-gated cation channel beta-1 (240 kDa protein of rod photoreceptor CNG-channel) (Cyclic nucleotide-gated cation channel 4) (CNG channel 4) (CNG-4) (CNG4) (Cyclic nucleotide-gated cation channel gamma) (Cyclic nucleotide-gated cation channel modulatory subunit) (Cyclic nucleotide-gated channel beta-1) (CNG channel beta-1) (Glutamic acid-rich protein) (GARP)	155,065	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Myosin light chain kinase, smooth muscle (MLCK) (smMLCK) (EC 2.7.11.18) (Telokin) [Cleaved into: Myosin light chain kinase, smooth muscle, deglutamylated form]	128,825	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Putative nucleotidyltransferase FAM46B (EC 2.7.7.-)	47,097	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Transcription elongation factor A protein 1 (Transcription elongation factor S-II protein 1)	33,891	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Tuftelin-interacting protein 11 (Septin and tuftelin-interacting protein 1) (STIP-1)	96,085	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Lysozyme-like protein 6 (EC 3.2.1.17)	16,559	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Homeobox protein Hox-A5	29,253	1	0	0	0	0	0	1	0	0
DnaJ homolog subfamily A member 2	45,762	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Protein MEMO1 (Mediator of ErbB2-driven cell motility 1) (Memo-1)	32,525	1	1	0	0	0	0	0	0	0
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex assembly factor 3	20,477	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Fanconi anemia core complex-associated protein 24 (Fanconi anemia-associated protein of 24 kDa)	23,879	1	0	1	0	0	0	0	0	0
U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp3 (Pre-mRNA-splicing factor 3)	77,447	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Fumarylacetoacetate hydrolase domain-containing protein 2 (EC 3.-.-.-)	34,556	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Outer dense fiber protein 3-like protein 1	22,301	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Uncharacterized protein C1orf141 homolog	49,720	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Tissue alpha-L-fucosidase (EC 3.2.1.51) (Alpha-L-fucosidase I) (Alpha-L-fucoside fucosyltransferase 1) (Alpha-L-fucosidase 1)	54,089	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Protein FAM71F1 (Protein FAM137A)	38,852	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Meiosis-specific nuclear structural protein 1	60,419	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Putative ATP-dependent RNA helicase DHX30 (EC 3.6.4.13) (DEAH box protein 30)	135,946	1	1	0	0	0	0	0	0	0
T-complex protein 1 subunit eta (TCP-1-eta) (CCT-eta)	59,443	1	0	1	0	0	0	0	0	0
BRCA2 and CDKN1A-interacting protein	35,184	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Jhy protein homolog	87,993	1	0	0	0	0	1	0	0	0
N-terminal Xaa-Pro-Lys N-methyltransferase 1 (EC 2.1.1.244) (Alpha N-terminal protein methyltransferase 1A) (Methyltransferase-like protein 11A) (X-Pro-Lys N-terminal protein methyltransferase 1A) (NTM1A) [Cleaved into: N-terminal Xaa-Pro-Lys N-methyltransferase 1, N-terminally processed]	25,289	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Lysozyme-like protein 4 (Lysozyme-4)	16,293	1	0	0	0	1	0	0	0	0
EF-hand calcium-binding domain-containing protein 3	50,198	1	0	0	1	0	0	0	0	0
THUMP domain-containing protein 3	56,674	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Caspase activity and apoptosis inhibitor 1 (Conserved anti-apoptotic protein) (CAAP)	38,487	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Uncharacterized protein C3orf26 homolog	31,446	1	0	0	0	0	0	0	1	0
BAG family molecular chaperone regulator 5 (BAG-5) (Bcl-2-associated athanogene 5)	50,954	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Uncharacterized protein C1orf158 homolog	23,234	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Electron transfer flavoprotein subunit beta (Beta-ETF)	27,699	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Origin recognition complex subunit 4	50,327	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Four and a half LIM domains protein 5 (FHL-5)	32,810	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Membrane-spanning 4-domains subfamily A member 13	17,429	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Dynein regulatory complex protein 1 (Coiled-coil domain-containing protein 164)	84,070	1	0	0	0	0	0	0	0	1

E3 ubiquitin-protein ligase TRIM13 (EC 2.3.2.27) (Putative tumor suppressor RFP2) (RING-type E3 ubiquitin transferase TRIM13) (Ret finger protein 2) (Tripartite motif-containing protein 13)	47,078	1	1	0	0	0	0	0	0	0
WD repeat-containing protein 70	72,641	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein alpha (Alpha-SGT)	34,213	1	1	0	0	0	0	0	0	0
E3 ubiquitin-protein ligase RNF138 (EC 2.3.2.27) (RING finger protein 138) (RING-type E3 ubiquitin transferase RNF138)	28,157	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Glutamyl aminopeptidase (EAP) (EC 3.4.11.7) (Aminopeptidase A) (AP-A) (CD antigen CD249)	109,801	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Dynein light chain roadblock-type 2 (Dynein light chain 2B, cytoplasmic)	10,846	1	0	0	0	0	0	0	0	1
40S ribosomal protein S21	9,111	1	0	0	0	0	1	0	0	0
ADP-ribosylation factor-like protein 2-binding protein (ARF-like 2-binding protein) (Binder of ARF2 protein 1)	18,772	1	0	1	0	0	0	0	0	0
ATP-citrate synthase (EC 2.3.3.8) (ATP-citrate (pro-S)-lyase) (Citrate cleavage enzyme)	119,789	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Cell division cycle-associated protein 7	42,763	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Cadherin-13	78,197	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Nucleolar protein 11	80,290	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Complement component C9	61,998	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Autophagy protein 5	32,431	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Annexin A3 (Annexin III) (Annexin-3)	36,140	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Proteasome inhibitor PI31 subunit	29,705	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Aspartate--tRNA ligase, cytoplasmic (EC 6.1.1.12) (Aspartyl-tRNA synthetase) (AspRS)	57,036	1	0	0	0	1	0	0	0	0
60S ribosomal protein L13a	23,523	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Serine/arginine-rich splicing factor 3 (Splicing factor, arginine/serine-rich 3)	19,330	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Tetraspanin-3 (Tspan-3)	27,938	1	0	0	0	0	0	0	0	1
GTP-binding nuclear protein Ran (GTPase Ran) (Ras-related nuclear protein)	24,423	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Stathmin	17,303	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Mitochondrial fission 1 protein (Fis1 homolog)	16,938	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Centromere protein H (CENP-H)	28,064	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7 (Protein phosphatase 1 regulatory subunit 22)	41,388	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Ataxin-7-like protein 1 (Ataxin-7-like protein 4)	16,232	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Nucleophosmin (NPM)	32,703	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial (EC 1.3.5.1) (Iron-sulfur subunit of complex II) (IP)	31,518	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) (EC 5.3.1.9) (Autocrine motility factor) (AMF) (Neuroleukin) (NLK) (Phosphoglucose isomerase) (PGI) (Phosphohexose isomerase) (PHI)	62,855	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Prostaglandin E synthase 3 (EC 5.3.99.3) (Cytosolic prostaglandin E2 synthase) (cPGES)	18,697	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Transformer-2 protein homolog beta (TRA-2 beta) (TRA2-beta) (Splicing factor, arginine/serine-rich 10) (Transformer-2 protein homolog B)	33,666	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Stress-induced-phosphoprotein 1 (STI1) (Hsc70/Hsp90-organizing protein) (Hop)	62,482	1	0	0	0	0	0	1	0	0
AP-2 complex subunit mu (AP-2 mu chain) (Adaptor protein complex AP-2 subunit mu) (Adaptor-related protein complex 2 subunit mu) (Clathrin assembly protein complex 2 mu medium chain) (Clathrin coat assembly protein AP50) (Clathrin coat-associated protein AP50) (HA2 50 kDa subunit) (Mu2-adaptin) (Plasma membrane adaptor AP-2 50 kDa protein)	49,655	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Cytosolic non-specific dipeptidase (EC 3.4.13.18) (CNDP dipeptidase 2)	52,655	1	0	0	0	0	1	0	0	0
60S ribosomal protein L35a	12,552	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Glia maturation factor gamma (GMF-gamma)	16,770	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Tripartite motif-containing protein 45	63,754	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Chloride intracellular channel protein 1	26,992	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Mitochondrial chaperone BCS1 (BCS1-like protein)	47,504	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Serine hydroxymethyltransferase, cytosolic (SHMT) (EC 2.1.2.1) (Glycine hydroxymethyltransferase) (Serine methylase)	52,978	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Protein O-glucosyltransferase 1 (EC 2.4.1.-) (CAP10-like 46 kDa protein) (KTEL motif-containing protein 1) (O-glucosyltransferase Rumi homolog) (Rumi) (Protein O-xylosyltransferase) (EC 2.4.2.26)	46,009	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Beta-1,4-glucuronoyltransferase 1 (EC 2.4.1.-) (I-beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase) (iGnT) (N-acetylglucosaminide beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase) (Poly-N-acetylglucosamine extension enzyme) (UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 1)	47,231	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Aldose 1-epimerase (EC 5.1.3.3) (Galactose mutarotase)	37,614	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Hsp90 co-chaperone Cdc37 (Hsp90 chaperone protein kinase-targeting subunit) (p50Cdc37) [Cleaved into: Hsp90 co-chaperone Cdc37, N-terminally processed]	44,580	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Short/branched chain specific acyl-CoA dehydrogenase, mitochondrial (SBCAD) (EC 1.3.8.5) (2-methyl branched chain acyl-CoA dehydrogenase) (2-MEBCAD) (2-methylbutyryl-coenzyme A dehydrogenase) (2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase)	47,123	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Toll-like receptor 9 (CD antigen CD289)	115,407	1	0	0	0	0	0	0	0	1

NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 5 (Mater protein homolog)	120,994	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Transketolase (TK) (EC 2.2.1.1)	67,906	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Claudin-4	22,165	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Diacylglycerol O-acyltransferase 2 (EC 2.3.1.20) (Acyl-CoA retinol O-fatty-acyltransferase) (ARAT) (Retinol O-fatty-acyltransferase) (EC 2.3.1.76) (Diglyceride acyltransferase 2)	40,896	1	1	0	0	0	0	0	0	0
5-hydroxytryptamine receptor 2A (5-HT-2) (5-HT-2A) (Serotonin receptor 2A)	52,571	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Aurora kinase B (EC 2.7.11.1) (Aurora 1) (Aurora- and IPL1-like midbody-associated protein 1) (AIM-1) (Aurora/IPL1-related kinase 2) (ARK-2) (Aurora-related kinase 2) (STK-1) (Serine/threonine-protein kinase 12) (Serine/threonine-protein kinase 5) (Serine/threonine-protein kinase aurora-B)	39,442	1	0	0	0	0	0	1	0	0
60S ribosomal protein L24 (Ribosomal protein L30)	17,779	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Matrix protein	26,038	1	1	0	0	0	0	0	0	0
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 11 (Complex I-B14.7) (CI-B14.7) (NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit B14.7)	14,758	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Protein VP2 (Minor capsid protein)	23,552	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Lethal(2) giant larvae protein homolog 1 (LLGL) (Bgl-1) (Giant larvae-1)	112,663	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Spike glycoprotein (S glycoprotein) (E2) (Peplomer protein) [Cleaved into: Spike protein S1 (90B); Spike protein S2 (90A)]	150,615	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Lactadherin (BP47) (Components 15/16) (MFGM) (MGP57/53) (Milk fat globule-EGF factor 8) (MFG-E8) (PAS-6/PAS-7 glycoprotein) (SED1) (Sperm surface protein SP47)	47,411	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF-4E) (eIF4E) (mRNA cap-binding protein)	25,079	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Calcium-binding protein 2 (CaBP2)	18,639	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Photoreceptor-specific nuclear receptor (Nuclear receptor subfamily 2 group E member 3) (Retina-specific nuclear receptor)	44,878	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Lysosomal-trafficking regulator	428,601	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Interleukin-18 (IL-18) (Interferon gamma-inducing factor) (IFN-gamma-inducing factor) (Interleukin-1 gamma) (IL-1 gamma)	22,347	1	0	0	0	0	0	0	1	0
WD repeat-containing protein 44 (Rab11-binding protein) (Rabphilin-11)	101,293	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L5 (UCH-L5) (EC 3.4.19.12) (Ubiquitin C-terminal hydrolase UCH37) (Ubiquitin thioesterase L5)	37,432	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Claudin-16 (CL-16)	27,992	1	0	1	0	0	0	0	0	0