

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, FISIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Programa de Doctorado en Inmunología

*CARACTERIZACIÓN DE LOS REPERTORIOS PEPTÍDICOS
ASOCIADOS A HLA-DR EN TEJIDO LINFOIDE HUMANO:
HOMEOSTASIS Y TOLERANCIA*

Javier Alonso Collado Miguens

Mayo, 2013

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR, FISIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA
UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Memoria presentada por

Javier Alonso Collado Miguens

Para optar al grado de

DOCTOR EN INMUNOLOGÍA

Tesis realizada en el laboratorio de Inmunología Celular del Instituto de Biotecnología y Biomedicina de la Universitat Autònoma de Barcelona bajo la dirección de la Dra. Dolores Jaraquemada y el Dr. Iñaki Álvarez.

El doctorando

Los directores

JAVIER ALONSO COLLADO MIGUENS

Dra. DOLORES JARAQUEMADA
Catedrática de Inmunología, UAB

Dr. IÑAKI ÁLVAREZ
Profesor Titular Interino, UAB

Barcelona, Mayo de 2013

Abreviaturas

aa: Aminoácido.

ACN: Acetonitrilo.

Ag: antígeno

APC: Célula presentadora de antígeno (*Antigen Presenting Cell*).

C: Citoplasma.

CLIP: Péptido de la cadena invariante asociado a clase II.

cTEC: célula epitelial tímica cortical.

DAVID: *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*.

E/EM: Espacio extracelular/Matriz Extracelular.

MS: Espectrometría de Masas (*Mass Spectrometry*).

ESI: Electrospray.

FBS: Suero Fetal Bovino (*Fetal Bovine Serum*).

FDR: Tasa de falsa asignación (*False Discovery Rate*).

G: Aparato de Golgi.

GO: *Gene Ontology*.

HA: Hemaglutinina.

HB: Afinidad Alta (*High Binding*).

HLA: *Human Leukocyte Antigen*.

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución (*High Performance Liquid Chromatography*)

HSP: Proteínas de choque térmico (*Heat Shock Proteins*).

IB: Afinidad intermedia (*Intermediate Binding*)

IC50: es la concentración de un inhibidor en que la unión (o respuesta) se reduce a la mitad. Capacidad inhibitoria al 50%.

Ii: Cadena invariante.

Ig: Inmunoglobulina

INF: Interferón.

IT: Trampa iónica (*Ion Trap*).

LB: Afinidad baja (*Low Binding*).

LC: Cromatografía líquida.

Lis/End: Lisosomas/Endosomas.

M: Membrana.

mAb: Anticuerpo monoclonal (*monoclonal antibody*).

MHC-I y MHC-II: Complejo principal de histocompatibilidad de clase I y II, respectivamente.

Mit: Mitocondria.

Mr: Masa molecular relativa.

MS/MS: Espectrometría de masas en tándem.

MSn: Espectrometría de masas en tándem múltiple.

mTEC: célula epitelial tímica de la médula.

N: Núcleo.

NA: No asignable.

nESI: nanoelectrospray.

NP-40: Nonidet P-40.

OLS: Órgano linfoide secundario.

PBS: tampón fosfato salino (*Phosphate Buffer Saline*).

pMHC: péptido-MHC.

ppm: partes por millón.

qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (*quantitative Polymerase Chain Reaction*).

RE: Retículo Endoplasmático.

rpm: revoluciones por minuto.

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico (*Sodium-Dodecyl-Sulphate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis*).

SNC: Sistema nervioso central.

TCR: Receptor de células T (*T Cell Receptor*).

TFA: Ácido trifluoroacético.

TRA: Antígeno restringido de tejido (*Tissue Restricted Antigen*).

UV: Ultravioleta.

WT: Cepa salvaje (*Wild Type*).

Índice



| | | | | |
|--|-------------------------|-------------|---|------------|
| Introducción | pg. 11 | | | pg. |
| | | | iv. Ruptura de la tolerancia | 32 |
| <i>Prólogo</i> | 13 | III. | Espectrometría de masas de péptidos y proteínas | 33 |
| I. MHC | 15 | | i. Electro spray | 33 |
| i. Distribución tisular de las moléculas II | 16 | | ii. Trampa iónica | 34 |
| ii. Estructura de las moléculas de HLA de clase II | 16 | | iii. Fragmentación peptídica MS/MS | 35 |
| iii. Biosíntesis de las moléculas de HLA | 17 | | iv. Orbitrap | 36 |
| iv. Unión HLA-péptido | 19 | IV. | Antecedentes | 38 |
| v. Caracterización del motivo de unión | 20 | | <i>Hipótesis</i> | 41 |
| vi. Herramientas computacionales de predicción de afinidad | 21 | | <i>Objetivo General</i> | 43 |
| II. MHC y tolerancia | 24 | | <i>Materiales y métodos</i> | 45 |
| i. Tolerancia central | 24 | M.1. | Muestras de tejido y células | 47 |
| i. Timo | 24 | M.2. | Extracción de DNA genómico (DNAg) | 47 |
| ii. Córtex y selección positiva | 25 | M.3. | Inmunofluorescencia | 48 |
| iii. Médula y selección negativa | 26 | M.3.1. | Timo | 48 |
| ii. Homeostasis y tolerancia de células T en periferia | 28 | M.3.2. | Bazo | 49 |
| i. Tolerancia periférica | 29 | M.4. | Crecimiento de hibridomas y purificación de anticuerpos | 49 |
| iii. El bazo como modelo de órgano linfoide secundario | 30 | M.5. | Citometría de flujo. Marcaje superficial de HLA-DR | 49 |
| | | M.6. | Determinación de la concentración de anticuerpo | 50 |
| | | M.7. | Gel de SDS-PAGE | 50 |

| | <i>pg.</i> | | <i>pg.</i> |
|---|------------|---|------------|
| M.8. Preparación de las precolumnas y columnas de afinidad | 51 | M.13. Preparación del RNA y síntesis del cDNA | 59 |
| M.9. Purificación de los complejos péptido-HLA-DR | 51 | M.14. PCR cuantitativa a tiempo real | 60 |
| M.9.1. <i>Disrupción tisular y lisis celular</i> | 52 | M.15. Proteínas recombinantes de HLA de clase II y ensayo de unión | 60 |
| M.9.2. <i>Precolumna</i> | 53 | M.16. Estadística | 60 |
| M.9.3. <i>Inmunopurificación</i> | 53 | M.17. Análisis predictivos de afinidad | 61 |
| M.9.4. <i>Separación de los péptidos de las cadenas α y β del HLA-DR por ultrafiltración</i> | 53 | <i>Resultados</i> | 63 |
| M.9.5. <i>Desalado</i> | 54 | <i>Capítulo 1</i> | 65 |
| M.9.6. <i>Fraccionamiento de las muestras</i> | 54 | 1. Predicción de unión de péptidos a alelos de HLA-DR utilizando herramientas bioinformáticas | 67 |
| M.9.7. <i>Fraccionamiento de las mezclas peptídicas</i> | 54 | 1.1. <i>Sistemas de asignación teórica</i> | 67 |
| M.10. Identificación de los repertorios peptídicos asociados a HLA-DR mediante espectrometría de masas (MS) | 55 | 1.1.1. Uso de herramientas informáticas para la predicción teórica de afinidad péptido-MHC | 67 |
| M.11. Identificación y validación de los espectros de fragmentación | 56 | 1.1.1.1. Sistema basado en redes neuronales artificiales (ANN) | 67 |
| M.11.1. <i>Búsqueda en base de datos</i> | 57 | 1.1.1.2. Sistema basado en matrices cuantitativas | 68 |
| M.11.2. <i>Evaluación de las secuencias</i> | 57 | 1.1.2. Predicción manual de afinidad | 69 |
| M.11.2.1. <i>Evaluación automática</i> | 57 | 1.1.3. Asignación final | 70 |
| M.11.2.2. <i>Evaluación manual</i> | 58 | 1.2. <i>Validación del método de asignación. Comparación con ensayos de afinidad experimentales</i> | 71 |
| M.12. Fraccionamiento para el enriquecimiento de poblaciones tóxicas (F0 y F1) | 59 | <i>Discusión capítulo 1</i> | 73 |

| | <i>pg.</i> | | <i>pg.</i> |
|--|------------|---|------------|
| <i>Capítulo 2</i> | 79 | 3.4. <i>Frecuencia peptídica e inmunodominancia</i> | 103 |
| 2. <i>Análisis de los ligandos de HLA-DR en tejido linfocitario secundario humano</i> | 81 | 3.5. <i>Proteínas y secuencias comunes entre las muestras</i> | 106 |
| 2.1. <i>Descripción de las muestras</i> | 81 | 3.6. <i>Descripción del repertorio peptídico de timo asociado a HLA-DR</i> | 107 |
| 2.2. <i>Expresión de HLA-DR en bazo</i> | 81 | 3.6.1. <i>Distribución de tamaño</i> | 107 |
| 2.3. <i>Secuencias</i> | 82 | 3.6.2. <i>Origen y ruta de procesamiento del repertorio peptídico en timo</i> | 108 |
| 2.4. <i>Frecuencia peptídica e inmunodominancia</i> | 83 | 3.6.3. <i>Funcionalidad del repertorio</i> | 108 |
| 2.5. <i>Proteínas y secuencias comunes</i> | 86 | 3.6.4. <i>Afinidad teórica de los ligandos de HLA-DR en timo</i> | 109 |
| 2.6. <i>Características y funcionalidad del repertorio peptídico asociado a HLA-DR en bazo</i> | 87 | <i>Discusión capítulo 3</i> | 111 |
| 2.6.1. <i>Distribución de tamaño</i> | 87 | <i>Capítulo 4</i> | 117 |
| 2.6.2. <i>Proteínas de origen y ruta de procesamiento de los péptidos secuenciados</i> | 88 | 4. <i>Análisis comparativo de repertorios peptídicos asociados a HLA-DR</i> | 119 |
| 2.6.3. <i>Funcionalidad del repertorio</i> | 89 | 4.1. <i>Comparación de los repertorios de péptidos de HLA-DR en tejidos linfocitarios primarios y secundarios</i> | 119 |
| 2.7. <i>Afinidad teórica de los ligandos de HLA-DR en bazo</i> | 90 | 4.1.1. <i>Comparación de los repertorios de HLA-DR en timo y bazo con HLA-DR idéntico</i> | 121 |
| <i>Discusión capítulo 2</i> | 93 | 4.1.2. <i>Comparación de la distribución de tamaño y rutas de procesamiento de péptidos entre tejidos</i> | 123 |
| <i>Capítulo 3</i> | 99 | 4.1.3. <i>Comparación de la funcionalidad del repertorio</i> | 124 |
| 3. <i>Análisis de los ligandos de HLA-DR en timo humano</i> | 101 | 4.1.4. <i>Comparación de las afinidades teóricas de los ligandos de HLA-DR</i> | 126 |
| 3.1. <i>Descripción de las muestras</i> | 101 | | |
| 3.2. <i>Expresión de HLA-DR en timo humano</i> | 101 | | |
| 3.3. <i>Secuencias</i> | 102 | | |

| | |
|--|----------------|
| | pg. |
| 4.2. Repertorio peptídico relacionado con tolerancia y autoinmunidad | 127 |
| 4.2.1. Comparación de las afinidades predictivas de los repertorios peptídicos en homeostasia y en autoinmunidad | 127 |
| <i>Discusión capítulo 4</i> | 131 |
| <i>Capítulo 5</i> | 139 |
| 5. Presentación por HLA-DR de péptidos procedentes de proteínas específicas de tejido periférico en timo humano | 141 |
| 5.1. Secuenciación de péptidos asociado a HLA-DR procedentes de TRAs en el repertorio tímico | 141 |
| 5.2. Caracterización de la expresión de CNTN2 y SEMG1 en diferentes tejidos | 143 |
| 5.3. Estudio de la expresión de CNTN2 y SEMG1 en un panel de muestras de timo | 146 |
| 5.4. Identificación de la población celular que expresa SEMG1 y CTNT2 en el timo | 147 |
| <i>Discusión capítulo 5</i> | 151 |
| <i>Conclusiones</i> | 159 |
| <i>Anexo</i> | 163 |
| <i>Bibliografía</i> | 249 |

Introducción

Prólogo

En 1901, el Dr. Paul Ehrlich, después de generar su teoría sobre la inmunidad de cadena lateral en la que establece la base química de la especificidad de la respuesta inmunológica, observó que ciertos fallos del sistema inmunitario en los que se generaba una respuesta errónea, no estaban dirigidos contra microorganismos patogénicos, sino contra componentes propios del individuo.

*"The organism possesses certain contrivances by means of which the immunity reaction, so easily produced by all kinds of cells, is prevented from acting against the organism's own elements and so giving rise to autotoxins...so that we might be justified in speaking of a "horror autotoxicus" of the organism."**

* Ehrlich P, Morgenroth J. On haemolysins. Fifth communication. F. Himmelweit, ed. In: The Collected Papers of Paul Erlich, vol. 2. Pergamon, London, 1957, pp. 246–55

Esta discriminación de lo propio vs. lo no propio es pues requisito esencial para el desarrollo de la respuesta inmunitaria y al mismo tiempo para el mantenimiento homeostático, salvaguardando la integridad del individuo.

En los años 40, el Dr. Peter Medawar observó que injertos de piel realizados de un ratón adulto a otro también adulto que expresaban distintas moléculas de histocompatibilidad eran sistemáticamente rechazados. Sin embargo, este proceso no ocurría si se realizaba el injerto en un ratón recién nacido. La naturaleza inmunológica de la tolerancia quedó demostrada mediante experimentos en los que linfocitos de ratones sensibilizados frente a un injerto se transferían a otro ratón de la misma cepa, al tiempo que se le practicaba un injerto. En este caso, el rechazo se producía más rápidamente que en el primer trasplante, lo que demostraba que los linfocitos estaban involucrados en este fenómeno.

La tolerancia inmunológica se puede definir como la ausencia de respuesta frente a un determinado antígeno. En los vertebrados, la tolerancia es antígeno específica y está controlada por las células T y se centra principalmente en el timo, durante la diferenciación de las células T (tolerancia central) y, una vez ha madurado el linfocito, en los órganos linfoides secundarios (tolerancia periférica).

El reconocimiento esencial para la activación antígeno-específica de las células T se da únicamente cuando el receptor de superficie del linfocito T (*T cell receptor* o TCR) reconoce epítopos peptídicos presentados en combinación con moléculas del sistema principal de histocompatibilidad (*Major histocompatibility complex* o MHC), denominado HLA (de *human leukocyte antigen*) en humanos. Este proceso es conocido como "restricción por el MHC" y fue observado cuando linfocitos T aislados de un ratón infectado por un determinado virus eran capaces de reconocer células de otro ratón infectado por el mismo virus si compartían los alelos de MHC (Zinkernagel and Doherty 1974). Con ello demostraron la importancia del determinante antigénico y el MHC en la activación linfocitaria. Tanto en el proceso madurativo como en la vigilancia periférica inmunológica de los linfocitos T, el reconocimiento del complejo péptido-MHC es de vital importancia.

En la introducción de este trabajo, describiremos los componentes en los que se basa la tolerancia y los órganos de estudio, timo y bazo, involucrados en su mantenimiento así como los antecedentes que llevaron al diseño del proyecto. También explicaremos las características de las herramientas bioinformáticas y proteómicas utilizadas en el estudio para facilitar la comprensión de la lectura de la tesis.

?

?

?

El sistema de HLA humano está formado por unos 200 genes distribuidos en seis cromosomas diferentes. Los genes de la clase II se encuentran en el cromosoma 6p21.3, los de la clase III en el cromosoma 6p21.3 y los de la clase I en el cromosoma 3p21.3. Los genes de la clase II se dividen en dos grupos: los genes de la clase IIa (DRA, DRB1, DRB2, DRB3, DRB4, DRB5, DRB6) y los genes de la clase IIb (DQA1, DQB1, DQA2, DQB2). Los genes de la clase III se dividen en tres grupos: los genes de la clase IIIa (C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9), los genes de la clase IIIb (B2M, IGHAP, IGHBP, IGHG, IGHM, IGHJ, IGHK, IGLA, IGLB, IGLC, IGLD, IGLE, IGLF, IGLG, IGLH, IGLI, IGLJ, IGLK, IGLL, IGLM, IGLN, IGLO, IGLP, IGLQ, IGLR, IGLS, IGLT, IGLU, IGLV, IGLW, IGLX, IGLY, IGLZ) y los genes de la clase IIIc (TNF, TNF- α , TNF- β , TNF- γ , TNF- δ , TNF- ϵ , TNF- ζ , TNF- η , TNF- ι , TNF- κ , TNF- λ , TNF- μ , TNF- ν , TNF- ξ , TNF- θ , TNF- \omicron , TNF- π , TNF- ρ , TNF- σ , TNF- τ , TNF- υ , TNF- ϕ , TNF- χ , TNF- ψ , TNF- ω). Los genes de la clase I se dividen en dos grupos: los genes de la clase I (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-I, HLA-J, HLA-K, HLA-L, HLA-M, HLA-N, HLA-O, HLA-P, HLA-Q, HLA-R, HLA-S, HLA-T, HLA-U, HLA-V, HLA-W, HLA-X, HLA-Y, HLA-Z) y los genes de la clase I-like (MICA, MICB, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-I, HLA-J, HLA-K, HLA-L, HLA-M, HLA-N, HLA-O, HLA-P, HLA-Q, HLA-R, HLA-S, HLA-T, HLA-U, HLA-V, HLA-W, HLA-X, HLA-Y, HLA-Z).

?

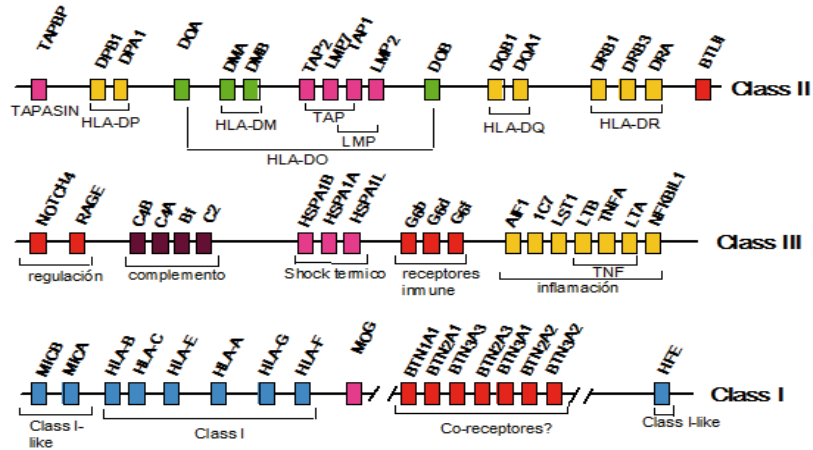


Figura 1. Estructura genética del HLA humano. <http://epidemiologiamolecular.com/genetica-mhc/>

El sistema de HLA humano está formado por unos 200 genes distribuidos en seis cromosomas diferentes. Los genes de la clase II se encuentran en el cromosoma 6p21.3, los de la clase III en el cromosoma 6p21.3 y los de la clase I en el cromosoma 3p21.3. Los genes de la clase II se dividen en dos grupos: los genes de la clase IIa (DRA, DRB1, DRB2, DRB3, DRB4, DRB5, DRB6) y los genes de la clase IIb (DQA1, DQB1, DQA2, DQB2). Los genes de la clase III se dividen en tres grupos: los genes de la clase IIIa (C4, C2, C3, C5, C6, C7, C8, C9), los genes de la clase IIIb (B2M, IGHAP, IGHBP, IGHG, IGHM, IGHJ, IGHK, IGLA, IGLB, IGLC, IGLD, IGLE, IGLF, IGLG, IGLH, IGLI, IGLJ, IGLK, IGLL, IGLM, IGLN, IGLO, IGLP, IGLQ, IGLR, IGLS, IGLT, IGLU, IGLV, IGLW, IGLX, IGLY, IGLZ) y los genes de la clase IIIc (TNF, TNF- α , TNF- β , TNF- γ , TNF- δ , TNF- ϵ , TNF- ζ , TNF- η , TNF- ι , TNF- κ , TNF- λ , TNF- μ , TNF- ν , TNF- ξ , TNF- θ , TNF- \omicron , TNF- π , TNF- ρ , TNF- σ , TNF- τ , TNF- υ , TNF- ϕ , TNF- χ , TNF- ψ , TNF- ω). Los genes de la clase I se dividen en dos grupos: los genes de la clase I (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-I, HLA-J, HLA-K, HLA-L, HLA-M, HLA-N, HLA-O, HLA-P, HLA-Q, HLA-R, HLA-S, HLA-T, HLA-U, HLA-V, HLA-W, HLA-X, HLA-Y, HLA-Z) y los genes de la clase I-like (MICA, MICB, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-I, HLA-J, HLA-K, HLA-L, HLA-M, HLA-N, HLA-O, HLA-P, HLA-Q, HLA-R, HLA-S, HLA-T, HLA-U, HLA-V, HLA-W, HLA-X, HLA-Y, HLA-Z).

?

de proteínas, mientras que las de clase I presentan péptidos generados en el citosol. Estas diferencias dan versatilidad al sistema inmune a la hora de reconocer diferentes patógenos.

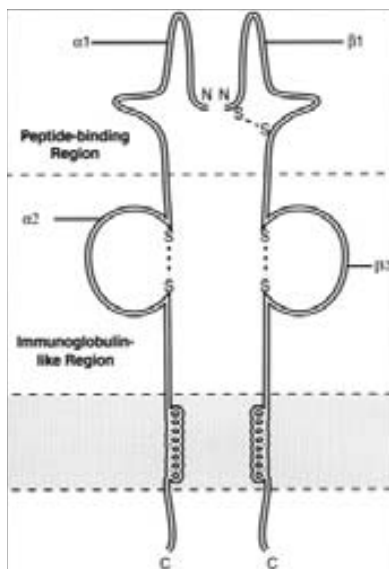
Ambas moléculas actúan como “marcadores de lo propio” para el sistema inmunitario, es decir, muestran en la superficie celular el contenido de las células y del microambiente que las rodea y son reconocidas por diferentes poblaciones linfocitarias. Las moléculas de clase I presentan péptidos a los linfocitos T CD8⁺ mientras que MHC-II interactúa con el TCR de los linfocitos CD4⁺.

El trabajo de esta tesis analiza el repertorio peptídico presentado por las moléculas de clase II en diversos tejidos y por tanto enfocaremos esta introducción a dichas moléculas.

i. Distribución tisular de las moléculas II

Las moléculas de clase II son expresadas por células especializadas en captación, procesamiento y presentación de antígenos (Antigen presenting cells o APCs). Este grupo se restringe a macrófagos, células dendríticas (*Dendritic Cells*, DCs), células B y células epiteliales tímicas. Aún así, bajo ciertas condiciones y estimulación por citocinas, células parenquimatosas o células del sistema inmune como las células NK (*natural killer*) o los propios linfocitos T, pueden llegar a expresar clase II.

ii. Estructura de las moléculas de HLA de clase II



A nivel estructural, las moléculas de HLA son glucoproteínas de membrana, heterodímeros, pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Las moléculas de HLA-II están compuestas por dos cadenas, una α de 33kDa la otra β de 28kDa, codificadas dentro del complejo génico MHC. Ambas cadenas presentan dominios transmembrana, una cola citoplasmática y una región extracelular dividida en dos dominios: α1 y α2 para la cadena α y β1, β2 para la cadena β. α2 y β2 son dominios de tipo inmunoglobulina con un puente de disulfuro interno. La parte más distal de la molécula está compuesta por las regiones α1 y β1, y es donde se concentran la gran mayoría de polimorfismos de la molécula (Figura 2).

Figura 2. Esquema de la estructura de las moléculas de MHC de clase II. (Peters V.B. and Sperber K.E. 1999)

La estructura tridimensional de las moléculas de histocompatibilidad clase II se determinó por cristalografía (Lee, Wucherpfennig, and Wiley 2001; Dessen et al. 1997; Stern et al. 1994). Estos estudios explicaban las interacciones entre las cadenas del MHC y los péptidos que presentan. Las regiones α1 y β1 interactúan entre sí formando una hendidura compuesta de ocho laminas β antiparalelas en la base

flanqueada por dos hélices α (surco de unión) y es aquí donde se ancla el fragmento peptídico a presentar. Este surco de unión (*groove*) de clase II presenta conformación abierta debido a la falta de interacción entre los extremos de las hélices alfa que delimitan la hendidura. Este surco abierto a ambos lados (Figura 3) permite la unión de fragmentos proteicos en conformación extendida, sobresaliendo sus extremos terminales por ambos lados de la molécula de MHC.

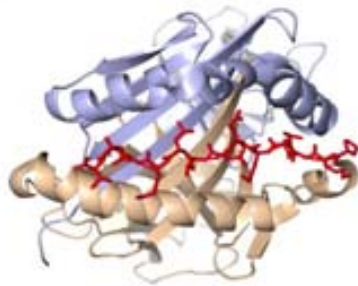


Figura 3. Representación de la visión frontal del surco de unión de las moléculas de MHC-II (Rudolph, Stanfield, and Wilson 2006).

iii. Biosíntesis de las moléculas de HLA

Las cadenas α y β del MHC-II, igual que el resto de proteínas de superficie, se sintetizan en los ribosomas adheridos al retículo endoplásmico (RE) y se transfieren durante su síntesis hacia la luz del RE, donde se pliegan y ensamblan entre sí. El proceso de formación y maduración del complejo está regulado por la chaperona calnexina, que se asocia a sus componentes (K. S. Anderson and Cresswell 1994) evitando la salida hacia la ruta secretora de aquellos complejos en periodo de formación o plegados de forma incorrecta. Sin embargo, igual que en el caso de clase I, el dímero $\alpha:\beta$ no es estable si no tiene anclado un péptido en el surco de unión. Ya que la función de clase II es presentar péptidos que se degradan en la vía endocítica, se hacen necesarios durante la maduración del heterodímero $\alpha:\beta$ mecanismos que impidan la unión de péptidos del RE, procedentes de la degradación de proteínas en el citosol o por proteasas *in situ*. Para ello, durante el ensamblaje del complejo, se les une una chaperona trimérica denominada cadena invariante (Ii) (Cresswell 1996). Cada una de las tres subunidades de la Ii se une al surco de unión de una molécula de MHC, bloqueando la hendidura y generando una estructura nonamérica $Ii_3(\alpha\beta)_3$.

Una vez dissociada la calnexina, el nonámero se dirige directamente a superficie a través de la vía secretora, de donde son rápidamente internalizados (Warmerdam, Long, and Roche 1996) gracias a una señal de internalización del dominio citoplásmico de la Ii o bien van directamente hacia la vía endocítica a través del Golgi gracias a una señal situada también en la región citoplasmática de Ii (Bakke and Dobberstein 1990). El porcentaje de complejos que van a la vía endocítica directamente o a través de internalización de la membrana celular varía en función del tipo de APC.

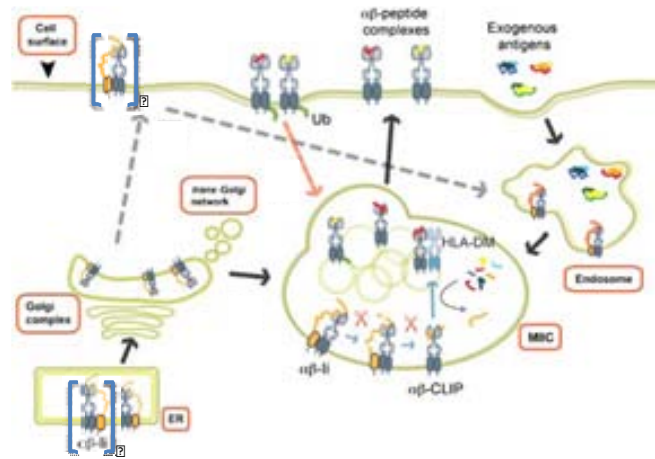
En los compartimentos endosómicos de pH bajo la Ii es degradada por las proteasas ácidas y sustituido por péptidos presentes en dicho compartimento. Durante la degradación de la cadena invariante, la región de interacción con el surco de unión se ve protegida del efecto de las proteasas, dando lugar a un fragmento corto denominado CLIP (péptido de la cadena invariante asociado a clase II) que mantiene

estable el dímero (Figura 4). Los compartimentos endosómicos donde se acumulan más complejos MHC-II se denominan MIIC (*MHC class II compartment*) y son sobre todo MVB (cuerpos multivesiculares) o MLB cuerpos multilaminares (Neefjes 1999)(Figura 4). Estas vesículas son de bajo pH y corresponden a fases tardías de la ruta endosómica, muy cercanas a los lisosomas y entran en contacto o se fusionan con endosomas entrantes que contienen proteínas o péptidos en su interior. Es mayoritariamente en este compartimento MIIC donde se produce el intercambio de CLIP por péptidos procedentes de la degradación de material en la vía endocítica.

El intercambio de CLIP por otro péptido se realiza con la colaboración de una nueva chaperona, la molécula HLA-DM, que estabiliza el dímero $\alpha:\beta$ permitiendo la liberación de CLIP y realiza funciones de editor peptídico de la calidad y cantidad de los péptidos seleccionados (Lovitch, Petzold, and Unanue 2003; Muntasell et al. 2004). Los dímeros carentes de péptido no son estables y serán degradados en los compartimentos lisosomales, en cambio, las moléculas cargadas serán transportadas a la superficie para la presentación del péptido. En ausencia de infección, la mayoría de los péptidos presentados por moléculas de MHC-II derivan de proteínas autólogas, ya sean de la propia célula o del espacio extracelular (Engelhard 1994). La biosíntesis de las moléculas de MHC-II condiciona pues el repertorio que presenta, especializándose en la presentación de péptidos procedentes de proteínas degradadas en la ruta endocítica, bien proteínas extracelulares captadas por la APC o componentes internalizados de la membrana plasmática.

Aun así, existen rutas alternativas que aportan variabilidad al repertorio peptídico presentado por MHC-II y que en algunos casos pueden ser muy relevantes. La autofagia, un proceso relacionado con el estrés celular y muy relevante en células epiteliales tímicas, es un mecanismo utilizado por las APCs para presentar componentes citosólicos por la vía de clase II, igual que la fagocitosis de cuerpos apoptóticos de células vecinas (Münz 2009; Ludger Klein, Münz, and Lünemann 2010; Nedjic et al. 2009). Por otro lado se ha descrito que proteasas solubles o de membrana son capaces de generar ligandos para MHC-II en el espacio extracelular, generando péptidos que, si tienen alta afinidad por la molécula de MHC, podrían competir por los ligandos presentados por las moléculas de MHC-II de superficie desplazándolos *in situ* o podrían ser internalizados, incorporándose a la ruta clásica de MHC-II (Larsen et al. 1996; Santambrogio et al. 1999).

?



Ábr. 7.33. A képek a sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják.

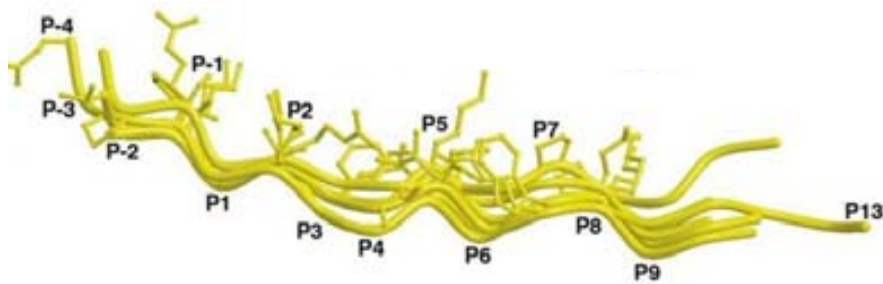
10. fejelet: A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció

?

A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják.

A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják.

?



Ábr. 7.34. A képek a sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják.

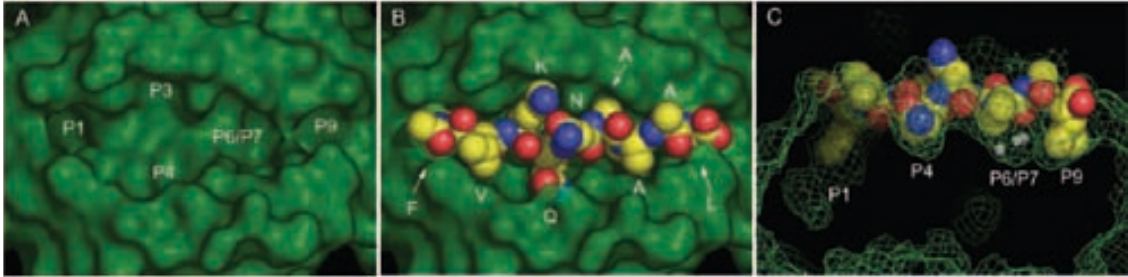
???

A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják. A sejt felületén a MHC II-vel történő antigénprezentáció folyamatát mutatják.

?

☐

e l mral NQ A77 0000 i NI /At : l 0at 0000AsL33áVlaá t 0 AN0al e éM.l 0éméLá l j0 0000l : Cá 0000N0k"" Z000 Eáao0
0l 00t : 0t 0t l A0k"" +400



0r 730- 00 / 0DAM0: AN0l pal 0: A0l t á t 0: A00 00j000Z0000 éA0iáá0: AN0l pal 0: A0l t á t 000: AN0l pal 0: A0l t á t 0al t 0AN0éméLá l 0
0000 000000 t á l 0000000000 AN0l pal 0 A0l t á t 00éméLá l 0000000000 áVla00k""; 40

☐

0N0é l Né l pi áe l 0 AN0l pal 0nAt A0000p00áá t As0At 0N0000p00aLAp0Lá00000á ul ce á0000 A0Nl s0 / 0DAM00At 0l t á t 0
: A0 N00 E0p00t LAp00N00000 As0: Aaá00 a0: 0000MANl 0LáAt A0l t l s03l N0áNl s0ul A0l t At 0ép0i ApAt LAe At LAp0l t 0
: ALApe á 0: l 0000p0 t 0 A00e á l 2aá l s000 p0000N0 Ae l sLp0p t 0ul A0 t 0000p00áá t 0At LpA00MANl s0 A00 00000
0: 0/0000^{ny} 40 A0 t 0vt áal 00e á l 2aá l 0At 0N0000: At 000000000000 A0AsUl s000000000000pAsAt L0p00t 0éméLá l s00al t 0
a0p0aLAp0Lá0000 áApAt a0000000vt 0At 0At : l 0N000e 00e 0000p l Act 0000 0000 t 00M0000000000 00p l aAs00e áAt U 000l p00
k""; 400 l A0Nl s00pA0pU pá s00éAéLc áal s00: A0a000000000LAt n00t 0sAal At a000000e á l 0ac á000000p0000/0ul A0AN0
pAéApU pá 0 A0éméLá l s0000e 3áA0At 0l t á t 0: AN00MANl 0ul A0Nl 0épAsAt LA0: ááal N000000000000LAp0Vlaá t 0 A0Nl s0
e l L0Él s0 A0 t á t 00000: 0000MANl 000vt 00000As00e é l p00t LAp0AN0al t l aAp0AsUl s00000p t As0 A0 t á t 0000000l p00 A0
At LA0: Ap0000Asé l AsUl000e l t á 0p000 000p000 0sAr 0p0AsLp0LAn0000 A000al t 00á t 0 00e l t l LAp000000

☐

9H 000000340000v0í 0000 n60n0000í v0í 0

☐

0000AÉá At a000 A0e l L0Él s0 A0 t á t 0AséAa00ál s0 A000MANl 00l pná 0 A0AsUl : á s0 A00Aal At a00áá t 0 A0
N00t : l s0 0Ul p0M000 A0e l mral N000 A0N0sA0000000000 p0 a00á s0 A0Nl s0#"" 00000000000000##Z000l p0000000000##k40000sUl s0
Lp0000.l s0000000: l s0At 0AN0e nUl : l 0 A00Aal At a00áá t 0 A000: e 0t 00épAsAt L000t 0np00t 0: ááal N00: 0 A3á l 000000
oALAp0 nAt Aá 0: 0 A0Nl s0pAéApU pá s00Aal At a000: l s000vt 00000Nl s0: áApAt LAs00á0Nl s0: A0N000Aal At a00áá t 0 A0
0: e 0t 0pA0AN0p t 0 N00 épAsAt a000: A0pAsá l l s0 AséAa00ál s0 At 0: ALApe á 0: 0000é l sáá t As0: AN0 éméLá l 0
é l páá0: l 000

0000Aná t 00AéLc á000 A0 t á t 0N00 00j000As0 A0000e á l 2aá l s000Ap 0AV0LAt 00l sáá t As00e 2s0 ALApe á 0t LAs0
ul A0 Lp000At 0N000 LAp00aaá t 00000000 LAp00aaá t As0At LpA000: At 0000LAp00M000 A0Nl s0n00t : l s000l A: At 000l e At L0p0
N000iá á 0: 0: A0l t á t 0/0N00AséAa00áá 0: 0: A0Nl s0N00t : l s0l 00á Lapi Ap00al t 0Nl s0pAsá l l s0: AN0- / 0DAM0
: 00e á l /At : l 0N00 t á t 000á á0nN0000t : 0000e e Ap0Z##K4000000000é l sáá t 0: A00t aN0.A00Z000A00al t sá Ap00000e 2s0
pAME00t LAp0 0N000 LAp00aaá t 0éméLá l j0 0000000e l L0Él 0 A0 t á t 0000AsLA0 / 0DAM00l t ul A0al t 0 áApAt a0000At 0N00
ipAal At a000 A00e á l 2aá l s0ul A0Nl 0 al é0t 0AsL2000000LAp0al t sApE0: l 0At LpA0Ul : l s0Nl s000MANl s0 A00 0000000
AsL2000sl a00: l 00000e á l 2aá l s0 l 00l NlpAs0000000000 00M000 AL0 00N040 0al t 0pAsá l l s00p e 2L0al s00np00t : As0/0
L0e 30nt 0000é l NlpAs00al e l 0N00000000000000p000 000/p0000sLAp0al t l a00 áAt U 0/0Nl s00000t aAs0L0at l Nl náal s0: A0N00
AséAaLp l e Lp000 A0e 00000000Ape áLAp t 0AN0AsUl : á 0/000000000000LAp0Vlaá t 0e 0000000 A0N00t : l s0: A00 00j000/0N00
a0p0aLAp0Vlaá t 0 A0Nl s00e l L0Él s0 A0 t á t 0 A0e l aol s0 A0Nl s000MANl s0 A00 00j0000

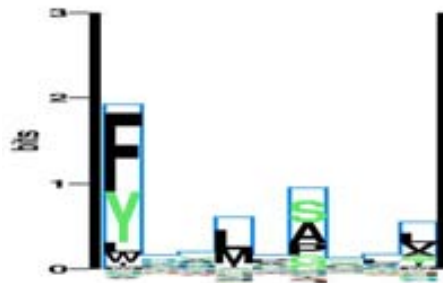
k"0

☐

Estos motivos de unión son representados mediante matrices de probabilidad, asignando una relevancia a un determinado aminoácido en función de la posición (Figura 7).

| | A | R | N | D | C | Q | E | G | H | I | L | K | M | F | P | S | T | W | Y | V |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| P1 | -9.8 | -11 | -11 | -13 | -7.1 | -11 | -12 | -11 | -8.7 | 1.1 | 1.5 | -12 | 1.3 | 5.8 | -13 | -11 | -9.2 | 4.2 | 5.4 | -0.4 |
| P2 | -0.1 | 1.5 | 0.9 | -3.5 | -0.3 | 1.7 | -0.9 | -3.1 | 1.1 | -0.7 | 0.5 | 1.0 | 0.9 | -0.8 | -6.6 | 0.2 | 0.2 | -2.3 | 0.4 | 0.7 |
| P3 | 1.3 | 1.7 | 0.0 | -5.8 | -2.5 | 2.2 | -3.3 | -0.2 | 1.7 | -0.9 | 0.2 | -0.9 | 1.8 | -1.6 | -0.9 | 1.0 | 0.3 | 1.0 | 0.4 | -2.4 |
| P4 | 0.2 | -5.1 | -0.8 | -5.3 | -4.0 | 0.8 | -1.4 | -2.9 | -2.0 | 1.7 | 3.1 | -5.3 | 4.8 | -3.3 | -2.8 | -0.6 | -1.2 | -6.5 | -5.4 | 0.2 |
| P5 | 1.6 | 1.5 | -1.3 | -3.2 | -2.7 | -0.3 | -0.9 | -0.1 | -1.5 | -1.5 | 0.5 | 0.2 | -0.7 | -1.9 | 2.4 | 1.4 | -0.3 | -3.1 | -0.6 | -1.3 |
| P6 | 3.5 | -6.2 | 1.9 | -4.5 | -8.9 | -3.8 | -4.6 | 2.5 | -1.8 | -4.6 | -4.6 | -7.6 | -3.1 | -7.7 | 3.2 | 3.6 | 0.0 | -10 | -4.3 | -4.9 |
| P7 | 0.8 | 0.4 | 0.9 | -3.9 | -6.4 | 0.5 | -0.5 | -2.4 | 1.2 | -0.7 | 0.1 | -1.7 | 0.9 | -0.9 | 0.7 | 1.5 | 0.2 | -0.4 | 1.4 | 0.5 |
| P8 | 1.2 | 2.0 | -1.5 | -2.9 | -1.2 | -0.1 | -2.3 | -1.2 | -1.7 | -0.8 | 1.7 | -0.6 | 0.6 | -0.3 | 0.8 | 1.1 | -0.7 | -4.3 | -0.4 | -1.6 |
| P9 | 1.4 | -2.6 | -2.2 | -7.8 | -5.0 | -3.0 | -7.0 | -1.0 | -5.7 | 1.4 | 2.1 | -5.3 | 2.0 | -3.5 | -5.5 | 1.4 | 1.6 | -7.8 | -4.5 | 2.5 |

Figura 7. Arriba: Matriz de HLA-DR1 y la valoración numérica de los aminoácidos en cada una de las posiciones. Abajo: representación del motivo de unión de HLA-DR1. <http://www.cbs.dtu.dk/biotools/MHCMotifViewer/DRB1.html#1>.



vi. Herramientas computacionales de predicción de afinidad

La identificación precisa de los péptidos que se unen a las moléculas de MHC es relevante para el entendimiento de la especificidad de la respuesta inmune adaptativa. El estudio de unión de péptidos a las moléculas de MHC ofrece avances en el conocimiento y posible tratamiento de enfermedades humanas como el cáncer (Voutsas et al. 2007), alergias (Rhyner et al. 2007) o enfermedades autoinmunes (Kong et al. 2007) y en el desarrollo de nuevas vacunas.

Debido al elevado coste experimental y temporal que supone la búsqueda e identificación de los ligandos de MHC, se han diseñado sistemas de predicción informáticos que permiten reducir el tiempo y el gasto. La mayoría de estos sistemas están basados en datos experimentales y aproximaciones computacionales, con algoritmos diseñados para la predicción teórica de la unión específica a un alelo del MHC.

Por norma general, los sistemas de predicción tienen dos fases: la primera fase es la de entrenamiento (*training*), donde se trata de establecer una serie de reglas que expliquen la presentación de los péptidos basándose en datos experimentales de afinidad peptídica descritos en determinadas bases de datos. Una vez generadas las reglas de unión/no unión de las secuencias, estos métodos se enfrentan a una comprobación de su capacidad predictiva frente a ligandos descritos experimentalmente (*testing*).

Las consideraciones que se tienen en cuenta en la fase de entrenamiento y en su posterior predicción teórica son el contexto MHC, la representación de la unión del péptido y los algoritmos utilizados,

diferentes en todos los sistemas predictivos (Tabla 1). El estudio de interacción entre péptido y las distintas moléculas de MHC puede abordarse mediante métodos basados en sus respectivas secuencias o mediante métodos basados en el estudio de la estructura del complejo.

Los predictores basados en la secuencia se aproximan a la resolución del problema a través de la búsqueda de patrones. Estos patrones se generan mediante la identificación de aminoácidos sobre-representados, respecto a lo esperado al azar, en los distintos puntos de la secuencia de los ligandos de MHC. Con ello, caracterizan los aminoácidos del péptido situados en las posiciones de anclaje, generando unas matrices cuantitativas/probabilísticas llamadas *position-specific scoring matrix* (PSSM) (Sturniolo et al. 1999). Estas matrices representan la variabilidad de una secuencia mediante *scores*, asignando un valor a cada aminoácido en cada una de las posiciones estudiadas, según su frecuencia en esa posición. La mayoría de estas herramientas informáticas definen la unión péptido-MHC basándose exclusivamente en la secuencia del surco de unión de la molécula de MHC y la del péptido, representando la interacción péptido-MHC como una pseudosecuencia formada por los residuos polimórficos que conforman el surco de unión y el *core* del péptido. Programas como el PickPocket (H. Zhang, Lund, and Nielsen 2009), TEPITOPE (Sturniolo et al. 1999) o Propred (H. Singh and Raghava 2001), generan sus propias PSSMs bajo estos criterios y usan diferentes algoritmos para obtener la predicción. Hasta febrero de 2013 se han descrito 1285 alelos diferentes para los genes DRB1, correspondientes a 959 proteínas diferentes, 24 de ellos nulos, en la base de IMGT/HLA (Robinson et al. 2003). Aun así, gran parte de estas moléculas no tienen aún descrito el motivo estructural de anclaje de péptidos, lo que dificulta la implantación y verificación de los sistemas de predicción. Aun así se han generado una serie de aproximaciones computacionales llamadas *pan-specific*, capaces de predecir ligandos de moléculas a partir de unos pocos ligandos identificados experimentalmente.

El contexto MHC a la hora de determinar la interacción péptido-MHC puede interpretarse de diferentes maneras e influye en los sistemas de predicción. Programas como el NetMHCIIpan o el MHCIIMulti implementan métodos diferentes para la identificación de la unión peptídica. Para la medición de la interacción, el primero tiene en cuenta el *core* de unión del péptido, los PFRs y la longitud del péptido (Nielsen, Justesen, et al. 2010). Por otro lado, MHCIIMulti tiene en cuenta los múltiples nonámeros que pueden obtenerse del péptido de unión, permitiendo solapamientos (Pfeifer and Kohlbacher 2008).

Gran parte de estos sistemas de predicción utilizan métodos estadísticos de aprendizaje computacional. Los algoritmos más conocidos son las *artificial neural networks* (ANN) (Gulukota and DeLisi 2001), support vector machines (SVMs) (Wan et al. 2006), utilizado por KISS y MHCIIMulti o métodos consenso que integran dos o más sistemas de predicción (ver Tabla 1).

Los estudios basados en la estructura del complejo tienen como finalidad la predicción de interacción mediante el cálculo de las energías de unión entre el péptido y el MHC. Estos sistemas, aunque con una gran capacidad predictiva, son poco extrapolables y difícilmente se pueden realizar de forma sistemática sobre un gran conjunto de péptidos ya que consumen una gran cantidad de tiempo computacional para establecer la interacción.

| P ^a | Nombre | URL | Método | Fecha | HLA | A ^b | Secuencias | L ^c | M ^d |
|----------------|-----------------|---|-------------------------------|--------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| MHC-I | ADT | http://atom.research.microsoft.com/hlabinding/hlabinding.aspx | Adaptive double threading | jul-06 | ABC | Si | FasPep, FasSec | 9-10 | No |
| | KISS | http://cbio.enscm.fr/kiss/ | Kernel | dic-07 | ABC | Si | Pep | 9 | Si |
| | NetMHCpan | http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCpan/ | ANN | nov-08 | ABC | Si | Pep, FasSec | 8-15 | Si |
| | PickPocket | No public server available | PSSM (matriz cuantitativa) | mar-09 | - | - | - | - | No |
| | MULTIPRED2-I | http://cvc.dfc.harvard.edu/multipred2/HTML/prediction1.php | Integration/NetMHCpan | dic-10 | ABC | Si | FasSec | 8-11 | No |
| MHC-II | Propred | http://www.imtech.res.in/raghava/propred/ | PSSM (matriz cuantitativa) | jul-99 | 50 DRs | Si | Sec, FasSec | 9 | Si |
| | MHCIIMulti | http://www.epitoolkit.org/mhcii-multi/ | Multi-Instance learning | 2008 | DR | Si | Sec, FasSec | ≥9 | No |
| | SIADT | No public server available | Shift-Invariant ADT | sep-08 | DR, DP, DQ | - | - | - | No |
| | MultiRTA | http://borderlab.org/MultiRTA | RTA | sep-10 | DR, DP | No | Pep | ≥9 | No |
| | NetMHCIIpan-1.0 | http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCIIpan-1.0/ | ANN/SMM-align | jul-08 | DR | Si | Pep, FasSec | ≥9 | Si |
| | NetMHCIIpan-2.0 | http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHCIIpan-2.0/ | ANN/NN-align | nov-10 | DR | Si | Pep, FasSecs | ≥9 | Si |
| | MULTIPRED2-II | http://cvc.dfc.harvard.edu/multipred2/HTML/prediction2.php | Integration/NetMHCIIpan | dic-10 | DR | Si | FasSec | 9 | No |

Tabla 1. Sistemas de predicción de ligandos a MHC. En la tabla se muestran diferentes sistemas de predicción, en función de la molécula de clase I o clase II, y los accesos web, el tipo de metodología que se utiliza para la predicción y la fecha de creación. HLA corresponde a los diferentes alelos analizables y “secuencias” se refiere al tipo de formato en que deben estar las secuencias a analizar (Fas: formato FASTA; Sec: secuencia completa; Pep: péptido). a. Clase de molécula de MHC a la que va dirigida la búsqueda; b. Selección de múltiples alelos; c. Longitud de los péptidos; d. Acceso público a las matrices de asignación.

Los sistemas utilizados en esta tesis fueron: Propred (H. Singh and Raghava 2001) y NetMHCIIpan. El primer sistema fue desarrollado a partir de una nueva propuesta matemática para la generación de matrices llamada *pocket profiles* (Sturniolo et al. 1999) En base a las matrices, el centro bioinformático del *Institut of Microbial Technology* de Chandigarh (India), creó esta herramienta computacional de predicción de ligandos de HLA. Este sistema se compone de 51 PSSMs derivadas de 11 alelos de HLA-DRB diferentes y que cubrían 51 moléculas de HLA-DR. Recientemente se ha desarrollado una herramienta, TEPITOPEpan, que extrapola los datos de las moléculas de HLA-DR con PSSMs definidas en Propred. Con ello, este programa genera nuevas PSSMs para los alelos no descritos basándose en el grado de homología entre las secuencias de alelos, obtenidas del “*Protein Data Bank*” (L. Zhang et al. 2012). Estas aplicaciones informáticas asignan un *core* peptídico basado en la presencia de como mínimo un residuo correcto en la P1. Los residuos permitidos para la P1 son Tyr, Phe, Trp, Leu, Ile, Ala, Val, o Met, variando la frecuencia en función del alelo de HLA-DR. Los umbrales de asignación dependen a su vez de los aminoácidos restantes asignados, por norma general, a las posiciones P4, P6 y P9.

Por su parte, NetMHCIIpan fue desarrollado por el grupo de *Immunological Bioinformatics* del Dr. Ole Lund en el *Center for Biological Sequence Analysis* (CBS) de la universidad técnica de Dinamarca en colaboración con el *Institut of Medical Microbiology and Immunology* (IMMS), de la universidad de Copenhague. Este programa está basado en un sistema de procesamiento no lineal con capacidad de aprendizaje del tipo ANN. El contexto MHC está definido como una pseudosecuencia generada a partir de 21 residuos aminoácidos polimórficos en contacto potencial con el péptido, descrito por Nielsen et al. (2008). El *core* peptídico y los residuos que lo flanquean se identifican para cada uno de los péptidos en el conjunto de datos utilizando el método SMM-align. El método SMM-align identifica el nonúmero de puntuación máxima para cada secuencia. Para cada *core* peptídico se evalúan principalmente los residuos del nonúmero con el contexto MHC, los residuos flanqueantes del péptido (PFR), el tamaño del

péptido y el tamaño de los extremos N y C terminal de los PFRs, resultando en un valor final equivalente a la afinidad media (IC50).

//. **MHC y tolerancia**

La presentación de péptidos autólogos en el contexto MHC es un evento constitutivo e imprescindible para la generación y el mantenimiento del repertorio de los linfocitos T. La delección, anergia e ignorancia clonal son mecanismos necesarios para la adquisición y mantenimiento de la tolerancia. La tolerancia de los linfocitos T requiere de dos procesos: la maduración y selección en el timo, destinados a generar un repertorio linfocítico funcional y no autorreactivo (tolerancia central) y los basados en la contención de respuestas autoinmunes por parte del repertorio maduro de células T (tolerancia periférica).

i. Tolerancia central

Una vez generados en la médula ósea, los precursores de los linfocitos T migran al timo. Una vez allí, estas células (timocitos) sufrirán procesos de maduración, diferenciación y selección. El proceso selectivo conlleva la muerte por apoptosis del 98% de los timocitos generados durante la maduración. El resultado final es la generación un repertorio de linfocitos T capaz de reaccionar frente antígenos extraños, sin autorreactividad frente componentes propios del organismo (Ciofani and Zúñiga-Pflücker 2007).

i. Timo

El timo es un órgano situado en el mediastino, encima del corazón. Presenta una organización bilobular dividida en lobulillos cuya estructura consta de córtex, zona corticomedular y médula.

En niños, en que la generación del repertorio de linfocitos T es más activa, este órgano puede ocupar gran parte de la cavidad torácica superior. En las radiografías pediátricas es lo que denominan “signo de vela” y debe ser extraído, en parte, en procedimientos de cirugía cardiaca pediátrica para poder acceder al corazón. En condiciones normales, el timo crece hasta la adolescencia, a partir de la cual sufre un proceso involutivo, desplazando la masa celular activa por tejido adiposo, disminuyendo así su capacidad funcional.

A nivel histológico, existen dos regiones claramente diferenciadas, el córtex o “zona oscura” y la médula o “zona blanca”. En individuos jóvenes, estas regiones están constituidas por timocitos asociados a un estroma formado principalmente por células epiteliales que forman una red que da soporte mecánico y estímulos para la proliferación y desarrollo de los timocitos. Además, podemos encontrar macrófagos, células dendríticas, fibroblastos y matriz extracelular (Petrie and Zúñiga-Pflücker 2007) distribuidos dentro del timo en distintas localizaciones. El estroma del córtex y de la médula son de composición

diferente y estas diferencias son críticas para generar los microambientes tímicos que guiarán la migración de los timocitos y aportarán las señales de diferenciación y desarrollo adecuadas en función del estadio madurativo (G. Anderson and Jenkinson 2001).

ii. Córtez y selección positiva

La entrada de los precursores linfáticos al timo se realiza a través de las vénulas postcapilares situadas en la zona corticomedular. Los timocitos inician una migración, guiados por una expresión secuencial de receptores y un gradiente quimiotáctico a la zona subcapsular del córtex (Nitta et al. 2008). El córtex está densamente poblado de linfocitos inmaduros en estado proliferativo. Durante las etapas iniciales de su desarrollo, los timocitos no presentan ninguno de los correceptores CD4 y CD8, y se les denomina doble negativas (DN). Durante la migración a la zona cortical inician la expresión de ambos correceptores CD4 y CD8 (periodo doble positivo o DP), la expresión de CD3 y el reordenamiento de los genes β y α del TCR. Junto a los timocitos, el estroma incluye células epiteliales corticales (cTECs) y poblaciones transitorias de células derivadas de médula ósea, como macrófagos de alta capacidad fagocítica (Rezzani, Bonomini, and Rodella 2008). Los timocitos DP que expresan el receptor interactúan, vía TCR, con complejos MHC-péptido autólogo en estas APCs corticales. Aquellos timocitos capaces de reconocer un péptido presentando dentro del contexto de las moléculas de MHC reciben señales de supervivencia que les permite seguir con su desarrollo madurativo. Las células que no reconocen ningún complejo pMHC no proliferan y mueren por apoptosis. Este proceso, denominado selección positiva, permite la selección de los timocitos capaces de reconocer un complejo pMHC.

Numerosos estudios refuerzan la teoría de que los péptidos propios presentados por las APCs corticales y responsables de la selección positiva tienen baja afinidad por el MHC. Un único complejo pMHC presentado por las cTECs es capaz de producir un repertorio diverso de células T (Ignatowicz, Kappler, and Murrack 1996), lo que sugiere que cualquier péptido que participe en la interacción es capaz de inducir selección positiva. En este proceso de selección, la presentación no se limita a las cTECs. Los fibroblastos, DCs o incluso linfocitos T maduros que recirculan en timo pueden inducir también selección positiva a los timocitos (Hugo et al. 1993; Yasutomo, Lucas, and Germain 2000; Kirberg et al. 2008). En este contexto de presentación, los timocitos que sobreviven a la selección positiva reprimen la expresión de uno de los correceptores, aumentan la expresión de los niveles de TCR en superficie y migran progresivamente a la zona medular del timo (Figura 8).

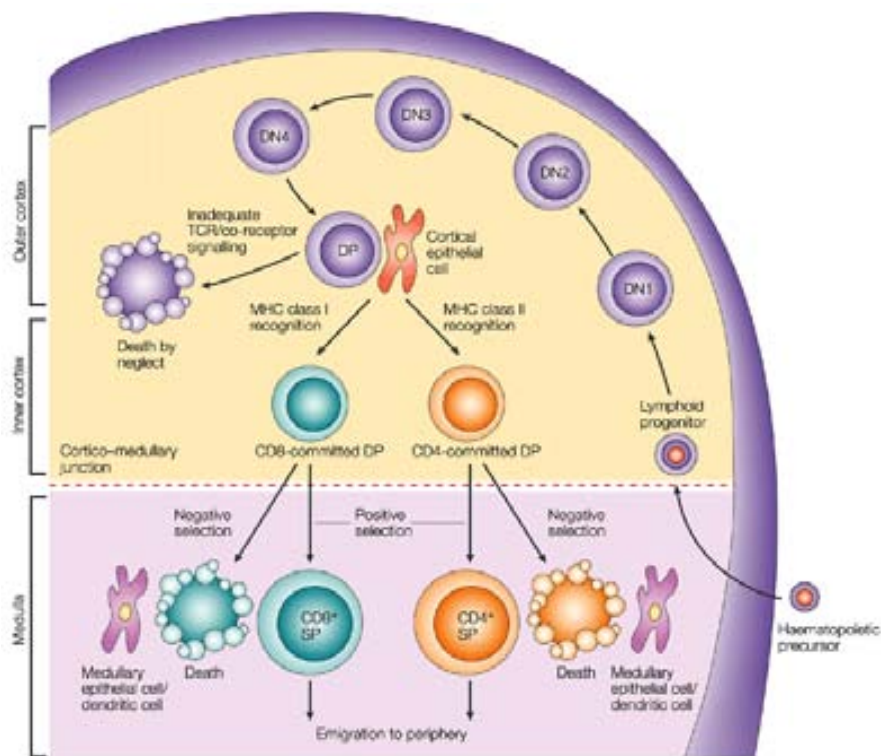


Figura 8. Procesos de tolerancia central en el timo. (Germain 2002)

iii. Médula y selección negativa

Los timocitos que superan la selección positiva y han dejado de expresar uno de los correceptores (estadio de *single positive* o SP) migran a la zona medular. Es en esta región, especializada en el establecimiento de tolerancia frente a antígenos sistémicos propios, donde se produce la selección negativa. La médula tímica ocupa, en ratones, un tercio del volumen lobular (Elmore 2006). Se le denomina la zona blanca ya que, a nivel histológico, tienen una coloración menos intensa gracias a una menor densidad celular respecto a la zona cortical debido a la drástica reducción del número de timocitos capaz de superar la selección positiva. Las principales APC en la médula son las células epiteliales medulares, mTECs y las células dendríticas, residentes o migratorias. Estas células presentan todo el material que captan ambiente tímico y esto, junto con la expresión ectópica de genes específicos de tejido por las mTECs, se establece la tolerancia frente a antígenos propios sistémicos o de órganos periféricos. Durante la selección negativa todos aquellos timocitos SP que interactúen con alta o media afinidad con sus ligandos morirán por apoptosis. Sólo sobrevivirán aquellos que reconozcan un péptido propio asociado a MHC con baja afinidad. Por tanto, la población linfocitaria resultante de la maduración tímica serán células que, siendo capaces de reconocer un antígeno en el contexto de MHC, responden con baja afinidad al repertorio peptídico autólogo de todo el organismo. Estas células conformarán el repertorio de células T en periferia (Figura 8).

En 1989 surgió la hipótesis de la expresión ectópica de antígenos restringidos de tejido en timo como parte del desarrollo linfocitario (Linsk, Gottesman, and Pernis 1989). Para que la tolerización contra los componentes propios sea eficiente, es necesario que el repertorio peptídico presentado en el timo sea representativo del total del organismo. Esto incluye no sólo moléculas ubicuas o moléculas de alta

expresión, sino también antígenos específicos de tejidos (TRA). Los estudios de expresión génica han revelado la presencia en timo de transcritos de RNA codificantes para múltiples proteínas consideradas exclusivas de ciertos tejidos (Jens Derbinski et al. 2001). Esta capacidad inusual de expresión génica promiscua se describió en mTECs, en concreto en subpoblaciones con altos niveles de expresión de HLA-DR (Jens Derbinski et al. 2005), involucrándolas directamente en procesos de tolerización frente a antígenos específicos de tejido (Smith et al. 1997; Ludger Klein et al. 1998; Egwuagu, Charukamnoetkanok, and Gery 1997). La ausencia o defectos en la expresión de ciertos genes, ya sea por variaciones alélicas o mutaciones, se relacionan con susceptibilidad a procesos autoinmunitarios. Un de estas enfermedades es la *polyendocrinopathy–candidiasis–ectodermal dystrophy* (APECED). Esta rara enfermedad autoinmune multiorgánica se debe a la falta de expresión o mutaciones funcionales en el gen AIRE (*Autoimmune regulator*). AIRE es uno de los primeros genes relacionados con la regulación de la autoinmunidad fuera de la región HLA (Peterson et al. 1998; Aaltonen et al. 1997), se expresa en las mTECS y regula la expresión de genes específicos de tejidos periféricos en el timo. Se le considera responsable, en parte, de la alta diversidad de expresión génica de las mTEC. Aunque se ha demostrado la capacidad de controlar genes concentrados en agrupaciones cromosómicos (Johnnidis et al. 2005), la inducción de apoptosis (Colomé et al. 2010) o la regulación de la transferencia de antígenos a las DCs (Hubert et al. 2011), los mecanismos de acción de AIRE no están claros. Análisis proteómicos relacionaron a AIRE con la modificación de la estructura de la cromatina, elongación transcripcional, procesamiento pre-mRNA y transporte nuclear (Abramson et al. 2010). Aparte de un factor transcripcional y debido a los motivos proteicos presentes dentro de la proteína, se le han asociado funcionalidades como ubiquitin ligasa E3 (Uchida et al. 2004) o la capacidad de interacción específica con histonas no metiladas (Giraud et al. 2012) que podrían modular la actividad de elementos asociados a la cromatina. La expresión de los genes dependientes AIRE varía en función del gen y existe un efecto dosis dependiente entre los niveles de expresión de AIRE y el grado de transcripción. Aun así, AIRE es necesario pero no suficiente para la transcripción de sus genes diana y la expresión ectópica o promiscua de todos los TRAs no es exclusiva de este gen. Estudios en ratones *AIRE*^{-/-} demostraron la expresión de varios TRAs independientes de la expresión de AIRE (Kuroda et al. 2005) y alguno de ellos se expresan en subpoblaciones distintas de las mTECS *AIRE*⁺ (Kyewski and Derbinski 2004).

Las mTECs, al igual que las cTECs, tienen una baja eficacia de presentación de antígenos extracelulares (L Klein, Roettinger, and Kyewski 2001) lo que sugiere el uso de vías no convencionales de carga peptídica de material endógeno al MHC, accediendo así a los TRAs generados intracelularmente. Además de las mTECs, las DCs son de gran importancia en la selección negativa. El grupo de DCs presentes en el timo es bastante heterogéneo. La mayoría de ellas son residentes y proceden de precursores tímicos, aunque se encuentran también DCs periféricas, plasmacitoides y convencionales, que residen temporalmente en el timo (Wu and Shortman 2005). Tanto las DCs “autóctonas” como las emigrantes se sitúan en la médula. El diferente origen de estas DCs podría presuponer repertorios diferentes de ligandos asociados a clase II. Las DCs emigrantes podrían estar presentando antígenos captados en la periferia (Li et al. 2009),

mientras que las DCs tímicas, al igual que las periféricas, podrían estar presentando antígenos del microambiente tímico, incluyendo antígenos expresados por otras células tímicas (Nitta et al. 2008). Aunque múltiples estudios revelan, a nivel transcripcional, la expresión promiscua de genes restringidos de tejido por parte de las APCs tímicas, hasta la actualidad no se ha demostrado la presentación *in situ* de ligandos procedentes de proteínas específicas de tejido. Las nuevas tecnologías de secuenciación han permitido abordar esta laguna y en este estudio se presentan dos secuencias peptídicas procedentes de proteínas cuya expresión es restringida principalmente a tejidos reproductivos y nerviosos.

ii. Homeostasis y tolerancia de células T en periferia

El repertorio de células T generado en el timo disminuye después de la pubertad pero el número de células *naive* en periferia permanece constante. Esto sugiere un balance entre la pérdida y el remplazo postímico de los linfocitos T *naives*. Ratones adultos timectomizados a medida que crecen mantienen un número significativo de estas células T que además sobreviven manteniendo su fenotipo si se transfieren a ratones SCID (J Sprent 1993). Se ha demostrado que, en condiciones de deficiencia de células T, el reconocimiento de los complejos péptido-propio-MHC en periferia permite el restablecimiento del repertorio linfocitario (Beutner and MacDonald 1998; Ge et al. 2001). Por lo tanto, las moléculas de MHC-I y II son necesarias para preservar el número de linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ circulantes mediante la presentación de antígenos propios (Takeda et al. 1996; Tanchot et al. 1997).

Estudios recientes muestran que las células *naive* T CD4⁺ de ratones transgénicos para el TCR tienen una vida útil corta si se transfieren en gran número a huéspedes singénicos, pero su vida se prolonga cuando se transfieren menos células, es decir, cuando su número se asemeja a la frecuencia clonal en un repertorio policlonal (Hataye et al. 2006). Esto sugiere que la supervivencia de un determinado clon necesita el reconocimiento específico de un determinado pMHC propio. El acceso limitado a ese complejo pMHC específico reduciría el número "sobrante" de células T específicas (Surh and Sprent 2008). Por lo tanto, la diversidad del TCR dentro del repertorio de células T viene dado por la selección tímica combinada con el contacto a nivel periférico de los pMHC propios.

Para el mantenimiento homeostático de las células T *naive* es necesario pues el reconocimiento específico junto con la combinación de señales procedentes de citocinas, especialmente la IL-7 y la disminución de IL-15. Por el contrario, la mayoría de células T memoria son MHC independientes, pero sí requieren de citocinas (Jonathan Sprent and Surh 2011).

Además de la proliferación celular y la supervivencia de la célula T, la interacción con pMHC propio tiene una función importante en la respuesta misma del linfocito. El reconocimiento de antígenos propios por las células T *naive* en periferia es capaz de fosforilar parcialmente la cadena ζ del TCR, induciendo una señalización basal débil, incapaz de generar la activación de la célula T (van Oers, Killeen, and Weiss 1994). Esta continua señalización de bajo umbral de activación podría aumentar la sensibilidad de las células T periféricas hacia antígenos extraños en baja concentración, facilitando su respuesta específica.

i. Tolerancia periférica

El repertorio de células T generado en el timo siempre está compuesto de linfocitos capaces de reconocer componentes propios con baja avidéz (Zehn and Bevan 2006). Estas interacciones de bajo nivel no son patológicas, ya que están reguladas a nivel periférico. Los mecanismos de mantenimiento de la tolerancia periférica son muy diversos e incluyen la baja concentración de ligando, la ausencia de moléculas coestimuladoras, la presencia de células T reguladoras o la inducción de anergia.

En estos procesos, la presentación de antígenos propios juega un papel relevante, manteniendo y regulando la homeostasis de las células T. Por una parte, la barrera física principal es la separación de células T potencialmente autorreactivas de las células que expresan los TRAs (ignorancia antigénica). Las células T *naive*, guiadas por gradientes de ligandos de CCR7 y la interacción de L-selectinas (CD62L), circulan desde la sangre a los órganos linfoides secundarios, pasando por la linfa para luego regresar al torrente sanguíneo (Lämmermann and Sixt 2008). Así, las células T *naive* quedan excluidas de los órganos periféricos en los que se presentarían los ligandos. En estudio de ratones transgénicos, células T *naive* con un TCR transgénico específico de alta avidéz hacia una glicoproteína viral no desarrollaban respuesta autoinmune en ratones transgénicos que expresan esa glicoproteína bajo el promotor de la insulina (RIP) debido a que esas células CD8⁺ no entraban en contacto con los complejos pMHC de la proteína viral en el tejido pancreático (Ohashi et al. 1991). Sin embargo, las células T efectoras son capaces de migrar a la mayoría de tejidos, preferentemente a los tejidos inflamados en los que podrían encontrarse con alta concentración de pMHC (Mueller 2010).

El repertorio de células T puede ser tolerizado a nivel periférico mediante una segunda selección en órganos linfoides y no linfoides provocando su deleción o anergia (Mueller 2010). En tejidos periféricos sanos, las DCs captan y procesan material del propio tejido, incluyendo células apoptóticas, y presentan complejos pMHC propios a los linfocitos T. En ausencia de interacción entre patrones moleculares asociados a patógenos y receptores inmunitarios, se produce una maduración parcial de las DCs. Esto les confiere características tolerogénicas que constituyen un importante mecanismo para evitar la autoinmunidad (Sauter et al. 2000; Mueller 2010). En este contexto, el reconocimiento de lo propio por parte las células T maduras está bajo condiciones inhibitorias, influyendo en el mantenimiento de la tolerancia.

Al contrario, los productos microbianos, los tejidos necróticos y las citocinas proinflamatorias inducen la maduración de las DCs aumentando los niveles de expresión de pMHC y de moléculas coestimuladoras (CD80 y CD86, así como CCR7 y CD40) en superficie y la síntesis de citocinas proinflamatorias para la activación de las células T. Los balances de estas proteínas de membrana, así como las citocinas secretadas determinarán la respuesta frente a un determinado antígeno (Figura 9).

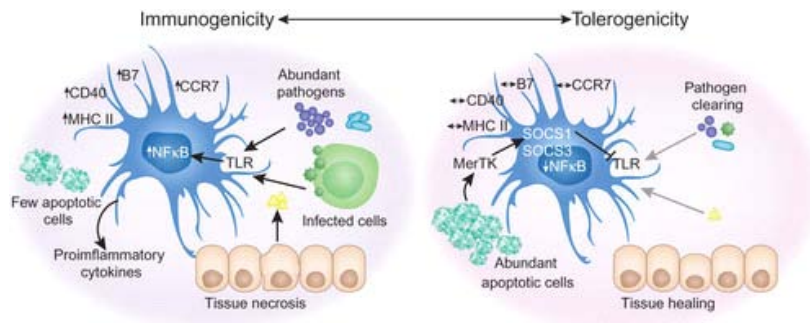


Figura 10. Estados funcionales, inmunogénico o tolerogénico, de las DCs en función del contexto tisular y los componentes moleculares en que se encuentran (Mueller 2010)

Las células T reguladoras también intervienen, modulando el estado madurativo de las DCs. Aunque se desconocen los mecanismos de interacción entre ambos tipos celulares, la Treg son capaces de disminuir la expresión de CD80 y el CD86 en las DCs (Cederbom, Hall, and Ivars 2000). Las Treg también pueden actuar a diferentes niveles para regular la respuesta inmunitaria, mediante secreción de citocinas inhibitorias como la IL-10, IL-35 o TGF β (Asseman et al. 1999; Collison et al. 2007; Nakamura, Kitani, and Strober 2001), supresión de la citólisis (Grossman et al. 2004) o inhibición de la proliferación celular mediante el “consumo” de la IL-2 (Thornton and Shevach 1998).

iii. El bazo como modelo de órgano linfóide secundario.

La probabilidad de interacción entre un TCR y un complejo pMHC-II es extremadamente bajo debido a que la frecuencia de células T *naive* que reconozcan un determinado antígeno es del rango de $1:10^5-10^6$. La acumulación de linfocitos y la concentración de antígeno en los órganos linfoides secundarios (OLS) aumentan considerablemente esta probabilidad, permitiendo el desarrollo de la respuesta adaptativa. Existen dos tipos de órganos linfoides secundarios: los encapsulados (ganglios linfáticos y bazo), asociados a la circulación linfática y sanguínea, y los no encapsulados, asociados a mucosas (MALT *Mucosa Associated Lymphoid Tissues*).

El bazo es el mayor OLS especializado en la respuesta a antígenos presentes en la circulación sanguínea. Está formado, anatómicamente y funcionalmente, por dos compartimentos, la pulpa roja y la pulpa blanca. La pulpa roja contiene eritrocitos dañados o viejos, células estromales, macrófagos, un número variable de células plasmáticas (Manz et al. 2002) y NK (Salazar-Mather, Ishikawa, and Biron 1996). La pulpa blanca es la región linfóide del órgano con distribuciones de zonas ricas en células B y T y regiones adyacentes. Las regiones B se encuentran diseminadas formando folículos compuestos por un complejo entramado de células foliculares dendríticas (FDC), células B del centro germinal, células T CD4⁺ y macrófagos. Las zonas ricas en células T se sitúan rodeando las arteriolas formando el PALS (vainas linfoides periarteriales). El PALS en humanos es discontinuo y está presente a lo largo de las arteriolas de mayor tamaño. Está compuesto por linfocitos T CD4⁺, CD8⁺ y DCs. Una vez que se ramifican las arteriolas en

vasos de menor tamaño, la envoltura de células T desaparece, permitiendo el contacto directo entre vasos sanguíneos y folículo (Steiniger et al. 1997).

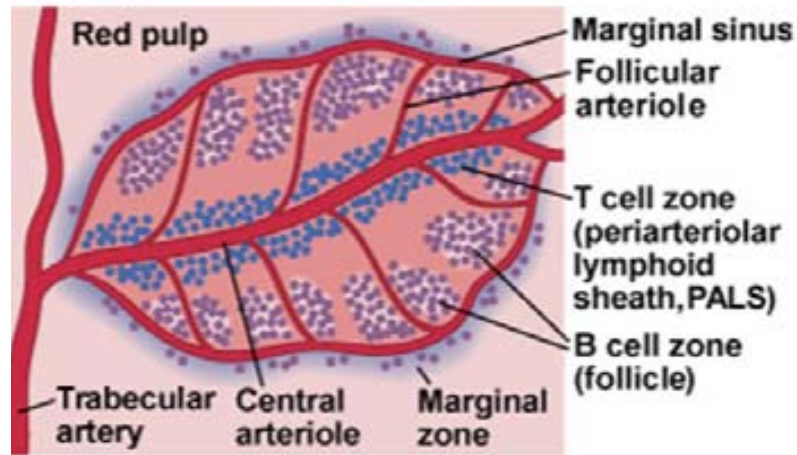


Figura 10. Diagrama de la distribución de las diferentes regiones que componen el bazo.

Los folículos de la pulpa blanca en humanos están localizados en una extensión similar al área de células T, rodeados por la zona marginal. La composición celular de la zona marginal es variada y contiene macrófagos de la zona marginal, macrófagos metalofílicos $CD169^+$, subgrupos de DCs y un denso entramado de células estromales (Mebius and Kraal 2005). Además, encontramos una subpoblación de células B con un fenotipo B característico de la zona marginal (IgM^+IgD^-) capaces de recoger antígenos particulados.

En humanos, las DCs convencionales son más frecuentes que las DCs plasmacitoides. La frecuencia de cDCs y pDCs en bazo es mayor que en sangre: 1% y 0,1%, respectivamente (Velásquez-Lopera, Correa, and García 2008; Lindstedt, Lundberg, and Borrebaeck 2005; Wilson et al. 2003). En la zona subcapsular y en el PALS se encuentran células mieloides $CD11c^+$ (cDCs, monocitos y macrófagos) capaces de penetrar los folículos hasta el interior.

Los antígenos, partículas y patógenos que entran en el bazo procedentes de la sangre son captados principalmente por las células fagocíticas y las células B de la zona marginal las cuales pueden migrar hacia el interior de la pulpa blanca donde suministrarán o presentarán antígeno a las células B y T respectivamente (Mebius and Kraal 2005; Cinamon et al. 2008). La baja frecuencia de marcadores de maduración de las DCs ($CD83$) tanto en el PALS como en la zona subcapsular, sugiere que la presentación antigénica se produce en condiciones que favorecen el mantenimiento de la tolerancia (Velásquez-Lopera, Correa, and García 2008). En ausencia de infección en órganos de donantes, aumenta el número de estas células, lo que sugiere que algunos traumas pueden inducir la maduración y migración de DCs maduras de la sangre hasta el bazo (Rossi and Young 2005).

iv. Ruptura de la tolerancia

El fracaso de la tolerancia inmunológica permite respuestas inmunitarias contra antígenos propios, lo que provoca reacciones de autoinmunidad. Sin embargo, la presencia de células autorreactivas en sangre periférica es fisiológica ya que están controladas por todos los mecanismos de regulación antes mencionados, incluyendo las Tregs. Por lo tanto el timo está involucrado no sólo en la eliminación de células autorreactivas, sino en la generación de células capaces de mantener la tolerancia a nivel periférico.

Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por la presencia en el suero de autoanticuerpos reactivos frente a proteínas autólogas y la presencia de infiltrados linfocitarios crónicos en los tejidos afectados. Estas enfermedades son multifactoriales, con componentes genéticos asociado a la susceptibilidad. Uno de estos factores es el MHC. Existe una asociación muy importante entre la expresión de determinados alelos de HLA y algunas enfermedades (Gebe, Swanson, and Kwok 2002). Otros factores como el sexo, factores hormonales y factores ambientales también influyen en la predisposición a la enfermedad. Ejemplos de estas alteraciones podrían ser una selección anormal del repertorio de linfocitos, una activación policlonal de linfocitos autorreactivos o la estimulación de la respuesta inmune por antígenos extraños que generan reactividad cruzada con anticuerpos. Varios mecanismos tratan de explicar el motivo del escape de células T autorreactivas del timo. Una de ellas es la pérdida de la expresión de antígenos periféricos en el timo (p.e. APECED) o la expresión en timo de variantes de proteínas propias que no contendrían el epítipo relevante en la autoinmunidad (L Klein et al. 2000). Otros mecanismos correlacionan las afinidades del TCR o el complejo pMHC con la tolerancia a un determinado epítipo. Un fallo de la selección negativa podría ser debido a la reducción de afinidad del TCR por ligandos pMHC propios, impidiendo la apoptosis, o a que uniones débiles entre péptidos y MHC podrían desestabilizar la unión del complejo pMHC al TCR (Anderton et al. 2001).

A nivel periférico puede haber diversas formas de ruptura de la tolerancia. La reducción de la funcionalidad o deficiencias en el repertorio de Tregs podría permitir la activación de células T autorreactivas en periferia. Por otra parte, una respuesta inflamatoria en el órgano diana puede permitir el reclutamiento extensivo de células T hacia el tejido. La liberación de citocinas inflamatorias *in situ* induce el aumento de la expresión de HLA de clase I y la expresión ectópica de HLA de clase II en las células del tejido. El papel de estas moléculas en el tejido afectado por autoinmunidad es aún desconocido, pero se cree que podrían conferir capacidad presentadora a las células epiteliales del órgano diana de la respuesta autoinmune. La expresión del HLA-II por parte de estas células puede intervenir como factor inductor o regulador de respuestas autoinmunitarias en el tejido (Hanafusa et al. 1983). Las APCs presentes en los tejido periférico podrían estar generando un repertorio de péptidos diferente al mostrado en el timo durante la tolerancia central por modificaciones del microambiente o variaciones post-traduccionales (Abu-Shakra et al. 2001).

En este trabajo queremos profundizar en el papel de los péptidos presentados por HLA de clase II en la periferia (órganos linfoides) y en el timo, y determinar el grado de semejanza de los repertorios peptídicos presentados en timo y en un OLS. Para ello, hemos utilizado herramientas proteómicas de espectrometría de masas de alta resolución.

III. Espectrometría de masas de péptidos y proteínas

La espectrometría de masas (MS) es una tecnología que permite producir iones en fase gaseosa a partir de moléculas orgánicas o inorgánicas, clasificarlos en función de su relación masa-carga (m/z) y medir su intensidad. Mediante esta técnica puede determinarse el peso molecular y la abundancia de los componentes de una mezcla. Los iones analizados pueden corresponder a moléculas enteras, aductos o fragmentos de moléculas. El análisis de fragmentos iónicos formados a partir de una determinada molécula provee, además, de información sobre la estructura química de ésta. Hoy en día, la MS se ha convertido en una de las herramientas más potentes para la caracterización de péptidos y proteínas implicados en este u otros procesos celulares.

Un espectrómetro de masas está formado por tres partes: la fuente de iones, el analizador y el detector. Las muestras a analizar son introducidas en la fuente de iones donde los componentes de la muestra son convertidos en iones en fase gaseosa. Estos iones son transferidos al analizador donde son acelerados y separados según su relación m/z utilizando diferentes principios físicos según el tipo de analizador.

El espectrómetro de masas de alta resolución utilizado en este trabajo fue un sistema de alta resolución LTQ-Orbitrap. Este sistema combina una fuente de microelectrospray (ESI) junto con un espectrómetro de masas de trampa iónica acoplado a un analizador de masas Orbitrap y es capaz de determinar la masa parental del ión precursor con una alta precisión y resolución, aumentando el rendimiento de secuenciación respecto equipos de espectrometría anteriores.

i. Electro spray

La fuente de ionización ESI (Aleksandrov 1985; Fenn 1989; Whitehouse 1985; Yamashita 1984), desarrollada a finales de los años 80 (Fenn 1989; Karas 1988), permite la nebulización de la muestra a la salida de un tubo capilar por la acción de un fuerte campo eléctrico a presión y temperatura ambiental, el cual es capaz de generar iones a partir de analitos no volátiles y de elevado peso molecular, como son los péptidos y proteínas (Figura 10). Este tipo de ionización es extremadamente suave, lo que produce no solo iones de la molécula intacta (sin una fragmentación significativa incluso cuando ésta contiene enlaces lábiles) sino también de complejos formados a través de interacciones no covalentes (Farmer 1998). Además, la formación de iones múltiplemente cargados de los péptidos en la ionización por ESI permite su detección y fragmentación en aparatos convencionales (analizadores de baja energía y con rangos de masa limitados) y da lugar a patrones de fragmentación fácilmente interpretables.

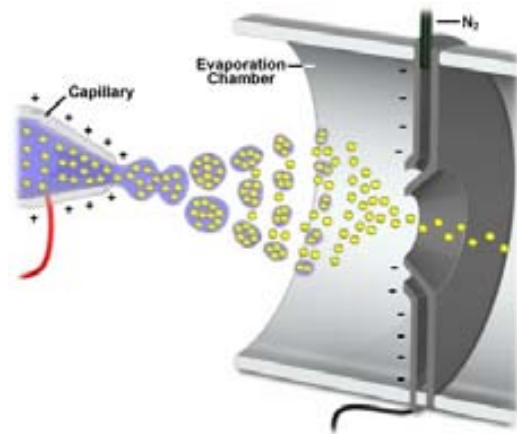


Figura 10. Ionización por electrospray. http://www.magnet.fsu.edu/education/tutorials/tools/ionization_esi.html.

La ionización por ESI produce frecuentemente iones multicargados. El grado de carga de un determinado ión depende de su estructura (presencia de grupos básicos o ácidos) y del disolvente utilizado. En el caso de un péptido o proteína el número de cargas de cada ión está directamente relacionado con el número de residuos básicos de la molécula (Arg, Lis, His, Pro y el amino terminal). Dado que al aumentar el tamaño de un péptido aumentan también el número de residuos capaces de adquirir carga, la relación masa-carga de los iones producidos a partir de péptidos y proteínas con importantes diferencias de tamaño suelen encontrarse siempre en el rango de 700 a 2000 de forma prácticamente independiente de la masa.

ii. Trampa iónica

A la salida de la fuente de iones, se tiene una mezcla de diversos iones que deben ser separados para detectarlos de forma individual mediante un analizador. Las fuentes de electrospray se pueden combinar con diferentes analizadores de masa.

Los analizadores de trampa iónica están basados en la utilización de una zona de confinamiento electromagnética generada por medio de dos señales de radiofrecuencia. El analizador de trampa de iones (Figura 11) está formado por tres electrodos de superficie hiperbólica; de ellos, el electrodo central es anular, mientras que los electrodos superior e inferior forman el cierre de los extremos del anillo. Los tres electrodos forman una cavidad en la que se producen la ionización, la fragmentación y el análisis de masas.

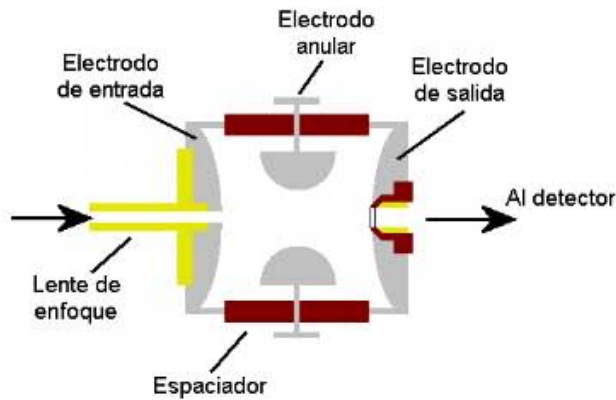


Figura 11. Esquema de un analizador de trampa de iones.

El análisis por MS mediante las técnicas descritas anteriormente, provee de información molecular muy precisa sobre los péptidos o proteínas analizadas, si bien la información sobre su secuencia es muy limitada o nula. Para obtener este tipo de información debe recurrirse a la espectrometría de masas en tándem o MS/MS. Mediante esta técnica un ión generado en la fuente de ionización es aislado (ión precursor) y sometido a procesos que producen su fragmentación.

Las trampas iónicas producen la fragmentación mediante colisiones de baja energía que sólo son capaces de romper los enlaces más débiles de la cadena lineal del péptido.

iii. Fragmentación peptídica MS/MS

Los péptidos pueden fragmentarse por cualquiera de los enlaces de la cadena lineal generando fragmentos de diferentes tipos. Pueden formarse asimismo fragmentos iónicos derivados de la rotura de dos enlaces denominados fragmentos internos. Los más frecuentes son los iones imonio, que contienen un solo aminoácido. Estos iones se indican con la letra que identifica al aminoácido correspondiente.

□

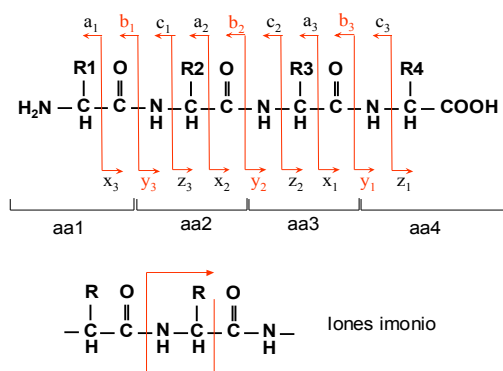


Figura 12: Esquema de fragmentación de péptidos mediante MS/MS con colisiones de baja energía (cedida por la Dr. Carrascal).

Los fragmentos que contienen dos o más aminoácidos internos son menos abundantes y se indican con la serie de caracteres que identifican la secuencia aminoacídica. Las series de fragmentos de tipo a, b y c

contienen el extremo amino terminal mientras que las de tipo x, y, y z contienen el carboxilo terminal (Roepstorff 1984) (Figura 12).

Las mejoras del equipo permiten realizar estudios de mezclas altamente heterogéneas aumentando la capacidad de detección y secuenciación de componentes presentes de forma minoritaria en la muestra. Además, el aumento en la sensibilidad de detección de la masa parental así como de la masa de los iones derivados de la fragmentación por MS/MS, agiliza y mejora los procesos de identificación de los espectros. Aun así, las mejoras en la capacidad de detección de componentes minoritarios implica también el incremento de la posibilidad de secuenciar componentes contaminantes que existan dentro de la muestra. Por ello, y con la intención de reducir al máximo la presencia de estos contaminantes se realizaron varios puntos de análisis y control durante todo el proceso.

iv. Orbitrap

La tecnología Orbitrap, ideada por el Dr. Makarov (Hu et al. 2005), se basa en la utilización de un electrodo exterior con forma de barril y un electrodo interior coaxial que forman un campo electrostático. Los iones, procedentes de la trampa iónica en el caso de sistemas como el LTQ-Orbitrap, son capturados mediante atracciones electrostáticas generando un vuelo sinoidal alrededor del eje central. Su frecuencia es calculada a partir de la transformada de Fourier y posteriormente se calcula su masa con una alta precisión.

El LTQ-Orbitrap nos ha permitido una mayor monitorización del proceso de selección y fragmentación de los componentes existentes en la muestra. Conociendo ciertas características de los contaminantes mayoritarios (p.e. masa del ion parental) hemos introducido criterios de exclusión en el modo de barrido del Orbitrap. Aun a riesgo de perder información de algunas secuencias peptídicas procedentes de ligandos de clase II, la exclusión de la fragmentación de contaminantes aumenta el rendimiento de secuenciación del pool peptídico.

Los criterios de exclusión utilizados en los modos de barrido del Orbitrap fueron:

- 1) Secuenciar únicamente iones que presentaran carga superior o igual +2. En ligandos largos de clase II es infrecuente encontrar péptidos monocargados debido a la alta probabilidad de tener un residuo básico en su secuencia. Las moléculas cargadas +1 suelen ser polímeros derivados de los plásticos presentes en los recipientes utilizados para el previo procesamiento de la muestra o el propio detergente utilizado para la solubilización de los complejos pMHC.
- 2) El sistema informático permite generar ventanas de exclusión dinámica. Estas ventanas consisten en poner limitaciones de fragmentación de una masa durante un periodo de tiempo determinado; una masa parental aparece intensamente en uno de los espectros de barrido completo se fragmentará para determinar su secuencia aminoacídica, pero si vuelve a aparecer

la misma masa en los siguientes full MS, se descarta fragmentación. Las ventanas de tiempo utilizadas fueron de 45 seg.

- 3) Generar un listado de exclusión de masas. Dentro de software de utilización del sistema LTQ-Orbitrap se pueden asignar una colección de masas para evitar su fragmentación. Esto es útil en caso de contaminantes conocidos, p.e. péptidos procedentes de las mezclas peptídicas utilizadas para calibrar las columnas cromatográficas del HPLC.

IV. Antecedentes

A finales de los 80, diferentes estudios sugerían la generación de un repertorio peptídico, presentado por las moléculas de MHC durante la selección positiva, distinto al repertorio en periferia (Marrack et al. 1993; Kourilsky and Claverie 1989). El estudio de las proteasas involucradas en la degradación proteica ha revelado diferencias en catepsinas y serin-proteasas en las cTECs respecto a otras APCs hematopoiéticas o a las mTECs. Las cTECs expresan preferentemente la catepsina L (codificada por Ctsl) (catepsina V o L2 en humanos). La inactivación de este gen da como resultado una reducción del 60-80% de las células CD4⁺ SP en el timo y una modificación del repertorio de ligandos asociados el MHC (Honey et al. 2002). Además, estudios génicos revelan la expresión de una serin-proteasa específica de timo (TSSP; codificada por Prss16) en las cTECs (Carrier et al. 1999; Bowlus et al. 1999). Los altos niveles de macroautofagia en las TECs (Münz 2009; Mizushima et al. 2004) y la presencia específica del timoproteasoma en las cTECs (Murata et al. 2007) corroboran la hipótesis de la generación de ligandos MHC diferentes a los que puedan presentarse a nivel periférico.

En periferia, la presentación antigénica MHC-II se centra en los órganos linfoides secundarios. Aun así, durante la década de los 80 se publicaron diversos trabajos donde se demostraba una expresión ectópica de las moléculas de clase II en condiciones inflamatorias (Hanafusa et al. 1983), (Lucas-Martin et al. 1988) en células epiteliales endocrinas. Trabajos previos de nuestro grupo demostraron la presencia estable de moléculas de MHC-II en la superficie de células tiroideas, lo que daría lugar a la presentación de péptidos autólogos para su reconocimiento por linfocitos T CD4⁺ infiltrantes (Catálfamo et al. 1999). Estas células especializadas en la secreción hormonal, con expresión diferencial de proteasas, podrían presentar diferencias en la generación de péptidos para su presentación vía clase II respecto líneas linfoblastoides con idéntico tipaje para HLA-DR (Muntasell et al. 2002). La mayor o menor expresión de las principales chaperonas de la vía de clase II, HLA-DM y la cadena invariante (Ii) también afectan al repertorio (Muntasell et al. 2004).

Estas evidencias sugieren la existencia de diferencias entre el repertorio peptídico presentado en el timo respecto al que podemos encontrar en periferia, pero sólo se podrá comprobar mediante la secuenciación de los ligandos de MHC en los órganos linfoides primarios y secundarios.

En 1993, Marrack et al. publicaron un estudio comparativo del repertorio peptídico asociado a clase II entre timos y bazos de ratón. Debido a las limitaciones de las técnicas de secuenciación peptídica de la época, únicamente secuenciaron 16 ligandos para I-A^k e I-E^k, la mayoría de los cuales se encontraban tanto en las APCs tímicas como en las esplénicas (Marrack et al. 1993).

La aparición de nuevas tecnologías de espectrometría de masas, avances en el procesamiento de la muestra, herramientas computacionales predictivas y la generación de bases de datos proteicas para el análisis de los espectros resultantes de la secuenciación han permitido estudios de secuenciación masiva de ligandos naturales de MHC. Los trabajos más recientes sobre tejido humano, centrados principalmente en autoinmunidad (Oshitani et al. 2003; Dengjel et al. 2006; Fissolo et al. 2009; Muixí et al. 2008), han generado una cantidad creciente de información.

Con las tecnologías actuales, nuestro propósito fue abordar de nuevo el estudio del repertorio peptídico asociado a MHC-II (HLA-DR), en tejido linfóide primario y secundario de origen humano y no afectado por autoinmunidad con objeto de identificar diferencias entre los repertorios de péptidos generadores de tolerancia y aquellos que la mantienen.

Hipótesis: para la generación eficiente de tolerancia central, los repertorios de péptidos presentados por MHC en el timo debería reflejar el total del proteoma del organismo. Por lo tanto, la transcripción de antígenos periféricos en timo debería corresponder con la presentación de péptidos de estos antígenos. Diferencias cuantitativas o cualitativas entre los péptidos presentados en el timo y en la periferia pueden constituir un factor desencadenante de autoinmunidad. Por tanto, para mantener la tolerancia, los péptidos más abundantes a nivel periférico deberían encontrarse también en el timo.

Objetivo General: estudio de los repertorios de péptidos que se asocian a HLA-DR en tejido humano y su relación con la tolerancia inmunológica y su mantenimiento

Objetivos específicos:

1. Desarrollo de un método de asignación de péptidos a alelos de HLA-DR basado en herramientas bioinformáticas
2. Análisis de los ligandos de HLA-DR en tejido linfoide secundario humano
3. Análisis de los ligandos de HLA-DR en timo humano
4. Estudio comparativo entre los repertorios peptídicos de timo y bazo en condiciones homeostáticas
5. Análisis de los péptidos involucrados en la inducción de tolerancia: estudio de péptidos procedentes de proteínas específicas de tejido periférico en muestras de timo humano

Materiales y métodos

M.1. Muestras de tejido y células

Las muestras de timo fueron obtenidas por el personal médico del Hospital de la Vall d'Hebron de pacientes pediátricos con patologías cardíacas. Las muestras fueron cedidas, con consentimiento explícito por parte de los padres, al Laboratori d'Immunobiologia per a la Recerca i les Aplicacions Diagnòstiques (LIRAD). Las muestras de bazo se obtuvieron de cadáveres de donantes y se extrajeron utilizando los protocolos aprobados por el comité ético del servicio de trasplantes de la Corporació Sanitària Clínic.). Las muestras se depositaron en frasco estéril con medio RPMI (*Sigma-Aldrich*) y se conservaron en hielo hasta su procesamiento. El tejido se cortó con bisturí en bloques de aproximadamente 0,5-1 cm³ y éstos se sumergieron directamente en nitrógeno líquido durante 5 min y se almacenaron a -80°C.

La línea linfoblastoide BM21, homocigota para HLA-DR11 (DRA*01:01, DRB1*11:01), procede del banco de células IHW (<http://www.ihwg.org/>, #9043). Las células se crecieron en botellas de cultivo en medio RPMI (*Sigma-Aldrich*, St. Louis, MO) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (*Invitrogen*, Carlsbad, CA). Las células se centrifugaron a 500x g durante 5 min. El *pellet* se resuspendió y se realizaron dos lavados con PBS frío. Las células se almacenaron a -80°C.

Las mTECs se purificaron en el laboratorio del Dr. Kyewski según el protocolo descrito previamente (Klein et al. en 2000).

M.2. Extracción de DNA genómico (DNAg)

Se partió de las células restantes del procesamiento de los tejidos (ver apartado M.1.1). Se centrifugó 10 min a 380x g. El precipitado celular se resuspendió en 2 ml de solución de lisis (NaCl 100mM, Tris Cl 100mM pH8, EDTA 25mM pH8, SDS 0,5%, proteinasa K 0,1mg/ml) y se incubó a 37°C O/N o bien 3 horas a 50°C. Se dejó atemperar a 22 °C, se añadió un volumen de fenol equilibrado pH 8 (*USB Corporation*) con 0,1 % de 8-Hidroxiquinolina y se agitó suavemente por inversión durante 5 min hasta la formación de una emulsión. Tras centrifugar a 490x g durante 10 min a temperatura ambiente, se recogió la fase acuosa y se hizo un lavado del gDNA añadiendo un volumen de fenol:cloroformo:isoamilalcohol (25:24:1). Se agitó el tubo por inversión durante 5 min y se centrifugó durante 10 min a 490 x g a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante. Los restos de se eliminaron añadiendo un volumen de cloroformo:isoamilalcohol (24:1). Se mezcló y centrifugó en las mismas condiciones anteriores. El sobrenadante se recogió y se precipitó el DNA genómico añadiendo acetato sódico 3M (10% del volumen de la fase acuosa) y un volumen de isopropanol. Se mezcló suavemente hasta la aparición de una red blanca de DNA que se transfirió a un tubo nuevo, se centrifugó a 16000 x g a 4°C y el precipitado se lavó dos veces con 70% etanol a -20°C, dejándose secar

a temperatura ambiente. Al final, la muestra fue resuspendida en agua milliQ y se determinó su concentración y pureza mediante la lectura de la absorbancia a 260 nm y 280 nm.

El tipaje de HLA de alta resolución se realizó en el Hospital Germans Trias i Pujol mediante la secuenciación del exón 2 (Kotsch, Wehling, and Blasczyk 1999).

M.3. Inmunofluorescencia

M.3.1. timo

Las muestras de timo se ultracongelaron, se recubrieron con OCT (*optimal-cutting-temperature*) y se realizaron secciones de 5 μ m de grosor en el criostato. Para la tinción de las secciones, se descongelaron durante 30 min a temperatura ambiente y se fijaron con FACS-lysing solution 1:10 (BD, San Jose, CA) durante 30 min. Seguidamente, se lavaron con tampón fosfato salino (PBS) y se bloquearon con 2% de suero humano en PBS durante 15 min. Se volvieron a lavar y se incubaron durante 1 hora con Alexa Fluor® 488-anti-Citoqueratina (clon C-11, dilución 1/40, Pan-reactive, Exbio, Praga, Republica Checa), Alexa Fluor® 488-anti-CD19 (clon 6D5, sin diluir, BioLegend, San Diego, CA) o FITC-anti-CD209 (clon 9E9A8, dilución 1/4, BioLegend, San Diego, CA). Las secciones se lavaron e incubaron con Alexa Fluor® 647-anti-HLA-DR (clon L243, dilución 1/16, BioLegend, San Diego, CA) durante 45 min. Se lavó de nuevo y se tiñeron los núcleos celulares incubando con 4',6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) (dilución 1/1000, Thermo scientific, Rockford, IL, USA) durante 20 min. Después de lavar las muestras, se montaron las secciones con medio de montaje estándar de glicerol (Fluoprep; Biomérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Los anticuerpos para el marcaje y el DAPI se diluyeron en PBS. Las secciones se colocaron en una cámara húmeda y se mantuvieron en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente para llevar a cabo la tinción. Las tinciones se visualizaron utilizando el microscopio confocal Leica TCS SP2 AOBS usando láseres de 405nm, 488nm y 635nm para la excitación de los fluorocromos correspondientes (Guix *et al.* 2010). Para los controles negativos, se reemplazó cada uno de los anticuerpos específicos con anticuerpos del mismo isotipo marcados con el mismo fluorocromo. La captación de las imágenes se realizó con un microscopio confocal Zeiss LSM 700 (Carl Zeiss; Oberkochen, Germany) con cuatro líneas de láser (405 nm, 488 nm, 555 nm, 639 nm).

Para el análisis de intensidad de HLA-DR en las tinciones de timo, se analizaron un total de 80 áreas (40 áreas de córtex y 40 de médula) procedentes de 8 secciones de un mismo timo. Para cada sección se analizaron 5 áreas de córtex y 5 de médula manteniendo constante el tamaño del área. La intensidad media de fluorescencia del Alexa Fluor® 647-anti-HLA-DR se calculó usando el MetaMorph software package (Universal Imaging Corporation, Downingtown, PA).

M.3.2. *bazo*

Se siguió el mismo procedimiento que para el timo, con algunas variaciones. El bloqueo y la dilución de anticuerpos se realizó con 2% de albúmina sérica bovina en PBS. A continuación se indican los anticuerpos primarios usados: Alexa Fluor® 647-anti-HLA-DR (clon L243, dilución 1/6, BioLegend, San Diego, CA), Alexa Fluor® 488-anti-CD19 (clon HIB19, dilución 1/6, BD Pharmingen, CA), FITC-anti-CD209 (clon 9E9A8, dilución ¼, BioLegend, San Diego, CA), Alexa Fluor® 488-anti-CD3 (clon UCHT1, dilución 1/6, BD Pharmingen, CA).

M.4. Crecimiento de hibridomas y purificación de anticuerpos

Para la obtención de anticuerpo anti-HLA-DR se utilizó el hibridoma B8.11.2 cedido por Dr. F. Koning (Leiden University, Holanda) (Serradell et al. 1999). El hibridoma B8.11.2 produce un anticuerpo monoclonal que reconoce un epítipo monomórfico específico de HLA-DR, común para todos los alelos de HLA-DR pero que no reconoce otros isotipos de HLA de clase II. El cultivo se realizó en *roller flasks*, utilizando medio RPMI suplementado con L-glutamina y FBS al 10%, a 37°C, 5% CO₂, 3 rpm.

Se centrifugaron las células a 1500x g, a 4°C durante 10 min y se recogió el sobrenadante, que se filtró con el sistema Sterifil aseptic system (Millipore) usando filtros de 0,45 µm de diámetro de poro. Las inmunoglobulinas contenidas en el sobrenadante filtrado, se purificaron por cromatografía de afinidad, en columna de sefarosa acoplada a proteína A tal como indica el fabricante (GE, Healthcare, Suecia). El anticuerpo fue eluido de la columna con ácido cítrico 0,1M a pH 2,7, obteniéndose fracciones de 1 ml aproximadamente. El pH se neutralizó con Tris 1M a pH 8.

Se determinó la presencia de proteínas mediante la técnica de Bradford (ver sección M.5). Todas las fracciones que contenían proteínas se juntaron en una única muestra. La muestra se dializó en una membrana de diálisis (Medicell Internacional) frente a tampón de diálisis (bicarbonato sódico 0,1M, NaCl 0,5M). Se realizaron cuatro cambios de 500 ml de tampón cada cuatro horas. El material obtenido se congeló a -20°C hasta su uso.

M.5. Citometría de flujo. Marcaje superficial de HLA-DR

Células linfoblastoides en suspensión se lavaron en 10 ml de DMEM con 10% de FBS y se centrifugaron a 480x g durante 5 min a 4°C. Se repartieron entre 300.000 y 500.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos y se lavaron dos veces con PBS frío. Las células se incubaron con 50 µl de sobrenadante del anticuerpo B8.11.2 anti-DR como control positivo, 50 µl de PBS como control negativo y diluciones seriadas del anticuerpo purificado en PBS para su titulación. Se incubó 30 min a 4°C y se realizaron dos lavados con PBS frío. Se resuspendieron los precipitados celulares con el anticuerpo secundario (FITC goat anti-mouse Ig (H+L), Invitrogen) y se incubaron a 4°C durante 20 min en

oscuridad. Después de dos lavados con PBS, se analizaron por citometría de flujo en un citómetro FACSCalibur (Becton Dickinson) en el servicio de citometría del IBB.

M.6. Determinación de la concentración de anticuerpo

La concentración del anticuerpo se determinó mediante la técnica de Bradford. Para ello se usó el reactivo Bio-Rad protein assay (Bio-rad) y se siguieron las instrucciones del proveedor. La absorbancia se midió a 620 nm. Para determinar la concentración, las lecturas obtenidas se extrapolaron frente a una recta patrón de concentraciones conocidas de albúmina sérica bovina (BSA).

M.7. Gel de SDS-PAGE

Se realizaron geles de SDS-PAGE, según el método de Laemmli (Laemmli 1970), para determinar tanto la pureza del anticuerpo purificado como para la identificación de las cadenas α y β del MHC (Figura M.1).

Para ello, se mezclaron 5-10 μ l de muestra con el mismo volumen de tampón de carga 2X (Tris 0,125 M, glicerol 10%, SDS 4%, β -mercaptoetanol 10%, azul de bromofenol 0,002%) y la mezcla se hirvió durante 5 min. Las proteínas se separaron en un gel de poliacrilamida al 12%, a un voltaje constante de 200V. El gel se tiñó con la solución colorante (metanol 20%, 10% ácido acético, 0,1% Azul Coomassie) durante 30 min - 1h. Se lavó el gel con agua milliQ dos veces y se destiñó usando una solución decolorante (20% Metanol, 10% ácido acético) hasta la correcta visualización de las bandas.

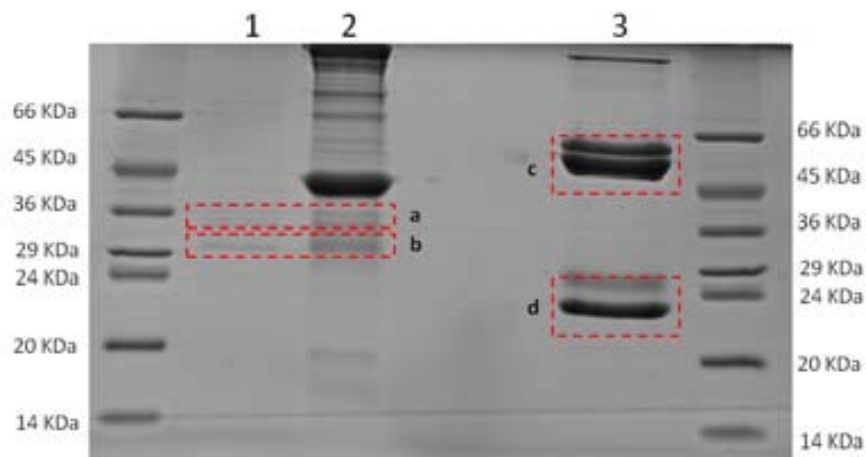


Figura M.1. Gel de SDS al 12% de acrilamida. Muestras: Carril 1. Retenido BM21. Carril 2. Retenido Bazo 4. Carril 3. Purificación B.8.11.2. a) Cadena α 35KDa de HLA-DR; b) Cadena β 33KDa de HLA-DR. c) Cadena H 50KDa del anticuerpo B.8.11.2; d) Cadena L 25KDa del anticuerpo B8.11.2.

M.8. Preparación de las precolumnas y columnas de afinidad

Para purificar las moléculas de clase II de timo y bazo se utilizaron columnas de sefarosa acopladas al anticuerpo B.8.11.2. Las columnas de afinidad se generaron mezclando de 1 a 1,5ml de sefarosa CL-4B activada (CNBr-activated sepharose TM 4B, GE) con 5mg de anticuerpo

Para activar la sefarosa y generar los ésteres de cianógeno reactivos, se resuspendió en 50ml de HCl 1mM agitando mediante vórtex para eliminar los agregados de sefarosa que se pudieran formar (*Affinity Chromatography: Principles and Applications* 2013). Se dejó en rotación durante 20 min. El volumen de bolas de sefarosas hidratadas se lavó usando filtro de vidrio (Glassfilter 3, Duran R Schott, Mainz. Alemania) con 200 ml de HCl 1mM. Evitando la desecación de la sefarosa, esta se recogió con una espátula y se resuspendió en tampón de acoplamiento (NaHCO₃ 0,1M, NaCl 0,5M, pH 8.3). A continuación se centrifugó durante 2 min a 500x g y se eliminó el sobrenadante. Se enrasó a 20 ml de tampón de acoplamiento y se dividió el volumen en dos tubos. Se centrifugó durante 2 min a 500x g y se eliminó el sobrenadante. Uno de los tubos con sefarosa se resuspendió con la solución de anticuerpo monoclonal B.8.11.2 para el acoplamiento, el resto de la sefarosa se resuspendió con igual volumen de solución tampón para generar la precolumna. Las mezclas se incubaron durante 4 horas a temperatura ambiente en rotación. Seguidamente se centrifugaron las bolas y se recogió ambos sobrenadantes para determinar su concentración proteica mediante la lectura de la absorbancia a 280nm como medida de comprobación de la unión del anticuerpo a las bolas de sefarosa.

Ambas sefarosas se resuspendieron en Tris-HCl 0,1M pH 8 y se centrifugaron 2 min a 500x g. Para bloquear los radicales activos de la sefarosa con capacidad de unión a proteína, se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente y en rotación con el tampón de bloqueo ambos tubos. Se lavaron las sefarosas en el filtro de vidrio alternando 30 ml de lavado pH4 (NaAc 0,1M, NaCl 0,5M, pH 4) y seguidamente, sin dejar secar la sefarosa, con el tampón de lavado pH8 (Tris-HCl 0,1M, NaCl 0,5M). Este proceso de lavado se repitió tres veces. Tanto las sefarosa acoplada al anticuerpo para la inmunopurificación como la sefarosa de precolumna se resuspendió en tampón de lavado pH8 con 0,02% de azida sódica y se guardaron a 4°C para su posterior uso.

M.9. Purificación de los complejos péptido-HLA-DR

El proceso de purificación de los péptidos asociados a HLA-DR utilizado en este trabajo se basa en metodologías ya descritas (Muixi et al. 2011; Muixí et al. 2008; Alvarez et al. 2008). Consta de un primer paso de disgregación y solubilización de los complejos pMHC, seguido de la inmunopurificación de las moléculas de HLA-DR. Los complejos se eluyen en medio ácido, lo que separa las cadenas de HLA-DR y los péptidos unidos. La purificación de los péptidos se por ultrafiltración permite obtener una mezcla peptídica compleja que, tras concentrarse en un SpeedVac, y se desala por fase reversa en columnas C18 previo al fraccionamiento de la muestra por HPLC con columnas de intercambio iónico.

La figura M.2 muestra el esquema del protocolo utilizado para la purificación y aislamiento de los péptidos.

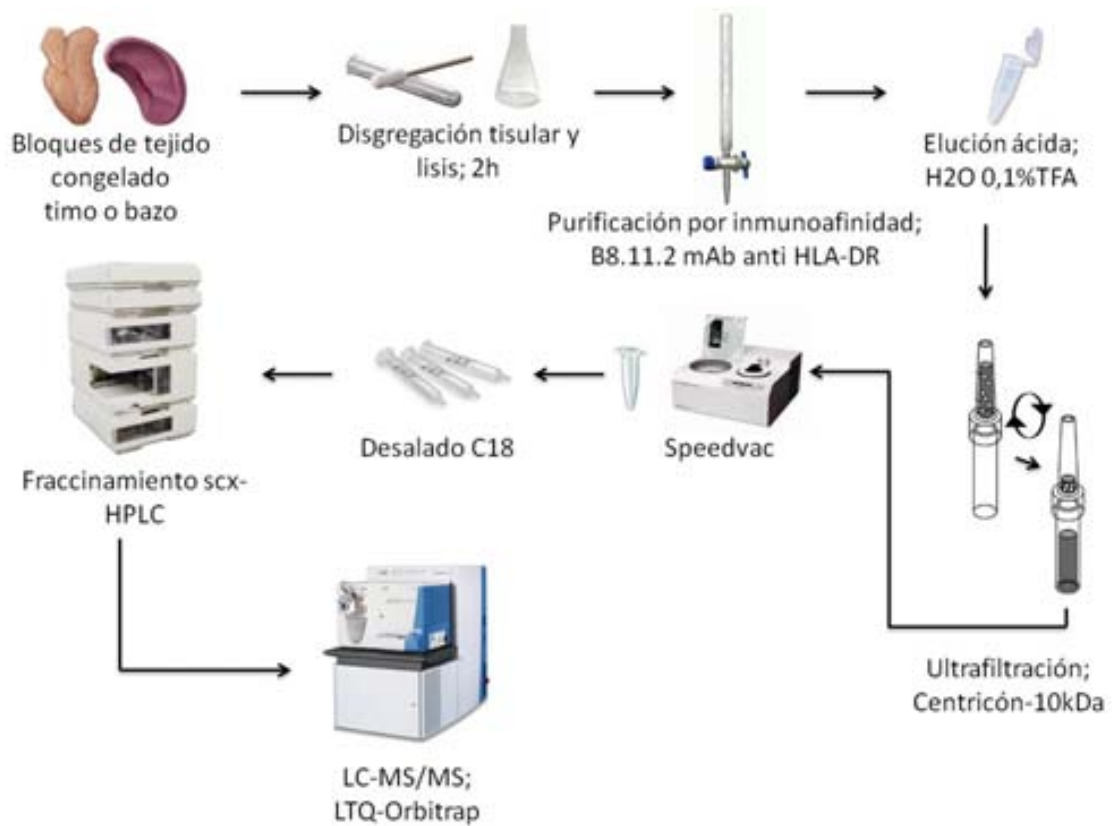


Figura M.2. Esquema del procesamiento de la purificación y análisis de los péptidos asociados a HLA-DR.

M.9.1. Disrupción tisular y lisis celular

Se partió de cantidades superiores a 5 gr de tejido congelado (ver sección M.1.1). Se homogeneizó en 2 ml de tampón por gramo de tejido en un homogeneizador mecánico. El tampón de homogeneización utilizado fue 50 mM Tris-HCl pH 7.6, 150 mM NaCl suplementado con inhibidores de proteasas (Complete Protease Inhibitor Cocktail, Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Las células se lisaron al añadir al tampón de homogeneización 0,5% Nonidet P40 (Surfact-Amps NP40). Las muestras se mantuvieron a 4 °C durante 1 hora en agitación. El lisado se centrifugó durante 15 min a 1,500x g a 4°C. El sobrenadante se ultracentrifugó durante 1 hora a 100,000x g. La muestra se mantuvo a 4°C durante todo el proceso.

M.9.2. Precolumna

La muestra se pasó a través de una precolumna de CNBr-sefarosa (ver M.8). La precolumna se equilibró realizando 3 centrifugaciones (500x g, 2 min 4°C) con 20 ml de 50mM Tris-HCl pH 7.6, 150mM NaCl, 0,5% Nonidet P40 (Surfact-Amps NP40) antes de pasar la muestra. La muestra se incubó con la precolumna durante 3h en agitación a 4°C con una relación de 1ml de matriz/5ml de lisado aproximadamente. Se centrifugó la precolumna (500x g, 2 min, 4°C) y se recogió el sobrenadante evitando llevarse bolas de sefarosa de la precolumna.

M.9.3. Inmunopurificación

Los complejos péptido-HLA-DR se purificaron mediante cromatografía de afinidad con columnas de sefarosa acopladas al anticuerpo monoclonal B.8.11.2. La muestra, una vez pasada por la precolumna, se incubó en agitación con las bolas de sefarosa a 4°C O/N. La suspensión se introdujo en una columna de polipropileno y el líquido se recuperó por gravedad. El eluido se pasó una vez más por la columna. La columna se lavó varias veces. Para el primer lavado se usaron 50 ml de tampón de lisis sin inhibidores de proteasas. El siguiente lavado se realizó con 200 ml de tampón de homogeneización, sin inhibidores ni detergente. Por último, se redujo la concentración de sales pasando 200 ml de 5 mM Tris-HCl pH 7.6 por la columna.

Los complejos MHC-péptido se eluyeron con 8 ml de 0,1% ácido trifluoroacético (TFA) y se recogieron fracciones de 1ml en tubos Eppendorf (Protein LoBind Tube 1,5 ml, Eppendorf). Se midió el pH de las fracciones obtenidas, seleccionándose para el aislamiento de los péptidos unidos a MHCII todas las fracciones ácidas y dos con carácter más básico: la última antes de detectar el cambio de pH debido a la llegada del TFA y la primera del tampón de regeneración de la columna.

M.9.4. Separación de los péptidos de las cadenas α y β del HLA-DR por ultrafiltración

Las fracciones se ultrafiltraron utilizando filtros de tamaño de poro de 10 KDa (Centricon 10,000 MWCO; Millipore Laboratories, Bedford, MA, USA) centrifugando a 5000x g a 4°C el tiempo necesario para pasar todo el volumen eluido. La eficiencia de la inmunoprecipitación y elución de la muestra se verificó mediante la visualización en un gel de SDS-PAGE al 12% de las cadenas α y β del MHC retenidas durante la ultrafiltración.

El filtrado se concentró mediante SpeedVac (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). El volumen final de muestra quedó concentrado hasta aproximadamente 200 μ l.

M.9.5. Desalado

Las muestras concentradas se redisolviéron en 1,3 ml de 1,5% TFA. Para el desalado se usaron cartuchos de extracción en fase sólida C18 (3 ml, 15 mg soporte, Varian, Lake Forest, USA). Todo el proceso de desalado se realizó sobre un sistema de vacío diseñado para ello.

Se equilibró la columna con 9 ml de H₂O/Acetonitrilo 1:1 y 3 ml de 0.1% TFA. Se cargó la muestra en la columna y se realizaron 2 pases. Los lavados se realizaron con 2 ml de 0,1% TFA y 9 ml de agua MilliQ. La elución se realizó en dos pasos, añadiendo cada vez 500 μ l de 0.25%TFA en ACN/H₂O milliQ 1:1 y los eluidos se recogieron en el mismo tubo. El paso de los tampones de equilibrado, la muestra y el eluido por la columna se realizó a una baja velocidad para facilitar la interacción del péptido con la matriz de C18 con tal de reducir la pérdida de ligandos durante el proceso. Las muestras desaladas se concentraron en SpeedVac hasta un volumen aproximado de 50 μ l.

M.9.6. Fraccionamiento de las muestras

Todas las secuencias presentadas en esta tesis se fraccionaron usando cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico (scx-HPLC) a excepción de los timos 3, 4, 5 y 6, procesados por el Dr. Iñaki Álvarez. El timo 3 se fraccionó por HPLC de fase reversa (RP-HPLC), el timo 4 se fraccionó mediante cromatografía 2-D de intercambio catiónico-fase reversa acoplada a al espectrómetro de masas y la muestra de timo 5 y 6 no se fraccionaron.

M.9.7. Fraccionamiento de las mezclas peptídicas

Las mezclas peptídicas se fraccionaron por scx-HPLC. Las muestras se redisolviéron en 500 μ l de Solvente A (0.1% ácido fórmico, 30% acetonitrilo). La columna utilizada para el fraccionamiento fue 100x2.1-mm Polysulfoethyl (PolyLC inc, Columbia, USA). Se utilizó un sistema de HPLC Agilent 1100 equipado con un detector de UV con celda micro y un inyector manual con un *loop* de inyección de 500 μ l. Se trabajó a 200 μ l/min y se aplicó el gradiente indicado en la tabla M.1. (Solvente A: 0.1% ácido fórmico, 30% acetonitrilo; Solvente B: 0.1% ácido fórmico, 30% acetonitrilo y 500 nM NH₄Cl). El análisis fue monitorizado a 220-nm UV de longitud de onda. Se recogieron fracciones cada 2 min, desde el minuto 10 hasta el 80.

| Tiempo (min) | %B | Flujo |
|--------------|-----|-----------|
| 0 | 0 | 0,2ml/min |
| 10 | 0 | 0,2ml/min |
| 60 | 100 | 0,2ml/min |
| 80 | 100 | 0,2ml/min |
| 82 | 0 | 0,2ml/min |

Tabla M.1. Tabla del gradiente aplicado en el fraccionamiento de las muestras por scx-HPLC.

M.10. Identificación de los repertorios peptídicos asociados a HLA-DR mediante espectrometría de masas (MS)

La secuenciación peptídica se realizó por MS, utilizando trampas iónicas acopladas *on-line* a sistemas de HPLC. Los sistemas utilizados fueron dos: para las muestras de timo 1 y 2, los bazo y línea celular BM21 se usó el sistema LC- μ ESI-LTQ-Orbitrap del laboratorio del CSIC/UAB, IIBB-CSIC en la Facultad de Medicina de la UAB (Muixí et al. 2012). Para las muestras de timo 3, 4, 5 y 6 se usó un Esquire HCT *ion trap mass spectrometer* (Bruker, Billerica, MA, USA) acoplado a un sistema nano-HPLC (UltiMate; LC Packings, Amsterdam, The Netherlands) perteneciente al laboratorio de proteómica del Hospital Clínico de la Vall d'Hebrón (Alvarez et al. 2007). Estas últimas muestras de timo fueron procesadas por el Dr. Iñaki Álvarez.

Las fracciones procedentes de scx-HPLC se concentraron hasta 5 μ l, se diluyeron en 40 μ l con 1% ácido fórmico y se analizaron por cromatografía líquida acoplada en tándem a un espectrómetro de masas con fuente de electrospray (LC- μ ESI-ITMS/MS). Solo se inyectaron las fracciones comprendidas en los min 12-54 de la scx-HPLC. El resto se descartó por la baja cantidad de muestra y la elevada concentración de sales o NP-40.

El espectrómetro de masas de alta resolución utilizado fue el LTQ-Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) equipado con una interfase de microelectrospray de Protana (Protana A/S, Denmark). El sistema de HPLC utilizado fue un Agilent 1200 nano que incluía una bomba nano, una bomba binaria para la preconcentración, un microinyector termostatzado y una microválvula. La separación se realizó a 0,4 μ l/min, utilizando un gradiente de acetonitrilo desde 3% hasta 40% en 120 min (Solvente A: 0.1% ácido fórmico, solvente B: acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico). El instrumento operaba en modo positivo con un voltaje de spray de 2kV. El rango de escáner para el full MS fue m/z 400-2000. El análisis de espectrometría se realizó en modo 2 kV, realizando un escaneo del barrido completo seguido por 8 espectros de fragmentación (MS/MS) para la secuenciación de las señales más abundantes. La resolución del Orbitrap se estableció a 60000 full MS. Con tal de minimizar la selección redundante de los precursores iónicos, se estableció un sistema de exclusión dinámica descartando la fragmentación si el ión precursor aparecía otra vez durante una ventana de tiempo de 45 seg. Los iones carga 1+ fueron excluidos de la secuenciación y se añadió una lista de exclusión peptídica en las que se incluyeron las masas de los péptidos utilizados para calibrar el HPLC (Figura M.3).

?

2023/01/01
 n...
 ...
 ...
 ...
 ...
 ... → ...
 ... → ...

?

...
 ...
 ...

?

...
 ...
 ...

?

...

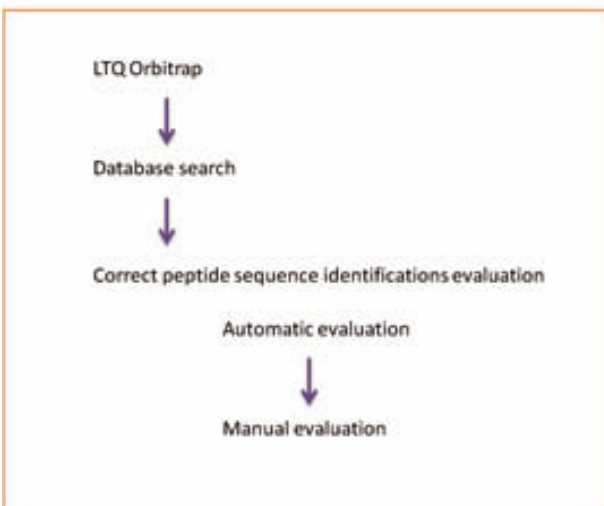
?

...
 ...
 ...

?

?

Workflow



?

...
 ...

?

?

?

?

?

M.11.1. Búsqueda en base de datos

Los espectros de fragmentación MS/MS se identificaron utilizando el sistema de búsqueda SEQUEST (Bioworks v3.3, ThermoFisher, San Jose, CA) contra una base de datos combinada Target/Decoy. Esta base de datos consiste en la base de proteínas humanas a la que se le adicionan las secuencias reversas de la misma base de datos. La base de datos utilizada fue la SwissProt versión 15/12 con isoformas, compuesta únicamente por proteínas validadas en Unirpot. Se utilizó la misma base de datos en todas las muestras obtenidas por espectrometría de masas de alta resolución (LTQ-Orbitrap). La estrategia Target/Decoy se basa en el principio que las identificaciones incorrectas tienen la misma probabilidad de encontrar un asignación positiva en la base de datos correcta o en la base de datos “señuelo”, mientras que los espectros fiables y con información fiable y derivada de secuencia peptídica tendrá mayor posibilidad de identificación positiva en la base de datos correcta que en la “señuelo”. Utilizando el número de identificaciones en base de datos señuelo respecto al total es posible calcular el FDR o *False Discovery Rate*.

Los parámetros de búsqueda fueron: tolerancia de la masa del precursor: 10 ppm; tolerancia del fragmento: 0,6 Da; no encima de restricción; modificaciones dinámicas: oxidación de la metionina (+16 Da).

M.11.2. Evaluación de las secuencias

M.11.2.1. Evaluación automática

La evaluación automática de las asignaciones realizadas por el SEQUEST se realizó mediante el programa *Psearch* desarrollado en el laboratorio de proteómica CSIC/UAB (http://proteomica.uab.cat/index.php?option=com_content&view=frontpage&Itemid=1). Este programa evalúa la asignación basándose en los parámetros de correlación *Cross correlation score* (Xcorr), una medición basada en la asignación de picos observada y la esperada para cada espectro, y el valor D, un valor discriminante que se genera combinando varios de los parámetros estadísticos generados por SEQUEST y que ha demostrado ser más fiable que la utilización de estos por separado (Keller et al. 2002) (Figura M.5).

$$D = \begin{pmatrix} +8.4 * \frac{\ln(XCorr)}{\ln(\#AAs)} \\ +7.4 * \Delta Cn \\ -0.2 * \ln(rankSp) \\ -0.3 * \Delta Mass \\ -0.96 \end{pmatrix}$$

Figura M.5. Fórmula para el cálculo del valor D. Los valores de XCorr, Cn, rankSp, Mass son valores generados por el propio sistema de búsqueda SEQUEST.

Se asignaron como identificaciones correctas aquellos espectros con scores dentro del área definida como tasa de falsa asignación (*false discovery rate* (FDR)). Para ello, asignamos valores de confianza basándonos en el espectrómetro de masas utilizado. En el caso del Orbitrap utilizamos FDR con un límite restrictivo del 0,1%, es decir, existe la posibilidad de 1 de cada 1000 secuencias que pasaran el filtro sea una asignación incorrecta (Figura M.6).

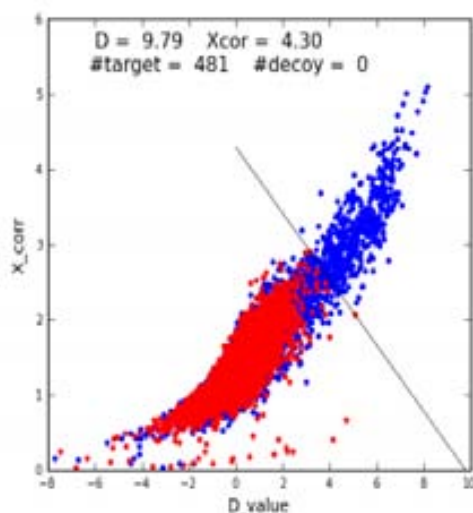


Figura M.6. Representación de las secuencias validadas por el Psearch. Los puntos azules corresponden a espectros de fragmentación asignados a una secuencia real presente en la base de datos. Los puntos rojos corresponden a asignaciones de un espectro de fragmentación a una secuencia decoy. La línea divisoria marca las secuencias que superan el 0.1% de FDR.

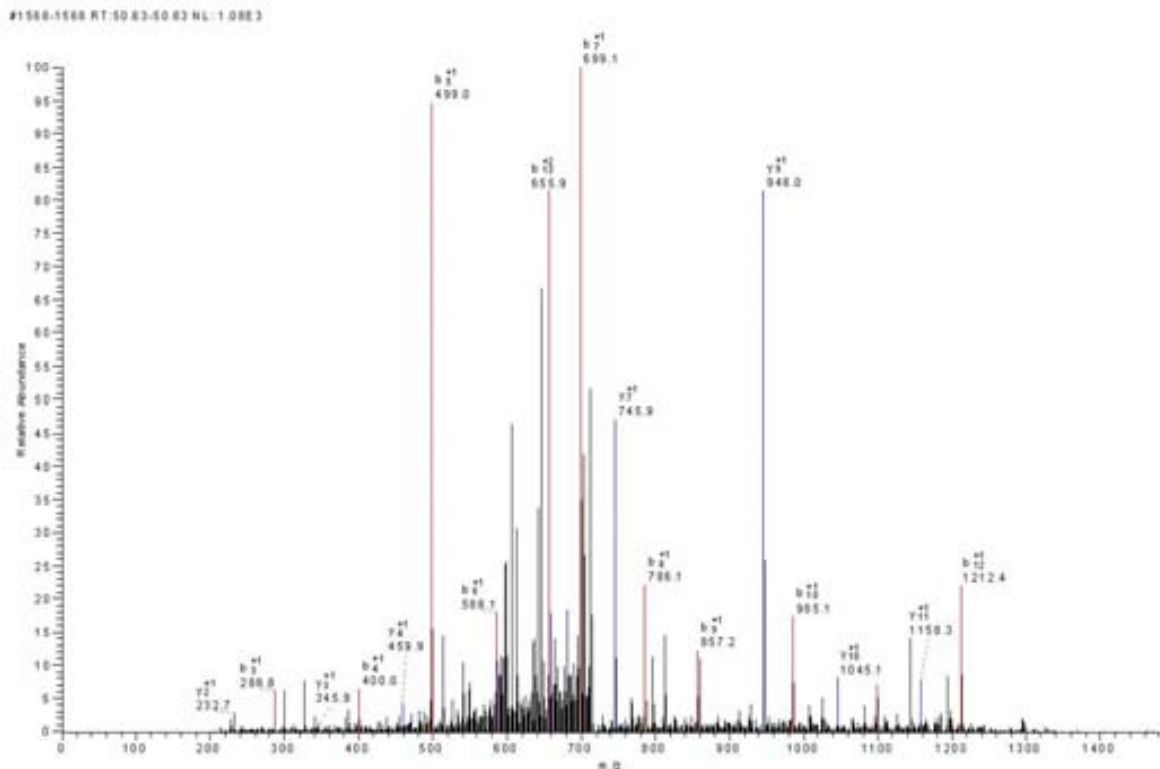
Los espectros de las muestras de timo 3, 4 y 5 se buscaron mediante el sistema de búsqueda e Mascot (Matrix Science, London UK), enfrentándola a una base de datos humana de UniProt. Los parámetros de búsqueda fueron: tolerancia de la masa del péptido: 0,8 Da; tolerancia del fragmento: 0,6 Da; no enzimas de restricción; modificaciones dinámicas: oxidación de la metionina.

M.11.2.2. Evaluación manual

Como parte de la evaluación manual, se eliminaron aquellos contaminantes procedentes del propio procesamiento de la muestra como son péptidos procedentes de piel, básicamente secuencias de queratina ricas en glicina, secuencias peptídicas procedentes de las mezclas de péptidos utilizadas para la evaluación del sistema de HPLC de fase reversa y péptidos procedentes de proteínas de unión inespecífica a sefaroza identificados en los controles.

Como sistema de control, todos los espectros únicos y, al menos uno de los espectros que formaban parte de una familia peptídica, fueron evaluados manualmente para confirmar la correcta asignación de los fragmentos iónicos. Para ello se utilizó el programa BioWorks™ (Thermo Scientific) como visor. En la

evaluación manual se comprobó la calidad del espectro así como la asignación de los iones por parte del programa informático (Figura M.7)



M.7. Imagen representativa de uno de los espectros de fragmentación obtenidos de la muestra de bazo 4. Los picos marcados en rojo corresponden a asignaciones de la serie b de fragmentación, mientras que los azules son iones asignados a la serie y. Eje de abscisas: relación masa/carga. Eje de ordenadas: Abundancia relativa del ión.

M.12. Fraccionamiento para el enriquecimiento de poblaciones tímicas (F0 y F1)

El tejido tímico se troceó en pequeños fragmentos y se lavó con PBS. Los fragmentos se resuspendieron en RPMI (Sigma-Aldrich) y se mantuvo en agitación continua a 4°C durante 25 min para su disgregación. Las células del sobrenadante se centrifugaron y se levaron dos veces con PBS frío. Esta fracción constituye la F0.

El resto de tejido tímico se recogió y se digirió con 2 mg/ml de colagenasa (tipo P, esp. act. 2.7 U/mg; Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), y 0,05 mg/ml DNasa I (Sigma, St. Louis, MO) a 37°C en constante agitación durante 25 min. Se recogieron las células del sobrenadante y se repitió la digestión. Los pequeños fragmentos estromales que permanecieron sin digerir se lavaron con PBS. Esta fracción constituyó la F1.

M.13. Preparación del RNA y síntesis del cDNA

Tanto la preparación del cDNA y las PCR cuantitativas a tiempo real fueron realizadas por el Dr. Roger Colobrán en el laboratorio de inmunología en el Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

El RNA fue purificado de muestras de timo total o de fracciones usando el Maxwell® 16 Total RNA Purification Kit (Promega). La síntesis de cDNA se realizó usando *primers* Oligo(dT)20 (Invitrogen) y la M-MLV transcriptasa reversa (Invitrogen). En el estudio presentado también se utilizó 16 cDNAs procedentes del *Human MTCTM Panel I and II* (Clontech). Debido a que el cDNA procedentes de tiroides no está incluido en este panel de tejidos, se utilizó una mezcla de cDNA de 3 donantes sanos obtenidos del banco de tejidos del Hospital Germans Trias i Pujol.

M.14. PCR cuantitativa a tiempo real

La cantidad relativa de la expresión génica de los genes *GAPDH*, *CD3E*, *CD19*, *KRT14*, *AIRE*, *SEMG1*, *CNTN2*, *KLK3*, *CHRNA1* y *GAD1* se midió usando TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems) siguiendo las instrucciones de la casa comercial y se evaluó usando la expresión de *GAPDH* como factor normalizador. Las reacciones de amplificación se realizaron en el LightCycler®480 Instrument (Roche) por triplicado y la media de los valores de CT (threshold cycle) fue utilizado para los posteriores análisis estadísticos. La desviación estándar fue siempre menor al 10% de la valor medio. La abundancia relativa de cada molécula se calculo mediante el algoritmo $2^{-\Delta CT}$ y expresado como unidades arbitrarias ($2^{-\Delta CT} \times 10.000$).

M.15. Proteínas recombinantes de HLA de clase II y ensayo de unión

Las proteínas recombinantes DRB1*01:01 y DRB1*03:01 se produjeron como describió Novak et al. en 1999. Para los ensayos de unión se incubaron concentraciones crecientes de cada uno de los péptidos no biotinilados en competición con 0,02mM del péptido biotinilado de la hemaglutinina (306-318 HA) en pocillos recubiertos de la proteína HLA-DR*01:01 o 0,01mM del péptido 137-148 de la mioglobina de cachalote en pocillos recubiertos de la proteína HLA-DR*03:01 (Ettinger and Kwok 1998). Después de lavar, los péptidos de referencia biotinilados se marcaron usando europio conjugado con streptavidina (Perkin Elmer) y cuantificados usando el *Victor2 D time resolved fluorometer* (Perkin Elmer). Las curvas de unión peptídica se simularon mediante la regresión no lineal con el Prism software (Version 4.03, GraphPad Software Inc.) utilizando una curva sigmoideal dosis-respuesta. Los valores de IC50 se calcularon a partir de las curvas resultantes, y el valor corresponde a la concentración de péptido necesaria para inhibir la unión del péptido de referencia al 50%.

M.16. Estadística

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un estudio de varianza ANOVA two-way seguido de un test de Bonferroni usando el Prism software (Version 4.03, GraphPad Software Inc.).

M.17. Análisis predictivos de afinidad

El análisis de afinidad predictiva se calculó usando dos métodos bioinformáticos diferentes junto con una evaluación manual. El protocolo de asignación está descrito detalladamente en el capítulo 1.

Resultados

Capítulo 1

Establecimiento de predicciones de asignaciones a alelos de HLA-DR de péptidos, utilizando herramientas bioinformáticas

1. Predicción de unión de péptidos a alelos de HLA-DR utilizando herramientas bioinformáticas

En esta tesis se analizan los ligandos peptídicos de las moléculas de HLA-DR en diferentes tejidos. La identificación precisa de los péptidos que se pueden unir a las moléculas de MHC es relevante para el entendimiento de especificidad de la respuesta inmune adaptativa y el conocimiento de sus afinidades por los alelos de HLA-DR que los presentan es imprescindible para poderlos asignar a un alelo determinado y poder interpretar su capacidad funcional en cada tejido. La forma más concluyente de estudiar la afinidad de los péptidos por las moléculas de HLA-DR consiste en el ensayo experimental de estas interacciones. Existen varios ensayos que usan tanto células en cultivo (Schumacher et al. 1990; Ross et al. 2012; Y.-D. Wang et al. 2004) como moléculas de HLA-DR purificadas (Justesen et al. 2009; Hartman et al. 2010; Sylvester-Hvid et al. 2002). Sin embargo, estos sistemas experimentales únicamente se pueden utilizar para un número limitado de ligandos, debido al elevado coste y al tiempo requerido. Para suplir estos problemas, se han diseñado sistemas informáticos de predicción. La mayoría de estos sistemas están basados en datos experimentales y aproximaciones computacionales de algoritmos, diseñados para la predicción teórica de la unión específica a un alelo del MHC.

Debido a la falta de datos empíricos, la aplicación de métodos predictivos *in silico* aún genera algunas dudas sobre su fiabilidad. Con el objetivo de suplir las carencias de los programas bioinformáticos individuales, en esta tesis hemos desarrollado un método combinado para el análisis teórico o predictivo de la afinidad de unión de los péptidos secuenciados. El método consiste en la integración de los resultados generados por tres sistemas de predicción de afinidad péptido-MHC diferentes: dos métodos informáticos y una evaluación manual. En este primer capítulo de resultados vamos a explicar las herramientas escogidas para estos análisis, la integración de los diferentes resultados y los controles realizados para valorar el sistema de asignación predictiva.

1.1. Sistemas de asignación teórica

1.1.1. Uso de herramientas informáticas para la predicción teórica de afinidad péptido-MHC

Las dos herramientas informáticas de predicción de afinidad teórica utilizadas en este trabajo, avaladas experimentalmente (Varrin-Doyer et al. 2012; Buggert et al. 2012; Dakshinamoorthy et al. 2012), fueron escogidas por utilizar diferentes algoritmos y criterios de interacción péptido-MHC a la hora de evaluar la interacción.

1.1.1.1. Sistema basado en redes neuronales artificiales (ANN)

Como primer sistema computacional se escogió el **NetMHCIIpan**. Este programa está basado en un sistema de procesamiento no lineal con capacidad de aprendizaje del tipo ANN. El contexto MHC está definido como una pseudo-secuencia generada a partir de 21 residuos aminoacídicos polimórficos en contacto potencial con el péptido, descrito por Nielsen et al. (Nielsen et al. 2008). El *core* peptídico y los

residuos que lo flanquean se identifican para cada uno de los péptidos en el conjunto de datos utilizando el método SMM-align. El método SMM-align identifica el nonúmero de puntuación máxima para cada secuencia. Para cada *core* peptídico se evalúan principalmente los residuos del nonúmero con el contexto MHC, los residuos flanqueantes del péptido (PFR), el tamaño del péptido y el tamaño de los extremos N y C terminal de los PFRs, resultando en un valor final equivalente a la afinidad media (IC50). Usando este sistema, hemos considerado péptidos de alta afinidad (HB) las secuencias con valores de IC50 inferiores a 50nM y de afinidad intermedia (IB), aquellas con valores comprendidos entre 50nM y 500nM. Las secuencias con valores superiores a 500nM se consideraron de baja afinidad (LB) (Figura 1.1).

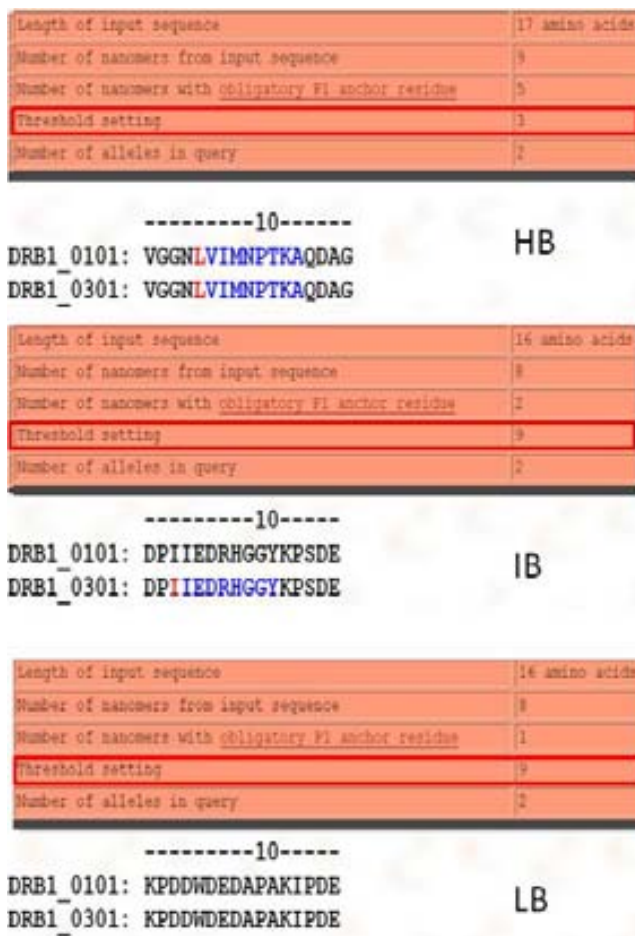
| pos | HLA | peptide | Identity | Pos | Core | 1-log15k(aff) | Affinity(nM) | %Rank | BindLevel |
|-----|-----------|-------------------|----------|-----|-----------|---------------|--------------|-------|-----------|
| 0 | DRB1*0101 | VGGNLVIMNPTKAQQAG | DEPLIST | 4 | LVIMNPTKA | 0.751 | 10.93 | 5.00 | <= SB |
| 1 | DRB1*0101 | DFIIEDRHGGYKFSDE | DEPLIST | 2 | IIEDRHGGY | 0.063 | 8203.43 | 50.00 | |
| 2 | DRB1*0101 | KFDQWDEDAPAKIFQE | DEPLIST | 4 | WDEDAPAKI | 0.102 | 5645.47 | 50.00 | |
| 0 | DRB1*0301 | VGGNLVIMNPTKAQQAG | DEPLIST | 5 | VIMNPTKAQ | 0.431 | 237.54 | 16.00 | <= WB |
| 1 | DRB1*0301 | DFIIEDRHGGYKFSDE | DEPLIST | 2 | IIEDRHGGY | 0.354 | 498.58 | 32.00 | <= WB |
| 2 | DRB1*0301 | KFDQWDEDAPAKIFQE | DEPLIST | 4 | WDEDAPAKI | 0.096 | 5940.70 | 50.00 | |

Figura 1.1. Imagen representativa del resultado de la predicción de afinidad de péptidos secuenciados en una de las muestras de timo. Los péptidos están divididos en dos bloques, el primer bloque corresponde a la afinidad teórica para el alelo DRB1*01:01 y el segundo para DRB1*03:01. En la tabla aparecen, de izquierda a derecha, el número de la secuencia, el alelo de HLA-DR a que corresponde la búsqueda, la secuencia peptídica, la lista a la que pertenece, la posición inicial del *core* (empezando por 0), el *core* asignado por el buscador, el valor predictivo o score, que se calcula mediante la fórmula (1-log15k(aff)), la afinidad teórica en nanomolar para cada secuencia peptídica (IC50 value), el rango porcentual de la puntuación a un conjunto de 200.000 péptidos naturales al azar y el nivel de unión asignado por NetMHCIIpan (SB: *Strong Binder*; WB: *Weak Binder*. SB equivale a HB y WB a IB en nuestra nomenclatura).

1.1.1.2. Sistema basado en matrices cuantitativas

La segunda aplicación informática escogida, **Propred**, está basada en sistemas de matrices PSSM. Sturniolo et al (Sturniolo et al. 1999) describieron una nueva propuesta matemática para la generación de matrices llamada *pocket profiles*. A partir de ello desarrollaron **Propred** (H. Singh and Raghava 2001), una herramienta computacional de predicción de ligandos de HLA. Este sistema se compone de 51 PSSMs derivadas de 11 alelos de HLA-DRB diferentes y que cubrían 51 moléculas de HLA-DR. Una limitación de este sistema es que solamente considera los 51 alelos de HLA-DR para los cuales hay datos experimentales. TEPITOPEpan es una herramienta que extrapola los datos obtenidos en Propred a otros alelos para los cuales no hay datos experimentales, basándose en la homología de los mismos, permitiendo de esta manera la predicción de afinidad para alelos no incluidos en Propred (L. Zhang et al. 2012)..

Estas aplicaciones informáticas asignan un *core* peptídico basado en la presencia de como mínimo un residuo correcto en la P1. Los residuos permitidos para la P1 son Tyr, Phe, Trp, Leu, Ile, Ala, Val, o Met, variando la frecuencia en función del alelo de HLA-DR. Los umbrales de asignación dependen a su vez de los aminoácidos restantes asignados, por norma general, a las posiciones P4, P6 y P9. Se define un umbral de asignación como un porcentaje de los máximos *scores* obtenidos. En esta tesis se analizó la afinidad teórica de los péptidos utilizando como criterio los umbrales de asignación de Propred, ya que los scores individuales no están normalizados entre alelos. La herramienta **TEPITOPEpan** se utilizó



exclusivamente para el estudio de una muestra de bazo cuyo tipaje era DRB1*04:07, no incluido en Propred. Un péptido asignado a uno de los dos alelos de la muestra a un umbral $\leq 3\%$ (5% para TEPITOPEpan), se consideró HB; si el péptido no lograba asignación a ninguno de los alelos de la muestra a bajo umbral pero sí a umbral medio ($<9\%$ para Propred o $<15\%$ para TEPITOPEpan), se consideró IB, y los que no se podían asignar a ningún alelo a esos umbrales, se consideraron péptidos de baja afinidad (figura 1.2).

Figura 1.2. Imagen representativa del resultado de búsqueda de tres péptidos con Propred. En la imagen aparece el nombre del péptido analizado (*Antigen Name*) y remarcado, el umbral utilizado en la búsqueda. El secuencia problema aparece debajo, resaltado en el motivo de unión teórico asignado por Propred. Los ejemplos muestran la unión con un umbral bajo de 3 (HB), con un umbral alto de 9 (IB) y la ausencia de asignación a umbrales de 9 (LB).

1.1.2. Predicción manual de afinidad

El último método utilizado para el análisis de la interacción peptídica se basó en un estudio manual de las secuencias obtenidas y el grado de similitud del *core* asignado con los motivos de unión descritos en la literatura. Para ello, a partir de las secuencias obtenidas por espectrometría de masas, se generaron los todos los posibles nonámeros que contuvieran un residuo válido en P1, utilizando el programa *mhcLAIAMotifs*, desarrollado en el Laboratorio de Proteómica CSIC/UAB por J. Abián (http://proteomica.uab.cat/index.php?option=com_content&view=article&id=76). Como se mencionó anteriormente, Tyr, Phe, Trp, Leu, Ile, Ala, Val, o Met son los residuos permitidos para P1. Los posible *cores* generados se evaluaron uno por uno, según su homología con los motivos de unión descritos en SYFPEITHY (www.syfpeithi.de/), a excepción de DR8 cuyo motivo no está en la base de datos de SYFPEITHY pero que se había descrito en nuestro laboratorio (Muixi et al. 2011). Se consideraron las posiciones P1, P4, P6 Y P9 del core peptídico. De las diferentes combinaciones de los *cores* resultantes para un mismo péptido, se escogió la secuencia que mejor cumplía uno de los motivos de unión de los alelos de HLA-DR de cada muestra y se le asignó un valor predictivo en función del grado de homología (Figura 1.3). Así, los *cores* con tres o más coincidencias con el motivo se consideraron HB, IB para dos coincidencias y el resto de secuencias se consideraron LB. Las secuencias sin ninguna homología con el motivo de unión, también se consideraron LB.

| Gene Name | Sequence | Core | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 |
|-----------|-------------------|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | IMNPTKAQD | I | M | N | P | T | K | A | Q | D | I | M | N | P | T | K | A | Q | D |
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | LVIMNPTKA | L | V | I | M | N | P | T | K | A | L | V | I | M | N | P | T | K | A |
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | MNPTKAQDA | M | N | P | T | K | A | Q | D | A | M | N | P | T | K | A | Q | D | A |
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | VGGNLVIMN | V | G | G | N | L | V | I | M | N | V | G | G | N | L | V | I | M | N |
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | VIMNPTKAQ | V | I | M | N | P | T | K | A | Q | V | I | M | N | P | T | K | A | Q |
| CKB | DPIIEDRHGGYKPSDE | IIEDRHGGY | I | I | E | D | R | H | G | G | Y | I | I | E | D | R | H | G | G | Y |
| CKB | DPIIEDRHGGYKPSDE | IEDRHGGYK | I | E | D | R | H | G | G | Y | K | I | E | D | R | H | G | G | Y | K |
| CANX | KPDDWDEDAPAKIPDE | WDEDAPAKI | W | D | E | D | A | P | A | K | I | W | D | E | D | A | P | A | K | I |

Figura 1.3. Representación de la asignación manual de afinidad teórica basada en los motivos de unión descritos por SYFPEITHY. Utilizando el programa Laiamotifs, se generan los posibles nonúmeros que presenten un aminoácido válido para P1. En función del motivo, se evalúa cuál de los nonúmeros presenta mayor homología con el motivo consenso de cada alelo en SYFPEITHY. Se asigna un core a la secuencia con mayor concordancia.

1.1.3. Asignación final

La asignación final se realizó sobre los resultados obtenidos con los tres procedimientos descritos. A las secuencias se les asignó HB, IB o LB si había coincidencias de evaluación con dos o más de los métodos de asignación utilizados. A las secuencias con resultados diferentes en las tres metodologías no se les asignó alelo (NA) (Figura 1.4).

Las moléculas de HLA-DR codificadas en otros loci de la región II del MHC, como DRB3, DRB4 o DRB5 no se consideraron en este estudio ya que el repertorio descrito para estas moléculas en las bases de datos es limitado.

| Gene Name | péptido | |
|-----------|-------------------|--|
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | |
| CKB | DPIIEDRHGGYKPSDE | |
| CANX | KPDDWDEDAPAKIPDE | |

| NetMHCIIpan | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|-----------------------|-----------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|----------|----|
| DRB1*01:01 (Core, nM) | | | | | | | | | | DRB1*03:01 (Core, nM) | | | | | | | | | | Affinity | |
| CNTN2 | LVIMNPTKA (10.9 nM) | | | | | | | | | | VIMNPTKAQ (237.5 nM) | | | | | | | | | | HB |
| CKB | IIEDRHGGY (8203.4 nM) | | | | | | | | | | IIEDRHGGY (498.6 nM) | | | | | | | | | | IB |
| CANX | WDEDAPAKI (5645.5 nM) | | | | | | | | | | WDEDAPAKI (5940.7 nM) | | | | | | | | | | LB |

| Propred | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|----------------------------|-------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|----------|----|
| DRB1*01:01 (THRESHOLD:3,9) | | | | | | | | | | DRB1*03:01 (THRESHOLD:3,9) | | | | | | | | | | Affinity | |
| CNTN2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | | | | | | | | | | VGGNLVIMNPTKAQDAG | | | | | | | | | | HB |
| CKB | -- | | | | | | | | | | DPIIEDRHGGYKPSDE | | | | | | | | | | IB |
| CANX | -- | | | | | | | | | | -- | | | | | | | | | | LB |

| Manual | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------|--|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | Affinity | |
| CNTN2 | L | V | I | M | N | P | T | K | A | I | M | N | P | T | K | A | Q | D | HB (DR1) | |
| CKB | I | I | E | D | R | H | G | G | Y | I | I | E | D | R | H | G | G | Y | HB (DR3) | |
| CANX | W | D | E | D | A | P | A | K | I | W | D | E | D | A | P | A | K | I | HB (DR1) | |

| HLA-DRB1*01:01 | | | | | | | | | | HLA-DRB1*03:01 | | | | | | | | | |
|----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

| | NetMHCIIpan | | Propred | | Manual | | Final Binding | | |
|-------|-------------|----------|------------------|----------|------------|----------|----------------|----------------|------------|
| | Allele | Affinity | Allele | Affinity | Allele | Affinity | Consensus core | Final Affinity | Assignment |
| CNTN2 | DRB1*01:01 | HB | DRB1*01:01/03:01 | HB | DRB1*01:01 | HB | LVIMNPTKA | HB | DRB1*01:01 |
| CKB | DRB1*03:01 | IB | DRB1*03:01 | IB | DRB1*03:01 | HB | IIEDRHGGY | IB | DRB1*03:01 |
| CANX | NA | LB | NA | LB | DRB1*01:01 | HB | WDEDAPAKI | LB | NA |

Figura 1.4. Resumen de la predicción final de afinidad de los ligandos de clase II.

1.2. Validación del método de asignación. Comparación con ensayos de afinidad experimentales.

Para confirmar los resultados del sistema de asignación predictiva, se realizó un ensayo de unión en el *Tetramer Core Laboratory* (Dr. E. A. James, Benaroya Research Institute at Virginia Mason, Seattle, USA). Se analizaron 12 péptidos secuenciados de las muestras de timo que expresaban los alelos HLA-DR1 y -DR3. La elección de las secuencias a analizar se realizó en función de los valores predictivos obtenidos. Se seleccionaron: i) cuatro ligandos de alta afinidad (HB) para DR1 (*CTS*, *CRP*, *GCET2* y *CNTN2*) y dos para DR3 (*LGALS1* y *HLA-DPA1*); ii) dos péptidos con afinidad intermedia (IB) para DR1 (*HLA-DRA* y *EEF1A1*) y uno para DR3 (*HNRNPH2*); iii) un péptido con afinidad intermedia (IB) a los dos alelos (*MAN2B1*); iv) dos péptidos de baja afinidad para ambos alelos (*SEMG1* y *SPATIAL*). Los péptidos se sintetizaron y se analizó su unión mediante un ensayo de competición entre péptidos para la unión a moléculas de HLA-DR1 y 3 solubles, como se describe en Materiales y métodos.

| Gene Name | Proteína | Péptido |
|----------------|---|--------------------|
| CTSS | Cathepsin S | TGKLVLSAQNLVD |
| CRP | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTKPLK |
| GCET2 | Germinal center B-cell-expressed transcript 2 protein | SPEDEYELLMPHRISS |
| CNTN2 | Contactin-2 | VGGNLVIMNPTKAQDAG |
| HLA-DRA | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | VPPEVTVLTNSPVE |
| EEF1A1 | Elongation factor 1-alpha 1 | IEKFEKEAAEMGKG |
| MAN2B1 | Lysosomal alpha-mannosidase | TRIIYTDGNMQL |
| LGALS1 | Galectin-1 | GEVAPDAKSFVLN |
| HLA-DPA1 | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDKKETVWH |
| HNRNPH2 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 | FLNSTAGTSGGAYDHSY |
| <i>SEMG1</i> | Semenogelin-1 | QTEKLVAGKSQIQ |
| <i>SPATIAL</i> | Protein SPATIAL | PIGDPQSNRNPQL |
| Control DR1 | Hemagglutinin, Influenza A virus | PKYVKQNTLKLAT |
| Control DR3 | Chain A, Carbonmonoxy-Myoglobin | NKALELFRKDIAAKYKEG |

Tabla 1.1. Péptidos utilizados en el estudio de unión experimental a las moléculas solubles DR1 y DR3. Como controles positivos, se utilizaron los siguientes péptidos de alta afinidad: HA 306-318 para HLA-DRB1*01:01 y Myoglobina 133-149 para HLA-DRB1*03:01.

En la tabla 1.2 se muestran las asignaciones predictivas de cada buscador, Propred, NetMHCIIpan (con sus valores de IC50) y la asignación manual, así como los resultados obtenidos en el ensayo de unión. Evaluando cada uno de los sistemas de predicción por separado y teniendo en cuenta las 24 posibles interacciones (12 secuencias x 2 alelos), los resultados mostraron 13 coincidencias con las 24 asignaciones de Propred, 15 de NetMHCIIpan, 13 de 24 usando el sistema manual y 16 de 24 combinando los tres sistemas.

| Gene Name | Propred Unión | | NetMHCIIpan Unión | | Unión Manual | | Unión Experimental | | | |
|-------------|---------------|-----|-------------------|--------------|--------------|-----|--------------------|------------|------------|------------|
| | DR1 | DR3 | DR1 | DR3 | DR1 | DR3 | IC50 in mM | DR1 | IC50 in mM | DR3 |
| CTSS | HB | -- | HB (4,6) | LB (956,4) | HB | IB | 0,01 | +++ | >50 | - |
| CRP | HB | -- | HB (2,4) | LB (1160,5) | HB | LB | 0,02 | +++ | >50 | - |
| GCET2 | HB | HB | HB (5,9) | LB (3391,4) | HB | LB | 0,01 | +++ | >50 | - |
| CNTN2 | HB | HB | HB (10,9) | IB (237,5) | HB | LB | 0,03 | +++ | 31,42 | +/- |
| HLA-DRA | IB | -- | IB (231,8) | LB (7094,9) | HB | IB | >50 | - | >50 | - |
| EEF1A1 | LB | LB | IB (215,7) | LB (5040,8) | IB | IB | 0,15 | ++ | 20,69 | +/- |
| MAN2B1 | IB | IB | IB (273,2) | IB (417,7) | IB | HB | >50 | - | 12,46 | + |
| LGALS1 | -- | HB | LB (2928) | LB (527) | IB | HB | >50 | - | 0,74 | ++ |
| HLA-DPA1 | -- | HB | LB (3528,7) | LB (719,2) | IB | HB | >50 | - | 8,21 | + |
| HNRNPH2 | IB | IB | LB (818) | LB (11531,5) | LB | IB | >50 | - | >50 | - |
| SEMG1 | -- | IB | IB (329,2) | LB (6099,2) | LB | LB | >50 | - | >50 | - |
| SPATIAL | LB | LB | LB (8142,1) | LB (10456,8) | HB | LB | >50 | - | 41,46 | +/- |
| Control DR1 | HB | -- | HB (17,68) | LB (1152,52) | HB | LB | 0,04 | +++ | non-tested | non-tested |
| Control DR3 | -- | HB | HB (26,21) | HB (9,31) | IB | HB | non-tested | non-tested | 1,36 | ++ |

Tabla 1.2. Tabla de los resultados de predicción de afinidad generados con los tres buscadores y los datos de afinidad de los ensayos *in vitro* (Unión Experimental). Para cada uno de los alelos se muestra el valor de IC50 y su grado de afinidad a la molécula de DR. Teniendo en cuenta los controles para cada molécula (valoración del control positivo. DR1:+++; DR3:++), aquellos péptidos que mostraron una valoración triple positiva (+++) o doble positiva (++) para DR1 o doble positiva (++) o positiva (+) para DR3, se consideraron ligandos de alta afinidad. Los ligandos de afinidad intermedia son las secuencias con valoración +/- . Los ligandos de baja afinidad son aquellos que tienen de IC50 superiores a 50 (valoración -).

La tabla 1.3 muestra un resumen de la predicción de afinidad y la afinidad experimental, así como la asignación a alelo basada en ambos datos. Los resultados muestran un nivel de coincidencia importante entre la asignación del método desarrollado en esta tesis y los datos experimentales. Los 6 ligandos con predicciones de alta afinidad concordaban con los datos experimentales. De las cuatro secuencias predichas como IB, 2 fueron experimentalmente ligandos de alta afinidad y 2 de baja. De los 2 ligandos LB, SEMG1 tiene una baja afinidad de unión experimental, mientras que SPATIAL se une *in vitro* a DR3 con una afinidad experimental intermedia (IC50:41,46).

| Gene Name | Binding | | Asignación | |
|-------------|------------|--------------|------------------------|--------------|
| | Predicción | Experimental | Teórica | Experimental |
| CTSS | HB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| CRP | HB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| GCET2 | HB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| CNTN2 | HB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| HLA-DRA | IB | LB | DRB1*01:01 | NA |
| EEF1A1 | IB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| MAN2B1 | IB | HB | DRB1*01:01; DRB1*03:01 | DRB1*03:01 |
| LGALS1 | HB | HB | DRB1*03:01 | DRB1*03:01 |
| HLA-DPA1 | HB | HB | DRB1*03:01 | DRB1*03:01 |
| HNRNPH2 | IB | LB | DRB1*03:01 | NA |
| SEMG1 | LB | LB | NA | NA |
| SPATIAL | LB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Control DR1 | HB | HB | DRB1*01:01 | DRB1*01:01 |
| Control DR3 | HB | HB | DRB1*03:01 | DRB1*03:01 |

Tabla 1.3. Tabla resumen de las valoraciones de unión péptido-MHC teórica y experimental, así como la asignación de alelo de cada secuencia.

Capítulo 1

Discusión

Establecimiento de predicciones de asignaciones a alelos de HLA-DR de péptidos, utilizando herramientas bioinformáticas

Las tecnologías “ómicas” actuales generan cantidades masivas de datos difícilmente analizables sin la ayuda imprescindible de las herramientas bioinformáticas. En el caso de la proteómica, la mejora de los espectrómetros de masas, de los motores de búsqueda y de las bases de datos ha permitido la secuenciación e identificación de un gran número de ligandos de moléculas de HLA-DR. El estudio de la interacción y de la afinidad de dichos ligandos a determinadas moléculas de HLA-DR es inviable experimentalmente, debido al número de secuencias obtenidas en los análisis actuales. Para resolver este problema, se están realizando notables esfuerzos en el desarrollo de herramientas informáticas capaces de predecir de una forma efectiva y fiable la afinidad de unión de determinados péptidos a diferentes moléculas de HLA-DR.

El diseño de sistemas informáticos precisos de predicción de unión péptido-MHC es una tarea compleja. Existen diferentes causas que dificultan el desarrollo de estas herramientas. La primera de ellas es la carencia de datos empíricos necesarios para generar sistemas de predicción fiables. Se ha descrito que, para generar modelos con un grado razonable de fiabilidad son necesarias como mínimo entre 50-200 medidas experimentales de unión para cada alelo de clase I y entre 100 y 200 para clase II (L. Zhang et al. 2011). Las bases de datos actuales carecen en muchos casos de esta información. Actualmente, menos de 20 alelos de HLA-DR descritos en el *Immunoepitope database* (IEDB) contienen más de 200 mediciones experimentales de afinidad en su base de datos (Vita et al. 2010). La falta de consenso en las mediciones de interacción péptido-MHC genera colecciones de datos en los que se mezclan valoraciones de unión o no unión de los péptidos, cuantificación de la interacción mediante el cálculo de IC50 o valores de constantes de disociación. Esto hace que los datos sean difícilmente manejables. Para resolver este problema, diversos laboratorios han generado su propia colección de medidas de interacción para obtener un sistema estandarizado, controlado y reproducible. Esto es válido para las moléculas analizadas por un grupo en concreto, pero mantiene la falta de estandarización entre los diferentes laboratorios.

La falta de datos de medición empíricos conlleva la ausencia de definición de muchos de los motivos de anclaje de los alelos de MHC. Por ello, los métodos *pan-specific* utilizan datos experimentales de los alelos de MHC conocidos para generar predicciones teóricas sobre alelos de los cuales se carece de información. Tanto NetMHCIIpan-2.0 (Nielsen, Justesen, et al. 2010) o TEPITOPEpan (L. Zhang et al. 2012) se basan en el agrupamiento de las moléculas de MHC en supertipos (grupos de alelos con secuencias similares en la zona de unión a péptido). Utilizando los datos experimentales de moléculas de MHC del mismo supertipo y basándose en la secuencia nucleotídica, extrapolan los resultados para obtener predicciones de afinidad para alelos huérfanos de información (H. Zhang, Lundegaard, and Nielsen 2009). Aunque posiblemente los motivos de unión entre moléculas de HLA del mismo supertipo tengan un motivo de anclaje similar, no hay resultados empíricos que corroboren esta predicción y por tanto las medidas derivadas de ellos pueden ser cuestionadas.

El uso de algoritmos es útil por su capacidad de analizar múltiples secuencias pero está limitado a la hora de evaluar la interacción péptido-MHC. Especialmente para los péptidos de clase II, la rigidez de estos métodos se acentúa a la hora de considerar secuencias de distintas longitudes y determinar el *core*

de unión. La mayoría de sistemas consideran que existe un único motivo de presentación, aunque cabe la posibilidad de que diferentes motivos de un mismo péptido se estén presentando a la vez (Mohan, Petzold, and Unanue 2011) y que un mismo péptido tenga diferentes registros de unión a una molécula de MHC-II (Landais 2009). Algunos métodos evaluados (ej. MHCII Multi) consideran la posible interacción subóptima de los diferentes nonámeros presentes en el péptido para el cálculo total de la afinidad. Por otro lado, los programas que utilizan PSSMs suelen enfocar una unión lineal entre el péptido y MHC, otorgando a la P1 un valor clave en la unión, valorando para el cálculo de la afinidad sólo el *core* cuya secuencia cumpla mejor el motivo. El sistema netMHCIIpan tiene en cuenta otras variables en el cálculo de las interacciones, valorando la posible interacción entre los aminoácidos que sobresalen del *core* y el MHC. Ninguno de estos programas contempla la posibilidad de *loops* u otras variaciones que pudieran modificar los puntos de anclaje peptídico.

Varios artículos han hecho comparaciones entre los diferentes sistemas informáticos de predicción, teniendo preferencias sobre alguno de ellos. La mayoría de estos sistemas de predicción se someten a una renovación constante y aún está en debate su aplicación, con grupos a favor (L. Zhang et al. 2011; Nielsen, Lund, et al. 2010; P. Wang et al. 2010) y en contra (Gowthaman and Agrewala 2008; EL-Manzalawy, Dobbs, and Honavar 2008) de su uso. Sin embargo, y a pesar de sus limitaciones, estas herramientas informáticas se continúan utilizando y su valor predictivo queda demostrado en las múltiples publicaciones derivadas de su uso (A. K. Singh et al. 2013; Prabdial-Sing, Puren, and Bowyer 2012; Pascal et al. 2013).

En este trabajo se optó por una aproximación conservadora a la hora de asignar valores predictivos de afinidad a las secuencias obtenidas. Para ello, integramos los resultados de dos sistemas informáticos y de un análisis manual para obtener la predicción final de afinidad de los ligandos secuenciados. A la hora de escoger las herramientas informáticas, se tuvieron en cuenta criterios de calidad y que fueran diferentes los algoritmos utilizados y los criterios para definir la interacción péptido-MHC.

El primer buscador escogido fue el NetMHCIIpan (Nielsen, Justesen, et al. 2010). Este programa está basado en buscadores previamente desarrollados por el mismo grupo (Nielsen, Lundegaard, and Lund 2007; Nielsen and Lund 2009). Utiliza un algoritmo de tipo ANN y tiene en cuenta la longitud del péptido y los residuos flanqueantes que envuelven el *core* para determinar la capacidad de unión del péptido (Latek, Petzold, and Unanue 2000). Este sistema informático ha sido evaluado favorablemente en múltiples publicaciones (Dimitrov et al. 2010; Tong, Tan, and Ranganathan 2007; Nielsen et al. 2008). Además sus prestaciones lo hacen una herramienta fácil de utilizar: accesibilidad para toda la comunidad científica, matrices de asignación públicas, una interface de usuario fácil de utilizar, capacidad de análisis de múltiples secuencias sin limitación de tamaño y para múltiples alelos y resultados exportables en tablas Excel, que facilita el análisis de datos. Aún así, NetMHCIIpan genera las predicciones sin utilizar la P1 como parámetro determinante de la unión péptido-MHC, por lo que algunos de los *cores* resultantes presentan aminoácidos diferentes a lo descrito en esta posición.

En segundo lugar se escogió el sistema de asignación Propred (H. Singh and Raghava 2001). Este sistema informático usa las PSSM descritas por Sturniolo et al. (1999) para la identificación del *core* y los

umbrales de asignación de ligandos descritos en TEPITOPE (L. Zhang et al. 2012). Propred no tiene en cuenta la longitud ni los residuos flanqueantes de la secuencia, pero requiere para la asignación la presencia de un aminoácido de anclaje adecuado en P1. También es un programa gratuito, con matrices públicas y es aún de los más utilizados, con resultados sobradamente comprobados. Sin embargo, varias de las limitaciones del programa son: i) la incapacidad de llevar a cabo un análisis simultáneo de más de una secuencia; ii) limitación en el número de alelos incluidos (51 alelos de HLA-II). Por tanto, en nuestra opinión, las herramientas de predicción de unión de péptidos a moléculas de HLA-II son útiles pero, usadas de forma individual, pueden dar parte de la información de forma errónea.

En el caso de la muestra de bazo 1, con un tipaje DRB1*04:07, se utilizó el sistema TEPITOPÉpan como alternativa a Propred ya que DRB1*04:07 no está incluido entre los 51 alelos. TEPITOPÉpan utiliza un sistema de matrices similar al de Propred aunque, igual que el NetMHCIpan, extrapola datos empíricos de matrices de alelos estudiados para generar las PSSMs de los alelos carentes de ellas. En el propio artículo de presentación de TEPITOPÉpan, se autodefinen como el segundo buscador pan-específico por detrás del NetMHCIpan, pero con mejor capacidad de asignar el *core* de unión (L. Zhang et al. 2012). Aún así, este buscador no se usó para el análisis del conjunto total de ligandos en este trabajo aún teniendo una interface y prestaciones mejores que Propred, porque usa un método mixto de predicción y se utiliza menos que los otros dos métodos.

Los resultados obtenidos con los dos buscadores generaron una colección de datos con cierto nivel de discrepancia. En nuestro método incluimos una revisión manual de las secuencias peptídicas que validara y decantara la asignación de afinidad teórica. Basándonos en la experiencia previa en nuestro laboratorio, se decidió utilizar el grado de homología de los *cores* peptídicos respecto al motivo de unión descrito en la base de datos SYFPEITHY, como aproximación para determinar la afinidad teórica del ligando. Para ello, asignamos los siguientes criterios de evaluación: partimos de la asignación de un *core* de 9 aminoácidos con un aminoácido adecuado en P1 como requerimiento imprescindible. Una vez generados los posibles *cores*, se escogía el más similar a los motivos de unión de base de datos de SYFPEITHY.

Utilizando este sistema manual, se redujo el número de secuencias con inconsistencias en su afinidad teórica, aunque en todas las muestras se identificaron secuencias no asignables. En nuestro análisis consideramos los péptidos dentro de tres categorías (HB, IB, LB). Un péptido entraba en una de ellas cuando coincidían dos de los tres métodos de predicción utilizados. En el análisis se identificó un número de ligandos como *low binders*. No podemos descartar que éstos sean ligandos presentados por otras moléculas de DR asociados a cada haplotipo (codificadas por los genes *DRB3*, *DRB4* o *DRB5*), que no se han incluido en el análisis, pero hasta ahora, se considera que en la mayoría de haplotipos, estos genes se expresan menos que *DRB1*. En otros casos, puede que los motivos sean, en realidad, más laxos que los considerados en nuestro análisis y por tanto algunos ligandos se podrían unir con afinidad mayor a la predicha. En efecto, uno de los dos péptidos con afinidad teórica baja para los que se realizó el ensayo de unión experimental (*SPATIAL*), se unía con mayor afinidad a la prevista, mientras que el otro, SEMG1, se confirmó como *low binder*.

Finalmente, para confirmar la validez del método se evaluó la predicción mediante el estudio experimental de interacción péptido-MHC. Para ello se analizaron 12 péptidos sintéticos cuyas secuencias procedían de muestras de timos, con las moléculas DR1 y DR3. Este ensayo demostró que las predicciones se correlacionaban muy bien con los datos experimentales, sobre todo en los ligandos de alta afinidad. Los péptidos con afinidad intermedia y baja correlacionaban bastante bien, pero con algunas variaciones. Esto está en correlación con lo expuesto en el párrafo anterior para los ligandos de baja afinidad teórica. Dos secuencias predichas como IB, resultaron ser experimentalmente de alta afinidad y 2 de baja. Los ligandos que predichos como LB, uno (*SEMG1*) lo era experimentalmente, mientras que otro (*SPATIAL*) es capaz de presentarse por DR3 con una afinidad experimental media (EC50:41,46). Por tanto, la aproximación usada en esta tesis en la que combinamos diferentes métodos predictivos, tanto bioinformáticos como un método manual basado en los motivos conocidos de algunos alelos aportan resultados más concordantes con los experimentales que cada uno de ellos por separado. Esta aproximación nos ha permitido abordar el análisis de los ligandos de HLA-DR y la interacción entre ambas moléculas con un alto grado de fiabilidad. El método selecciona la información recogida de los diferentes sistemas de predicción teórica, abordando el estudio de una forma sistemática y conservadora.

Capítulo 2

Análisis de los péptidos asociados a HLA-DR en ausencia de infección en bazos de donantes de trasplante

2. Análisis de los ligandos de HLA-DR en tejido linfoide secundario humano

2.1. Descripción de las muestras

Se procesaron cuatro muestras de bazo de donantes sin patología autoinmune en su historial clínico. Los bazos procedían de donantes de ambos sexos con edades comprendidas entre los 52 y 73 años. Las muestras escogidas tenían tipajes diferentes para HLA-DR, aunque los bazos 2 y 4 compartían el alelo HLA-DRB1*03:01. La tabla 2.1 resume las características de las muestras.

| | <i>Bazo1</i> | <i>Bazo2</i> | <i>Bazo3</i> | <i>Bazo4</i> |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Edad (años) | 52 | 56 | 73 | 56 |
| Sexo | F | M | M | M |
| HLA-DRB1 | 04:05 04:07 | 03:01 08:01 | 07:01 15:01 | 01:01 03:01 |

Tabla 2.1. Características de las muestras de bazo analizadas, edad, sexo y tipaje para HLA-DR.

2.2. Expresión de HLA-DR en bazo

La expresión de HLA-DR en bazo fue examinada por microscopía confocal utilizando un anticuerpo monoclonal anti-HLA-DR conjugado con Alexa Fluor®647. En la figura 1A podemos apreciar dos regiones bien delimitadas. En rojo (marcaje con mAb anti-CD19-PECF594) se visualizan las acumulaciones de linfocitos B formando el folículo primario. Rodeando el folículo y marcado en verde, encontramos el PALS, rico en células T que rodean una arteriola (marcaje con mAb anti-CD3-Alexa Fluor®488) (Figura 1A). La densidad de DR es máxima en las células B de los folículos, aunque también se pueden apreciar células con alta expresión de DR en el PALS (Figura 1B, HLA-DR: amarillo). En el PALS se entremezclan linfocitos T con DCs y macrófagos (marcaje en verde; mAb anti-DCSIGN-FITC). Estas APCs envuelven el folículo de forma dispersa. No se aprecia mucho marcaje de DR en las células DCSIGN⁺, aunque esto podría deberse a un enmascaramiento producido por la intensidad de señal acumulada en los folículos (Figura 1C). Cuando aumentamos las zonas DCSIGN⁺ se puede apreciar la colocalización con DR (Figura 1D).

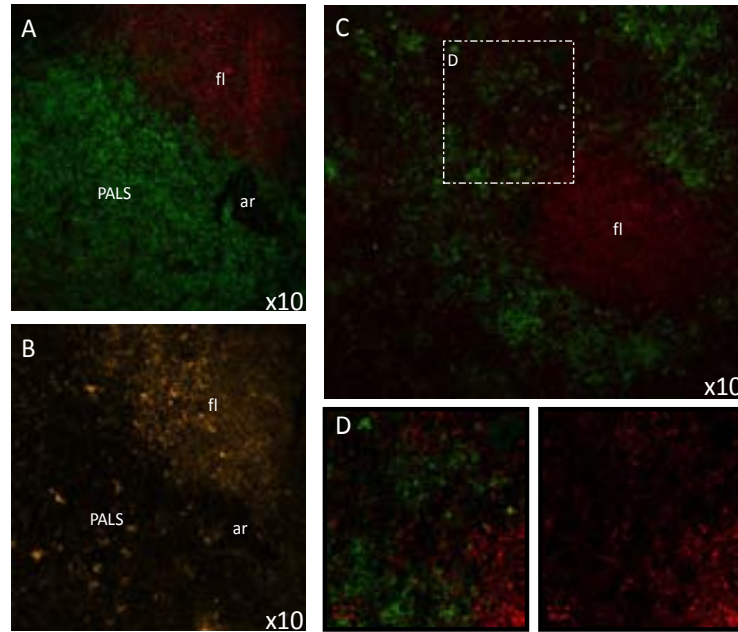


Figura 2.1. Expresión de HLA-DR en muestras de bazo. A) Distribución de las poblaciones de linfocitos B (CD19, rojo) y linfocitos T (CD3, verde) en bazo humano. Amplificación del objetivo: 10X. B) Tinción con mAb anti-HLA-DR de una sección consecutiva de tejido a la mostrada en A. La expresión de HLA-DR (en amarillo) es máxima en los folículos. El marcaje es más disperso en el PALS y se encuentra sobre todo en células de citoplasma ramificado, presumiblemente DCs y macrófagos. Amplificación del objetivo: 10x. C) Expresión de DR (rojo) y DC-SIGN (verde), siendo este último un marcador de DCs convencionales y macrófagos. Imagen representativa de las DCs y macrófagos rodeando un folículo. La región delimitada corresponde a la imagen D. Amplificación del objetivo: 10x. D) Aumento del 60% de la región delimitada en la imagen C. Izquierda: imagen aumentada de las células DC-SIGN⁺ (verde) y su colocalización con DR (rojo). Derecha: la misma imagen aumentada, sólo de las células marcadas con anti-DR para facilitar la visualización de la colocalización. fl: folículo; ar: arteriola.

2.3. Secuencias

Para determinar el repertorio peptídico en condiciones fisiológicas, se procesaron dos viales de 30 ml que contenían bloques congelados de tejido con un peso aproximado en todos los casos de entre 10 y 20gr. Las muestras se procesaron sin separación celular previa. En total se obtuvieron 4632 secuencias de las 4 muestras de bazo procesados, incluyendo los péptidos redundantes.

Para identificar y poder excluir del análisis aquellas proteínas que interactúan de forma inespecífica con la sefarosa o con anticuerpos irrelevantes presentes en el medio de crecimiento del hibridoma, se analizó el eluido de una de las precolumnas usadas en la purificación de las muestras de bazo por espectrometría de masas. Para ello se purificaron las inmunoglobulinas de 50 ml de suero fetal bovino (equivalente al suero usado para crecer el hibridoma usado en una columna) y se acoplaron a sefarosa. Se pasó un extracto de bazo por esta columna inespecífica para HLA-DR y se procesó igual que si fuese una columna con anticuerpo B8.11.2, específico para HLA-DR. El *pool* peptídico no se fraccionó por HPLC. Los péptidos eluidos de la precolumna se analizaron por LC-MS/MS en un Orbitrap (usado también para la secuenciación de los péptidos asociados a HLA-DR). Se identificaron 89 secuencias peptídicas derivadas de 5 proteínas diferentes: hemoglobina, actina, SP100, cofilin y glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, con tamaños que iban desde 10 hasta 36, siendo la media de 26 aminoácidos (anexo 2.1). En posteriores análisis, todos los péptidos que derivaran de estas proteínas se descartaron. Los péptidos procedentes de proteínas específicas de la piel como queratinas,

corneodesmosina o dermcidina, también se descartaron. Aunque varios de estos péptidos tenían tamaños y secuencias que los harían candidatos a ligandos de moléculas de MHC-II no se consideraron, debido a la imposibilidad de discriminar entre contaminantes y ligandos reales. En total, se descartaron 1267 secuencias de las 4632 obtenidas. El 75% de estos péptidos procedían de las 5 proteínas secuenciadas en el control. Las secuencias aceptadas están listadas en el anexo 2.2.

Por tanto, se identificaron 3365 secuencias correctas, incluyendo las redundantes, 1445 en el bazo 1, 573 en el bazo 2, 526 en el bazo 3 y 821 en el bazo 4. Estos péptidos procedían de 318 proteínas diferentes. La suma de secuencias totales obtenidas fue de 1108. Varias de estas secuencias se obtuvieron en más de una muestra, lo que el número de péptidos únicos totales fue 1066 (ver tabla 2.2). La mayoría de las secuencias obtenidas se agruparon en familias peptídicas.

| | <i>Bazo 1</i> | <i>Bazo 2</i> | <i>Bazo 3</i> | <i>Bazo 4</i> |
|--------------------------------------|------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Cantidad procesada | >10gr | >10gr | >10gr | >10gr |
| Número de secuencias totales | 1445 | 573 | 526 | 821 |
| Número de secuencias no redundantes* | 528 | 233 | 165 | 182 |
| Proteínas de origen* | 171 | 91 | 65 | 87 |
| Péptidos únicos | 117 (22%) | 48 (21%) | 41 (25%) | 88 (48%) |
| <i>Nested sets</i> | 411 (78%) | 185 (79%) | 124 (75%) | 94 (52%) |
| Péptidos por proteína | 1-31 | 1-22 | 1-11 | 1-23 |
| Péptidos por <i>nested set</i> | 2-15 | 2-16 | 2-7 | 2-13 |
| Péptidos totales* | 1066 (1108 secuencias) | | | |
| Proteínas totales* | 318 | | | |

Tabla 2.2. Descripción de las secuencias obtenidas de las muestras de bazo, sus proteínas de origen y los porcentajes de familias peptídicas y péptidos únicos que conforman los repertorios. * Varias secuencias idénticas fueron identificadas en diferentes muestras esplénicas. Por lo tanto, el número total de secuencias únicas es menor que la suma total de péptidos. Lo mismo ocurre con las proteínas de las que proceden los ligandos obtenidos.

2.4. Frecuencia peptídica e inmunodominancia

Como era de esperar, se encontró cierto grado de coincidencia entre los repertorios de los diferentes bazos. A nivel proteico, 73 de las 318 proteínas (23% del total) estaban presentes en dos o más muestras. Este nivel de similitud a nivel proteico puede resultar bajo. Sin embargo, los ligandos derivados de estas proteínas conformaban cerca del 57% del repertorio total obtenido (1918 de 3365) (Figura 2.2).

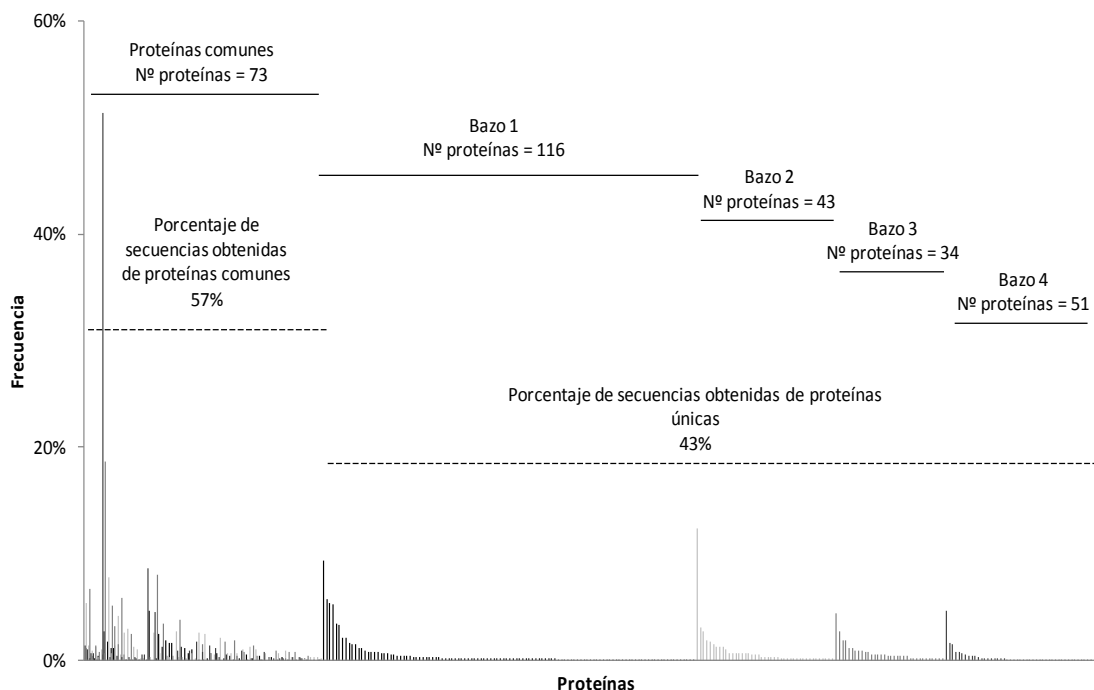


Figura 2.2. Frecuencias peptídicas. Cada barra vertical corresponde al número total de péptidos secuenciados a partir de una única proteína. Las diferentes graduaciones de gris representan las proteínas de cada bazo. Eje de abcisas: todas las proteínas identificadas en los repertorios están representadas en dos regiones (líneas punteadas). La primera región agrupa las frecuencias de los péptidos procedentes de proteínas comunes para más de una muestra. Esta región contiene el 57% de todas las secuencias obtenidas. La siguiente región está dividida en 4 subregiones y agrupa el 43% de secuencias restantes, que corresponden a los péptidos derivados de proteínas secuenciadas exclusivamente en cada una de las muestras de bazo. Las proteínas se han ordenado según el número de péptidos generados de cada una, de mayor a menor. Eje de ordenadas: porcentaje de péptidos secuenciados de cada proteína, incluyendo péptidos redundantes.

Las proteínas que generaron los péptidos más frecuentes procedían todas del espacio extracelular. Los péptidos presentados derivaban mayoritariamente de una única región de la secuencia parental conformando familias peptídicas (*nested sets*) inmunodominantes para cada proteína. La ceruloplasmin, de la que se secuenciaron varias familias peptídicas, fue la única excepción entre las proteínas dominantes. Aún así, dos regiones de la proteína aportaban más del 94% de los péptidos secuenciados (Tabla 2.3).

| Muestra | Proteína | Localización celular | Número de péptidos totales | Core |
|---------|---------------------------|----------------------|----------------------------|------------|
| Bazo 1 | Ceruloplasmin (9%) | E/EM | 80 | IRMFTTAPD |
| | | | 48 | FYLFPTVFD |
| | | | 5 | VDKEFYLFP |
| | | | 3 | YVHLKNLAS |
| Bazo 2 | Apolipoprotein A-IV (12%) | E/EM | 71 | FQMKNAAEE |
| Bazo 3 | Serotransferrin (19%) | E/EM | 98 | YYAVAVVKK |
| Bazo 4 | C-reactive protein (52%) | E/EM | 429 | YVSLKAPLT |
| | | | 2 | MNSLRAEDT |
| | | | 1 | TLYLQMNSL |
| | | | 4 | YLNMNLSLRA |
| | | | 60 | YLQMNSLRA |
| | Ig heavy chain (9%) | E/EM | 1 | YLQMNSLRV |

Tabla 2.3. Frecuencia de las proteínas más abundantes encontradas en bazo, su localización, el número total de secuencias obtenidas y el core asignado.

De la muestra 4 se lograron identificar 429 espectros de una misma proteína, la proteína C reactiva (CRP), sumando más del 50% del repertorio de esta muestra. Todos estos péptidos procedían de la

región comprendida entre los residuos 32 a 49 y se agrupaban en un único *nested set* compuesto por 13 secuencias de tamaños entre 13 y 17 aa, algunas repetidas. Ligandos de la CRP diferentes a los secuenciados en el bazo 4, también se obtuvieron en las muestras 2 y 3, con frecuencias de 0,57 y 1,05 %, respectivamente. La altísima frecuencia de péptidos de CRP podría estar relacionada con un proceso patológico no diagnosticado en el donante. La otra proteína dominante en el bazo 4 fue la inmunoglobulina que representaba un 9% de los péptidos no-CRP. Aunque se le asignaron varios *cores* posibles, las secuencias proceden de una única región que va desde el aa 70 al 111 de la secuencia. En el resto del repertorio del 53% al 77% de los péptidos secuenciados se agruparon en familias peptídicas de hasta 16 secuencias de diferente longitud.

La redundancia de secuencias de un determinado péptido se puede relacionar con la abundancia de la proteína origen y también con la inmunodominancia de una determinada secuencia para asociarse a un alelo del MHC. La abundancia de estas proteínas dentro del proteoma humano es difícil de analizar. La composición de los proteomas varía en función del tejido y las bases de datos son escasas y muestran divergencias en la representación de una determinada proteína, según el tejido analizado. Debido a que no hay datos específicos de bazo disponibles, escogimos la base de datos consenso del proteoma total, que sólo cubre el 40% (8963 proteínas totales) de las proteínas descritas hasta la fecha de su publicación. Por lo que utilizamos el atlas peptídico humano (H, sapiens PeptideAtlas Build May 2010, <http://www.peptideatlas.org/>) como tentativa para comparar el número de péptidos por proteína en las muestras de bazo con la abundancia de la misma proteína en el proteoma humano (Figura 2.3).

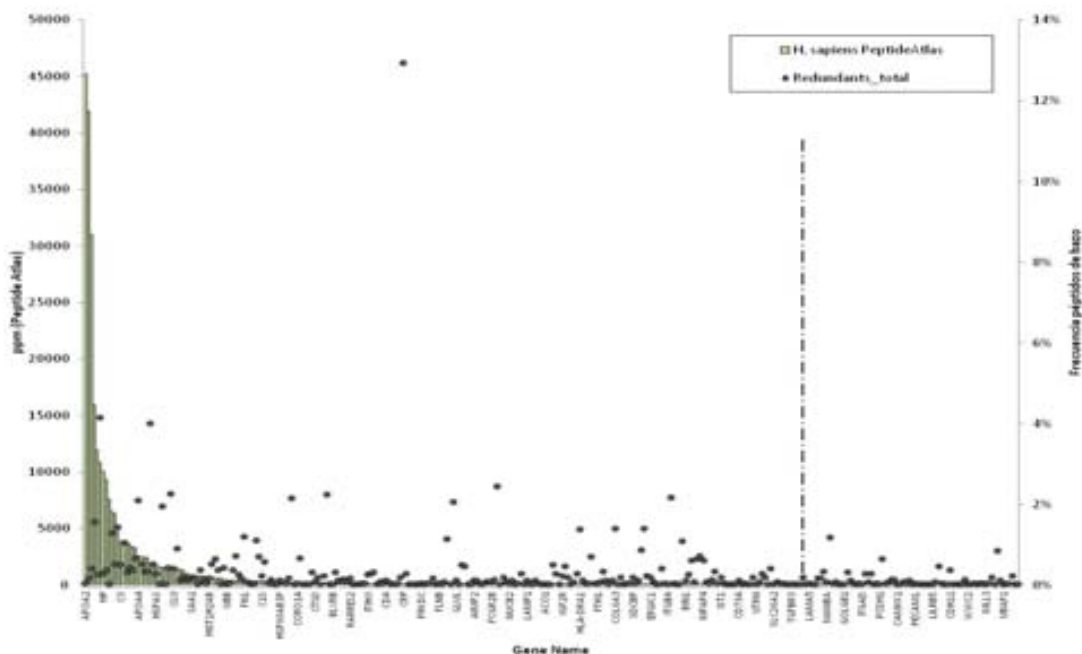


Figura 2.3. Representación de la frecuencia de péptidos (círculos negros) derivados de cada proteína respecto a su concentración en el proteoma humano (barras). Las proteínas están ordenadas de mayor a menor en función de su concentración total en ppm. La línea vertical marca el punto a partir del cual la concentración de proteínas es menor de 1 ppm.

De las proteínas indexadas en esta base de datos, el 38% de ellas son proteínas poco abundantes, con menos de 1 ppm y el 62% más de 1ppm.

El 67% del repertorio peptídico secuenciado en bazo procedía de proteínas con concentraciones superiores a 1 ppm dentro del proteoma, pero el 23% restante procedían de proteínas poco abundantes. Aunque no existen datos específicos del proteoma del bazo, se puede afirmar que las proteínas mayoritarias en el repertorio asociado a HLA-DR en bazo no necesariamente corresponden a las mayoritarias dentro del proteoma humano.

| Muestra | Proteína | Localización Celular | Frecuencia | ppm* |
|---------|---|----------------------|------------|-------|
| Bazo1 | Ceruloplasmin | E/EM | 9% | 1830 |
| | Dipeptidyl-peptidase 1 | Lis/End | 6% | 24 |
| | Phosphoglycerate kinase 1 | C | 5% | 1481 |
| | Complement C1q subcomponent | E/EM | 5% | 194 |
| Bazo2 | Apolipoprotein A-IV | E/EM | 12% | 2605 |
| | Cathepsin S | Lis/End | 8% | 6 |
| | Inter-alpha-trypsin inhibitor | E/EM | 5% | 1546 |
| Bazo3 | Serotransferrin | E/EM | 19% | 10888 |
| | Fibrinogen beta chain | E/EM | 8% | 6488 |
| | HLA class II, DR alpha chain | M | 7% | 12 |
| | Probable serine carboxypeptidase (CPVL) | Lis/End | 6% | 5 |
| | HLA class I, alpha chain | M | 5% | 8 |
| Bazo4 | C-reactive protein | E/EM | 52% | 70 |
| | Ig heavy chain V-III | E/EM | 9% | 251 |

Tabla. 2.4. Listado de proteínas con frecuencias de secuenciación de péptidos superiores al 5% de cada muestra de bazo. *ppm, partes por millón, concentración de cada proteína en el proteoma humano, según PeptideAtlas.

En la tabla 2.4 están listadas las proteínas que generaron péptidos con frecuencias superiores al 5%. Excepto la *Phosphoglycerate kinase 1*, enzima intracelular ubicua y abundante (1481ppm) relacionada con la glicolisis, el resto de péptidos procedían de proteínas degradadas en la ruta endocítica. Ocho de las catorce proteínas más frecuentemente secuenciadas, como C1q, fibrinógeno, apolipoproteína A-IV o la propia CRP, procedían del espacio extracelular. Las otras proteínas mayoritarias de origen no exógeno estaban involucradas en el procesamiento y presentación de antígeno (Dipeptidyl-peptidase 1, Cathepsin C, HLA-II-DR α chain, HLA-I α chain, Cathepsin S y carboxypeptidase CPVL).

2.5. Proteínas y secuencias comunes

Para el análisis comparativo, no cuantitativo, de las secuencias obtenidas en las diferentes muestras, utilizamos los 1108 péptidos únicos, sin tener en cuenta la redundancia.

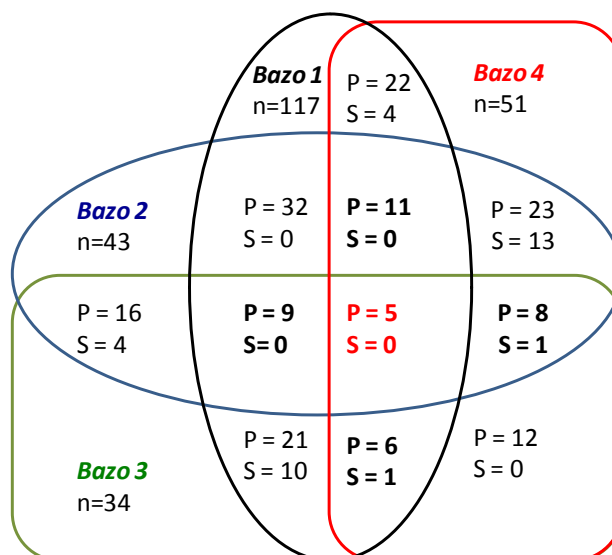


Figura 2.4. Diagrama de Venn de las proteínas compartidas entre las cuatro muestras de bazo. n= número de proteínas únicas en cada muestra; P= proteínas compartidas; S= Secuencias idénticas compartidas. En negrita, los datos correspondientes a comparaciones con 3 muestras y en negrita y rojo las proteínas y secuencias comunes a todos los bazos.

De las 73 proteínas comunes, 5 estaban presentes en todas las muestras analizadas, 14 en tres y 54 en 2 (Figura 2.4). Solo el 4% de las secuencias eran idénticas (42 de 1108). Las cinco proteínas que generaron péptidos en todos los bazos fueron: la *α-2-macroglobulin*, relacionada con la coagulación sanguínea; el factor de complemento C3 y la *Inter-α-trypsin inhibitor heavy chain H4*, de la inmunidad innata; y *HLA-DR α-chain* y *78 kDa glucose-regulated protein*, relacionadas con presentación antigénica. Ninguna de estas proteínas comunes generaron el mismo ligando en todas las muestras, todas HLA-DR diferentes, con la excepción de dos que compartían un alelo (HLA-DRB1*03:01, común entre bazo2 y bazo 4). Únicamente dos proteínas, la *78 kDa glucose-regulated protein* y *probable serine carboxypeptidase* CPVL, generaron ligandos idénticos en tres de las muestras. Las secuencias obtenidas de la primera proteína no se pudieron asignar a ningún alelo, mientras que el péptido derivado de la CPVL se asoció a DR8 en el bazo 2, DR7 en el bazo 3 y a DR1 en el bazo 4.

2.6. Características y funcionalidad del repertorio peptídico asociado a HLA-DR en bazo

2.6.1. Distribución de tamaño

El tamaño de los péptidos asociados a HLA-DR presentó una distribución gaussiana (Figura 2.5), con una longitud media de 16 aminoácidos (9-33 aa's) y un peso molecular medio de 1800. Este tamaño se encuentra dentro de los cánones de los ligandos para MHC-II.

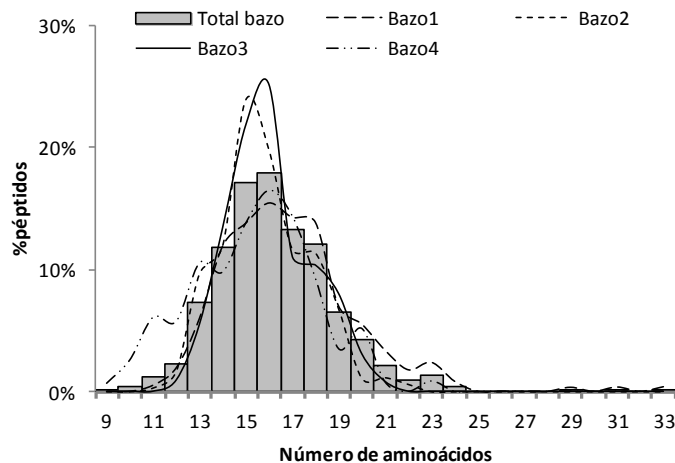


Figura 2.5. Distribución de tamaño de los péptidos. Cada línea representa una de las muestras analizadas y el histograma, la media de los valores.

2.6.2. Proteínas de origen y ruta de procesamiento de los péptidos secuenciados

Los péptidos se clasificaron en función del compartimento celular donde se encuentra la proteína parental. También se agruparon los péptidos según su posible ruta de degradación, citosólica (C) o endocítica (E). Los péptidos procedentes de proteínas de membrana (M), del espacio o matriz extracelular (E/EM), Golgi (G), retículo endoplasmático (ER) o endosomas y/o lisosomas (Lis/End) se asociaron a las rutas de procesamiento endocítico. Los péptidos correspondientes a proteínas citosólicas (C), mitocondriales (mit) o nucleares (N) se asignaron a la vía citosólica. Usando este criterio, el 79% de los péptidos obtenidos se degradarían por la vía endocítica (Figura 2.6A) y la vía citosólica aportaría el 21% restante.

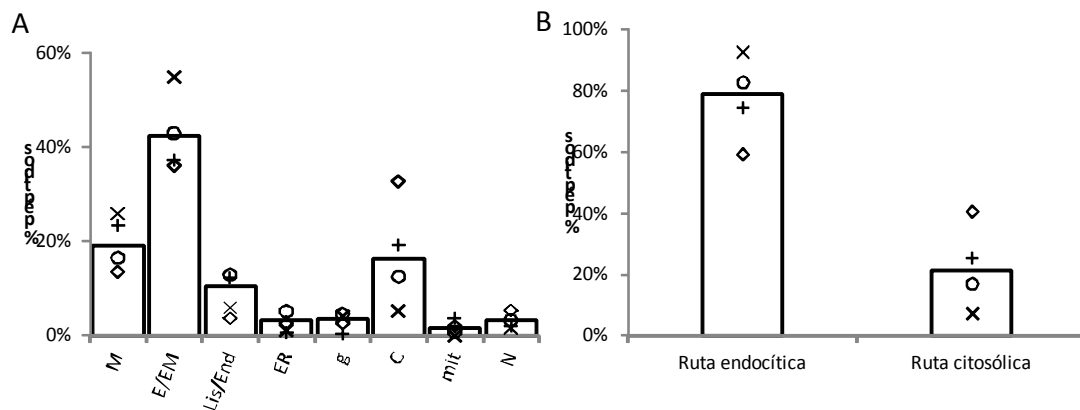


Figura 2.6. Localización y ruta de degradación de las secuencias peptídicas asociadas a HLA-DR en bazo. A) Localización celular de las proteínas parentales de los ligandos de HLA-DR; membrana (M), extracelular o matriz extracelular (E/EM), Golgi (G), Reticulo endoplasmático (ER), endosoma/lisosoma (Lis/End), citosol (C), mitocondria (mit) o núcleo (N). B) Media porcentual de los ligandos de HLA-DR para cada ruta degradativa. Ruta endocítica: M, E/EM, Lis/End, ER y G. Ruta citosólica: C, mit y N. Las columnas representan la media de los péptidos procedentes de las muestras de bazo 1 (o), bazo 2 (+), bazo 3 (x) y bazo 4 (◊).

Al desglosar las rutas de procesamiento, las proteínas captadas extracelularmente (43%) o de membrana (19%) aportaron más del 60% de los ligandos secuenciados (Figura 2.6B). De las proteínas extracelulares, gran parte de estas ellas se relacionaban con la respuesta inmunitaria (i.e, complemento, *macrophage migration inhibitory factor*, *osteopontin*), con procesos de coagulación (*antitrombina-III* o *fibrinógeno*) o con funciones homeostáticas (*angiotensinógeno*, *albúmina sérica* o *ferritina*). Respecto a

las proteínas de membrana, se secuenciaron péptidos relacionados con la presentación antigénica (CD74, cadenas α y β de DR, cadena α de clase I y DP), adhesión celular (cadherinas, integrinas o VCAM-1), activación celular (CD4, CD79) y actividad leucocitaria como CD85d, CD32, CD206 o TLR-5, entre otras. El 16% del repertorio global provenía de proteínas citoplasmáticas, variando entre el 5% (Bazo 3) y el 20% o 34% de los bazos 2 y 4, ambos DR3⁺. En este grupo encontramos proteínas estructurales como la miosina, subunidades del proteasoma o proteína kinasas, entre otras. El cuarto compartimento que aportó más ligandos al repertorio es el endolisosómico, con un 10%. Dentro de este grupo aparecen de forma predominante ligandos relacionados con el procesamiento antigénico como cathepsinas (A, B, C, D, F, L1, S and Z) o proteínas involucradas en el tráfico de vesículas como la clatrina.

2.6.3. Funcionalidad del repertorio

La funcionalidad de las proteínas parentales del repertorio presentado por las APCs de bazo se analizó utilizando la herramienta informática DAVID (*Functional Annotation Bioinformatics Microarray Analysis*, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>). Este programa analiza el incremento de proteínas relacionadas con una vía o función biológica en una muestra de proteínas, comparado con el genoma humano. Para el estudio se utilizó la base de datos “*Gene Ontology consortium database, GO*” y se consideraron las agrupaciones que presentaban un grado de enriquecimiento superior o igual a 2 (Tabla 2.5).

| Agrupación funcional | Enrichment Score | | | |
|--|------------------|-------|-------|-------|
| | Bazo1 | Bazo2 | Bazo3 | Bazo4 |
| Lymphocyte mediated immunity | 6,6 | 4,1 | 3,6 | 2,2 |
| Complement activation | 5,7 | 3,5 | 2,8 | 3,1 |
| Glycosaminoglycan binding | 2,1 | 2,7 | 4,5 | - |
| Coagulation | 2,7 | - | 2,2 | - |
| Negative regulation of apoptosis | - | 3,9 | - | 2,2 |
| Vesicle | - | - | 7,5 | 7,5 |
| MHC class II receptor activity | 3,6 | - | - | - |
| Lysosome | - | 2,3 | - | - |
| Peptidase inhibitor activity | - | - | 2,2 | - |
| Phagocytosis | - | - | - | 2,9 |
| Cellular ion homeostasis | - | 2 | 2,1 | - |
| Lipid homeostasis | - | - | 3,3 | - |
| Tissue regeneration | - | - | 2,4 | - |
| Regulation of cellular component size | - | - | - | 2,3 |
| Regulation of protein modification | - | 2,3 | - | - |
| ER-associated protein catabolic | - | 2,2 | - | - |

Tabla 2.5. Representación y tabla de los grupos funcionales obtenidos mediante DAVID. Grupos funcionales derivados del análisis de cada muestra con el sistema DAVID, utilizando la base de datos de “Gene Ontology”. Solo los grupos funcionales con valores de enriquecimiento superiores a 2 fueron tenidos en cuenta.

En todas las muestras analizadas aparecieron agrupaciones funcionales relacionadas con inmunidad mediada por linfocitos y activación del complemento y la unión de glicosaminoglicanos (GAGs) estuvo representada en 3 de las 4 muestras analizadas. Este grupo funcional/estructural contiene proteínas con capacidad de interacción selectiva y no covalente con grupos glicano (polisacáridos). Estas proteínas son

abundantes a nivel de membrana o en el espacio extracelular. El resto de agrupaciones funcionales fue más diverso. Varios de los grupos obtenidos englobaron actividades relacionadas con el procesamiento y la presentación antigénica (receptores MHC-II, lisosomas, transporte vesicular, fagocitosis y catabolismo del RE) o con funciones homeostáticas relacionadas con lípidos, metabolismo celular de iones (agrupación presente en dos de las muestras), apoptosis o coagulación.

2.7. Afinidad teórica de los ligandos de HLA-DR en bazo

El método de predicción de afinidad de los péptidos a los alelos de HLA-DR expresados por cada donante se describe en el capítulo 1. Se utilizaron tres métodos y se asignó el grado de afinidad si había consenso entre al menos dos de ellos. El sistema Propred se utilizó para todos los alelos, salvo DR407 (muestra 1) cuya matriz de asignación no está disponible en Propred, para el que se utilizó la herramienta TEPITOPÉpan.

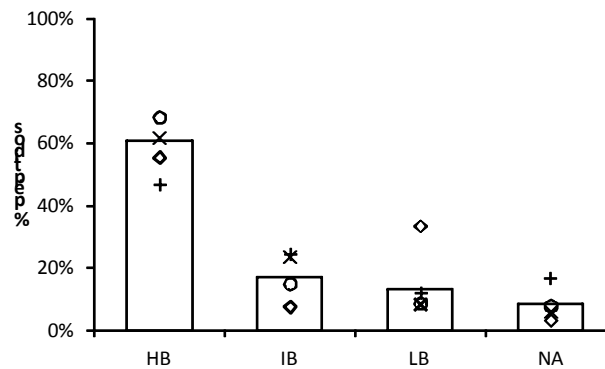


Figura 2.7. Análisis de la afinidad de unión teórica del péptido a la molécula de MHC. Comparación de la predicción de afinidad de unión teórica de los péptidos asociados a HLA-DR aislados de APCs esplénicas. Las columnas representan la media de los péptidos procedentes de las muestras de bazo 1(o), bazo 2 (+), bazo 3(x) y bazo 4 (◇).

El 61% de los ligandos secuenciados presentaron una afinidad teórica alta (HB) por uno o ambos alelos de HLA-DR. El 17% y 14% restante correspondieron a ligandos de HLA-DR con afinidades teóricas intermedias (IB) o bajas (LB), respectivamente (Figura 2.7). El 8% fueron ligandos cuya afinidad teórica no se podía asignar ya que daba resultados diferentes con los tres predictores. Al analizar las afinidades respecto de la ruta de procesamiento, los péptidos procesados por la vía canónica de degradación endocítica presentaron un porcentaje mayor de ligandos HB. Entre los péptidos asignados a la ruta citosólica se demostró la misma tendencia pero con mayor abundancia de péptidos IB o LB (Figura 2.8). Los péptidos procedentes de proteínas presumiblemente procesadas por esta vía aportan un 30% de ligandos de baja afinidad en comparación con el 9% que de ligandos LB asignados a la ruta endocítica (Figura 2.8).

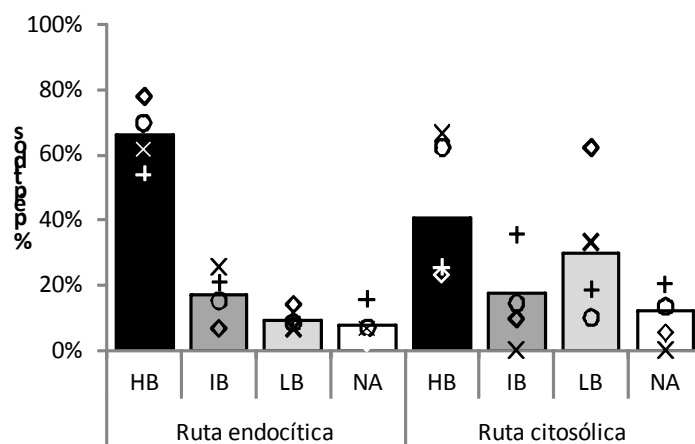


Figura 2.8. Análisis de la afinidad de unión teórica del péptido a la molécula de HLA-DR. Predicción de la afinidad de unión teórica en función de la vía de degradación proteica. Las columnas representan la media de los péptidos procedentes de las muestras de bazo 1(o), bazo 2 (+), bazo 3(x) y bazo 4 (◊). Las barras de color negro corresponden a la media de los HB, gris oscuro a los IB, gris claro a los LB y blanco a los no asignados (NA).

Respecto a los compartimentos celulares, los péptidos procedentes de la membrana celular y sobre todo de proteínas extracelulares fueron mayoritariamente de alta afinidad (Figura 2.9 A). Los ligandos derivados de proteínas del RE, citoplasma o núcleo presentaban porcentajes de HB y LB similares, los péptidos procedentes de la mitocondria fueron mayoritariamente IB (Figura 2.9 B).

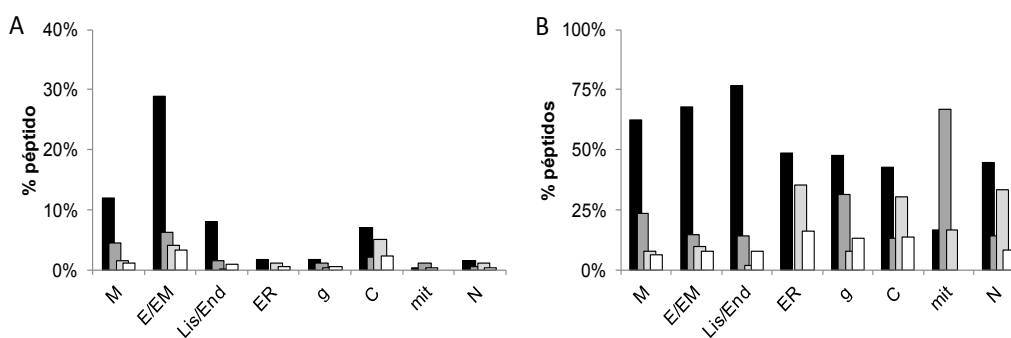


Figura 2.9. Análisis de la afinidad de unión teórica del péptido a la molécula de MHC. A) Predicción de afinidad de unión teórica en función del total de la localización de las proteínas parentales. B) Predicción de afinidad de unión teórica en función del total de los péptidos asignados a cada una de las localizaciones. Las columnas representan la media de los péptidos procedentes de las 4 muestras de bazo. Las barras de color negro es la media de HB, las gris oscuro de IB, las gris claro de LB y las barras blancas de NA.

La inmunopurificación de los complejos péptido-MHC mediante el anticuerpo B8.11.2 puede conllevar la purificación de moléculas de HLA-DR compuestas por variantes de la cadena β , codificadas por otros genes DRB, p.e. DRB3 para el haplotipo DR3. Mediante nuestro sistema de purificación no descartamos que un cierto número de secuencias obtenidas proceda de la purificación de péptidos asociados a estas variantes. Los motivos de unión de estas moléculas están incompletos o por identificar y los sistemas de asignación teórica carecen de matrices de asignación para estas moléculas, lo que nos impide su análisis. Por lo tanto, existe la posibilidad de que algunos de los péptidos de baja afinidad teórica pertenezcan a alelos formados por cadenas beta de los otros genes de HLA-DR expresados en los diferentes haplotipos.

Capítulo 2

Discusión

Análisis de los péptidos asociados a HLA-DR en ausencia de infección en bazo de donantes de trasplante

El bazo es un órgano multifuncional cuya función principal es la destrucción de eritrocitos deteriorados, y tiene cierta capacidad eritropoyética y de reserva sanguínea. Además, es el mayor órgano linfóide secundario especializado en la respuesta a antígenos presentes en el torrente sanguíneo. Aproximadamente, el 82% de las células nucleadas en bazo humano corresponde a linfocitos, el 52% a linfocitos B (Colovai et al. 2004). Los macrófagos y las DCs componen el 9,2% y el 0,7% respectivamente (McIlroy et al. 2001). En este trabajo mostramos que la expresión de HLA-DR se concentra principalmente en los folículos. Debido al acúmulo de linfocitos B que los componen, la intensidad de señal es mayor que la que generan las DCs y macrófagos DCSIGN⁺ que los rodean, aunque a nivel individual sobre todo las DCs expresan altos niveles de HLA-DR. Por tanto, aunque no hemos hecho separación celular previa y por tanto no podemos saber el origen celular del repertorio de péptidos obtenido, una gran parte de las moléculas de HLA-DR analizadas debería proceder de los linfocitos B.

En total se obtuvieron 3365 secuencias peptídicas de 4 muestras de bazo humano, muchas de las cuales eran redundantes. La concentración del péptido en la muestra es determinante para poder ser reconocida y fraccionada por el espectrómetro de masas. Aún así, la capacidad de ionización y fragmentación de las secuencias peptídicas varía en función de los aminoácidos que la componen, lo que implica que hay secuencias más fácilmente detectables y analizables por MS. Incluso fraccionando la muestra por HPLC (SCX (*offline*) y RP (*online*)) y utilizando ventanas de exclusión temporal en el protocolo de barrido del Orbitrap (ver Materiales y Métodos), determinados fragmentos peptídicos se secuenciaron reiteradamente. Por lo tanto, si hallamos gran cantidad de péptidos derivados de una única proteína, podemos suponer que tanto el procesamiento como la presentación de péptidos de esta proteína son más eficientes que el resto. A excepción de la CRP de la muestra de bazo 4, hemos observado que la frecuencia de los ligandos procedentes de una misma proteína rondan entre el 9% y el 19% del total de secuencias de la muestra. Los péptidos de las proteínas más secuenciadas proceden de la captación de componentes de origen sérico. Por norma general, los péptidos obtenidos se agrupan dentro de familias peptídicas o *nested sets* y se presenta de forma dominante una única región de la proteína parental (epítipo inmunodominante). No podemos descartar que una ampliación futura de la capacidad de detección de los equipos de MS pueda secuenciar otras regiones de una misma proteína. En el caso del bazo 1, donde se lograron secuenciar 1445 péptidos, los péptidos de ceruloplasmina fueron los más secuenciados y procedían de 4 regiones diferentes de la proteína. Aun así, únicamente dos familias peptídicas conformaron el 98% de los péptidos obtenidos. Los péptidos secuenciados de las proteínas más representadas generaron amplios *nested sets* compuestos de entre 7 a 15 ligandos. La inmunodominancia de determinados ligandos es visible en todas las muestras analizadas. Un ejemplo claro es la CRP, cuyos 400 péptidos, que ocupan más del 50% de los péptidos secuenciados del bazo 4, proceden de una única región. Estas secuencias constituían ligandos de alta afinidad de uno de los alelos de HLA-DR del donante, HLA-DR1.

Si descartamos las secuencias redundantes, se secuenciaron 1108 secuencias, procedentes de 318 proteínas. De estas 1108, sólo 42 secuencias idénticas se identificaron en más de una muestra (número

de secuencias únicas 1066). Aun así, ligandos de 73 de las 318 proteínas parentales se secuenciaron en más de un bazo y este reducido número de proteínas generaron por sí solas cerca del 50% del repertorio obtenido. Aunque el solapamiento peptídico es pequeño, de las cinco proteínas secuenciadas en todas las muestras, cuatro de ellas aportaron péptidos procedentes de la misma región proteica. Lo que indica que epítomos inmunodominantes o al menos regiones inmunodominantes son evidentes incluso entre muestras con alelos diferentes de HLA-DR. Además, se identificaron péptidos de 51 proteínas que ya habían sido secuenciadas en estudios previos de secuenciación de ligandos de HLA-DR de APCs en cultivo (linfocitos B, T o DCs) (Röhn et al. 2004; Bozzacco et al. 2011; Costantino et al. 2012). Aún con alelos diferentes a los de este estudio, 19 proteínas humanas descritas en estos estudios compartían secuencia con las obtenidas en este trabajo. Gran parte de ellas procedentes de proteínas del sistema inmunitario como las propias moléculas de HLA-DR, CD79, catepsina S, TGFβ-receptor III, thymosin β-4-like protein 1 o calreticulina. Incluso comparando con el repertorio asociado a MHC-II en APCs de ratón, hemos encontrado 10 proteínas comunes. Dos de ellas, serotransferrina y MHC-II, tienen incluso secuencias idénticas o conservadas en los repertorios peptídicos que presentan (Tabla 2.5).

| | |
|---|-----------------------|
| H-2 E [<i>Mus musculus</i>] | 54-AQGALANIAVDKAN-67 |
| Identidad de secuencia | AQGALANIAVDKAN |
| HLA-DR [<i>Homo sapiens</i>] | 50-AQGALANIAVDKAN-63 |
| Serotransferrin [<i>Mus musculus</i>] | 110-PQTYYYAVAVVKK-122 |
| Identidad de secuencia | PQT+YYAVAVVKK |
| Serotransferrin [<i>Homo sapiens</i>] | 110-PQTFYYAVAVVKK-122 |

Tabla 2.5. Secuencias idénticas entre especies. Comparación entre secuencias peptídicas obtenidas en las muestras de bazo analizadas y las obtenidas en trabajos de secuenciación peptídica de ligandos de clase II en APCs de ratón.

El hecho de encontrar estas secuencias en otros trabajos, presentados por diferentes alelos de DR, refuerza la idea de epítomos inmunodominantes dentro de las proteínas, compartidos incluso entre especies. En algunos casos al menos, los epítomos inmunodominantes parecen ser también promiscuos, es decir se pueden asociar a diferentes alelos de HLA-DR.

El repertorio peptídico en bazo está enriquecido en material sanguíneo debido a su conexión directa con la circulación sanguínea y a su función de eliminación de restos celulares sanguíneos. El procesamiento antigénico y la función de drenaje y eliminación de estos restos se ve reflejada en el incremento en las agrupaciones funcionales relacionadas con estos procesos, tales como fagocitosis, apoptosis, transporte vesicular/lisosomal y MHC-II. Los péptidos secuenciados procedían mayoritariamente del compartimento extracelular y las proteínas séricas eran la fuente principal. Es interesante notar que hay un aumento detectable de péptidos procedentes de proteínas del sistema de complemento y la respuesta inmunitaria adaptativa. Esto contrasta con los estudios previos según los cuales los repertorios de células en cultivo muestran una tendencia a favor de la presentación de péptidos de proteínas intracelulares (Röhn et al. 2004; Bozzacco et al. 2011; Costantino et al. 2012). La diferencia es esperable ya que nuestros datos representan el peptidoma de un conjunto diverso de células de un tejido en condiciones fisiológicas y en presencia del estroma tisular. En este conjunto se

incluyen células de gran capacidad fagocítica, DC y macrófagos, que favorecerían la captación de material externo y que son especialmente eficientes como presentadoras de péptidos.

El repertorio peptídico en bazo en condiciones homeostáticas demuestra por tanto ser un reflejo de las principales funciones del tejido. Las proteínas más representadas están relacionadas con diferentes aspectos de la respuesta inmune o son proteínas de origen sanguíneo. Según esto, variaciones en la homeostasis tisular podrían generar cambios perceptibles en la composición del repertorio, y un ejemplo de esto podría ser la alta frecuencia de secuenciación de la CRP en el bazo 4. La CRP es una proteína que aumenta considerablemente en suero en inflamación. Los datos clínicos del donante indican la presencia de hepatopatía por enol, VE, y hepatitis isquémica. Es de presumir que estos procesos inflamatorios del hígado habrían generado altos niveles de CRP que estaría en suero y por lo tanto irían al bazo, donde sería captada por las APC locales.

Los datos también presentan ciertas discrepancias respecto a estudios *ex vivo* del repertorio peptídico presentado por células dendríticas y linfocitos B esplénicos de ratón. La aportación de material extracelular a estas células era menor que el obtenido en nuestro estudio, sobretodo en células B, en las cuales el porcentaje de ligandos extracelulares era sólo del 11% (Bozzacco et al. 2011) y había un gran incremento de material intracelular en el repertorio peptídico presentado. Esto podría explicarse debido a los procesos de enriquecimiento y activación celular *in vivo* junto con los posteriores procesos de separación celular. La activación de las APCs disminuiría la capacidad de captación de material celular y la falta de componentes proteicos en el medio externo durante los procesos de purificación podrían aumentar la presentación de ligandos de origen citosólico.

En nuestro estudio, la aportación de la ruta de degradación endocítica fue mayoritaria. Los compartimentos más relevantes que aportaron material fueron: espacio o matriz extracelular (43%), membrana (19%) y lisosomas/endosomas (12%). A pesar que la expresión de HLA-DR es más abundante en el compartimento B del bazo (folicúlos), las células B no son particularmente eficientes en la presentación de material exógeno salvo si es reconocido por su Ig de superficie, sugiriendo que ese material extracelular sería potencialmente captado y presentado por DCs del PALS o de la pulpa roja o macrófagos. Solo el 21% de los ligandos secuenciados procedían de compartimentos citoplasmáticos, de las cuales el 16% eran citosólicos. Aunque estas proteínas pueden ser degradadas en el citosol e introducidas posteriormente a la vía endocítica, no podemos descartar que su presentación dependa también la autofagia o de la fagocitosis y degradación de restos celulares por DCs y macrófagos. Las DCs esplénicas de la pulpa roja, pueden captar y procesar proteínas séricas, eritrocitos y otros tipos celulares (Belz et al. 2002). Lo mismo harían los macrófagos, localizados en la zona marginal donde actúan también como APCs (Dijkstra et al. 1985). El repertorio reflejaría la importancia del bazo en el drenaje de material sanguíneo en la pulpa roja y su relación con la inmunovigilancia de antígenos sanguíneos capturados por las DCs y que podrían ser reconocidos por los linfocitos T de la pulpa blanca.

Del las 1108 secuencias no redundantes, el 84% eran ligandos de afinidad teórica alta y media por sus respectivas moléculas de DR. El 16% restante se consideraron ligandos de baja afinidad a excepción del bazo 4, con un porcentaje del 34%. Las DCs inmaduras presentan un ratio HLA-DR/HLA-DM de 4:1. Tras

su activación y maduración de las dendríticas, hay un aumento en la expresión de DR, disminuyen la expresión DM hasta un ratio de 40:1 (Röhn et al. 2004). Si la muestra 4 presentaba inflamación, la diferencia de expresión de DR/DM podría facilitar la presentación de ligandos de baja afinidad en condiciones de inflamación.

Estas secuencias de baja afinidad se asignaron a proteínas presentes en todos los compartimentos evaluados, pero parece ser que son más frecuentes en compartimentos no asociados a la ruta de procesamiento canónica del MHC-II, como proteínas citosólicas, nucleares o residentes del RE. Aunque el número de ligandos de proteínas procedentes del citosol (n=181) es lo suficientemente alto como para que sea representativo, los ligandos del RE (n= 37) o nucleares (n= 36) pueden no serlo. Aun así, hay compartimentos como el golgi (n=38) o las mitocondrias (n=18) que generan porcentajes de HB, IB y LB similares a los que se aprecian en los compartimentos extracelulares o de membrana.

No podemos descartar tampoco que algunos de estos ligandos puedan estar asociados a otras moléculas de DR. Los sistemas de predicción de afinidad de unión teórica ya son, de por sí, sistemas orientativos y se incrementa la incertidumbre de su predicción si los motivos de unión de los alelos no están claramente definidos. Por ello, este estudio se realizó sin tener en cuenta las otras cadenas β que pueden expresarse en las muestras. Aun así, el estudio sugiere que el proceso de presentación antigénica genera, en condiciones homeostáticas, ligandos de básicamente de alta afinidad que, junto con el hecho de secuenciar mayoritariamente familias peptídicas, indican regiones de alta representatividad dentro de las proteínas que podrían ser las que se tolerizan y mantienen la homeostasis celular de los linfocitos T en periferia.

Capítulo 3

Análisis de los péptidos asociados a HLA-DR en timos de donantes pediátricos no afectados por enfermedad inmunológica ni infección

3. Análisis de los ligandos de HLA-DR en timo humano

3.1. Descripción de las muestras

Las muestras de timo procedían de de pacientes pediátricos con patologías cardíacas y sin otras enfermedades en el historial médico, obtenidas por el personal médico del Hospital de la Vall d'Hebron, con consentimiento explícito por parte de los padres y cedidas a investigación al Laboratori d'Immunobiologia per a la Recerca i les Aplicacions Diagnòstiques (LIRAD) tras aprobación por el comité ético correspondiente

Se analizaron 5 muestras, procedentes de tres varones y dos hembras con edades comprendidas entre 4 días y 9 meses (Tabla 3.1). Las muestras Timo1 y Timo2 presentaban el mismo tipaje para HLA-DR y se procesaron de manera idéntica a las muestras de bazo descritas en el capítulo 2, utilizando la tecnología Orbitrap en el departamento CSIC/UAB Proteomics Laboratory, IIBB-CSIC, IDIBAPS, Facultat de Medicina, UAB. Los *pooles* peptídicos de las muestras 3, 4 y 5 se purificaron de igual manera pero se fraccionaron de diferente forma: Timo3, se fraccionó por RP-HPLC tal y como se había descrito (Alvarez et al. 2007); Timo 4, se fraccionó por “*cationic exchange–reversed-phase 2-D chromatography*” (Alvarez et al. 2008); Timo 5 no se fraccionó. Para las muestras de timo 3, 4 y 5 se utilizó un espectrómetro de masas *Esquire HCT ion trap mass spectrometer* (Bruker, Billerica, MA, USA), acoplado a un sistema nano-HPLC (UltiMate; LC Packings, Amsterdam, The Netherlands)(Alvarez et al. 2008) en el servicio de proteómica del Hospital Universitario de la Vall d'Hebrón de Barcelona. Todas las muestras expresaban el alelo HLA-DR3. El procesamiento de las muestras se realizó sin separación celular previa. Por tanto, las moléculas de HLA-DR purificadas procedían de las poblaciones de cTECs, mTECS, DCs, células B y macrófagos presentes en timo.

| | <i>Timo1</i> | <i>Timo2</i> | <i>Timo3</i> | <i>Timo4</i> | <i>Timo5</i> |
|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Edad | 7 meses | 4 días | 6 meses | 5 meses | 9 meses |
| Sexo | M | F | F | M | M |
| HLA-DRB1 | 01:01 03:01 | 01:01 03:01 | 03:01 11:01 | 03:01 15:01 | 03:01 11:04 |

Tabla.3.1. Características de las muestras de timo analizadas, edad, sexo y tipaje para HLA-DR

3.2. Expresión de HLA-DR en timo humano

La expresión de HLA-DR en timo se examinó mediante microscopia confocal utilizando un anticuerpo monoclonal anti-HLA-DR conjugado con Alexa Fluor®647. Los resultados indicaron un número relativamente bajo de células HLA-DR positivas en el córtex, asociado principalmente a las cTECs. La densidad celular es mayor que en la médula debido a un mayor número de timocitos proliferando en el córtex. La médula muestra un patrón distinto, con menor celularidad y mayor densidad de HLA-DR. Es en este área donde encontramos más células con alta expresión de HLA-DR, p.e. mTECs, DCs, B cells y macrófagos, en contacto con los timocitos (figura 3.1A). La cuantificación de la intensidad de fluorescencia media del Alexa Fluor® 647 muestra un ratio promedio de expresión de HLA-DR de 3.1 de médula respecto a córtex ($p < 0.0001$) (figura 3.1B).

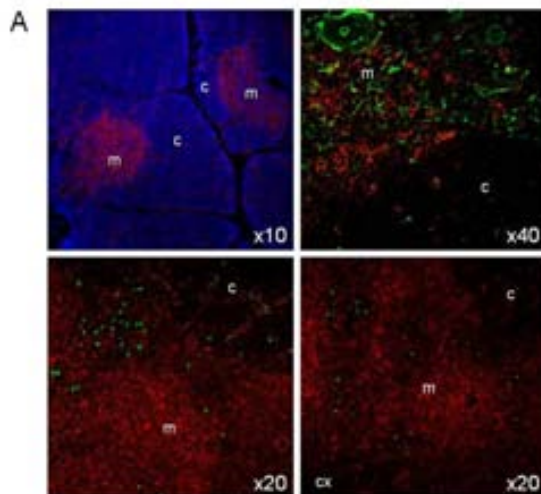
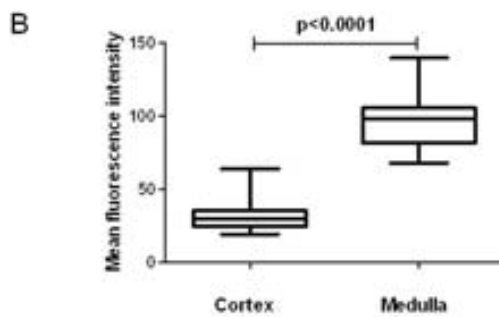


Figura 3.1. Expresión de HLA-DR en muestras de timo. La tinción de HLA-DR se muestra en rojo en todas las imágenes de microscopía confocal. A) Arriba izquierda: distribución de la expresión de HLA-DR en el timo, donde se ve una elevada densidad de expresión a nivel medular (m). La tinción de núcleo con DAPI (azul) muestra una densidad celular muy alta a nivel de la corteza tímica (c). Amplificación del objetivo: 10X. Arriba derecha: La tinción con anti-citoqueratina (verde) muestra una alta concentración de células epiteliales en la médula, menor en el córtex. Amplificación del objetivo: 40x. Abajo izquierda: expresión de DC-SIGN (verde), marcador de DCs convencionales. Las DCs son relativamente pocas y concentradas en la médula. Amplificación del objetivo: 20x. Abajo derecha: expresión de marcadores específicos de células B CD19 (verde) junto con la expresión de HLA-DR. Las células B son pocas en número y también se observan básicamente a nivel de médula. Amplificación del objetivo: 20x. B) Cuantificación relativa de la expresión de HLA-DR en el córtex y en la médula: 40 campos con idéntica área de médula y córtex procedentes de 8 secciones de tejido fueron analizados. La intensidad de fluorescencia de Alexa Fluor® 647-anti-HLA-DR se calculó para cada región. La intensidad de fluorescencia media (MFI) se calculó utilizando el promedio de fluorescencia de los 40 valores de córtex y 40 de médula. Los datos fueron analizadas utilizando el MetaMorph software package (Universal Imaging Corporation Downingtown, PA). Como método estadístico, se realizó un t-test con un 99% de intervalo de confianza utilizando el GraphPad Prism software (©2012 GraphPad Software, Inc.). Las diferencias en intensidad de fluorescencia entre los dos conjuntos fueron significativas (ratio médula/córtex= 3.1; $p < 0.0001$).



3.3. Secuencias

Igual que en bazo, las secuencias obtenidas fueron revisadas y contrastadas con los péptidos contaminantes obtenidos en controles previos (mirar anexo 2.1). En las secuencias obtenidas mediante LTQ-Orbitrap, se asignaron 710 secuencias y se validaron 662. Las secuencias obtenidas de los timos 3, 4 y 5 se revisaron y filtraron de forma manual por el Dr. Iñaki Álvarez, debido a que el espectrómetro de masas era de baja resolución y el número de secuencias no era suficientemente alto para generar una estadística adecuada, con una asignación de FDR fiable.

En la tabla 3.2 se muestra resumido el número de ligandos obtenidos. Solo de las muestras analizadas con el Orbitrap tenemos información del número total de secuencias obtenidas, del resto de muestras carecemos de esa información. Se identificaron 407 secuencias no redundantes (120 en el Timo1, 171 en el Timo2, 54 en el Timo3, 41 en el Timo4 y 21 procedentes del Timo5) procedentes de 164 proteínas. El hecho de que las muestras compartan tipaje de HLA-DR reduce el número de ligandos únicos a 341 secuencias diferentes. La lista completa de los péptidos secuenciados se puede consultar en el anexo 3.1.

| | <i>Timo1</i> | <i>Timo2</i> | <i>Timo3</i> | <i>Timo4</i> | <i>Timo5</i> |
|----------------------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Cantidad procesada (g) | 7 | 8 | 15 | 5 | < 3* |
| Número de secuencias redundantes | 254 | 408 | N/D | N/D | N/D |
| Número de péptidos** | 120 | 171 | 54 | 41 | 21 |
| Proteínas de origen** | 69 | 103 | 19 | 16 | 14 |
| Péptidos únicos | 51 (43%) | 73 (43%) | 11 (20%) | 8 (20%) | 12 (57%) |
| Familias peptídicas | 69 (57%) | 98 (57%) | 43 (80%) | 33 (80%) | 9 (43%) |
| Peptidos por proteína | 1-13 | 1-8 | 1-10 | 1-9 | 1-3 |
| Peptidos por familia peptídica | 2-6 | 2-6 | 2-10 | 2-9 | 2-3 |
| Total péptidos** | 341 (407 secuencias) | | | | |
| Total proteínas** | 164 | | | | |

Tabla 3.2. Descripción del repertorio secuenciado y de las proteínas de las que procedían los péptidos.

*De la muestra 5 se procesaron menos de 3g. Aunque los péptidos de la muestra se incluyeron en la descripción global del repertorio, no se tuvieron en cuenta para los siguientes análisis debido a que las pocas secuencias obtenidas podían no ser representativas del repertorio global.

**Varias secuencias idénticas fueron identificadas en diferentes muestras tímicas. Por lo tanto, el número total de secuencias únicas es menor que la suma total de péptidos obtenidos. Lo mismo ocurre con las proteínas de las que proceden los ligandos obtenidos.

N/D: no hay datos.

3.4. Frecuencia peptídica e inmunodominancia

Los timos 1 y 2 con igual tipaje para HLA-DR (HLA-DR1: DRA1*01:01, DRB1*01:01; HLA-DR3: DRA1*01:01, DRB1*03:01) se utilizaron para realizar una comparación de los repertorios peptídicos. La primera comparación se realizó sobre el total de secuencias obtenidas y validadas. Mucha de ellas fueron redundantes. En total se identificaron 662 secuencias correctas, 254 de t1 y 408 de t2. Se analizó la frecuencia de los péptidos (idénticos o no) procedentes de cada una de las proteínas identificadas (Figura 3.2), de los cuales 37 se detectaron en ambas muestras. No obstante, los péptidos derivados de estas proteínas constituían el 70% del repertorio total obtenido entre los dos timos.

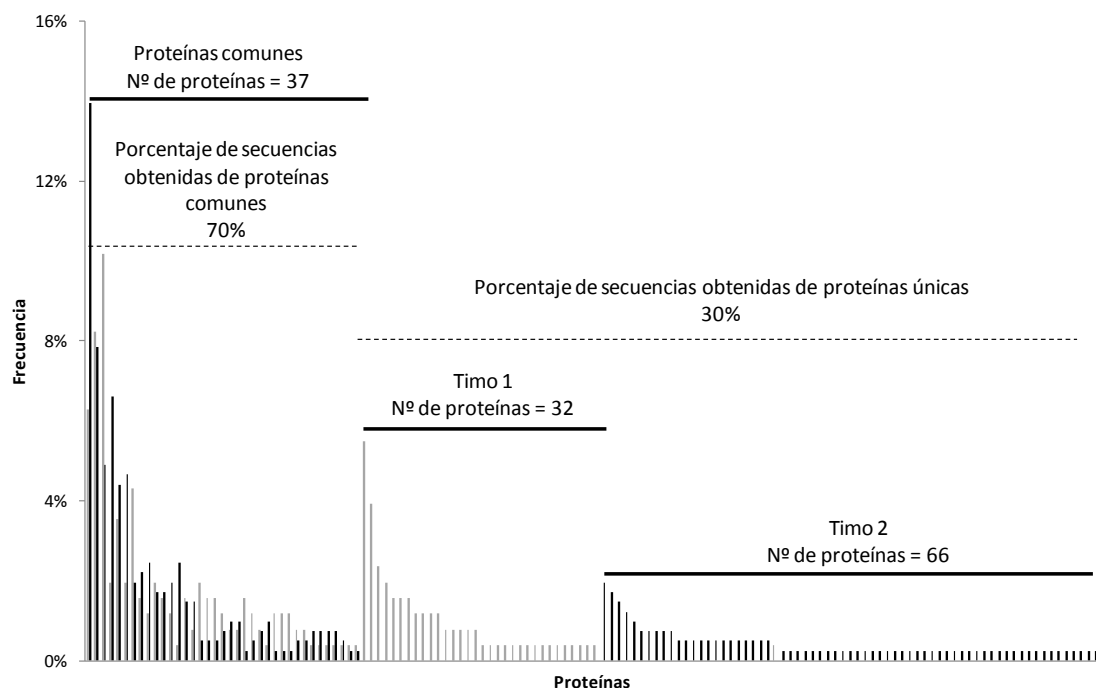


Figura 3.2. Frecuencias de los péptidos de las muestras de timo 1 y timo 2. Cada barra corresponde al número total de péptidos secuenciados procedentes de una única proteína. Las barras de gris claro y gris oscuro representan las proteínas detectadas en timo 1 y timo 2, respectivamente. Eje de abscisas: todas las proteínas identificadas en los repertorios están representadas en dos regiones (líneas punteadas). La primera región agrupa las frecuencias de los péptidos procedentes de proteínas comunes. Esta región contiene el 70% de todas las secuencias obtenidas. La siguiente región está dividida en 2 subregiones y agrupa el 30% de secuencias restantes, que corresponden a los péptidos derivados de proteínas secuenciadas exclusivamente en cada uno de los dos timos. Las barras 37 a 70 (n=32) representan la frecuencia de péptidos de proteínas secuenciadas en timo 1. Las barras 70 a 136 (n=66) representan la frecuencia de péptidos obtenidos de timo 2. Las proteínas se han ordenado de mayor a menor frecuencia de péptidos. Las proteínas se han ordenado según el número de péptidos generados de cada una, de mayor a menor. Eje de ordenadas: porcentaje de péptidos secuenciados de cada proteína, incluyendo péptidos redundantes.

Las proteínas de las que se secuenciaron péptidos con mayor frecuencia estaban relacionadas con la presentación antigénica: *Ig heavy chain V-III* para el timo 1, *DP α chain* para el timo 2 y la *cadena α de DR* en ambas muestras, constituyendo más de 25% del repertorio peptídico secuenciado (Tabla 3.3). La frecuencia de otros péptidos de proteínas no compartidas variaba entre 0,15 al 4,18%. Las secuencias obtenidas procedían mayoritariamente de una única región, conformando *nested sets*. Como vemos en el caso de la cadena α de DR, estas regiones o secuencias inmunodominantes se presentaban de igual manera en los tejidos de donantes HLA-DR idénticos.

| Muestra | Proteína | Localización | Número de péptidos totales | Core |
|---------|--------------------------------|--------------|----------------------------|------------|
| Timo 1 | Ig heavy chain V-III (10%) | E/EM | 4 | YLNMNLSLRA |
| | | | 10 | YLQMNSLRA |
| | | | 1 | YLQMNSLRV |
| | | | 11 | YLQMXSLRA |
| | HLA class II, DR α chain (8%) | M | 19 | IAVDKANLE |
| | | | 2 | VTVLTNSPV |
| Timo 2 | HLA class II, DP α chain (14%) | M | 98 | YYAVAVVKK |
| | HLA class II, DR α chain (8%) | M | 30 | IAVDKANLE |
| | | | 2 | VTVLTNSPV |

Tabla 3.3. Frecuencia de las proteínas más abundantes encontradas en los timos 1 y 2, su localización, el número total de secuencias obtenidas y su core asignado.

Si consideramos todas las muestras, un 74% de las secuencias se podían agrupar en familias peptídicas (rango de 43% a 80%), constituidas por 2 hasta 10 secuencias. Las muestras 1 y 2, con mayor número de ligandos secuenciados, muestran igual porcentaje entre secuencias únicas (43%) y secuencias agrupadas en *nested set* (57%).

Igual que en las muestras de bazo, se realizó una comparación del repertorio redundante (timo 1 y timo 2) respecto a la abundancia de las proteínas descritas en el *peptide atlas* (Figura 3.3 y apartado 2.1, capítulo 2).

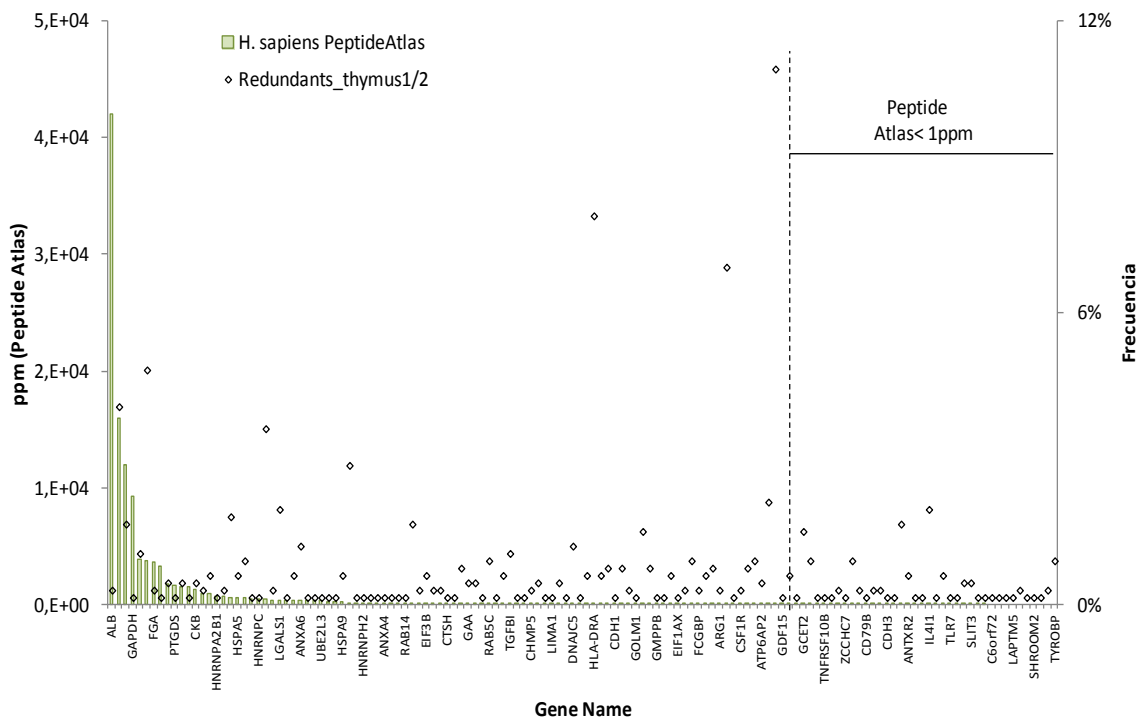


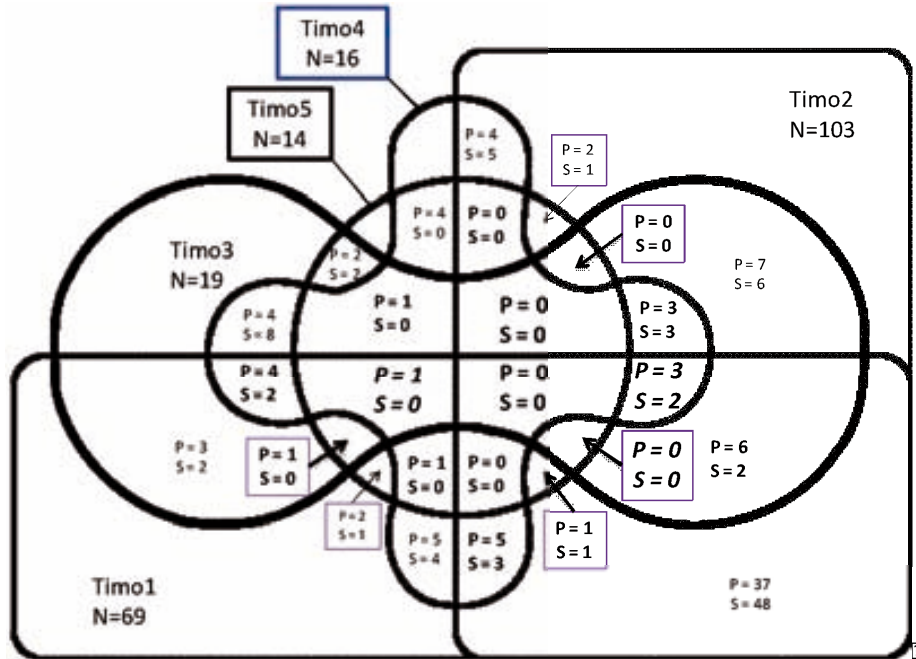
Figura 3.3. Representación de la frecuencia de secuenciación de péptidos derivados de proteínas respecto a lo descrito en el peptide atlas.

La comparación con el repertorio obtenido muestra distribuciones de frecuencia muy diferentes en el timo, comparado con el proteoma humano. Aún así, el 84% de los péptidos proceden de proteínas presentes en el proteoma en cantidades superiores a 1ppm. El 16% restante, proceden de proteínas con concentraciones inferiores a 1ppm, es decir, una sexta parte de los péptidos identificados proceden de proteínas que están muy poco representadas en del proteoma humano (Figura 3.3).

?

Gdka HÍ MÓDUL AJ: ASZULÓ: SAUBASNAURO: AUMUL

?



?

73BH Hnnpbe AAt t ANsép LAct ésal e éplá sAt Ns. I AsLps Alé I t N: sHò ve Ap Aép LAct svt áss A a: I AsLpsép LAct ésal e éplá sHòAal At aásá nt LáshsL2t ppa: I sAt AnpAN sU sál ppAsé t: áLAs al e éppad t AsL t t AsLps/At Anp/ A / pDe Br I AALpNsép LAct ésAal At aásal e éplá sAl pU : I sKt 2s Lá I sH

ANsZ+Kép LAct ésAt Láá: sAt Láe I KKAAsAal At aápd t At t 2s A t I AsLpAt Lp/ áal épl LAct ésAsAá At Láápd t vnt ábe At LAAt kke I AsLpsOAt ; I AsLps/Kép LAct ésAt KÁe I s : áApAt LasAnán pK4 aol A ANs#ép LAct ésAt al t p: sAt t 2s A Lá I sAsLp3t pANá t : s al t ANAséI AsLp e I t Ahtvt áVaAéá t ANN e á t t ANsép LAct és 2s31 t : t LasAt AN ép LAl e ppol e t I 3N; K4pAs: AAsLsép LAct ésAsApsl aá t : áAalDe At LAépAsAt Laá t t Lámt áal e I Ns: At sA A t t t LoéAsá ép LAps I e á t LAAt ANép aSDe áL U : A t U t LnAt I sAt NsámN Ns At : plás ANLé I ANU AaCMAANek" Zk4 Ns e I t nN31 Nt sCUI A aélé t ANt LnAt I épANsámN Ns ANAÉU p Atpst i Appá ZBA t ANs. I Nra Ns AN jCA t e ppa: I p: ALé I aU sAt t k/ t ; /sI I t aá t ASL2pANá t : pbal t At : I aU sás%nl aU sáH p vNé I ANj3AUj á : I aA: BALjnj; ASép : I aá pél pN sDe papi inl sLpSNÁ nAsLá t Aal Apél s pél él Lál sAl al ANek" ü4/ AN MA Lá jZCASL2 El Nap: t At ép aAsI s ANél U sá/ép ANpá t aAN Np ANsKép LAct ésal e I t As ; al e éplA t : sK+ ANsU sénéLá I sAl e éplá I s sl t t : I sL LAT aANs ANZU"; q' ZAN épAsAt LA t U : sN. I AsLpsH

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

| 3n6V | NC | N | Np | Nr | Mi |
|--------------------------|----|---|----|----|----|
| j | U | U | U | U | ? |
| j | U | U | U | U | ? |
| pñt si Appá pAaAéU pz | U | U | U | U | ? |
| j | U | U | U | ? | ? |
| hA/E/ | U | U | U | ? | ? |
| LoAésá | U | U | U | ? | ? |
| MaLá jZ | U | U | ? | ? | H |
| Ap e N e á | U | ? | U | U | ? |
| jbjá : l aA: p LAá njjo; | U | U | ? | U | ? |

BBH hpp LAct sAs ANsUl Aó ApEit éméLá l sáN: l sAt d d At K ANsE l AsLps ALa l it N: sht

?

/l p AaAl At aásnt LáAs AplAt AaAt ANs l AsLps ALa l /k hNAt App l sAl t N s e áe l sN s: A j j j Ape áá N p N s N t : l sN At App: l sE l p e l AsLps á ApAt LasAl t éN Lée. A p p h ASLAAsl ANs Yépl LAct sAl e l t AsAt Lp ANs l s l AsLps h At App t t U L N AZ +; sAal At aásnt áAsOK+Apñt á nt LáAsAt LpAe 3l sLA.á l s/"; éméLá l sEpl aA: At Las A +Epl LAct sAl e l t Asul AAl e épp l AN/ FA h vt á AVaAéá t il A s/t LAT á jZ al t sAal At aásnt éAéLc á s : á ApAt LasAt ANs l s l AsLps h

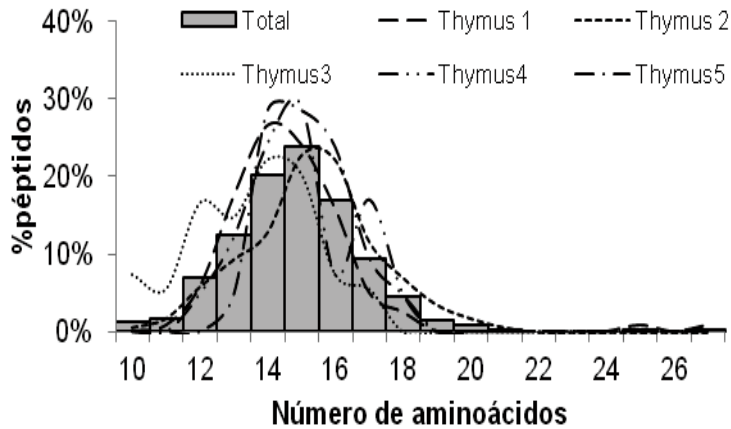
?

Gaa AUFZ ZHS CAIFA- AFÍFZ A- NÍZÍ CAADÍ U ZCÍ , ,

?

; hZ h sLpBI aá t A l e r l

l e r l A N s é mé L á l s Aal At aá: l s á n l At t sLpBI aá t l pe N At U : s N s e l AsLps é n l p ; l C al t t A: á A Z O e á l 2aá l s A At Lp AZ" K Y 4 / t s s A: á A Z h + Q; h l p l t U al e l At B N I C N s é mé L á l s Aal At aá: l s L á At A N l e r l A S L 2 t : p A N s h t : l s A j j j j



?

r 73 BH sLpBI aá t A l e r l ANs Aal At aásnt 3LAT á sAt U : s N s e l AsLps l e á s h : Nt A p A p AsAt U t t ANs e l AsLps t N: s j ANsU np e p A e p AsAt L N A: á AN s E N p As h

?

?

?

?

3.6.2. Origen y ruta de procesamiento del repertorio peptídico en timo

Los péptidos se clasificaron en función de la localización de la proteína parental. El 78% de los péptidos secuenciados procedían de la ruta de degradación endocítica, mientras que el 22% restante derivaban de proteínas degradadas en el citosol (Figura 3.6).

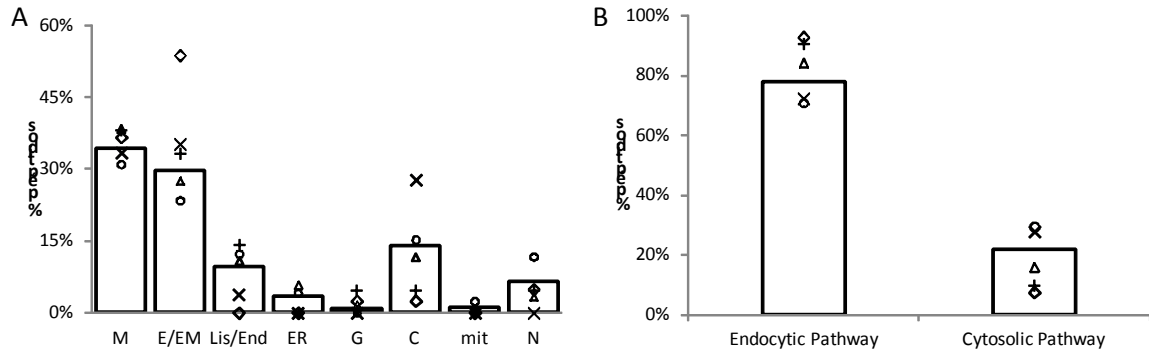


Figura 3.6. Localización y ruta de degradación de las secuencias peptídicas asociadas a HLA-DR de timo. A) Localización celular de las proteínas parentales de los ligandos de HLA-DR; membrana (M), extracelular o matriz extracelular (E/EM), Golgi (G), Reticulo endoplasmático (ER), endosoma/lisosoma (Lis/End), citosol (C), mitocondria (mit) o núcleo (N). B) Media porcentual (¿??) de los ligandos de HLA-DR clasificados según su posible ruta degradativa. Ruta endocítica: M, E/EM, Lis/End, ER y G. Ruta citosólica: C, mit y N. Las columnas representan la media de los péptidos procedentes de las muestras de timo t1 (Δ), t2 (\circ), t3 (\times), t4 (\diamond) y t5 (+).

Las proteínas de membrana (34%) junto con las extracelulares (29%) fueron las más secuenciadas en timo. Entre ellas destaca la gran variedad de proteínas relacionadas con la inmunidad. De entre las proteínas de membrana, se obtuvieron péptidos derivados de HLA-DP, -DQ, -DR, integrinas (β -2, α -M, α -4, α -D) o proteínas específicas de tejido linfóide como CD14, *lymphocyte-specific protein 1*, interleukin-10 receptor α chain, *macrophage colony-stimulating factor 1* receptor, B-cell receptor CD22, CD79a, TLR7 o CD30. A nivel extracelular, se secuenciaron péptidos procedentes de inmunoglobulinas (*Ig heavy chain V-III*, *Ig β* , *Ig κ chain C region*, *IgGfc-binding protein (IgG)*), de quimiocinas como la CCL21 y de otras proteínas séricas como la *Mannose-binding protein C*, proteínas del complemento, la albumina o la proteína C reactiva.

Las proteínas del citoplasma aportaron de media el 14% del repertorio peptídico. Entre estas proteínas cabe destacar la proteína *Major vault protein (MVP)*, expresada en gran cantidad en células epiteliales con capacidad secretora (Kolli et al. 2004) y la proteína SPATIAL, expresada exclusivamente en tejidos inmunoprivilegiados como en testículos y cerebro. Un péptido derivado de esta proteína ha sido secuenciado en nuestro laboratorio asociada a HLA-I en timo humano (Espinosa et al., submitted). En el timo está expresada en las cTECs y mTECs y está funcionalmente relacionada con la expresión de AIRE (Saade et al. 2010).

3.6.3. Funcionalidad del repertorio

El análisis de agrupación funcional del repertorio peptídico presentado en timo se realizó utilizando la herramienta informática DAVID. Las diferencias del número de secuencias obtenidas en cada muestra dificultan el análisis comparativo entre ellas. A pesar de ello, los datos mostraron que

todos los timos mostraron un gran número de péptidos derivados de proteínas relacionadas con la presentación por MHC (Tabla 3.5). Como ya se ha comentado en el anterior apartado, se obtuvieron péptidos derivados de las propias moléculas presentadoras, de calnexina o de DM, y peptidasas relacionadas con la degradación lisosomal (p.e. *cathepsin H*, *cathepsin S*, *L-amino-acid oxidase* o *dipeptidyl-peptidase 2*), peptidasas citosólicas (calpain-1 o *proteasome subunit α type-5*) o peptidasas de membrana como la *aminopeptidase N*.

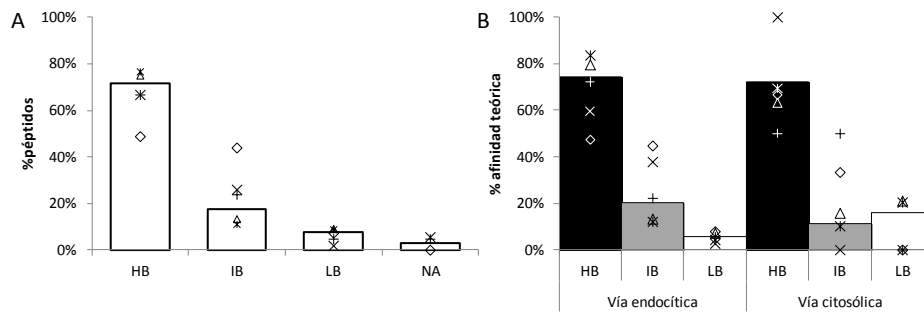
| Term | Enrichment Score | | | |
|---------------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | t1 | t2 | t3 | t4 |
| MHC class II activity | 9,7 | 9.5 | 12.9 | 3.1 |
| Lysosome | 2,9 | 5.0 | - | - |
| Protein transport | 2,2 | - | - | - |
| Regulation of apoptosis | 2,2 | - | - | - |
| Vesicle | - | 6,7 | - | - |
| Adaptive immune response | - | 2,9 | - | - |
| Nuclear mRNA splicing | - | 2,3 | - | - |

Tabla 3.5. Representación y tabla de los grupos funcionales obtenidos mediante DAVID. Grupos funcionales derivados del análisis de cada muestra con el sistema DAVID, utilizando la base de datos de "Gene Ontology". Solo los grupos funcionales con valores de enriquecimiento superiores a 2 fueron tenidos en cuenta.

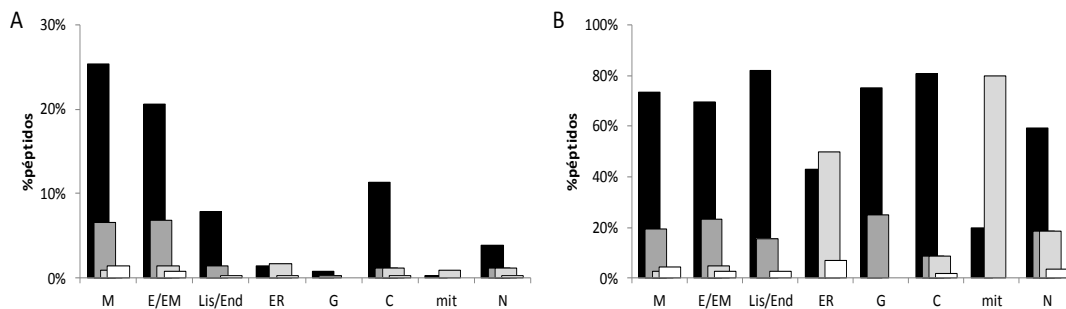
Diversas proteínas relacionadas con apoptosis se secuenciaron en varias muestras y su agrupación se vio incrementada en el Timo 1. Varias de estas proteínas tenían funciones anti-apoptóticas como la 78 kDa *glucose-regulated protein*, *stress-70 protein mitochondrial*, *14-3-3 protein zeta/delta* y *annexin A4* y otras pro-apoptóticas como TNF receptor *superfamily member 10B*, *member 8*, *insulin-like growth factor-binding protein 3*, *superoxide dismutase* y *notch homolog 1*.

3.6.4. Afinidad teórica de los ligandos de HLA-DR en timo

La afinidad de los péptidos para las moléculas de HLA-DR de los donantes se predijo siguiendo el método descrito en el capítulo 1. Un 3% de los péptidos no se pudieron asignar por falta de coincidencia entre los diferentes métodos de predicción. Los resultados mostraron una clara dominancia (71,5%) de péptidos de alta afinidad (HB) entre los péptidos asociados a DR en el timo (Figura 3.7A). Esta dominancia de HB se observó tanto en los ligandos generados en la ruta de procesamiento endocítica (72%) y en los de la vía citosólica (71%) (Fig 3.7B).



Al diseccionar las rutas en compartimentos específicos se observó que la mayoría de los ligandos de alta afinidad proteínas localizadas en cualquiera de los compartimentos (Figura 3.8A). Únicamente las proteínas del RE y mitocondria generaron un mayor número de ligandos de afinidad intermedia y baja, respectivamente (fig. 3.8B).



Para asignar la secuencia peptídica a un alelo de HLA-DR utilizamos un sistema restrictivo, aunque solo ensayos *in vitro* de unión pueden definir la asociación del péptido a una molécula de MHC. Solo los péptidos HB y los de afinidad intermedia (IB) fueron considerados. Usando este método, 363 péptidos (89%) de los 407 obtenidos del timo se consideraron alelo-específicas. Las 44 restantes (11%) con afinidad teórica baja (LB) para los dos alelos, no se asignaron (anexo 1). Un 16% de los péptidos se consideraron ligandos potenciales para ambos alelos, confirmando la promiscuidad de los péptidos de clase II. Aunque las cinco muestras tímicas analizadas eran HLA-DR 03:01, el número de péptidos asignados a DR3 fue sustancialmente menor que los péptidos asignados a los otros alelos (un promedio de 24% para DR3 comparado con el 50% de los péptidos asignados al otro alelo), con la excepción del timo 4 (DRB1*03:01; DRB1*15:01), en el que el número de ligandos asociados a DR3 fue superior (n=19) que para DR15 (n=4) o los doble asignados (n=15).

Capítulo 3

Discusión

Análisis de los péptidos asociados a HLA-DR en timos de donantes pediátricos no afectados por enfermedad inmunológica ni infección

El estudio del repertorio de péptidos asociados a HLA-DR en timo humano se abordó a partir de 5 muestras procedentes de donantes sanos. Los *pools* peptídicos de tres experimentos se analizaron usando un *Esquire HCT ion trap mass spectrometer*, con fraccionamientos diferentes para cada muestra: timo 3 por RP-HPLC y el timo 4 por “*cationic exchange–reversed-phase 2-D chromatography*”. La muestra 5 no se fraccionó debido a que se utilizó para la búsqueda de una determinada masa en su repertorio (ver capítulo 4). No vimos diferencias apreciables en el número de secuencias obtenidas usando los métodos de fraccionamiento de timo 3 y timo 4. El análisis directo de las muestras, sin fraccionamiento, limita el número de péptidos obtenidos, pero permite buscar una masa concreta de interés entre los péptidos aislados. El acceso a un espectrómetro de masas de alta resolución nos permitió realizar un análisis más eficiente de dos muestras tímicas con igual tipaje para HLA-DR (timo 1 y timo 2). El uso del Orbitrap significó una mejora en el rendimiento de la secuenciación, un ahorro en gasto computacional al reducirse el tiempo de búsqueda y mayor fiabilidad de los resultados al obtener medidas más precisas del ión parental.

El timo, órgano linfóide primario, se caracteriza entre otras cosas por la presencia de una gran variedad de APCs: células dendríticas, plasmacitoides o convencionales (Martín-Gayo et al. 2010), macrófagos o células B (Rezzani, Bonomini, and Rodella 2008). Entre ellas destacan dos tipos celulares exclusivos de timo: las células epiteliales tímicas corticales (cTEC) y medulares (mTEC). Estas células, con características exclusivas relacionadas con la presentación antigénica, conforman un entramado celular que otorga el soporte para el desarrollo y selección de las células T. El uso de poblaciones aisladas de APCs para la identificación del repertorio asociado a HLA-DR no es un proceso viable, ya que el rendimiento de obtención de células estromales tímicas es aún limitado constituyendo los timocitos más del 95% de la masa celular. Además, las separaciones requieren digestiones enzimáticas y posterior cultivo celular que podría modificar de forma notable los niveles de expresión de las moléculas de clase II y el propio repertorio presentado por éstas. Por ello, el estudio se realizó sin separación celular previa sobre tejido criopreservado con tal de secuenciar el repertorio peptídico de forma intacta. Aunque no podemos hacer distinciones entre las diferentes APCs, la expresión de HLA-DR es más alta en médula respecto al córtex en una proporción 3:1. Este dato permite postular que la mayoría de los péptidos secuenciados en el timo humano proceden de la región medular, donde se concentran las mTECs, las DCs y los linfocitos B. En todo caso, la mejor validación del método sería la secuenciación de varios péptidos procedentes de TRAs (ver capítulo 5), expresados exclusivamente en mTECs.

El repertorio tímico está compuesto por péptidos diversos procedentes de un número relativamente grande de proteínas. Como es de esperar, la mayoría de los péptidos obtenidos proceden de proteínas ubicuas y abundantes dentro del proteoma. Basándonos en la base de datos *Peptide Atlas*, sólo el 16% de las secuencias obtenidas proceden de proteínas muy poco abundantes, con niveles inferiores a 1ppm en el proteoma (<1ppm). El repertorio está enriquecido en péptidos derivados de proteínas implicadas en el procesamiento y presentación antigénica. A pesar de las diferencias entre el número de secuencias de cada muestra, existe un número de proteínas parentales compartidas entre repertorios. Estas proteínas comunes refuerzan la visión del sesgo en el repertorio a favor de la presentación de proteínas

relacionadas con procesos inmunitarios. De las 9 proteínas de las que se han encontrado péptidos en más de dos muestras, seis estaban asociadas con las rutas funcionales del MHC, una es de las proteínas más abundantes en el proteoma (Albumina=41966ppm) y dos relacionadas con apoptosis. Este grupo funcional también apareció significativamente incrementado en una de las muestras. La TGF-beta-induced beta-ig-h3, secuenciada en las muestras timo 1, timo 2 y timo 4 se le asocian funciones relacionadas con la apoptosis (Nacu et al. 2008). La *galectin-1* (timo 1, timo 2 y timo 5), expresada por las células estromales del timo, interacciona con CD2, CD3, CD4, CD7, CD43 y CD45 y participa en procesos de apoptosis y proliferación celular, interviniendo en el desarrollo de las células T mediante la inducción de muerte celular vía estimulación por CD30 (Suzuki et al. 2012). Entre las relacionadas con apoptosis destacaron también proteínas anti-apoptóticas como las chaperonas GRP78 o mtHSP70. En el timo más del 95% de los timocitos, que es el tipo celular más abundante en este órgano, mueren por apoptosis. Sin embargo, los timocitos no expresan HLA-DR, por lo que si los péptidos presentados provienen de timocitos, deberían haber sido captadas por otros tipos celulares (probablemente DCs y macrófagos). Otra posibilidad es que sean las propias APCs las que estén muriendo por apoptosis, siendo los péptidos presentados por ellas o por otras APCs que han captado los cuerpos apoptóticos. En este sentido, en nuestro laboratorio y en otros se ha descrito que las AIRE puede inducir apoptosis en mTECs (Gray et al. 2007a; Colomé et al. 2010; Liiv et al. 2012). En la comparación de las dos muestras con tipaje HLA-DR/DQ idéntico la tendencia es más evidente. En estas muestras las proteínas que generaron mayor número de secuencias están directamente implicadas en la presentación antigénica, aportando aproximadamente el 20% del repertorio de cada muestra.

De las 44 proteínas comunes, 59 secuencias idénticas se encontraron como mínimo en 2 de las muestras, la mayoría asociadas al alelo común DR3. De las muestras con idéntico tipaje, 37 proteínas de las 136 que sumaban entre las dos muestras eran comunes. Este reducido número de proteínas generó el 70% de las secuencias peptídicas obtenidas. A excepción de 1 proteína, los péptidos procedentes de proteínas comunes presentaron secuencias idénticas o con el mismo *core* en ambas muestras. Por tanto, las proteínas comunes se presentan de forma mayoritaria, mostrando la inmunodominancia de ciertas regiones a la hora de ser presentadas, lo cual sugeriría que estas regiones inmunodominantes son las que inducen la tolerancia a ciertas proteínas en timo.

A nivel de procesamiento peptídico, no existen diferencias entre muestras. Por lo que hemos obtenido, el tamaño de los péptidos está dentro del rango propio de los ligandos de clase II. El 78% de los péptidos proceden de proteínas localizadas en los compartimentos de membrana, en la que incluimos la propia membrana plasmática, el aparato de Golgi, endosomas, lisosomas, retículo endoplasmático así como de proteínas captadas del espacio extracelular. Una proporción relevante de péptidos (22%) proceden de proteínas degradadas en el citosol, consistente con los repertorios de ligandos a HLA-DR previamente descritos. La observación más interesante del repertorio tímico fue la predicción de afinidad entre los ligandos y las moléculas de MHC. La afinidad de los péptidos está estrechamente relacionada con la estabilidad complejo péptido-MHC y, en consecuencia, con la vida media del pMHC en superficie. Los datos muestran un alto número de ligandos de alta afinidad (72%) en comparación con un 18% de

ligandos de IB y un 7% de LB. El timo es un órgano de constante cambio, con entrada sistemática de precursores, alta proliferación celular, constantes interacciones célula-célula y procesos de apoptosis altamente activados. Las células estromales, con fácil acceso a material proteico muy variado, generan una gran variedad de péptidos y *cores* diferentes que entrarán en competencia por las moléculas de MHC sintetizadas *de novo*. Esta competición constante, presumiblemente favorecerá la presentación de los ligandos de más alta afinidad, desplazando aquellos péptidos con afinidades menores por el surco de unión. A mayor afinidad, mayor estabilidad de los complejos pMHC en la superficie de las APCs, lo cual permitirá mayor eficiencia de reconocimiento por parte de los timocitos y por tanto más eficiente selección negativa de las células CD4 positivas frente a péptidos propios inmunodominantes. Por ello se esperaría que, como mínimo en la selección negativa, los complejos pMHC-II de alta estabilidad estarían favorecidos y su larga vida media podría permitir un mayor número de interacciones con un mayor número de TCRs (Baumgartner et al. 2010). Los complejos de baja estabilidad tienen una vida media más corta en la superficie de las APCs lo que podría suponer que estos ligandos tuvieran menos relevancia o ser reconocidos por un menor número de timocitos en los procesos tolerogénicos, incrementando así la posibilidad de una tolerización deficiente frente a estos ligandos. La afinidad de unión de los péptidos a las moléculas de MHC es por tanto de gran relevancia, particularmente cuando se estudian péptidos propios. Por ello, el balance entre péptidos HB y LB generados de un determinado antígeno podría ser importante para determinar la eficiencia de tolerización frente a ese antígeno en el timo. Nuestros datos no diferencian entre los repertorios peptídicos asociados a HLA-DR en la selección positiva y negativa. Sin embargo, HLA-DR está más expresado en la médula tímica. Por lo tanto, aunque el repertorio de péptidos identificado no se puede asignar a ninguna población de APCs en particular, se espera que la mayoría de los péptidos estén presentados por las células HLA-DR⁺ del compartimento medular.

Capítulo 4

Comparación de los repertorios peptídicos en timo y bazo.

Relevancia en la tolerancia y la homeostasis

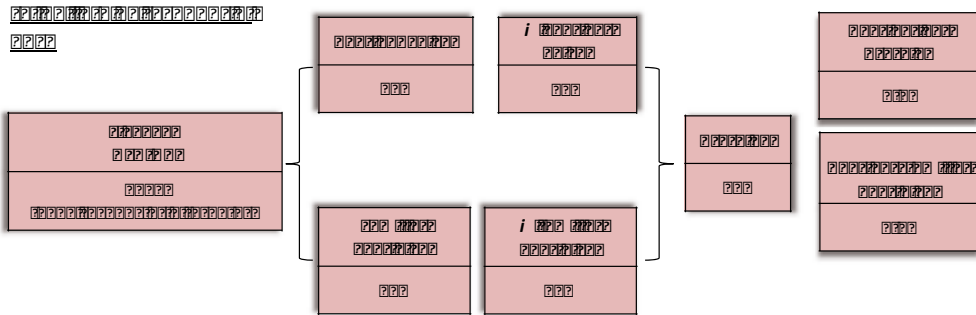
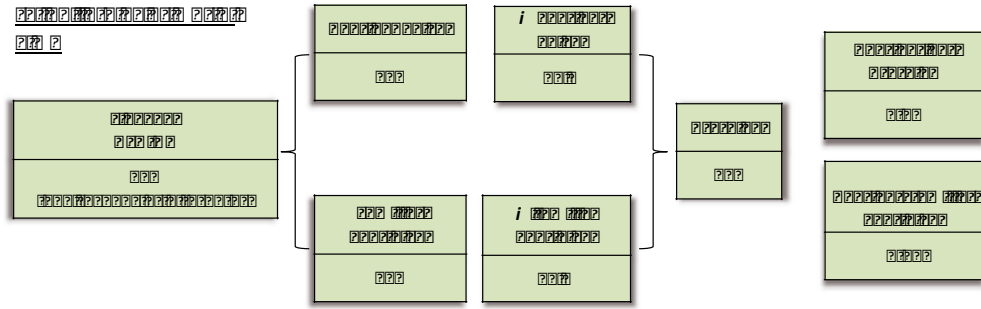
4. Análisis comparativo de repertorios peptídicos asociados a HLA-DR

4.1. Comparación de los repertorios de péptidos de HLA-DR en tejidos linfoides primarios y secundarios

La comparación del repertorio de péptidos asociados a HLA-DR en un órgano secundario en homeostasis, como el bazo, comparado con los de un órgano primario en estado de activación constitutiva, como el timo, deberían revelar algunas características específicas de aquellos péptidos que inducen tolerancia y que la mantienen en la periferia.

Con el objetivo de identificar semejanzas y diferencias entre ambos repertorios, hicimos un análisis comparativo global de los péptidos asociados a HLA-DR en timo y bazo. Primero se analizaron todas las secuencias obtenidas en el Orbitrap, incluyendo las redundantes. Para este análisis se excluyeron los timos 3, 4, y 5 ya que el análisis que se hizo en estas muestras no incluía redundancia. El número medio de péptidos secuenciados de cada proteína fue de 4,9 en timo y de 9,5 en bazo (si se excluían del análisis los péptidos de CRP del bazo 4, se mantenía un número promedio de péptidos de 9,3). Las proteínas que generaron más péptidos detectables fueron la cadena α de HLA-DP en timo (73 secuencias totales) y la serotransferrina en bazo (141 secuencias totales de los bazos 1, 2 y 3). Posteriormente se analizaron los péptidos no redundantes, incluyendo todas las muestras de timo, dando un número medio de péptidos por proteína de 2,5 en timo y 3,5 en bazo. Los porcentajes de péptidos únicos y de péptidos que componen familias peptídicas no variaban entre ambos análisis. Sí que se encontraron diferencias en el número de secuencias derivadas de una misma proteína, p. ej. de la ceruloplasmina se identificaron 31 péptidos en la muestra de bazo 1, mientras que en timo se encontró sólo un péptido. En el timo, la proteína que generó mayor número de secuencias diferentes fue la *Ig heavy chain V-III* con 13 péptidos procedentes de la muestra de timo 1. De esta proteína se identificaron 20 péptidos diferentes en el bazo, 19 de ellos en la muestra 4. Además, el número máximo de componentes que conforman una familia peptídica fue globalmente superior en bazo que en timo, con un rango de 2 a 21 secuencias en el bazo y de 2 a 10 en el timo (Figura 4.1).

?

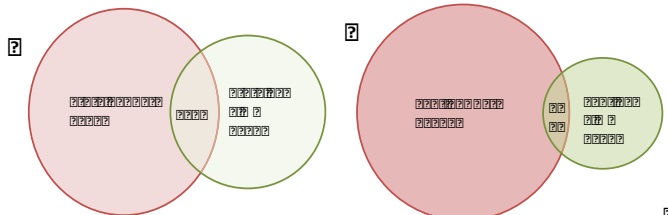


?

Dr 7333 H H Asl e At : ANsAal At aás 3LAT á sQsI npl ébaá t At sAal At aásvt á s/De á sÉAcLc á sÁU U sU LMs/ é l paAt U Ms40t ve Apl : Aép LAct sÁ ANsÁU A: ApÉt ANsAal At aás 3LAT á sÁpANLá t : AéméLá l sÉl pÉp LAct De 2Vé At al t Lp: At ANsÁ l AsLps/Át Lá : De 2Vé Á sAal At aásÁU Aál til pe t t De á sÉAcLc á sÁU ANsÁ l AsLps ÁLé l / 3M

Át ANMANT ve Apl : Aép LAct sÁ e éplá sÁt LpÁe 3l sÁ.á l sÁÁ 3sApÉ ÁU ANLé l / ANB M al e éplAt t ve Apl ANLé At LAÁ. l Aép LAct sÁÁ Á Züépl LAct sÁÁpAt LMsÁt B M /Z+K At Lá l S N Át Á l t AsÁpÁe 3l sÁ.á l sÁ il á sÁÁU Á sÁ é l t Á sÁ N t ZY' Á ANsÁp LAct sÁ á At Lá á: sÁt B M / t ;' Át ANLé l sÁ sÁt : l sÁ ApÉ: l sÁ ÁsLsÁp LAct sÁÁ Apl t ++Át B M ú ;' Á ANpÁApL pá sÉAcLc á l /kZk' Át Lá l Á sÁ : áÁU ANsÁp LAct sÁ e éplá sÁt LpÁe 3l sÁ.á l sÁ t t Át LAÁ é l pLÁ: AéméLá l sÁÁpÁpAsAt : l sÉl pÁ j Át ANLé l Á sÁÁU AN ve Apl : Á sAal At aásÉAcLc á sÁ nt LáÁsÁt LpÁe 3l sÁ.á l sÁÁt S N ÁÁ At Lá áp t ÁY éméLá l sÁ e l t AsÁp a: At LAS: Á: Qép LAct sÁÁsÁ ve Apl sÁ é l t Á t ÁÁ' Á ANU AN: AéméLá l sÁ sAal At aá: l sÁt B M / t +Á' Át Lá l Á á l pÁk4

?



?

Dr 7333 H H ÁnpÁe sÁ Át t : AN sÁpÁApL pá sÁ 3LAT á l sÁ ANsÁ l AsLps ÁLé l / B M Á e Át Á ÁpAsAt Láá t : ANsÁp LAct sÁ ANsÁ M sÁ ÁpÁt AN sÁméLá l sÁÁ At aá: sÁt AN sÁ ÁpAt LASÁ.á l sÁÁpÁpAsAt Láá t : AN sÁméLá l sÁ nt LáÁ sÁ sAal At aá: l sÁt Áe 3l sÁ.á l sÁ

?

Zk''

?

4.1.1. Comparación de los repertorios de HLA-DR en timo y bazo con HLA-DR idéntico

El hecho de contar con muestras de timo y bazo de igual tipaje para HLA-DR (timo 1, timo 2 y bazo 4; HLA-DRB1*01:01, 03:01) nos permitió analizar de forma comparativa los repertorios esplénico y tímico eliminando la variabilidad debida al alelo de HLA-DR. Como se describió en el capítulo 2, la muestra de bazo 4 aportó un gran número de secuencias peptídicas pertenecientes a la proteína C reactiva. Como ya se ha comentado en el capítulo 2, el paciente no presentaba enfermedades de carácter autoinmunitario, de manera que se recogió como posible donante. Aún así, el órgano no se puede considerar un tejido normal debido al gran número de secuencias de CRP, lo cual difiere considerablemente de los datos obtenidos en las otras muestras. Esta característica de la muestra del bazo limita las conclusiones de la comparación entre estas muestras.

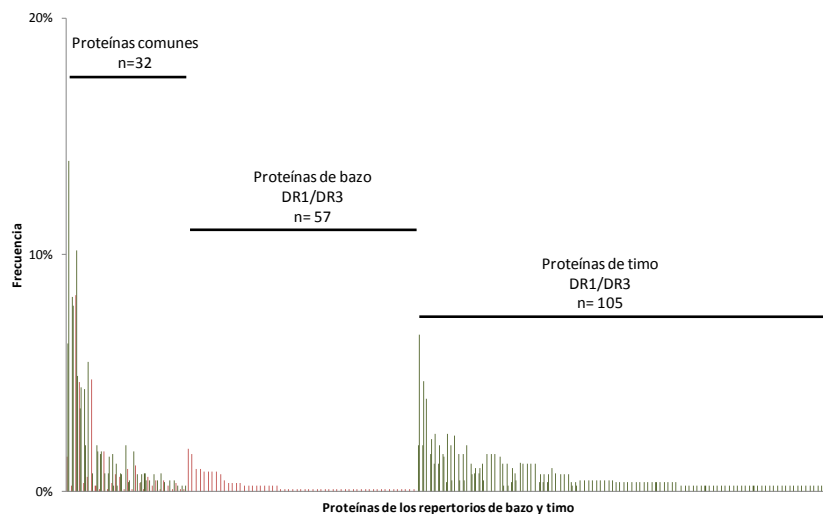


Figura 4.3. Frecuencias de los péptidos de las muestras de con idéntico tipaje para HLA-DR: timo 1, timo 2 y bazo 4. Cada barra corresponde al número total de péptidos secuenciados procedentes de una única proteína. Las barras de rojas corresponden al repertorio esplénico y las verdes al conjunto de péptidos secuenciados en las muestras tímicas 1 y 2. Eje de las X: todas las proteínas identificadas en ambos repertorios son representadas en tres regiones. La primera región agrupa a las frecuencias de los péptidos procedentes de 32 comunes para ambos repertorios. Las barras de la 32-89 (n=57) representan la frecuencia peptídica de proteínas únicas secuenciadas en el bazo4. Las barras de 89 a 194 (n=105) representan la frecuencia de péptidos derivados de proteínas únicas secuenciadas de las muestras de timo 1 y 2. Las proteínas se han ordenado de mayor a menor frecuencia. Eje de las y: porcentaje de péptidos secuenciados de una determinada proteína, incluyendo péptidos redundantes.* Se eliminó de la gráfica la proteína C reactiva, presente en ambos repertorios, por su elevada frecuencia potencialmente debida a una patología no detectada del bazo 4 (capítulo 2).

A pesar de las limitaciones indicadas, se llevó a cabo un análisis a nivel proteico y peptídico de los ligandos de HLA-DR. En referencia a las proteínas parentales, 32 de ellas se compartían por ambos tejidos (21 se obtuvieron en el timo 1, 25 en el timo 2 y 15 se secuenciaron en las tres muestras). Las proteínas compartidas fueron, por norma general, las que generaron mayor número de ligandos (Figura 4.3). Son proteínas ubicuas, relacionadas con presentación antigénica (p.ej. DR, DP, catepsina S, calreticulina y la serina carboxypeptidasa CPVL, entre otras). También encontramos péptidos derivados de proteínas citosólicas como la miosina, *LIM domain and actin-binding protein 1* o *Alkaline phosphatase* y proteínas plasmáticas como complemento C3, fibrinógeno, CRP, α -2-macroglobulina, *Mannose-binding protein C*, Ig o albúmina (Tabla 4.1). En total, estas proteínas generaron el 57% del repertorio de secuencias únicas obtenido del bazo 4 (103 secuencias de 182 totales) y el 41% del repertorio tímico conjunto de los timos 1 y 2 (121 secuencias de 292 totales). De esas 32 proteínas comunes, 30

compartían también al menos un *core*, incluyendo la proteína C reactiva. Sólo dos proteínas (*Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4* y la *V-set and immunoglobulin domain-containing protein*) no generaron péptidos de igual core en los dos tejidos. La miosina, de la cual se obtuvieron múltiples secuencias, es una de las proteínas de más variación entre tejidos, siendo péptidos LB los que se compartían entre timo y bazo. Las secuencias con *cores* idénticos fueron 66 en el repertorio de bazo y 97 en el repertorio tímico.

| Proteína/Core | Secuencias presentes en la muestras | | |
|---|-------------------------------------|-----------|----------|
| | Bazo4 | Timo1 | Timo2 |
| 78 kDa glucose-regulated protein | 2 | 1 | 1 |
| AGPPPTGEE | 2 | 1 | 1 |
| Alpha-1-antitrypsin | 3 | 2 | 2 |
| LTIDEKGTE | 3 | 2 | 2 |
| Calreticulin | 2 | 1 | 1 |
| YVKLFPNL | 2 | 1 | 1 |
| Cathepsin S | 1 | 1 | 1 |
| LVLSAQNL | 1 | 1 | 1 |
| DnaJ homolog subfamily C member 5 | 1 | 1 | 2 |
| LTADSHPSY | 1 | 1 | 2 |
| Histone H2A type 1 | 2 | 3 | 3 |
| ILELAGNAA | 2 | 3 | 3 |
| HLA class II, DP alpha chain | 2 | 1 | 3 |
| VLDKKETV | 2 | 1 | 3 |
| HLA class II, DR alpha chain | 2 | 7 | 8 |
| IAVDKANLE | 1 | 6 | 6 |
| VTVLTNSPV | | 1 | 2 |
| IKEEHVIQ | 1 | | |
| Ig heavy chain | 19 | 13 | 8 |
| YMQMNSLRA | 13 | 6 | 6 |
| YMQMBSLRA | | 4 | 1 |
| YLMNMSLRA | 2 | 2 | 1 |
| YMQMNSLRV | 1 | 1 | |
| MNSLRAEDT | 2 | | |
| TYLQMNLSL | 1 | | |
| Neurogenic locus notch homolog protein 1 | 1 | 2 | 3 |
| YNPLRGVA | 1 | 2 | 3 |
| Serine carboxypeptidase CPVL | 1 | 1 | 1 |
| YVPAIAHLI | 1 | 1 | 1 |
| Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | 1 | 1 | 2 |
| VVTPKAPN | 1 | 1 | 2 |
| Syntenin-1 | 4 | 1 | 3 |
| IQAQTAFSA | 3 | | 1 |
| IVKDSSAAR | 1 | 1 | |
| ILSEASAPI/ILSEASAPI | | | 2 |
| Vinculin | 2 | 6 | 4 |
| VAMQKAQQV | 2 | 5 | 3 |
| VMDAKAVAG/MVMDAKAVA | | 1 | 1 |
| V-set and Ig domain-containing protein | 1 | 3 | 4 |
| YMELSSLRS | | 3 | 4 |
| LEMDDRSY | 1 | | |
| Alkaline phosphatase | 2 | 3 | |
| YQAQSAVPL | 2 | 3 | |
| Alpha-2-macroglobulin | 1 | | 1 |
| LAYLTAQPA | 1 | | 1 |
| Annexin A6 | 1 | | 6 |
| FPEAAQVAY | 1 | | 6 |
| Cation-indep. mannose-6-phosphate R | 1 | | 1 |
| LIKLSGAYL | 1 | | 1 |
| Arginase-1 | 4 | | 1 |
| INTPLTTTS | 2 | | 1 |
| VNPSLGKTP | 2 | | |
| Complement C3 | 1 | | 3 |
| YSIITPNIL | 1 | | 3 |
| C-reactive protein | 13 | 2 | |

| | | | |
|---|------------|-----------|-----------|
| YVSLKAPLT | 13 | 2 | |
| Fibrinogen alpha chain | 1 | | 2 |
| VSETESRGS | 1 | | 1 |
| FLAEGGGVR | | | 1 |
| Glutamine synthetase | 1 | | 1 |
| LNETGDEPF/LNETGDEPF | 1 | | 1 |
| GTP-binding nuclear protein Ran | 1 | | 1 |
| MDPALAAQY/VVMDPALAA | 1 | | 1 |
| IgGfC-binding protein | 2 | 1 | |
| VDLKNTGRE | 1 | 1 | |
| TGREFLTA | 1 | | |
| Inter-α-trypsin inhibitor heavy chain H4 | 4 | | 2 |
| ILPLPGQSV | 3 | | |
| FVIDKSGSM/FVIDKSGSM | | | 2 |
| WVHASPEHV | 1 | | |
| LIM domain and actin-binding protein 1 | 1 | 1 | |
| FTTQNKSQ | 1 | 1 | |
| Lysosomal alpha-glucosidase | 1 | | 2 |
| YITGLAEHL | 1 | | 2 |
| Mannose-binding protein C | 1 | | 1 |
| FVDLTGNRL | 1 | | 1 |
| Myosin | 23 | 1 | |
| TRDADFNGT | 5 | | |
| VDGKADGAE | 4 | | |
| IEKPAGPPG | 2 | | |
| VVINPYKNL | 2 | | |
| FINSPVAQA | 2 | | |
| ADGAEAKPA | 1 | 1 | |
| VDRIIGLDQ | 1 | | |
| DGSEETDT | 1 | | |
| VNETQPPQS | 1 | | |
| VADLWKDVD | 1 | | |
| YKNLPIYSE | 1 | | |
| IADTAYRSM | 1 | | |
| ADFNGTKA | 1 | | |
| Serum albumin | 1 | 2 | |
| YKFQNALLV | 1 | 1 | |
| LGEYKFQNA | | 1 | |
| Total péptidos | 103 | 54 | 67 |

Tabla 4.1. Tabla de proteínas comunes entre las muestras de timo y bazo con tipajes idénticos y sus cores asignados.

4.1.2. Comparación de la distribución de tamaño y rutas de procesamiento de péptidos entre tejidos

La distribución de tamaños de los ligandos de HLA-DR secuenciados no mostró diferencias entre los tejidos analizados. El tamaño medio de los aminoácidos secuenciados en timo y bazo fue de 15 y 16, respectivamente. Más del 96% de los péptidos secuenciados en ambos tejidos tenía un tamaño de entre 10 y 22 aminoácidos.

Asimismo, la localización celular de las proteínas parentales de los ligandos peptídicos de HLA-DR no mostró diferencias significativas. El porcentaje de péptidos generados en la ruta endocítica y citosólica era casi idéntico (79% de los péptidos derivaban de la ruta endocítica en bazo vs 77% en timo) (Figura 4.4A y B). Al compartimentalizar estas rutas se vio que más del 40% de los péptidos secuenciados de bazo procedían del espacio extracelular, un 10% más que en timo. Al contrario, las proteínas de membrana generaron un porcentaje mayor de péptido (34%) en timo que en bazo (19%) (Figura 4.10C).

El aparato de Golgi generó un porcentaje de péptidos 3 veces mayor en bazo que en timo (3% vs 1%) y el núcleo 2 veces más en timo que en bazo (7% vs 3%) (Figura 4.4C).

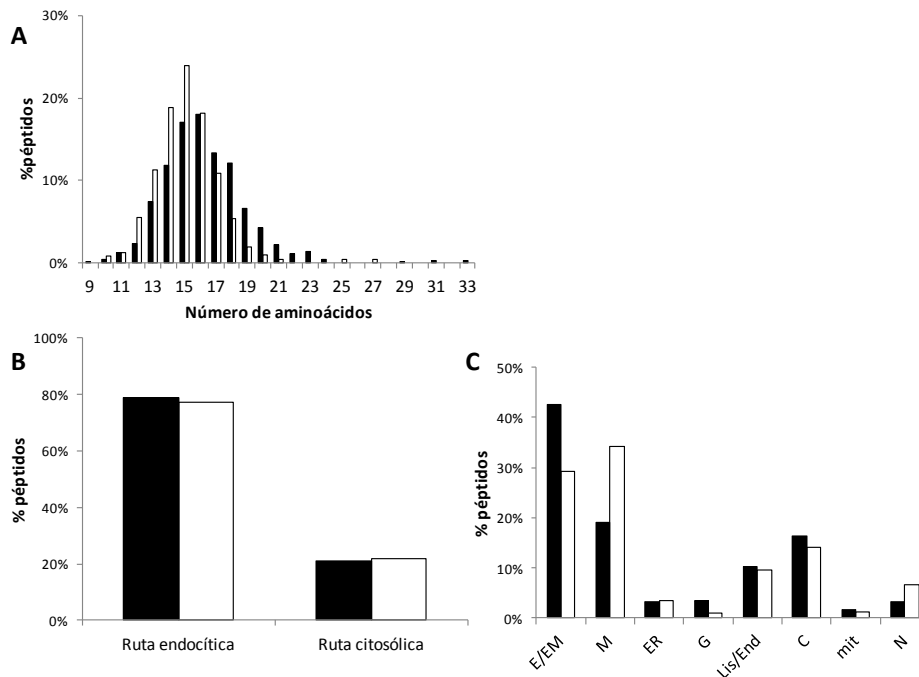


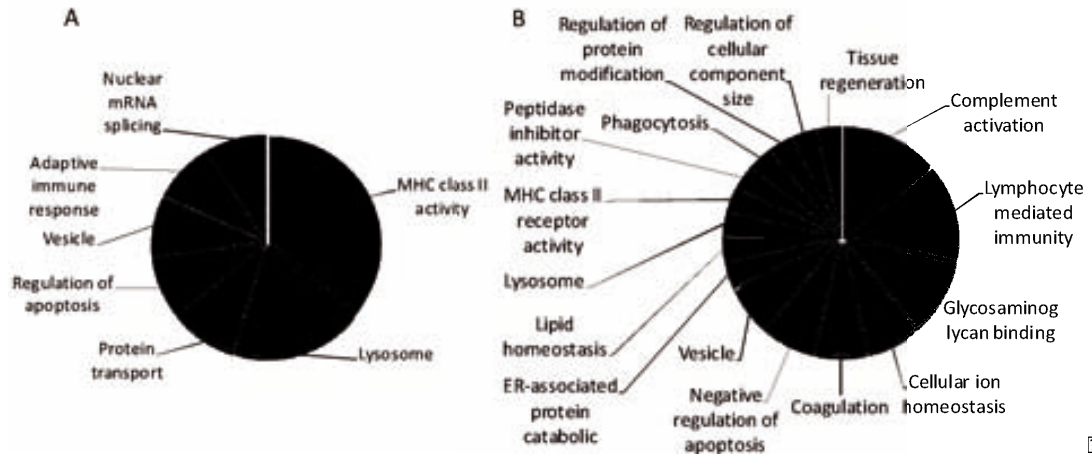
Figura 4.4. Gráficas comparativas del repertorio peptídico secuenciado en muestras de timo y bazo humano. A) Distribución de tamaños. B) Rutas de procesamiento de los péptidos secuenciados. C) Representación de la localización de las proteínas parentales de los péptidos.

En cuanto a las muestras de timo y bazo con idéntico tipaje, tampoco se encontraron diferencias en el tamaño de los péptidos ni en la aportación de las rutas de procesamiento al repertorio peptídico asociado a HLA-DR.

4.1.3. Comparación de la funcionalidad del repertorio

Se realizó un análisis comparativo de la funcionalidad de las proteínas parentales en ambos tejidos mediante la herramienta bioinformática DAVID. El repertorio de péptidos del timo mostró incremento de proteínas parentales relacionadas con la presentación antigénica, lisosomas y transporte vesicular, todas relacionadas con el MHC. El bazo mostró mayor diversidad de agrupaciones funcionales, muy posiblemente porque el repertorio obtenido de las muestras es mayor. Así, gran parte de los péptidos derivaban de proteínas relacionadas con el complemento y la inmunidad mediada por linfocitos. Además, entre las proteínas parentales, estaban incrementadas las proteínas de unión a glicosaminoglicanos, debido probablemente al alto porcentaje de péptidos derivados de proteínas extracelulares (Figura 4.5).

?



Dr 730 HU AépAsAt Léad t AN sñpl éi síl t ad t MS 4 AN sénéLá l s ALé l /B M h t t Anpl Onpl éi síl t ad t MS AI A pÉpAsAt Lé3 t énéLá l síl 3LAt á l sAt U : s MS e l AsLp s: ALA.á l h p sal pl onpl éi síl t ad t MS 3LAt á l sAt t: AN s K e l AsLp s h p s Anpl onpl éi síl t ad t MS At k % h t al onpl éi síl t ad t MS pAsAt LAs At t vt á t l AsLp h 4 npl éad t As il t ad t MS AN pApJ p ALé l h 4 npl éad t As il t ad t MS AN pApJ p / B M h

t MS e l AsLp s: ALé l /B M h t t Léé. A p mt Láal Bol 3l h á á At a s At épl Lat s s p AN ad t : s p al t EAsal MS AN p Anl N á ad t A éi élU sá t h e l t á : : é l L á h 4 npl éad t As

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

?

| | 71 Scn 5 | 75 cnc 6n 5 | 75 s3n cní 6 | 42 | 6n 5 | 3n 6n 3n 5n 36 | 5n 5n | 55 cnc 6n 60 | 75 s3n 5 |
|--|----------|-------------|--------------|----|------|----------------|-------|--------------|----------|
| | k | j | k | | | | | | |
| | k | k | j | | | | | | |
| | k | j | j | | | | | | |
| | k | j | j | | | | | | |
| | ; Q | j | j | | | | | | |
| | Y | j | +Y | | | | | | |
| | j | k | j | | | | | | |
| | j | k | Q | | | | | | |
| | j | # | # | | | | | | |
| | j | j | k | | | | | | |

AsAt pAl Aaé áAt U il t ad t AN Ap: l AN h t s npl éad t Asal t t h p: l AsAt pAl Aaé áAt U i Ap p h k l BAU EAp t At al At h

s npl éad t As il t ad t MS e /l p p s: AN pApJ p Ae l sLp p t s Ap p Ai M. l: AN s pát aé MS il t ad t As: AN í pn t l h 3 M Q al e l í pn t l oAe U N áal / LA.á l h il á A s Aal At: p Q e l sp í npl éad t As il t ad t MS p AN ad t: s p al t h 3 s il t ad t As At AN pApJ p Au l AépAsAt l h N L é l í pn t l h i 2 Láal é p e p p Asé l s 3 M AN h At Ap ad t AU M p t aé pAsAt l npl éad t As il t ad t MS e /l p p s p AN ad t: s p al t AN pAsAt Léad t t Lánt á Q éi élU sá t p Asé l AsLp e l t A h: é l L á h

?

?

?

?

?

4.1.4. Comparación de las afinidades teóricas de los ligandos de HLA-DR

Las predicciones de afinidad teórica de todos los ligandos con los alelos expresados en las muestras correspondientes se realizaron según el método explicado en el capítulo 1. No se vieron diferencias apreciables entre las afinidades peptídicas obtenidas en los repertorios de timo y bazo (Figura 4.6A). Al desglosar los péptidos en función de la ruta de procesamiento se observó que el porcentaje de HB procedentes de la vía citosólica del repertorio esplénico son menores comparados con el tímico (Figura 4.6B).

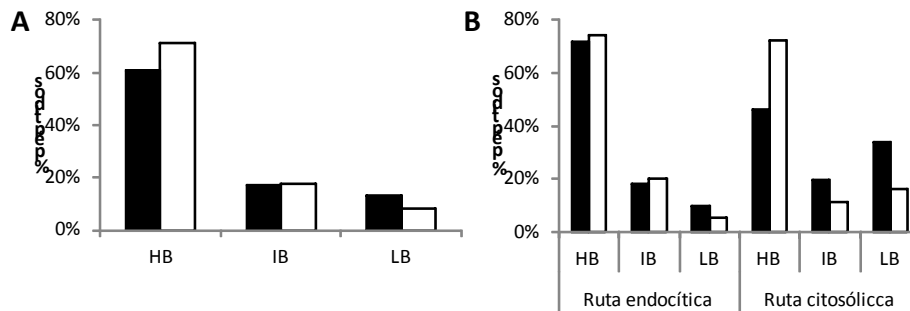


Figura 4.6. Predicción de afinidad, comparada entre los repertorios de timo y bazo. A) Representación final de la afinidad de todos los péptidos secuenciados. B) Afinidad de los ligandos clasificados en función de la ruta de procesamiento. Las barras negras representan el repertorio de bazo, las barras blancas el repertorio de timo. HB: afinidad alta, IB: afinidad intermedia, LB: afinidad baja.

En las muestras de igual tipaje sí que se apreciaron diferencias en la afinidad de los péptidos entre ambos repertorios. El 33,5% de las secuencias del bazo 4 se asignaron como ligandos de baja afinidad frente a un 9% en timo (Figura 4.7A). Los ligandos procedentes del timo fueron de alta afinidad independientemente de la ruta de procesamiento. En el bazo, la ruta endocítica aportó ligandos de HB, mientras que los ligandos degradados en la ruta citosólica fueron principalmente de baja afinidad (62%) (Figura 4.7B).

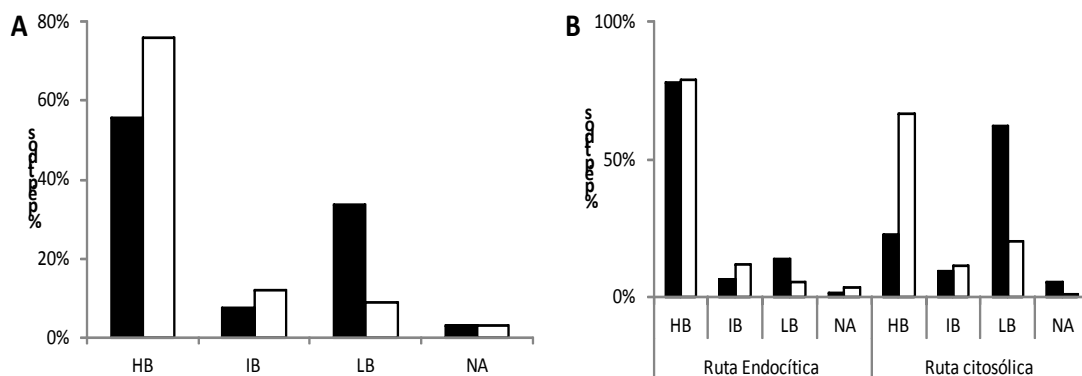


Figura 4.7. Predicción de afinidad de unión peptídica en las muestras de bazo (bazo 4) y timos (timo 1 y timo 2) de idéntico tipaje para HLA-DR. A) Comparación de las afinidades de unión predictivas de los ligandos del repertorio de bazo DR1/DR3 respecto al conjunto de péptidos secuenciados en las muestras 1 y 2 de timo. B) Comparación de las afinidades de unión predictiva de los ligandos en función de su ruta de procesamiento. Las barras negras corresponden a los ligandos de la muestra de bazo 4, las barras blancas corresponden a la media de los ligandos de los timo 1 y timo 2. HB: afinidad de unión alta; IB: afinidad de unión intermedia; LB: afinidad de unión baja; NA: no asignado.

El procesamiento antigénico es complejo e involucra múltiples proteasas. Estas se expresan de forma diferente en diferentes tejidos. Por tanto, existen diferencias en el procesamiento antigénico que son claves en la generación del repertorio. Para estudiar si estas diferencias se podían aplicar al timo y el bazo, se analizaron los aminoácidos que ocupaban los extremos N y C terminal de los péptidos secuenciados. La diferencia más significativa ($p < 0.01$) se encontró en la región N-terminal en los repertorios de las muestras de timo respecto a las de bazo, donde estaban incrementados los residuos polares (figura 4.8 A). En el extremo C-terminal se observó también un incremento de los mismos residuos, aunque la tendencia es menor ($p < 0.05$) (Figura 4.8 B). Las diferencias entre los repertorios procedentes de tejidos con idénticas moléculas de HLA-DR se mantuvieron a las previamente descritas para el análisis global. Esto sugiere que existen diferencias en la expresión y/o actividad de algunas proteasas involucradas en el procesamiento de clase II.

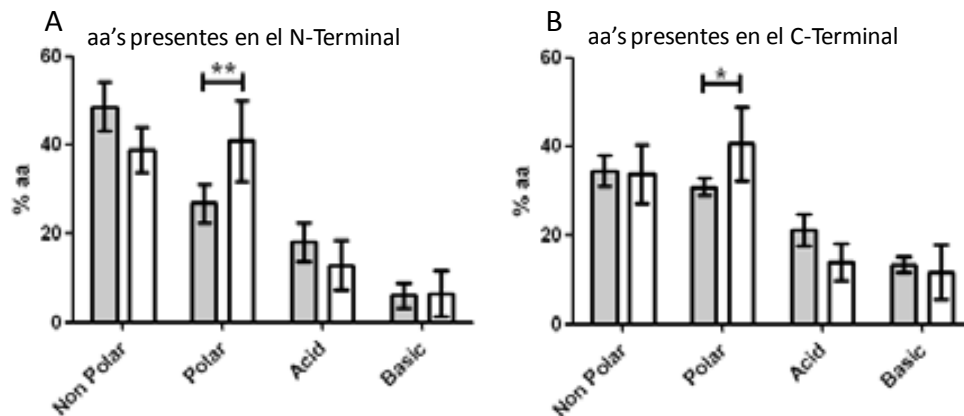


Fig.4.8. Representación de los porcentajes de los grupos aminoácídicos en los extremos de los péptidos secuenciados. A) porcentajes de aminoácidos agrupados en función de sus características bioquímicas en el extremo N-ter de las secuencias de bazo (barras grises) y timo (barras blancas); B) porcentajes de aminoácidos agrupados en función de sus características bioquímicas en el extremo C-ter de las secuencias de bazo (barras grises) y timo (barras blancas). Para el análisis estadístico se realizó un test de varianza ANOVA two-way seguido de un análisis de Bonferroni. (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

4.2. Repertorio peptídico relacionado con tolerancia y autoinmunidad

4.2.1. Comparación de las afinidades predictivas de los repertorios peptídicos en homeostasia y en autoinmunidad

Debido a que el repertorio de timo y bazo en condiciones homeostáticas se compone principalmente de ligandos de alta afinidad, se estudió si esto ocurre también en tejidos periféricos afectados por autoinmunidad. Para ello se realizaron análisis de afinidad predictiva para el repertorio de péptidos asociados a HLA-DR procedente de tiroides de pacientes afectados por la enfermedad autoinmune de Graves-Basedow. Estas muestras habían sido procesadas por la Dra. Muixí en nuestro laboratorio utilizando el mismo protocolo que el realizado para las muestras de timo y de bazo (Muixí et al. 2008). Hay que indicar que el espectrómetro de masas utilizado era diferente, ya que el trabajo

actual se utilizó un espectrómetro de masas de alta resolución, con el que no se contaba en el momento del procesamiento de las muestras de tiroides.

Los resultados mostraron un 17,5% de péptidos son HB, 31% IB y un 37,5% LB en tiroides autoinmune (Figura 4.9).

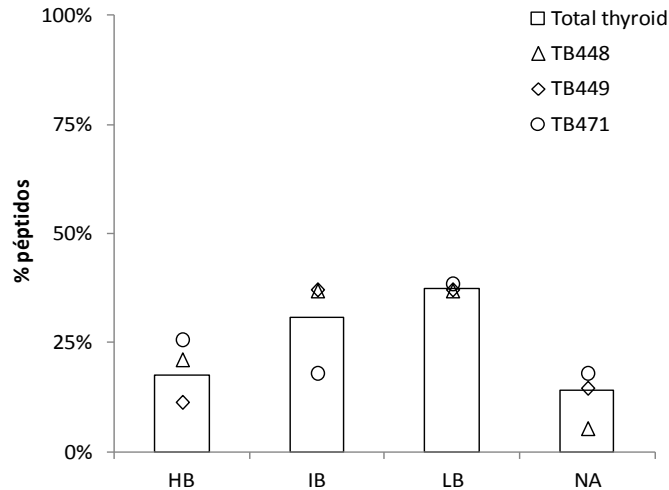


Figura 4.9. Predicción de la afinidad de unión de los péptidos asociados a HLA-DR obtenidos de muestras de tejido tiroideo autoinmune. Cada columna representan el promedio de las muestras TB448 (Δ), TB471 (o), TB449 (\diamond). HB: afinidad de unión alta; IB: afinidad de unión intermedia; LB: afinidad de unión baja.

Debido a las diferencias en la afinidad de los ligandos de HLA-DR encontrados en los tejidos analizados, se evaluó la posibilidad de la pérdida significativa de ligandos de baja afinidad en las muestras de timo y bazo procesadas en este trabajo en comparación con el trabajo previo en tiroides debido a las posibles diferencias entre los protocolos de procesamiento utilizados.

Para ello, se procesaron 10^9 células de la línea celular BM21 homocigota para HLA-DR11 (*HLA-DRA1*01:01, DRB1*11:01*) usando el mismo protocolo que para las muestras de tejido descritas en esta tesis. Las secuencias obtenidas se muestran en el anexo 4.1. Como modelos de protocolos de procesamiento de muestras diferentes, se analizaron conjuntamente los datos resultantes con secuencias peptídicas procedentes de otras líneas celulares, incluyendo: (i) 402 secuencias asociadas a HLA-DR8 publicadas por nuestro grupo (Muixi et al. 2011); (ii) todos los ligandos disponibles en la base de datos SYFPEITHY para HLA-DRB1*03:01 ($n = 131$) (Figura 1.5) (Rammensee et al. 1999). Esta última serie fue analizada como control específico para DR3 debido a que es un alelo compartido por la mayoría de muestras analizadas. Los protocolos de procesamiento de muestras en muchos de los análisis de MS publicados en SYFPEITHY eran diferentes a los utilizados por nosotros, a pesar de lo cual todos los péptidos publicados en esa base de datos están sobradamente contrastados como ligandos de DR3.

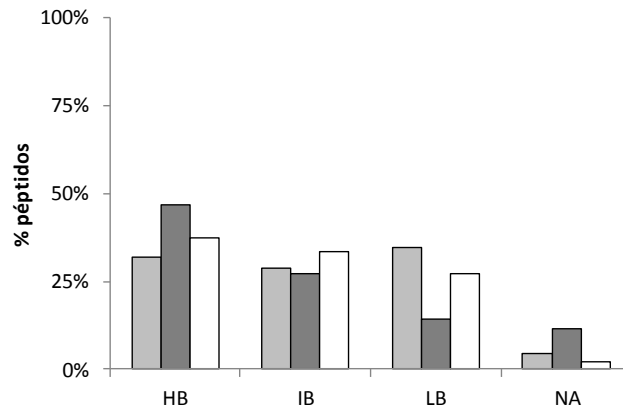


Figura 4.10. Comparación de la predicción de afinidad de unión de los péptidos asociados a HLA-DR en tres líneas celulares homocigotas para HLA-DR. Barra gris claro: DRB1*03:01, barra gris oscuro: DRB1*08:01; barra blanca: DRB1*11:01. HB: afinidad de unión alta; IB: afinidad de unión intermedia; LB: afinidad de unión baja.

No se encontraron diferencias importantes en los porcentajes de péptidos de alta, media o baja afinidad entre la línea BM21 y los repertorios asociados a DR8 y DR3. Según el análisis usado en esta tesis, los péptidos de afinidad intermedia o baja constituyen en conjunto entre el 40 y 60% de los repertorios presentados por las líneas celulares (Figura 4.10). Por tanto, los datos indican que el protocolo de procesamiento de muestras no elimina los complejos péptido-MHC de media o baja afinidad.

Capítulo 4

Discusión

Comparación de los repertorios peptídicos en timo y bazo.

Relevancia en la tolerancia y la homeostasis

Como aproximación al estudio del repertorio tolerogénico, tanto durante la tolerancia central como periférica, se analizó el repertorio peptídico asociado a HLA-DR en muestras de timo y bazo humano. En esta aproximación no se procedió al enriquecimiento de ninguna población celular (capítulos 2 y 3). En este capítulo hemos realizado un análisis comparativo de ambos repertorios.

En ambos tejidos hemos secuenciado ligandos mayoritarios que presentan las APCs para generar tolerancia central o su mantenimiento a nivel periférico. El 23% y el 16% del repertorio peptídico obtenido por Orbitrap de bazo y timo respectivamente procedían de proteínas muy poco abundantes en el proteoma (<1ppm). El número de secuencias obtenidas en timo fue menor que en bazo. Sin embargo, la proporción de proteínas obtenidas es mayor (aproximadamente 1 proteína por cada 4,9 péptidos en timo y 1 proteína por cada 9,5 péptidos en bazo). Esto podría indicar que existe una mayor variedad proteica presentada en timo, lo que permitiría generar tolerancia frente a un número mayor de posibles dianas de células T en periferia. El repertorio esplénico presenta mayoritariamente proteínas captadas del espacio extracelular, siendo esta localización la de mayor aportación al repertorio (Belz et al. 2002) (Dijkstra et al. 1985). Por tanto, en bazo, la presentación en el contexto de HLA-DR parece centrarse principalmente en péptidos derivados de proteínas séricas, muy abundantes dentro del proteoma. En timo, las moléculas de HLA-DR necesitan mostrar un repertorio que incluya un amplio abanico de proteínas para tolerizar a los timocitos frente al mayor número de antígenos propios posibles (Liston et al. 2005). Con ello, el aumento en la disponibilidad de ligandos diferentes reduciría los tamaños de las familias peptídicas. Este dato se vería confirmado por las diferencias en el mayor número de secuencias que componen las familias peptídicas de bazo respecto a timo, así como en el número de ligandos diferentes que puede proporcionar una única proteína.

Aunque las diferentes moléculas de HLA-DR son capaces de presentar solapamientos entre los repertorios peptídicos debido a la "promiscuidad" de clase II (Chicz et al. 1993), nosotros no hemos encontrado un gran solapamiento proteico ni peptídico entre los repertorios. Esto puede ser debido a diferencias de tipaje entre las muestras y a diferencias intrínsecas de cada órgano y los tipos de APCs presentes en ellos.

Entre las proteínas comunes abundan proteínas ubicuas básicamente de origen sérico y relacionadas con la presentación antigénica. Entre los timos (timo 1 y timo 2) y bazo (bazo 4) con idéntico tipaje, pudimos analizar la frecuencia peptídica obtenida de cada una de las proteínas comunes. Las 32 proteínas comunes en timo y bazo generaron el 41% y 57% del repertorio obtenido respectivamente. Estas proteínas son muy accesibles al linfocito debido a la "limitada" circulación linfocitaria, delimitada básicamente al torrente sanguíneo, circulación linfática y tejido linfoide (Lämmermann and Sixt 2008). Los niveles de presentación de un determinado ligando en el timo podrían influir en su grado de tolerización, por lo que no es de extrañar que exista una alta presentación de péptidos derivados de estas proteínas. Además, a excepción de dos proteínas, se secuenciaron como mínimo un péptido idéntico o con el mismo *core* en ambos repertorios. Por lo que las proteínas más abundantes en ambos

repertorios son tolerizadas a nivel central y esta tolerancia es mantenida en periferia mediante la presentación de los mismos ligandos.

Como se comentó en el capítulo 3, la expresión mayoritaria de HLA-DR en timo se localiza en la médula por lo que ligandos comunes como los procedentes de la CRP podrían proceder de células medulares tímicas. Se ha descrito que la tolerancia hacia esta proteína y otras proteínas de fase aguda puede llevarse a cabo a través de las mTECs (Ludger Klein et al. 1998). Aún así, hasta un 50% de las DCs tímicas pueden provenir de la circulación periférica (Donskoy and Goldschneider 2003). Por ello, no descartamos que péptidos como la CRP procedan de proteínas captadas a nivel periférico y presentadas en el timo (Hadeiba et al. 2012). Además, dependiendo de la naturaleza de estas poblaciones de DCs, podrían actuar en la delección clonal de los linfocitos mediante la presentación de antígenos periféricos o actuando en la selección de las células T reguladoras naturales (Hadeiba and Butcher 2013).

Se obtuvieron 13 ligandos distintos procedentes de la miosina en la muestra de bazo 4 y sólo uno en el timo 1. A algunas de estas secuencias se le han asignados cores de unión con aminoácidos poco convencionales para la posición P1 de anclaje (Thr, Asp o Ala). No podemos descartar que un cierto porcentaje de los péptidos obtenidos procedan de contaminantes peptídicos generados durante el procesamiento de la muestra. En nuestros controles no se obtuvieron secuencias de miosina en los análisis de las precolumnas (ver capítulo 2), por lo que hemos incluido estas secuencias del estudio, aunque no descartamos que sean contaminantes, ya que la miosina es una proteína extremadamente abundante y los péptidos derivados de ella claramente no cumplen los motivos requeridos para su asociación a HLA-DR. Este tipo de fenómenos, debidos en gran medida a la mejora en sensibilidad de los espectrómetros de masas está haciendo imprescindible el análisis exhaustivo de los contaminantes que se quedan adheridos a las columnas de forma inespecífica.

Respecto a las características de los péptidos, nuestros datos sugieren que la mayoría de mecanismos fundamentales de procesamiento son compartidos en ambos tejidos. Las diferencias en las composiciones de APCs (p. ej. el porcentaje de células B del bazo es del 80% (Colovai et al. 2004) respecto al 33% presente en la médula del timo humano (Spencer et al. 1992)) o la presencia de APCs exclusivas de timo (cTECs y mTECs), no afectan al tamaño de los péptidos presentados en ambos tejidos. Además, aún habiéndose descrito altos niveles de autofagia por las células epiteliales tímicas (Nedjic et al. 2008), tampoco se vieron diferencias en las rutas de procesamiento proteico entre timo y bazo, independientemente del tipaje que presente la muestra de estudio.

Las diferencias en las proteasas implicadas en el procesamiento se analizó observando la frecuencia de aminoácidos en los extremos N- y C- terminal. Estas diferencias fueron mínimas. Parece existir un porcentaje, estadísticamente significativo ($p < 0,01$), mayor de aminoácidos polares en el N-terminal de los péptidos secuenciados en timo (41%) respecto bazo (27%). Las diferencias en la maquinaria proteolítica de cada tejido o tipo celular (Riese and Chapman 2000) pueden generar repertorios diferentes. La catepsina S, principal responsable del procesamiento antigénico en timo, está también presente en diferentes APCs periféricas (Stoeckle et al. 2012), aunque se han descrito proteasas

específicas de timo como la catepsina V o la TSSP (Guerder et al. 2012) que podrían explicar esas diferencias.

Por otra parte, no se apreciaron diferencias en las afinidades teóricas globales de ambos repertorios, aunque sí parecen haberlas en los porcentajes de afinidad de los ligandos derivados de proteínas procesadas por la ruta citosólica. Se ha sugerido que las moléculas de clase I involucradas en la selección positiva podrían estar asociadas a péptidos de baja afinidad o incluso vacías, siendo el reconocimiento TCR-MHC la interacción que prevalece en la selección positiva (Starr, Jameson, and Hogquist 2003; Takahama, Tanaka, and Murata 2008). Por otro lado, los complejos estables podrían ser los responsables de la selección negativa en la médula (Ziegler et al. 2009; J. Wang and Reinherz 2002). Algo parecido podría aplicarse en las rutas de clase II debido a las diferencias entre las proteasas principales expresadas por las APCs en ambos compartimentos tímicos.

Ambos órganos linfoides son tejidos activos con alta capacidad de presentación peptídica. En timo, la entrada sistemática de precursores celulares o la eliminación de células senescentes, la proliferación celular, una constitutiva interacción célula-célula y los procesos de apoptosis, generan una gran accesibilidad a material proteico, por lo que una gran variedad de péptidos y *cores* diferentes entran en competencia por las moléculas de MHC sintetizadas *de novo*. Esta competición favorecería la presentación de los ligandos de más alta afinidad, desplazando aquellos péptidos con afinidades menores por las moléculas presentadoras. Esto a su vez, incrementaría la estabilidad de los complejos pMHC en la superficie de las APCs, permitiendo una mayor eficiencia de reconocimiento por parte de los timocitos y una eficiente selección negativa de las células CD4 positivas frente a péptidos propios inmunodominantes. En periferia, la estabilidad del ligando influye en la inmunodominancia así como en el repertorio de células T que reconocen los péptidos de alta o baja estabilidad (Lazarski et al. 2005; Baumgartner et al. 2010). Los complejos de baja estabilidad tienen una vida media más corta en la superficie de las APCs lo que podría suponer que estos ligandos tuvieran menos relevancia o ser reconocidos por un menor número de timocitos en los procesos tolerogénicos. Esto incrementaría la posibilidad de una tolerización deficiente frente a estos ligandos. La afinidad de unión de los péptidos a las moléculas de MHC es por ello de gran relevancia, particularmente cuando se estudia los ligandos propios. Por ello, el balance entre los HB y los LB podría ser importante para determinar la eficiencia de tolerización frente a un determinado antígeno en el timo. Nuestros datos no diferencian entre los repertorios peptídicos asociados a HLA-DR en la selección positiva y negativa, pero sugieren la relación entre una eficiente selección negativa y una buena unión de los péptidos al MHC. A nivel periférico, este balance se mantiene, presentando péptidos de alta afinidad, los cuales ayudan al mantenimiento del repertorio linfocitario. Aún así, los LB del bazo proceden en su mayoría de proteínas degradadas en la ruta citosólica, lo que confirma que la ruta canónica endocítica es más efectiva en la generación de ligandos de alta afinidad. Esta tendencia es más pronunciada en los péptidos procedentes del bazo 4. Como ya hemos comentado, esta muestra parece presentar un estado inflamatorio, o como mínimo, no homeostático, debido al gran número de ligandos de CRP que se han secuenciado. Por ello es difícil

obtener una conclusión derivada de su estudio. Aún así, podría existir una relación entre la activación celular y la afinidad a las moléculas de MHC que se presentan.

Realizamos el mismo estudio de afinidad teórica a los péptidos asociados a DR procedentes de muestras tiroideas de pacientes con la enfermedad de Graves (Muixí et al. 2008). Los resultados son opuestos a los obtenidos en timo y bazo: sólo el 21% de los péptidos fueron considerados de alta afinidad, con un número similar de péptidos de afinidad intermedia (22%) y un gran número (57%) de baja afinidad.

Para descartar que el protocolo de obtención de ligandos asociados a HLA-DR no generara sesgos a favor de los ligandos de alta afinidad, se realizó un control secuenciando el repertorio de una línea linfoblastoide. Para ello, primero se realizó un estudio de ligandos asociados a HLA-DR ya descritos en la literatura. Se escogió el repertorio de ligandos asociados a DR8 (Muixi et al. 2011) debido a que se se purificó de forma idéntica a la metodología utilizada para la obtención del repertorio de tiroides y de forma muy similar a la realizada en esta tesis. Además, se analizaron los ligandos de DR3 anotados en SYFPEITHI (Chicz et al. 1993; Papadopoulos et al. 1997; Wahlström et al. 2007; Fissolo et al. 2009) debido a que es un alelo común presente en todos los timos y en varios de los bazos analizados. Por último, se procesó la línea BM21, homocigota para DR11, mediante el protocolo utilizado en esta tesis. Pudimos comprobar que la frecuencia de péptidos HB, IB y LB de la línea BM21 son similares entre sí. Para DR8, las frecuencias de HB, IB y LB seguían la misma tendencia que los obtenidos de la línea BM21. Sucedió lo mismo para los ligandos descritos para DR3, obtenidos con metodologías diversas. Esto nos indica que nuestro sistema de purificación no es lo suficientemente agresivo como para perder la totalidad de los péptidos de baja afinidad. Además, en ausencia de tejido *ex vivo*, esto sugiere que los HB no son necesariamente los péptidos propios más comunes presentados por HLA-DR en condiciones no homeostáticas.

Por tanto, estos datos sugieren un medio más competitivo en timo y bazo comparado con tejido afectado por autoinmunidad, como es en el caso de la tiroiditis autoinmune. Esta comparación podría reflejar una situación real sugerida en múltiples datos en varios modelos experimentales humanos de autoinmunidad (Levisetti et al. 2008; Ferlin et al. 2004; Suri, Levisetti, and Unanue 2008). Los péptidos diana en la respuesta autoinmune pueden ser irrelevantes en los procesos de selección tímica. Posibles modificaciones en su estructura (p.e. modificaciones post-traduccionales), en el contexto tisular (sobrexpresión del antígeno en un tejido no inmunitario) o diferencias en su procesamiento por parte de las APCs *in situ* (Mohan et al. 2010) pueden hacerlas accesibles al reconocimiento por las células T en los procesos autoinmunes.

La opinión más extendida actual en relación a las células T autoreactivas es que son células de baja afinidad que escapan de la selección tímica y actúan de forma patogénica en los órganos diana. Aunque los péptidos en timo son muy diversos y compiten por el surco de unión del MHC, los péptidos de baja afinidad también son presentados, aunque muy probablemente en menor densidad, dando como resultado una ausencia de tolerización por parte de cierto número de células T frente a uno o varios de estos epítotos. Timocitos específicos para uno de estos complejos pMHC los reconocerían con una avidéz baja, salvándose de la selección. Estas células serían las efectoras ideales de los procesos

autoinmunes si encuentran estos complejos pMHC en periferia en alta densidad. Por otro lado, algunos de estos péptidos de baja afinidad podrían no estar siendo presentados en todo el timo, pudiéndolo encontrar una célula T en periferia como un antígeno no propio. Por ello, no se esperaría que los péptidos de alta afinidad sean unos buenos candidatos como epítomos diana para los procesos autoinmunes que se dan en periferia.

Capítulo 5

Identificación de péptidos
procedentes de proteínas específicas
de tejido periférico en timo humano
(TRA: tissue-restricted antigens)

5. Presentación por HLA-DR de péptidos procedentes de proteínas específicas de tejido periférico en timo humano

5.1. Secuenciación de péptidos asociado a HLA-DR procedentes de TRAs en el repertorio tímico

Entre los péptidos identificados como ligandos de HLA-DR en timo humano se identificaron dos, derivados de proteínas con expresión restringida a tejidos periféricos. La tabla 5.1 describe las muestras de donde proceden los TRAs identificados. Concretamente, en la muestra de timo 1 (*DRB1**01:01/*03:01), se identificó la secuencia VGGNLVIMNPTKAQDAG con un peso molecular (Mr) de 1700,9. Este péptido de 17 aminoácidos corresponde a los aminoácidos 91-107 de la proteína Contactin-2 (*CNTN2*) (Tabla 5.2). En la muestra timo 3 (*DRB1**03:01/*11:01), se identificó un espectro compatible con la secuencia QTEKLVAGKSQIQ, correspondiente a un péptido de 13 aminoácidos y un Mr de 1412,8. Esta secuencia corresponde a los residuos 377 a 389 de la proteína semenogelina-1 (*SEMG1*) (Tabla 5.2).

| Muestra | Edad | Sexo | HLA-DRB1 |
|---------|---------|------|----------------|
| Timo 1 | 7 meses | ♂ | *01:01, *03:01 |
| Timo 3 | 6 meses | ♀ | *03:01, *11:01 |
| Timo 5 | 9 meses | ♂ | *03:01, *11:04 |
| Timo 6 | 5 años | ♀ | *04:01, *13:01 |

Tabla 5.1. Muestras de timo de donde proceden los péptidos secuenciados de TRAs. La tabla indica las muestras de donde derivan las secuencias, la edad y el sexo del donante y el tipaje para HLA-DRB1. Los timos 1, 3 y 5 son los descritos en el capítulo 3. La muestra timo 6 se usó para la búsqueda de la secuencia *SEMG1* 377-389.

Para confirmar la correcta asignación de estas secuencias, los correspondientes péptidos se sintetizaron y fraccionaron en las mismas condiciones usadas durante el procesamiento de las muestras de timo. Los espectros de fragmentación (MS/MS) fueron muy similares en ambos casos, lo que confirmó la presencia de dichos péptidos en los repertorios presentados por HLA-DR en timo humano (Figura 5.1).

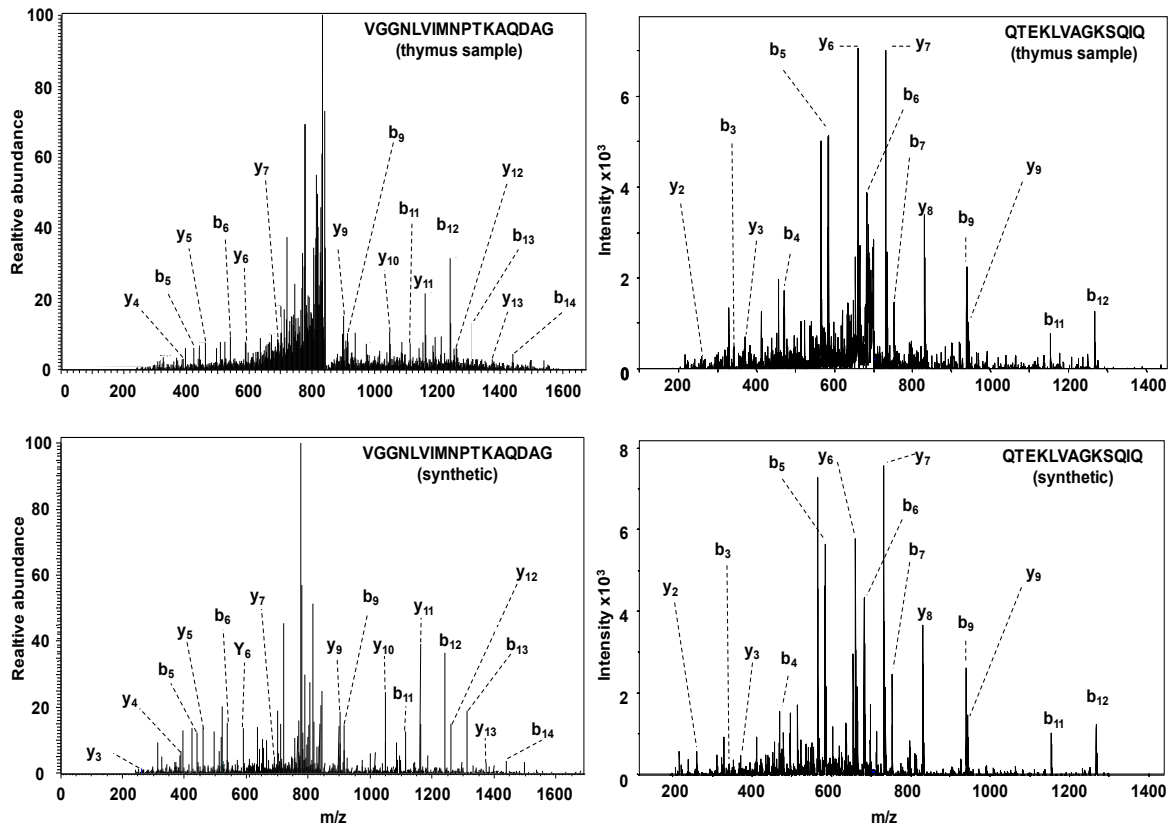


Figura 5.1. Espectros de fragmentación de los péptidos de contactina-2 y semenogelina. Izquierda arriba. Espectro de fragmentación del péptido de contactina-2 secuenciado en las muestras de timo 1. Izquierda abajo. Confirmación de la identificación: espectro de fragmentación del péptido sintético de contactina-2. Derecha arriba. Espectro de fragmentación del péptido de semenogelina secuenciado en la muestra de timo 5. Derecha abajo. Confirmación de la identificación: espectro de fragmentación del péptido sintético de semenogelina. La mayoría de los fragmentos identificados útiles para la asignación se ven anotados en los espectros.

El péptido *CNTN2* 91-107 no se buscó específicamente ni se volvió a secuenciar en ninguna otra de las muestras analizadas. El péptido *SEMG1* 377-389 sí que se trató de detectar de forma específica en otras muestras de timo. Concretamente, se procesaron dos nuevas muestras (timo 5: *DRB1**03:01/11:04 y timo 6: *DRB1**04:01/13:01, Tabla 5.1) que se dividieron en dos alícuotas. Una alícuota se analizó por espectrometría de masas, programando el aparato para que únicamente fraccionara las moléculas de peso molecular 1412,8 (correspondiente a la secuencia QTEKLVAGKSQIQ). La segunda alícuota de cada muestra se analizó sin restricciones. En ambas muestras se detectó el péptido QTEKLVAGKSQIQ, aunque de forma muy minoritaria, como indica el hecho de que, a pesar de enfocar la fragmentación a la masa correspondiente, el espectro de fragmentación no fue limpio (aunque sí claro para identificar dicha secuencia). Adicionalmente, en la muestra timo 6 se identificó un péptido de 12 aminoácidos de longitud, que correspondía a la secuencia TEKLVAGKSQIQ (tabla 5.2). Este péptido, *SEMG1* 378-389, es idéntico a *SEMG1* 377-389, salvo que carece del residuo Gln en el N terminal, conformando ambos péptidos un *nested set*.

Los análisis de predicción de afinidad asignaron el péptido *CNTN2* 91-107 como ligando de alta afinidad de HLA-DR1. El *core* correspondiente al motivo de HLA-DR1 (Stern et al. 1994) sería LVIMNPTKA. Los péptidos derivados de semenogelina 1 no se pudieron asignar a ningún alelo. Según Propred, los péptidos de semenogelina podrían asociarse a HLA-DR3 ó DR4 con una afinidad intermedia, usando el

core de unión LVAGKSQIQ (Tabla 5.2). Según nuestro sistema de asignación (ver capítulo 1), estos péptidos eran ligandos de baja afinidad para HLA-DR3 y de afinidad intermedia para HLA-DR4. Se realizaron ensayos de afinidad de los péptidos *CNTN2* 91-107 y *SEMG1* 377-389 a las moléculas DR1 y DR3 (ver capítulo 1 y tabla 5.2). Los resultados confirmaron la predicción de afinidad, es decir, *CNTN2* 91-107 es un ligando de alta afinidad para DR1, con capacidad de unión intermedia a DR3. *SEMG1* 377-389 es un ligando de baja afinidad para los dos alelos estudiados. El alelo DR4 no fue incluido en el experimento.

| Proteína | Contactin-2 (<i>CNTN2</i>) | | Semenogelin-1 (<i>SEMG1</i>) | | |
|-----------------|------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------------|
| Muestra | Timo1 (DR1, 3) | | Timo3 (DR3, 11) | Timo5 (DR3, 11) | Timo6 (DR4, 13) |
| Péptido | VGGNLVIMNPTKAQDAG | | QTEKLVAGKSQIQ | QTEKLVAGKSQIQ | QTEKLVAGKSQIQ TEKLVAGKSQIQ |
| Core | LVIMNPTKA | LVIMNPTKA | LVAGKSQIQ | LVAGKSQIQ | LVAGKSQIQ |
| Asignación | <i>DRB1</i> *01:01 | <i>DRB1</i> *03:01 | <i>DRB1</i> *03:01 | <i>DRB1</i> *03:01 | <i>DRB1</i> *04:01 |
| Unión teórica | HB | LB | LB | LB | IB |
| Ensayo de unión | HB | IB | LB | LB | ND |
| IC50 | 0,03 | 31,42 | >50 | >50 | |

Tabla 5.2. Descripción de las secuencias de de péptidos de TRAs. La tabla muestra el timo del que deriva el péptido secuenciado, la secuencia aminoacídica, el core asignado, la asignación a HLA-DR, la afinidad teórica y la afinidad experimental.

5.2. Caracterización de la expresión de *CNTN2* y *SEMG1* en diferentes tejidos

Los TRAs se han definido como proteínas codificadas por genes que se expresan, a nivel de RNA, en menos de 5 tejidos (Jens Derbinski et al. 2005). Para confirmar la correcta asignación de los genes *CNTN2* y *SEMG1* como TRAs, La expresión de los genes *CNTN2* y *SEMG1* se analizó en primer lugar mediante el sistema informático de búsqueda Genevestigator (<https://www.genevestigator.com/gv/>). Este programa contiene datos de expresión por microarrays de todos los genes humanos descritos en la bibliografía. Como se había demostrado en estudios previos (Dorfuss et al. 2009; de Lamirande 2007) *CNTN2* se expresa casi exclusivamente a nivel del sistema nervioso central, y la expresión de *SEMG1* se limita a la próstata, semen y otros pocos tejidos (Figura 5.2).

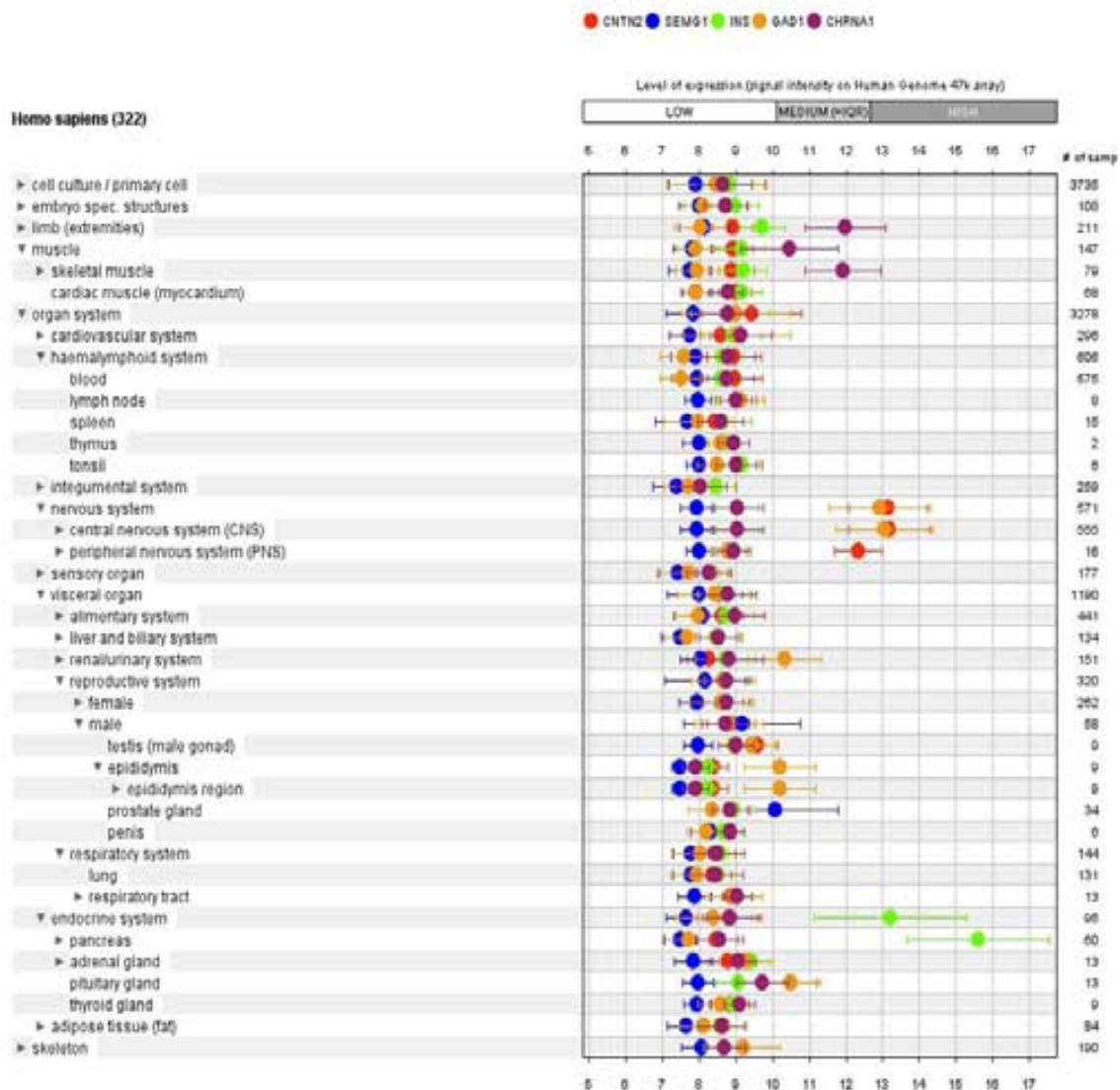


Figura 5.2. Panel de expresión génica obtenido de la base de datos de Genevestigator. En la figura se muestra el panel de expresión en humanos de los genes *CNTN2* (rojo) y *SEMG1* (azul) así como otros TRAs como la Insulina (INS, verde), *Glutamate decarboxylase 1* (*GAD1*, amarillo) y la subunidad α del receptor de la acetil colina (*cholinergic receptor, nicotinic, alpha 1, CHRNA1*, morado).

Para confirmar experimentalmente la distribución tisular de *SEMG1* y *CNTN2* se analizó su expresión génica en un panel de 17 muestras de tejido por qPCR. Como control se analizó la expresión de los genes de otros TRAs bien estudiados: *GAD1*, que codifica la descarboxilasa del ácido glutámico de 67 kDa, expresada en el sistema nervioso central y páncreas y *CHRNA1*, que codifica la subunidad α del receptor de acetil colina, y se expresa en el músculo esquelético. También se midió la expresión de *KLK3*, gen que codifica la *prostate-specific antigen* (PSA), responsable de la degradación de la semenogelina 1 y *AIRE* gen expresado en las células epiteliales tímicas medulares y que es responsable de la expresión de TRAs en el timo (Tabla 5.3). *GAD1* y *CHRNA1* codifican proteínas consideradas como autoantígenos en la diabetes tipo 1 y la miastenia gravis respectivamente (Heckmann et al. 1996).

| | <i>SEMG1</i> | <i>CNTN2</i> | <i>KLK3</i> | <i>CHRNA1</i> | <i>GAD1</i> | AIRE |
|---------------------|--------------|--------------|-------------|---------------|-------------|-------|
| Corazón | < 1 | <1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Cerebro | < 1 | 637,4 | < 1 | 2,1 | 544,8 | 5,7 |
| Placenta | < 1 | <1 | 3,6 | 2,7 | 8,6 | < 1 |
| Pulmón | < 1 | <1 | < 1 | < 1 | 4,7 | 2,5 |
| Higado | < 1 | <1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Músculo esquelético | < 1 | <1 | < 1 | 12,4 | < 1 | < 1 |
| Riñón | < 1 | <1 | < 1 | < 1 | 37,1 | 2,5 |
| Pancreas | < 1 | 4,3 | < 1 | 1,6 | 5,8 | 6,1 |
| Bazo | < 1 | <1 | < 1 | < 1 | 2,0 | 8,2 |
| Timo | 4,3 | <1 | 2,1 | 8,0 | 5,6 | 124,0 |
| Próstata | 26157,3 | 4,4 | 117112,2 | 11,6 | 12,1 | 2,6 |
| Testículos | 39,1 | 263,1 | 132,5 | 2,8 | 100,7 | 6,3 |
| Ovario | 4,7 | <1 | 17,7 | < 1 | 7,5 | < 1 |
| Intestino Delgado | 31,6 | 30,7 | 366,4 | < 1 | 7,0 | 6,1 |
| Colon | < 1 | 8,7 | 3,9 | < 1 | < 1 | 5,8 |
| Leucocitos | 6,1 | <1 | < 1 | < 1 | < 1 | 3,0 |
| Tiroides | < 1 | <1 | 1,1 | < 1 | < 1 | < 1 |

Tabla 5.3. Tabla resumen de los niveles de expresión relativos de los genes de interés obtenido mediante qPCR en relación a la expresión de GAPDH. La tabla muestra la expresión relativa de los genes *SEMG1*, *CNTN2*, *KLK3*, *CHRNA1*, *GAD1* y AIRE en un panel de 17 tejidos de origen humano.

CNTN2 mostró una elevada expresión en cerebro y relativamente alta en testículos, similar a *GAD1*. *SEMG1* se expresó a niveles muy altos en la próstata (Figura 5.3 y Tabla 5.3), y a un nivel 300 veces menor en testículos y en intestino delgado. *SEMG1* también se expresó en leucocitos y ovarios, pero a niveles muy inferiores. No se encontró expresión significativa en otros tejidos. Se observó una buena correlación entre la expresión de *KLK3* y *SEMG1*, ambos altamente expresados en próstata y, en menor medida, en testículos, intestino delgado, ovarios y timo. *CHRNA1* se detectó en músculo esquelético a niveles relativamente bajos. Es importante señalar que, a pesar de la diferencia de nivel de expresión de los TRAs en los tejidos donde se expresan más abundantemente, los niveles de expresión de todos ellos en el timo fueron muy similares. Esta expresión tímica era significativamente inferior a la de AIRE. La expresión similar de todos los TRAs en el timo sugiere una capacidad similar de inducir tolerancia, independientemente de la diferencia de expresión en periferia.

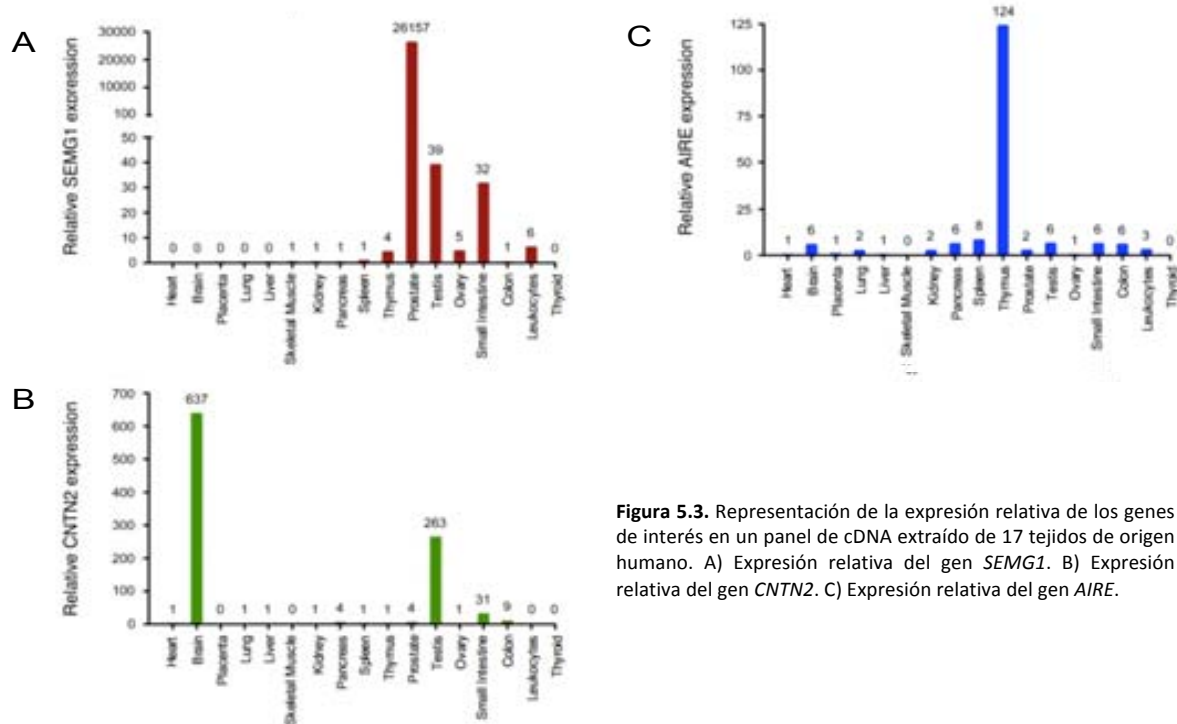


Figura 5.3. Representación de la expresión relativa de los genes de interés en un panel de cDNA extraído de 17 tejidos de origen humano. A) Expresión relativa del gen *SEMG1*. B) Expresión relativa del gen *CNTN2*. C) Expresión relativa del gen *AIRE*.

5.3. Estudio de la expresión de *CNTN2* y *SEMG1* en un panel de muestras de timo

Para estudiar si la expresión tímica de *CNTN2* y *SEMG1* es aplicable a la mayoría de timos, se estudió su expresión en dos paneles de muestras tímicas: 1) 60 muestras derivadas de 34 varones y 26 hembras, de edades comprendidas entre 6 días y 82 años para *SEMG1*; 2) 21 muestras (12 varones, 9 hembras) de edades entre 12 días-56 años para *CNTN2*. Se detectaron transcritos de *SEMG1* en 55/60 muestras (91,7%) y en 21/21 (100%) para *CNTN2*. Por tanto, la expresión de *CNTN2* y de *SEMG1* (antígeno de tejido específico masculino) se detectó en muestras derivadas de hombres y de mujeres de todas las edades.

La proteína codificada por el gen *AIRE* regula la expresión en timo de muchos TRAs. Para estudiar su correlación, se analizó la expresión génica de *SEMG1*, *CNTN2* y *AIRE* en diferentes muestras tímicas. Los datos revelaron una correlación significativa entre la expresión de *SEMG1* y *AIRE* ($r=0.72$, $p<0,0001$), que indicaba que la expresión de *SEMG1* es *AIRE*-dependiente y por tanto su expresión en el timo debería producirse a nivel de las mTECs. Por otra parte, la correlación entre *CNTN2* y *AIRE* era más baja ($r=0.54$, $p=0,01$). Para conocer si este resultado descarta la expresión de *CNTN2* en mTECs, se realizó el mismo análisis con el gen *KRT14* que codifica la queratina 14, específica de mTECs. La figura 5.4 muestra que la correlación significativa entre la expresión de *CNTN2* y *KRT14* ($r=0.68$, $p=0,0007$). Los datos por tanto indicaban que la expresión de *CNTN2* está relacionada con las mTECs pero es *AIRE*-independiente.

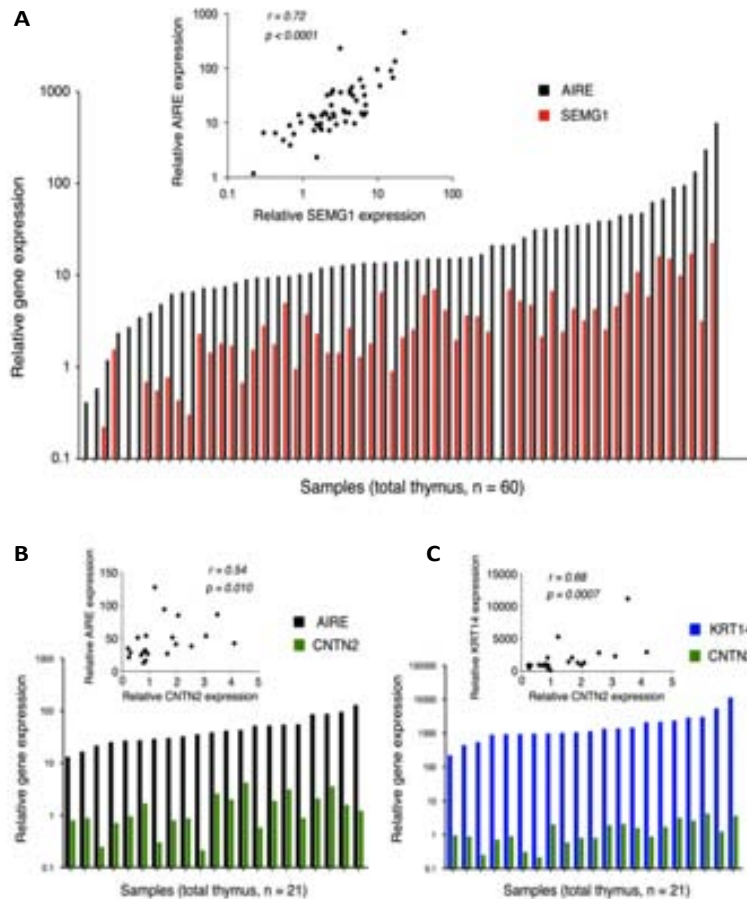


Figura 5.4. Representación del análisis de correlación de expresión génica. A) Representación de la expresión relativa de *SEMG1* (rojo) y *AIRE* (negro) en cada muestra (n=60). En el gráfico interior, correlación de expresión entre *AIRE* y *SEMG1*. B) Representación de la expresión relativa de *CNTN2* (verde) y *AIRE* (negro) en cada muestra (n=21). En el gráfico interior, correlación de expresión entre *AIRE* y *CNTN2*. C) Representación de la expresión relativa de *CNTN2* (verde) y *KRT14* (azul) en cada muestra (n=21). En el gráfico interior, correlación de expresión entre *AIRE* y *KRT14*.

5.4. Identificación de la población celular que expresa *SEMG1* y *CNTN2* en el timo

Para identificar las células que expresaban *CNTN2* y *SEMG1* en el timo, se realizó una primera aproximación mediante el análisis transcripcional de fracciones celulares tímicas por qPCR. Por fraccionamiento celular simple, se obtuvieron las fracciones F0 y F1. La fracción F0 está compuesta básicamente de timocitos y la F1 está enriquecida en estroma tímico, aunque contiene un número elevado de timocitos. La figura 5.5 muestra la expresión de diversos genes en estas dos fracciones. El gen *CDR3*, específico de timocitos se expresaba en ambas fracciones, aunque a niveles más altos en la F0. Por el contrario, los genes de queratinas y *KRT14* estaban exclusivamente expresados en la fracción F1. Estos datos confirmaron que las células epiteliales están contenidas en la F1. Igualmente, la expresión de *AIRE* y de los genes que codifican para los TRAs (*SEMG1*, *KLK3*, *CHRNA1*, *INS* y *GAD1*) junto con la *KRT14*, se detectaron sólo en la fracción F1. Las poblaciones de timocitos no expresaban ninguno de estos genes, descartando un posible papel de los timocitos como presentadores de los TRAs analizados.

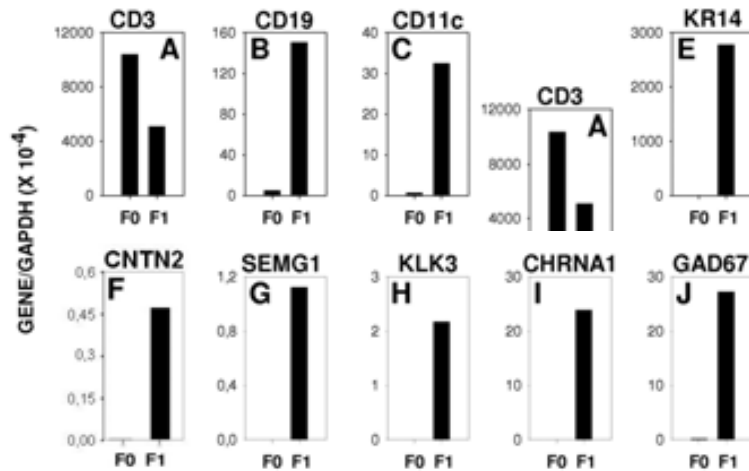


Figura 5.5. Niveles de expresión génica. Fila de arriba: niveles de expresión génica de los genes relacionados con las poblaciones presentes en las fracciones F0 y F1. Fila de abajo: niveles de expresión génica de los TRAs estudiados.

Estos datos confirmaron que *CNTN2* y *SEMG1* se expresaban en una población enriquecida en células estromales, y que las mTECs son el tipo celular candidato a expresarlos. Para confirmarlo e identificar la subpoblación de células estromales encargada de expresar dichos genes, se analizó la expresión de diversos genes por qPCR a partir de cDNA las siguientes muestras: 1) timo completo; 2) timocitos inmaduros ($CD2^+$, $CD3^-$); 3) timocitos maduros ($CD2^+$, $CD3^+$); 4) mTECs HLA-DR^{low}; 5) mTECs HLA-DR^{high} purificadas mediante sorting (número de donantes =9) (Figura 5.6). Se usaron los siguientes genes como control: *KRT14* (marcador de mTECs), *AIRE* (expresado en una subpoblación de mTECs) (Jens Derbinski et al. 2005), *GAD1* (autoantígeno control *AIRE*-independiente), *INS* (autoantígeno control *AIRE*-dependiente). Los resultados mostraron la expresión de *KRT14* en ambas poblaciones de mTECs. Como estaba descrito, la expresión de *AIRE* era mayoritaria en la población mTECs-HLA-DR^{high} en comparación con la mTECs-HLA-DR^{low}; sólo la subpoblación mTEC DR^{high} expresaba insulina mientras que ambas poblaciones de mTEC expresaban *GAD1* a niveles similares. Por lo que respecta a los TRAs en estudio, *SEMG1* presentó el mismo patrón de expresión que la insulina mientras que ambas poblaciones de mTECs expresaban *CNTN2*, confirmando el patrón de expresión de los antígenos *AIRE*-dependientes e independientes (Figura 5.6).

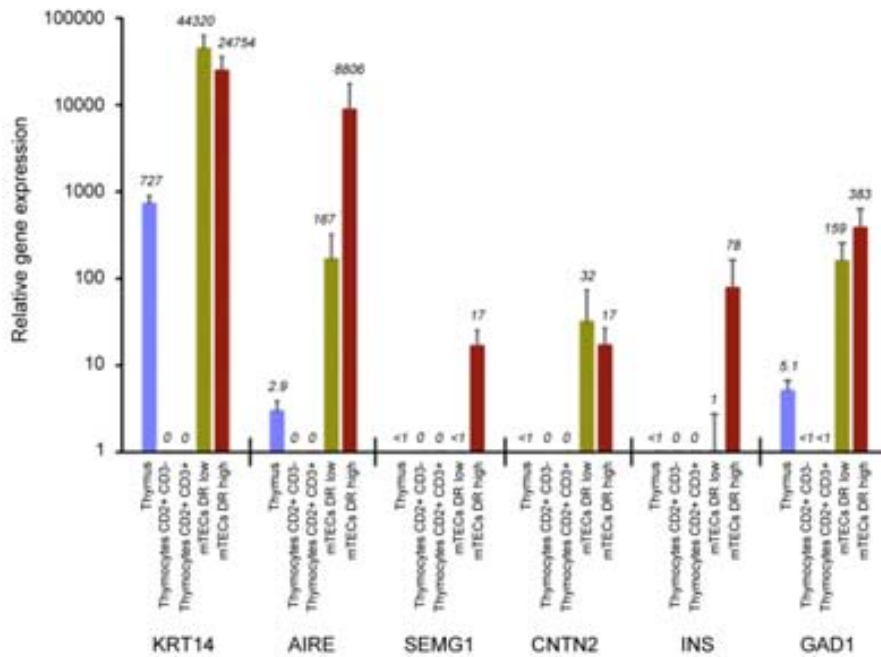


Figura 5.6. Expresión relativa de los genes *KRT14*, *AIRE*, *SEMG1*, *CNTN2*, *INS* y *GAD1* en subpoblaciones tímicas. Columnas desde la izquierda, cDNA de extracto total de timo (azul); timocitos CD3- (inmaduros); timocitos CD3+ (maduros); mTECs HLA-DR^{high} (ocre) y mTECs HLA-DR^{low} (rojo).

Para confirmar la correlación entre la expresión de *AIRE* con la de los TRAs, se analizó la expresión génica de estos genes en subpoblaciones de mTECs procedentes de un mismo individuo. El análisis de los datos individuales confirmó la dependencia descrita a nivel global. Había correlación significativa entre la expresión de *SEMG1* e *INS* con la expresión de *AIRE* ($r=0.95$ y 0.96 , respectivamente, $p<0,0001$ en ambas). La subpoblación de mTECs DR^{low} presentaba niveles de expresión de estos genes muy inferiores a la subpoblación de mTECs DR^{high}. Contrariamente, *GAD1* y *CNTN2* se expresaban a nivel similar en ambas subpoblaciones de mTECs (Figura 5.7), mostrando ausencia o muy baja correlación con la expresión de *AIRE* (*CNTN2*: $r=0,34$, $p=0,29$; *GAD1*: $r=0,66$, $p=0,0027$).

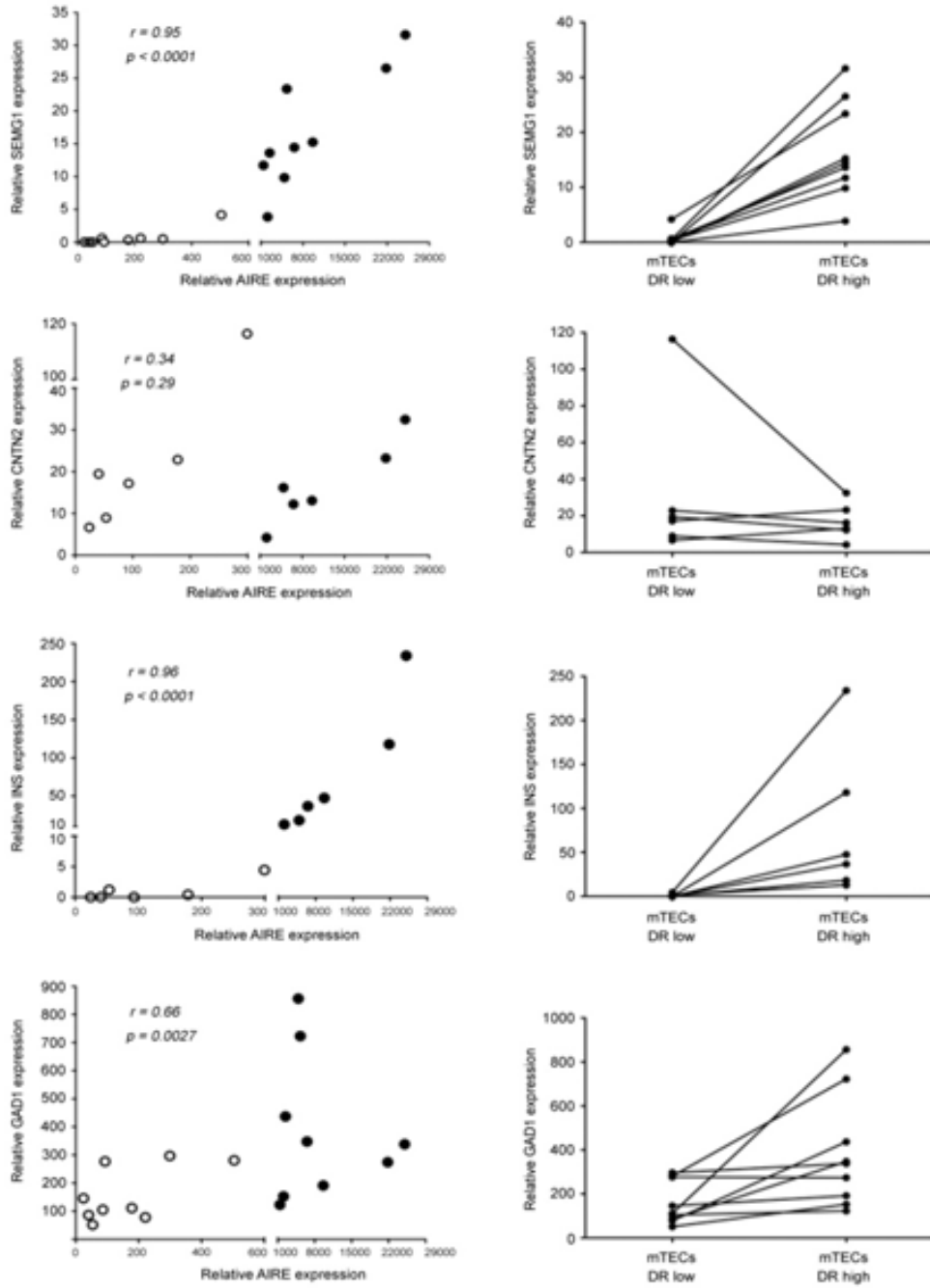


Figura 5.7. Expresión relativa de los TRAs en subpoblaciones celulares de mTECS purificadas. Columna de la derecha: Expresión relativa de los genes de interés y la expresión de AIRE en muestras purificadas de mTECS. Estudio de la variación de expresión de los genes AIRE-dependientes (*INS* y *SEMGI*) y AIRE-independientes (*GAD1* y *CNTN2*) en células mTECS DR^{low} (AIRE^{low}) y mTECS DR^{high} (AIRE^{high}). Cada uno de los puntos unidos por una línea representa la variación de expresión del gen de estudio entre las subpoblaciones de mTECS procedentes de un mismo individuo.

Capítulo 5

Discusión

Identificación de péptidos
procedentes de proteínas específicas
de tejido periférico en timo humano
(TRA: tissue-restricted antigens)

Para generar una tolerancia central eficiente, los timocitos deben ver en el timo un repertorio peptídico en el contexto de las moléculas de MHC propias lo más amplio posible. Este repertorio debe incluir, además de las proteínas ubicuas, aquellas con expresión restringida de tejido. Esto se ha confirmado a nivel transcripcional (referencias) y la expresión de muchos de estos TRAs está regulada por el *Autoimmune Regulator (AIRE)*. Se han realizado gran cantidad de estudios sobre el papel de *AIRE* en la tolerancia inmunológica y su influencia en la expresión de genes de TRAs en timo humano. Los genes que codifican proteínas de expresión restringida a la periferia se transcriben principalmente en las mTECs. Un subgrupo de estas células expresa *AIRE*. En ratones, estos TRAs proceden mayoritariamente de proteínas del intestino, hígado y SNC, mientras que genes específicos de otros tejidos como la próstata están representados en un porcentaje menor (Jens Derbinski et al. 2005). En teoría, las mTECs expresarían estas proteínas restringidas de tejido para procesarlas y presentar los péptidos resultantes por moléculas del MHC a los timocitos durante la selección negativa (Jens Derbinski et al. 2001). Recientemente se ha visto que *AIRE* podría inducir apoptosis en células epiteliales (Gray et al. 2007b; Colomé et al. 2010). Este aspecto funcional de *AIRE* incrementaría la captación de cuerpos apoptóticos de mTECs por las DCs medulares y el procesamiento y presentación de péptidos procedentes de TRAs en la médula tímica. Los niveles transcripcionales de los TRAs son más bajos que su expresión en tejido periférico y en muchos de los casos esta expresión está regulada temporalmente (Villaseñor et al. 2008). Actualmente existen pocos datos sobre la expresión proteica de los TRAs en timo y la presentación por HLA *in situ* de péptidos procedentes de TRAs no había sido demostrada. En este trabajo secuenciamos péptidos derivados de TRAs en timo al obtener *ex vivo* 3 ligandos asociados a HLA-DR. Estos péptidos derivan de dos proteínas específicas de tejido: la semenogelina-1 (*SEMG1*) y la contactina-2 (*CNTN2*). Ambas proteínas, expresadas en órganos inmunoprivilegiados, son diana de respuestas autoinmunes en enfermedades como son la prostatitis crónica o la esclerosis múltiple tanto en ratones como humanos (Hou et al. 2009; Derfuss et al. 2009).

La semenogelina-1 es la proteína dominante del coágulo seminal. Se sintetiza principalmente en el epitelio glandular de las vesículas seminales aunque se ha detectado su expresión en otros órganos no genitales (Lundwall et al. 2002). Tanto la proteína intacta como los productos derivados de su degradación por la proteinasa *prostate-specific antigen* (PSA) actúan modificando diferentes parámetros que afectan a la movilidad de los espermatozoides (de Lamirande 2007). Se identificó un péptido de semenogelina-1 en tres muestras tímicas que expresaban diferentes alelos HLA-DR, dos tenían en común el alelo HLA-DR3 y la muestra restante tenía un tipaje diferente (timo 3: DRB1*03:01/*11:01; timo 4: *03:01/*11:04; y timo 6: *04:01/ *13:01). En esta última muestra se identificó también una secuencia más corta, carente de Q en el extremo N-ter del péptido, conformando ambas secuencias una familia peptídica.

Por su parte, la contactina-2 es una proteína de membrana de la región juxtapanodal del sistema nervioso central y en las fibras de mielina del sistema nervioso periférico (Traka et al. 2002). Es una proteína de adhesión que hace interacción homodimérica, formando un link entre el axón y la banda de mielina. Su función es aún desconocida, aunque se ha postulado que podría estar involucrada en los

movimientos de los canales de K^+ a nivel axonal (Girault and Peles 2002). El péptido identificado se secuenció únicamente en la muestra de timo 1 (DRB1*01:01/*03:01).

El sistema de predicción desarrollado en esta tesis asignó el péptido de la contactina-2 como ligando de alta afinidad para el alelo DR1, mientras que los péptidos derivados de *semenogelina-1* se consideraron péptidos de baja afinidad para los alelos presentes en las muestras correspondientes. Aún así, el sistema Propred asignaba a estos péptidos afinidad intermedia para el alelo DR3 (threshold = 9; Score Propred = 23,16) y para DR4 (threshold = 9; Score Propred = 11,63). Los ensayos de afinidad realizados con moléculas solubles de DR1 y DR3 confirmaron el péptido de contactina-2 como un HB para DR1, y además presenta una afinidad intermedia por el otro alelo de la muestra, DR3. El péptido de semenogelina-1 utilizado, QTEKLVAGKSQIQ, no presentó niveles detectables de unión a alelo a la molécula DR3, lo que sugiere la posibilidad de que el péptido se una a diferentes moléculas de HLA-DR sin demasiada afinidad. Sin embargo, DR4 soluble no se usó en este experimento, lo que impide sacar conclusiones sobre la afinidad por esta molécula.

La expresión génica de *SEMG1* y *CNTN2* en timo fue muy baja en comparación con las respectivas expresiones en próstata y cerebro. El gen *SEMG1* se detectó en otros tejidos diferentes al reproductor, entre ellos el intestino delgado y el músculo esquelético, como ya describió Lundwall et al. en 2002. Nuestros resultados muestran una considerable expresión de ambos transcritos en otros órganos inmunoprivilegiados como el intestino delgado y los testículos. Sin embargo, en contraposición a lo anteriormente descrito, no detectamos expresión de *SEMG1* en músculo esquelético. La transcripción de la *SEMG1* en los diferentes tejidos se correlaciona con la *KLK3*, gen codificante para la PSA, incluyendo el timo. La especificidad de la PSA *in vitro* es conocida. De hecho se ha digerido *in vitro* la semenogelina 1 con la PSA (Malm et al. 2000; Coombs et al. 1998) y ninguno de los dos péptidos secuenciados en nuestro trabajo fue generado *in vitro* por la PSA. Esto sugiere que la PSA no actúa a nivel tímico para generar los ligandos de HLA-DR procedentes de semenogelina 1 secuenciados en esta tesis. Por tanto, las proteasas candidatas a genera dichos ligandos serían las propias proteasas de las APCs tímicas. Por otra parte, *CNTN2* mostró un patrón de expresión tisular similar al *GAD1*, un autoantígeno importante en la diabetes tipo I. Aunque la expresión relativa de este autoantígeno era más dispersa que la de *CNTN2*, la expresión de ambos se concentra en el tejido nervioso y testículos. Los niveles de expresión en páncreas fueron similares para los dos genes. Aunque no hay datos de respuesta autoinmune específica contra la contactina-2 en pacientes diabéticos, si que existe relación en el deterioro axonal y los canales de iones Na^+/K^+ (Kuwabara and Misawa 2004) y se han visto variaciones de expresión de contactina en los nódulos de Ranvier en modelos de diabetes de tipo I en rata (Sima et al. 2004).

La expresión promiscua en timo se da mayoritariamente en las mTECs. Aún así, no es una característica exclusiva de estas células ya que las cTECs son capaces de expresar TRAs (J Derbinski et al. 2001). A nivel medular, los niveles de expresión de TRAs se incrementan en las mTECs-Aire^{hi} (maduras) respecto mTECs-Aire^{lo} (inmaduras). Se ha descrito que el 45% de los genes *AIRE*-dependientes son potenciales TRAs (Jens Derbinski et al. 2005).

Los autoantígenos secuenciados en este trabajo son expresados por las células del epitelio tímico, en concreto por las mTECs. Aun así, la dependencia de *AIRE* en su expresión varía en función del gen estudiado:

Al igual que el gen *AIRE*-dependiente de la insulina (*INS*) (Jens Derbinski et al. 2001), la expresión de *SEMG1* se correlacionó con la expresión de *AIRE*, sobre todo en las mTECs $AIRE^{high}$ HLA-DR^{high}. El incremento de su expresión se confirmó en el estudio de poblaciones de mTECs (*KRT14+*) maduras (DR^{hi}) e inmaduras (DR^{lo}) procedentes de un mismo donante, donde el incremento de la expresión de *AIRE* en estas poblaciones provocó a su vez el aumento de la transcripción de *SEMG1*. Datos previos en modelos murinos relacionan la expresión de *SEMG1* y la tolerancia. Hou et al. en 2009 inmunizaron ratones WT con la *seminal vesicle secretory protein 2 (SVS2)*, equivalente en ratón de la *SEMG1* humana, provocándoles la aparición de prostatitis. Además, ratones *AIRE*-KO desarrollaron de forma espontánea la enfermedad debido a que la expresión de *svs2* en timo es dependiente de *AIRE*. Ambos datos muestran la importancia, tanto a nivel periférico como a nivel central, de la tolerización de esta proteína. Por otra parte, un gran número de pacientes con prostatitis presentan anticuerpos contra la semenogelina. No sabemos los niveles de expresión de *SEMG1* en el timo de pacientes con prostatitis autoinmune, pero la tolerización de esta proteína parece ser evolutivamente importante. Esta enfermedad afecta al 6% de los hombres adultos y se desconoce su etiología, por lo que es plausible pensar que la reducción tímica derivada del acúmulo de materia grasa con los años pueda reducir los procesos tolerogénicos frente a la semenogelina-1 y permitir el desarrollo de prostatitis en edades más avanzadas del desarrollo humano en determinados individuos.

A su vez, el gen *CNTN2* se detectó a niveles similares en las poblaciones mTEC maduras e inmaduras, manteniendo las similitudes con la expresión de *GAD1* (J Derbinski et al. 2001). El incremento de *AIRE* no se correlacionó con el aumento de expresión de la *CNTN2*, por lo que se consideró *AIRE*-independiente. Aunque actualmente *AIRE* es el único gen aceptado como componente molecular de la regulación de la expresión promiscua se están estudiando otras vías de regulación (Seach et al. 2008; Akirav, Xu, and Ruddle 2011; Metzger and Anderson 2011), que podrían ser las responsables de la expresión de la *CNTN2*. Aunque posiblemente no tenga relevancia, es curioso anotar que tanto *GAD1* como *CNTN2*, proteínas del sistema nervioso central, tienen sistemas de regulación independientes de *AIRE*. Hasta donde sabemos, no hay estudios previos de la expresión de *CNTN2* en timo y su implicación en tolerancia, pero sí se ha descrito respuesta específica contra contactin-2 asociada con la secreción de IFN- γ e IL-17 en pacientes con esclerosis múltiple, participando de forma significativa en el proceso patológico (Derfuss et al. 2009). En modelos EAE de rata, la transferencia adoptiva de células T CD4+ específicas para los residuos 31-240 de la *tag-1* (equivalente a la *CNTN2* en rata) generó una reacción autoinmune que afecta al sistema nervioso central. La región de *tag-1* utilizada en este estudio contiene la secuencia descrita por nosotros con un porcentaje de homología del 87%. Además, Derfuss describió que la respuesta contra *tag-1* en este modelo animal genera una histopatología similar a la que se desarrolla en humanos, afectando a nivel del cortex cerebral y en la material blanca y gris de la espina dorsal. Igual que para la semenogelina-1, los mecanismos de tolerancia periférica parecen ser esenciales

para evitar el desarrollo de la enfermedad ya que una parte de los linfocitos T procedentes de donantes control generaron respuesta específica frente a la contactin-2, aunque no desarrollaron la enfermedad (Derfuss et al. 2009).

Tanto el número de TRAs secuenciados como sus niveles de expresión son escasos, lo que puede sugerir que no es necesario una gran presentación peptídica de los TRAs para generar el repertorio tolerogénico. Estos péptidos, de expresión restringida a órganos inmunoprivilegiados, podrían estar siendo “ignorados” por células potencialmente autorreactivas debido a que no tienen acceso a ellos en concentraciones suficientemente altas como para desencadenar una respuesta autoinmune (Nossal 1993). Los procesos tolerogénicos centrales puede que únicamente “amortiguen” la presencia de células T autorreactivas en periférica. Sin embargo, si existieran factores que causen alteraciones cuantitativas o cualitativas en la expresión de los TRAs, el número de células T autorreactivas podría incrementarse, aumentando la probabilidad de desarrollar autoinmunidad.

Un ejemplo son las variaciones post-traduccionales de las proteínas. Clossen et al. detectaron la expresión de determinados antígenos asociados a tumor en mTECs humanas a nivel proteico. Sólo entre el 1% y el 3% de las mTECs purificadas presentaban la proteína y en ningún caso se detectó las variaciones post-traduccionales presentes en periferia (Cloosen et al. 2007). Estas variaciones en las modificaciones post-traduccionales entre el timo y la periferia estarían generando un repertorio de células T no tolerizadas. De la misma manera, los niveles de expresión intratímica de un determinado antígeno podría influir en el umbral de la tolerancia frente a la autoinmunidad. En el caso de la diabetes, existe una correlación inversa entre la expresión de insulina intratímica y la susceptibilidad a padecer la enfermedad (Liston et al. 2005). Por lo que, variaciones en el número de secuencias presentadas o incluso en los ligandos que componen las familias peptídicas pueden dar lugar a presentaciones desiguales de determinados ligandos.

La identificación de péptidos de semenogelina-1 y contactina-2 presentados por HLA-DR implica el procesamiento y transporte a los compartimentos de carga de MHC-II de estas proteínas. Su expresión, delimitada a las células epiteliales, sugiere la posible presentación por parte de las mismas. Mohan et al. describieron, en modelos de ratón, que linfocitos T tolerizados en timo frente a una secuencia peptídica de la cadena B de la insulina desencadenaban una respuesta en periferia frente a una variante de ese mismo péptido. Concretamente, las células de Langerhans de periferia presentaban la misma secuencia pero con variaciones en su longitud. La pérdida de un aminoácido provocaba el cambio en el *core* de unión modificando la respuesta frente a él (Mohan, Petzold, and Unanue 2011; Mohan et al. 2010). Estas diferencias en el procesamiento peptídico entre APCs tímicas y no tímicas puede generar ligandos similares pero no idénticos que no son tolerizados a nivel central. Aún así, las DCs (autóctonas como periféricas) presentes en la médula tímica también son capaces de presentar de forma ectópica TRAs para el desarrollo de los timocitos. La relación entre las DCs tímicas y las mTECs en la inducción de la tolerancia central sugieren que las mTECs pueden actuar tanto como presentadoras de antígeno autónomas via macroautofagia o actuar como una fuente de antígenos para su presentación cruzada por las DCs tímicas (Takahama 2011; Hubert et al. 2011). La posibilidad de que *AIRE* aumente la

sensibilidad a la apoptosis de las células epiteliales (Colomé et al. 2010; Gray et al. 2007b; Liiv et al. 2012) y la modulación negativa de la expresión del MHC-II tras la expresión de *AIRE* (Johnnidis et al. 2005; Sato et al. 2004), podría favorecer la presentación de los TRAs por parte de las DCs mediante la captura de material derivado de las mTECs.

El futuro estudio del procesamiento y presentación de los TRAs requerirá el análisis de poblaciones purificadas de mTECs y DCs tímicas. Como ya se ha comentado, la mayor limitación para estos estudios deriva de la dificultad de purificar el suficiente número de mTECs y DCs de la médula tímica humana para poder llegar a secuenciar ligandos de MHC, aún así el progreso en las tecnologías proteómicas facilita cada vez más la consecución de dicho objetivo.

Conclusiones

1. Desarrollo de un método de asignación de péptidos a alelos de HLA-DR basado en herramientas bioinformáticas

1a. Se ha desarrollado una metodología de predicción de afinidad de los péptidos asociados a HLA-DR que permite la asignación a alelos

1b. El método desarrollado presenta alto nivel de eficiencia en la asignación de péptidos de alta afinidad

2. Análisis de los ligandos de HLA-DR en tejido linfóide secundario humano

2a. El repertorio de péptidos asociado a HLA-DR en bazo humano es un repertorio estándar para clase II, mayoritariamente de origen extracelular y con alto nivel de redundancia

2b. Existen regiones inmunodominantes en cada proteína que son presentadas por HLA-DR, en detrimento del resto de la secuencia de cada proteína

2c. La mayoría de los ligandos presentados en el bazo son de alta afinidad

2d. Los péptidos más abundantes proceden de proteínas relacionadas con las funciones del tejido, independientemente de su abundancia en el resto del proteoma

3. Análisis de los ligandos de HLA-DR en timo humano

3a. El repertorio de péptidos asociado a HLA-DR en timo humano es un repertorio estándar para clase II, mayoritariamente de membrana o extracelular y de menor nivel de redundancia que en el bazo

3b. Los péptidos presentados en el timo son de alta afinidad y representan las regiones inmunodominantes de cada proteína

3c. El contenido del peptidoma tímico está mayoritariamente representado por péptidos derivados de proteínas ubicuas o abundantes en órganos linfoides

3. Estudio comparativo entre los repertorios peptídicos de timo y bazo en condiciones homeostáticas

4a. El número de proteínas generadoras de péptidos que son comunes entre timo y bazo es relativamente bajo pero generan la mayor proporción de péptidos en ambos tejidos

4b. Entre timos y bazos idénticos para HLA-DR, las secuencias derivadas de proteínas comunes generaron péptidos de igual secuencia

4c. Ambos repertorios están compuestos principalmente de péptidos de alta afinidad. En el timo esta propiedad corresponde a la mayoría de los péptidos. En bazo, sin embargo, los péptidos de la vía citosólica son de baja afinidad. Esto probablemente refleja la importancia de esta vía no canónica en el timo

4d. En comparación con estos repertorios, los péptidos presentados por un tejido autoinmune humano presentan un alto porcentaje de péptidos de baja y media afinidad

5. Análisis de los péptidos involucrados en la inducción de tolerancia: estudio de péptidos procedentes de proteínas específicas de tejido periférico en muestras de timo humano

5a. Se han identificado por primera vez dos péptidos derivados de antígenos periféricos presentados por HLA-DR en timos humanos. Estos péptidos proceden de proteínas que son diana de enfermedades autoinmunes humanas

5b. Su expresión se restringe a células epiteliales medulares

5c. La expresión de uno de ellos es AIRE dependiente y otro AIRE independiente

5d. Por lo tanto, la transcripción ectópica de genes periféricos en timo se corresponde con la presentación de péptidos de la correspondiente proteína

Anexo



Anexo 1. Tabla resumen de las afinidades predictivas y asignación alélica de los ligandos de HLA-DR

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 1 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 1 | P60709 | ATAASSSSLEKS | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | P60709 | DFEQEMATAASSS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P60709 | ISKQEYDESGPSIVHR | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 1 | P60709 | LDFEQEMATAASS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P60709 | LDFEQEMATAASSS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P60709 | MDDDIAALVVDNNGSMCKAGFAGDDAPRAVFPISVG | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P60709 | MGQKDSYVGDEAQSKRGILT | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P60709 | VALDFEQEMATAASSS | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P60709 | WISKQEYDESGPSIVHR | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 1 | P10696 | SPEYRQQSAVPLDGE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P05186 | AHNNYQAQSAVPLRH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P05186 | AHNNYQAQSAVPLRHE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P05186 | AHNNYQAQSAVPLRHET | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01009 | KAVLTIDEKGTEA | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01009 | KAVLTIDEKGTEAA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P15144 | INDAFNLASAHKVPVT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P58335 | DLYFVLDKSGSVA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P58335 | DLYFVLDKSGSVAN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P12830 | GKVFYSITGGADT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q9UQC9 | DEYNNDKPFYIN | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q9UQC9 | DEYNNDKPFYING | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P27824 | KPDDWDEDAPAKIPD | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | P27824 | KPDDWDEDAPAKIPDE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | P07384 | VPELVGQPAVHLKR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P25774 | TGKLVLSAQNLDV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q02246 | VGGNLVIMNPTKAQDAG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P02741 | KESDTSYVSLKAPLTKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P02741 | SDTSYVSLKAPLTKPLK | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P12277 | DPIIEDRHGGYKPS | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P12277 | DPIIEDRHGGYKPSDE | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q13609 | SVFDFQKAYKLTEE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q02413 | VVTGNMGSNDKVGDF | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 1 | Q9H324 | ETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P68104 | IEKFEKEAAEMGKG | IB | LB | IB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P54851 | FQEYSTLQAVQATM | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P09382 | GEVAPDAKSFVLN | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P09382 | VRGEVAPDAKSFVLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q8N6F7 | SPEDEYELLMPHRIS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q8N6F7 | SPEDEYELLMPHRISS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q8NBJ4 | SSHNFLQESVNKLYQDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 1 | P0C0S8 | TAEILELAGNAAR | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P0C0S8 | TAEILELAGNAARDN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P0C0S8 | VLEYLTAEILELAGNAAR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P20036 | YVDLKKETVWH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01909 | DIVADHVASYGVN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | ALANIAVDKANLEIM | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | ALANIAVDKANLEIMT | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | ANIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | LANIAVDKANLEI | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | LANIAVDKANLEIM | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | LANIAVDKANLEIMT | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01903 | VPPEVTLTNSPVE | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | BTLYLQMNSLRAEBT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | BTVYLQMBSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | BTVYLQMBSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NSLYLQMNSLRVEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NTLYLNMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NTLYLNMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NTLYLQMNSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NTLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | NTLYLQMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | TLYLQMNSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | TLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | TVYLQMBSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01781 | TVYLQMBSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P01834 | KVQWKVDNALQSG | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P01834 | KVQWKVDNALQSGN | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q9Y6R7 | ASVDLKNTRGREE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 1 | P13612 | TPIQIEAAYHLGPH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P11215 | GQSVVQLQGSRVVVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P05107 | NSNQFQTEVGKQLISG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P05107 | SNQFQTEVGKQLISG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q96RQ9 | LSGLVLLNAPVVAMT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q9UHB6 | FTTQNQKSQDVEL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 1 | P33241 | SLKPSEAPELDED | LB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O00754 | IRATFDPDTGLLME | IB | LB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | O00754 | TRIVITDGNMQL | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P07333 | VDTYVEMRPVSTS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q2M385 | FSTEFQRMKTLQVKDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q14764 | EKSFFLQPGEQLEQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q14764 | GEKSFFLQPGEQLEQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P08571 | SGTLVLLQGARGFA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P35579 | GKADGAEAKPAE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | Q96A32 | VITHGDAKDQE | LB | LB | IB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 1 | P15586 | FEPFFMMIATPAPH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P15586 | FEPFFMMIATPAPHSP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P16284 | DAQFEVIKGTIEV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q15149 | GGLIPTDPGRVPLD | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q9H3G5 | AGKYVPAIAHLIHS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P30101 | SDVLELTDNDFESRISDTGSAGLML | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | P30101 | SDVLELTDNDFESRISDTGSAGLMLVE | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 1 | Q96M53 | PIGDPQSNRNPQL | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | A6NJS3 | MGTAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | A6NJS3 | STAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | A6NJS3 | STAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P20339 | SPNIVIALSGNKADLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P61020 | SPSIVIALAGNKADLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P51148 | SPNIVIALAGNKAD | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P51148 | SPNIVIALAGNKADL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P51148 | SPNIVIALAGNKADLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P51149 | AKEAINVEQAFQTIA | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O75787 | NEFSILKSPGSV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O75787 | NEFSILKSPGSV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P52566 | DGPVVTDPKAPNVV | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q9BY78 | RLATQALSQLHARPSY | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P02768 | EQLGEYKFNAL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 1 | P02768 | LGEYKFNALLVRYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O75094 | KDSYVELASAKVRPQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P38646 | VPAYFNDSQRQAT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 1 | O00391 | ASHFEQMAAASMR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O00560 | ITSIVKSSAARN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P02786 | NSVIIVDKNGRLVY | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | Q15582 | IEDTFETLRAAVAAS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q15582 | IEDTFETLRAAVAASG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | Q15582 | TTQLYDRTEKLRPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P07437 | GSDSLQLDRISVYVYNEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | O14763 | DNEIKVAKAEAG | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O43914 | ESPYQELQGQRSDV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | O43914 | SPYQELQGQRSDV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P18206 | GSSPVAMQKAQQVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P18206 | ISPMVMDAKAVAGNI | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 1 | P18206 | SPVAMQKAQQVSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P18206 | SPVAMQKAQQVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P18206 | SSPVAMQKAQQVSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 1 | P18206 | SSPVAMQKAQQVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 1 | O75348 | DIRPEIHENYRING | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | P62899 | VTYVPVTTFKNLQTVNVNVDEN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | P60709 | DFEQEMATAASS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P60709 | DFEQEMATAASSS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P60709 | DFEQEMATAASSSS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P60709 | LDFEQEMATAASSS | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01009 | KAVLTIDEKGTEA | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01009 | KAVLTIDEKGTEAA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01023 | YVLLAYLTAQPPTS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P15514 | IPGYVDDSVRVEQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P09525 | ISQTYQQQYGRSLED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | AAGQFFPEAAQVAYQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | AGQFFPEAAQVAYQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | AGQFFPEAAQVAYQM | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | DAAGQFFPEAAQVAYQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | DAAGQFFPEAAQVAYQM | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P08133 | GDDDAAGQFFPEAAQVAYQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P05089 | INTPLTTTSGNLHGQP | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P13010 | VEIKQLNHFWEIVVQ | HB | IB | IB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q92499 | LHLGYPNLQ | IB | HB | LB | NA | NA |
| Timo 2 | P40259 | YEGLDIDQTATYEDI | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P20273 | APEPSTVQILHSPAVEG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P20273 | APEPSTVQILHSPAVEGSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P22223 | DTKIFYITGPGADSPPE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01258 | VQDYVQMKASELEQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01258 | VQDYVQMKASELEQE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9UQC9 | DEYNNDKPFYING | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P27824 | KPDDWDEDAPAKIPDE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P27824 | KPDDWDEDAPAKIPDEE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P09668 | ESAIAIATGKMMLSLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P25774 | TGKLVLSAQNLVD | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P11717 | DLNPLIKLSGAYLVDDS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9NZZ3 | AQQSFNMEQANYTIQ | HB | HB | IB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9UMD9 | DSGKVFATSPASIAATSFS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P09871 | INEYWVLTAHVVE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01024 | SPMYSIITPNILR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01024 | SPMYSIITPNILRLE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01024 | SPMYSIITPNILRLES | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P0C0L4 | DPDAPLQPVPTLQLFEGR | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q02413 | VVTGNMGSNKVGDF | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | Q9UHL4 | YPYPTDFLGLPANPVK | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 2 | Q9H3Z4 | ETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q9H3Z4 | TTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P68104 | IEKFEKEAAEMGKG | IB | LB | IB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P47813 | DDIGDDDEDIDDI | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P55884 | DSVIVVDNVPQVGPD | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P55884 | IDSVIVVDNVPQVGPD | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q8IWU5 | NTDPYQLMNAVNTLDR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q8IWU5 | TDPYQLMNAVNTLDR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P52907 | FNEVFNDVRLLLNNDN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P02671 | DSGEGDFLAEGGVR | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | P02671 | LGEFVSETESRGSE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P02751 | DEPQYLDLPSTATSVN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P09382 | GEVAPDAKSFVLN | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P09382 | VRGEVAPDAKSFVLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P15104 | LNETGDEPFQYKN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | P04406 | DAGAGIALNDH | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | Q99988 | DSNTDLVPAPAVRILTPE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P62826 | APPEVMDPALAAQYEHD | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P31943 | QVLQENSSDFQSNIA | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P55795 | FLNSTAGTSGGAYDHSY | LB | IB | IB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9BUJ2 | DYGSYSNGTQGGTSTQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | Q9BUJ2 | NYDYSYSNGTQGGTSTQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | P22626 | GGGNYGSGNYNDFGNY | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | P0C0S8 | ILELAGNAARDN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P0C0S8 | LTAIEILELAGNAARDN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P0C0S8 | TAEILELAGNAARDN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P28068 | FGVLNSLANVLSQH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P20036 | FYVDLKKKTVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P20036 | VDLKKKTVWH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P20036 | YVDLKKKTVWH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01909 | EDIVADHVASYGVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | ANIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | LANIAVDKANLE | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | P01903 | LANIAVDKANLEI | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | LANIAVDKANLEIM | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | LANIAVDKANLEIMT | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | NIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01903 | VPPEVTVLTNSPVE | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01903 | VPPEVTVLTNSPVEL | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | BTLYLQMNSLRAEBT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | BTLYLQMNSLRAEBTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | BTVYLQMBSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | NTLYLNMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | NTLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 2 | P01781 | NTLYLQMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | YLQMNSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01781 | YLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01834 | KVQWKVDNALQSG | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P01834 | KVQWKVDNALQSGN | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q13349 | DTSVYSQLPGQEAFM | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q13349 | DTSVYSQLPGQEAFMR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P11215 | GFGQSVVQLQGSRVVVGAPQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P11215 | TPLSAFGNLRPVAEDA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P11215 | TPLSAFGNLRPVAEDAQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P05107 | NSNQFQTEVGKQLISGN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q14624 | NVVFVIDKSGSM | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q14624 | NVVFVIDKSGSMMSG | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q13651 | EPQFLLPDHPQADR | IB | HB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P07910 | GSSFLDYDFQRD | IB | LB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q13753 | LDPVYFVAPAKFLGNQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | DDVAALHGPPVVRQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | LSGLVLLNAPVVAM | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | LSGLVLLNAPVVAMT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | LSGLVLLNAPVVAMTQGPH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P10253 | LPSQYITGLAEHLSP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P10253 | LPSQYITGLAEHLSPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | O00754 | IRATFDPTDGLLME | IB | LB | IB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q13571 | VVLPSEEEALSPSKTPE | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | P07333 | VDTYVEMRPVSTS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q14764 | GEKSFFLQPGQELEQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9Y5P6 | GPGIVGNVLDPSARIGQN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P11226 | TEGQFVDLTGNRLTYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGPLS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P55058 | IDYSMLKDPVASTSN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P55058 | VGIDYSLMKDPVASTSN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q15149 | TGGLIEPDTGRVVP | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q15149 | TGGLIEPDTGRVPLD | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q9H3G5 | KYVPAIAHLIHS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P01189 | YGGFMTSEKSQTPLVT | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P41222 | DYDQYALLYSQSGKGGP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P28066 | GPQLFHMDPSTGFVQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q13796 | EPGAASFQNDSPQVR | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q92734 | YPAQTYTAQTSQPTNYT | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q5BJH7 | SPTPHAAFLADPVSNMAMAYG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | A6NJS3 | MGTAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | A6NJS3 | MGTAYMELSSLRSEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 2 | A6NJS3 | STAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | A6NJS3 | STAYMELSSLRSED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P61106 | NPNTVILIGNKADLE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P20339 | SPNIVIALSGNKADL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P20339 | SPNIVIALSGNKADLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P61020 | SPSIVIALAGNKADL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P51148 | SPNIVIALAGNKADL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P51148 | SPNIVIALAGNKADLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P52566 | DGPVVTDPKAPNVV | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P52566 | DGPVVTDPKAPNVVVT | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q96PK6 | AAAYASQPAAYAAQA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96PK6 | QPSASYNAQSAPYAAQQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96PK6 | TAAAYASQPAAYAAQA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q9UIB8 | DAGDYKADINTQADPY | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | Q9UIB8 | DAGDYKADINTQADPYT | LB | IB | HB | NA | NA |
| Timo 2 | P38646 | VPAYFNDSQRQA | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | P38646 | VPAYFNDSQRQAT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 2 | Q96L08 | LPPQATFQVLRNGAS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96L08 | LPPQATFQVLRNGASVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | O00560 | NPANPAILSEASAPIPH | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | O00560 | NPANPAILSEASAPIPHDG | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | O00560 | VDKVIQAQTAFSANPA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q99NYK1 | FSGLTYLKSPLYLDGNQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q13263 | DYNLIVIERGAAAATGQPG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P02786 | SVIIVDKNGRLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q15582 | TTQLYTRTEKLRPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P07437 | GSDSLQLDRISVYYNE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P07437 | GSDSLQLDRISVYYNEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P68371 | MNTFSVVPSPKVS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | O43914 | SPYQELQGQRSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | O43914 | SPYQELQGQRSDV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | O43914 | SPYQELQGQRSDVY | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q13308 | ADGSSLPEWVTDNAGTLH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P68036 | WQGLIVPDNPPYDKGAF | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q99NU53 | EEVVEIDGKQVQQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P18206 | GSSPVAMQKAQVVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P18206 | ISPMVMDAKAVAGNI | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | P18206 | SSPVAMQKAQVVSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P18206 | SSPVAMQKAQVVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | P04004 | GGPSLTSDLQAQSKGNPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q99NY47 | EVDANLMLALYNSFY | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Timo 2 | Q8N326 | QSNELVDKCKSDIEK | LB | LB | IB | LB | NA |
| Timo 2 | Q9H2Y7 | FEQLSQTTKQADTAT | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Timo 2 | Q96KR1 | APAVAYDSKQYQQPT | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 2 | Q96KR1 | TAPAVAYDSKQYYQQPT | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P63104 | QEAFEISKKEMQPT | LB | HB | IB | NA | NA |
| Timo 3 | P11912 | YEDISRGLQG | LB | IB | IB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P11912 | YEDISRGLQGTY | LB | IB | IB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P25774 | LDHHWHLWKKTYGKQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P00450 | GDKVYVHLKLNLASRPY | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P02745 | QPRPAFSAIRRNPP | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 3 | P02745 | QPRPAFSAIRRNPPM | IB | LB | HB | NA | NA |
| Timo 3 | Q14314 | DCSDYYAIGKRSET | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P17900 | TGNRYIESVLSSSG | IB | HB | IB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | FTTMEKAG AHL | LB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | GVFTTMEKAGAH | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | GVFTTMEKAG AHL | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | GVFTTMEKAG AHLQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | STGVFTTMEKAGAH | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | STGVFTTMEKAG AHL | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | STGVFTTMEKAG AHLQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | TGVFTTMEKAGAH | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | TGVFTTMEKAG AHL | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04406 | TGVFTTMEKAG AHLQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | AAFVQTHRPTGEF | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | AFVQTHRPTGEF | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | FVQTHRPTGEF | LB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | FVQTHRPTGEFM | LB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | VLDLKKETVWHLE | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P20036 | YAAFVQTHRPTGEF | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | YVDLKKETVWH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P20036 | YVDLKKETVWHLE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P01909 | EDIVADHVASYGVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P01903 | LANIAVDKANLEIMT | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P01903 | YLNPDQSGEF | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P01781 | YLQMNSLRAED | LB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P01781 | YLQMNSLRAEDT | IB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P01871 | IQVSWLREGKQVGSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | Q02818 | QAVLHMEQRKQQQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | Q02818 | QAVLHMEQRKQQQQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | Q02818 | QAVLHMEQRKQQQQQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | Q02818 | QQAVLHMEQRKQQQQQQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P04279 | QTEKLVAGKSQIQ | LB | IB | LB | LB | NA |
| Timo 3 | P02768 | STPTLVEVSRNLGKVG | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P02768 | STPTLVEVSRNLGKVGSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P02768 | TPTLVEVSRNLGKVG | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P02768 | TPTLVEVSRNLGKVGSK | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01/DRB1*11:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 3 | O00585 | AILFLPRKRSQA | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | O00585 | IPAILFLPRKRSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | O00585 | IPAILFLPRKRSQA | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | O00585 | IPAILFLPRKRSQAE | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | O00585 | PAILFLPRKRSQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P00441 | AGPHFNPLSRKHGGPK | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P00441 | GPHFNPLSRKHGGPK | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P00441 | HFNPLSRKHGGPK | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P00441 | PHFNPLSRKHGGPK | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:01 |
| Timo 3 | P02786 | IIVDKNGRLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P02786 | NSVIIVDKNGRLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P02786 | SVIIVDKNGRLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 3 | P28908 | YYLDEAGRCT | LB | HB | LB | LB | NA |
| Timo 4 | P60709 | AEREIVRDIKEKL | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P33151 | GKEYFAIDNSGRIIT | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P10644 | RNIQQYNSFVLSLV | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Timo 4 | Q92187 | MPLEFKTLNVLHNRGAL | IB | IB | HB | IB | DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P31785 | QKKEIHLYQTFVVQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P20036 | EMFYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | EQFYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | FYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | MFYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | QFYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | VDLKKETVWHLE | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | YVDLKKETVWH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | YVDLKKETVWHL | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P20036 | YVDLKKETVWHLE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P04440 | DVGEFRAVTELGPRD | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 4 | P04440 | VGEFRAVTELGPRD | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 4 | P01903 | LANIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P01903 | LANIAVDKANLEIMT | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | Q6PJ95 | KQTIIPDYRNMIG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | Q6PJ95 | KQTIIPDYRNMIGQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P17936 | HSKIIIIKKGHAKDS | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P17936 | HSKIIIIKKGHAKDSQ | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P10124 | KGPMFELLPGESNKIPR | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P53041 | DATRAIELDKKYIKGY | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKD | IB | LB | LB | LB | NA |
| Timo 4 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P02787 | EDPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P02768 | NALLVRYTKKVPQVS | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | NALLVRYTKKVPQVSTPT | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | PTLVEVSRNLGKVG | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Timo 4 | P02768 | PTLVEVSRNLGKVGVS | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | STPTLVEVSRNLGKVGVS | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | TPTLVEVSRNLGKVG | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | TPTLVEVSRNLGKVGVS | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02768 | TPTLVEVSRNLGKVGSK | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | Q16594 | TPLPLIKPYSGPRLPPD | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Timo 4 | P02786 | NSVIIVDKNGRLVY | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P02786 | SVIIVDKNGRLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | P02786 | SVIIVDKNGRLVY | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 4 | Q15582 | ALEIFKQASAFSRASQ | HB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | Q15582 | LEIFKQASAFSRAS | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 4 | Q15582 | LEIFKQASAFSRASQ | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*15:01 |
| Timo 5 | P01023 | GNRIAQWQSFQLEG | IB | LB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P01023 | GNRIAQWQSFQLEGG | IB | LB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P61769 | TPKIQVYSRHPAEN | HB | IB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | Q10589 | EGEITTLNHHKLDAS | HB | IB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | Q10589 | LEGEITTLNHHKLDAS | HB | IB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P20645 | SEKELALVKRLKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P09382 | VRGEVAPDAKSFVLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P30488 | GYNQLAYDGKDYIAL | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P30488 | GYNQLAYDGKDYIALN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P30488 | YNQLAYDGKDYIAL | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | P04440 | SQKDILLEEKRAVPD | LB | LB | HB | LB | NA |
| Timo 5 | P33908 | IQRDILLEKKVAQDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Timo 5 | O95297 | NPPDIVVQPGHIRLY | HB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*11:04 |
| Timo 5 | Q02818 | QAVLHMEQRKQQQQQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | Q02818 | QAVLHMEQRKQQQQQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P25786 | HAVLVALKRAQSE | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P04279 | QTEKLVAGKSQIQ | LB | IB | LB | LB | NA |
| Timo 5 | P02787 | DKSKEFQLFSSPHGKDL | HB | IB | HB | IB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKDS | HB | IB | LB | NA | NA |
| Timo 5 | P02768 | ALLVRYTKKVPQVS | HB | HB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | P02768 | STPTLVEVSRNLGKVGSK | HB | IB | HB | HB | DRB1*11:04 |
| Timo 5 | Q16594 | TPLPLIKPYAGPRLPPD | IB | IB | IB | IB | DRB1*11:04 |
| Bazo 1 | P10809 | ARALMLQGVDLLADA | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10809 | DARALMLQGVVDLLADA | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10809 | GADARALMLQGVVDLLADA | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | DNGVFEVVATNGDTH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | GVFEVVATNGDTH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | GVFEVVATNGDTHLG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | IDNGVFEVVATNGDTHLG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | IDNGVFEVVATNGDTHLGG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | LB | LB | IB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | Q9UNA0 | GRAALASQLLDQSALS | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q9UNA0 | GRAALASQLLDQSALSPA | IB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q9UNA0 | GRAALASQLLDQSALSPAGGSGP | IB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q9UNA0 | RAALASQLLDQSAL | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | P07741 | KAELEIQKDALEPG | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00568 | EKGQLVPLETVLDMML | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9NZ52 | SLGDILQASDNLSR | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9NVJ2 | VNAIVYMIDAADR | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P05186 | DIAYQLMHNIRDID | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | GVVSLGSPSGEVSHP | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02765 | DLRHTFMGVVSLGSPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | DLRHTFMGVVSLGSPSG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | DLRHTFMGVVSLGSPSGE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | DLRHTFMGVVSLGSPSGEVS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | LRHTFMGVVSLGSPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | LRHTFMGVVSLGSPSGEVS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | YDLRHTFMGVVSLGSPSG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | YDLRHTFMGVVSLGSPSGE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | YDLRHTFMGVVSLGSPSGEVS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02765 | YDLRHTFMGVVSLGSPSGEVSHP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P01023 | ASPAFLAVPVEKEQAPH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P01023 | SPAFLAVPVEKEQAPH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P01023 | VDLSFSPSQSLPASH | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P06733 | GVPLYRHIADLAGNSE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P06733 | VPLYRHIADLAGNSE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02652 | VSQYFQVTVDYGKD | HB | IB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P04114 | EANTYLNKSTRSSVK | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P04114 | LPYTIITPPLK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P04114 | PYTIITPPLKDF | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P04114 | PYTIITPPLK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O95352 | GDPLSKLQFAPFSSALDVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O95352 | GLSKLQFAPFSSALDVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O95352 | PGLSKLQFAPFSSALDVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O95352 | SKLQFAPFSSALDVG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O95352 | SKLQFAPFSSALDVGDF | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P98160 | TPYSFLPLPTIKD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P98160 | TPYSFLPLPTIKDA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P98160 | TPYSFLPLPTIKDAY | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P98160 | TPYSFLPLPTIKDAYR | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P98160 | TPYSFLPLPTIKDAYRK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P15291 | LPQLVGVSTPLQGGGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P15291 | RLPQLVGVSTPLQGGSN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P15291 | SRLPQLVGVSTPLQGGSN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P15291 | DGLNSLTYQVLVDVQRYPL | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P15291 | GLNSLTYQVLDVQRYPL | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P15291 | LNSLTYQVLDVQRYPL | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P15291 | LNSLTYQVLDVQRYPL | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YTEFTPTKDE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P61769 | FYLLYYTEFTPTKDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | FYLLYYTEFTPTKDEYA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YLLYYTEFTPTKDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YLLYYTEFTPTKDEY | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YLLYYTEFTPTKDEYA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YYTEFTPTKDE | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | YYTEFTPTKDEYA | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | LLYYTEFTPTKDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | LLYYTEFTPTKDEYA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P61769 | LYYTEFTPTKDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P16278 | SPYAAQPTSVDYDAPL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9Y5Z0 | DTGSSNFAVAGTPHSYIDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P31939 | SGVAYIAAPSGSAADK | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P55287 | DNPPKFPQSVYQMSVSEAAVPGEE | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P19022 | KPGTYVMTVTAIDADDPN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P19022 | SKPGTYVMTVTAIDADDPN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P19022 | VPEGSKPGTYVMTVTAIDADDPN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P33151 | DYQDAFTIETNPAHNEG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P33151 | YQDAFTIETNPAHNEG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15417 | YDQKLTLPVDNSTIS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQTD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P27797 | GGYVKLFPNSLDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P27797 | GYVKLFPNSLDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00915 | AQFRSLLSNVEGDN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00915 | FRSLLSNVEGDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00915 | LAQFRSLLSNVEG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00915 | QLAQFRSLLSNVEG | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00915 | QLAQFRSLLSNVEGDN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00915 | SEQLAQFRSLLSNVEGDN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O75976 | DQFVQITDPTQPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75976 | VPGTYKITASARGYNPV | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14384 | IPEFKYVANMHGDET | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q8N3K9 | PTEKKDNLENRSY | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | P07858 | GYNSYSVSNSEKDIMAE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07858 | YNSYSVSNSEKDI | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07339 | DQNFISFYLSRDPDAQGGEL | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9UBX1 | LPSNAYSIAIKNLGGLETDD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9UBX1 | LPSNAYSIAIKNLGG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P00450 | VDKEFYLFPTVFDENES | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00450 | DNIRMFTTAPDQVDK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | DNIRMFTTAPDQVDKE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | DNIRMFTTAPDQVDKED | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | DNIRMFTTAPDQVDKEDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | DNIRMFTTAPDQVDKEDED | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | EDNIRMFTTAPDQVD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | EDNIRMFTTAPDQVDKEDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | EDNIRMFTTAPDQVDKEDED | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | IRMFTTAPDQVDKED | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | IRMFTTAPDQVDKEDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | LEDNIRMFTTAPDQVD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | LEDNIRMFTTAPDQVDK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | LEDNIRMFTTAPDQVDKEDED | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | NIRMFTTAPDQVDKEDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | NIRMFTTAPDQVDKEDED | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00450 | DVDKEFYLFPTVF | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P00450 | VDKEFYLFPTVF | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P00450 | TGDKVYVHLKNLASRPYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q00610 | EADSIYIKADD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q00610 | AIDSIYIKADDPSSYM | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 1 | Q00610 | IDSYIKADDPSSYME | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 1 | P10909 | DQYYLRVTTVASH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P10909 | EDQYYLRVTTVASHTS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P10909 | EDQYYLRVTTVASHTSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P10909 | GEDQYYLRVTTVASHTSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12259 | SEKGSYEI IQDTDEDTA | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00488 | KGTYIPVIVSELQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P48444 | VNIEYELQEDNLELND | LB | HB | HB | HB | NA |
| Bazo 1 | Q76M96 | GQILEQLDPSLIPK | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q76M96 | SEGQILEQLDPSLIPK | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q14011 | FVTFENIDDAKDA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | LPIIDVAPLDVGAPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | RLPIIDVAPLDVGAPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | RLPIIDVAPLDVGAPDQE | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | RLPIIDVAPLDVGAPDQEFQ | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | SRLPIIDVAPLDVGAPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | SRLPIIDVAPLDVGAPDQ | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | SRLPIIDVAPLDVGAPDQE | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02452 | TSRLPIIDVAPLDVGAPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q05707 | APHPDQPEFTPVQDELEAME | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q05707 | INGRIVYNNADG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q05707 | INGRIVYNNADGTE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P08572 | GIPQKIAVQPGTVGPQG | LB | LB | IB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P08572 | IPQKIAVQPGTVGPQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P08572 | IPQKIAVQPGTVGPQG | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P12111 | AIPTFRQLGTVQQVIS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | AIPTFRQLGTVQQVISE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | IPTRFQLGTVQQVISER | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | VAIPTFRQLGTVQQVISE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | VAIPTFRQLGTVQQVISER | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | VAIPTFRQLGTVQQVISERV | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P12111 | ASRAELQHIATDDNLVFTVPEFRSFGDLQEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | DDNLVFTVPEFRSFGDLQEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | DDNLVFTVPEFRSFGDLQEKL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | FTVPEFRSFGDLQEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | TVPEFRSFGDLQEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | TVPEFRSFGDLQEKL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P12111 | VAPFTIARNADQE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02746 | FDHVITNMNNNYEP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | FDHVITNMNNNYEPR | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | FDHVITNMNNNYEPRS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | FDHVITNMNNNYEPRSG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | IRFDHVITNMNNNYEPRS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | DHVITNMNNNYEPR | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | DHVITNMNNNYEPRS | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | DHVITNMNNNYEPRSG | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | HVITNMNNNYEPR | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | HVITNMNNNYEPRS | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02746 | SLLGMEGANSIFSG | LB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02747 | AVLTNPQGDYDTSTGKFT | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P01024 | LPSFEVIVEPEK | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P01024 | VLPSFEVIVEPEK | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P0C0L4 | EELVYELNPLDH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P01031 | GVPVTLNAQTIDVNQE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P01031 | GVPVTLNAQTIDVNQET | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P01031 | GVPVTLNAQTIDVNQETS | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P01031 | VPVTLNAQTIDVNQET | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q07021 | ADELVELSTALEHQ | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10643 | DGKDFYRLSGNVLSYT | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P10643 | DGKDFYRLSGNVLSYTFQ | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P00751 | LEDVFYQMIDESQSL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P31146 | HLEEPSLQELDTSSGVL | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O15194 | GPAITQVTNPKDEG | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P01040 | IPGGLSEAKPATPEIQE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P21399 | VNESWNALATPSDK | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q14204 | TPSWLGLPNAER | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q5VZ89 | FDNEYGIAYNSLSSEIL | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | Q14194 | DENQFVAVTSTNAAK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14194 | DENQFVAVTSTNAAKV | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14194 | DENQFVAVTSTNAAKVFN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14194 | ENQFVAVTSTNAAK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14194 | MDENQFVAVTSTNAAK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14194 | MDENQFVAVTSTNAAKVFN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O14531 | DENEFVAVTSTNAAKI | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O14531 | MDENEFVAVTSTNAAK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P53634 | YDHNFKVAINAIQK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P53634 | YDHNFKVAINAIQKS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P53634 | GPQEKVVVVYLQKLDAYDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53634 | KKVVVYLQKLDAYDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53634 | KVVVYLQKLDAYDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53634 | KVVVYLQKLDAYDDL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53634 | KVVVYLQKLDAYDDLGN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53634 | KVVVYLQKLDAYDDLGN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P78527 | VIQDFINALDQLSNPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75923 | DEPIFITVDSRSL | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9P0N8 | GPPQYVAQVTSRDG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9HBW9 | LLQEYRNSVTDLSPDIIT | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9HBW9 | QEYRNSVTDLSPDT | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P17813 | EPGQQSFVQVRVSPSVS | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P17813 | EPGQQSFVQVRVSPSVSE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P17813 | IEPGQQSFVQVRVSPSVSE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P17813 | TIEPGQQSFVQVRVSPSVSE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P14625 | DSNEFSVIADPRG | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P14625 | SNEFSVIADPRG | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P14625 | DDEVDVDTVEEDLGKS | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P15311 | EPVSYHVQESLQDEGAAPT | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P15311 | EPVSYHVQESLQDEGAAPT | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P49327 | SPSAAIYNIDTSSESPDH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02671 | LQKNVRAQLVDMKRLE | IB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | P02675 | GGETSEMYLIQPDSSVK | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02675 | GGETSEMYLIQPDSSVKPY | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P02679 | GGTYSKASTPNGYDN | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | GGTYSKASTPNGYDNG | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | GTYSKASTPNGYDN | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | YQGGTYSKASTPNGYDN | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | YQGGTYSKASTPNGYDNG | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | YQGGTYSKASTPNGYDNGI | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02679 | YQGGTYSKASTPNGYDNGII | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | CPIECFMPLDVQADRE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | CPIECFMPLDVQADRED | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | VNCPIECFMPLDVQADREDS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | VNCPIECFMPLDVQADREDSRE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|------------------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P02751 | ETGTFYQIGDSWEKY | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | GPMKEINLAPDSSSVVVS | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | GPMKEINLAPDSSSVVSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | TGPMKEINLAPDSSSVVVS | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | TGPMKEINLAPDSSSVVSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02751 | LPGTEYVSVSSVYEQHESTP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P21333 | KIPEISIQDMTAQVTSPS | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75369 | EDVDFDIHNDT | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75369 | DNADGTYQVEYTPFEKG | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O00461 | EQQLAVQQVEEAQQ | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P36915 | DGPAVLVEQQTDSAMEPT | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P11142 | GILNVSVDKSTG | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P11142 | GILNVSVDKSTGKE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | P02790 | TPHGILDSVDAFI | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 1 | POC0S8 | KVTIAQGGVLPNIQ | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | POC0S8 | RVTIAQGGVLPNIQ | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | POC0S8 | RVTIAQGGVLPNIQA | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFSDAASPR | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | DDTQFVRFNDNAASPR | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFNDNAASP | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | NEDLRSWTAADMAAQITK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | DLRSWTAADTAAQITQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | EDLSSWTAADTAAQITQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | LSSWTAADTAAQITQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | NEDLSSWTAADTAAQITQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | EDLRSWTAVDTAAQISEQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class I, alpha chain | GSYTAQASSDSAQG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DM alpha chain | FGPTFVSVDGLSFQ | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DP alpha chain | GLANIAILNNLNT | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DP alpha chain | LANIAILNNLNTLIQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DQ alpha chain | VPEVTVFSKSPVTLGQPN | IB | IB | LB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVNLYQ | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II, DQ beta chain | DSDVGVRVAVTPLGPPA | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II,DR alpha chain | ASFEAQGALANIAVDKANL | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II,DR alpha chain | AQGALANIAVDKAN | LB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | HLA class II,DR beta chain | SDVGEYRAVTELG | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | HLA class II,DR beta chain | QEEYVRFSDVVG | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9Y4L1 | YQPEYQEVSTEEQR | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Ig heavy | GSGTEFTLISSLPDD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Ig kappa | TNTAYMELSSLRSED | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P06213 | ELLKFSYIRTSFDK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P06213 | SVAAYVSARTMPEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P06213 | SVAAYVSARTMPEAKA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P06213 | VAAVVSARTMPEA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P06213 | VAAYVSARTMPEAK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P06213 | VAAYVSARTMPEAKA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P56199 | GSYFGSILTTDIDK | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P56199 | GSYFGSILTTDIDKD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q14624 | AMLMAVQLLDSSNQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | AMLMAVQLLDSSNQE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | AMLMAVQLLDSSNQEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | DAMLMAVQLLDSSNQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | DAMLMAVQLLDSSNQE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | DAMLMAVQLLDSSNQEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | DAMLMAVQLLDSSNQEER | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q14624 | AMLMAVQLLDSSN | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q14624 | DAMLMAVQLLDSSN | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P63252 | SPLYDLKQDIDNADF | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P53990 | IPATPPSYESVDDINADKN | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P53990 | PATPPSYESVDDINADKN | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P53990 | TPPSYESVDDINADKN | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P53990 | TPPSYESVDDINADKNI | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q86UP2 | HATTYIPLMDNADSSPV | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q16363 | DVKGIKQSVDKQ | LB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q16363 | LSHDLVQEAIIDHAQD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q16363 | SHDLVQEAIIDHAQD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q16363 | SHDLVQEAIIDHAQDLQ | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | Q16363 | DVKGIKQSVDKQYND | LB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q16363 | DVKGIKQSVDKQYNDG | LB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O15230 | GDVFPMSERPDVVL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q32MZ4 | DVKKELTYQNTDLSEIK | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9Y608 | KNNLIYQVDTLKDVIIE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75023 | HQAEFMSMPVTSAQGGTY | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q14847 | YPKQSFTMVADTPEN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75096 | LPGLMDMQAVDRAQP | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | O75096 | LPGLMDMQAVDRAQPL | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | O00754 | VDYFLNVATAQGRYY | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q13571 | VLPSYEALSLPSKTPE | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P22897 | GSSLVSISSAAESSF | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q5VSK2 | IEEFDIISQLGYEPN | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q5VSK2 | TIEEFDIISQLGYEPN | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14174 | GKPPQYIAVHVVPDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14174 | KPPQYIAVHVVPDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14174 | KPPQYIAVHVVPDQL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14174 | KPPQYIAVHVVPDQLM | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10721 | EGGTYTFLVNSDVNA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P55083 | AKYADFISPNVSAEE | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | AKYADFISPNVSAEED | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P55083 | AKYADFSISPNVSAEEDG | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | AKYADFSISPNVSAEEDGYT | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | KYADFSISPNVSAE | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | KYADFSISPNVSAEE | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | KYADFSISPNVSAEED | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | KYADFSISPNVSAEEDG | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | YADFSISPNVSAEE | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P55083 | YADFSISPNVSAEED | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q10713 | DTTMYAVSADSKGLDT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P19105 | IQEFKEAFNMIDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | DESGFPKPPSYNVATTLPSYDEA | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | DESGFPKPPSYNVATTLPSYDEAE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | FPKPPSYNVATTLPSYD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | FPKPPSYNVATTLPSYDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | FPKPPSYNVATTLPSYDEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | FPKPPSYNVATTLPSYDEAE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | GFPKPPSYNVATTLPSYDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | KPPSYNVATTLPSY | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | KPPSYNVATTLPSYDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | KPPSYNVATTLPSYDEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | KPPSYNVATTLPSYDEAE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | PKPPSYNVATTLPSYDE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | PKPPSYNVATTLPSYDEA | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q9BT67 | PKPPSYNVATTLPSYDEAE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O00712 | EPSPTGDFYFSPSPAAGSR | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O00712 | EPSPTGDFYFSPSPAAGSRT | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P80303 | EEELKEYENIIALQENEL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P80303 | ELKEYENIIALQENEL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q99733 | DEEGEDEDDEAINPKV | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | P10451 | AIPVAQDLNAPS | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 1 | P10451 | EELNGAYKAIPVAQDLNAP | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | EELNGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | EELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | ELNGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | ELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | ESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | ESEELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | LNGAYKAIPVAQDLN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | LNGAYKAIPVAQDLNAP | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | LNGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | NGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | SEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | AYKAIPVAQDLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | DATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | P10451 | EDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | GAYKAIPVAQDLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | GAYKAIPVAQDLNA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | GAYKAIPVAQDLNAP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | GAYKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | NGAYKAIPVAQDLN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P10451 | YKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P50897 | AGQLVFLATEGDH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P50897 | AGQLVFLATEGDHLQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P50897 | IPGIYVLSLEIGKT | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P30086 | SGPLSLQEVDEQPQH | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P30086 | SGPLSLQEVDEQPQHP | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P30086 | WSGPLSLQEVDEQPQHP | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P30086 | WSGPLSLQEVDEQPQHPL | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P30086 | WSGPLSLQEVDEQPQHPLH | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | DKIQLINMLDK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | VADKIQLINMLDK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | VADKIQLINMLDKVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | VADKIQLINMLDKVNE | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | VADKIQLINMLDKVNE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P00558 | VPMPDKYSLEPVAVELKS | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q99570 | KPTYLPEDNPAFDN | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q8IV08 | TPDLKALLNVVDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P53801 | EENPYARFENN | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | P16284 | STPKFHISPTGMIMEGAQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P16671 | GIPVYRFVLPKAFASPVE | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P16671 | GIPVYRFVLPKAFASPVENPDN | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P16671 | IPVYRFVLPKAFASPV | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P16671 | IPVYRFVLPKAFASPVENPDN | HB | HB | IB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q6UX71 | NLDFLKAVDNTRASVGQDSPEP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14737 | MRNSILAQVLDQSA | IB | LB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14737 | NSILAQVLDQSARA | IB | LB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14737 | RNSILAQVLDQSA | IB | LB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P49721 | RNGYELSPTAAANFT | IB | HB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07237 | AEGSEIRLAKVDATEES | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07237 | AEGSEIRLAKVDATEESD | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07237 | EGSEIRLAKVDATEE | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07237 | EGSEIRLAKVDATEES | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P07237 | GSEIRLAKVDATEE | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P49257 | HGQITQQELDTVVK | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 1 | O75695 | LPEDAVVQDYVPIPTTEELK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q6V0I7 | SPKLYIPENTPIDT | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q08174 | STNSLKVQVVDVNDNAPV | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q96JQ0 | DNPPQFYPREYAASISAQSPPG | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | Q96JQ0 | DNPPQFYPREYAASISAQSPPGT | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q96JQ0 | YPREYAASISAQSP | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q96JQ0 | YPREYAASISAQSPPG | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O60245 | RPVGTLYLLPTATDRDFG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q58FF7 | KELKIDIIPNPQERT | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | ASDPILYRPVAVALDTKGP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | DPILYRPVAVALDT | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | DPILYRPVAVALDTKG | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | DPILYRPVAVALDTKGPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | PILYRPVAVALDTKGPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P14618 | SDPILYRPVAVALDTKGPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P31150 | EPIDQKFVAISDLYEPID | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P31150 | EPIDQKFVAISDLYEPIDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P31150 | PIDQKFVAISDLYEPIDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P50395 | EPIEQKFVVISDLLVPKD | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P43487 | HDPQFEPIVSLPEQEIK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P43487 | PQFEPIVSLPEQEIKTL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P46940 | DDYKTLINAEDPP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P51149 | APNTFKTLDSWRDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P51149 | FPFVVLGNKIDLEN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P23467 | ENHSFSQERTVPDK | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P23467 | NHSFSQERTVPDK | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P49796 | DSPVRVQAVDSGGPA | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P49796 | SPVRVQAVDSGGPA | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | HSTIFENLANKADR | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | HSTIFENLANKADR | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | HSTIFENLANKADRQ | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | HSTIFENLANKADRQYE | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | STIFENLANKADRQ | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | STIFENLANKADRQY | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P02787 | DTPEAGYFVAVVKKSASDL | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15165 | ISPDDKIYVADILAHE | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15165 | SPDDKIYVADILAHE | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9H299 | DGKRIQYQLVDISQDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9H299 | DGKRIQYQLVDISQDNA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9H299 | GKRIQYQLVDISQDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P29353 | DPSYVNVQNLDKARQA | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P42224 | IEHEIKSLEDLQDE | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q92673 | HPINEYYIADASEDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9NY15 | RLRSEDLLQGYAT | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9Y490 | SNPEFSSIPAQISPEGRA | IB | IB | IB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q03167 | DPVIPSILQFPGLREPEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q16881 | VPYIYAIGDILEDK | IB | IB | HB | IB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P19971 | DIRGFVAAVVNGSAQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 1 | Q8WVE6 | ESIYTISGTNSSEASH | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q8WVE6 | ESIYTISGTNSSEASHTP | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | O14773 | DPSSPQYGKYLTLNVADLVR | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14773 | PSSPQYGKYLTLNVADLVRPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14773 | YGKYLTLNVADL | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14773 | YGKYLTLNVADLV | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14773 | YGKYLTLNVADLVR | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O14773 | YGKYLTLNVAD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P08631 | ERPTFEYIQSVLDD | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75643 | GDKEIQNMDDNIDE | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | O75643 | GDKEIQNMDDNIDETYG | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P45974 | EKIFQNAPTDPQ | LB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q9NZ09 | GPIMAQLLDNNLPR | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 1 | P46939 | DEIEKKPTSKQEIVK | LB | IB | HB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q709C8 | IAEIKIQGLDSSLSL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | Q709C8 | NIAEIKIQGLDSSLSL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05/DRB1*04:07 |
| Bazo 1 | P19320 | SLEMTFIPTIEDTGK | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P18206 | VDQLTAQLADLAARG | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 1 | Q15904 | FGNKQDSAFSNLENALDLAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15904 | GNKQDSAFSNLENALDLAPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15904 | GNKQDSAFSNLENALDLAPSS | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15904 | GNKQDSAFSNLENALDL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15904 | GVFGNKQDSAFSNLENALDLAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q15904 | GVFGNKQDSAFSNLENALDLAPSS | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | Q7Z3T8 | DPDQTVIRAESLDGGDTS | LB | HB | IB | NA | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | DVPAFQALGSLNDL | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | DVPAFQALGSLNDLQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | DVPAFQALGSLNDLQF | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | HVEDVPAFQALGSLNDLQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | VEDVPAFQALGSLNDLQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | VEDVPAFQALGSLNDLQF | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | VPAFQALGSLNDLQF | HB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | DVPAFQALGSLND | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | HVEDVPAFQALGSLNDL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 1 | P25311 | VPAFQALGSLNDL | IB | HB | HB | HB | DRB1*04:05 |
| Bazo 2 | P63104 | VVSSIEQKTEGAEK | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P63104 | VVSSIEQKTEGAEEK | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P63104 | VVSSIEQKTEGAEEKQ | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | AGHPNIVINNAAGNFISP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | AGHPNIVINNAAGNFISPT | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFI | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFIS | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFISP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFISPT | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16698 | HPNIVINNAAGNFISP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P11021 | SLKNQIGDKEK | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | P11021 | ESYAYSLKNQIGDKEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P05186 | SKTYNTNAQVPDSAGTA | LB | IB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01009 | KAVLTIDEKGTEA | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P01009 | KAVLTIDEKGTEAA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P01009 | KAVLTIDEKGTEAAG | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P01009 | DVKLYHSEAFVNFNG | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P04217 | DHEFLEVPEAQEDVE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | EGDHEFLEVPEAQEDVE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | EGDHEFLEVPEAQEDVEA | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | EGDHEFLEVPEAQEDVEAT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | GDHEFLEVPEAQED | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | GDHEFLEVPEAQEDVE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | GDHEFLEVPEAQEDVEA | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | GDHEFLEVPEAQEDVEAT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04217 | REGDHEFLEVPEAQEDVE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P01023 | LPGEYSMKVTGEG | LB | HB | IB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06733 | NVINGGSHAGNKL | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P06733 | SGKYDLDFKSPDDPS | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P06733 | SGKYDLDFKSPDDPSR | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P05067 | VIQHFQEKVESLEQE | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q6FG67 | AAEVIDDARENIQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q6FG67 | AAEVIDDARENIQR | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q6FG67 | AEVIDDARENIQR | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P01019 | FIPAPIQAKTSPVDE | LB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01019 | IPAPIQAKTSPVD | LB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01019 | IPAPIQAKTSPVDE | LB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01019 | IPAPIQAKTSPVDEKA | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01008 | ELVYGAKLQPLDFKEN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01008 | LVIYGAKLQPLDFKEN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01008 | SELVYGAKLQPLDFK | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01008 | SELVYGAKLQPLDFKE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01008 | SELVYGAKLQPLDFKEN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P63010 | NNVYTIKRNVGEGQD | IB | HB | IB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P63010 | NNVYTIKRNVGEGQD | IB | HB | IB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | EGLTFQMKNNAEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | EGLTFQMKNNAEELK | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | EGLTFQMKNNAEELKA | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | GLTFQMKNNAEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | GLTFQMKNNAEELK | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | LEGLTFQMKNNAEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06727 | LEGLTFQMKNNAEELKA | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | P04114 | SQAIATKKIISDYHQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P04114 | INNQLTLDSENTKYFH | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P04114 | INNQLTLDSENTKYFHK | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P98160 | TPPLSSTQLQIDPSLHEFQ | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P98160 | TPPLSSTQLQIDPSLHE | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P15907 | DAVLRFNAGAPTANFQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P21810 | SVPKEISPDTLLDLQNN | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P21810 | VPKEISPDTLLDLQN | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P55287 | INPEDGFIKTTKPLDR | IB | IB | HB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P55287 | INPEDGFIKTTKPLDREET | IB | IB | HB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P55287 | NPEDGFIKTTKPLDR | IB | IB | HB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P55287 | NPEDGFIKTTKPLDREET | IB | IB | HB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19022 | SNDGLVTVVVKPIDFETN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P62158 | IREADIDGDGQVN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | P00915 | LSNVEGDNAVPMQH | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P00915 | LSNVEGDNAVPMQHNN | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P00915 | LSNVEGDNAVPMQHNN | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P00915 | SNVEGDNAVPMQHNN | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P07339 | SPEDYTLKVSQAGK | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P25774 | DNKGIDSDASYPYK | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | DNKGIDSDASYPYKA | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | DNKGIDSDASYPYKAM | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | DNKGIDSDASYPYKAMD | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | DNKGIDSDASYPYKAMDQ | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | IDNKGIDSDASYPYK | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 2 | P25774 | AFQYIIDNKGIDSDA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | AFQYIIDNKGIDSDAS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | AFQYIIDNKGIDSDASYP | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | FQYIIDNKGIDS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | FQYIIDNKGIDSD | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | FQYIIDNKGIDSDA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | FQYIIDNKGIDSDAS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | FQYIIDNKGIDSDASYP | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | QYIIDNKGIDSD | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | QYIIDNKGIDSDAS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | TAFQYIIDNKGIDSD | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | TAFQYIIDNKGIDSDA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | TAFQYIIDNKGIDSDAS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | TAFQYIIDNKGIDSDASYP | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | TTAFQYIIDNKGIDSDAS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25774 | YIIDNKGIDSDAS | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9UBR2 | DGVNYASITRNQH | HB | IB | LB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | O00299 | FSAYIKNSNPALNDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P10909 | KNPKFMETVAEKALQ | LB | LB | LB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | P10909 | KNPKFMETVAEKALQE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | P08572 | EAPAIAlAVHSQDVS | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 2 | P08572 | EAPAIAlAVHSQDVSIPH | IB | IB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P09871 | FPGPLNIETKSNALD | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P09871 | FPGPLNIETKSNALDIIFQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P09871 | GPLNIETKSNALDI | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01024 | IRAYYENSPQQVFS | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P01024 | IRAYYENSPQQVFSTE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P01024 | KIRAYYENSPQQVFS | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 2 | P01031 | EFNVKTDAPDLPE | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01031 | TVLEFNKTDAPDLPE | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01031 | VLEFNKTDAPDLPE | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01189 | YGGFMTEKSQTPLVT | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P02741 | GYSIFSYATKRQDN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P02741 | GYSIFSYATKRQDNE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P02741 | YSIFSYATKRQDNE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P25106 | VNIQAKTTGYDTH | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01040 | LVLTYGVQVDKNKDELDTGF | LB | IB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01040 | TGYVQVDKNKDELDTGF | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01040 | VLTGYVQVDKNKDELDTGF | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P01040 | YQVDKNKDELDTGF | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q9H3Z4 | ATETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9H3Z4 | ETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9H3Z4 | SATETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9H3Z4 | TETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9H3Z4 | TTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9HBW9 | SSDNFLKPNQYDNSEE | LB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q08830 | NSRYAQYKNFKVGDE | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q08830 | SRYAQYKNFKVGDE | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P02751 | ITGYIIKYEKPGSPP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P02751 | EVSVALKDTLTSRPA | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P02751 | IPGHLNSYTIKGLKPG | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | O00602 | NNFFSTKDQDNDVS | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | O00602 | NNNFFSTKDQDNDVS | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | O00602 | NNNFFSTKDQDNDVSS | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | O00602 | NNNFFSTKDQDNDVSSSN | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q5D862 | PVLKNPDDPDTV | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | Q5D862 | PVLKNPDDPDTVD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | P21333 | EETVITVDTKAAGK GK | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P21333 | ETVITVDTKAAGK GK | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P21333 | GNPAEFVVNTSNAGAG | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P21333 | GNPAEFVVNTSNAGAGA | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P21333 | NPAEFVVNTSNAGAG | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q16595 | DLGTYVINKQTPNKQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|------------------------------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | Q16595 | GDLGTYVINKQTPNKQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P13284 | ALDFGNGPPVNYKTG | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P13284 | DFFGNGPPVNYKTGN | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06744 | SNTPIVDGKDVMPPE | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06744 | SNTPIVDGKDVMPPEVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06744 | TPILVDGKDVMPPE | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06744 | TPILVDGKDVMPPEVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P62826 | APPEVMDPALAAQYEHD | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P00738 | LTLVVGKKQLVEIEK | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P00738 | LYVVGKKQLVEIEK | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P11142 | DAAKNQVAMNPTNTVFDA | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P11142 | DAAKNQVAMNPTNTVFDAK | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9NZL4 | IEDGFIEVKSTAGDTH | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P42357 | ANRGETVSGGNFHGE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | HLA class I, alpha chain | AAVVVPSGEEQRYT | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class I, alpha chain | AVVVPSGEEQRYT | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P04233 | LELEDPSGLGVTKQDLGPVPM | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | P04233 | ELEDPSGLGVTKQDLGPVPM | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | HLA class II, DQ alpha chain | DIVADHVASYGVN | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class II, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVN | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class II,DR alpha chain | ANIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class II,DR alpha chain | ANIAVDKANLEIMT | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class II,DR alpha chain | LANIAVDKANLEI | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | HLA class II,DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P06213 | SVAAYVSARTMPEAKA | HB | HB | IB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P06213 | VAAYVSARTMPEAKA | HB | HB | IB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P14735 | SEHAGSSNAFTSGEHTN | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | P19827 | EGSEIVVAGRIADN | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19827 | YEGSEIVVAGRIADN | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q06033 | DGSEIVVAGRLVDED | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q06033 | DGSEIVVAGRLVDEDM | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q06033 | DGSEIVVAGRLVDEDMN | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q06033 | YDGSEIVVAGRLVDEDMN | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q06033 | YDGSEIVVAGRLVDEDMNS | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q14624 | GSEMVVAGKLQDRGPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q14624 | GSEMVVAGKLQDRGPDV | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q14624 | KGSEMVVAGKLQDRGPD | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q14624 | KGSEMVVAGKLQDRGPDV | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P33176 | GGAFVQNSQPVAVRG | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P33176 | GGAFVQNSQPVAVRGGG | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P33176 | GGAFVQNSQPVAVRGGGG | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P02788 | LAPYKLRPVAAEVYG | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P18428 | AISDYVFNTASLVYHEE | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P08637 | NSDFYIPKATLKD | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | P08637 | NSDFYIPKATLKDSG | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P08637 | NSDFYIPKATLKDSGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P08637 | NSDFYIPKATLKDSGSY | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P08637 | SDFYIPKATLKDSGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P11279 | LNTILPDARDPAFK | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P11279 | NTILPDARDPAFK | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P14174 | KPPQYIAVHVVPDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q13155 | ALKDIVINANPASPP | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q13155 | DYGALKDIVINANPASPP | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q13155 | KDIVINANPASPP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | O00499 | ESLQTAKKKDEAKIAK | LB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P05204 | TDQAQKAEGAGDAK | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | P10451 | GAYKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P10451 | LNGAYKAIPVAQDLNAPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q86UD1 | DSSVFEALPKASEQA | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19021 | LPQAFYPVGHVPDVS | LB | IB | HB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P13796 | NAKYAISMARKIG | HB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | P13796 | NNAKYAISMARKIG | HB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | P16284 | STESYFIPEVRIYDSGTY | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P40197 | VNLQELALNQNQLDFLPA | LB | IB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q10472 | GDVLEPVQKPHGPG | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q9H3G5 | YAGKYVPAIAHLIHS | IB | IB | LB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q9H3G5 | KYVPAIAHLIHS | IB | IB | LB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q7Z5N4 | DTPPTGYVIEARPSDEG | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q7Z5N4 | TPTTGYVIEARPSDEG | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | Q08188 | NSAHDTRNLSVD | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 2 | Q8NHP8 | IPGMVVVADKTSELYQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P52566 | DGPVVTDPKAPNVV | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P52566 | DGPVVTDPKAPNVVVT | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P02787 | KEDPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | HB | HB | HB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19634 | EPKEDLPVITIDPASPQSP | IB | HB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | O00560 | ITSIVKDSSAARNGL | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q9Y490 | SAAKILADATAKMVEA | HB | HB | IB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P01730 | ASSIVYKKEGEQVE | LB | HB | IB | NA | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P62988 | AGKQLEDGRTLSD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 2 | Q9BSL1 | VIDALRVNNNQNA | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01/DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19320 | NTVISVNPSTKLQEG | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P19320 | NTVISVNPSTKLQEGGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P19320 | NTVISVNPSTKLQEGGSVT | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P19320 | TVISVNPSTKLQEGGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P19320 | STQTLVNVAPRDTT | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19320 | TQTLVNVAPRDTTV | IB | HB | IB | IB | DRB1*08:01 |
| Bazo 2 | P19320 | ISPKNTVISVNPSTKLQEGGS | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P18206 | ISPMVMDAKAVAG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 2 | P18206 | ISPMVMDAKAVAGNI | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P18206 | TISPMVMDAKAVAGNI | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P18206 | TISPMVMDAKAVAGNIS | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | P04004 | VGGPSLTSDLQAQSKGNPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 2 | Q14202 | STESIPVSEDESDA | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 3 | P01023 | LSFSPSQSLPASHA | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P01023 | NKVDLSFSPSQSLPA | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P01023 | NKVDLSFSPSQSLPAS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P01023 | VDLSFSPSQSLPASH | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q6Q788 | FAPEFQQTDSGKVL | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q6Q788 | APEFQQTDSGKVL | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P04114 | MDMTFSKQNALRSEYQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P04114 | FSRNYQLYKSVSLPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P04114 | SRNYQLYKSVSLPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P04114 | NPNGYSFSIPVKVLA | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02649 | LSKELQAAQARLGADM | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 3 | P02649 | LSKELQAAQARLGADME | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 3 | P11912 | GTQYQDVGSLNIGDV | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P11912 | QGTQYQDVGSLNIGDV | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | O00462 | IESTFDVVSCKPVG | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | O00462 | IESTFDVVSCKPVGQ | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P00736 | FPKYPNPNFETTTVITVPTG | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P00736 | GDFRYTTTGMVNTY | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P00736 | LPNGDFRYTTTGMVNT | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P00736 | LPNGDFRYTTTGMVNTY | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P00736 | EASGYISSLEYPRSYPPD | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 3 | P09871 | INEYWVLTAHVVE | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P01024 | SPMYSIITPNILR | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P01024 | SPMYSIITPNILRLE | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02741 | YTELSSTRGYSIFS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02741 | YTELSSTRGYSIFS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02671 | YSKQFTSSTSYNRG | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02671 | YSKQFTSSTSYNRGD | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02671 | YSKQFTSSTSYNRGDS | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02675 | GGETSEMYLIQPDSSVKPY | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 3 | P02675 | SEMYLIQPDSSVKPY | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 3 | P02675 | TSEMYLIQPDSSVKP | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 3 | P02675 | TSEMYLIQPDSSVKPY | IB | LB | IB | IB | NA |
| Bazo 3 | P02675 | ISVNKYRGTAGNALM | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02675 | ISVNKYRGTAGNALMDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02675 | ISVNKYRGTAGNALMDGA | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02675 | SVNKYRGTAGNALM | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 3 | P02675 | SVNKYRGTAGNALMD | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02675 | SVNKYRGTAGNALMDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02679 | LQEIYNSNNQKIVN | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02679 | QEIYNSNNQKIVN | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02679 | YLQEIYNSNNQKIVN | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02679 | GPEADKYRLTYAYFAGGD | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02679 | VGPEADKYRLTYAYFAGGD | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q08830 | NSRYAQYKNFKVGDE | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APSNLRFLLATTPNSL | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APSNLRFLLATTPNSLLVS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | IPAPDLKFTQVTPPTSL | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | IPAPDLKFTQVTPPTSLS | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | IPAPDLKFTQVTPPTSLSAQ | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | IPAPDLKFTQVTPPTS | HB | IB | IB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | VSSVYEQHESTPLRG | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APITGYRIVYSPSVE | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APITGYRIVYSPSVEG | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APITGYRIVYSPSVEGS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02751 | APITGYRIVYSPSVEGSS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q8WTR4 | SYDTYANSTATPVGPR | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P00738 | TAKDIAPTLTLYVGKK | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P00738 | INEQWLLTTAKNL | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P34931 | TPSYVAFTDTERL | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P34931 | TPSYVAFTDTERLI | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q6NYC1 | GDGTVHRRKKRRT | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | Q8NEZ4 | DLKQFRITPGFIL | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | GDRTFQKWAAVVPSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | RPAGDGTQKWAAVVPSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | DDTQFVRFNDAAASPR | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | DDTQFVRFSDAASPR | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | DDTQFVRFSDAASQ | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFSDAASPR | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFSDAASPRTEP | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFSDAASQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class I, alpha chain | VDDTQFVRFSDAASP | LB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P04233 | TTAYFLYQQGRILD | IB | IB | IB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P04233 | TTAYFLYQQGRLDK | IB | IB | IB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | HLA class II, DQ beta chain | DSDVGVYRAVTPQGRPDA | LB | IB | HB | NA | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II, DQ beta chain | DVGIVYRAVTPQGRPD | LB | IB | HB | NA | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | EFGRFASFEAQGAL | IB | HB | IB | IB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQ | LB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQG | LB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQGA | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQGAL | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------------------------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | AQGALANIAVDKANL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | AQGALANIAVDKANLE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | GALANIAVDKANLE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | HLA class II,DR alpha chain | AQGALANIAVDKANLEIM | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | HLA class II,DR beta chain | FQTLVMLETVPRSG | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR beta chain | FQTLVMLETVPRSGEV | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR beta chain | FQTLVMLETVPRSGEYV | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | HLA class II,DR beta chain | NQEEYARYNSDLGEY | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | HLA class II,DR beta chain | NQEEYARYNSDLGEYQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | Ig Kappa | GSQDFTLTISRLEPED | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig Kappa | SGTDFTLTISRLEPE | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig Kappa | SGTDFTLTISRLEPED | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig Kappa | DSTYLSSTLTLSKA | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig Kappa | KDSTYLSSTLTLSK | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig mu | GGKYAATSQVLLPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Ig mu | GGKYAATSQVLLPSK | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | VPVPEFADSDPANIVHD | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | VPVPEFADSDPANIVHDF | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | ADAPAALYQTIEENIK | LB | IB | HB | NA | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | APAALYQTIEENIK | LB | IB | HB | NA | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | DAPAALYQTIEENIK | LB | IB | IB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y287 | EPSADAPAALYQTIEENIK | LB | IB | HB | NA | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q13349 | APHYEQTRGGQVS | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q14624 | AQAQYSAAVAKGKSAG | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 3 | P02750 | IPGYLPADTVHL | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P06858 | DPAGPNFEYAEAPSRLSPD | IB | LB | HB | NA | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P31994 | NIGYTYLSSKPVV | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q13571 | VVLPSYEEALSLSKTPE | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q13571 | VVLPSYEEALSLSKTPEG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P07333 | IPGPPALTLVPAELVR | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q8NDC0 | YPTPLGLYPTSPNPFQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9H8L6 | IGSSYFPEHGYFRAPE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | P58546 | GLTAFEATDNQAIK | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P58546 | GPDGLTAFEATDNQAIK | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9BT67 | FPKPPSYNVATTLPSYDE | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P46531 | SPLLPSPFQQSPSVPLNH | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P46531 | SPLLPSPFQQSPSVPLNHL | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P30086 | WSGPLSLQEVEQPQHP | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | Q9UHG3 | SGLLQASKSNLISG | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9H3G5 | AGKYVPAIAHLIHS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9H3G5 | KYVPAIAHLIHS | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9H3G5 | YAGKYVPAIAHLIHS | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P53992 | GGSVYKYASFQVENDQ | IB | HB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P00734 | ATSEYQTFNPRFTG | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 3 | P00734 | TATSEYQTFNPRFTG | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | O14917 | ASSQLPTDSQYLSPS | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q58FF8 | VDTGIGMTKADLINN | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P51148 | ASPNIVIALAGNKADL | HB | IB | HB | HB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P49796 | DSPVRVQAVDSGGPA | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 3 | Q99969 | FPGQFAFSKALPRS | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKD | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKDS | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | EDPQTFYYAVAVVKK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | EDPQTFYYAVAVVKKD | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | DPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | EDPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02787 | KEDPQTFYYAVAVVKKDSG | IB | IB | HB | IB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02768 | LGMFLYEYARRHPD | IB | HB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02768 | LGEYKFQNALLVR | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P27169 | LPNGLAFISSGLKYPG | IB | LB | HB | NA | NA |
| Bazo 3 | Q9H299 | DGKRIQYQLVDISQDN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | Q9H299 | DGKRIQYQLVDISQDNA | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 3 | Q8WUM9 | LVQFSQAVSNQINSS | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q9NY15 | DQPQQTFNIYKANNIAA | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q9NY15 | DQPQQTFNIYKANNIAAN | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q9NY15 | DQPQQTFNIYKANNIAANG | HB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | O43760 | DPTDPNTAYASYPGASVDN | LB | IB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | O00560 | VDKVIQAQAFSANPA | IB | IB | HB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P13686 | LGDNFYFTGVQDINDK | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P07996 | GPDPSSPAFRIED | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 3 | P07996 | GPDPSSPAFRIEDANLIPP | IB | HB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02786 | NPGGYVAYSKAATVTG | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02786 | NPGGYVAYSKAATVTGK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q15582 | ALEIFKQASAFSRASQ | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q15582 | LEIFKQASAFSRASQ | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02766 | AALLSPYSYSTTAVVTNPK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02766 | LLSPYSYSTTAVVTNPK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02766 | LLSPYSYSTTAVVTNPKKE | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02766 | LSPYSYSTTAVVTNPK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01/DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | P02766 | SPYSYSTTAVVTNPK | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | P02766 | SPYSYSTTAVVTNPKKE | HB | IB | HB | HB | DRB1*07:01 |
| Bazo 3 | Q9Y5A9 | DDDFEPYLSQARPN | LB | IB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 3 | Q9Y5A9 | NDDDFEPYLSQARPN | LB | IB | IB | IB | DRB1*15:01 |
| Bazo 4 | P08133 | AAGQFFPEAAQVAYQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | O00487 | AAMLDTVVFK | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P10619 | AGIYIPTLAVLVMQDP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P10619 | AGIYIPTLAVLVMQDPS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 4 | P05186 | AHNNYQAQSAVPLRHET | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P18428 | AISDYVFNTASLVYH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P18428 | AISDYVFNTASLVYHE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P18428 | AISDYVFNTASLVYHEE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P18428 | AISDYVFNTASLVYHEEG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P46821 | AKDENERASVSPMD | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q02878 | ALTNGIYPHKLVF | IB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P62826 | APPEVMDPALAAQYEH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q14624 | APSAILPLPGQSV | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q14624 | APSAILPLPGQSVERL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q86X29 | APSTYAHLSPAKTPPPP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P08107 | AQGPKGSGSGPTIEEVD | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P04792 | AQLGGPEAAKSDETA | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | O43464 | AVSPPPASPRSQYN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | Ig heavy | BTLYLQMNSLRAEBT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | BTLYLQMNSLRAEBTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | BTVYLQMBSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P04275 | DAAQLRILAGPAGDSN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P15907 | DAVLRFNAGAPTANFQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | DDTESKTSVNETQPPQSE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P24844 | DEEASGFHEDHL | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P19105 | DEEATGTIQEDY | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P19105 | DEEATGTIQEDYL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P19105 | DEEATGTIQEDYLREL | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P10643 | DGKDFYRLSGNLSYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P52566 | DGPVVDTPKAPNVVTRTL | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q14789 | DLEERLMNQLAELNG | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P11717 | DLNPLIKLSGAYLVDDS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q8N5S9 | DRHYAMKVLKLLKQ | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | DTRDADFNGTKASE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P02741 | DTSYVSLKAPLTK | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | DTSYVSLKAPLTKP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | DTSYVSLKAPLTKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | O75935 | EAATQVKPAEE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P60660 | EAFVRHILSG | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | EEVDGKADGAEAKPAE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q969X5 | EGQFSINKVPGNFH | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P02741 | ESDTSYVSLKAPLT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | ESDTSYVSLKAPLTKP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | ESDTSYVSLKAPLTKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q9H3Z4 | ETTQLTADSHPSYHTDG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P05089 | EVNPSLGKTPPEE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P05089 | EVNPSLGKTPPEVTRTVN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | FCVVINPYKNLPIYSEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|------------------------------|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 4 | P02794 | FDKHTLGSDNES | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q9H4G4 | FEENVLPKK | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P19105 | FGKLNKGTDPEDVIRNAF | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q13576 | FKLGIAPQIQDL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P46940 | FKLGLAPQIQDL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q9UHB6 | FTTQNQKSQDV | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | FVDKNFINSPVAQAD | IB | IB | LB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | HLA class II, DP alpha chain | FYVDLKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P24534 | GFGDLKSPAGLQVLND | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P27797 | GGGYVKLFPNSLDQT | HB | LB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFISP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q16698 | GHPNIVINNAAGNFISPT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | GKADGAEAKPAE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P16144 | GNRDYIPVEGELLFQPG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P36222 | GPGIPGRFTKEAGTLAYYE | HB | IB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P02810 | GRPQGPPQGGHQQ | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | GSDEEVDGKADGAEAKPAE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | GSEETDTRDADFNGTKA | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | GSEETDTRDADFNGTKASE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P18206 | GSSPVMQKAQQVSGG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P01009 | HKAVLTIDEKGTEAA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | IADTAYRSMQ | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P13796 | IDAIQPGSINYDLLK | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P13796 | IDAIQPGSINYDLLKTEN | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | IEKPAGPPGILAL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | IEKPAGPPGILALLDEE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | HLA class II,DR alpha chain | IKEEHVIAQE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P0C0S8 | ILELAGNAARDN | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P17813 | ILEWAAERGPITSAA | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P50443 | ILGDVMSGLIVGILLV | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | INPYKNLPIYSEE | IB | IB | IB | IB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P05089 | INTPLTTTSGNLHGQP | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P05089 | INTPLTTTSGNLHGQPVS | LB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P01040 | IPGGLSEAKPATPEIQE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q14624 | IQAPSAILPLPGQSVER | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P35754 | IQDYLQLLTGARTVPR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P18428 | ISDYVFNTASLVYH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P18428 | ISDYVFNTASLVYHEE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P09496 | ISLKQAPLVH | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q01082 | ISVETEDNKEK | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | O00560 | ITSIVKDSSAARNG | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P01009 | KAVLTIDEKGTEA | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P01009 | KAVLTIDEKGTEAA | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------------------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 4 | Ig heavy | KBTLYLQMNSL | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Ig heavy | KBTLYLQMNSLRAEBT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q05516 | KHSSEESGYAS | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q9Y6R7 | KNTGREEFLTA | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | Ig heavy | KNTLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q9H3G5 | KYVPAIAHLIHS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | HLA class II,DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | IB | IB | HB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P46940 | LFKLG LAPQIQDL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02768 | LGEYKFNALLVRYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q8WVY7 | LKVKGKPAENDV KLGALKLKP | IB | IB | IB | IB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | O75366 | LLDTWDQVF | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P15104 | LNETHGDEPFQYKN | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P10253 | LPSQYITGLAEHLSPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | LQMNSLRAEDT | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q8ND23 | LQQGLVTSSAEQM | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q8ND23 | LQQGLVTSSAEQML | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q02446 | LQQGQQTSDQE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P02649 | LSKELQAAQARLGADM | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02649 | LSKELQAAQARLGADME | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02649 | LSKELQAAQARLGADMED | HB | IB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P00915 | LSNVEGDNAVPMQHNN | LB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q9Y279 | LSTLEMDRSHYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q9UJW0 | LTLTPVLENLTHVTL | LB | IB | HB | NA | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P19105 | LTTMGDRFTDE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | Ig heavy | MNSLRAEDT | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | NADGSEETDTRDADF N | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | NADGSEETDTRDADFNGTK | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | NADGSEETDTRDADFNGTKASE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P05186 | NNYQAQSAVPLRH | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q08EQ4 | NPLPSKETIEQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q14624 | NPLVWVHASPEHV VVT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | NTLYLNMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | NTLYLNMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | NTLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | NTLYLQMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Q6AWC2 | PEDSSCTEDLSSC | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | O60602 | QNRFS SCG DQTPSENPSLE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q8N423 | QPEDGVEMDTRAAASEAPQ | HB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P00740 | QSTQSFNDFTRVVGEDAKP | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P12829 | RALGQNPTNAEVL | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | Q9Y6L6 | RPKLIGIGCFIM | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q9H4G4 | RYFPAGNVVNEGF | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDE | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P11021 | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | LB | LB | IB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|-----------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
| Bazo 4 | P35749 | SDEEVDGKADGAEAKPAE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P02741 | SDTSYVSLKAPLT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | SDTSYVSLKAPLTK | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | SDTSYVSLKAPLTKP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | SDTSYVSLKAPLTKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | SDTSYVSLKAPLTKPLK | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P35749 | SEEEETDRDADFNGTKASE | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | Ig heavy | SKNTLYLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P01024 | SPMYSIITPNILRLE | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P18206 | SSPVAMQKAQQVSQG | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P19320 | STQTLVYNNVAPRDTT | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P19320 | STQTLVYNNVAPRDTTV | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P14625 | TDEEEETAKESTA EKDEL | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P11226 | TEGQFVDLTGNRLTYT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P25774 | TGKLVLSAQNLVD | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | TLYLQMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P06744 | TPILVDGKDVMPPE | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P02741 | TSYVSLKAPLTKP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P02741 | TSYVSLKAPLTKPL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P30043 | TTDEYDGHSTYPSHQYQ | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P27105 | TTIAAEKNSTIVFPLPIDML | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P19105 | TTMGDRFTDE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P60660 | TVAKNKDQGTIED | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | VADLWKDVDR | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | VDGKADGAEAKPAE | LB | LB | LB | LB | NA |
| Bazo 4 | P35749 | VDKNFINSPVAQAD | IB | IB | HB | IB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | O00560 | VDKVIQAQTAFSANPA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | O00560 | VDKVIQAQTAFSANPAN | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | O00560 | VDKVIQAQTAFSANPANPA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | Q9Y6R7 | VDLKNTGREEFLTA | LB | IB | HB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P0C0S8 | VLEYLTAIEILELAGNAAR | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P46531 | VPNQYNPLRGSVAPGP | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01/DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P02671 | VSETESRGSSESGIFTNT | LB | LB | IB | LB | NA |
| Bazo 4 | P60660 | VTLGEKMTEEE | LB | HB | IB | NA | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P35749 | VVINPYKNLPIYSEE | IB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P35749 | WKDVDRIGLDQ | LB | LB | HB | LB | NA |
| Bazo 4 | P60660 | YEAFVRHILSG | LB | IB | HB | NA | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | P46940 | YLFKGLGAPQIQDL | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | YLQMNSLRAEBT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | YLQMNSLRAED | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | YLQMNSLRAEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | YLQMNSLRAEDTA | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | Ig heavy | YLQMNSLRVEDT | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |
| Bazo 4 | O75955 | YQEAALQDML | LB | LB | IB | LB | NA |

| Muestra | AC.Number | Péptido | N ¹ | P ² | M ³ | F ⁴ | Asignación |
|---------|------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------|
| Bazo 4 | HLA class II, DP alpha chain | YVDLDKKETVWH | IB | HB | HB | HB | DRB1*03:01 |
| Bazo 4 | P01023 | YVLLAYLTAQPPTS | HB | HB | HB | HB | DRB1*01:01 |

N¹: NetMHCIIpan; P²: Propred; M³: Manual; F⁴: Asignación teórica de afinidad final

Anexo 2.1. Tabla de contaminantes unidos inespecíficamente a precolumna

| Proteína | Masa (Da) | Carga peptídica | Péptido | Nº aa's | Xcorr |
|----------------------------------|-----------|-----------------|---------------------------------------|---------|-------|
| Glyceraldehyde-3-p-dehydrogenase | 2962.35 | 3 | ISWYDNEFGYSNRVVDLMAHMASKE | 25 | 5,105 |
| Protein S100-A8 | 1688.91 | 2 | MLTELEKALNSIIDV | 15 | 2,605 |
| Protein S100-A8 | 2367.23 | 3 | MLTELEKALNSIIDVYHKYS | 20 | 5,704 |
| Protein S100-A8 | 2480.31 | 3 | MLTELEKALNSIIDVYHKYSL | 21 | 6,935 |
| Protein S100-A8 | 2721.49 | 4 | MLTELEKALNSIIDVYHKYSLIK | 23 | 3,279 |
| Protein S100-A8 | 3176.68 | 4 | MLTELEKALNSIIDVYHKYSLIKGNFH | 27 | 5,707 |
| Protein S100-A8 | 3665.95 | 5 | MLTELEKALNSIIDVYHKYSLIKGNFHAVYR | 31 | 3,816 |
| Cofilin-1 | 3649.89 | 4 | TYETKESKKEDLVFIFWAPESAPLKSCKMIYA | 31 | 4,713 |
| Actin, aortic smooth muscle | 1577.81 | 2 | SLEKSYELPDGQVI | 14 | 2,677 |
| Hemoglobin subunit beta | 1308.71 | 2 | LVVYPWTQRF | 10 | 2,429 |
| Hemoglobin subunit beta | 1494.82 | 2 | VHLTPEEKSAVTAL | 14 | 3.04 |
| Hemoglobin subunit beta | 1737.92 | 2 | VHLTPEEKSAVTALWG | 16 | 3,704 |
| Hemoglobin subunit beta | 1798.94 | 2 | WGKVVNDEVGGEALGRL | 17 | 4,936 |
| Hemoglobin subunit beta | 2161.19 | 3 | VGGEALGRLLVVYPWTQRF | 19 | 3,497 |
| Hemoglobin subunit beta | 2845.54 | 3 | KVNVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRF | 25 | 6,913 |
| Hemoglobin subunit beta | 2937.57 | 4 | KEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH | 27 | 5,279 |
| Hemoglobin subunit beta | 3274.74 | 3 | VHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALGRL | 31 | 7,451 |
| Hemoglobin subunit beta | 3387.83 | 3 | VHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALGRLL | 32 | 8,047 |
| Hemoglobin subunit beta | 3486.9 | 3 | VHLTPEEKSAVTALWGKVVNDEVGGEALGRLLV | 33 | 5.98 |
| Hemoglobin subunit beta | 3698.97 | 5 | VLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH | 34 | 4,591 |
| Hemoglobin subunit alpha | 1240.69 | 2 | SVSTVLTSKYR | 11 | 2,734 |
| Hemoglobin subunit alpha | 2086.15 | 3 | ASLDKFLASVSTVLTSKYR | 19 | 4,679 |
| Hemoglobin subunit alpha | 2792.5 | 3 | AAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVL | 27 | 3,329 |
| Hemoglobin subunit alpha | 2905.58 | 3 | LAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVL | 28 | 3,746 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3356.8 | 5 | AHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR | 31 | 4,381 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3218.78 | 3 | LVTAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVL | 31 | 4,468 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3195.65 | 4 | VLSPADKTNVKAAWGKVGHAHAGEYGAEALER | 31 | 3,652 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3427.84 | 4 | AAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR | 32 | 3,464 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3326.7 | 4 | VLSPADKTNVKAAWGKVGHAHAGEYGAEALERM | 32 | 4,623 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3473.76 | 3 | VLSPADKTNVKAAWGKVGHAHAGEYGAEALERMFL | 33 | 6,727 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3540.92 | 4 | LAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR | 33 | 5,209 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3586.85 | 3 | VLSPADKTNVKAAWGKVGHAHAGEYGAEALERMFL | 34 | 7,005 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3741.04 | 5 | VTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR | 35 | 3.86 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3854.12 | 5 | LVTAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR | 36 | 3,105 |
| Hemoglobin subunit alpha | 3820.95 | 4 | VLSPADKTNVKAAWGKVGHAHAGEYGAEALERMFLSF | 36 | 3,114 |

Anexo 2.2. Tabla de las secuencias peptídicas asociadas a HLA-DR obtenidas de las muestras de bazo

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|-------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P10809 | 60 kDa heat shock protein, mitochondrial | ARALMLQGVDLLADA | 15 | mit | LMLQGVDLL | IB | 5 |
| Bazo1 | P10809 | 60 kDa heat shock protein, mitochondrial | DARALMLQGVDLLADA | 16 | mit | LMLQGVDLL | IB | 6 |
| Bazo1 | P10809 | 60 kDa heat shock protein, mitochondrial | GADARALMLQGVDLLADA | 18 | mit | LMLQGVDLL | IB | 1 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | DNGVFEVVATNGDTH | 15 | ER | FEVVATNGD | HB | 2 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | GVFEVVATNGDTH | 13 | ER | FEVVATNGD | HB | 2 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | GVFEVVATNGDTHLG | 15 | ER | FEVVATNGD | HB | 2 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | IDNGVFEVVATNGDTHLG | 18 | ER | FEVVATNGD | HB | 1 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | IDNGVFEVVATNGDTHLGG | 19 | ER | FEVVATNGD | HB | 1 |
| Bazo1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | 18 | ER | TGEEDTAEK | LB | 1 |
| Bazo1 | Q9UNA0 | A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 | GRAALASQLLDQSALS | 16 | E/EM | LASQLLDQS | LB | 1 |
| Bazo1 | Q9UNA0 | A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 | GRAALASQLLDQSALSPA | 18 | E/EM | LASQLLDQS | LB | 2 |
| Bazo1 | Q9UNA0 | A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 | GRAALASQLLDQSALSPAGGSGP | 23 | E/EM | LASQLLDQS | LB | 1 |
| Bazo1 | Q9UNA0 | A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 | RAALASQLLDQSAL | 14 | E/EM | LASQLLDQS | LB | 4 |
| Bazo1 | P07741 | Adenine phosphoribosyltransferase | KAELEIQKDALEPG | 14 | C | LEIQKDALE | NA | 1 |
| Bazo1 | P00568 | Adenylate kinase isoenzyme 1 | EKQQLVPLETVLDML | 15 | C | LVPLETVLD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9NZ52 | ADP-ribosylation factor-binding protein GGA3 | SLGDILQASDNLSR | 14 | Lis/End | ILQASDNLS | IB | 1 |
| Bazo1 | Q9NVJ2 | ADP-ribosylation factor-like protein 8B | VNAIVYMIDAADR | 13 | Lis/End | IVYMIDAAD | HB | 1 |
| Bazo1 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | DIAYQLMHNIRDID | 14 | M | YQLMHNIRD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | GVVSLGSPSGEVSH | 15 | E/EM | VVSLGSPSG | HB | 1 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | DLRHTFMGVVSLGSPS | 16 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 1 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | DLRHTFMGVVSLGSPSG | 17 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 1 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | DLRHTFMGVVSLGSPSGE | 18 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 2 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | DLRHTFMGVVSLGSPSGEVS | 20 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 9 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | LRHTFMGVVSLGSPS | 15 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 1 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | LRHTFMGVVSLGSPSGEVS | 19 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 2 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | YDLRHTFMGVVSLGSPSG | 18 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 2 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | YDLRHTFMGVVSLGSPSGE | 19 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 4 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | YDLRHTFMGVVSLGSPSGEVS | 21 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 19 |
| Bazo1 | P02765 | Alpha-2-HS-glycoprotein | YDLRHTFMGVVSLGSPSGEVSH | 23 | E/EM | VVSLGSPSG/FMGVVSLGS | HB | 7 |
| Bazo1 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | ASPAFLAVPVEKEQAPH | 17 | E/EM | FLAVPVEKE | HB | 4 |
| Bazo1 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | SPAFLAVPVEKEQAPH | 16 | E/EM | FLAVPVEKE | HB | 1 |
| Bazo1 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | VDSLSPSQSLPASH | 15 | E/EM | FSPSQSLPA | IB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P06733 | Alpha-enolase | GVPLYRHIADLAGNSE | 16 | C | YRHIADLAG | HB | 7 |
| Bazo1 | P06733 | Alpha-enolase | VPLYRHIADLAGNSE | 15 | C | YRHIADLAG | HB | 7 |
| Bazo1 | P02652 | Apolipoprotein A-II | VSQYFQVTVDYKGD | 14 | E/EM | YFQVTVDYG | HB | 2 |
| Bazo1 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | EANTYLNKSTRSSVK | 16 | E/EM | YLNKSTRS/YLNKSTRS | IB | 1 |
| Bazo1 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | LPYTIITTPPLK | 12 | E/EM | YTIITTPPL | HB | 2 |
| Bazo1 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | PYTIITTPPLK | 11 | E/EM | YTIITTPPL | HB | 2 |
| Bazo1 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | PYTIITTPPLKDF | 13 | E/EM | YTIITTPPL | HB | 1 |
| Bazo1 | O95352 | Autophagy-related protein 7 | GDPGLSKLQFAPFSSALDVG | 20 | C | FAPFSSALD | HB | 2 |
| Bazo1 | O95352 | Autophagy-related protein 7 | GLSKLQFAPFSSALDVG | 17 | C | FAPFSSALD | HB | 2 |
| Bazo1 | O95352 | Autophagy-related protein 7 | PGLSKLQFAPFSSALDVG | 18 | C | FAPFSSALD | HB | 1 |
| Bazo1 | O95352 | Autophagy-related protein 7 | SKLQFAPFSSALDVG | 15 | C | FAPFSSALD | HB | 4 |
| Bazo1 | O95352 | Autophagy-related protein 7 | SKLQFAPFSSALDVG | 16 | C | FAPFSSALD | HB | 1 |
| Bazo1 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPYSFLPLPTIKD | 13 | E/EM | FLPLPTIKD | HB | 1 |
| Bazo1 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPYSFLPLPTIKDA | 14 | E/EM | FLPLPTIKD | HB | 5 |
| Bazo1 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPYSFLPLPTIKDAY | 15 | E/EM | FLPLPTIKD | HB | 2 |
| Bazo1 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPYSFLPLPTIKDAYR | 16 | E/EM | FLPLPTIKD | HB | 4 |
| Bazo1 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPYSFLPLPTIKDAYRK | 17 | E/EM | FLPLPTIKD | HB | 11 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | LPQLVGVSTPLQGGGS | 15 | g | LVGVSTPLQ/LVGVSTPLQ | HB | 2 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | RLPQLVGVSTPLQGGSN | 17 | g | LVGVSTPLQ/LVGVSTPLQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | SRLPQLVGVSTPLQGGSN | 18 | g | LVGVSTPLQ/LVGVSTPLQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | DGLNSLTYQVLDVQRYPL | 18 | g | YQVLDVQRY | IB | 2 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | GLNSLTYQVLDVQRYPL | 17 | g | YQVLDVQRY | IB | 3 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | LNSLTYQVLDVQRYYP | 15 | g | YQVLDVQRY | IB | 2 |
| Bazo1 | P15291 | Beta-1,4-galactosyltransferase 1 | LNSLTYQVLDVQRYPL | 16 | g | YQVLDVQRY | IB | 1 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YTEFTPEKDE | 11 | E/EM | YTEFTPEK | LB | 1 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | FYLLYYTEFTPEKDE | 16 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 4 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | FYLLYYTEFTPEKDEYA | 18 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 3 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | LLYYTEFTPEKD | 13 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 1 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | LLYYTEFTPEKDE | 14 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 3 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | LLYYTEFTPEKDEYA | 16 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 1 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | LYYTEFTPEKDE | 13 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 2 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YLLYYTEFTPEKDE | 15 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 4 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YLLYYTEFTPEKDEY | 16 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 3 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YLLYYTEFTPEKDEYA | 17 | E/EM | YYTEFTPE | HB | 4 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|--------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YYTEFTPTEKDE | 12 | E/EM | YYTEFTPTE | HB | 4 |
| Bazo1 | P61769 | Beta-2-microglobulin | YYTEFTPTEKDEYA | 14 | E/EM | YYTEFTPTE | HB | 1 |
| Bazo1 | P16278 | Beta-galactosidase | SPYAAQPTSVDYDAPL | 16 | Lis/End | YAAQPTSVD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9Y5Z0 | Beta-secretase 2 | DTGSSNFAVAGTPHSYIDT | 19 | Lis/End | FAVAGTPHS | HB | 1 |
| Bazo1 | P31939 | Bifunctional purine biosynthesis protein PURH | SGVAYIAAPSGSAADK | 16 | C | YIAAPSGSA | IB | 2 |
| Bazo1 | P55287 | Cadherin-11 | DNPPKFPQSVYQMSVSEAAVPGEE | 24 | M | YQMSVSEAA/YQMSVSEAA | HB | 1 |
| Bazo1 | P19022 | Cadherin-2 | KPGTYVMTVTAIDADDPN | 18 | M | YVMTVTAID/YVMTVTAID | HB | 2 |
| Bazo1 | P19022 | Cadherin-2 | SKPGTYVMTVTAIDADDPN | 19 | M | YVMTVTAID/YVMTVTAID | HB | 1 |
| Bazo1 | P19022 | Cadherin-2 | VPEGSKPGTYVMTVTAIDADDPN | 23 | M | YVMTVTAID/YVMTVTAID | HB | 2 |
| Bazo1 | P33151 | Cadherin-5 | DYQDAFTIETNPAHNEG | 17 | M | FTIETNPAH | HB | 1 |
| Bazo1 | P33151 | Cadherin-5 | YQDAFTIETNPAHNEG | 16 | M | FTIETNPAH | HB | 2 |
| Bazo1 | Q15417 | Calponin-3 | YDQKLTLPVDNSTIS | 16 | E/EM | LTLQPVDNS | HB | 1 |
| Bazo1 | P27797 | Calreticulin | GGGYVKLFPNSLDQ | 14 | ER | VKLFNSLD | HB | 3 |
| Bazo1 | P27797 | Calreticulin | GGGYVKLFPNSLDQTD | 17 | ER | VKLFNSLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P27797 | Calreticulin | GGYVKLFPNSLDQ | 13 | ER | VKLFNSLD | HB | 4 |
| Bazo1 | P27797 | Calreticulin | GYVKLFPNSLDQ | 12 | ER | VKLFNSLD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | AQFRSLLSNVEGDN | 14 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 1 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | FRSLLSNVEGDN | 12 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 1 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | LAQFRSLLSNVEG | 13 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 1 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | QLAQFRSLLSNVEG | 14 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 3 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | QLAQFRSLLSNVEGDN | 16 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 1 |
| Bazo1 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | SEQLAQFRSLLSNVEGDN | 18 | C | FRSLLSNVE/FRSLLSNVE | HB | 1 |
| Bazo1 | O75976 | Carboxypeptidase D | DQFVQITDPTQPE | 13 | M | FVQITDPTQ | HB | 1 |
| Bazo1 | O75976 | Carboxypeptidase D | VPGTYKITASARGYNPV | 17 | M | YKITASARG | IB | 2 |
| Bazo1 | P14384 | Carboxypeptidase M | IPEFKYVANMHGDET | 15 | M | FKYVANMHG/FKYVANMHG | HB | 1 |
| Bazo1 | Q8N3K9 | Cardiomyopathy-associated protein 5 | PTEKKDNLENRSY | 13 | Lis/End | KDNLENRSY | LB | 1 |
| Bazo1 | P07858 | Cathepsin B | GYNSYSVSNSEKDIMAE | 17 | Lis/End | YNSYSVSNS | HB | 1 |
| Bazo1 | P07858 | Cathepsin B | YNSYSVSNSEKDI | 13 | Lis/End | YNSYSVSNS | HB | 1 |
| Bazo1 | P07339 | Cathepsin D | DQNIFSYLSRDPDAQPGGEL | 21 | Lis/End | FYLSRDPDA | IB | 1 |
| Bazo1 | Q9UBX1 | Cathepsin F | LPSNAYSIAKNLGG | 14 | Lis/End | YSAIKNLGG | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9UBX1 | Cathepsin F | LPSNAYSIAKNLGGLETTEDD | 20 | Lis/End | YSAIKNLGG | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | VGPISVAIDAGHES | 14 | Lis/End | VGPISVAID | HB | 1 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | VGPISVAIDAGHESFL | 16 | Lis/End | VGPISVAID | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | AFQYVQDNGGLD | 12 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|-----------------------|----------------|----------------|-----------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | AFQYVQDNGGLDS | 13 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | DYAFQYVQDNGGLD | 14 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | DYAFQYVQDNGGLDSEE | 17 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 3 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | DYAFQYVQDNGGLDSEES | 18 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 1 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | GGLMDYAFQYVQDNGGLD | 18 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 1 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | LMDYAFQYVQDNGGLDSEE | 19 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | LMDYAFQYVQDNGGLDSEES | 20 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | MDYAFQYVQDNGGLD | 15 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 3 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | MDYAFQYVQDNGGLDS | 16 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | MDYAFQYVQDNGGLDSEE | 18 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 4 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | MDYAFQYVQDNGGLDSEES | 19 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P07711 | Cathepsin L1 | YAFQYVQDNGGLDS | 14 | Lis/End | YVQDNGGLD | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | FMTTAFQYIIDNKGIDS | 17 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | MTTAFQYIIDNKGID | 15 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGID | 13 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 3 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDS | 14 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSD | 15 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSDAS | 17 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSDASYPK | 21 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKG | 12 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 1 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGID | 14 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDS | 15 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDSD | 16 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 5 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDSDA | 17 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDSDASYPY | 21 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDSDASYPK | 22 | Lis/End | FQYIIDNKG | HB | 2 |
| Bazo1 | P11717 | Cation-independent mannose-6-phosphate receptor | GPLKFLHQDIDSGQG | 15 | Lis/End | FLHQDIDSG | IB | 4 |
| Bazo1 | P11717 | Cation-independent mannose-6-phosphate receptor | GPLKFLHQDIDSGQGI | 16 | Lis/End | FLHQDIDSG | IB | 1 |
| Bazo1 | P11717 | Cation-independent mannose-6-phosphate receptor | GPLKFLHQDIDSGQGIR | 17 | Lis/End | FLHQDIDSG | IB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DKEFYLFPTVFDEN | 14 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVFD | 14 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVFDEN | 16 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVFDENE | 17 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 4 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVFDENES | 18 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 8 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|------------------------|-----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVFDENESLL | 20 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | KEFYLFPTVFDEN | 13 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | KEFYLFPTVFDENE | 14 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 3 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVFD | 13 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 3 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVFDE | 14 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 4 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVFDEN | 15 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 5 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVFDENE | 16 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 7 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVFDENES | 17 | E/EM | FYLFPTVFD | HB | 8 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DNIRMFTTAPDQVDK | 15 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DNIRMFTTAPDQVDKE | 16 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DNIRMFTTAPDQVDKED | 17 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DNIRMFTTAPDQVDKEDE | 18 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 20 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DNIRMFTTAPDQVDKEDED | 19 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 13 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | EDNIRMFTTAPDQVD | 15 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | EDNIRMFTTAPDQVDKEDE | 19 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 4 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | EDNIRMFTTAPDQVDKEDED | 20 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 5 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | IRMFTTAPDQVDKED | 15 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 3 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | IRMFTTAPDQVDKEDE | 16 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 14 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | LEDNIRMFTTAPDQVD | 16 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | LEDNIRMFTTAPDQVDK | 17 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 5 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | LEDNIRMFTTAPDQVDKEDED | 21 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 1 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | NIRMFTTAPDQVDKEDE | 17 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 5 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | NIRMFTTAPDQVDKEDED | 18 | E/EM | IRMFTTAPD/IRMFTTAPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | DVDKEFYLFPTVVF | 13 | E/EM | VDKEFYLF | LB | 2 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | VDKEFYLFPTVVF | 12 | E/EM | VDKEFYLF | LB | 3 |
| Bazo1 | P00450 | Ceruloplasmin | TGDKVYVHLKNLASRPYT | 18 | E/EM | YVHLKNLAS/YVHLKNLAS | HB | 3 |
| Bazo1 | Q00610 | Clathrin heavy chain 1 | AIDSYIKADDPSSYM | 15 | g | IDSYIKADD | IB | 2 |
| Bazo1 | Q00610 | Clathrin heavy chain 1 | EAIDSYIKADD | 11 | g | IDSYIKADD | LB | 1 |
| Bazo1 | Q00610 | Clathrin heavy chain 1 | IDSYIKADDPSSYME | 15 | g | IDSYIKADD | NA | 3 |
| Bazo1 | P10909 | Clusterin | DQYYLRVTTVASH | 13 | E/EM | YLRVTTVAS/YLRVTTVAS | HB | 1 |
| Bazo1 | P10909 | Clusterin | EDQYYLRVTTVASHTS | 16 | E/EM | YLRVTTVAS/YLRVTTVAS | HB | 2 |
| Bazo1 | P10909 | Clusterin | EDQYYLRVTTVASHTSD | 17 | E/EM | YLRVTTVAS/YLRVTTVAS | HB | 5 |
| Bazo1 | P10909 | Clusterin | GEDQYYLRVTTVASHTSD | 18 | E/EM | YLRVTTVAS/YLRVTTVAS | HB | 2 |
| Bazo1 | P12259 | Coagulation factor V | SEKGSYEI IQDTDEDTA | 17 | E/EM | YEIIQDTDE | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|---------------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P00488 | Coagulation factor XIII A chain | KGTYIPVPIVSELQ | 14 | E/EM | YIPVPIVSE | HB | 2 |
| Bazo1 | P48444 | Coatomer subunit delta | VNIEVELQEDNLELND | 16 | C | YELQEDNLE | HB | 4 |
| Bazo1 | Q76M96 | Coiled-coil domain-containing protein 80 | GQIQLEQLDPSLIPK | 15 | E/EM | ILEQPLDPS | LB | 1 |
| Bazo1 | Q76M96 | Coiled-coil domain-containing protein 80 | SEGQIQLEQLDPSLIPK | 17 | E/EM | ILEQPLDPS | LB | 2 |
| Bazo1 | Q14011 | Cold-inducible RNA-binding protein | FVTFENIDDAKDA | 13 | N | FVTFENIDD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | LPIIDVAPLDVVGAPD | 15 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 3 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | RLPIIDVAPLDVVGAPD | 16 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 4 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | RLPIIDVAPLDVVGAPDQE | 18 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 1 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | RLPIIDVAPLDVVGAPDQEFQ | 20 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 3 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | SRLPIIDVAPLDVVGAPD | 17 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 2 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | SRLPIIDVAPLDVVGAPDQ | 18 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 1 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | SRLPIIDVAPLDVVGAPDQE | 19 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 2 |
| Bazo1 | P02452 | Collagen alpha-1(I) chain | TSRLPIIDVAPLDVVGAPD | 18 | E/EM | LPIIDVAPL | NA | 1 |
| Bazo1 | Q05707 | Collagen alpha-1(XIV) chain | APHPDQPEFTPVQDELEAME | 20 | E/EM | FTPQDELE | NA | 1 |
| Bazo1 | Q05707 | Collagen alpha-1(XIV) chain | INGYRIVYNNADG | 13 | E/EM | YRIVYNNAD/YRIVYNNAD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q05707 | Collagen alpha-1(XIV) chain | INGYRIVYNNADGTE | 15 | E/EM | YRIVYNNAD/YRIVYNNAD | HB | 2 |
| Bazo1 | P08572 | Collagen alpha-2(IV) chain | GIPQKIAVQPGTVGPQG | 17 | E/EM | VQPGTVGPQ | LB | 2 |
| Bazo1 | P08572 | Collagen alpha-2(IV) chain | IPQKIAVQPGTVGPQ | 15 | E/EM | VQPGTVGPQ | LB | 4 |
| Bazo1 | P08572 | Collagen alpha-2(IV) chain | IPQKIAVQPGTVGPQG | 16 | E/EM | VQPGTVGPQ | LB | 2 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | AIPTFRQLGTVQQVIS | 16 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | AIPTFRQLGTVQQVISE | 17 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 2 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | IPTFRQLGTVQQVISER | 17 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 5 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | VAIPTFRQLGTVQQVISE | 18 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 3 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | VAIPTFRQLGTVQQVISER | 19 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 13 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | VAIPTFRQLGTVQQVISERV | 20 | E/EM | FRQLGTVQQ/FRQLGTVQQ | HB | 2 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | ASRAELQHIATDDNLVFTVPEFRSFGDLQEK | 31 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 3 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | DDNLVFTVPEFRSFGDLQEK | 20 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 4 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | DDNLVFTVPEFRSFGDLQEKL | 21 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 2 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | FTVPEFRSFGDLQEK | 15 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 9 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | TVPEFRSFGDLQEK | 14 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 1 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | TVPEFRSFGDLQEKL | 15 | E/EM | FRSFGDLQE | HB | 2 |
| Bazo1 | P12111 | Collagen alpha-3(VI) chain | VAPFTIARNADQE | 13 | E/EM | FTIARNADQ/FTIARNADQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | DHVITNMNNNYEPR | 14 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 11 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | DHVITNMNNNYEPRS | 15 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 3 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|---------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | DHVITNMNNNYEPRSG | 16 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 2 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | FDHVITNMNNNYEP | 14 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 1 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | FDHVITNMNNNYEPR | 15 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 22 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | FDHVITNMNNNYEPRS | 16 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 15 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | FDHVITNMNNNYEPRSG | 17 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 14 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | HVITNMNNNYEPR | 13 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 4 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | HVITNMNNNYEPRS | 14 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 1 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | IRFDHVITNMNNNYEPRS | 18 | E/EM | ITNMNNNYE | HB | 1 |
| Bazo1 | P02746 | Complement C1q subcomponent subunit B | SLLGMEGANSIFSG | 14 | E/EM | MEGANSIFS | IB | 2 |
| Bazo1 | P02747 | Complement C1q subcomponent subunit C | AVLTNPQGDYDTSTGKFT | 18 | E/EM | VLTNPQGDY | LB | 2 |
| Bazo1 | P01024 | Complement C3 | LPSFEVIVEPTEK | 13 | E/EM | LPSFEVIVE | NA | 1 |
| Bazo1 | P01024 | Complement C3 | VLPSFEVIVEPTEK | 14 | E/EM | LPSFEVIVE | NA | 1 |
| Bazo1 | POC0L4 | Complement C4-A | EELVYELNPLDH | 12 | E/EM | LVYELNPLD | HB | 1 |
| Bazo1 | P01031 | Complement C5 | GVPVTLNAQTIDVNQE | 16 | E/EM | VTLNAQTID | LB | 1 |
| Bazo1 | P01031 | Complement C5 | GVPVTLNAQTIDVNQET | 17 | E/EM | VTLNAQTID | LB | 2 |
| Bazo1 | P01031 | Complement C5 | GVPVTLNAQTIDVNQETS | 18 | E/EM | VTLNAQTID | LB | 1 |
| Bazo1 | P01031 | Complement C5 | VPVTLNAQTIDVNQET | 16 | E/EM | VTLNAQTID | LB | 3 |
| Bazo1 | Q07021 | Complement component 1 Q subcomponent-binding protein, mitochondrial | ADELVELSTALEHQ | 14 | mit | LVELSTALE | HB | 1 |
| Bazo1 | P10643 | Complement component C7 | DGKDFYRLSGNVLSYT | 16 | E/EM | YRLSGNVLS/YRLSGNVLS | HB | 3 |
| Bazo1 | P10643 | Complement component C7 | DGKDFYRLSGNVLSYTFQ | 18 | E/EM | YRLSGNVLS/YRLSGNVLS | HB | 2 |
| Bazo1 | P00751 | Complement factor B | LEDVFYQMIDESQSLS | 16 | E/EM | FYQMIDESQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P31146 | Coronin-1A | HLEEPSLQELDTSSGVL | 18 | Lis/End | LQELDTSSG | HB | 2 |
| Bazo1 | O15194 | CTD small phosphatase-like protein | GPAIITQVTNPKEDEG | 16 | N | ITQVTNPKE/IITQVTNPK | IB | 1 |
| Bazo1 | P01040 | Cystatin-A | IPGGLSEAKPATPEIQE | 17 | C | IPGGLSEAK | LB | 3 |
| Bazo1 | P21399 | Cytoplasmic aconitate hydratase | VNESWNALATPSDK | 14 | C | WNALATPSD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14204 | Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1 | TPSWLGLPNNAER | 13 | C | WLGLPNNAE | HB | 1 |
| Bazo1 | Q5VZ89 | DENN domain-containing protein 4C | FDNEYGIAYNSLSSEIL | 17 | M | YNSLSSEIL/YGIAYNSLS | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | DENQFVAVTSTNAAK | 15 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | DENQFVAVTSTNAAKV | 16 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 5 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | DENQFVAVTSTNAAKVFN | 18 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | ENQFVAVTSTNAAK | 14 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | MDENQFVAVTSTNAAK | 16 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14194 | Dihydropyrimidinase-related protein 1 | MDENQFVAVTSTNAAKVFN | 19 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | O14531 | Dihydropyrimidinase-related protein 4 | DENEFVAVTSTNAAKI | 16 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | O14531 | Dihydropyrimidinase-related protein 4 | MDENEFVAVTSTNAAK | 16 | C | FVAVTSTNA/FVAVTSTNA | HB | 1 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | YDHNFKVAINAIQK | 14 | Lis/End | FVKAINAIQ/FVKAINAIQ | HB | 20 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | YDHNFKVAINAIQKS | 15 | Lis/End | FVKAINAIQ/FVKAINAIQ | HB | 31 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | GPQEKVVVYLQKLDAYDD | 20 | Lis/End | LQKLDAYD | HB | 1 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | KKVVVYLQKLDAYDD | 16 | Lis/End | LQKLDAYD | HB | 2 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | KVVVYLQKLDAYDD | 15 | Lis/End | LQKLDAYD | HB | 17 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | KVVVYLQKLDAYDDLK | 17 | Lis/End | LQKLDAYD | HB | 11 |
| Bazo1 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | KVVVYLQKLDAYDDLKNSGHFT | 23 | Lis/End | LQKLDAYD | HB | 1 |
| Bazo1 | P78527 | DNA-dependent protein kinase catalytic subunit | VIQDFINALDQLSNPE | 16 | N | FINALDQLS | HB | 2 |
| Bazo1 | O75923 | Dysferlin | DEPIFITVVDSSRL | 14 | M | FITVVDSSRS | IB | 2 |
| Bazo1 | Q9P0N8 | E3 ubiquitin-protein ligase MARCH2 | GPPQYVAQVTSRDG | 14 | Lis/End | YVAQVTSRD/YVAQVTSRD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9HBW9 | EGF, latrophilin and seven transmembrane domain-containing protein 1 | LLQEVYRNSVTDLSPTDIIT | 20 | M | YRNSVTDLS/YRNSVTDLS | IB | 2 |
| Bazo1 | Q9HBW9 | EGF, latrophilin and seven transmembrane domain-containing protein 1 | QEVYRNSVTDLSPTD | 15 | M | YRNSVTDLS/YRNSVTDLS | IB | 1 |
| Bazo1 | P17813 | Endoglin | EPGQQSFVQVRVSPSVS | 17 | M | FVQVRVSPS/FVQVRVSPS | HB | 1 |
| Bazo1 | P17813 | Endoglin | EPGQQSFVQVRVSPSVSE | 18 | M | FVQVRVSPS/FVQVRVSPS | HB | 3 |
| Bazo1 | P17813 | Endoglin | IEPGQQSFVQVRVSPSVSE | 19 | M | FVQVRVSPS/FVQVRVSPS | HB | 3 |
| Bazo1 | P17813 | Endoglin | TIEPGQQSFVQVRVSPSVSE | 20 | M | FVQVRVSPS/FVQVRVSPS | HB | 1 |
| Bazo1 | P14625 | Endoplasmín | DSNEFSVIADPRG | 13 | ER | FSVIADPRG | LB | 4 |
| Bazo1 | P14625 | Endoplasmín | SNEFSVIADPRG | 12 | ER | FSVIADPRG | LB | 4 |
| Bazo1 | P14625 | Endoplasmín | DDEVVDVGTVEEDLGKS | 17 | ER | VDVGTVEE | NA | 2 |
| Bazo1 | P15311 | Ezrin | EPVSYHVQESLQDEGAEPT | 19 | M | YHVQESLQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P15311 | Ezrin | EPVSYHVQESLQDEGAETG | 20 | M | YHVQESLQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P49327 | Fatty acid synthase | SPSAAIYNIDTSSESPDH | 18 | C | YNIDTSSES/YNIDTSSES | HB | 2 |
| Bazo1 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | LQKNVRAQLVDMKRLE | 16 | E/EM | VRAQLVDMK | LB | 1 |
| Bazo1 | P02675 | Fibrinogen beta chain | GGETSEMYLIQPDSSVK | 17 | E/EM | MYLIQPDSS/MYLIQPDSS | IB | 1 |
| Bazo1 | P02675 | Fibrinogen beta chain | GGETSEMYLIQPDSSVKPY | 19 | E/EM | MYLIQPDSS/MYLIQPDSS | IB | 1 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | GGTYSKASTPNGYDN | 15 | E/EM | YSKASTPNG | NA | 3 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | GGTYSKASTPNGYDNG | 16 | E/EM | YSKASTPNG | NA | 3 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | GTYSKASTPNGYDN | 14 | E/EM | YSKASTPNG | NA | 2 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | YQGGTYSKASTPNGYDN | 17 | E/EM | YSKASTPNG | IB | 3 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | YQGGTYSKASTPNGYDNG | 18 | E/EM | YSKASTPNG | IB | 2 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | YQGGTYSKASTPNGYDNGI | 19 | E/EM | YSKASTPNG | IB | 1 |
| Bazo1 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | YQGGTYSKASTPNGYDNGII | 20 | E/EM | YSKASTPNG | IB | 4 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | CPIECFMPLDVQADRE | 16 | E/EM | FMPLDVQAD | HB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|---------------------------|---|-------------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | CPICFMPPLDVQADRED | 17 | E/EM | FMPPLDVQAD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | VNCPIECFMPPLDVQADREDS | 20 | E/EM | FMPPLDVQAD | HB | 3 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | VNCPIECFMPPLDVQADREDSRE | 22 | E/EM | FMPPLDVQAD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | ETGTFYQIGDSWEKY | 15 | E/EM | FYQIGDSWE | HB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | GPMKEINLAPDSSSVVVS | 18 | E/EM | INLAPDSSS | IB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | GPMKEINLAPDSSSVVSG | 19 | E/EM | INLAPDSSS | IB | 4 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | TGPMKEINLAPDSSSVVVS | 19 | E/EM | INLAPDSSS | IB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | TGPMKEINLAPDSSSVVSG | 20 | E/EM | INLAPDSSS | IB | 1 |
| Bazo1 | P02751 | Fibronectin | LPGTEYVVSVSVEQHESTP | 21 | E/EM | VVSVSVE | HB | 1 |
| Bazo1 | P21333 | Filamin-A | KIPEISIQDMTAQVTSPS | 18 | C | MTAQVTSPS | IB | 1 |
| Bazo1 | O75369 | Filamin-B | EDVDFDIHNANDT | 14 | C | FDIHNAND | HB | 1 |
| Bazo1 | O75369 | Filamin-B | DNADGTYQVEYTPFEKG | 17 | C | YQVEYTPFE | HB | 1 |
| Bazo1 | O00461 | Golgi integral membrane protein 4 | EQQLAVQQVEEAQQ | 15 | g | VQQVEEAQQ | LB | 1 |
| Bazo1 | P36915 | Guanine nucleotide-binding protein-like 1 | DGPAVLVEQQTDSAMEPT | 18 | C | LVEQQTDSA | NA | 1 |
| Bazo1 | P11142 | Heat shock cognate 71 kDa protein | GILNVSADVSTG | 13 | C | VSAVDKSTG | LB | 3 |
| Bazo1 | P11142 | Heat shock cognate 71 kDa protein | GILNVSADVSTGKE | 15 | C | VSAVDKSTG | LB | 3 |
| Bazo1 | P02790 | Hemopexin | TPHGIILDSVDAAFI | 15 | E/EM | IILDSVDA | IB | 1 |
| Bazo1 | POC0S8 | Histone H2A type 1 | KVTIAQGGVLPNIQ | 14 | N | IAQGGVLPN | LB | 2 |
| Bazo1 | POC0S8 | Histone H2A type 1 | RVTIAQGGVLPNIQ | 14 | N | IAQGGVLPN | LB | 1 |
| Bazo1 | POC0S8 | Histone H2A type 1 | RVTIAQGGVLPNIQA | 15 | N | IAQGGVLPN | LB | 1 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | DDTQFVRFNDAAASPR | 16 | M | FVRFSDAA/FVRFSDAA | IB | 1 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQFVRFNDAAASP | 16 | M | FVRFSDAA/FVRFSDAA | IB | 1 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQFVRFSDAAASPR | 17 | M | FVRFSDAA/FVRFSDAA | HB | 3 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | NEDLRSWTAADMAAQITK | 18 | M | LRSWTAADM | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | DLRSWTAADTAAQITQ | 16 | M | WTAADTAAQ | HB | 3 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | EDLSSWTAADTAAQITQ | 17 | M | WTAADTAAQ | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | LSSWTAADTAAQITQ | 15 | M | WTAADTAAQ | HB | 2 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | NEDLSSWTAADTAAQITQ | 18 | M | WTAADTAAQ | HB | 2 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | EDLRSWTAVDTAAQISEQ | 18 | M | WTAVDTAAQ | HB | 2 |
| Bazo1 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | GSYQAASSDSAQG | 14 | M | YQAASSDS | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II, DM α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DM alpha chain | FGPTFVSAVDGLSFQ | 15 | Lis/End | FVSAVDGLS | IB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | GLANIAILNNLNNT | 14 | M | IAILNNLN | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | LANIAILNNLNNTLIQ | 16 | M | IAILNNLN | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | VPEVTVFSKSPVTLGQP | 18 | M | FSKSPVTLG | IB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|---|---------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVNLYQ | 17 | M | IVADHVASY | NA | 1 |
| Bazo1 | HLA-II, DQ β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta chain | DSDVGVYRAVTPPLGPPA | 17 | M | YRAVTPPLGP | HB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | AQGALANIAVDKAN | 14 | M | LANIAVDKA | IB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ASFEAQGALANIAVDKANL | 19 | M | LANIAVDKA | IB | 1 |
| Bazo1 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | SDVGEYRAVTELG | 13 | M | VGEYRAVTE | LB | 2 |
| Bazo1 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | QEEYVRFSDSDVG | 12 | M | YVRFSDSDVG | NA | 1 |
| Bazo1 | Q9Y4L1 | Hypoxia up-regulated protein 1 | YQPEYQEVSTEEQR | 14 | ER | YQEVSTEEQ | HB | 1 |
| Bazo1 | Ig heavy | Ig heavy chain | GSGETFTLTISLQPPD | 17 | E/EM | FTLTISLQ | HB | 2 |
| Bazo1 | Ig kappa | Ig kappa chain | TNTAYMELSSLRSED | 16 | E/EM | YMELSSLR/YMELSSLR | HB | 1 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | ELLKFSYIRTSFDK | 14 | M | FSYIRTSFD | HB | 1 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | SVAAYVSARTMPEA | 14 | M | YVSARTMPE/YVSARTMPE | HB | 1 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | SVAAYVSARTMPEAKA | 16 | M | YVSARTMPE/YVSARTMPE | HB | 3 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | VAAYVSARTMPEA | 13 | M | YVSARTMPE/YVSARTMPE | HB | 2 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | VAAYVSARTMPEAK | 14 | M | YVSARTMPE/YVSARTMPE | HB | 8 |
| Bazo1 | P06213 | Insulin receptor | VAAYVSARTMPEAKA | 15 | M | YVSARTMPE/YVSARTMPE | HB | 21 |
| Bazo1 | P56199 | Integrin alpha-1 | GSYFGSILTTDIDK | 15 | M | FGSILTTD | HB | 1 |
| Bazo1 | P56199 | Integrin alpha-1 | GSYFGSILTTDIDKD | 16 | M | FGSILTTD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | AMLMAVQLLDSSN | 13 | E/EM | MLMAVQLLD | NA | 2 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | DAMLMAVQLLDSSN | 14 | E/EM | MLMAVQLLD | IB | 4 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | AMLMAVQLLDSSNQ | 14 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 3 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | AMLMAVQLLDSSNQEE | 15 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 2 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | AMLMAVQLLDSSNQEE | 16 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 1 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | DAMLMAVQLLDSSNQ | 15 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 3 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | DAMLMAVQLLDSSNQEE | 16 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 2 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | DAMLMAVQLLDSSNQEE | 17 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 2 |
| Bazo1 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | DAMLMAVQLLDSSNQEEER | 18 | E/EM | VQLDSSNQ/VQLDSSNQ | HB | 1 |
| Bazo1 | P63252 | Inward rectifier potassium channel 2 | SPLYDLSKQDIDNADF | 16 | M | YDLSKQDID | LB | 1 |
| Bazo1 | P53990 | IST1 homolog | IPATPPSYESVDDINADKN | 19 | ER | YESVDDINA | LB | 2 |
| Bazo1 | P53990 | IST1 homolog | PATPPSYESVDDINADKN | 18 | ER | YESVDDINA | LB | 1 |
| Bazo1 | P53990 | IST1 homolog | TPPSYESVDDINADKN | 16 | ER | YESVDDINA | LB | 3 |
| Bazo1 | P53990 | IST1 homolog | TPPSYESVDDINADKNI | 17 | ER | YESVDDINA | LB | 1 |
| Bazo1 | Q86UP2 | Kinectin | HATTYIPLMDNADSSPV | 17 | ER | IPLMDNADS | HB | 2 |
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | DVKGIVQSVQDKQ | 13 | E/EM | IKVQSVQDKQ/VKGIVQSV | IB | 2 |
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | DVKGIVQSVQDKQYND | 16 | E/EM | VKGIVQSV/VKGIVQSV | IB | 3 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|------------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | DVKGIKQSVQDKQYNDG | 17 | E/EM | VKGIKQSV/VKGIKQSV | IB | 2 |
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | LSHDLVQEAIDHAQD | 15 | E/EM | VQEAIDHAQ | LB | 2 |
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | SHDLVQEAIDHAQD | 14 | E/EM | VQEAIDHAQ | LB | 8 |
| Bazo1 | Q16363 | Laminin subunit alpha-4 | SHDLVQEAIDHAQDLQ | 16 | E/EM | VQEAIDHAQ | LB | 5 |
| Bazo1 | O15230 | Laminin subunit alpha-5 | GDVFPMPESRPDVVL | 15 | E/EM | FVPMESRPD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q32MZ4 | Leucine-rich repeat flightless-interacting protein 1 | DVKKELTYQNTDLSEIK | 17 | N | VKKELTYQN/LTYQNTDLS | IB | 3 |
| Bazo1 | Q9Y608 | Leucine-rich repeat flightless-interacting protein 2 | KNNLIYQVDTLKDVIIE | 17 | C | IYQVDTLKD | HB | 2 |
| Bazo1 | O75023 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily B member 5 | HQAEFMSPVTSAQGGTY | 18 | M | MSPVTSAQG | IB | 1 |
| Bazo1 | Q14847 | LIM and SH3 domain protein 1 | YPKQSFMTMVDTPEN | 15 | C | FTMVDTPPE | HB | 1 |
| Bazo1 | O75096 | Low-density lipoprotein receptor-related protein 4 | LPGLMDMQAVDRAQP | 15 | M | LPGLMDMQA | LB | 1 |
| Bazo1 | O75096 | Low-density lipoprotein receptor-related protein 4 | LPGLMDMQAVDRAQPL | 16 | M | LPGLMDMQA | LB | 2 |
| Bazo1 | O00754 | Lysosomal alpha-mannosidase | VDYFLNVATAQGRYY | 15 | Lis/End | YFLNVATAQ | IB | 1 |
| Bazo1 | Q13571 | Lysosomal-associated transmembrane protein 5 | VLPSYEEALSLSKTPE | 17 | Lis/End | YEEALSLS | IB | 1 |
| Bazo1 | P22897 | Macrophage mannose receptor 1 | GSSLVSIESAESSF | 15 | M | LVSIESAAE | HB | 1 |
| Bazo1 | Q5VSK2 | Macrophage mannose receptor 1-like protein 1 | IEEFDIISQLGYEPN | 16 | M | FDIISQLG | IB | 2 |
| Bazo1 | Q5VSK2 | Macrophage mannose receptor 1-like protein 1 | TIEEFDIISQLGYEPN | 17 | M | FDIISQLG | IB | 1 |
| Bazo1 | P14174 | Macrophage migration inhibitory factor | GKPPQYIAVHVVPDQ | 15 | E/EM | YIAVHVVPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P14174 | Macrophage migration inhibitory factor | KPPQYIAVHVVPDQ | 14 | E/EM | YIAVHVVPD | HB | 9 |
| Bazo1 | P14174 | Macrophage migration inhibitory factor | KPPQYIAVHVVPDQL | 15 | E/EM | YIAVHVVPD | HB | 5 |
| Bazo1 | P14174 | Macrophage migration inhibitory factor | KPPQYIAVHVVPDQLM | 16 | E/EM | YIAVHVVPD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10721 | Mast/stem cell growth factor receptor | EGGTYTFLVSNSDVNA | 16 | M | YTFVSNSD | HB | 1 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | AKYADFSISPNVSAEE | 17 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 1 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | AKYADFSISPNVSAEED | 18 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 3 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | AKYADFSISPNVSAEEDG | 19 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 1 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | AKYADFSISPNVSAEEDGYT | 21 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 1 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | KYADFSISPNVSAE | 15 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 1 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | KYADFSISPNVSAEE | 16 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 3 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | KYADFSISPNVSAEED | 17 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 3 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | KYADFSISPNVSAEEDG | 18 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 2 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | YADFSISPNVSAEE | 15 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 4 |
| Bazo1 | P55083 | Microfibril-associated glycoprotein 4 | YADFSISPNVSAEED | 16 | E/EM | FSISPNVAVS/FSISPNVAVS | IB | 2 |
| Bazo1 | Q10713 | Mitochondrial-processing peptidase subunit alpha | DTTMYAVSADSKGLDT | 16 | mit | VSADSKGLD | LB | 2 |
| Bazo1 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | IQEFKEAFNMIDQ | 13 | E/EM | FKEAFNMID | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | DESGFPKPPSYNVATTLPYDEA | 23 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--------------------------------------|-----------------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | DESGFPKPPSYNVATTLPYDEAE | 24 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | FPKPPSYNVATTLPYD | 17 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | FPKPPSYNVATTLPYDE | 18 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 4 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | FPKPPSYNVATTLPYDEA | 19 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | FPKPPSYNVATTLPYDEAE | 20 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | GFPPKPPSYNVATTLPYDE | 19 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | KPPSYNVATTLPY | 14 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | KPPSYNVATTLPYDE | 16 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | KPPSYNVATTLPYDEA | 17 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | KPPSYNVATTLPYDEAE | 18 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | PKPPSYNVATTLPYDE | 17 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | PKPPSYNVATTLPYDEA | 18 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 2 |
| Bazo1 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | PKPPSYNVATTLPYDEAE | 19 | g | YNVATTLPY/YNVATTLPY | HB | 3 |
| Bazo1 | O00712 | Nuclear factor 1 B-type | EPSPTGDFYFPPSSPAAGSR | 20 | N | FYFPPSSPA | IB | 1 |
| Bazo1 | O00712 | Nuclear factor 1 B-type | EPSPTGDFYFPPSSPAAGSRT | 21 | N | FYFPPSSPA | IB | 2 |
| Bazo1 | P80303 | Nucleobindin-2 | EEELKEYENIIALQENEL | 18 | M | YENIIALQE | HB | 1 |
| Bazo1 | P80303 | Nucleobindin-2 | ELKEYENIIALQENEL | 16 | M | YENIIALQE | HB | 1 |
| Bazo1 | Q99733 | Nucleosome assembly protein 1-like 4 | DEEGEDEDDAEINPKV | 16 | N | DDAEINPKV | LB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | AIPVAQDLNAPS | 12 | E/EM | VAQDLNAPS | LB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | AYKAIPVAQDLN | 12 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | DATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 33 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | EDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 29 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 3 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | EELNGAYKAIPVAQDLNAP | 19 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | EELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 20 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 4 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | EELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | 21 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | ELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 19 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | ELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | 20 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | ESEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 22 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | ESEELNGAYKAIPVAQDLNAPSD | 23 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | GAYKAIPVAQDLN | 13 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | GAYKAIPVAQDLNA | 14 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 4 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | GAYKAIPVAQDLNAP | 15 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 9 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | GAYKAIPVAQDLNAPS | 16 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 17 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | LNGAYKAIPVAQDLN | 15 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|------------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | LNGAYKAIPVAQDLNAP | 17 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | LNGAYKAIPVAQDLNAPS | 18 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 6 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | NGAYKAIPVAQDLN | 14 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | NGAYKAIPVAQDLNAPS | 17 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | SEELNGAYKAIPVAQDLNAPS | 21 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 3 |
| Bazo1 | P10451 | Osteopontin | YKAIPVAQDLNAPS | 14 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 2 |
| Bazo1 | P50897 | Palmitoyl-protein thioesterase 1 | AGQLVFLATEGDH | 13 | Lis/End | LVFLATEGD | HB | 1 |
| Bazo1 | P50897 | Palmitoyl-protein thioesterase 1 | AGQLVFLATEGDHLQ | 15 | Lis/End | LVFLATEGD | HB | 1 |
| Bazo1 | P50897 | Palmitoyl-protein thioesterase 1 | IPGIYVLSLEIGKT | 14 | Lis/End | YVLSLEIGK | IB | 2 |
| Bazo1 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | SGPLSLQEVEDEQPQH | 15 | C | LSLQEVEDEQ | NA | 2 |
| Bazo1 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | SGPLSLQEVEDEQPQHP | 16 | C | LSLQEVEDEQ | NA | 3 |
| Bazo1 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | WSGPLSLQEVEDEQPQHP | 17 | C | LSLQEVEDEQ | NA | 1 |
| Bazo1 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | WSGPLSLQEVEDEQPQHPL | 18 | C | LSLQEVEDEQ | NA | 7 |
| Bazo1 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | WSGPLSLQEVEDEQPQHPLH | 19 | C | LSLQEVEDEQ | NA | 4 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | DKIQLINMLDK | 12 | C | IQLINMLD | HB | 6 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | VADKIQLINMLDK | 14 | C | IQLINMLD | HB | 39 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | VADKIQLINMLDKVN | 16 | C | IQLINMLD | HB | 5 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | VADKIQLINMLDKVNE | 17 | C | IQLINMLD | HB | 23 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | VADKIQLINMLDKVNEM | 18 | C | IQLINMLD | HB | 2 |
| Bazo1 | P00558 | Phosphoglycerate kinase 1 | VPMPDKYSLEPVAVELKS | 18 | C | YSLEPVAVE | IB | 2 |
| Bazo1 | Q99570 | Phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 4 | KPTYLPEDNPADFN | 14 | Lis/End | YLPEDNPAD | NA | 1 |
| Bazo1 | Q8IV08 | Phospholipase D3 | TPDLKALLNVVDN | 13 | ER | LKALLNVVD | HB | 4 |
| Bazo1 | P53801 | Pituitary tumor-transforming gene 1 protein-interacting protein | EENPYARFENN | 11 | N | NPYARFENN | LB | 1 |
| Bazo1 | P16284 | Platelet endothelial cell adhesion molecule | STPKFHISPTGMIMEGAQ | 18 | M | FHISPTGMI | IB | 1 |
| Bazo1 | P16671 | Platelet glycoprotein 4 | GIPVYRFVLPKAFASPVE | 19 | M | YRFVLPKA/YRFVLPKA | HB | 1 |
| Bazo1 | P16671 | Platelet glycoprotein 4 | GIPVYRFVLPKAFASPVENPDN | 23 | M | YRFVLPKA/YRFVLPKA | HB | 1 |
| Bazo1 | P16671 | Platelet glycoprotein 4 | IPVYRFVLPKAFASPV | 17 | M | YRFVLPKA/YRFVLPKA | HB | 3 |
| Bazo1 | P16671 | Platelet glycoprotein 4 | IPVYRFVLPKAFASPVENPDN | 22 | M | YRFVLPKA/YRFVLPKA | HB | 2 |
| Bazo1 | Q6UX71 | Plexin domain-containing protein 2 | NLDFLKAVDTRNASVGQDSPEP | 22 | M | FLKAVDTNR | HB | 2 |
| Bazo1 | O14737 | Programmed cell death protein 5 | MRNSILAQVLDQSA | 14 | N | LAQVLDQSA | NA | 2 |
| Bazo1 | O14737 | Programmed cell death protein 5 | NSILAQVLDQSARA | 14 | N | LAQVLDQSA | NA | 1 |
| Bazo1 | O14737 | Programmed cell death protein 5 | RNSILAQVLDQSA | 13 | N | LAQVLDQSA | NA | 2 |
| Bazo1 | P49721 | Proteasome subunit beta type-2 | RNGYELSPTAAANFT | 15 | C | YELSPTAAA | IB | 1 |
| Bazo1 | P07237 | Protein disulfide-isomerase | AEGSEIRLAKVDATEES | 17 | ER | LAKVDATEE | NA | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|-------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P07237 | Protein disulfide-isomerase | AEGSEIRLAKVDATEESD | 18 | ER | LAKVDATEE | NA | 1 |
| Bazo1 | P07237 | Protein disulfide-isomerase | EGSEIRLAKVDATEE | 15 | ER | LAKVDATEE | NA | 4 |
| Bazo1 | P07237 | Protein disulfide-isomerase | EGSEIRLAKVDATEES | 16 | ER | LAKVDATEE | NA | 3 |
| Bazo1 | P07237 | Protein disulfide-isomerase | GSEIRLAKVDATEE | 14 | ER | LAKVDATEE | NA | 4 |
| Bazo1 | P49257 | Protein ERGIC-53 | HGQITQQELDTVVK | 14 | ER | ITQQELDTV | LB | 4 |
| Bazo1 | O75695 | Protein XRP2 | LPEDAVVQDYVPIPTTEELK | 20 | M | YVPIPTTEE/YVPIPTTEE | HB | 2 |
| Bazo1 | Q6V0I7 | Protocadherin Fat 4 | SPKLTYPENTPIDT | 15 | M | YIPENTPID | HB | 1 |
| Bazo1 | Q08174 | Protocadherin-1 | STNSLKVQVVDVNDNAPV | 18 | M | VVDVNDNAP | HB | 1 |
| Bazo1 | Q96JQ0 | Protocadherin-16 | DNPPQFYPREYAASISAQSPPG | 22 | E/EM | YAASISAQS/YAASISAQS | IB | 2 |
| Bazo1 | Q96JQ0 | Protocadherin-16 | DNPPQFYPREYAASISAQSPPGT | 23 | E/EM | YAASISAQS/YAASISAQS | IB | 1 |
| Bazo1 | Q96JQ0 | Protocadherin-16 | YPREYAASISAQSPP | 15 | E/EM | YAASISAQS/YAASISAQS | IB | 1 |
| Bazo1 | Q96JQ0 | Protocadherin-16 | YPREYAASISAQSPPG | 16 | E/EM | YAASISAQS/YAASISAQS | IB | 3 |
| Bazo1 | O60245 | Protocadherin-7 | RPVGTLYLLPTATDRDFG | 18 | M | LYLLPTATD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q58FF7 | Putative heat shock protein HSP 90-beta-3 | KELKIDIIPNPQERT | 15 | C | IDIIPNPQE | IB | 4 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | ASDPILYRPVAVALDTKGP | 19 | C | YRPVAVALD | HB | 1 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | DPILYRPVAVALDT | 14 | C | YRPVAVALD | HB | 1 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | DPILYRPVAVALDTKGP | 16 | C | YRPVAVALD | HB | 2 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | DPILYRPVAVALDTKGP | 18 | C | YRPVAVALD | HB | 4 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | PILYRPVAVALDTKGP | 17 | C | YRPVAVALD | HB | 1 |
| Bazo1 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | SDPILYRPVAVALDTKGP | 19 | C | YRPVAVALD | HB | 3 |
| Bazo1 | P31150 | Rab GDP dissociation inhibitor alpha | EPIDQKFVAISDLYEPID | 18 | C | FVAISDLYE | HB | 4 |
| Bazo1 | P31150 | Rab GDP dissociation inhibitor alpha | EPIDQKFVAISDLYEPIDD | 19 | C | FVAISDLYE | HB | 1 |
| Bazo1 | P31150 | Rab GDP dissociation inhibitor alpha | PIDQKFVAISDLYEPIDD | 18 | C | FVAISDLYE | HB | 2 |
| Bazo1 | P50395 | Rab GDP dissociation inhibitor beta | EPIEQKFVVISDILLVPKD | 18 | M | FVISDILLV | HB | 1 |
| Bazo1 | P43487 | Ran-specific GTPase-activating protein | HDPQFEPVLSLPEQEIK | 17 | N | FEPVLSLPE | HB | 3 |
| Bazo1 | P43487 | Ran-specific GTPase-activating protein | PQFEPVLSLPEQEIKTL | 17 | N | FEPVLSLPE | HB | 1 |
| Bazo1 | P46940 | Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 | DDYKTLINAEPP | 13 | M | YKTLINAE | HB | 2 |
| Bazo1 | P51149 | Ras-related protein Rab-7a | APNTFKTLDSWRDE | 14 | Lis/End | FKTLDSWRD | HB | 10 |
| Bazo1 | P51149 | Ras-related protein Rab-7a | FPFVVLGNKIDLEN | 14 | Lis/End | FVVLGNKID | HB | 1 |
| Bazo1 | P23467 | Receptor-type tyrosine-protein phosphatase beta | ENHSFSQERTVPDK | 14 | M | FSQERTVPD | IB | 1 |
| Bazo1 | P23467 | Receptor-type tyrosine-protein phosphatase beta | NHSFSQERTVPDK | 13 | M | FSQERTVPD | IB | 1 |
| Bazo1 | P49796 | Regulator of G-protein signaling 3 | DSPVRVQAVDSGGPA | 15 | M | VQAVDSGGP | NA | 2 |
| Bazo1 | P49796 | Regulator of G-protein signaling 3 | SPVRVQAVDSGGPA | 14 | M | VQAVDSGGP | NA | 1 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | HSTIFENLANKADR | 14 | E/EM | FENLANKAD | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|-------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | HSTIFENLANKARDR | 15 | E/EM | FENLANKAD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | HSTIFENLANKADRQ | 16 | E/EM | FENLANKAD | HB | 27 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | HSTIFENLANKADRQYE | 18 | E/EM | FENLANKAD | HB | 3 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | STIFENLANKADRQ | 15 | E/EM | FENLANKAD | HB | 5 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | STIFENLANKADRQY | 16 | E/EM | FENLANKAD | HB | 1 |
| Bazo1 | P02787 | Serotransferrin | DTPEAGYFAVAVVKKASDL | 20 | E/EM | YFAVAVVKK | IB | 1 |
| Bazo1 | Q15165 | Serum paraoxonase/arylesterase 2 | ISPDDKIYVADILAHE | 17 | M | YIYVADILA | IB | 1 |
| Bazo1 | Q15165 | Serum paraoxonase/arylesterase 2 | SPDDKIYVADILAHE | 16 | M | YIYVADILA | IB | 7 |
| Bazo1 | Q9H299 | SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 | DGKRIQYQLVDISQDN | 16 | C | IQYQLVDIS | HB | 11 |
| Bazo1 | Q9H299 | SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 | DGKRIQYQLVDISQDNA | 17 | C | IQYQLVDIS | HB | 10 |
| Bazo1 | Q9H299 | SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 | GKRIQYQLVDISQDN | 15 | C | IQYQLVDIS | HB | 2 |
| Bazo1 | P29353 | SHC-transforming protein 1 | DPSYVNVQNLDKARQA | 16 | C | YVNVQNLDK/YVNVQNLDK | HB | 1 |
| Bazo1 | P42224 | Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta | IEHEIKSLEDLQDE | 14 | C | IKSLEDLQD | NA | 2 |
| Bazo1 | Q92673 | Sortilin-related receptor | HPINEYYIADASEDQ | 15 | Lis/End | YYIADASED | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9NY15 | Stabilin-1 | RLRSEDLLEQGYAT | 14 | M | LRSEDLLEQ | NA | 1 |
| Bazo1 | Q9Y490 | Talin-1 | SNPEFSSIPAQISPEGRA | 18 | M | FSSIPAQIS | IB | 1 |
| Bazo1 | Q03167 | TGF-beta receptor type III | DPVIPSQQLFPGPREPEE | 18 | E/EM | IQLFPGPRE | HB | 1 |
| Bazo1 | Q16881 | Thioredoxin reductase 1, cytoplasmic | VPYIYAIGDILEDK | 14 | C | VPYIYAIGD | IB | 1 |
| Bazo1 | P19971 | Thymidine phosphorylase | DIRGFVAAVVNGSAQ | 15 | C | FVAAVVNGS/FVAAVVNGS | HB | 3 |
| Bazo1 | Q8WVE6 | Transmembrane protein 171 | ESIYTISGTNSSSEASH | 17 | M | YTISGTNSS/YTISGTNSS | HB | 1 |
| Bazo1 | Q8WVE6 | Transmembrane protein 171 | ESIYTISGTNSSSEASHTP | 19 | M | YTISGTNSS/YTISGTNSS | HB | 1 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | DPSSPQYQKYLTLLENVADLVR | 21 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 3 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | PSSPQYQKYLTLLENVADLVRPS | 22 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 1 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | YGKYLTLLENVAD | 12 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 2 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | YGKYLTLLENVADL | 13 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 4 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | YGKYLTLLENVADLV | 14 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 4 |
| Bazo1 | O14773 | Tripeptidyl-peptidase 1 | YGKYLTLLENVADLVR | 15 | Lis/End | YLTLENVAD | HB | 3 |
| Bazo1 | P08631 | Tyrosine-protein kinase HCK | ERPTFEYIQSVLDD | 14 | M | FEYIQSVLD | HB | 1 |
| Bazo1 | O75643 | U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase | GDKEIQNMDDNIDE | 14 | N | IQNMDDNID | HB | 1 |
| Bazo1 | O75643 | U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase | GDKEIQNMDDNIDETYG | 17 | N | IQNMDDNID | HB | 2 |
| Bazo1 | P45974 | Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 5 | EKIFQNAPTPTQ | 13 | Lis/End | FQNAPTPT | HB | 1 |
| Bazo1 | Q9NZ09 | Ubiquitin-associated protein 1 | GPIMAQLLDNNLPR | 14 | C | MAQLLDNNL | NA | 1 |
| Bazo1 | P46939 | Utrophin | DEIEKPTSKQEEIVK | 16 | E/EM | IEKPTSKQ | NA | 1 |
| Bazo1 | Q709C8 | Vacuolar protein sorting-associated protein 13C | IAEIKIQLDSSLSL | 15 | ER | IQGLDSSLS/IQGLDSSLS | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|--------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo1 | Q709C8 | Vacuolar protein sorting-associated protein 13C | NIAEIKIQGLDSSLSL | 16 | ER | IQGLDSSLS/IQGLDSSLS | HB | 1 |
| Bazo1 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | SLEMTFIPTIEDTGK | 15 | M | MTFIPTIED | HB | 1 |
| Bazo1 | P18206 | Vinculin | VDQLTAQLADLAARG | 15 | M | VDQLTAQLA | IB | 1 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | FGNKQDSAFSNLENALDLAPS | 21 | M | FSNLENALD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | GNKQDSAFSNLENALDL | 17 | M | FSNLENALD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | GNKQDSAFSNLENALDLAPS | 20 | M | FSNLENALD | HB | 1 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | GNKQDSAFSNLENALDLAPSS | 21 | M | FSNLENALD | HB | 3 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | GVFGNKQDSAFSNLENALDLAPS | 23 | M | FSNLENALD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q15904 | V-type proton ATPase subunit S1 | GVFGNKQDSAFSNLENALDLAPSS | 24 | M | FSNLENALD | HB | 2 |
| Bazo1 | Q7Z3T8 | Zinc finger FYVE domain-containing protein 16 | DPDQTVIRAESLDGGDTS | 18 | Lis/End | VIRAESLDG | NA | 1 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | DVPAFQALGSLND | 13 | E/EM | FQALGSLND | HB | 2 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | DVPAFQALGSLNDL | 14 | E/EM | FQALGSLND | HB | 4 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | DVPAFQALGSLNDLQ | 15 | E/EM | FQALGSLND | HB | 6 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | DVPAFQALGSLNDLQF | 16 | E/EM | FQALGSLND | HB | 2 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | HVEDVPAFQALGSLNDL | 17 | E/EM | FQALGSLND | HB | 1 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | HVEDVPAFQALGSLNDLQ | 18 | E/EM | FQALGSLND | HB | 2 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | VEDVPAFQALGSLNDLQ | 17 | E/EM | FQALGSLND | HB | 2 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | VEDVPAFQALGSLNDLQF | 18 | E/EM | FQALGSLND | HB | 1 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | VPAFQALGSLNDL | 13 | E/EM | FQALGSLND | HB | 2 |
| Bazo1 | P25311 | Zinc-alpha-2-glycoprotein | VPAFQALGSLNDLQF | 15 | E/EM | FQALGSLND | HB | 1 |
| Bazo2 | P63104 | 14-3-3 protein zeta/delta | VVSSIEQKTEGAEK | 14 | C | IEQKTEGAE | NA | 2 |
| Bazo2 | P63104 | 14-3-3 protein zeta/delta | VVSSIEQKTEGAEEK | 15 | C | IEQKTEGAE | NA | 3 |
| Bazo2 | P63104 | 14-3-3 protein zeta/delta | VVSSIEQKTEGAEEKQ | 16 | C | IEQKTEGAE | NA | 2 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | AGHPNIVINNAAGNFISP | 18 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 2 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | AGHPNIVINNAAGNFISPT | 19 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 1 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFIF | 15 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 2 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFIS | 16 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 2 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFISP | 17 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 3 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFISPT | 18 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 4 |
| Bazo2 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | HPNIVINNAAGNFISP | 16 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | IB | 2 |
| Bazo2 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SLKNQIGDKEK | 11 | ER | LKNQIGDKE | LB | 1 |
| Bazo2 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | ESYAYSLKNQIGDKEK | 16 | ER | YSLKNQIGD | HB | 4 |
| Bazo2 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | SKTYNTNAQVPSAGTA | 17 | M | YNTNAQVPD | IB | 1 |
| Bazo2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEA | 13 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 4 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|------------------------------|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEAA | 14 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 5 |
| Bazo2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEAAG | 15 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 4 |
| Bazo2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | DVKKLYHSEAFVNFVFG | 16 | E/EM | VKKLYHSEA | IB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | DHEFLVPEAQEDVE | 15 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 1 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | EGDHEFLVPEAQEDVE | 17 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 3 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | EGDHEFLVPEAQEDVEA | 18 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | EGDHEFLVPEAQEDVEAT | 19 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | GDHEFLVPEAQED | 14 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | GDHEFLVPEAQEDVE | 16 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 3 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | GDHEFLVPEAQEDVEA | 17 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | GDHEFLVPEAQEDVEAT | 18 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 2 |
| Bazo2 | P04217 | Alpha-1B-glycoprotein | REGDHEFLVPEAQEDVE | 18 | E/EM | LEVPEAQED | LB | 1 |
| Bazo2 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | LPGEYSMKVTGEG | 13 | E/EM | YSMKVTGEG | NA | 2 |
| Bazo2 | P06733 | Alpha-enolase | NVINGGSHAGNKL | 13 | C | VINGGSHAG | IB | 1 |
| Bazo2 | P06733 | Alpha-enolase | SGKYDLDFKSPDDPS | 15 | C | YDLDFKSPD | NA | 2 |
| Bazo2 | P06733 | Alpha-enolase | SGKYDLDFKSPDDPSR | 16 | C | YDLDFKSPD | NA | 1 |
| Bazo2 | P05067 | Amyloid beta A4 protein | VIQHFQEKVESLEQE | 15 | M | FQEKVESLE | NA | 2 |
| Bazo2 | Q6FG67 | Amyloid protein A (Fragment) | AAEVIDSARENIQ | 13 | E/EM | VISDARENI | HB | 2 |
| Bazo2 | Q6FG67 | Amyloid protein A (Fragment) | AAEVIDSARENIQR | 14 | E/EM | VISDARENI | HB | 4 |
| Bazo2 | Q6FG67 | Amyloid protein A (Fragment) | AEVIDSARENIQR | 13 | E/EM | VISDARENI | HB | 1 |
| Bazo2 | P01019 | Angiotensinogen | FIPAPIQAKTSPVDE | 15 | E/EM | IQAKTSPVD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01019 | Angiotensinogen | IPAPIQAKTSPVD | 13 | E/EM | IQAKTSPVD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01019 | Angiotensinogen | IPAPIQAKTSPVDE | 14 | E/EM | IQAKTSPVD | HB | 3 |
| Bazo2 | P01019 | Angiotensinogen | IPAPIQAKTSPVDEKA | 16 | E/EM | IQAKTSPVD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01008 | Antithrombin-III | ELVYGAKLQPLDFKEN | 16 | E/EM | LVYGAKLQP/YGAKLQPLD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01008 | Antithrombin-III | LVYGAKLQPLDFKEN | 15 | E/EM | LVYGAKLQP/YGAKLQPLD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01008 | Antithrombin-III | SELVYGAKLQPLDFK | 15 | E/EM | LVYGAKLQP/YGAKLQPLD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01008 | Antithrombin-III | SELVYGAKLQPLDFKE | 16 | E/EM | LVYGAKLQP/YGAKLQPLD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01008 | Antithrombin-III | SELVYGAKLQPLDFKEN | 17 | E/EM | LVYGAKLQP/YGAKLQPLD | HB | 4 |
| Bazo2 | P63010 | AP-2 complex subunit beta-1 | NNVYTIKRNVGQD | 16 | M | YTIKRNV | HB | 2 |
| Bazo2 | P63010 | AP-2 complex subunit beta-1 | NNVYTIKRNVGQD | 15 | M | YTIKRNV | HB | 1 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | EGLTFQMKNNAEE | 13 | E/EM | FQMKNNAEE | HB | 2 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | EGLTFQMKNNAEELK | 15 | E/EM | FQMKNNAEE | HB | 21 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | EGLTFQMKNNAEELKA | 16 | E/EM | FQMKNNAEE | HB | 16 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|---------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | GLTFQMKKNAEE | 12 | E/EM | FQMKKNAEE | HB | 1 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | GLTFQMKKNAEELK | 14 | E/EM | FQMKKNAEE | HB | 7 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | LEGLTFQMKKNAEE | 14 | E/EM | FQMKKNAEE | HB | 3 |
| Bazo2 | P06727 | Apolipoprotein A-IV | LEGLTFQMKKNAEELKA | 17 | E/EM | FQMKKNAEE | HB | 21 |
| Bazo2 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | SQAIATKKIISDYHQ | 15 | E/EM | IATKKIISD | HB | 5 |
| Bazo2 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | INNQLTLDSENTKYFH | 15 | E/EM | LTLDSENTKY | HB | 3 |
| Bazo2 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | INNQLTLDSENTKYFHK | 16 | E/EM | LTLDSENTKY | HB | 16 |
| Bazo2 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPPLSSTQLQIDPSLHE | 17 | E/EM | LQIDPSLHE | IB | 1 |
| Bazo2 | P98160 | Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein | TPPLSSTQLQIDPSLHEFQ | 19 | E/EM | LQIDPSLHE | HB | 1 |
| Bazo2 | P15907 | Beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1 | DAVLRFNAGAPTANFQ | 15 | M | FNGAPTANF | IB | 2 |
| Bazo2 | P21810 | Biglycan | SVPKEISPDITLLDLQNN | 18 | E/EM | ISPDITLLD | IB | 1 |
| Bazo2 | P21810 | Biglycan | VPKEISPDITLLDLQN | 16 | E/EM | ISPDITLLD | IB | 2 |
| Bazo2 | P55287 | Cadherin-11 | INPEDGFIKTTKPLDR | 16 | M | FIKTTKPLD | IB | 1 |
| Bazo2 | P55287 | Cadherin-11 | INPEDGFIKTTKPLDREET | 19 | M | FIKTTKPLD | IB | 4 |
| Bazo2 | P55287 | Cadherin-11 | NPEDGFIKTTKPLDR | 15 | M | FIKTTKPLD | IB | 2 |
| Bazo2 | P55287 | Cadherin-11 | NPEDGFIKTTKPLDREET | 18 | M | FIKTTKPLD | IB | 5 |
| Bazo2 | P19022 | Cadherin-2 | SNDGLVTVVVKPIDFETN | 17 | M | LVTVVVKPID/LVTVVVKPID | HB | 2 |
| Bazo2 | P62158 | Calmodulin | IREADIDGGQVN | 13 | C | IREADIDGD | LB | 1 |
| Bazo2 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | LSNVEGDNAVPMQH | 14 | C | VEGDNAVPM | NA | 2 |
| Bazo2 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | LSNVEGDNAVPMQHNN | 15 | C | VEGDNAVPM | NA | 1 |
| Bazo2 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | LSNVEGDNAVPMQHNN | 16 | C | VEGDNAVPM | NA | 8 |
| Bazo2 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | SNVEGDNAVPMQHNN | 15 | C | VEGDNAVPM | NA | 4 |
| Bazo2 | P07339 | Cathepsin D | SPEDYTLKVSQAGK | 14 | Lis/End | YTLKVSQAG | IB | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | DNKGIDSDASYPYK | 14 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 3 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | DNKGIDSDASYPYKA | 15 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | DNKGIDSDASYPYKAM | 16 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | DNKGIDSDASYPYKAMD | 17 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 3 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | DNKGIDSDASYPYKAMDQ | 18 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | IDNKGIDSDASYPYK | 15 | Lis/End | IDSDASYPY | NA | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | AFQYIIDNKGIDSDA | 15 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 3 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | AFQYIIDNKGIDSDAS | 16 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | AFQYIIDNKGIDSDASYP | 18 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | FQYIIDNKGIDS | 12 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | FQYIIDNKGIDSD | 13 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|---------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | FQYIIDNKGIDSDA | 14 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 4 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | FQYIIDNKGIDSDAS | 15 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | FQYIIDNKGIDSDASYP | 17 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 2 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | QYIIDNKGIDSD | 12 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | QYIIDNKGIDSDAS | 14 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSD | 15 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 4 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSDA | 16 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 3 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSDAS | 17 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 3 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | TAFQYIIDNKGIDSDASYP | 19 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | TTAFQYIIDNKGIDSDAS | 18 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 1 |
| Bazo2 | P25774 | Cathepsin S | YIIDNKGIDSDAS | 13 | Lis/End | YIIDNKGID | HB | 2 |
| Bazo2 | Q9UBR2 | Cathepsin Z | DGVNYASITRNQH | 13 | Lis/End | VNYASITRN/YASITRNQH | NA | 1 |
| Bazo2 | O00299 | Chloride intracellular channel protein 1 | FSAYIKNSNPALNDN | 15 | N | FSAYIKNSN | HB | 1 |
| Bazo2 | P10909 | Clusterin | KNPKFMETVAEKALQ | 15 | E/EM | FMETVAEKA | LB | 2 |
| Bazo2 | P10909 | Clusterin | KNPKFMETVAEKALQE | 16 | E/EM | FMETVAEKA | LB | 2 |
| Bazo2 | P08572 | Collagen alpha-2(IV) chain | EAPAIAIAVHSQDVS | 15 | E/EM | IAIAVHSQD | IB | 2 |
| Bazo2 | P08572 | Collagen alpha-2(IV) chain | EAPAIAIAVHSQDVSIPH | 18 | E/EM | VHSQDVSIP | IB | 2 |
| Bazo2 | P09871 | Complement C1s subcomponent | FPGPLNIETKSNALD | 15 | E/EM | IETKSNALD | HB | 2 |
| Bazo2 | P09871 | Complement C1s subcomponent | FPGPLNIETKSNALDIIFQ | 19 | E/EM | IETKSNALD | HB | 2 |
| Bazo2 | P09871 | Complement C1s subcomponent | GPLNIETKSNALDI | 14 | E/EM | IETKSNALD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01024 | Complement C3 | IRAYYENSPQQVFS | 14 | E/EM | YENSPQQVF | LB | 2 |
| Bazo2 | P01024 | Complement C3 | IRAYYENSPQQVFSTE | 16 | E/EM | YENSPQQVF | LB | 2 |
| Bazo2 | P01024 | Complement C3 | KIRAYYENSPQQVFS | 15 | E/EM | YENSPQQVF | LB | 3 |
| Bazo2 | P01031 | Complement C5 | EFNVKTDAPDLPE | 13 | E/EM | VKTDAPDLP/FNVKTDAPD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01031 | Complement C5 | TVLEFNVKTDAPDLPE | 16 | E/EM | VKTDAPDLP/FNVKTDAPD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01031 | Complement C5 | VLEFNVKTDAPDLPE | 15 | E/EM | VKTDAPDLP/FNVKTDAPD | HB | 1 |
| Bazo2 | P01189 | Corticotropin-lipotropin | YGGFMTSEKSTPLVT | 16 | E/EM | FMTSEKSQT | IB | 16 |
| Bazo2 | P02741 | C-reactive protein | GYSIFSATKRQDN | 14 | E/EM | FSYATKRQD | HB | 1 |
| Bazo2 | P02741 | C-reactive protein | GYSIFSATKRQDNE | 15 | E/EM | FSYATKRQD | HB | 2 |
| Bazo2 | P02741 | C-reactive protein | YSIFSATKRQDNE | 14 | E/EM | FSYATKRQD | HB | 3 |
| Bazo2 | P25106 | C-X-C chemokine receptor type 7 | VNIQAKTTGYDTH | 13 | M | VNIQAKTTG/IQAKTTGYD | HB | 2 |
| Bazo2 | P01040 | Cystatin-A | LVLTYQVDKNKDELDTGF | 19 | C | YQVDKNKDD | IB | 1 |
| Bazo2 | P01040 | Cystatin-A | TGYQVDKNKDELDTGF | 16 | C | YQVDKNKDD | NA | 2 |
| Bazo2 | P01040 | Cystatin-A | VLTGYQVDKNKDELDTGF | 18 | C | YQVDKNKDD | NA | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P01040 | Cystatin-A | YQVDKKNKDELDTGF | 14 | C | YQVDKKNKDD | NA | 1 |
| Bazo2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | ATETTQLTADSHPSYHTDG | 19 | M | LTADSHPSY | HB | 2 |
| Bazo2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | ETTQLTADSHPSYHTDG | 17 | M | LTADSHPSY | HB | 4 |
| Bazo2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | SATETTQLTADSHPSYHTDG | 20 | M | LTADSHPSY | HB | 2 |
| Bazo2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | TETTQLTADSHPSYHTDG | 18 | M | LTADSHPSY | HB | 4 |
| Bazo2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | TTQLTADSHPSYHTDG | 16 | M | LTADSHPSY | HB | 3 |
| Bazo2 | Q9HBW9 | EGF, latrophilin and seven transmembrane domain-containing protein 1 | SSDNFLLKPQNYDNSEE | 17 | M | FLLKPQNYD | HB | 1 |
| Bazo2 | Q08830 | Fibrinogen-like protein 1 | NSRYAQYKNFKVGDDE | 15 | E/EM | YKNFKVGDDE | IB | 2 |
| Bazo2 | Q08830 | Fibrinogen-like protein 1 | SRYAQYKNFKVGDDE | 14 | E/EM | YKNFKVGDDE | IB | 3 |
| Bazo2 | P02751 | Fibronectin | ITGYIIKYEKPGSP | 15 | E/EM | IIKYEKPGS/IIKYEKPGS | IB | 2 |
| Bazo2 | P02751 | Fibronectin | EVSVYALKDTLTSRPA | 16 | E/EM | YALKDTLTS | IB | 2 |
| Bazo2 | P02751 | Fibronectin | IPGHLNSYTIKGLKPG | 16 | E/EM | YTIKGLKPG | IB | 4 |
| Bazo2 | O00602 | Ficolin-1 | NNFFSTKQDNDVVS | 14 | E/EM | FSTKQDND | NA | 1 |
| Bazo2 | O00602 | Ficolin-1 | NNFFSTKQDNDVVS | 15 | E/EM | FSTKQDND | NA | 2 |
| Bazo2 | O00602 | Ficolin-1 | NNFFSTKQDNDVSS | 16 | E/EM | FSTKQDND | NA | 3 |
| Bazo2 | O00602 | Ficolin-1 | NNFFSTKQDNDVSSSN | 18 | E/EM | FSTKQDND | NA | 1 |
| Bazo2 | Q5D862 | Filaggrin-2 | PVLKNPDDPDTV | 12 | C | LKNPDDPDT | LB | 1 |
| Bazo2 | Q5D862 | Filaggrin-2 | PVLKNPDDPDTVD | 13 | C | LKNPDDPDT | LB | 1 |
| Bazo2 | P21333 | Filamin-A | EETVITVDTKAAGKGGK | 16 | C | ITVDTKAAG | HB | 3 |
| Bazo2 | P21333 | Filamin-A | ETVITVDTKAAGKGGK | 15 | C | ITVDTKAAG | HB | 2 |
| Bazo2 | P21333 | Filamin-A | GNPAEFVVNTSNAGAG | 16 | C | VVNTSNAGA/FVVNTSNAG | IB | 4 |
| Bazo2 | P21333 | Filamin-A | GNPAEFVVNTSNAGAGA | 17 | C | VVNTSNAGA/FVVNTSNAG | IB | 1 |
| Bazo2 | P21333 | Filamin-A | NPAEFVVNTSNAGAG | 15 | C | VVNTSNAGA/FVVNTSNAG | IB | 4 |
| Bazo2 | Q16595 | Frataxin, mitochondrial | DLGTYVINKQTPNKQ | 15 | mit | VINKQTPNK | IB | 1 |
| Bazo2 | Q16595 | Frataxin, mitochondrial | GDLGTYVINKQTPNKQ | 16 | mit | VINKQTPNK | IB | 2 |
| Bazo2 | P13284 | Gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase | ALDFFGNGPPVNYKTG | 16 | Lis/End | FGNGPPVNY/FGNGPPVNY | IB | 1 |
| Bazo2 | P13284 | Gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase | DFFGNGPPVNYKTGN | 15 | Lis/End | FGNGPPVNY/FGNGPPVNY | IB | 1 |
| Bazo2 | P06744 | Glucose-6-phosphate isomerase | SNTPILVGDKDVMPE | 15 | C | ILVDGKDV/VDGKDVMP | HB | 1 |
| Bazo2 | P06744 | Glucose-6-phosphate isomerase | SNTPILVGDKDVMPEVN | 17 | C | ILVDGKDV/VDGKDVMP | HB | 1 |
| Bazo2 | P06744 | Glucose-6-phosphate isomerase | TPILVDGKDVMP | 13 | C | ILVDGKDV/VDGKDVMP | HB | 4 |
| Bazo2 | P06744 | Glucose-6-phosphate isomerase | TPILVDGKDVMPVN | 15 | C | ILVDGKDV/VDGKDVMP | HB | 1 |
| Bazo2 | P62826 | GTP-binding nuclear protein Ran | APPEVMDPALAAQYEH | 18 | N | VVMDPALAA | HB | 4 |
| Bazo2 | P00738 | Haptoglobin | LTYVGGKQLVEIEK | 15 | E/EM | LYVGGKQLV/YVGGKQLVE | HB | 3 |
| Bazo2 | P00738 | Haptoglobin | LYVGGKQLVEIEK | 13 | E/EM | LYVGGKQLV/YVGGKQLVE | HB | 3 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|---------------------------|--|-----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P11142 | Heat shock cognate 71 kDa protein | DAAKNQVAMNPTNTVFDA | 18 | C | VAMNPTNTV | IB | 3 |
| Bazo2 | P11142 | Heat shock cognate 71 kDa protein | DAAKNQVAMNPTNTVFDAK | 19 | C | VAMNPTNTV | IB | 1 |
| Bazo2 | Q9NZL4 | Heat shock-related 70 kDa protein 2 | IEDGIFEVKSTAGDTH | 16 | C | FEVKSTAGD | HB | 1 |
| Bazo2 | P42357 | Histidine ammonia-lyase | ANRGETVSGGNFHGE | 15 | C | VSGGNFHGE | LB | 1 |
| Bazo2 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | AAVVVPSGEEQRYT | 14 | M | VVPSGEEQR | NA | 3 |
| Bazo2 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | AVVVVPSGEEQRYT | 13 | M | VVPSGEEQR | NA | 1 |
| Bazo2 | P04233 | HLA class II histocompatibility antigen gamma chain | LELEDPSGLGVTKQDLGPVPM | 22 | M | LELEDPSG | LB | 1 |
| Bazo2 | P04233 | HLA class II histocompatibility antigen gamma chain | ELEDPSGLGVTKQDLGPVPM | 21 | M | VTKQDLGPV | LB | 1 |
| Bazo2 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | DIVADHVASYGVN | 13 | M | IVADHVASY | HB | 1 |
| Bazo2 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVN | 14 | M | IVADHVASY | HB | 3 |
| Bazo2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ANIAVDKANLEIM | 13 | M | IAVDKANLE | IB | 2 |
| Bazo2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ANIAVDKANLEIMT | 14 | M | IAVDKANLE | IB | 1 |
| Bazo2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEI | 13 | M | IAVDKANLE | IB | 1 |
| Bazo2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | 14 | M | IAVDKANLE | IB | 4 |
| Bazo2 | P06213 | Insulin receptor | SVAAYVSARTMPEAKA | 16 | M | YVSARTMPE | HB | 2 |
| Bazo2 | P06213 | Insulin receptor | VAAAYVSARTMPEAKA | 15 | M | YVSARTMPE | HB | 2 |
| Bazo2 | P14735 | Insulin-degrading enzyme | SEHAGSSNAFTSGEHTN | 17 | C | AGSSNAFTS | LB | 1 |
| Bazo2 | P19827 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 | EGSEIVVAGRIADN | 14 | E/EM | IVVAGRIAD/IVVAGRIAD | IB | 1 |
| Bazo2 | P19827 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 | YEGSEIVVAGRIADN | 15 | E/EM | IVVAGRIAD/IVVAGRIAD | IB | 3 |
| Bazo2 | Q06033 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 | DGSEIVVAGRLVDED | 15 | E/EM | IVVAGRLVD | NA | 1 |
| Bazo2 | Q06033 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 | DGSEIVVAGRLVDEDM | 16 | E/EM | IVVAGRLVD | NA | 1 |
| Bazo2 | Q06033 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 | DGSEIVVAGRLVDEDMN | 17 | E/EM | IVVAGRLVD | NA | 2 |
| Bazo2 | Q06033 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 | YDGSEIVVAGRLVDEDMN | 18 | E/EM | IVVAGRLVD | NA | 3 |
| Bazo2 | Q06033 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 | YDGSEIVVAGRLVDEDMNS | 19 | E/EM | IVVAGRLVD | NA | 2 |
| Bazo2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | GSEMVVAGKLQDRGPD | 16 | E/EM | MVVAGKLQD/MVVAGKLQD | NA | 10 |
| Bazo2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | GSEMVVAGKLQDRGPDV | 17 | E/EM | MVVAGKLQD/MVVAGKLQD | NA | 1 |
| Bazo2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | KGSEMVVAGKLQDRGPD | 17 | E/EM | MVVAGKLQD/MVVAGKLQD | NA | 9 |
| Bazo2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | KGSEMVVAGKLQDRGPDV | 18 | E/EM | MVVAGKLQD/MVVAGKLQD | NA | 11 |
| Bazo2 | P33176 | Kinesin-1 heavy chain | GGAFVQNSQPVAVRG | 15 | C | FVQNSQPVA | IB | 1 |
| Bazo2 | P33176 | Kinesin-1 heavy chain | GGAFVQNSQPVAVRGGG | 17 | C | FVQNSQPVA | IB | 1 |
| Bazo2 | P33176 | Kinesin-1 heavy chain | GGAFVQNSQPVAVRGGGG | 18 | C | FVQNSQPVA | IB | 2 |
| Bazo2 | P02788 | Lactotransferrin | LAPYKLRPVAAEYVG | 15 | E/EM | YKLRPVAAE | IB | 1 |
| Bazo2 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | AISDYVFNTASLVYHEE | 17 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | IB | 1 |
| Bazo2 | P08637 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A | NSDFYIPKATLKD | 13 | M | YIPKATLKD | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|---------------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P08637 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A | NSDFYIPKATLKDSG | 15 | M | YIPKATLKD | HB | 1 |
| Bazo2 | P08637 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A | NSDFYIPKATLKDSGS | 16 | M | YIPKATLKD | HB | 4 |
| Bazo2 | P08637 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A | NSDFYIPKATLKDSGSY | 17 | M | YIPKATLKD | HB | 2 |
| Bazo2 | P08637 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A | SDFYIPKATLKDSGS | 15 | M | YIPKATLKD | HB | 2 |
| Bazo2 | P11279 | Lysosome-associated membrane glycoprotein 1 | LNTILPDARDPAFK | 14 | M | ILPDARDPA | HB | 2 |
| Bazo2 | P11279 | Lysosome-associated membrane glycoprotein 1 | NTILPDARDPAFK | 13 | M | ILPDARDPA | HB | 2 |
| Bazo2 | P14174 | Macrophage migration inhibitory factor | KPPQYIAVHVVPDQ | 14 | E/EM | YIAVHVVPD | HB | 2 |
| Bazo2 | Q13155 | Multisynthetase complex auxiliary component p38 | ALKDIVINANPASPP | 15 | C | IVINANPAS | HB | 1 |
| Bazo2 | Q13155 | Multisynthetase complex auxiliary component p38 | DYGALKDIVINANPASPP | 18 | C | IVINANPAS | HB | 1 |
| Bazo2 | Q13155 | Multisynthetase complex auxiliary component p38 | KDIVINANPASPP | 13 | C | IVINANPAS | IB | 2 |
| Bazo2 | O00499 | Myc box-dependent-interacting protein 1 | ESLQTAKKKDEAKIAK | 16 | N | LQTAKKKDE | HB | 4 |
| Bazo2 | P05204 | Non-histone chromosomal protein HMG-17 | TDQAQKAEGAGDAK | 14 | N | DQAQKAEGA | LB | 1 |
| Bazo2 | P10451 | Osteopontin | GAYKAIPVAQDLNAPS | 16 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo2 | P10451 | Osteopontin | LNGAYKAIPVAQDLNAPS | 18 | E/EM | YKAIPVAQD | HB | 1 |
| Bazo2 | Q86UD1 | Out at first protein homolog | DSSVFEALPKASEQA | 15 | C | FEALPKASE | HB | 1 |
| Bazo2 | P19021 | Peptidyl-glycine alpha-amidating monooxygenase | LPQAFYVPGHPVDVS | 15 | M | FYPVGHVPD | NA | 1 |
| Bazo2 | P13796 | Plastin-2 | NAKYAISMARKIG | 13 | C | YAIMARKI | LB | 1 |
| Bazo2 | P13796 | Plastin-2 | NNAKYAISMARKIG | 14 | C | YAIMARKI | LB | 1 |
| Bazo2 | P16284 | Platelet endothelial cell adhesion molecule | STESYFIPEVRIYDSGTY | 18 | M | VRIYDSGTY/FIPEVRIYD | IB | 1 |
| Bazo2 | P40197 | Platelet glycoprotein V | VNLQELALNQNLDFLPA | 18 | E/EM | VNLQELALN | IB | 4 |
| Bazo2 | Q10472 | Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 1 | GDVLEPVQKPEGPG | 15 | g | LEPVQKPHE | NA | 1 |
| Bazo2 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | KYVPAIAHLIHS | 12 | Lis/End | VPAIAHLIH | IB | 2 |
| Bazo2 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | YAGKYVPAIAHLIHS | 15 | Lis/End | VPAIAHLIH | IB | 1 |
| Bazo2 | Q7Z5N4 | Protein sidekick-1 | DTPTTGYVIEARPSDEG | 17 | M | YVIEARPSD | HB | 1 |
| Bazo2 | Q7Z5N4 | Protein sidekick-1 | TPTTGYVIEARPSDEG | 16 | M | YVIEARPSD | HB | 1 |
| Bazo2 | Q08188 | Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase E | NSAHDTRNLSVD | 13 | C | HDTDRNLSV | LB | 1 |
| Bazo2 | Q8NHP8 | Putative phospholipase B-like 2 | IPGMVVVADKTSELYQ | 16 | Lis/End | VVADKTSSEL/MVVVADKTS | HB | 1 |
| Bazo2 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVV | 14 | C | VVTDPKAPN/VVTDPKAPN | HB | 1 |
| Bazo2 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVVVT | 16 | C | VVTDPKAPN/VVTDPKAPN | HB | 1 |
| Bazo2 | P02787 | Serotransferrin | KEDPQTFYAVAVVKKDSG | 19 | E/EM | VAVVKKDSG | HB | 4 |
| Bazo2 | P19634 | Sodium/hydrogen exchanger 1 | EPKEDLPVITIDPASPQSE | 20 | M | ITIDPASPQ | IB | 1 |
| Bazo2 | O00560 | Syntenin-1 | ITSIVKDSSAARNGL | 15 | M | IVKDSSAAR | HB | 1 |
| Bazo2 | Q9Y490 | Talin-1 | SAAKILADATAKMVEA | 16 | M | ILADATAKM | HB | 2 |
| Bazo2 | P01730 | T-cell surface glycoprotein CD4 | ASSIVYKKEGEQVE | 14 | M | IVYKKEGEQ | NA | 4 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|-----------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Bazo2 | P62988 | Ubiquitin | AGKQLEDGRTLSD | 13 | C | LEDGRTLSD | LB | 1 |
| Bazo2 | Q9BSL1 | Ubiquitin-associated domain-containing protein 1 | VIDALRVNNNQQA | 15 | C | LRVNNNQQA/LRVNNNQQA | IB | 2 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | ISPKNTVISVNPSTKLQEGGS | 21 | M | VNPSTKLQE | HB | 2 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | NTVISVNPSTKLQEG | 15 | M | VNPSTKLQE | HB | 3 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | NTVISVNPSTKLQEGGS | 17 | M | VNPSTKLQE | HB | 3 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | NTVISVNPSTKLQEGGSVT | 19 | M | VNPSTKLQE | HB | 1 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | TVISVNPSTKLQEGGS | 16 | M | VNPSTKLQE | HB | 2 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | STQTLVNVVAPRDTT | 15 | M | YVNVAPRDT | IB | 4 |
| Bazo2 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | TQTLVNVVAPRDTTV | 15 | M | YVNVAPRDT | IB | 2 |
| Bazo2 | P18206 | Vinculin | ISPMVMMDAKAVAG | 13 | M | MVMDAKAVA | HB | 2 |
| Bazo2 | P18206 | Vinculin | ISPMVMMDAKAVAGNI | 15 | M | MVMDAKAVA | HB | 1 |
| Bazo2 | P18206 | Vinculin | TISPMVMMDAKAVAGNI | 16 | M | MVMDAKAVA | HB | 1 |
| Bazo2 | P18206 | Vinculin | TISPMVMMDAKAVAGNIS | 17 | M | MVMDAKAVA | HB | 3 |
| Bazo2 | P04004 | Vitronectin | VGGPSLSDLAQASQGNPE | 19 | E/EM | LTSDLQAQS | HB | 1 |
| Bazo2 | Q14202 | Zinc finger MYM-type protein 3 | STESIPVSDSDA | 14 | N | IPVSDSD | LB | 1 |
| Bazo3 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | 18 | ER | PPPTGEEDT | LB | 2 |
| Bazo3 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | LSFSPSQSLPASHA | 14 | E/EM | LSFSPSQSL | HB | 1 |
| Bazo3 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | NKVDLSFSPSQSLPA | 15 | E/EM | LSFSPSQSL | HB | 1 |
| Bazo3 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | NKVDLSFSPSQSLPAS | 16 | E/EM | LSFSPSQSL | HB | 1 |
| Bazo3 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | VDSLFSFSPSQSLPASH | 15 | E/EM | LSFSPSQSL | HB | 1 |
| Bazo3 | Q6Q788 | Apolipoprotein A-V | APEFQQTDSGKVL | 13 | E/EM | FQQTDSGKV | HB | 2 |
| Bazo3 | Q6Q788 | Apolipoprotein A-V | FAPEFQQTDSGKVL | 14 | E/EM | FQQTDSGKV | HB | 4 |
| Bazo3 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | MDMTFSKQNALLRSEYQ | 17 | E/EM | FSKQNALLR | IB | 4 |
| Bazo3 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | FSRNYQLYKSVSLPS | 15 | E/EM | YQLYKSVSL/YQLYKSVSL | HB | 2 |
| Bazo3 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | SRNYQLYKSVSLPS | 14 | E/EM | YQLYKSVSL/YQLYKSVSL | HB | 1 |
| Bazo3 | P04114 | Apolipoprotein B-100 | NPNGYSFSPVQVLA | 15 | E/EM | YSFSPVQV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02649 | Apolipoprotein E | LSKELQAAQARLGADM | 16 | E/EM | LQAAQARLG | NA | 3 |
| Bazo3 | P02649 | Apolipoprotein E | LSKELQAAQARLGADME | 17 | E/EM | LQAAQARLG | NA | 5 |
| Bazo3 | P11912 | B-cell antigen receptor complex-associated protein alpha-chain | GTYQDVGSLNIGDV | 14 | M | YQDVGSLNI | HB | 3 |
| Bazo3 | P11912 | B-cell antigen receptor complex-associated protein alpha-chain | QGTYQDVGSLNIGDV | 15 | M | YQDVGSLNI | HB | 1 |
| Bazo3 | O00462 | Beta-mannosidase | IESTFDVSSKPVG | 14 | Lis/End | FDVSSKPV | HB | 1 |
| Bazo3 | O00462 | Beta-mannosidase | IESTFDVSSKPVGGQ | 16 | Lis/End | FDVSSKPV | HB | 2 |
| Bazo3 | P00736 | Complement C1r subcomponent | FPKYPNNFETTTVITVPTG | 20 | E/EM | FETTTVITV | HB | 3 |
| Bazo3 | P00736 | Complement C1r subcomponent | GDFRYTTTIMGVNTY | 14 | E/EM | FRYTTTIMGV/FRYTTTIMGV | HB | 9 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|-----------------------------|----------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Bazo3 | P00736 | Complement C1r subcomponent | LPNGDFRYTTTIMGVNT | 16 | E/EM | FRYTTTIMGV/FRYTTTIMGV | HB | 1 |
| Bazo3 | P00736 | Complement C1r subcomponent | LPNGDFRYTTTIMGVNTY | 17 | E/EM | FRYTTTIMGV/FRYTTTIMGV | HB | 9 |
| Bazo3 | P00736 | Complement C1r subcomponent | EASGYISSLEYPSPYPPD | 18 | E/EM | LEYPSPYPP | IB | 1 |
| Bazo3 | P09871 | Complement C1s subcomponent | INEYWVLTAAHVVE | 14 | E/EM | WVLTAAHVV/INEYWVLTA | HB | 2 |
| Bazo3 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILR | 13 | E/EM | YSIITPNIL | HB | 5 |
| Bazo3 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILRLE | 15 | E/EM | YSIITPNIL | HB | 2 |
| Bazo3 | P02741 | C-reactive protein | YTELSSTRGYSIFS | 14 | E/EM | LSSTRGYSI | HB | 2 |
| Bazo3 | P02741 | C-reactive protein | YTELSSTRGYSISY | 15 | E/EM | LSSTRGYSI | HB | 1 |
| Bazo3 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | YSKQFTSSTSYNRG | 14 | E/EM | FTSSTSYNR | HB | 3 |
| Bazo3 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | YSKQFTSSTSYNRGD | 15 | E/EM | FTSSTSYNR | HB | 1 |
| Bazo3 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | YSKQFTSSTSYNRGDS | 16 | E/EM | FTSSTSYNR | HB | 9 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | GGETSEMYLIQPDSSVKPY | 19 | E/EM | YLIQPDSSV | IB | 2 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | SEMYLIQPDSSVKPY | 15 | E/EM | YLIQPDSSV | IB | 1 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | TSEMYLIQPDSSVKP | 15 | E/EM | YLIQPDSSV | IB | 1 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | TSEMYLIQPDSSVKPY | 16 | E/EM | YLIQPDSSV | IB | 2 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | ISVNKYRGTAGNALM | 15 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 5 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | ISVNKYRGTAGNALMDG | 17 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 11 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | ISVNKYRGTAGNALMDGA | 18 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 1 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | SVNKYRGTAGNALM | 14 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 4 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | SVNKYRGTAGNALMD | 15 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 1 |
| Bazo3 | P02675 | Fibrinogen beta chain | SVNKYRGTAGNALMDG | 16 | E/EM | YRGTAGNAL | HB | 14 |
| Bazo3 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | LQEIYNSNNQKIVN | 14 | E/EM | IYNSNNQKI | HB | 2 |
| Bazo3 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | QEIYNSNNQKIVN | 13 | E/EM | IYNSNNQKI | HB | 3 |
| Bazo3 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | YLQEIYNSNNQKIVN | 15 | E/EM | IYNSNNQKI | HB | 1 |
| Bazo3 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | GPEADKYRLTYAYFAGGD | 18 | E/EM | YRLTYAYFA | HB | 5 |
| Bazo3 | P02679 | Fibrinogen gamma chain | VGPEADKYRLTYAYFAGGD | 19 | E/EM | YRLTYAYFA | HB | 7 |
| Bazo3 | Q08830 | Fibrinogen-like protein 1 | NSRYAQYKNFKVGD | 15 | E/EM | YAYKNFKV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APSNLRFIATTPNSL | 15 | E/EM | FIATTPNSL | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APSNLRFIATTPNSLLVS | 18 | E/EM | FIATTPNSL | HB | 3 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | IPAPTDLKFTQVTPTS | 16 | E/EM | LKFTQVTPT | IB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | IPAPTDLKFTQVTPTSL | 17 | E/EM | LKFTQVTPT | HB | 2 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | IPAPTDLKFTQVTPTSLS | 18 | E/EM | LKFTQVTPT | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | IPAPTDLKFTQVTPTSLSAQ | 20 | E/EM | LKFTQVTPT | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | VSSVYEQHESTPLRG | 15 | E/EM | YEQHESTPL | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|---------------------------|---|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APITGYRIVYSPSVE | 15 | E/EM | YRIVYSPSV/YRIVYSPSV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APITGYRIVYSPSVEG | 16 | E/EM | YRIVYSPSV/YRIVYSPSV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APITGYRIVYSPSVEGS | 17 | E/EM | YRIVYSPSV/YRIVYSPSV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02751 | Fibronectin | APITGYRIVYSPSVEGSS | 18 | E/EM | YRIVYSPSV/YRIVYSPSV | HB | 4 |
| Bazo3 | Q8WTR4 | Glycerophosphodiester phosphodiesterase domain-containing protein 5 | SYDTYANSTATPVGPR | 16 | N | YANSTATPV | HB | 2 |
| Bazo3 | P00738 | Haptoglobin | TAKDIAPTLTYVGKK | 16 | E/EM | IAPTLTYLV | HB | 2 |
| Bazo3 | P00738 | Haptoglobin | INEQWLLTTAKNL | 13 | E/EM | WLLTTAKNL | HB | 2 |
| Bazo3 | P34931 | Heat shock 70 kDa protein 1L | TPSYVAFTDTERL | 13 | C | VAFTDTERL | HB | 4 |
| Bazo3 | P34931 | Heat shock 70 kDa protein 1L | TPSYVAFTDTERLI | 14 | C | VAFTDTERL | HB | 1 |
| Bazo3 | Q6NYC1 | Histone arginine demethylase JMJD6 | GDGTVHRRKKRRT | 13 | N | VHRRKKRRT | LB | 1 |
| Bazo3 | Q8NEZ4 | Histone-lysine N-methyltransferase MLL3 | DLKQFRITPGFIL | 13 | N | FRITPGFIL/FRITPGFIL | HB | 1 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | GDRTFQKWAAVVVPSG | 16 | M | FQKWAAVVV | IB | 1 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | RPAGDGTGFKWAAVVVPSG | 19 | M | FQKWAAVVV | IB | 1 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | DDTQVFRFDNDAASPR | 16 | M | FVRFSDAA | IB | 2 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | DDTQVFRFDSDAASPR | 16 | M | FVRFSDAA | IB | 1 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | DDTQVFRFDSDAASQ | 15 | M | FVRFSDAA | IB | 2 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQVFRFDSDAASP | 16 | M | FVRFSDAA | HB | 1 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQVFRFDSDAASPR | 17 | M | FVRFSDAA | HB | 14 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQVFRFDSDAASPRTEP | 20 | M | FVRFSDAA | HB | 2 |
| Bazo3 | HLA-I, α chain | HLA class I histocompatibility antigen, alpha chain | VDDTQVFRFDSDAASQ | 16 | M | FVRFSDAA | HB | 3 |
| Bazo3 | P04233 | HLA class II histocompatibility antigen gamma chain | TTAYFLYQQQGRLD | 14 | M | FLYQQQGRL | IB | 9 |
| Bazo3 | P04233 | HLA class II histocompatibility antigen gamma chain | TTAYFLYQQQGRLDK | 15 | M | FLYQQQGRL | IB | 11 |
| Bazo3 | HLA-II, DQ β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta chain | DSDVGVYRAVTPQGRPDA | 18 | M | YRAVTPQGR/VGVYRAVTP | NA | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DQ β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ beta chain | DVGVYRAVTPQGRPD | 15 | M | YRAVTPQGR/VGVYRAVTP | NA | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | EFGRFASFEAQGAL | 14 | M | FGRFASFEA/FGRFASFEA | IB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQ | 13 | M | FGRFASFEA/FGRFASFEA | HB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQG | 14 | M | FGRFASFEA/FGRFASFEA | HB | 18 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQGA | 15 | M | FGRFASFEA/FGRFASFEA | HB | 2 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LEEFGRFASFEAQGAL | 16 | M | FGRFASFEA/FGRFASFEA | HB | 6 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | AQGALANIAVDKANL | 15 | M | LANIAVDKA | LB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | AQGALANIAVDKANLE | 16 | M | LANIAVDKA | LB | 4 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | AQGALANIAVDKANLEIM | 18 | M | LANIAVDKA | LB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | GALANIAVDKANLE | 14 | M | LANIAVDKA | LB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II, DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | FQTLVMLETVPRSG | 14 | M | LVMLETVPR | IB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|-------------------|---|---------------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|
| Bazo3 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | FQTLVMLETVPRSGEV | 16 | M | LVMLETVPR | IB | 2 |
| Bazo3 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | FQTLVMLETVPRSGEVY | 17 | M | LVMLETVPR | IB | 1 |
| Bazo3 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | NQEEYARYNSDLGEY | 15 | M | YARYNSDLG | LB | 2 |
| Bazo3 | HLA-II,DR β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR beta chain | NQEEYARYNSDLGEYQ | 16 | M | YARYNSDLG | LB | 2 |
| Bazo3 | Ig Kappa | Ig kappa chain | GGTDFTLTISRLEPED | 17 | E/EM | FTLTISRLE | IB | 1 |
| Bazo3 | Ig Kappa | Ig kappa chain | SGTDFTLTISRLEPE | 15 | E/EM | FTLTISRLE | IB | 1 |
| Bazo3 | Ig Kappa | Ig kappa chain | SGTDFTLTISRLEPED | 16 | E/EM | FTLTISRLE | IB | 2 |
| Bazo3 | Ig Kappa | Ig kappa chain | DSTYLSSTLTLSKA | 15 | E/EM | YLSSTLT | HB | 1 |
| Bazo3 | Ig Kappa | Ig kappa chain | KDSTYLSSTLTLSK | 15 | E/EM | YLSSTLT | HB | 2 |
| Bazo3 | Ig mu | Ig mu chain C region | GGKYAATSQVLLPS | 14 | E/EM | YAATSQVLL | HB | 3 |
| Bazo3 | Ig mu | Ig mu chain C region | GGKYAATSQVLLPSK | 15 | E/EM | YAATSQVLL | HB | 2 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | VPVPEFADSDPANIVHD | 17 | g | FADSDPANI | IB | 1 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | VPVPEFADSDPANIVHDF | 18 | g | FADSDPANI | IB | 1 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | ADAPAALYQTIEENIK | 16 | g | LYQTIEENI | NA | 1 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | APAALYQTIEENIK | 14 | g | LYQTIEENI | NA | 4 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | DAPAALYQTIEENIK | 15 | g | LYQTIEENI | IB | 1 |
| Bazo3 | Q9Y287 | Integral membrane protein 2B | EPSADAPAALYQTIEENIK | 19 | g | LYQTIEENI | NA | 2 |
| Bazo3 | Q13349 | Integrin alpha-D | APHYYEQTRGGQVS | 14 | M | YEQTRGGQV | IB | 1 |
| Bazo3 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | AQAQYSAAVAKGKSAG | 16 | E/EM | YSAAVAKGK | NA | 6 |
| Bazo3 | P02750 | Leucine-rich alpha-2-glycoprotein | IPGYLPADTVHL | 12 | M | YLPADTVHL | HB | 2 |
| Bazo3 | P06858 | Lipoprotein lipase | DPAGPNFEYAEAPSRLSPD | 19 | E/EM | FEYAEAPSR | NA | 2 |
| Bazo3 | P31994 | Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II-b | NIGYTYSSKPV | 13 | M | YTYSSKPV/YTYSSKPV | HB | 3 |
| Bazo3 | Q13571 | Lysosomal-associated transmembrane protein 5 | VVLPSEYEEALSLSKTPE | 18 | Lis/End | VLPSYEEAL/VVLPSEYEEA | IB | 2 |
| Bazo3 | Q13571 | Lysosomal-associated transmembrane protein 5 | VVLPSEYEEALSLSKTPEG | 19 | Lis/End | VLPSYEEAL/VVLPSEYEEA | IB | 2 |
| Bazo3 | P07333 | Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor | IPGPPALTLVPAELVR | 16 | M | LTLVPAELV/IPGPPALTL | IB | 2 |
| Bazo3 | Q8NDC0 | MAPK-interacting and spindle-stabilizing protein-like | YPTPGLYPTPSNPFQ | 15 | C | LYPTPSNPF | HB | 2 |
| Bazo3 | Q9H8L6 | Multimerin-2 | IGSSYFPEHGYFRAPE | 16 | E/EM | IGSSYFPEH | LB | 3 |
| Bazo3 | P58546 | Myotrophin | GLTAFEATDNQAIK | 14 | C | FEATDNQAI | HB | 3 |
| Bazo3 | P58546 | Myotrophin | GPDGLTAFEATDNQAIK | 17 | C | FEATDNQAI | HB | 1 |
| Bazo3 | Q9BT67 | NEDD4 family-interacting protein 1 | FPKPPSYNVATTLPDYDE | 18 | g | YNVATTLP/YNVATTLP | IB | 2 |
| Bazo3 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | SPLLPSPFQQSPVPLNH | 19 | M | FQQSPVPL | HB | 2 |
| Bazo3 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | SPLLPSPFQQSPVPLNHLP | 21 | M | FQQSPVPL | HB | 2 |
| Bazo3 | P30086 | Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 | WSGPLSLQEVDEQPQHP | 17 | C | WSGPLSLQE | LB | 1 |
| Bazo3 | Q9UHG3 | Prenylcysteine oxidase 1 | SGLLQASKSNLISG | 14 | Lis/End | LQASKSNLI | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|-----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo3 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | AGKYVPAIAHLIHS | 14 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 19 |
| Bazo3 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | KYVPAIAHLIHS | 12 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 1 |
| Bazo3 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | YAGKYVPAIAHLIHS | 15 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 11 |
| Bazo3 | P53992 | Protein transport protein Sec24C | GGSVYKYASFQVENDQ | 16 | ER | VYKYASFQV | HB | 1 |
| Bazo3 | P00734 | Prothrombin | ATSEYQTFFNPRTFG | 15 | E/EM | YQTFFNPRT | IB | 1 |
| Bazo3 | P00734 | Prothrombin | TATSEYQTFFNPRTFG | 16 | E/EM | YQTFFNPRT | IB | 4 |
| Bazo3 | O14917 | Protocadherin-17 | ASSQYLPTDSQYLSPS | 16 | M | YLPTDSQYL | HB | 1 |
| Bazo3 | Q58FF8 | Putative heat shock protein HSP 90-beta 2 | VDTGIGMTKADLINN | 15 | C | IGMTKADLI | HB | 1 |
| Bazo3 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | ASPNIIVIALAGNKADL | 16 | Lis/End | IVIALAGNK | HB | 1 |
| Bazo3 | P49796 | Regulator of G-protein signaling 3 | DSPVRVQAVDSGGPA | 15 | M | VQAVDSGGP | LB | 1 |
| Bazo3 | Q99969 | Retinoic acid receptor responder protein 2 | FPGQFAFSKALPRS | 14 | E/EM | FAFSKALPR | HB | 6 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKD | 15 | E/EM | FYYAVAVVK | HB | 25 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKDS | 16 | E/EM | FYYAVAVVK | HB | 1 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKDSG | 17 | E/EM | FYYAVAVVK | IB | 37 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | EDPQTFYYAVAVVKK | 15 | E/EM | FYYAVAVVK | HB | 2 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | EDPQTFYYAVAVVKKD | 16 | E/EM | FYYAVAVVK | HB | 2 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | EDPQTFYYAVAVVKKDSG | 18 | E/EM | FYYAVAVVK | IB | 29 |
| Bazo3 | P02787 | Serotransferrin | KEDPQTFYYAVAVVKKDSG | 19 | E/EM | FYYAVAVVK | IB | 2 |
| Bazo3 | P02768 | Serum albumin | LGMFLYEYARRHPD | 14 | E/EM | LGMFLYEYA | IB | 1 |
| Bazo3 | P02768 | Serum albumin | LGEYKFNALLVR | 13 | E/EM | YKFNALLV | HB | 4 |
| Bazo3 | P27169 | Serum paraoxonase/arylesterase 1 | LPNGLAFISSGLKYPG | 16 | E/EM | LAFISSGLK | NA | 1 |
| Bazo3 | Q9H299 | SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 | DGKRIQYQLVDISQDN | 16 | C | YQLVDISQD | LB | 1 |
| Bazo3 | Q9H299 | SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 | DGKRIQYQLVDISQDNA | 17 | C | YQLVDISQD | LB | 1 |
| Bazo3 | Q8WUM9 | Sodium-dependent phosphate transporter 1 | LVQFSQAVSNQINSS | 15 | M | FSQAVSNQI/LVQFSQAVS | HB | 1 |
| Bazo3 | Q9NY15 | Stabilin-1 | DQPQQTFNIIKANNIAA | 17 | M | FNIYKANNI/FNIYKANNI | HB | 2 |
| Bazo3 | Q9NY15 | Stabilin-1 | DQPQQTFNIIKANNIAAN | 18 | M | FNIYKANNI/FNIYKANNI | HB | 4 |
| Bazo3 | Q9NY15 | Stabilin-1 | DQPQQTFNIIKANNIAANG | 19 | M | FNIYKANNI/FNIYKANNI | HB | 4 |
| Bazo3 | O43760 | Synaptogyrin-2 | DPTDPNPNTAYASYPGASVDN | 20 | M | YASYPGASV | IB | 1 |
| Bazo3 | O00560 | Syntenin-1 | VDKVIQAQTAFSANPA | 16 | M | IQAQTAQTA | IB | 1 |
| Bazo3 | P13686 | Tartrate-resistant acid phosphatase type 5 | LGDNFYFTGVQDINDK | 16 | Lis/End | FYFTGVQDI | HB | 2 |
| Bazo3 | P07996 | Thrombospondin-1 | GPDPSSPAFRIED | 13 | E/EM | DPSSPAFRI | LB | 1 |
| Bazo3 | P07996 | Thrombospondin-1 | GPDPSSPAFRIEDANLIPP | 19 | E/EM | FRIEDANLI/FRIEDANLI | HB | 1 |
| Bazo3 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NPGGYVAYSKAATVTG | 16 | E/EM | YVAYSKAAT/YVAYSKAAT | HB | 2 |
| Bazo3 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NPGGYVAYSKAATVTGK | 17 | E/EM | YVAYSKAAT/YVAYSKAAT | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|---------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Bazo3 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | ALEIFKQASAFSRASQ | 16 | E/EM | FKQASAFSR/LEIFKQASA | HB | 3 |
| Bazo3 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | LEIFKQASAFSRASQ | 15 | E/EM | FKQASAFSR/LEIFKQASA | HB | 7 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | SPYSYSTTAVVTNPK | 15 | E/EM | YSYSTTAVV | HB | 4 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | SPYSYSTTAVVTNPK | 16 | E/EM | YSYSTTAVV | HB | 1 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | AALLSPYSYSTTAVVTNPK | 19 | E/EM | YSYSTTAVV/LSPYSYSTT | HB | 1 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | LSPYSYSTTAVVTNPK | 17 | E/EM | YSYSTTAVV/LSPYSYSTT | HB | 3 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | LSPYSYSTTAVVTNPK | 18 | E/EM | YSYSTTAVV/LSPYSYSTT | HB | 2 |
| Bazo3 | P02766 | Transthyretin | LSPYSYSTTAVVTNPK | 16 | E/EM | YSYSTTAVV/LSPYSYSTT | HB | 3 |
| Bazo3 | Q9Y5A9 | YTH domain family protein 2 | DDDFEPYLSQPQARPNN | 16 | E/EM | FEPYLSPQA | IB | 1 |
| Bazo3 | Q9Y5A9 | YTH domain family protein 2 | NDDDFEPYLSQPQARPNN | 16 | E/EM | FEPYLSPQA | IB | 2 |
| Bazo4 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFISP | 17 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | HB | 1 |
| Bazo4 | Q16698 | 2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial | GHPNIVINNAAGNFISPT | 18 | mit | IVINNAAGN/IVINNAAGN | HB | 7 |
| Bazo4 | O00487 | 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 | AAMLDTVVFK | 10 | C | AAMLDTVVF | LB | 1 |
| Bazo4 | Q02878 | 60S ribosomal protein L6 | ALTNGIYPHKLVF | 13 | C | LTNGIYPHK | LB | 2 |
| Bazo4 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDE | 17 | ER | AGPPPTGEE | LB | 1 |
| Bazo4 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | 18 | ER | AGPPPTGEE | LB | 5 |
| Bazo4 | O75366 | Advillin | LLDWTWDQVF | 9 | C | LLDWTWDQVF | LB | 1 |
| Bazo4 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | AHNNYQAQSAVPLRHET | 17 | M | YQAQSAVPL | HB | 1 |
| Bazo4 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | NNYQAQSAVPLRH | 13 | M | YQAQSAVPL | HB | 4 |
| Bazo4 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | HKAVLTIDEKGTEAA | 15 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 2 |
| Bazo4 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEA | 13 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 1 |
| Bazo4 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEAA | 14 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 35 |
| Bazo4 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | YVLLAYLTAQPPTS | 15 | E/EM | LAYLTAQPA | HB | 1 |
| Bazo4 | P08133 | Annexin A6 | AAGQFFPEAAQVAYQ | 15 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Bazo4 | P02649 | Apolipoprotein E | LSKELQAAQARLGADM | 16 | E/EM | LQAAQARLG | HB | 2 |
| Bazo4 | P02649 | Apolipoprotein E | LSKELQAAQARLGADME | 17 | E/EM | LQAAQARLG | HB | 3 |
| Bazo4 | P02649 | Apolipoprotein E | LSKELQAAQARLGADMED | 18 | E/EM | LQAAQARLG | HB | 2 |
| Bazo4 | P05089 | Arginase-1 | INTPLTTTSGNLHGQP | 16 | C | INTPLTTTS | IB | 2 |
| Bazo4 | P05089 | Arginase-1 | INTPLTTTSGNLHGQPV | 18 | C | INTPLTTTS | IB | 1 |
| Bazo4 | P05089 | Arginase-1 | EVNPSLGKTP | 12 | C | VNPSLGKTP | LB | 1 |
| Bazo4 | P05089 | Arginase-1 | EVNPSLGKTPPEVTRTVN | 18 | C | VNPSLGKTP | LB | 1 |
| Bazo4 | P15907 | Beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1 | DAVLRFNAGAPTANFQ | 15 | g | LRFNAGAPTA/LRFNAGAPTA | HB | 3 |
| Bazo4 | Q8N5S9 | Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 1 | DRHYAMKVLKSKKLLKQ | 17 | C | MKVLKSKKL/MKVLKSKKL | HB | 1 |
| Bazo4 | P27797 | Calreticulin | GGGYVKLFPNSLDQ | 14 | ER | YVKLFPNSL | HB | 4 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo4 | P27797 | Calreticulin | GGGYVKLFPNSLDQT | 15 | ER | YVKLFPNSL | HB | 4 |
| Bazo4 | P00915 | Carbonic anhydrase 1 | LSNVEGDNAVPMQHNN | 16 | C | VEGDNAVPM | HB | 1 |
| Bazo4 | P25774 | Cathepsin S | TGKLVLSAQNLVD | 14 | Lis/End | LVLSAQNL | HB | 3 |
| Bazo4 | P11717 | Cation-independent mannose-6-phosphate receptor | DLNPLIKLSGAYLVDDS | 17 | Lis/End | LIKLSGAYL/IKLSGAYLV | HB | 1 |
| Bazo4 | P36222 | Chitinase-3-like protein 1 | GPGIPGRFTKEAGTLAYYE | 19 | E/EM | FTKEAGTLA | HB | 4 |
| Bazo4 | P09496 | Clathrin light chain A | ISLKQAPLVH | 10 | Lis/End | ISLKQAPLV | LB | 1 |
| Bazo4 | P00740 | Coagulation factor IX | QSTQSFNDFTRVVGGEDAKP | 20 | E/EM | FNDFTRVVG | LB | 1 |
| Bazo4 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILRLE | 15 | E/EM | YSIITPNIL/MYSIITPNI | HB | 1 |
| Bazo4 | P10643 | Complement component C7 | DGKDFYRLSGNVLSYT | 16 | E/EM | FYRLSGNVL/FYRLSGNVL | HB | 2 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | DTSYVSLKAPLTK | 13 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 1 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | DTSYVSLKAPLTKP | 14 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 14 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | DTSYVSLKAPLTKPL | 15 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 61 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | ESDTSYVSLKAPLT | 14 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 1 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | ESDTSYVSLKAPLTKP | 16 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 2 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | ESDTSYVSLKAPLTKPL | 17 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 24 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLT | 13 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 3 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTK | 14 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 28 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTKP | 15 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 74 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTKPL | 16 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 192 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTKPLK | 17 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 4 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | TSYVSLKAPLTKP | 13 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 17 |
| Bazo4 | P02741 | C-reactive protein | TSYVSLKAPLTKPL | 14 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 8 |
| Bazo4 | P01040 | Cystatin-A | IPGGLSEAKPATPEIQE | 17 | C | LSEAKPATP | LB | 1 |
| Bazo4 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | ETTQLTADSHPSYHTDG | 17 | M | LTADSHPSY | HB | 1 |
| Bazo4 | O75935 | Dynactin subunit 3 | EAATQVKPAEE | 11 | C | ATQVKPAEE | LB | 2 |
| Bazo4 | Q9UJW0 | Dynactin subunit 4 | LTLTNPVENLTHVTL | 15 | C | VENLTHVTL | NA | 1 |
| Bazo4 | P24534 | Elongation factor 1-beta | GFGDLKSPAGLQVLND | 16 | C | FGDLKSPAG | IB | 1 |
| Bazo4 | P17813 | Endoglin | ILEWAAERGPITSAA | 15 | E/EM | WAAERGPIT | IB | 1 |
| Bazo4 | Q969X5 | Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 1 | EGQFSINKVPGNFH | 14 | g | FSINKVPGN/FSINKVPGN | IB | 7 |
| Bazo4 | P14625 | Endoplasmic reticulum chaperone protein BiP | TDEEEETAKESTAEKDEL | 18 | ER | EEEETAKES | LB | 3 |
| Bazo4 | P27105 | Erythrocyte band 7 integral membrane protein | TTIAAEKNSTIVFPLPIDML | 20 | E/EM | IVFPLPIDM/IVFPLPIDM | HB | 1 |
| Bazo4 | P02794 | Ferritin heavy chain | FDKHTLGSDNES | 13 | C | FDKHTLGDS | LB | 2 |
| Bazo4 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | VSETESRGSSESGIFTNT | 17 | E/EM | VSETESRGS | LB | 1 |
| Bazo4 | P30043 | Flavin reductase | TTDEYDGHSTYPSHQYQ | 17 | E/EM | YDGHSTYPS | LB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|---|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo4 | O75955 | Flotillin-1 | YQEAAQLDML | 10 | M | YQEAAQLDM | LB | 1 |
| Bazo4 | P06744 | Glucose-6-phosphate isomerase | TPILVDGKDVMP | 13 | E/EM | ILVDGKDVMP | HB | 2 |
| Bazo4 | P15104 | Glutamine synthetase | LNETGDEPFQYKN | 13 | mit | LNETGDEPF | LB | 4 |
| Bazo4 | P35754 | Glutaredoxin-1 | IQDYLQQLTGARTVPR | 16 | C | LQQLTGART | HB | 1 |
| Bazo4 | Q9H4G4 | Golgi-associated plant pathogenesis-related protein 1 | FEENVLPKK | 10 | g | FEENVLPK | LB | 3 |
| Bazo4 | Q9H4G4 | Golgi-associated plant pathogenesis-related protein 1 | RYFPAGNVVNEGF | 13 | g | YFPAGNVVN | IB | 3 |
| Bazo4 | Q14789 | Golgin subfamily B member 1 | DLEERLMNQLAELNG | 15 | g | LMNQLAELN | IB | 1 |
| Bazo4 | P62826 | GTP-binding nuclear protein Ran | APPEVMDPALAAQYEH | 18 | N | MDPALAAQY/VVMDPALAA | HB | 2 |
| Bazo4 | P08107 | Heat shock 70 kDa protein 1 | AQGPKGSGSGPTIEVD | 18 | C | GGSGSGPTI | LB | 1 |
| Bazo4 | P04792 | Heat shock protein beta-1 | AQLGGPEAAKSDETA | 17 | N | LGGPEAAKS | LB | 1 |
| Bazo4 | POC0S8 | Histone H2A type 1 | ILELAGNAARDN | 12 | N | ILELAGNAA | HB | 1 |
| Bazo4 | POC0S8 | Histone H2A type 1 | VLEYLTAEILELAGNAAR | 18 | N | ILELAGNAA | HB | 1 |
| Bazo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | FYVDLDDKKTETVWH | 13 | M | VDDLDDKKTETV | HB | 9 |
| Bazo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDDKKTETVWH | 12 | M | VDDLDDKKTETV | HB | 3 |
| Bazo4 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | 14 | M | IAVDKANLE | IB | 1 |
| Bazo4 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | IKEEHVIIQAE | 11 | M | IKEEHVIIQ | LB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | MNSLRAEDT | 9 | E/EM | MNSLRAEDT | LB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | LQMNSLRAEDT | 11 | E/EM | MNSLRAEDT/LQMNSLRAE | IB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | KBTLYLQMNLSL | 11 | E/EM | TLYLQMNLSL | LB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | BTYYLQMBLRAEDT | 15 | E/EM | VYLQMSLRA/LQMSLRAED | HB | 3 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | NTLYLNMNSLRAEDT | 15 | E/EM | YLNMSLRA | HB | 2 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | NTLYLNMNSLRAEDTA | 16 | E/EM | YLNMSLRA | HB | 2 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | BTLYLQMNLSLRAEBT | 15 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | BTLYLQMNLSLRAEBTA | 16 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | KBTLYLQMNLSLRAEBT | 16 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | KNTLYLQMNLSLRAEDT | 16 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 25 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | NTLYLQMNLSLRAEDT | 15 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 7 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | NTLYLQMNLSLRAEDTA | 16 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | SKNTLYLQMNLSLRAEDT | 17 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 2 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | TLYLQMNLSLRAEDTA | 15 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 1 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | YLQMNLSLRAEBT | 12 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 3 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | YLQMNLSLRAED | 11 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 2 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | YLQMNLSLRAEDT | 12 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 8 |
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | YLQMNLSLRAEDTA | 13 | E/EM | YLQMNLSLRA | HB | 5 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo4 | Ig heavy | Ig heavy chain | YLQMNSLRVEDT | 12 | E/EM | YLQMNSLRV | HB | 1 |
| Bazo4 | Q9Y6R7 | IgGfC-binding protein | VDLKN TGREEFLTA | 14 | E/EM | LKNTGREEF | NA | 2 |
| Bazo4 | Q9Y6R7 | IgGfC-binding protein | KNTGREEFLTA | 11 | E/EM | TGREEFLTA | LB | 12 |
| Bazo4 | P16144 | Integrin beta-4 | GNRDYIPVEGELLFQPG | 17 | M | YIPVEGELL | HB | 1 |
| Bazo4 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | APSAILPLPGQSVVER | 15 | E/EM | ILPLPGQSV | HB | 3 |
| Bazo4 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | APSAILPLPGQSVVERL | 16 | E/EM | ILPLPGQSV | HB | 2 |
| Bazo4 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | IQAPSAILPLPGQSVVER | 17 | E/EM | ILPLPGQSV | HB | 3 |
| Bazo4 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | NPLVWVHASPEHVVT | 16 | E/EM | WVHASPEHV | HB | 1 |
| Bazo4 | Q8ND23 | Leucine-rich repeat-containing protein 16B | LQQGLVTSSAEQM | 13 | N | LVTSSAEQM | HB | 1 |
| Bazo4 | Q8ND23 | Leucine-rich repeat-containing protein 16B | LQQGLVTSSAEQML | 14 | N | LVTSSAEQM | HB | 1 |
| Bazo4 | Q8N423 | Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily B member 2 | QPEDGVEMDTRAAASEAPQ | 19 | M | VEMDTRAAA | HB | 1 |
| Bazo4 | Q9UHB6 | LIM domain and actin-binding protein 1 | FTTQNQKSDV | 11 | C | FTTQNQKSQ | LB | 4 |
| Bazo4 | Q86X29 | Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor | APSTYAHLSPAKTPPPP | 17 | E/EM | YAHLSPAKT | HB | 2 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | AISDYVFNTASLVYH | 15 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 2 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | AISDYVFNTASLVYHE | 16 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 1 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | AISDYVFNTASLVYHEE | 17 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 4 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | AISDYVFNTASLVYHEEG | 18 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 4 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | ISDYVFNTASLVYH | 14 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 1 |
| Bazo4 | P18428 | Lipopolysaccharide-binding protein | ISDYVFNTASLVYHEE | 16 | E/EM | YVFNTASLV/YVFNTASLV | HB | 3 |
| Bazo4 | P10253 | Lysosomal alpha-glucosidase | LPSQYITGLAEHLSPL | 16 | Lis/End | YITGLAEHL | HB | 2 |
| Bazo4 | P10619 | Lysosomal protective protein | AGIYIPLAVLVMQDP | 16 | Lis/End | YIPLAVLV | HB | 1 |
| Bazo4 | P10619 | Lysosomal protective protein | AGIYIPLAVLVMQDPS | 17 | Lis/End | YIPLAVLV | HB | 6 |
| Bazo4 | P11226 | Mannose-binding protein C | TEGQFVDLTGNRLTYT | 16 | E/EM | FVDLTGNRL | HB | 3 |
| Bazo4 | P46821 | Microtubule-associated protein 1B | AKDENERASVSPMD | 14 | C | DENERASVS | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | DTRDADFNGTKASE | 14 | C | ADFNGTKA | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | GKADGAEAKPAE | 12 | C | ADGAEAKPA | LB | 4 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | NADGSEEETDTRDADFN | 17 | C | DGSEEETDT | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | FVDKNFINSVAQAQAD | 15 | C | FINSVAQA/FINSVAQA | IB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | VDKNFINSVAQAQAD | 14 | C | FINSVAQA/FINSVAQA | IB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | IADTAYRSM LQ | 11 | C | IADTAYRSM | LB | 4 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | IEKPAGPPGILAL | 13 | C | IEKPAGPPG | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | IEKPAGPPGILALDDEE | 17 | C | IEKPAGPPG | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | GSEEETDTRDADFNGTKA | 18 | C | TRDADFNGT | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | GSEEETDTRDADFNGTKASE | 20 | C | TRDADFNGT | LB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|------------------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|
| Bazo4 | P35749 | Myosin | NADGSEETDTRDADFNGTK | 20 | C | TRDADFNGT | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | NADGSEETDTRDADFNGTKASE | 23 | C | TRDADFNGT | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | SEEETDTRDADFNGTKASE | 19 | C | TRDADFNGT | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | VADLWKDVDR | 10 | C | VADLWKDVD | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | EEVDGKADGAEAKPAE | 16 | C | VDGKADGAE | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | GSDEEVDGKADGAEAKPAE | 19 | C | VDGKADGAE | LB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | SDEEVDGKADGAEAKPAE | 18 | C | VDGKADGAE | LB | 3 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | VDGKADGAEAKPAE | 14 | C | VDGKADGAE | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | WKDVRRIIGLDQ | 12 | C | VDRRIIGLDQ | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | DDDTESKTSVDVNETQPPQSE | 20 | C | VNETQPPQS | LB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | FCVVINPYKNLPIYSEE | 17 | C | VVINPYKNL | HB | 1 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | VVINPYKNLPIYSEE | 15 | C | VVINPYKNL | HB | 2 |
| Bazo4 | P35749 | Myosin | INPYKNLPIYSEE | 13 | C | YKNLPIYSE | IB | 1 |
| Bazo4 | P12829 | Myosin light chain 4 | RALGQNPTNAEVL | 13 | C | LGQNPTNAE | LB | 2 |
| Bazo4 | P60660 | Myosin light polypeptide 6 | EAFVRHILSG | 10 | C | EAFVRHILS | LB | 9 |
| Bazo4 | P60660 | Myosin light polypeptide 6 | TVAKNKDQGTIED | 13 | C | VAKNKDQGT | LB | 1 |
| Bazo4 | P60660 | Myosin light polypeptide 6 | VTLGKEMTEEE | 11 | C | VTLGKEMTE | NA | 2 |
| Bazo4 | P60660 | Myosin light polypeptide 6 | YEAQVRHILSG | 11 | C | YEAQVRHIL | NA | 1 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | DEEATGTIQEDY | 12 | C | ATGTIQEDY | LB | 1 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | DEEATGTIQEDYL | 13 | C | ATGTIQEDY | LB | 1 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | DEEATGTIQEDYLREL | 16 | C | IQEDYLREL | NA | 1 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | FGEKLNKTDPELVIRNAF | 18 | C | LNGTDPEDV | LB | 2 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | LTTMGDRFTDE | 11 | C | LTTMGDRFT | LB | 1 |
| Bazo4 | P19105 | Myosin regulatory light chain 12A | TTMGDRFTDE | 10 | C | TTMGDRFTD | LB | 1 |
| Bazo4 | P24844 | Myosin regulatory light polypeptide 9 | DEEASGFIHEDHL | 13 | C | SGFIHEDHL | LB | 1 |
| Bazo4 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGP | 16 | M | YNPLRGVA/LRGSVAPGP | HB | 1 |
| Bazo4 | P13796 | Plastin-2 | IDAIQPGSINYDLLK | 15 | M | IQPGSINYD | IB | 1 |
| Bazo4 | P13796 | Plastin-2 | IDAIQPGSINYDLLKTEN | 18 | M | IQPGSINYD | NA | 2 |
| Bazo4 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | KYVPAIAHLIHS | 12 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 3 |
| Bazo4 | Q6AWC2 | Protein WWC2 | PEDSSCTEDLSSC | 13 | N | SCTEDLSSC | LB | 1 |
| Bazo4 | P46940 | Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 | FKLGLAPQIQDL | 12 | M | FKLGLAPQI | HB | 5 |
| Bazo4 | P46940 | Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 | LFKGLAPQIQDL | 13 | M | FKLGLAPQI | HB | 2 |
| Bazo4 | P46940 | Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1 | YLFKGLAPQIQDL | 14 | M | FKLGLAPQI | HB | 1 |
| Bazo4 | Q13576 | Ras GTPase-activating-like protein IQGAP2 | FKLGIAPQIQDL | 12 | C | FKLGIAPQI | HB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|--|-----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Bazo4 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVVVTRLTL | 20 | C | VVTDPKAPN | HB | 1 |
| Bazo4 | P02810 | Salivary acidic proline-rich phosphoprotein 1/2 | GRPQGPPQGGHQQ | 14 | E/EM | GRPQGPPQQ | LB | 1 |
| Bazo4 | O43464 | Serine protease HTRA2, mitochondrial | AVSPSPASPRSQYN | 15 | mit | VSPSPASP | LB | 1 |
| Bazo4 | P02768 | Serum albumin | LGEYKFQNALLVRYT | 15 | E/EM | YKFQNALLV | HB | 1 |
| Bazo4 | Q9Y6L6 | Solute carrier organic anion transporter family member 1B1 | RPKLGIGCFIM | 12 | M | LIGIGCFIM/LIGIGCFIM | HB | 1 |
| Bazo4 | Q01082 | Spectrin beta chain, brain 1 | ISVETEDNKEK | 11 | C | VETEDNKEK | LB | 1 |
| Bazo4 | P50443 | Sulfate transporter | ILGDVMSGLIVGILLV | 16 | M | VMSGLIVGI | HB | 1 |
| Bazo4 | O00560 | Syntenin-1 | VDKVIQAQTAFSANPA | 16 | M | IQAQTAFSA/VIQAQTAFS | HB | 1 |
| Bazo4 | O00560 | Syntenin-1 | VDKVIQAQTAFSANPAN | 17 | M | IQAQTAFSA/VIQAQTAFS | HB | 1 |
| Bazo4 | O00560 | Syntenin-1 | VDKVIQAQTAFSANPANPA | 19 | M | IQAQTAFSA/VIQAQTAFS | HB | 1 |
| Bazo4 | O00560 | Syntenin-1 | ITSIVKDSSAARNG | 14 | M | IVKDSSAAR | HB | 2 |
| Bazo4 | Q08EQ4 | Thymosin beta-4-like protein 1 | NPLPSKETIEQ | 11 | C | LPSKETIEQ | LB | 1 |
| Bazo4 | O60602 | Toll-like receptor 5 | QNRFSSCSGDQTPSENPSLE | 20 | M | FSSCSGDQT | LB | 1 |
| Bazo4 | Q02446 | Transcription factor Sp4 | LQQGQQTSDQE | 11 | N | LQQGQQTSD | LB | 1 |
| Bazo4 | Q8WVY7 | Ubiquitin-like domain-containing CTD phosphatase 1 | LKVKGKPAENDVKLGALKLKP | 21 | N | VKGKPAEND | IB | 1 |
| Bazo4 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | STQTLVNVVAPRDTT | 15 | M | YVNVVAPRDT | HB | 2 |
| Bazo4 | P19320 | Vascular cell adhesion protein 1 | STQTLVNVVAPRDTTV | 16 | M | YVNVVAPRDT | HB | 1 |
| Bazo4 | P18206 | Vinculin | GSSPVAMQKAQQVSQG | 16 | C | VAMQKAQQV | HB | 1 |
| Bazo4 | P18206 | Vinculin | SSPVAMQKAQQVSQG | 15 | C | VAMQKAQQV | HB | 2 |
| Bazo4 | P04275 | von Willebrand factor | DAAQLRILAGPAGDSN | 16 | E/EM | LRILAGPAG/LRILAGPAG | HB | 1 |
| Bazo4 | Q9Y279 | V-set and immunoglobulin domain-containing protein 4 | LSTLEMDDRSHYT | 13 | E/EM | LEMDDRSHY | HB | 1 |
| Bazo4 | Q05516 | Zinc finger and BTB domain-containing protein 16 | KHSSEESGYAS | 11 | N | SSEESGYAS | LB | 1 |

M^a: muestra de bazo; Ac.Number: número de acceso de Swiss-prot; Proteína: nombre de la proteína de la que deriva la secuencia obtenida; Péptido: secuencia peptídica.

T^b: número de aminoácidos. L^c: localización celular de la proteína; Core: secuencia de unión a HLA-DR asignada; B^d: predicción de afinidad a HLA-DR; R^e: número de secuencias idénticas obtenidas en la secuenciación.

Anexo 3.1. Tabla de las secuencias peptídicas asociadas a HLA-DR obtenidas de las muestras de timo

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|---------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo 1 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | 18 | ER | AGPPPTGEE | LB | 3 |
| Timo 1 | P10696 | Alkaline phosphatase, placental-like | SPEYRQQSAVPLDGE | 15 | M | YRQQSAVPL | HB | 1 |
| Timo 1 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | AHNNYQAQSAVPLRH | 15 | M | YQAQSAVPL | HB | 4 |
| Timo 1 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | AHNNYQAQSAVPLRHE | 16 | M | YQAQSAVPL | HB | 2 |
| Timo 1 | P05186 | Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme | AHNNYQAQSAVPLRHET | 17 | M | YQAQSAVPL | HB | 8 |
| Timo 1 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEA | 13 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 4 |
| Timo 1 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEAA | 14 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 5 |
| Timo 1 | P15144 | Aminopeptidase N | INDAFNLASAHKVPVT | 16 | M | FNLASAHKV | HB | 4 |
| Timo 1 | P58335 | Anthrax toxin receptor 2 | DLYFVLDKSGSVA | 13 | M | FVLDKSGSV/FVLDKSGSV | HB | 2 |
| Timo 1 | P58335 | Anthrax toxin receptor 2 | DLYFVLDKSGSVAN | 14 | M | FVLDKSGSV/FVLDKSGSV | HB | 2 |
| Timo 1 | P12830 | Cadherin-1 | GKVFYSITGQGADT | 14 | M | FYSITGQGA | HB | 1 |
| Timo 1 | Q9UQC9 | Calcium-activated chloride channel regulator 2 | DEYNNDKPFYIN | 12 | M | YNNDKPFYI | HB | 2 |
| Timo 1 | Q9UQC9 | Calcium-activated chloride channel regulator 2 | DEYNNDKPFYING | 13 | M | YNNDKPFYI | HB | 1 |
| Timo 1 | P27824 | Calnexin | KPDDWDEDAPAKIPD | 15 | ER | WDEDAPAKI | LB | 1 |
| Timo 1 | P27824 | Calnexin | KPDDWDEDAPAKIPDE | 16 | ER | WDEDAPAKI | LB | 4 |
| Timo 1 | P07384 | Calpain-1 catalytic subunit | VPELVGQPAVHLKR | 15 | C | LVGQPAVHL | HB | 1 |
| Timo 1 | P27797 | Calreticulin | GGGVVLFNPSLDQ | 14 | ER | YVKLFPNSL | HB | 1 |
| Timo 1 | P25774 | Cathepsin S | TGKLVLSAQNLDV | 14 | Lis/End | LVLSAQNLD | HB | 1 |
| Timo 1 | Q02246 | Contactin-2 | VGGNLMVIMNPTKAQDAG | 17 | TRA | LVIMNPTKA | HB | 1 |
| Timo 1 | P02741 | C-reactive protein | KESDTSYVSLKAPLTKPL | 18 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 1 |
| Timo 1 | P02741 | C-reactive protein | SDTSYVSLKAPLTKPLK | 17 | E/EM | YVSLKAPLT | HB | 1 |
| Timo 1 | P12277 | Creatine kinase B-type | DPIIEDRHGGYKPS | 14 | C | IIEDRHGGY | IB | 2 |
| Timo 1 | P12277 | Creatine kinase B-type | DPIIEDRHGGYKPSDE | 16 | C | IIEDRHGGY | IB | 1 |
| Timo 1 | Q13609 | Deoxyribonuclease gamma | SVFDFQKAYKLTEE | 14 | ER | FDQKAYKL | HB | 2 |
| Timo 1 | Q02413 | Desmoglein-1 | VVTGNMGSNKVGDF | 15 | M | VTGNMGNSD | NA | 3 |
| Timo 1 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | ETTQLTADSHPSYHTDG | 17 | M | LTADSHPSY | HB | 2 |
| Timo 1 | P68104 | Elongation factor 1-alpha 1 | IEKFEKEAAEMGKG | 14 | C | IEKFEKEAA | IB | 5 |
| Timo 1 | P54851 | Epithelial membrane protein 2 | FQEYSTLQAVQATM | 14 | M | YSTLQAVQA | HB | 1 |
| Timo 1 | P09382 | Galectin-1 | GEVAPDAKSFVLN | 13 | E/EM | VAPDAKSFV | HB | 3 |
| Timo 1 | P09382 | Galectin-1 | VRGEVAPDAKSFVLN | 15 | E/EM | VAPDAKSFV | HB | 1 |
| Timo 1 | Q8N6F7 | Germinal center B-cell-expressed transcript 2 protein | SPEDEYELLMPHRIS | 15 | C | YELLMPHRI | HB | 3 |
| Timo 1 | Q8N6F7 | Germinal center B-cell-expressed transcript 2 protein | SPEDEYELLMPHRISS | 16 | C | YELLMPHRI | HB | 7 |
| Timo 1 | Q8NBJ4 | Golgi membrane protein 1 | SSHNFQLESVNLKQDE | 17 | G | FQLESVNLK | HB | 1 |
| Timo 1 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | TAEILELAGNAAR | 13 | N | ILELAGNAA | HB | 1 |
| Timo 1 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | TAEILELAGNAARDN | 15 | N | ILELAGNAA | HB | 3 |
| Timo 1 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | VLEYLTAIEILELAGNAAR | 18 | N | ILELAGNAA | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|---|------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo 1 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDKKETVWH | 12 | M | VLDLKKETV | HB | 16 |
| Timo 1 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | DIVADHVASYGVN | 13 | M | IVADHVASY | HB | 1 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ANIAVDKANLEIM | 13 | M | IAVDKANLE | IB | 2 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ALANIAVDKANLEIM | 15 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 1 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ALANIAVDKANLEIMT | 16 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 3 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEI | 13 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 3 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | 14 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 6 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIMT | 15 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 4 |
| Timo 1 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | VPPEVTVLTNSPVE | 14 | M | VTVLTNSPV | IB | 2 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLNMNSLRAEDT | 15 | E/EM | YLNMNSLRA | HB | 2 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLNMNSLRAEDTA | 16 | E/EM | YLNMNSLRA | HB | 2 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTVYLQMBSLRAED | 14 | E/EM | YLQMBSLRA | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTVYLQMBSLRAEDT | 15 | E/EM | YLQMBSLRA | HB | 5 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | TVYLQMBSLRAED | 13 | E/EM | YLQMBSLRA | HB | 4 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | TVYLQMBSLRAEDT | 14 | E/EM | YLQMBSLRA | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTLYLQMNSLRAEBT | 15 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 2 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLQMNSLRAED | 14 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 3 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLQMNSLRAEDT | 15 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 2 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLQMNSLRAEDTA | 16 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | TLYLQMNSLRAED | 13 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | TLYLQMNSLRAEDT | 14 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NSLYLQMNSLRAVEDT | 15 | E/EM | YLQMNSLRV | HB | 1 |
| Timo 1 | Ig kappa | Ig kappa chain C region | KVQWKVDNALQSG | 13 | E/EM | VQWKVDNAL/WKVDNALQS | IB | 1 |
| Timo 1 | Ig kappa | Ig kappa chain C region | KVQWKVDNALQSGN | 14 | E/EM | VQWKVDNAL/WKVDNALQS | IB | 2 |
| Timo 1 | Q9Y6R7 | IgGfC-binding protein | ASVDLKNTGREE | 12 | E/EM | VDLKNTGRE | LB | 2 |
| Timo 1 | P13612 | Integrin alpha-4 | TPIQIEAAYHLGPH | 14 | M | IQIEAAYHL | HB | 6 |
| Timo 1 | P11215 | Integrin alpha-M | GQSVVQLQGSRVVVG | 15 | M | VVQLQGSRV | HB | 1 |
| Timo 1 | P05107 | Integrin beta-2 | NSNQFQTEVGKQLISG | 16 | M | FQTEVGKQL | HB | 2 |
| Timo 1 | P05107 | Integrin beta-2 | SNQFQTEVGKQLISG | 15 | M | FQTEVGKQL | HB | 1 |
| Timo 1 | Q96RQ9 | L-amino-acid oxidase | LSGLVLLNAPVVAMT | 15 | Lis/End | LVLNAPVV | HB | 3 |
| Timo 1 | Q9UHB6 | LIM domain and actin-binding protein 1 | FTTQNQKSQDVLEL | 13 | C | FTTQNQKSQ | LB | 1 |
| Timo 1 | P33241 | Lymphocyte-specific protein 1 | SLKPSEAPELDED | 13 | M | LKPSEAPEL | HB | 1 |
| Timo 1 | O00754 | Lysosomal alpha-mannosidase | IRATFDPDTGLLME | 14 | Lis/End | FDPDTGLLM/FDPDTGLLM | IB | 3 |
| Timo 1 | O00754 | Lysosomal alpha-mannosidase | TRIVITDGNMQL | 12 | Lis/End | YITDGNMQL | IB | 1 |
| Timo 1 | P07333 | Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor | VDTYVEMRPVSTS | 13 | M | YVEMRPVST | HB | 1 |
| Timo 1 | Q2M385 | Macrophage-expressed gene 1 protein | FSTEFQRMKTLQVKDQ | 16 | M | FSTEFQRMK | HB | 1 |
| Timo 1 | Q14764 | Major vault protein | EKSFFLQPGEQLEQ | 14 | C | FFLQPGEQL | HB | 1 |
| Timo 1 | Q14764 | Major vault protein | GEKSFFLQPGEQLEQ | 15 | C | FFLQPGEQL | HB | 2 |
| Timo 1 | P08571 | Monocyte differentiation antigen CD14 | SGTLVLLQGARGFA | 14 | M | VLLQGARGF | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|-----------------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo 1 | P35579 | Myosin | GKADGAEAKPAE | 12 | C | ADGAEAKPA | LB | 2 |
| Timo 1 | Q96A32 | Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform | VITHGDAKDQE | 11 | E/EM | ITHGDAKDQ | LB | 1 |
| Timo 1 | P15586 | N-acetylglucosamine-6-sulfatase | FEPFFMMIATPAPH | 14 | Lis/End | FFMMIATPA | HB | 4 |
| Timo 1 | P15586 | N-acetylglucosamine-6-sulfatase | FEPFFMMIATPAPHSP | 16 | Lis/End | FFMMIATPA | HB | 1 |
| Timo 1 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGP | 16 | M | YNPLRGVA | HB | 2 |
| Timo 1 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGPL | 17 | M | YNPLRGVA | HB | 2 |
| Timo 1 | P16284 | Platelet endothelial cell adhesion molecule | DAQFEVIKQTIEV | 14 | M | FEVIKQTI | HB | 1 |
| Timo 1 | Q15149 | Plectin-1 | GGLIEPDTGPRVPLD | 15 | C | IEPDTGPRV | HB | 2 |
| Timo 1 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | AGKYVPAIAHLIHS | 14 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 4 |
| Timo 1 | P30101 | Protein disulfide-isomerase A3 | SDVLELTDNDFESRISDTGSAGLML | 25 | ER | ISDTGSAGL | LB | 3 |
| Timo 1 | P30101 | Protein disulfide-isomerase A3 | SDVLELTDNDFESRISDTGSAGLMLVE | 27 | ER | ISDTGSAGL | NA | 1 |
| Timo 1 | Q96M53 | Protein SPATIAL | PIGD PQSNRN PQ | 13 | C | IGDPQSNRN | LB | 1 |
| Timo 1 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | MGTAYMELSSLRSEDT | 16 | E/EM | YMELSSLRS | HB | 2 |
| Timo 1 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | STAYMELSSLRSED | 14 | E/EM | YMELSSLRS | HB | 1 |
| Timo 1 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | STAYMELSSLRSEDT | 15 | E/EM | YMELSSLRS | HB | 1 |
| Timo 1 | P20339 | Ras-related protein Rab-5A | SPNIVIALSGNKADLA | 16 | Lis/End | VIALSGNKA | HB | 1 |
| Timo 1 | P61020 | Ras-related protein Rab-5B | SPSIVIALAGNKADLA | 16 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 1 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | SPNIVIALAGNKAD | 14 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 1 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | SPNIVIALAGNKADL | 15 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 1 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | SPNIVIALAGNKADLA | 16 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 2 |
| Timo 1 | P51149 | Ras-related protein Rab-7a | AKEAINVEQAFQTIA | 15 | Lis/End | VEQAFQTIA | IB | 1 |
| Timo 1 | O75787 | Renin receptor | NEFSILKSPGSV | 12 | M | FSILKSPGS | HB | 1 |
| Timo 1 | O75787 | Renin receptor | NEFSILKSPGSVV | 13 | M | FSILKSPGS | HB | 2 |
| Timo 1 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVV | 14 | C | VVTDPKAPN | HB | 2 |
| Timo 1 | Q9BY78 | RING finger protein 26 | RLATQALS QLHARPSY | 16 | N | LATQALS QL | HB | 1 |
| Timo 1 | P02768 | Serum albumin | EQLGEYKFQNAL | 12 | E/EM | LGEYKFQNA | LB | 1 |
| Timo 1 | P02768 | Serum albumin | LGEYKFQNALVRYT | 15 | E/EM | YKFQNALV | HB | 1 |
| Timo 1 | O75094 | Slit homolog 3 protein | KDSYVELASAKVRPQ | 15 | E/EM | YVELASAKV | HB | 3 |
| Timo 1 | P38646 | Stress-70 protein, mitochondrial | VPAYFNDSQRQAT | 13 | mit | YFNDSQRQA | LB | 1 |
| Timo 1 | O00391 | Sulfhydryl oxidase 1 | ASHFEQMAAASMHHR | 14 | G | FEQMAAASM | HB | 3 |
| Timo 1 | O00560 | Syntenin-1 | ITSIVKDSSAARN | 13 | M | VKDSSAARN/IVKDSSAAR | HB | 2 |
| Timo 1 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NSVIIVDKNGRLVY | 14 | E/EM | IVDKNGRLV/IVDKNGRL | HB | 1 |
| Timo 1 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | IEDTFETLRAAVAAS | 15 | E/EM | FETLRAAVA | HB | 1 |
| Timo 1 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | IEDTFETLRAAVAASG | 16 | E/EM | FETLRAAVA | HB | 2 |
| Timo 1 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | TTLQYTDRTKLRPE | 15 | E/EM | LYTDRTEKL/LYTDRTEKL | HB | 2 |
| Timo 1 | P07437 | Tubulin beta chain | GSDSLQLDRISVYVYNEA | 17 | C | LDRISVYVY/LQLDRISVY | HB | 2 |
| Timo 1 | O14763 | Tumor necrosis factor receptor superfamily member 10B | DNEIKVAKAEAAAG | 13 | M | IKVAKAEAA | IB | 1 |
| Timo 1 | O43914 | TYRO protein tyrosine kinase-binding protein | ESPYQELQGQRSDV | 14 | M | YQELQGQRS | HB | 1 |
| Timo 1 | O43914 | TYRO protein tyrosine kinase-binding protein | SPYQELQGQRSDV | 13 | M | YQELQGQRS | HB | 1 |
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | GSSPVAMQKAQQV SQ | 16 | M | VAMQKAQQV | HB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|------------------------|----------------|----------------|----------------------|----------------|----------------|
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | SPVAMQKAQQVSQ | 13 | M | VAMQKAQQV | HB | 1 |
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | SPVAMQKAQQVSQG | 14 | M | VAMQKAQQV | HB | 2 |
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | SSPVAMQKAQQVSQ | 14 | M | VAMQKAQQV | HB | 2 |
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | SSPVAMQKAQQVSQG | 15 | M | VAMQKAQQV | HB | 3 |
| Timo 1 | P18206 | Vinculin | ISPMVMDAKAVAGNI | 15 | M | VMDAKAVAG/VMVMDAKAVA | HB | 1 |
| Timo 1 | O75348 | V-type proton ATPase subunit G 1 | DIRPEIHENYRING | 14 | M | IRPEIHENY | NA | 1 |
| Timo 2 | P62899 | 60S ribosomal protein L31 | VTYVPVTTFKNLQTVNVNVDEN | 20 | C | FKNLQTVNV | HB | 1 |
| Timo 2 | P11021 | 78 kDa glucose-regulated protein | SAGPPPTGEEDTAEKDEL | 18 | ER | AGPPPTGEE | LB | 1 |
| Timo 2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEA | 13 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 2 |
| Timo 2 | P01009 | Alpha-1-antitrypsin | KAVLTIDEKGTEAA | 14 | E/EM | LTIDEKGTE | HB | 16 |
| Timo 2 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | YVLLAYLTAQPPTS | 15 | E/EM | LAYLTAQPA | HB | 1 |
| Timo 2 | P15514 | Amphiregulin | IPGYIVDDSVRVEQ | 14 | M | YIVDDSVRV/YIVDDSVRV | HB | 1 |
| Timo 2 | P09525 | Annexin A4 | ISQTYQQYGRSLED | 15 | C | YQQYGRSL | HB | 1 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | AAGQFFPEAAQVAYQ | 15 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | AGQFFPEAAQVAYQ | 14 | C | FPEAAQVAY | HB | 3 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | AGQFFPEAAQVAYQM | 15 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | DAAGQFFPEAAQVAYQ | 16 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | DAAGQFFPEAAQVAYQM | 17 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Timo 2 | P08133 | Annexin A6 | GDDDAAGQFFPEAAQVAYQ | 19 | C | FPEAAQVAY | HB | 1 |
| Timo 2 | P05089 | Arginase-1 | INTPLTTTSGNLHGQP | 16 | C | INTPLTTTS | IB | 2 |
| Timo 2 | P13010 | ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 2 | VEIKLNFHFWEIVVQ | 15 | N | LNHFWEIVV | IB | 1 |
| Timo 2 | Q92499 | ATP-dependent RNA helicase DDX1 | LHLGYLPNQL | 10 | N | LHLGYLPNQ | NA | 1 |
| Timo 2 | P40259 | B-cell antigen receptor complex-associated protein beta chain | YEGLDIDQTATYEDI | 15 | M | LDIDQTATY | HB | 1 |
| Timo 2 | P20273 | B-cell receptor CD22 | APEPSTVQILHSPAVEG | 17 | M | VQILHSPAV | HB | 1 |
| Timo 2 | P20273 | B-cell receptor CD22 | APEPSTVQILHSPAVEGSQ | 19 | M | VQILHSPAV | HB | 1 |
| Timo 2 | P22223 | Cadherin-3 | DTKIFYSITGPGADSPPE | 18 | M | FYSITGPGA | HB | 1 |
| Timo 2 | P01258 | Calcitonin | VQDYVQMKASELEQ | 14 | E/EM | YVQMKASEL | HB | 3 |
| Timo 2 | P01258 | Calcitonin | VQDYVQMKASELEQE | 15 | E/EM | YVQMKASEL | HB | 3 |
| Timo 2 | Q9UQC9 | Calcium-activated chloride channel regulator 2 | DEYNNDKPFYING | 13 | M | YNNDKPFYI | HB | 1 |
| Timo 2 | P27824 | Calnexin | KPDDWDEDAPAKIPDE | 16 | ER | WDEDAPAKI | LB | 18 |
| Timo 2 | P27824 | Calnexin | KPDDWDEDAPAKIPDEE | 17 | ER | WDEDAPAKI | LB | 1 |
| Timo 2 | P27797 | Calreticulin | GGGYVVKLFPNSLDQ | 14 | ER | YVKLFPNSL | HB | 2 |
| Timo 2 | P09668 | Cathepsin H | ESAIATGKMLSLA | 15 | Lis/End | IAIATGKML | HB | 1 |
| Timo 2 | P25774 | Cathepsin S | TGKLVLSAQNLVD | 14 | Lis/End | LVLSAQNL | HB | 3 |
| Timo 2 | P11717 | Cation-independent mannose-6-phosphate receptor | DLNPLIKLSGAYLVDDSD | 17 | Lis/End | LIKLSGAYL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9NZZ3 | Charged multivesicular body protein 5 | AQSFNMEQANYTIQ | 15 | Lis/End | FNMEQANYT | HB | 2 |
| Timo 2 | Q9UMD9 | Collagen alpha-1(XVII) chain | DSGKVFTASPASIAATSFS | 19 | M | VFTASPASI | HB | 1 |
| Timo 2 | P09871 | Complement C1s subcomponent | INEYWVLTAHVVE | 14 | E/EM | YWVLTAHV | HB | 1 |
| Timo 2 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILR | 13 | E/EM | YSIITPNIL | HB | 1 |
| Timo 2 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILRLE | 15 | E/EM | YSIITPNIL | HB | 4 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|--|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo 2 | P01024 | Complement C3 | SPMYSIITPNILRLES | 16 | E/EM | YSIITPNIL | HB | 2 |
| Timo 2 | P0COL4 | Complement C4-A | DPDAPLQPVTPLQLFEGR | 18 | E/EM | LQPVTPLQL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q02413 | Desmoglein-1 | VVTGNMGSDKVGDF | 15 | M | VTGNMGSD | NA | 2 |
| Timo 2 | Q9UHL4 | Dipeptidyl-peptidase 2 | YPYPTDFLGPLPANPVK | 17 | Lis/End | YPTDFGLPL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | ETTQLTADSHPSYHTDG | 17 | M | LTADSHPSY | HB | 3 |
| Timo 2 | Q9H3Z4 | DnaJ homolog subfamily C member 5 | TTQLTADSHPSYHTDG | 16 | M | LTADSHPSY | HB | 3 |
| Timo 2 | P68104 | Elongation factor 1-alpha 1 | IEKFEKEAAEMGKG | 14 | C | IEKFEKEAA | IB | 27 |
| Timo 2 | P47813 | Eukaryotic translation initiation factor 1A, X-chromosomal | DDIGDDEDIDDI | 13 | C | IGDDEDID | LB | 1 |
| Timo 2 | P55884 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B | DSVIVVDNVPQVGP | 15 | C | VVDNVPQV/IVVDNVPQV | HB | 2 |
| Timo 2 | P55884 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B | IDSVIVVDNVPQVGP | 16 | C | VVDNVPQV/IVVDNVPQV | HB | 2 |
| Timo 2 | Q8IWU5 | Extracellular sulfatase Sulf-2 | NTDPYQLMNAVNTLDR | 16 | ER | YQLMNAVNT | HB | 1 |
| Timo 2 | Q8IWU5 | Extracellular sulfatase Sulf-2 | TDPYQLMNAVNTLDR | 15 | ER | YQLMNAVNT | HB | 2 |
| Timo 2 | P52907 | F-actin-capping protein subunit alpha-1 | FNEVFNDVRLNNDN | 16 | C | VRLNNDN/VFNDVRLN | HB | 1 |
| Timo 2 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | DSGEGDFLAEGGGVR | 15 | E/EM | FLAEGGGVR | LB | 1 |
| Timo 2 | P02671 | Fibrinogen alpha chain | LGFEVSETESRGSE | 14 | E/EM | FVSETESRG | LB | 1 |
| Timo 2 | P02751 | Fibronectin | DEPQYLDLPSTATSVN | 16 | E/EM | LPSTATSVN | HB | 1 |
| Timo 2 | P09382 | Galectin-1 | GEVAPDAKSFVLN | 13 | E/EM | VAPDAKSFV | HB | 1 |
| Timo 2 | P09382 | Galectin-1 | VRGEVAPDAKSFVLN | 15 | E/EM | VAPDAKSFV | HB | 8 |
| Timo 2 | P15104 | Glutamine synthetase | LNETGDEPFQYKN | 13 | mit | LNETGDEPF | LB | 2 |
| Timo 2 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | DAGAGIALNDH | 11 | C | AGAGIALND | LB | 1 |
| Timo 2 | Q99988 | Growth/differentiation factor 15 | DSNTDLVPAPAVRILTPE | 18 | E/EM | LVPAPAVRI | HB | 1 |
| Timo 2 | P62826 | GTP-binding nuclear protein Ran | APPEVVM DPALAAQYEH | 18 | N | MDPALAAQY/VVMDPALAA | HB | 2 |
| Timo 2 | P31943 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H | QVLQENSSDFQSNIA | 15 | N | VLQENSSDF | LB | 1 |
| Timo 2 | P55795 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2 | FLNSTAGTSGGAYDHSY | 17 | N | LNSTAGTSG | IB | 1 |
| Timo 2 | Q9BUJ2 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 1 | DYGSYSGNTQGGTSTQ | 16 | N | YSGNTQGGT | LB | 4 |
| Timo 2 | Q9BUJ2 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like protein 1 | NYDYGSYSGNTQGGTSTQ | 18 | N | YSGNTQGGT | LB | 1 |
| Timo 2 | P22626 | Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1 | GGGNYGSGNYNDFGNY | 16 | N | YGSGNYNDF | LB | 1 |
| Timo 2 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | ILELAGNAARDN | 12 | N | ILELAGNAA | HB | 1 |
| Timo 2 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | LTAEILELAGNAARDN | 16 | N | ILELAGNAA | HB | 2 |
| Timo 2 | P0C0S8 | Histone H2A type 1 | TAEILELAGNAARDN | 15 | N | ILELAGNAA | HB | 4 |
| Timo 2 | P28068 | HLA class II histocompatibility antigen, DM beta chain | FGVLNSLANVLSQH | 14 | M | FGVLNSLAN | HB | 1 |
| Timo 2 | HLA-II, DM β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | FYVDLKKETVWH | 13 | M | VLDLKKETV | HB | 4 |
| Timo 2 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | VLDLKKETVWH | 11 | M | VLDLKKETV | HB | 4 |
| Timo 2 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLKKETVWH | 12 | M | VLDLKKETV | HB | 49 |
| Timo 2 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVN | 14 | M | IVADHVASY | HB | 3 |
| Timo 2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | ANIAVDKANLEIM | 13 | M | IAVDKANLE | IB | 2 |
| Timo 2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | NIAVDKANLEIM | 12 | M | IAVDKANLE | IB | 1 |
| Timo 2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLE | 12 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | NA | 1 |
| Timo 2 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEI | 13 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 2 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|-------------------|--|----------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo 2 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | 14 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 7 |
| Timo 2 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIMT | 15 | M | LANIAVDKA/IAVDKANLE | IB | 17 |
| Timo 2 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | VPPEVTVLTNNSPVE | 14 | M | VTVLTNNSPV | IB | 1 |
| Timo 2 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | VPPEVTVLTNNSPVEL | 15 | M | VTVLTNNSPV | HB | 1 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLNMMNSLRAEDT | 15 | E/EM | YLNMMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTVYLQMBSLRAEDT | 15 | E/EM | YLMBSLRA | HB | 1 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTLYLQMNSLRAEBT | 15 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 3 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | BTLYLQMNSLRAEBTA | 16 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLQMNSLRAEDT | 15 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 8 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | NTLYLQMNSLRAEDTA | 16 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 2 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | YLQMNSLRAED | 11 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 1 |
| Timo 2 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | YLQMNSLRAEDT | 12 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | 3 |
| Timo 2 | Ig kappa | Ig kappa chain C region | KVQWKVDNALQSG | 13 | E/EM | VQWKVDNAL/WKVDNALQS | IB | 4 |
| Timo 2 | Ig kappa | Ig kappa chain C region | KVQWKVDNALQSGN | 14 | E/EM | VQWKVDNAL/WKVDNALQS | IB | 4 |
| Timo 2 | Q13349 | Integrin alpha-D | DTSVYSQLPGQEAFFM | 15 | M | YSQLPGQEA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q13349 | Integrin alpha-D | DTSVYSQLPGQEAFFMR | 16 | M | YSQLPGQEA | HB | 1 |
| Timo 2 | P11215 | Integrin alpha-M | TPLSAFGNLRPVLAEDA | 17 | M | FGNLRPVLA | HB | 1 |
| Timo 2 | P11215 | Integrin alpha-M | TPLSAFGNLRPVLAEDAQ | 18 | M | FGNLRPVLA | HB | 2 |
| Timo 2 | P11215 | Integrin alpha-M | GFGQSVVQLQGSRVVVGAPQ | 20 | M | VVQLQGSRV | HB | 1 |
| Timo 2 | P05107 | Integrin beta-2 | NSNQFQTEVKGQLISGN | 17 | M | FQTEVKGQL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | NVVFVIDKSGSM | 12 | E/EM | FVIDKSGSM/FVIDKSGSM | IB | 1 |
| Timo 2 | Q14624 | Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | NVVFVIDKSGSMSG | 14 | E/EM | FVIDKSGSM/FVIDKSGSM | IB | 2 |
| Timo 2 | Q13651 | Interleukin-10 receptor alpha chain | EPQFLPDHPQADR | 15 | M | LLPDHPQA/LLPDHPQA | IB | 1 |
| Timo 2 | P07910 | Isoform C1 of Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2 | GSSFDLDYDFQRD | 13 | N | FDLDYDFQR | IB | 1 |
| Timo 2 | Q13753 | Laminin subunit gamma-2 | LDPVYFVAPAKFLGNQ | 16 | E/EM | YFVAPAKFL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | L-amino-acid oxidase | LSGLVLLNAPVVAM | 14 | Lis/End | LVLLNAPVV | HB | 3 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | L-amino-acid oxidase | LSGLVLLNAPVVAMT | 15 | Lis/End | LVLLNAPVV | HB | 4 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | L-amino-acid oxidase | LSGLVLLNAPVVAMTQGPH | 19 | Lis/End | LVLLNAPVV | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96RQ9 | L-amino-acid oxidase | DDVAALHGPVVRQ | 13 | Lis/End | VAALHGPVV | HB | 2 |
| Timo 2 | P10253 | Lysosomal alpha-glucosidase | LPSQYITGLAEHLSP | 15 | Lis/End | YITGLAEHL | HB | 1 |
| Timo 2 | P10253 | Lysosomal alpha-glucosidase | LPSQYITGLAEHLSPL | 16 | Lis/End | YITGLAEHL | HB | 2 |
| Timo 2 | O00754 | Lysosomal alpha-mannosidase | IRATFDPDTGLLME | 14 | Lis/End | FDPDTGLLM/FDPDTGLLM | IB | 2 |
| Timo 2 | Q13571 | Lysosomal-associated transmembrane protein 5 | VVLPYEEALSLPKTPE | 18 | Lis/End | YEEALSLPS | NA | 1 |
| Timo 2 | P07333 | Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor | VDTYVEMRPVSTS | 13 | M | YVEMRPVST | HB | 1 |
| Timo 2 | Q14764 | Major vault protein | GEKSFFLQPGEQLEQ | 15 | C | FFLQPGEQL | HB | 3 |
| Timo 2 | Q9Y5P6 | Mannose-1-phosphate guanyltransferase beta | GPGIVGNVLDPSARIGQN | 19 | mit | VLVDPSARI/VLVDPSARI | HB | 1 |
| Timo 2 | P11226 | Mannose-binding protein C | TEGQFVDLTGNRLTYT | 16 | E/EM | FVDLTGNRL | HB | 1 |
| Timo 2 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGP | 16 | M | YNPLRGSVA | HB | 3 |
| Timo 2 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGPL | 17 | M | YNPLRGSVA | HB | 3 |
| Timo 2 | P46531 | Neurogenic locus notch homolog protein 1 | VPNQYNPLRGSVAPGPLS | 18 | M | YNPLRGSVA | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|------------|---|------------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Timo 2 | P55058 | Phospholipid transfer protein | IDYSLMKDPVASTSN | 15 | E/EM | YSLMKDPVA | HB | 1 |
| Timo 2 | P55058 | Phospholipid transfer protein | VGIDYSLMKDPVASTSN | 17 | E/EM | YSLMKDPVA | HB | 2 |
| Timo 2 | Q15149 | Plectin-1 | TGGLIEPDTGPRVP | 14 | C | IEPDTGPRV | HB | 1 |
| Timo 2 | Q15149 | Plectin-1 | TGGLIEPDTGPRVPLD | 16 | C | IEPDTGPRV | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9H3G5 | Probable serine carboxypeptidase CPVL | KYVPAIAHLIHS | 12 | Lis/End | YVPAIAHLI | HB | 1 |
| Timo 2 | P01189 | Pro-opiomelanocortin | YGGFMTSEKSTPLVT | 16 | E/EM | FMTSEKST | IB | 2 |
| Timo 2 | P41222 | Prostaglandin-H2 D-isomerase | DYDQYALLYSQSGKPG | 17 | ER | YALLYSQGS | HB | 1 |
| Timo 2 | P28066 | Proteasome subunit alpha type-5 | GPQLFHMDPSGTFVQ | 15 | C | FHMDPSGTF/FHMDPSGTF | HB | 2 |
| Timo 2 | Q13796 | Protein Shroom2 | EPGAASFQNDSPQVR | 16 | M | FQNDSPQV/FQNDSPQV | HB | 1 |
| Timo 2 | Q92734 | Protein TFG | YPAQTYTAQTSQPTNYT | 17 | C | YTAQTSQPT | HB | 1 |
| Timo 2 | Q5BJH7 | Protein YIF1B | SPTPHAAFLADPVSNNMAMAYG | 21 | M | LADPVSNNMA/FLADPVSNNM | HB | 1 |
| Timo 2 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | MGTAYMELSSLRSED | 16 | E/EM | YMELSSLR | HB | 1 |
| Timo 2 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | MGTAYMELSSLRSEDTA | 17 | E/EM | YMELSSLR | HB | 2 |
| Timo 2 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | STAYMELSSLRSED | 14 | E/EM | YMELSSLR | HB | 2 |
| Timo 2 | A6NJS3 | Putative V-set and immunoglobulin domain-containing protein | STAYMELSSLRSED | 15 | E/EM | YMELSSLR | HB | 1 |
| Timo 2 | P61106 | Ras-related protein Rab-14 | NPNTVIIIIGNKADLE | 16 | Lis/End | ILIGNKADL/VIIIGNKA | HB | 1 |
| Timo 2 | P20339 | Ras-related protein Rab-5A | SPNIVIALSGNKADL | 15 | Lis/End | VIALSGNKA | HB | 1 |
| Timo 2 | P20339 | Ras-related protein Rab-5A | SPNIVIALSGNKADLA | 16 | Lis/End | VIALSGNKA | HB | 2 |
| Timo 2 | P61020 | Ras-related protein Rab-5B | SPSIVIALAGNKADL | 15 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 2 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | SPNIVIALAGNKADL | 15 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 2 | P51148 | Ras-related protein Rab-5C | SPNIVIALAGNKADLA | 16 | Lis/End | VIALAGNKA | HB | 1 |
| Timo 2 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVV | 14 | C | VVTDPKAPN | HB | 1 |
| Timo 2 | P52566 | Rho GDP-dissociation inhibitor 2 | DGPVVTDPKAPNVVVT | 16 | C | VVTDPKAPN | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96PK6 | RNA-binding protein 14 | AAAYASQPAAYAAQA | 15 | N | YASQPAAYA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96PK6 | RNA-binding protein 14 | TAAAYASQPAAYAAQA | 16 | N | YASQPAAYA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96PK6 | RNA-binding protein 14 | QPSASYNAQSAPYAAQQ | 17 | N | YNAQSAPYA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9UIB8 | SLAM family member 5 | DAGDYKADINTQADPY | 16 | M | YKADINTQA | NA | 1 |
| Timo 2 | Q9UIB8 | SLAM family member 5 | DAGDYKADINTQADPYT | 17 | M | YKADINTQA | NA | 1 |
| Timo 2 | P38646 | Stress-70 protein, mitochondrial | VPAYFNDSQRQA | 12 | mit | YFNDSQRQA | LB | 1 |
| Timo 2 | P38646 | Stress-70 protein, mitochondrial | VPAYFNDSQRQAT | 13 | mit | YFNDSQRQA | LB | 2 |
| Timo 2 | Q96L08 | Sushi domain-containing protein 3 | LPPQATFQVLRGNGAS | 16 | M | FQVLRGNGA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96L08 | Sushi domain-containing protein 3 | LPPQATFQVLRGNGASVG | 18 | M | FQVLRGNGA | HB | 1 |
| Timo 2 | O00560 | Syntenin-1 | NPANPAILSEASAPIPH | 17 | M | ILSEASAPI/ILSEASAPI | HB | 1 |
| Timo 2 | O00560 | Syntenin-1 | NPANPAILSEASAPIPHDG | 19 | M | ILSEASAPI/ILSEASAPI | HB | 1 |
| Timo 2 | O00560 | Syntenin-1 | VDKVIQAQTAFSANPA | 16 | M | IQAQTAFSA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9NYK1 | Toll-like receptor 7 | FSGLTYLKSLYLDGNQ | 16 | Lis/End | LTYLKSLYL | HB | 1 |
| Timo 2 | Q13263 | Transcription intermediary factor 1-beta | DYNLIVIERGAAAAATGQPG | 20 | N | IVIERGAAA/IVIERGAAA | HB | 1 |
| Timo 2 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | SVIIVDKNGRLV | 12 | E/EM | IVDKNGRLV/IIVDKNGRL | HB | 10 |
| Timo 2 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | TTQLYDRTEKLRPE | 15 | E/EM | LYDRTEKL/LYDRTEKL | HB | 2 |
| Timo 2 | P07437 | Tubulin beta chain | GDSLQLDRISVYYNE | 16 | C | LDRISVYYN/LQLDRISVY | HB | 1 |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|---------------------------|--|--------------------|----------------|----------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Timo 2 | P07437 | Tubulin beta chain | GSDSLQLDRISVYYNEA | 17 | C | LDRISVYYN/LQLDRISVY | HB | 3 |
| Timo 2 | P68371 | Tubulin beta-2C chain | MNTFSVVPSPKVS | 15 | C | FSVVPSPKV | HB | 2 |
| Timo 2 | O43914 | TYRO protein tyrosine kinase-binding protein | SPYQELQGQRSD | 12 | M | YQELQGQRS | HB | 1 |
| Timo 2 | O43914 | TYRO protein tyrosine kinase-binding protein | SPYQELQGQRSDV | 13 | M | YQELQGQRS | HB | 2 |
| Timo 2 | O43914 | TYRO protein tyrosine kinase-binding protein | SPYQELQGQRSDVY | 14 | M | YQELQGQRS | HB | 1 |
| Timo 2 | Q13308 | Tyrosine-protein kinase-like 7 | ADGSSLPEWVTDNAGTLH | 18 | M | WVTDNAGTL | HB | 1 |
| Timo 2 | P68036 | Ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3 | WQGLIVPDNPPYDKGAF | 17 | C | LIVPDNPPY | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9NU53 | Uncharacterized protein C6orf72 | EEVVEIDGKQVQQ | 13 | M | VVEIDGKQV | HB | 1 |
| Timo 2 | P18206 | Vinculin | GSSPVAMQKAQQVSQG | 16 | M | VAMQKAQQV | HB | 2 |
| Timo 2 | P18206 | Vinculin | SSPVAMQKAQQVSQ | 14 | M | VAMQKAQQV | HB | 1 |
| Timo 2 | P18206 | Vinculin | SSPVAMQKAQQVSQG | 15 | M | VAMQKAQQV | HB | 4 |
| Timo 2 | P18206 | Vinculin | ISPMVMDAKAVAGNI | 15 | M | VMDAKAVAG/MVMDAKAVA | HB | 1 |
| Timo 2 | P04004 | Vitronectin | GGPSLTSDLQAQSKGNPE | 18 | E/EM | LTSDLQAQS | HB | 1 |
| Timo 2 | Q9NY47 | Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-2 | EVDANLMLALYNNNSFY | 16 | M | MLALYNNNSF/MLALYNNNSF | IB | 1 |
| Timo 2 | Q8N3Z6 | Zinc finger CCHC domain-containing protein 7 | QSNELVDKCKSDIEK | 16 | N | VDKCKSDI | LB | 1 |
| Timo 2 | Q9H2Y7 | Zinc finger protein 106 homolog | FEQLESQTTKQADTAT | 16 | N | LESQTTKQA | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96KR1 | Zinc finger RNA-binding protein | APAVAYDSKQYYQQPT | 16 | N | VAYDSKQYY | HB | 1 |
| Timo 2 | Q96KR1 | Zinc finger RNA-binding protein | TAPAVAYDSKQYYQQPT | 17 | N | VAYDSKQYY | HB | 1 |
| Timo 2 | P63104 | 14-3-3 protein zeta/delta | QEAFEISKEMQPT | 14 | C | FEISKEMQ | NA | ND |
| Timo 3 | P11912 | B-cell antigen receptor complex-associated protein alpha-chain (CD79a) | YEDISRGLQGTY | 12 | M | ISRGLQGTY | IB | ND |
| Timo 3 | P11912 | B-cell antigen receptor complex-associated protein alpha-chain (CD79a) | YEDISRGLQG | 10 | M | YEDISRGLQ | IB | ND |
| Timo 3 | P25774 | Cathepsin S | LDHHWHLWKKTYGKQ | 15 | Lis/End | WHLWKKTYG | IB | ND |
| Timo 3 | P00450 | Ceruloplasmin | GDKVYVHLKNLASRPY | 16 | E/EM | YVHLKNLAS | HB | ND |
| Timo 3 | P02745 | Complement C1q subcomponent subunit A | QPRPAFSAIRRNPP | 14 | E/EM | FAIRRNPP | NA | ND |
| Timo 3 | P02745 | Complement C1q subcomponent subunit A | QPRPAFSAIRRNPPM | 15 | E/EM | FAIRRNPP | NA | ND |
| Timo 3 | Q14314 | Fibroleukin | DCSDYYAIGKRSS | 15 | E/EM | YYAIGKRSS | HB | ND |
| Timo 3 | P17900 | Ganglioside GM2 activator | TGNYRIESVLSSG | 14 | Lis/End | YRIESVLSS | IB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | FTTMEKAGAH | 11 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | GVFTTMEKAGAH | 12 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | GVFTTMEKAGAH | 13 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | GVFTTMEKAGAH | 14 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | STGVFTTMEKAGAH | 14 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | STGVFTTMEKAGAH | 15 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | STGVFTTMEKAGAH | 16 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | TGVFTTMEKAGAH | 13 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | TGVFTTMEKAGAH | 14 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | TGVFTTMEKAGAH | 15 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | P04406 | Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase | TGVFTTMEKAGAH | 16 | C | FTTMEKAGA | HB | ND |
| Timo 3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | AAFVQTHRPTGEF | 13 | M | FVQTHRPTG | HB | ND |
| Timo 3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | AFVQTHRPTGEF | 12 | M | FVQTHRPTG | HB | ND |
| Timo 3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | FVQTHRPTGEF | 11 | M | FVQTHRPTG | HB | ND |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|---|-------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | FVQTHRPTGFM | 12 | M | FVQTHRPTG | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YAAFVQTHRPTGEF | 14 | M | FVQTHRPTG | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | VLDLKKETVWHLE | 13 | M | VLDLKKETV | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLKKETVWH | 12 | M | VLDLKKETV/YVDLKKET | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLKKETVWHLE | 14 | M | VLDLKKETV/YVDLKKET | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DQ α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DQ alpha chain | EDIVADHVASYGVN | 14 | M | IVADHVASY | HB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIMT | 15 | M | IAVDKANLE | IB | ND |
| Timo3 | HLA-II, DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | YLNPDQSGEF | 10 | M | LNPQSGEF | HB | ND |
| Timo3 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | YLQMNSLRAED | 11 | E/EM | WLREGKQVG | HB | ND |
| Timo3 | Ig heavy | Ig heavy chain V-III | YLQMNSLRAEDT | 12 | E/EM | YLQMNSLRA | HB | ND |
| Timo3 | Ig mu | Ig mu chain C region | IQVSWLREGKQVGSG | 15 | E/EM | YLQMNSLRA | IB | ND |
| Timo3 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QAVLHMEQRKQQQ | 13 | M | LHMEQRKQQ | IB | ND |
| Timo3 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QAVLHMEQRKQQQQ | 14 | M | LHMEQRKQQ | IB | ND |
| Timo3 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QAVLHMEQRKQQQQQ | 15 | M | LHMEQRKQQ | IB | ND |
| Timo3 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QQAVLHMEQRKQQQQQ | 17 | M | LHMEQRKQQ | IB | ND |
| Timo3 | P04279 | Semenogelin-1 | QTEKLVAGKSQIQ | 13 | TRA | LVAGKSQIQ | LB | ND |
| Timo3 | P02768 | Serum albumin | STPTLVEVSRNLGKVG | 16 | E/EM | LVEVSRNLG/LVEVSRNLG | IB | ND |
| Timo3 | P02768 | Serum albumin | STPTLVEVSRNLGKVG | 17 | E/EM | LVEVSRNLG/LVEVSRNLG | IB | ND |
| Timo3 | P02768 | Serum albumin | TPTLVEVSRNLGKVG | 15 | E/EM | LVEVSRNLG/LVEVSRNLG | IB | ND |
| Timo3 | P02768 | Serum albumin | TPTLVEVSRNLGKVGSK | 17 | E/EM | LVEVSRNLG/LVEVSRNLG | IB | ND |
| Timo3 | O00585 | Small inducible cytokine A21 (CCL21) | AILFLPRKRSQA | 12 | E/EM | ILFLPRKRS | HB | ND |
| Timo3 | O00585 | Small inducible cytokine A21 (CCL21) | IPAILFLPRKRSQ | 13 | E/EM | ILFLPRKRS | HB | ND |
| Timo3 | O00585 | Small inducible cytokine A21 (CCL21) | IPAILFLPRKRSQA | 14 | E/EM | ILFLPRKRS | HB | ND |
| Timo3 | O00585 | Small inducible cytokine A21 (CCL21) | IPAILFLPRKRSQAE | 15 | E/EM | ILFLPRKRS | HB | ND |
| Timo3 | O00585 | Small inducible cytokine A21 (CCL21) | PAIFLPRKRSQ | 12 | E/EM | ILFLPRKRS | HB | ND |
| Timo3 | P00441 | Superoxide dismutase | AGPHFNPLSRKHGGPK | 16 | C | FNPLSRKHG | HB | ND |
| Timo3 | P00441 | Superoxide dismutase | GPHFNPLSRKHGGPK | 15 | C | FNPLSRKHG | HB | ND |
| Timo3 | P00441 | Superoxide dismutase | HFNPLSRKHGGPK | 13 | C | FNPLSRKHG | HB | ND |
| Timo3 | P00441 | Superoxide dismutase | PHFNPLSRKHGGPK | 14 | C | FNPLSRKHG | HB | ND |
| Timo3 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | IIVDKNGRLV | 10 | E/EM | IIVDKNGRL | HB | ND |
| Timo3 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NSVIIVDKNGRLV | 13 | E/EM | IIVDKNGRL | HB | ND |
| Timo3 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | SVIIVDKNGRLV | 12 | E/EM | IIVDKNGRL | HB | ND |
| Timo3 | P28908 | Tumor necrosis factor receptor superfamily member 8 (CD30) | YYLDEAGRCT | 10 | M | YYLDEAGRC | LB | ND |
| Timo4 | P60709 | Actin | AEREIVRDIKEKL | 13 | C | IVRDIKEKL | HB | ND |
| Timo4 | P33151 | Cadherin-5 | GKEYFAIDNSGRIIT | 15 | M | FAIDNSGRI/IDNSGRIIT | IB | ND |
| Timo4 | P10644 | cAMP-dependent protein kinase type I-alpha regulatory subunit | RNIQQYNSFVLSV | 14 | C | IQQYNSFVS | HB | ND |
| Timo4 | Q92187 | CMP-N-acetylneuraminase-poly-alpha-2,8-sialyltransferase | MPLEFKTLNVLHNRGAL | 17 | G | MPLEFKTLN | IB | ND |
| Timo4 | P31785 | Cytokine receptor common gamma chain | QKKEIHLYQTFVVQ | 14 | M | IHLYQTFVV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | EMFYVDLKKETVWH | 15 | M | VLDLKKETV | HB | ND |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------|---|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | EQFYVDLDKKETVWH | 15 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | FYVDLDKKETVWH | 13 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | MFYVDLDKKETVWH | 14 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | QFYVDLDKKETVWH | 14 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | VDLDKKETVWHLE | 13 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDKKETVWH | 12 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDKKETVWHL | 13 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP alpha chain | YVDLDKKETVWHLE | 14 | M | VDLDKKETV | HB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP beta chain | DVGEFRAVTELGSRPD | 15 | M | VGEFRAVTE | LB | ND |
| Timo4 | HLA-II, DP β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP beta chain | VGEFRAVTELGSRPD | 14 | M | VGEFRAVTE | LB | ND |
| Timo4 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIM | 14 | M | IAVDKANLE | IB | ND |
| Timo4 | HLA-II,DR α chain | HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain | LANIAVDKANLEIMT | 15 | M | IAVDKANLE | IB | ND |
| Timo4 | Q6PJ95 | IGHG1 protein | KQTIIIPDYRNMIG | 13 | E/EM | IIPDYRNMI/IPDYRNMIG | HB | ND |
| Timo4 | Q6PJ95 | IGHG1 protein | KQTIIIPDYRNMIGQG | 15 | E/EM | IIPDYRNMI/IPDYRNMIG | HB | ND |
| Timo4 | P17936 | Insulin-like growth factor-binding protein 3 | HSKIIIIKKGHAKDS | 15 | E/EM | IIIIKKGHA/IIIIKKGHA | HB | ND |
| Timo4 | P17936 | Insulin-like growth factor-binding protein 3 | HSKIIIIKKGHAKDSQ | 16 | E/EM | IIIIKKGHA/IIIIKKGHA | HB | ND |
| Timo4 | P10124 | Serglycin | KGPMFELLPGESNKIPR | 17 | E/EM | LPGESNKIP | HB | ND |
| Timo4 | P53041 | Serine/threonine-protein phosphatase 5 | DATRAIELDKKYKGY | 17 | N | IELDKKYK | HB | ND |
| Timo4 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKD | 15 | E/EM | FYYAVAVVK | LB | ND |
| Timo4 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKDSG | 17 | E/EM | VAVVKKDSG | IB | ND |
| Timo4 | P02787 | Serotransferrin | EDPQTFYYAVAVVKKDSG | 18 | E/EM | VAVVKKDSG | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | PTLVEVSRNLGKVG | 14 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | PTLVEVSRNLGKVG | 15 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | STPTLVEVSRNLGKVG | 17 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | TPTLVEVSRNLGKVG | 15 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | TPTLVEVSRNLGKVG | 16 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | TPTLVEVSRNLGKVGSK | 17 | E/EM | LVEVSRNLG/VEVSRNLGK | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | NALLVRYTKKVPQVS | 15 | E/EM | VRYTKKVPQ/LVRYTKKVP | IB | ND |
| Timo4 | P02768 | Serum albumin | NALLVRYTKKVPQVSTPT | 18 | E/EM | VRYTKKVPQ/LVRYTKKVP | IB | ND |
| Timo4 | Q16594 | Transcription initiation factor TFIID subunit 9 | TPLPLIKPYSGPRLPPD | 17 | N | LPLIKPYSG | HB | ND |
| Timo4 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NSVIIVDKNGRLVY | 14 | E/EM | IIVDKNGRL | IB | ND |
| Timo4 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | SVIIIVDKNGRLV | 12 | E/EM | IIVDKNGRL | HB | ND |
| Timo4 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | SVIIVDKNGRLVY | 13 | E/EM | IIVDKNGRL | HB | ND |
| Timo4 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | ALEIFKQASAFSRASQ | 16 | E/EM | LEIFKQASA/LEIFKQASA | IB | ND |
| Timo4 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | LEIFKQASAFSRAS | 14 | E/EM | LEIFKQASA/LEIFKQASA | IB | ND |
| Timo4 | Q15582 | Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 | LEIFKQASAFSRASQ | 15 | E/EM | LEIFKQASA/LEIFKQASA | IB | ND |
| Timo5 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | GNRIAQWQSFQLEG | 14 | E/EM | IAQWQSFQL | IB | ND |
| Timo5 | P01023 | Alpha-2-macroglobulin | GNRIAQWQSFQLEGG | 15 | E/EM | IAQWQSFQL | IB | ND |
| Timo5 | P61769 | Beta-2-microglobulin | TPKIQVYSRHPAEN | 14 | M | IQVYSRHPA | HB | ND |

| M ^a | Ac. Number | Proteína | Péptido | T ^b | L ^c | Core | B ^d | R ^e |
|----------------|--------------------------|--|--------------------|----------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| Timo5 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 (CD317, BST-2) | EGEITTLNHHKLQDAS | 15 | Lis/End | ITTLNHHKLQ | HB | ND |
| Timo5 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 (CD317, BST-2) | LEGEITTLNHHKLQDAS | 16 | Lis/End | ITTLNHHKLQ | HB | ND |
| Timo5 | P20645 | Cation-dependent mannose-6-phosphate receptor | SEKELALVKRLKPL | 14 | Lis/End | LALVKRLKP | HB | ND |
| Timo5 | P09382 | Galectin-1 | VRGEVAPDAKSFVLN | 15 | E/EM | VAPDAKSFV | HB | ND |
| Timo5 | HLA-I, B α chain | HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain | GYNQLAYDGKDYIALN | 16 | M | LAYDGKDYI | HB | ND |
| Timo5 | HLA-I, B α chain | HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain | YNQLAYDGKDYIAL | 14 | M | LAYDGKDYI | HB | ND |
| Timo5 | HLA-I, B α chain | HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain | GYNQLAYDGKDYIAL | 15 | M | LLEEKRAVP/LLEEKRAVP | LB | ND |
| Timo5 | HLA-II, DP β chain | HLA class II histocompatibility antigen, DP beta chain | SQKDLLEEKRAVPD | 14 | M | LAYDGKDYI | HB | ND |
| Timo5 | P33908 | Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA | IQRDILLEKKKVAQDQ | 16 | G | ILLEKKKVA/ILLEKKKVA | HB | ND |
| Timo5 | O95297 | Myelin protein zero-like protein 1 | NPPDIVVQPGHIRLY | 15 | M | VVQPGHIRL | IB | ND |
| Timo5 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QAVLHMEQRKQQQQQ | 15 | M | LHMEQRKQQ | HB | ND |
| Timo5 | Q02818 | Nucleobindin-1 | QAVLHMEQRKQQQQQ | 16 | M | LHMEQRKQQ | HB | ND |
| Timo5 | P25786 | Proteasome subunit alpha type-1 | HAVLVALKRAQSE | 13 | C | LVALKRAQS | HB | ND |
| Timo5 | P04279 | Semenogelin-1 | QTEKLVAGKSQIQ | 13 | TRA | LVAGKSQIQ | LB | ND |
| Timo5 | P02787 | Serotransferrin | DKSKEFQLFSSPHGKDL | 17 | E/EM | FQLFSSPHG | IB | ND |
| Timo5 | P02787 | Serotransferrin | DPQTFYYAVAVVKKDS | 16 | E/EM | FYYAVAVVK | NA | ND |
| Timo5 | P02768 | Serum albumin | STPTLVEVSRNLGKVGSK | 18 | E/EM | LVEVSRNLG | HB | ND |
| Timo5 | P02768 | Serum albumin | ALLVRYTKKVPQVS | 14 | E/EM | LVRYTKKVP | HB | ND |
| Timo5 | Q16594 | Transcription initiation factor TFIID subunit 9 | TPLPLIKPYAGPRLPPD | 17 | N | IKPYAGPRL | IB | ND |

M^a: muestra de bazo; Ac.Number: número de acceso de Swiss-prot; Proteína: nombre de la proteína de la que deriva la secuencia obtenida; Péptido: secuencia peptídica.

T^b: número de aminoácidos. L^c: localización celular de la proteína; Core: secuencia de unión a HLA-DR asignada; B^d: predicción de afinidad a HLA-DR; R^e: número de secuencias idénticas obtenidas en la secuenciación. * TRA: Tissue restricted antigen; ND: No data.

Anexo 4.1.

| M ^a | Ac Number | Proteína | Péptido | T ^b | Core | N ^c | P ^d | M ^e | B ^f |
|----------------|-----------|---|--------------------|----------------|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| BM21 | Q15365 | Poly(rC)-binding protein 1 | LAQYLINARLSSEK | 14 | YLINARLSS | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P17900 | Ganglioside GM2 activator | TGNYRIESVLSSSG | 14 | YRIESVLSS | IB | HB | IB | IB |
| BM21 | P17900 | Ganglioside GM2 activator | TGNYRIESVLSSSGK | 15 | YRIESVLSS | IB | HB | IB | IB |
| BM21 | P25786 | Proteasome subunit alpha type-1 | HAVLVALKRAQSE | 13 | LVALKRAQS | HB | HB | IB | HB |
| BM21 | P25786 | Proteasome subunit alpha type-1 | AVLVALKRAQSE | 12 | LVALKRAQS | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | FPYLIAGKYAQD | 12 | YLIAGKYAQ | IB | HB | HB | HB |
| BM21 | P53634 | Dipeptidyl-peptidase 1 | FPYLIAGKYAQDFG | 14 | YLIAGKYAQ | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | Q9HBE5 | Interleukin-21 receptor | EDPAFYMLKGLQYE | 15 | YMLKGLQY | HB | HB | IB | HB |
| BM21 | Q8IXF9 | Aquaporin-12A | WELSDLHLLQSLMA | 14 | LHLLQSLMA | IB | HB | IB | IB |
| BM21 | Q969P0 | Immunoglobulin superfamily member 8 | DAVVVKIARLQAQDAG | 16 | VLKIARLQA | HB | HB | IB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NPGGYVAYSKAATVT | 15 | YVAYSKAAT | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NPGGYVAYSKAATVTG | 16 | YVAYSKAAT | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | NPGGYVAYSKAATVTGK | 17 | YVAYSKAAT | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | PGGYVAYSKAATVTG | 15 | YVAYSKAAT | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P15907 | Beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1 | DAVLRFNAGAPTANFQ | 15 | FNGAPTANF | IB | HB | IB | IB |
| BM21 | P50990 | T-complex protein 1 subunit theta | AEAFEIPRALAEN | 14 | FEAIPRALA | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P09668 | Cathepsin H | MNGYFLIERGKNM | 13 | YFLIERGKN | HB | HB | IB | HB |
| BM21 | P20036 | HLA II, DP alpha 1 chain | YAAFVQTHRPTGEF | 14 | FVQTHRPTG | HB | HB | HB | HB |
| BM21 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | AGTAFIQTQLHAAMA | 16 | FIQTQLHA | IB | HB | IB | IB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | IPELNKVARAAAE | 13 | LNKVARAAA | IB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | IPELNKVARAAAEV | 14 | LNKVARAAA | IB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | IPELNKVARAAAEVA | 15 | LNKVARAAA | IB | HB | HB | HB |
| BM21 | P02786 | Transferrin receptor protein 1 | IPELNKVARAAAEVAG | 16 | LNKVARAAA | IB | HB | HB | HB |
| BM21 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | RPRAPIAVTRNPQTA | 16 | IIAVTRNPQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | RPRAPIAVTRNPQTAR | 17 | IIAVTRNPQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | P14618 | Pyruvate kinase isozymes M1/M2 | APIIAVTRNPQTA | 13 | IIAVTRNPQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q13571 | Lysosomal-associated transmembrane protein 5 | LPSYEEALSLSKTPE | 16 | YEEALSLS | LB | IB | HB | NA |
| BM21 | P33908 | Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA | IQRDILLEKKKVAQDQ | 16 | ILLEKKKVA | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | LEGEITTLNHKLQDAS | 16 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | LEGEITTLNHKLQDASA | 17 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | LEGEITTLNHKLQDASAE | 18 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | EGEITTLNHKLQDA | 14 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | EGEITTLNHKLQDAS | 15 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q10589 | Bone marrow stromal antigen 2 | GEITTLNHKLQDAS | 14 | ITTLNHKLQ | IB | IB | IB | IB |

| M ^a | Ac Number | Proteína | Péptido | T ^b | Core | N ^c | P ^d | M ^e | B ^f |
|----------------|-----------|--|------------------|----------------|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| BM21 | P02768 | Serum albumin | FYAPPELLFFAK | 11 | YAPPELLFFA | LB | IB | IB | IB |
| BM21 | Q02413 | Desmoglein-1 | VVTGNMGSNKVGDF | 15 | MGSNDKVGDF | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | Q9NV92 | NEDD4 family-interacting protein 2 | SLPTYDEAEKAKAAA | 15 | YDEAEKAKA | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | Q9NV92 | NEDD4 family-interacting protein 2 | SLPTYDEAEKAKAAAM | 16 | YDEAEKAKA | LB | LB | HB | LB |
| BM21 | Q9NV92 | NEDD4 family-interacting protein 2 | LPTYDEAEKAKAAA | 13 | YDEAEKAKA | LB | LB | HB | LB |
| BM21 | Q9NV92 | NEDD4 family-interacting protein 2 | LPTYDEAEKAKAAA | 14 | YDEAEKAKA | LB | LB | HB | LB |
| BM21 | Q9NV92 | NEDD4 family-interacting protein 2 | LPTYDEAEKAKAAAM | 15 | YDEAEKAKA | LB | LB | HB | LB |
| BM21 | P11940 | Polyadenylate-binding protein 1 | DKSIDNKALYDTF | 13 | IDNKALYDT | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | P02768 | Serum albumin | AVMDDFAAFVEK | 12 | MDDFAAFVE | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | Q5D862 | Filaggrin-2 | PVLKNPDDPDTVD | 13 | LKNPDDPDT | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | Q30134 | HLA II, DRB1 beta chain | LDRYFYNQEE | 10 | LDRYFYNQE | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | P20039 | HLA II, DRB1 beta chain | HSLGQPRGFSL | 11 | ---- | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | P26951 | Interleukin-3 receptor subunit alpha | NPGTYTVQIR | 10 | ---- | LB | LB | LB | LB |
| BM21 | P67809 | Nuclease-sensitive element-binding protein 1 | PPAENSAPAEQGGAE | 17 | ---- | LB | LB | LB | LB |

M^a: Muestra; Ac.Number: número de acceso de Swiss-prot; Proteína: nombre de la proteína de la que deriva la secuencia obtenida; Péptido: secuencia peptídica; Core: secuencia de unión a HLA-DR asignada; T^b: número de aminoácidos; N^c: Afinidad NetMHCIIpan; P^d: Afinidad Propred; M^e: Afinidad Manual; B^f: Asignación teórica de afinidad

final

Bibliografía

- Aaltonen, Johanna, Petra Björse, Jaakko Perheentupa, Nina Horelli-Kuitunen, Aarno Palotie, Leena Peltonen, Yeon Su Lee, et al. 1997. "An Autoimmune Disease, APECED, Caused by Mutations in a Novel Gene Featuring Two PHD-type Zinc-finger Domains." *Nature Genetics* 17 (4): 399–403. doi:10.1038/ng1297-399.
- Abramson, Jakub, Matthieu Giraud, Christophe Benoist, and Diane Mathis. 2010. "Aire's Partners in the Molecular Control of Immunological Tolerance." *Cell* 140 (1) (January): 123–135. doi:10.1016/j.cell.2009.12.030.
- Abu-Shakra, M., D. Buskila, M. Ehrenfeld, K. Conrad, and Y. Shoenfeld. 2001. "Cancer and Autoimmunity: Autoimmune and Rheumatic Features in Patients with Malignancies." *Annals of the Rheumatic Diseases* 60 (5) (May 1): 433–441. doi:10.1136/ard.60.5.433.
- Affinity Chromatography: Principles and Applications*. 2013. Accessed May 23. http://www.academia.edu/1486501/Affinity_Chromatography_Principles_and_Applications.
- Akirav, Eitan M, Yan Xu, and Nancy H Ruddle. 2011. "Resident B Cells Regulate Thymic Expression of Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein." *Journal of Neuroimmunology* 235 (1-2) (June): 33–39. doi:10.1016/j.jneuroim.2011.03.013.
- Alvarez, Iñaki, Montserrat Carrascal, Francesc Canals, Laia Muixí, Joaquín Abián, and Dolores Jaraquemada. 2007. "Analysis of the HLA Class I Associated Peptide Repertoire in a Hepatocellular Carcinoma Cell Line Reveals Tumor-specific Peptides as Putative Targets for Immunotherapy." *Proteomics. Clinical Applications* 1 (3) (March): 286–298. doi:10.1002/prca.200600388.
- Alvarez, Iñaki, Javier Collado, Xavier Daura, Nuria Colomé, Marta Rodríguez-García, Teresa Gallart, Francesc Canals, and Dolores Jaraquemada. 2008. "The Rheumatoid Arthritis-associated Allele HLA-DR10 (DRB1*1001) Shares Part of Its Repertoire with HLA-DR1 (DRB1*0101) and HLA-DR4 (DRB*0401)." *Arthritis & Rheumatism* 58 (6) (June 1): 1630–1639. doi:10.1002/art.23503.
- Anderson, G, and E J Jenkinson. 2001. "Lymphostromal Interactions in Thymic Development and Function." *Nature Reviews. Immunology* 1 (1) (October): 31–40. doi:10.1038/35095500.
- Anderson, K S, and P Cresswell. 1994. "A Role for Calnexin (IP90) in the Assembly of Class II MHC Molecules." *The EMBO Journal* 13 (3) (February 1): 675–682.
- Anderton, Stephen M., Caius G. Radu, Pauline A. Lowrey, E. Sally Ward, and David C. Wraith. 2001. "Negative Selection During the Peripheral Immune Response to Antigen." *The Journal of Experimental Medicine* 193 (1) (January 1): 1–12.
- Asseman, Chrystelle, Smita Mauze, Michael W. Leach, Robert L. Coffman, and Fiona Powrie. 1999. "An Essential Role for Interleukin 10 in the Function of Regulatory T Cells That Inhibit Intestinal Inflammation." *The Journal of Experimental Medicine* 190 (7) (October 4): 995–1004.
- Bakke, O, and B Dobberstein. 1990. "MHC Class II-associated Invariant Chain Contains a Sorting Signal for Endosomal Compartments." *Cell* 63 (4) (November 16): 707–716.
- Baumgartner, Christina K, Andrea Ferrante, Mika Nagaoka, Jack Gorski, and Laurent P Malherbe. 2010. "Peptide-MHC Class II Complex Stability Governs CD4 T Cell Clonal Selection." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 184 (2) (January 15): 573–581. doi:10.4049/jimmunol.0902107.
- Belz, Gabrielle T, Georg M N Behrens, Chris M Smith, Jacques F A P Miller, Claerwen Jones, Kristina Lejon, C Garrison Fathman, et al. 2002. "The CD8alpha(+) Dendritic Cell Is Responsible for Inducing Peripheral Self-tolerance to Tissue-associated Antigens." *The Journal of Experimental Medicine* 196 (8) (October 21): 1099–1104.
- Beutner, U, and H R MacDonald. 1998. "TCR-MHC Class II Interaction Is Required for Peripheral Expansion of CD4 Cells in a T Cell-deficient Host." *International Immunology* 10 (3) (March): 305–310.
- Bowlus, C L, J Ahn, T Chu, and J R Gruen. 1999. "Cloning of a Novel MHC-encoded Serine Peptidase Highly Expressed by Cortical Epithelial Cells of the Thymus." *Cellular Immunology* 196 (2) (September 15): 80–86. doi:10.1006/cimm.1999.1543.
- Bozzacco, Leonia, Haiqiang Yu, Henry A Zebroski Iii, Joern Dengjel, Haiteng Deng, Svetlana Mojsov, and Ralph Marvin Steinman. 2011. "Mass Spectrometry Analysis and Quantitation of Peptides Presented on the MHC II Molecules of Mouse Spleen Dendritic Cells." *Journal of Proteome Research* (September 14). doi:10.1021/pr200503g. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21913724>.
- Buggert, Marcus, Melissa M Norström, Chris Czarniecki, Emmanuel Tupin, Ma Luo, Katarina Gyllensten, Anders Sönnnerborg, et al. 2012. "Characterization of HIV-specific CD4+ T Cell Responses Against Peptides Selected with Broad Population and Pathogen Coverage." *PloS One* 7 (7): e39874. doi:10.1371/journal.pone.0039874.
- Carrier, A, C Nguyen, G Victorero, S Granjeaud, D Rocha, K Bernard, A Miazek, et al. 1999. "Differential Gene Expression in CD3epsilon- and RAG1-deficient Thymuses: Definition of a Set of Genes Potentially Involved in Thymocyte Maturation." *Immunogenetics* 50 (5-6) (December): 255–270.
- Catálfamo, Marta, Laurence Serradell, Carme Roura-Mir, Edgardo Kolkowski, Mireia Sospedra, Marta Vives-Pi, Francesca Vargas-Nieto, Ricardo Pujol-Borrell, and Dolores Jaraquemada. 1999. "HLA-DM and Invariant Chain Are Expressed by Thyroid Follicular Cells, Enabling the Expression of Compact DR Molecules." *International Immunology* 11 (2) (February 1): 269–277. doi:10.1093/intimm/11.2.269.
- Cederbom, L, H Hall, and F Ivars. 2000. "CD4+CD25+ Regulatory T Cells Down-regulate Co-stimulatory Molecules on Antigen-presenting Cells." *European Journal of Immunology* 30 (6) (June): 1538–1543. doi:10.1002/1521-4141(200006)30:6<1538::AID-IMMU1538>62.3.CO;2-X.
- Cinamon, Guy, Marcus A Zachariah, Olivia M Lam, Frank W Foss, and Jason G Cyster. 2008. "Follicular Shuttling of Marginal Zone B Cells Facilitates Antigen Transport." *Nat Immunol* 9 (1): 54–62. doi:10.1038/ni1542.
- Ciofani, Maria, and Juan Carlos Zúñiga-Pflücker. 2007. "The Thymus as an Inductive Site for T Lymphopoiesis." *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 23: 463–493. doi:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123547.
- Cloosen, Silvie, Janna Arnold, Marco Thio, Gerard M J Bos, Bruno Kyewski, and Wilfred T V Germeraad. 2007. "Expression of Tumor-associated Differentiation Antigens, MUC1 Glycoforms and CEA, in Human Thymic Epithelial Cells: Implications for Self-tolerance and Tumor Therapy." *Cancer Research* 67 (8) (April 15): 3919–3926. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2112.
- Colomé, Nuria, Javier Collado, Joan J Bech-Serra, Ingrid Liiv, Luis C Antón, Pärt Peterson, Francesc Canals, Dolores Jaraquemada, and Iñaki Alvarez. 2010. "Increased Apoptosis after Autoimmune Regulator Expression in Epithelial Cells Revealed by a Combined Quantitative Proteomics Approach." *Journal of Proteome Research* 9 (5) (May 7): 2600–2609. doi:10.1021/pr100044d.

- Colomé, Nuria, Javier Collado, Joan J. Bech-Serra, Ingrid Liiv, Luis C. Antón, Pärt Peterson, Francesc Canals, Dolores Jaraquemada, and Iñaki Alvarez. 2010. "Increased Apoptosis after Autoimmune Regulator Expression in Epithelial Cells Revealed by a Combined Quantitative Proteomics Approach." *Journal of Proteome Research* 9 (5): 2600–2609. doi:10.1021/pr100044d.
- Colovai, Adriana I, Christina Giatzikis, Eric K Ho, Mushahid Farooqi, Nicole Suciu-Foca, Giorgio Cattoretti, and Attilio Orazi. 2004. "Flow Cytometric Analysis of Normal and Reactive Spleen." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 17 (8) (August): 918–927. doi:10.1038/modpathol.3800141.
- Collison, Lauren W, Creg J Workman, Timothy T Kuo, Kelli Boyd, Yao Wang, Kate M Vignali, Richard Cross, David Sehly, Richard S Blumberg, and Dario A A Vignali. 2007. "The Inhibitory Cytokine IL-35 Contributes to Regulatory T-cell Function." *Nature* 450 (7169) (November 22): 566–569. doi:10.1038/nature06306.
- Coombs, Gary S, Robert C. Bergstrom, Jean-Luc Pellequer, Scott I. Baker, Marc Navre, Matthew M. Smith, John A. Tainer, Edwin L. Madison, and David R. Corey. 1998. "Substrate Specificity of Prostate-specific Antigen (PSA)." *Chemistry & Biology* 5 (9): 475–488. doi:10.1016/S1074-5521(98)90004-7.
- Corr, M, L F Boyd, S R Frankel, S Kozlowski, E A Padlan, and D H Margulies. 1992. "Endogenous Peptides of a Soluble Major Histocompatibility Complex Class I Molecule, H-2Ld: Sequence Motif, Quantitative Binding, and Molecular Modeling of the Complex." *The Journal of Experimental Medicine* 176 (6) (December 1): 1681–1692.
- Costantino, Cristina Maria, Eric Spooner, Hidde L. Ploegh, and David A. Hafler. 2012. "Class II MHC Self-Antigen Presentation in Human B and T Lymphocytes." *PLoS ONE* 7 (1): e29805. doi:10.1371/journal.pone.0029805.
- Cresswell, P. 1996. "Invariant Chain Structure and MHC Class II Function." *Cell* 84 (4) (February 23): 505–507.
- Chicz, R M, R G Urban, J C Gorga, D A Vignali, W S Lane, and J L Strominger. 1993. "Specificity and Promiscuity Among Naturally Processed Peptides Bound to HLA-DR Alleles." *The Journal of Experimental Medicine* 178 (1) (July 1): 27–47.
- Dakshinamoorthy, Gajalakshmi, Abhilash Kumble Samykutty, Gnanasekar Munirathinam, Gangadhar Bhaurao Shinde, Thomas Nutman, Maryada Venkatarami Reddy, and Ramaswamy Kalyanasundaram. 2012. "Biochemical Characterization and Evaluation of a Brugia Malayi Small Heat Shock Protein as a Vaccine Against Lymphatic Filariasis." *PLoS One* 7 (4): e34077. doi:10.1371/journal.pone.0034077.
- De Lamirande, Eve. 2007. "Semenogelin, the Main Protein of the Human Semen Coagulum, Regulates Sperm Function." *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 33 (1) (February): 60–68. doi:10.1055/s-2006-958463.
- Dengjel, Jörn, Maria-Dorothea Nastke, Cécile Gouttefangeas, Gitsios Gitsioudis, Oliver Schoor, Florian Altenberend, Margret Müller, et al. 2006. "Unexpected Abundance of HLA Class II Presented Peptides in Primary Renal Cell Carcinomas." *Clinical Cancer Research* 12 (14) (July 15): 4163–4170. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2470.
- Derbinski, J, A Schulte, B Kyewski, and L Klein. 2001. "Promiscuous Gene Expression in Medullary Thymic Epithelial Cells Mirrors the Peripheral Self." *Nature Immunology* 2 (11) (November): 1032–1039. doi:10.1038/ni723.
- Derbinski, Jens, Jana Gäbler, Benedikt Brors, Sascha Tierling, Sunitha Jonnakuty, Manfred Hergenbahn, Leena Peltonen, Jörn Walter, and Bruno Kyewski. 2005. "Promiscuous Gene Expression in Thymic Epithelial Cells Is Regulated at Multiple Levels." *The Journal of Experimental Medicine* 202 (1) (July 4): 33–45. doi:10.1084/jem.20050471.
- Derbinski, Jens, Antje Schulte, Bruno Kyewski, and Ludger Klein. 2001. "Promiscuous Gene Expression in Medullary Thymic Epithelial Cells Mirrors the Peripheral Self." *Nature Immunology* 2 (11) (October 15): 1032–1039. doi:10.1038/ni723.
- Derfuss, Tobias, Khyati Parikh, Sviataslau Velhin, Magdalena Braun, Emily Mathey, Markus Krumbholz, Tania Kümpfel, et al. 2009. "Contactin-2/TAG-1-directed Autoimmunity Is Identified in Multiple Sclerosis Patients and Mediates Gray Matter Pathology in Animals." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (20) (May 19): 8302–8307. doi:10.1073/pnas.0901496106.
- Dessen, A, C M Lawrence, S Cupo, D M Zaller, and D C Wiley. 1997. "X-ray Crystal Structure of HLA-DR4 (DRA*0101, DRB1*0401) Complexed with a Peptide from Human Collagen II." *Immunity* 7 (4) (October): 473–481.
- Dijkstra, C D, E Van Vliet, E A Döpp, A A van der Lelij, and G Kraal. 1985. "Marginal Zone Macrophages Identified by a Monoclonal Antibody: Characterization of Immuno- and Enzyme-histochemical Properties and Functional Capacities." *Immunology* 55 (1) (May): 23–30.
- Dimitrov, Ivan, Panayot Garnev, Darren R Flower, and Irini Doytchinova. 2010. "MHC Class II Binding Prediction-A Little Help from a Friend." *Journal of Biomedicine & Biotechnology* 2010: 705821. doi:10.1155/2010/705821.
- Donskoy, Elina, and Irving Goldschneider. 2003. "Two Developmentally Distinct Populations of Dendritic Cells Inhabit the Adult Mouse Thymus: Demonstration by Differential Importation of Hematogenous Precursors Under Steady State Conditions." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 170 (7) (April 1): 3514–3521.
- Dunham, I, C A Sargent, J Trowsdale, and R D Campbell. 1987. "Molecular Mapping of the Human Major Histocompatibility Complex by Pulsed-field Gel Electrophoresis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 (20) (October): 7237–7241.
- Egwuagu, C E, P Charukamnoetkanok, and I Gery. 1997. "Thymic Expression of Autoantigens Correlates with Resistance to Autoimmune Disease." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 159 (7) (October 1): 3109–3112.
- EL-Manzalawy, Yasser, Drena Dobbs, and Vasant Honavar. 2008. "On Evaluating MHC-II Binding Peptide Prediction Methods." *PLoS ONE* 3 (9): e3268. doi:10.1371/journal.pone.0003268.
- Elmore, Susan A. 2006. "Enhanced Histopathology of the Thymus." *Toxicologic Pathology* 34 (5): 656–665. doi:10.1080/01926230600865556.
- Engelhard, V H. 1994. "Structure of Peptides Associated with Class I and Class II MHC Molecules." *Annual Review of Immunology* 12: 181–207. doi:10.1146/annurev.iy.12.040194.001145.
- Ettinger, R A, and W W Kwok. 1998. "A Peptide Binding Motif for HLA-DQA1*0102/DQB1*0602, the Class II MHC Molecule Associated with Dominant Protection in Insulin-dependent Diabetes Mellitus." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 160 (5) (March 1): 2365–2373.
- Falk, K, O Röttschke, S Stevanović, G Jung, and H G Rammensee. 1991. "Allele-specific Motifs Revealed by Sequencing of Self-peptides Eluted from MHC Molecules." *Nature* 351 (6324) (May 23): 290–296. doi:10.1038/351290a0.
- Ferlin, Walter G, Evelyn Mougneau, Stéphanie Hugues, Heiner Appel, Mei-Huei Jang, Julie Cazareth, Lucie Beaudoin, et al. 2004. "Self-peptides That Bind with Low Affinity to the Diabetes-associated I-A(g7) Molecule Readily Induce T Cell Tolerance in Non-obese Diabetic Mice." *European Journal of Immunology* 34 (10) (October): 2656–2663. doi:10.1002/eji.200425413.

- Fissolo, Nicolas, Sabrina Haag, Katrien L. de Graaf, Oliver Drews, Stefan Stevanovic, Hans Georg Rammensee, and Robert Weissert. 2009. "Naturally Presented Peptides on Major Histocompatibility Complex I and II Molecules Eluted from Central Nervous System of Multiple Sclerosis Patients" 8 (9) (September): 2090–2101. doi:10.1074/mcp.M900001-MCP200.
- Ge, Q, V P Rao, B K Cho, H N Eisen, and J Chen. 2001. "Dependence of Lymphopenia-induced T Cell Proliferation on the Abundance of Peptide/ MHC Epitopes and Strength of Their Interaction with T Cell Receptors." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (4) (February 13): 1728–1733. doi:10.1073/pnas.98.4.1728.
- Gebe, J A, E Swanson, and William W Kwok. 2002. "HLA Class II Peptide-binding and Autoimmunity." *Tissue Antigens* 59 (2) (February): 78–87.
- Germain, Ronald N. 2002. "T-cell Development and the CD4–CD8 Lineage Decision." *Nature Reviews Immunology* 2 (5): 309–322. doi:10.1038/nri798.
- Giraud, Matthieu, Hideyuki Yoshida, Jakub Abramson, Peter B Rahl, Richard A Young, Diane Mathis, and Christophe Benoist. 2012. "Aire Unleashes Stalled RNA Polymerase to Induce Ectopic Gene Expression in Thymic Epithelial Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (2) (January 10): 535–540. doi:10.1073/pnas.1119351109.
- Girault, Jean-Antoine, and Elior Peles. 2002. "Development of Nodes of Ranvier." *Current Opinion in Neurobiology* 12 (5) (October 1): 476–485. doi:10.1016/S0959-4388(02)00370-7.
- Godkin, A J, K J Smith, A Willis, M V Tejada-Simon, J Zhang, T Elliott, and A V Hill. 2001. "Naturally Processed HLA Class II Peptides Reveal Highly Conserved Immunogenic Flanking Region Sequence Preferences That Reflect Antigen Processing Rather Than peptide-MHC Interactions." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 166 (11) (June 1): 6720–6727.
- Gowthaman, Uthaman, and Javed N Agrewala. 2008. "In Silico Tools for Predicting Peptides Binding to HLA-class II Molecules: More Confusion Than Conclusion." *Journal of Proteome Research* 7 (1) (January): 154–163. doi:10.1021/pr070527b.
- Gray, Daniel, Jakub Abramson, Christophe Benoist, and Diane Mathis. 2007a. "Proliferative Arrest and Rapid Turnover of Thymic Epithelial Cells Expressing Aire." *The Journal of Experimental Medicine* 204 (11) (October 29): 2521–2528. doi:10.1084/jem.20070795.
- . 2007b. "Proliferative Arrest and Rapid Turnover of Thymic Epithelial Cells Expressing Aire." *The Journal of Experimental Medicine* 204 (11) (October 29): 2521–2528. doi:10.1084/jem.20070795.
- Grossman, William J, James W Verbsky, Benjamin L Tollefsen, Claudia Kemper, John P Atkinson, and Timothy J Ley. 2004. "Differential Expression of Granzymes A and B in Human Cytotoxic Lymphocyte Subsets and T Regulatory Cells." *Blood* 104 (9) (November 1): 2840–2848. doi:10.1182/blood-2004-03-0859.
- Guerder, Sylvie, Christophe Viret, Hervé Luche, Laurence Ardouin, and Bernard Malissen. 2012. "Differential Processing of Self-antigens by Subsets of Thymic Stromal Cells." *Current Opinion in Immunology* 24 (1) (February): 99–104. doi:10.1016/j.coi.2012.01.008.
- Guix, Maria, Briza Pérez-López, Melike Sahin, Mònica Roldán, Adriano Ambrosi, and Arben Merkoçi. 2010. "Structural Characterization by Confocal Laser Scanning Microscopy and Electrochemical Study of Multi-walled Carbon Nanotube Tyrosinase Matrix for Phenol Detection." *The Analyst* 135 (8): 1918. doi:10.1039/c000929f.
- Gulukota, K, and C DeLisi. 2001. "Neural Network Method for Predicting Peptides That Bind Major Histocompatibility Complex Molecules." *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 156: 201–209.
- Hadeiba, Husein, and Eugene C Butcher. 2013. "Thymus-homing Dendritic Cells in Central Tolerance." *European Journal of Immunology* (April 25). doi:10.1002/eji.201243192.
- Hadeiba, Husein, Katharina Lahl, Abdolhossein Edalati, Cecilia Oderup, Aida Habtezion, Russell Pachynski, Linh Nguyen, Asma Ghodsi, Sarah Adler, and Eugene C Butcher. 2012. "Plasmacytoid Dendritic Cells Transport Peripheral Antigens to the Thymus to Promote Central Tolerance." *Immunity* 36 (3) (March 23): 438–450. doi:10.1016/j.immuni.2012.01.017.
- Hanafusa, T, R Pujol-Borrell, L Chiovato, R C Russell, D Doniach, and G F Bottazzo. 1983. "Aberrant Expression of HLA-DR Antigen on Thyrocytes in Graves' Disease: Relevance for Autoimmunity." *Lancet* 2 (8359) (November 12): 1111–1115.
- Hartman, Isamu Z, AeRyon Kim, Robert J Cotter, Kimberly Walter, Sarat K Dalai, Tatiana Boronina, Wendell Griffith, et al. 2010. "A Reductionist Cell-free Major Histocompatibility Complex Class II Antigen Processing System Identifies Immunodominant Epitopes." *Nature Medicine* 16 (11) (November): 1333–1340. doi:10.1038/nm.2248.
- Hataye, Jason, James J. Moon, Alexander Khoruts, Cavan Reilly, and Marc K. Jenkins. 2006. "Naïve and Memory CD4+ T Cell Survival Controlled by Clonal Abundance." *Science* 312 (5770) (April 7): 114–116. doi:10.1126/science.1124228.
- Heckmann, J M, K E Morrison, B Emeryk-Szajewska, H Strugalska, J Bergoffen, N Willcox, and J Newsom-Davis. 1996. "Human Muscle Acetylcholine Receptor Alpha-subunit Gene (CHRNA1) Association with Autoimmune Myasthenia Gravis in Black, Mixed-ancestry and Caucasian Subjects." *Journal of Autoimmunity* 9 (2) (April): 175–180. doi:10.1006/jaut.1996.0021.
- Honey, Karen, Terry Nakagawa, Christoph Peters, and Alexander Rudensky. 2002. "Cathepsin L Regulates CD4+ T Cell Selection Independently of Its Effect on Invariant Chain: a Role in the Generation of Positively Selecting Peptide Ligands." *The Journal of Experimental Medicine* 195 (10) (May 20): 1349–1358.
- Hou, Yafei, Jason DeVoss, Vinh Dao, Serena Kwek, Jeffrey P Simko, Douglas G McNeel, Mark S Anderson, and Lawrence Fong. 2009. "An Aberrant Prostate Antigen-specific Immune Response Causes Prostatitis in Mice and Is Associated with Chronic Prostatitis in Humans." *The Journal of Clinical Investigation* 119 (7) (July): 2031–2041. doi:10.1172/JCI38332.
- Hu, Qizhi, Robert J Noll, Hongyan Li, Alexander Makarov, Mark Hardman, and R Graham Cooks. 2005. "The Orbitrap: a New Mass Spectrometer." *Journal of Mass Spectrometry: JMS* 40 (4) (April): 430–443. doi:10.1002/jms.856.
- Huang, Da Wei, Brad T Sherman, and Richard A Lempicki. 2009. "Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources." *Nature Protocols* 4 (1): 44–57. doi:10.1038/nprot.2008.211.
- Hubert, François-Xavier, Sarah A. Kinkel, Gayle M. Davey, Belinda Phipson, Scott N. Mueller, Adrian Liston, Anna I. Proietto, et al. 2011. "Aire Regulates the Transfer of Antigen from mTECs to Dendritic Cells for Induction of Thymic Tolerance." *Blood* 118 (9) (September 1): 2462–2472. doi:10.1182/blood-2010-06-286393.
- Hugo, P, J W Kappler, J E McCormack, and P Marrack. 1993. "Fibroblasts Can Induce Thymocyte Positive Selection in Vivo." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (21) (November 1): 10335–10339.
- Ignatowicz, L, J Kappler, and P Marrack. 1996. "The Repertoire of T Cells Shaped by a Single MHC/peptide Ligand." *Cell* 84 (4) (February 23): 521–529.

- Johnnidis, Jonathan B, Emily S Venanzi, Debra J Taxman, Jenny P-Y Ting, Christophe O Benoist, and Diane J Mathis. 2005. "Chromosomal Clustering of Genes Controlled by the Aire Transcription Factor." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (20) (May 17): 7233–7238. doi:10.1073/pnas.0502670102.
- Justesen, Sune, Mikkel Harndahl, Kasper Lamberth, Lise-Lotte B Nielsen, and Søren Buus. 2009. "Functional Recombinant MHC Class II Molecules and High-throughput Peptide-binding Assays." *Immune Research* 5 (May 5): 2. doi:10.1186/1745-7580-5-2.
- Keller, Andrew, Alexey I Nesvizhskii, Eugene Kolker, and Ruedi Aebersold. 2002. "Empirical Statistical Model to Estimate the Accuracy of Peptide Identifications Made by MS/MS and Database Search." *Analytical Chemistry* 74 (20) (October 15): 5383–5392.
- Kirberg, Jörg, Nabil Bosco, Jean-Christophe Deloulme, Rod Ceredig, and Fabien Agenes. 2008. "Peripheral T Lymphocytes Recirculating Back into the Thymus Can Mediate Thymocyte Positive Selection." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 181 (2) (July 15): 1207–1214.
- Klein, L, M Klugmann, K A Nave, V K Tuohy, and B Kyewski. 2000. "Shaping of the Autoreactive T-cell Repertoire by a Splice Variant of Self Protein Expressed in Thymic Epithelial Cells." *Nature Medicine* 6 (1) (January): 56–61. doi:10.1038/71540.
- Klein, L, B Roettinger, and B Kyewski. 2001. "Sampling of Complementing Self-antigen Pools by Thymic Stromal Cells Maximizes the Scope of Central T Cell Tolerance." *European Journal of Immunology* 31 (8) (August): 2476–2486. doi:10.1002/1521-4141(200108)31:8<2476::AID-IMMU2476>3.0.CO;2-T.
- Klein, Ludger, Thomas Klein, Ulrich Rüther, and Bruno Kyewski. 1998. "CD4 T Cell Tolerance to Human C-reactive Protein, an Inducible Serum Protein, Is Mediated by Medullary Thymic Epithelium." *The Journal of Experimental Medicine* 188 (1) (July 1): 5–16. doi:10.1084/jem.188.1.5.
- Klein, Ludger, Christian Münz, and Jan D. Lünemann. 2010. "Autophagy-mediated Antigen Processing in CD4+ T Cell Tolerance and Immunity." *FEBS Letters* 584 (7) (April): 1405–1410. doi:10.1016/j.febslet.2010.01.008.
- Kolli, Sivanagarani, Christina I Zito, Marieke H Mossink, Erik A C Wiemer, and Anton M Bennett. 2004. "The Major Vault Protein Is a Novel Substrate for the Tyrosine Phosphatase SHP-2 and Scaffold Protein in Epidermal Growth Factor Signaling." *The Journal of Biological Chemistry* 279 (28) (July 9): 29374–29385. doi:10.1074/jbc.M313955200.
- Kong, Yi-Chi M, Jeffrey C Flynn, J Paul Banga, and Chella S David. 2007. "Application of HLA Class II Transgenic Mice to Study Autoimmune Regulation." *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association* 17 (10) (October): 995–1003. doi:10.1089/thy.2007.0196.
- Kotsch, K, J Wehling, and R Blaszyk. 1999. "Sequencing of HLA Class II Genes Based on the Conserved Diversity of the Non-coding Regions: Sequencing Based Typing of HLA-DRB Genes." *Tissue Antigens* 53 (5) (May): 486–497.
- Kourilsky, P, and J M Claverie. 1989. "MHC Restriction, Alloreactivity, and Thymic Education: a Common Link?" *Cell* 56 (3) (February 10): 327–329.
- Kumánovics, Attila, Toyoyuki Takada, and Kirsten Fischer Lindahl. 2003. "Genomic Organization of the Mammalian MHC." *Annual Review of Immunology* 21: 629–657. doi:10.1146/annurev.immunol.21.090501.080116.
- Kuroda, Noriyuki, Tasuku Mitani, Naoki Takeda, Naozumi Ishimaru, Rieko Arakaki, Yoshio Hayashi, Yoshimi Bando, et al. 2005. "Development of Autoimmunity Against Transcriptionally Unrepressed Target Antigen in the Thymus of Aire-deficient Mice." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 174 (4) (February 15): 1862–1870.
- Kuwabara, Satoshi, and Sonoko Misawa. 2004. "Axonal Ionic Pathophysiology in Human Peripheral Neuropathy and Motor Neuron Disease." *Current Neurovascular Research* 1 (4) (October): 373–379.
- Kyewski, Bruno, and Jens Derbinski. 2004. "Self-representation in the Thymus: An Extended View." *Nat Rev Immunol* 4 (9): 688–698. doi:10.1038/nri1436.
- Laemmli, U K. 1970. "Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4." *Nature* 227 (5259) (August 15): 680–685.
- Lämmermann, Tim, and Michael Sixt. 2008. "The Microanatomy of T-cell Responses." *Immunological Reviews* 221 (1) (February 1): 26–43. doi:10.1111/j.1600-065X.2008.00592.x.
- Larsen, S L, L O Pedersen, S Buus, and A Stryhn. 1996. "T Cell Responses Affected by Aminopeptidase N (CD13)-mediated Trimming of Major Histocompatibility Complex Class II-bound Peptides." *The Journal of Experimental Medicine* 184 (1) (July 1): 183–189.
- Latek, R R, S J Petzold, and E R Unanue. 2000. "Hindering Auxiliary Anchors Are Potent Modulators of Peptide Binding and Selection by I-Ak Class II Molecules." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (21) (October 10): 11460–11465. doi:10.1073/pnas.210384197.
- Lazarski, Christopher A, Francisco A Chaves, Scott A Jenks, Shenhong Wu, Katherine A Richards, J M Weaver, and Andrea J Sant. 2005. "The Kinetic Stability of MHC Class II:peptide Complexes Is a Key Parameter That Dictates Immunodominance." *Immunity* 23 (1) (July): 29–40. doi:10.1016/j.immuni.2005.05.009.
- Lee, K H, K W Wucherpfennig, and D C Wiley. 2001. "Structure of a Human Insulin peptide-HLA-DQ8 Complex and Susceptibility to Type 1 Diabetes." *Nature Immunology* 2 (6) (June): 501–507. doi:10.1038/88694.
- Levisetti, Matteo G, Danna M Lewis, Anish Suri, and Emil R Unanue. 2008. "Weak Proinsulin Peptide-major Histocompatibility Complexes Are Targeted in Autoimmune Diabetes in Mice." *Diabetes* 57 (7) (July): 1852–1860. doi:10.2337/db08-0068.
- Li, JiChu, JooHung Park, Deborah Foss, and Irving Goldschneider. 2009. "Thymus-homing Peripheral Dendritic Cells Constitute Two of the Three Major Subsets of Dendritic Cells in the Steady-state Thymus." *The Journal of Experimental Medicine* 206 (3) (March 16): 607–622. doi:10.1084/jem.20082232.
- Liiv, Ingrid, Uku Haljasorg, Kai Kisand, Julia Maslovskaja, Martti Laan, and Pärt Peterson. 2012. "AIRE-induced Apoptosis Is Associated with Nuclear Translocation of Stress Sensor Protein GAPDH." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 423 (1) (June 22): 32–37. doi:10.1016/j.bbrc.2012.05.057.
- Lindstedt, Malin, Kristina Lundberg, and Carl A K Borrebaeck. 2005. "Gene Family Clustering Identifies Functionally Associated Subsets of Human In Vivo Blood and Tonsillar Dendritic Cells." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 175 (8) (October 15): 4839–4846.
- Linsk, R, M Gottesman, and B Pernis. 1989. "Are Tissues a Patch Quilt of Ectopic Gene Expression?" *Science (New York, N.Y.)* 246 (4927) (October 13): 261.

- Liston, Adrian, Sylvie Lesage, Daniel H. D. Gray, Richard L. Boyd, and Christopher C. Goodnow. 2005. "Genetic Lesions in T-cell Tolerance and Thresholds for Autoimmunity." *Immunological Reviews* 204 (1): 87–101. doi:10.1111/j.0105-2896.2005.00253.x.
- Lovitch, Scott B, Shirley J Petzold, and Emil R Unanue. 2003. "Cutting Edge: H-2DM Is Responsible for the Large Differences in Presentation Among Peptides Selected by I-Ak During Antigen Processing." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 171 (5) (September 1): 2183–2186.
- Lovitch, Scott B, Zheng Pu, and Emil R Unanue. 2006. "Amino-terminal Flanking Residues Determine the Conformation of a Peptide-class II MHC Complex." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 176 (5) (March 1): 2958–2968.
- Lucas-Martin, A, M Foz-Sala, I Todd, G F Bottazzo, and R Pujol-Borrell. 1988. "Occurrence of Thyrocyte HLA Class II Expression in a Wide Variety of Thyroid Diseases: Relationship with Lymphocytic Infiltration and Thyroid Autoantibodies." *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 66 (2) (February): 367–375.
- Lundwall, Åke, Anders Bjartell, A. Yvonne Olsson, and Johan Malm. 2002. "Semenogelin I and II, the Predominant Human Seminal Plasma Proteins, Are Also Expressed in Non-genital Tissues." *Molecular Human Reproduction* 8 (9) (September 1): 805–810. doi:10.1093/molehr/8.9.805.
- Malm, Johan, Jukka Hellman, Phil Hogg, and Hans Lilja. 2000. "Enzymatic Action of Prostate-specific Antigen (PSA or hK3): Substrate Specificity and Regulation by Zn²⁺, a Tight-binding Inhibitor." *The Prostate* 45 (2): 132–139. doi:10.1002/1097-0045(20001001)45:2<132::AID-PROS7>3.0.CO;2-3.
- Manz, Rudolf A, Sergio Arce, Giuliana Cassese, Anja E Hauser, Falk Hiepe, and Andreas Radbruch. 2002. "Humoral Immunity and Long-lived Plasma Cells." *Current Opinion in Immunology* 14 (4) (August): 517–521.
- Marrack, P, L Ignatowicz, J W Kappler, J Boymel, and J H Freed. 1993. "Comparison of Peptides Bound to Spleen and Thymus Class II." *The Journal of Experimental Medicine* 178 (6) (December 1): 2173–2183.
- Martín-Gayo, Enrique, Elena Sierra-Filardi, Angel L Corbí, and María L Toribio. 2010. "Plasmacytoid Dendritic Cells Resident in Human Thymus Drive Natural Treg Cell Development." *Blood* 115 (26) (July 1): 5366–5375. doi:10.1182/blood-2009-10-248260.
- Mcllroy, D, C Troadec, F Grassi, A Samri, B Barrou, B Autran, P Debré, J Feuillard, and A Hosmalin. 2001. "Investigation of Human Spleen Dendritic Cell Phenotype and Distribution Reveals Evidence of in Vivo Activation in a Subset of Organ Donors." *Blood* 97 (11) (June 1): 3470–3477.
- Mebius, Reina E., and Georg Kraal. 2005. "Structure and Function of the Spleen." *Nat Rev Immunol* 5 (8): 606–616. doi:10.1038/nri1669.
- Metzger, Todd C, and Mark S Anderson. 2011. "Control of Central and Peripheral Tolerance by Aire." *Immunological Reviews* 241 (1) (May 1): 89–103. doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01008.x.
- Mizushima, Noboru, Akitsugu Yamamoto, Makoto Matsui, Tamotsu Yoshimori, and Yoshinori Ohsumi. 2004. "In Vivo Analysis of Autophagy in Response to Nutrient Starvation Using Transgenic Mice Expressing a Fluorescent Autophagosome Marker." *Molecular Biology of the Cell* 15 (3) (March): 1101–1111. doi:10.1091/mbc.E03-09-0704.
- Mohan, James F, Matteo G Levisetti, Boris Calderon, Jeremy W Herzog, Shirley J Petzold, and Emil R Unanue. 2010. "Unique Autoreactive T Cells Recognize Insulin Peptides Generated Within the Islets of Langerhans in Autoimmune Diabetes." *Nature Immunology* 11 (4) (April): 350–354. doi:10.1038/ni.1850.
- Mohan, James F, Shirley J Petzold, and Emil R Unanue. 2011. "Register Shifting of an Insulin peptide-MHC Complex Allows Diabetogenic T Cells to Escape Thymic Deletion." *The Journal of Experimental Medicine* 208 (12) (November 21): 2375–2383. doi:10.1084/jem.20111502.
- Mueller, Daniel L. 2010. "Mechanisms Maintaining Peripheral Tolerance." *Nat Immunol* 11 (1): 21–27. doi:10.1038/ni.1817.
- Muixi, L, M Gay, P M Munoz-Torres, C Guitart, J Cedano, J Abian, I Alvarez, and D Jaraquemada. 2011. "The Peptide-binding Motif of HLA-DR8 Shares Important Structural Features with Other Type 1 Diabetes-associated Alleles." *Genes Immun* (June 9). <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2011.26>.
- Muixí, Laia, Montserrat Carrascal, Iñaki Alvarez, Xavier Daura, Mercè Martí, Maria Pilar Armengol, Clemencia Pinilla, Joaquín Abian, Ricardo Pujol-Borrell, and Dolores Jaraquemada. 2008. "Thyroglobulin Peptides Associate In Vivo to HLA-DR in Autoimmune Thyroid Glands." *The Journal of Immunology* 181 (1) (July 1): 795–807.
- Muixí, Laia, Vanessa Contreras, Javier A. Collado, Yannick Alexandre, Keith Ballingall, Michel Bonneau, Dolores Jaraquemada, and Isabelle Schwartz-Cornil. 2012. "Unraveling Features of the Natural MHC Class II Peptidome of Skin-migrated Dendritic Cells." *International Immunology* 24 (1) (January 1): 59–69. doi:10.1093/intimm/dxr096.
- Muntasell, Aura, Montserrat Carrascal, Iñaki Alvarez, Laurence Serradell, Peter van Veelen, Frank A W Verreck, Frits Koning, Joaquín Abian, and Dolores Jaraquemada. 2004. "Dissection of the HLA-DR4 Peptide Repertoire in Endocrine Epithelial Cells: Strong Influence of Invariant Chain and HLA-DM Expression on the Nature of Ligands." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 173 (2) (July 15): 1085–1093.
- Muntasell, Aura, Montserrat Carrascal, Laurence Serradell, Peter van Veelen Pv, Frank Verreck, Frits Koning, Graça Raposo, Joaquín Abián, and Dolores Jaraquemada. 2002. "HLA-DR4 Molecules in Neuroendocrine Epithelial Cells Associate to a Heterogeneous Repertoire of Cytoplasmic and Surface Self Peptides." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 169 (9) (November 1): 5052–5060.
- Münz, Christian. 2009. "Enhancing Immunity through Autophagy." *Annual Review of Immunology* 27: 423–449. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132537.
- Murata, Shigeo, Katsuhiko Sasaki, Toshihiko Kishimoto, Shin-Ichiro Niwa, Hidemi Hayashi, Yousuke Takahama, and Keiji Tanaka. 2007. "Regulation of CD8+ T Cell Development by Thymus-specific Proteasomes." *Science (New York, N.Y.)* 316 (5829) (June 1): 1349–1353. doi:10.1126/science.1141915.
- Nacu, Natalia, Irina G Luzina, Kendrick Highsmith, Virginia Lockatell, Kerill Pochetuhun, Zachary A Cooper, Michael P Gillmeister, Nevins W Todd, and Sergei P Atamas. 2008. "Macrophages Produce TGF-beta-induced (beta-ig-h3) Following Ingestion of Apoptotic Cells and Regulate MMP14 Levels and Collagen Turnover in Fibroblasts." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 180 (7) (April 1): 5036–5044.
- Nakamura, Kazuhiko, Atsushi Kitani, and Warren Strober. 2001. "Cell Contact-Dependent Immunosuppression by Cd4+Cd25+Regulatory T Cells Is Mediated by Cell Surface-Bound Transforming Growth Factor?" *The Journal of Experimental Medicine* 194 (5) (September 3): 629–644.

- Nedjic, Jelena, Martin Aichinger, Jan Emmerich, Noboru Mizushima, and Ludger Klein. 2008. "Autophagy in Thymic Epithelium Shapes the T-cell Repertoire and Is Essential for Tolerance." *Nature* 455 (7211) (September 18): 396–400. doi:10.1038/nature07208.
- Nedjic, Jelena, Martin Aichinger, Noboru Mizushima, and Ludger Klein. 2009. "Macroautophagy, Endogenous MHC II Loading and T Cell Selection: The Benefits of Breaking the Rules." *Current Opinion in Immunology* 21 (1) (February): 92–97. doi:10.1016/j.coi.2009.01.013.
- Neeffjes, J. 1999. "CIIV, MIIC and Other Compartments for MHC Class II Loading." *European Journal of Immunology* 29 (5) (May): 1421–1425. doi:10.1002/(SICI)1521-4141(199905)29:05<1421::AID-IMMU1421>3.0.CO;2-C.
- Nielsen, Morten, Sune Justesen, Ole Lund, Claus Lundegaard, and Søren Buus. 2010. "NetMHCIIpan-2.0 - Improved Pan-specific HLA-DR Predictions Using a Novel Concurrent Alignment and Weight Optimization Training Procedure." *Immunome Research* 6: 9. doi:10.1186/1745-7580-6-9.
- Nielsen, Morten, and Ole Lund. 2009. "NN-align. An Artificial Neural Network-based Alignment Algorithm for MHC Class II Peptide Binding Prediction." *BMC Bioinformatics* 10 (September 18): 296. doi:10.1186/1471-2105-10-296.
- Nielsen, Morten, Ole Lund, Søren Buus, and Claus Lundegaard. 2010. "MHC Class II Epitope Predictive Algorithms." *Immunology* 130 (3) (April 12): 319–328. doi:10.1111/j.1365-2567.2010.03268.x.
- Nielsen, Morten, Claus Lundegaard, Thomas Blicher, Bjoern Peters, Alessandro Sette, Sune Justesen, Søren Buus, and Ole Lund. 2008. "Quantitative Predictions of Peptide Binding to Any HLA-DR Molecule of Known Sequence: NetMHCIIpan." *PLoS Computational Biology* 4 (7): e1000107. doi:10.1371/journal.pcbi.1000107.
- Nielsen, Morten, Claus Lundegaard, and Ole Lund. 2007. "Prediction of MHC Class II Binding Affinity Using SMM-align, a Novel Stabilization Matrix Alignment Method." *BMC Bioinformatics* 8: 238. doi:10.1186/1471-2105-8-238.
- Nitta, Takeshi, Shigeo Murata, Tomoo Ueno, Keiji Tanaka, and Yousuke Takahama. 2008. "Thymic Microenvironments for T-cell Repertoire Formation." *Advances in Immunology* 99: 59–94. doi:10.1016/S0065-2776(08)00603-2.
- Nossal, G J. 1993. "Tolerance and Ways to Break It." *Annals of the New York Academy of Sciences* 690 (August 12): 34–41.
- Novak, E J, A W Liu, G T Nepom, and W W Kwok. 1999. "MHC Class II Tetramers Identify Peptide-specific Human CD4(+) T Cells Proliferating in Response to Influenza A Antigen." *The Journal of Clinical Investigation* 104 (12) (December): R63–67. doi:10.1172/JCI8476.
- Ohashi, Pamela S., Stephan Oehen, Kurt Buerki, Hanspeter Pircher, Cara T. Ohashi, Bernhard Odermatt, Bernard Malissen, Rolf M. Zinkernagel, and Hans Hengartner. 1991. "Ablation of 'tolerance' and Induction of Diabetes by Virus Infection in Viral Antigen Transgenic Mice." *Cell* 65 (2) (April 19): 305–317. doi:10.1016/0092-8674(91)90164-T.
- Oshitani, Nobuhiko, Fumihiko Hato, Seiichi Kitagawa, Kiyoshi Maeda, Kazuhide Higuchi, Takayuki Matsumoto, and Tetsuo Arakawa. 2003. "Analysis of Intestinal HLA-DR Bound Peptides and Dysregulated Immune Responses to Enteric Flora in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease." *International Journal of Molecular Medicine* 11 (1) (January): 99–104.
- Papadopoulos, K P, N Suci-Foca, C S Hesdorffer, S Tugulea, A Maffei, and P E Harris. 1997. "Naturally Processed Tissue- and Differentiation Stage-specific Autologous Peptides Bound by HLA Class I and II Molecules of Chronic Myeloid Leukemia Blasts." *Blood* 90 (12) (December 15): 4938–4946.
- Pascal, M, G N Konstantinou, M Masilamani, J Lieberman, and H A Sampson. 2013. "In Silico Prediction of Ara h 2 T Cell Epitopes in Peanut-allergic Children." *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 43 (1) (January): 116–127. doi:10.1111/cea.12014.
- Peters V.B., and Sperber K.E. 1999. "The Effect of Viruses on the Ability to Present Antigens via the Major Histocompatibility Complex." *Microbes and Infection* 1 (4): 335–345. doi:10.1016/S1286-4579(99)80029-X.
- Peterson, Pärt, Kentaro Nagamine, Hamish Scott, Maarit Heino, Jun Kudoh, Nobuyoshi Shimizu, Stylianos E. Antonarakis, and Kai J.E. Krohn. 1998. "APECED: a Monogenic Autoimmune Disease Providing New Clues to Self-tolerance." *Immunology Today* 19 (9): 384–386. doi:10.1016/S0167-5699(98)01293-6.
- Petrie, Howard T, and Juan Carlos Zúñiga-Pflücker. 2007. "Zoned Out: Functional Mapping of Stromal Signaling Microenvironments in the Thymus." *Annual Review of Immunology* 25: 649–679. doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115715.
- Pfeifer, Nico, and Oliver Kohlbacher. 2008. "Multiple Instance Learning Allows MHC Class II Epitope Predictions Across Alleles." In *Algorithms in Bioinformatics*, edited by Keith Crandall and Jens Lagergren, 5251:210–221. Lecture Notes in Computer Science. Springer Berlin / Heidelberg. <http://www.springerlink.com/content/000680w151885415/abstract/>.
- Prabdi-Sing, Nishi, Adrian J Puren, and Sheila M Bowyer. 2012. "Sequence-based in Silico Analysis of Well Studied Hepatitis C Virus Epitopes and Their Variants in Other Genotypes (particularly Genotype 5a) Against South African Human Leukocyte Antigen Backgrounds." *BMC Immunology* 13: 67. doi:10.1186/1471-2172-13-67.
- Rammensee, H, J Bachmann, N P Emmerich, O A Bachor, and S Stevanović. 1999. "SYFPEITHI: Database for MHC Ligands and Peptide Motifs." *Immunogenetics* 50 (3-4) (November): 213–219.
- Rezzani, Rita, Francesca Bonomini, and Luigi Fabrizio Rodella. 2008. "Histochemical and Molecular Overview of the Thymus as Site for T-cells Development." *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 43 (2): 73–120. doi:10.1016/j.proghi.2008.03.001.
- Rhyner, C, T Kündig, C A Akdis, and R Cramer. 2007. "Targeting the MHC II Presentation Pathway in Allergy Vaccine Development." *Biochemical Society Transactions* 35 (Pt 4) (August): 833–834. doi:10.1042/BST0350833.
- Riese, Richard J, and Harold A Chapman. 2000. "Cathepsins and Compartmentalization in Antigen Presentation." *Current Opinion in Immunology* 12 (1) (February 1): 107–113. doi:10.1016/S0952-7915(99)00058-8.
- Robinson, James, Matthew J Waller, Peter Parham, Natasja de Groot, Ronald Bontrop, Lorna J Kennedy, Peter Stoehr, and Steven G E Marsh. 2003. "IMGT/HLA and IMGT/MHC: Sequence Databases for the Study of the Major Histocompatibility Complex." *Nucleic Acids Research* 31 (1) (January 1): 311–314.
- Rocha, Nuno, and Jacques Neeffjes. 2008. "MHC Class II Molecules on the Move for Successful Antigen Presentation." *The EMBO Journal* 27 (1) (January 9): 1–5. doi:10.1038/sj.emboj.7601945.
- Röhn, Till A, Marianne Boes, Dirk Wolters, Sebastian Spindeldreher, Bernd Müller, Hanno Langen, Hidde Ploegh, Anne B Vogt, and Harald Kropshofer. 2004. "Upregulation of the CLIP Self Peptide on Mature Dendritic Cells Antagonizes T Helper Type 1 Polarization." *Nature Immunology* 5 (9) (September): 909–918. doi:10.1038/ni1108.

- Ross, Peter, Jennifer C. Holmes, Gregory S. Gojanovich, and Paul R. Hess. 2012. "A Cell-based MHC Stabilization Assay for the Detection of Peptide Binding to the Canine Classical Class I Molecule, DLA-88." *Veterinary Immunology and Immunopathology* 150 (3–4): 206–212. doi:10.1016/j.vetimm.2012.08.012.
- Rossi, Marco, and James W Young. 2005. "Human Dendritic Cells: Potent Antigen-presenting Cells at the Crossroads of Innate and Adaptive Immunity." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 175 (3) (August 1): 1373–1381.
- Rudolph, Markus G., Robyn L. Stanfield, and Ian A. Wilson. 2006. "How Tcrs Bind Mhcs, Peptides, and Coreceptors." *Annual Review of Immunology* 24 (1): 419–466. doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115658.
- Saade, Murielle, Magali Irla, Miriam Yammine, Nicolas Boulanger, Geneviève Victorero, Renaud Vincentelli, Josef M Penninger, Georg A Holländer, Sophie Chauvet, and Catherine Nguyen. 2010. "Spatial (Tbata) Expression in Mature Medullary Thymic Epithelial Cells." *European Journal of Immunology* 40 (2) (February): 530–538. doi:10.1002/eji.200939605.
- Salazar-Mather, T P, R Ishikawa, and C A Biron. 1996. "NK Cell Trafficking and Cytokine Expression in Splenic Compartments after IFN Induction and Viral Infection." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 157 (7) (October 1): 3054–3064.
- Santambrogio, L, A K Sato, G J Carven, S L Belyanskaya, J L Strominger, and L J Stern. 1999. "Extracellular Antigen Processing and Presentation by Immature Dendritic Cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (26) (December 21): 15056–15061.
- Sato, Kojiro, Utako Sato, Shoko Tateishi, Kanae Kubo, Reiko Horikawa, Toshihide Mimura, Kazuhiko Yamamoto, and Hiroko Kanda. 2004. "Aire Downregulates Multiple Molecules That Have Contradicting Immune-enhancing and Immune-suppressive Functions." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 318 (4) (June 11): 935–940. doi:10.1016/j.bbrc.2004.04.116.
- Sauter, Birthe, Matthew L. Albert, Loise Francisco, Marie Larsson, Selin Somersan, and Nina Bhardwaj. 2000. "Consequences of Cell Death." *The Journal of Experimental Medicine* 191 (3) (February 7): 423–434. doi:10.1084/jem.191.3.423.
- Schumacher, Ton N.M., Marie-Thérèse Heemels, Jacques J. Neefjes, W. Martin Kast, Cees J.M. Melief, and Hidde L. Ploegh. 1990. "Direct Binding of Peptide to Empty MHC Class I Molecules on Intact Cells and in Vitro." *Cell* 62 (3): 563–567. doi:10.1016/0092-8674(90)90020-F.
- Seach, Natalie, Tomoo Ueno, Anne L. Fletcher, Tamara Lowen, Monika Mattesich, Christian R. Engwerda, Hamish S. Scott, et al. 2008. "The Lymphotoxin Pathway Regulates Aire-Independent Expression of Ectopic Genes and Chemokines in Thymic Stromal Cells." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 180 (8) (April 15): 5384–5392.
- Serradell, L, A Muntasell, M Catalfamo, M Martí, M Costa, C de Préal, and D Jaraquemada. 1999. "HLA-DM Can Partially Replace the Invariant Chain for HLA-DR Transport and Surface Expression in Transfected Endocrine Epithelial Cells." *Tissue Antigens* 53 (5) (May): 447–458.
- Sima, Anders A F, Weixian Zhang, Zhen-Guo Li, Yuichi Murakawa, and Christopher R Pierson. 2004. "Molecular Alterations Underlie Nodal and Paranodal Degeneration in Type 1 Diabetic Neuropathy and Are Prevented by C-peptide." *Diabetes* 53 (6) (June): 1556–1563.
- Singh, Amit Kumar, Amita Aggarwal, Smriti Chaurasia, and Ramnath Misra. 2013. "Identification of Immunogenic HLA-B*27:05 Binding Peptides of Salmonella Outer Membrane Protein in Patients with Reactive Arthritis and Undifferentiated Spondyloarthritis." *The Journal of Rheumatology* 40 (2) (February): 173–185. doi:10.3899/jrheum.110849.
- Singh, H, and G P Raghava. 2001. "ProPred: Prediction of HLA-DR Binding Sites." *Bioinformatics (Oxford, England)* 17 (12) (December): 1236–1237.
- Sinigaglia, Francesco, and Juergen Hammer. 1994. "Defining Rules for the peptide-MHC Class II Interaction." *Current Opinion in Immunology* 6 (1) (February): 52–56. doi:10.1016/0952-7915(94)90033-7.
- Smith, K. M., D. C. Olson, R. Hirose, and D. Hanahan. 1997. "Pancreatic Gene Expression in Rare Cells of Thymic Medulla: Evidence for Functional Contribution to T Cell Tolerance." *International Immunology* 9 (9) (September 1): 1355–1365. doi:10.1093/intimm/9.9.1355.
- Spencer, J, M Choy, T Hussell, L Papadaki, J P Kington, and P G Isaacson. 1992. "Properties of Human Thymic B Cells." *Immunology* 75 (4) (April): 596–600.
- Sprent, J. 1993. "Lifespans of Naive, Memory and Effector Lymphocytes." *Current Opinion in Immunology* 5 (3) (June): 433–438.
- Sprent, Jonathan, and Charles D Surh. 2011. "Normal T Cell Homeostasis: The Conversion of Naive Cells into Memory-phenotype Cells." *Nature Immunology* 12 (6) (May 18): 478–484. doi:10.1038/ni.2018.
- Starr, Timothy K., Stephen C. Jameson, and Kristin A. Hogquist. 2003. "Positive and Negative Selection of T Cells." *Annual Review of Immunology* 21 (April): 139–176. doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141107.
- Steiniger, B, P Barth, B Herbst, A Hartnell, and P R Crocker. 1997. "The Species-specific Structure of Microanatomical Compartments in the Human Spleen: Strongly Sialoadhesin-positive Macrophages Occur in the Perifollicular Zone, but Not in the Marginal Zone." *Immunology* 92 (2) (October): 307–316.
- Stern, L J, J H Brown, T S Jardetzky, J C Gorga, R G Urban, J L Strominger, and D C Wiley. 1994. "Crystal Structure of the Human Class II MHC Protein HLA-DR1 Complexed with an Influenza Virus Peptide." *Nature* 368 (6468) (March 17): 215–221. doi:10.1038/368215a0.
- Stoeckle, Christina, Paula Quecke, Thomas Rückrich, Timo Burster, Michael Reich, Ekkehard Weber, Hubert Kalbacher, Christoph Driessen, Arthur Melms, and Eva Tolosa. 2012. "Cathepsin S Dominates Autoantigen Processing in Human Thymic Dendritic Cells." *Journal of Autoimmunity*. doi:10.1016/j.jaut.2012.02.003. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841112000261>.
- Sturniolo, T, E Bono, J Ding, L Radrizzani, O Tuereci, U Sahin, M Braxenthaler, et al. 1999. "Generation of Tissue-specific and Promiscuous HLA Ligand Databases Using DNA Microarrays and Virtual HLA Class II Matrices." *Nature Biotechnology* 17 (6) (June): 555–561. doi:10.1038/9858.
- Surh, Charles D., and Jonathan Sprent. 2008. "Homeostasis of Naive and Memory T Cells." *Immunity* 29 (6) (December 19): 848–862. doi:10.1016/j.immuni.2008.11.002.
- Suri, Anish, Matteo G Levisetti, and Emil R Unanue. 2008. "Do the Peptide-binding Properties of Diabetogenic Class II Molecules Explain Autoreactivity?" *Current Opinion in Immunology* 20 (1) (February): 105–110. doi:10.1016/j.coi.2007.10.007.
- Suzuki, Osamu, Burkhard Hirsch, Masafumi Abe, Horst Dürkop, and Harald Stein. 2012. "Glectin-1-mediated Cell Death Is Increased by CD30-induced Signaling in Anaplastic Large Cell Lymphoma Cells but Not in Hodgkin Lymphoma Cells." *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 92 (2) (February): 191–199. doi:10.1038/labinvest.2011.151.

- Sylvester-Hvid, C, N Kristensen, T Blicher, H Ferré, S L Laudemøller, X A Wolf, K Lamberth, M H Nissen, L Ø Pedersen, and S Buus. 2002. "Establishment of a Quantitative ELISA Capable of Determining Peptide - MHC Class I Interaction." *Tissue Antigens* 59 (4) (April): 251–258.
- Takahama, Yousuke. 2011. "Medullary Interplay for Central Tolerance." *Blood* 118 (9) (September 1): 2380–2381. doi:10.1182/blood-2011-05-351734.
- Takahama, Yousuke, Keiji Tanaka, and Shigeo Murata. 2008. "Modest Cortex and Promiscuous Medulla for Thymic Repertoire Formation." *Trends in Immunology* 29 (6) (June): 251–255. doi:10.1016/j.it.2008.03.003.
- Takeda, S, H R Rodewald, H Arakawa, H Bluethmann, and T Shimizu. 1996. "MHC Class II Molecules Are Not Required for Survival of Newly Generated CD4+ T Cells, but Affect Their Long-term Life Span." *Immunity* 5 (3) (September): 217–228.
- Tanchot, C, F A Lemonnier, B Pérarnau, A A Freitas, and B Rocha. 1997. "Differential Requirements for Survival and Proliferation of CD8 Naïve or Memory T Cells." *Science (New York, N.Y.)* 276 (5321) (June 27): 2057–2062.
- Thornton, Angela M., and Ethan M. Shevach. 1998. "CD4+CD25+ Immunosuppressive T Cells Suppress Polyclonal T Cell Activation In Vitro by Inhibiting Interleukin 2 Production." *The Journal of Experimental Medicine* 188 (2) (July 20): 287–296.
- Tong, Joo Chuan, Tin Wee Tan, and Shoba Ranganathan. 2007. "Methods and Protocols for Prediction of Immunogenic Epitopes." *Briefings in Bioinformatics* 8 (2) (March): 96–108. doi:10.1093/bib/bbl038.
- Traka, Maria, Jeffrey L. Dupree, Brian Popko, and Domna Karagogeos. 2002. "The Neuronal Adhesion Protein TAG-1 Is Expressed by Schwann Cells and Oligodendrocytes and Is Localized to the Juxtaparanodal Region of Myelinated Fibers." *The Journal of Neuroscience* 22 (8) (April 15): 3016–3024.
- Uchida, Daisuke, Shigetsugu Hatakeyama, Akemi Matsushima, Hongwei Han, Satoshi Ishido, Hak Hotta, Jun Kudoh, et al. 2004. "AIRE Functions As an E3 Ubiquitin Ligase." *The Journal of Experimental Medicine* 199 (2): 167–172. doi:10.1084/jem.20031291.
- Van Oers, N S, N Killeen, and A Weiss. 1994. "ZAP-70 Is Constitutively Associated with Tyrosine-phosphorylated TCR Zeta in Murine Thymocytes and Lymph Node T Cells." *Immunity* 1 (8) (November): 675–685.
- Varrin-Doyer, Michel, Collin M. Spencer, Ulf Schulze-Toppoff, Patricia A. Nelson, Robert M. Stroud, Bruce A. C. Cree, and Scott S. Zamvil. 2012. "Aquaporin 4-specific T Cells in Neuromyelitis Optica Exhibit a Th17 Bias and Recognize Clostridium ABC Transporter." *Annals of Neurology* 72 (1): 53–64. doi:10.1002/ana.23651.
- Velásquez-Lopera, M M, L A Correa, and L F García. 2008. "Human Spleen Contains Different Subsets of Dendritic Cells and Regulatory T Lymphocytes." *Clinical and Experimental Immunology* 154 (1) (October): 107–114. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03734.x.
- Villaseñor, Jennifer, Whitney Besse, Christophe Benoist, and Diane Mathis. 2008. "Ectopic Expression of Peripheral-tissue Antigens in the Thymic Epithelium: Probabilistic, Monoallelic, Misinitiated." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (41) (October 14): 15854–15859. doi:10.1073/pnas.0808069105.
- Vita, Randi, Laura Zarebski, Jason A Greenbaum, Hussein Emami, Ilka Hoof, Nima Salimi, Rohini Damle, Alessandro Sette, and Bjoern Peters. 2010. "The Immune Epitope Database 2.0." *Nucleic Acids Research* 38 (Database issue) (January): D854–862. doi:10.1093/nar/gkp1004.
- Voutsas, Ioannis F, Angelos D Gritzapis, Louisa G Mahaira, Maria Salagianni, Eric von Hofe, Nikoleta L Kallinteris, and Constantin N Baxevas. 2007. "Induction of Potent CD4+ T Cell-mediated Antitumor Responses by a Helper HER-2/neu Peptide Linked to the Ii-Key Moiety of the Invariant Chain." *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer* 121 (9) (November 1): 2031–2041. doi:10.1002/ijc.22936.
- Wahlström, Jan, Jörn Dengjel, Bengt Persson, Hüseyin Duyar, Hans-Georg Rammensee, Stefan Stevanović, Anders Eklund, Robert Weissert, and Johan Grunewald. 2007. "Identification of HLA-DR-bound Peptides Presented by Human Bronchoalveolar Lavage Cells in Sarcoidosis." *Journal of Clinical Investigation* 117 (11) (November): 3576–3582. doi:10.1172/JCI32401.
- Wan, Ji, Wen Liu, Qiqi Xu, Yongliang Ren, Darren R Flower, and Tongbin Li. 2006. "SVRMHC Prediction Server for MHC-binding Peptides." *BMC Bioinformatics* 7: 463. doi:10.1186/1471-2105-7-463.
- Wang, Jia-huai, and Ellis L. Reinherz. 2002. "Structural Basis of T Cell Recognition of Peptides Bound to MHC Molecules." *Molecular Immunology* 38 (14): 1039–1049. doi:10.1016/S0161-5890(02)00033-0.
- Wang, Peng, John Sidney, Yohan Kim, Alessandro Sette, Ole Lund, Morten Nielsen, and Bjoern Peters. 2010. "Peptide Binding Predictions for HLA DR, DP and DQ Molecules." *BMC Bioinformatics* 11 (November 22): 568. doi:10.1186/1471-2105-11-568.
- Wang, Yue-Dan, Wan-Yee Fion Sin, Guo-Bing Xu, Huang-Hua Yang, Tin-yau Wong, Xue-Wen Pang, Xiao-Yan He, et al. 2004. "T-Cell Epitopes in Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Spike Protein Elicit a Specific T-Cell Immune Response in Patients Who Recover from SARS." *Journal of Virology* 78 (11) (June): 5612–5618. doi:10.1128/JVI.78.11.5612-5618.2004.
- Warmerdam, P A, E O Long, and P A Roche. 1996. "Isoforms of the Invariant Chain Regulate Transport of MHC Class II Molecules to Antigen Processing Compartments." *The Journal of Cell Biology* 133 (2) (April): 281–291.
- Wilson, Nicholas S, Dima El-Sukkari, Gabrielle T Belz, Christopher M Smith, Raymond J Steptoe, William R Heath, Ken Shortman, and José A Villadangos. 2003. "Most Lymphoid Organ Dendritic Cell Types Are Phenotypically and Functionally Immature." *Blood* 102 (6) (September 15): 2187–2194. doi:10.1182/blood-2003-02-0513.
- Wu, Li, and Ken Shortman. 2005. "Heterogeneity of Thymic Dendritic Cells." *Seminars in Immunology* 17 (4) (August): 304–312. doi:10.1016/j.smim.2005.05.001.
- Yasutomo, K, B Lucas, and R N Germain. 2000. "TCR Signaling for Initiation and Completion of Thymocyte Positive Selection Has Distinct Requirements for Ligand Quality and Presenting Cell Type." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 165 (6) (September 15): 3015–3022.
- Zavala-Ruiz, Zarixia, Eric J Sundberg, Jennifer D Stone, Daniel B DeOliveira, Iat C Chan, Jennifer Svendsen, Roy A Mariuzza, and Lawrence J Stern. 2003. "Exploration of the P6/P7 Region of the Peptide-binding Site of the Human Class II Major Histocompatibility Complex Protein HLA-DR1." *The Journal of Biological Chemistry* 278 (45) (November 7): 44904–44912. doi:10.1074/jbc.M307652200.
- Zehn, Dietmar, and Michael J Bevan. 2006. "T Cells with Low Avidity for a Tissue-restricted Antigen Routinely Evade Central and Peripheral Tolerance and Cause Autoimmunity." *Immunity* 25 (2) (August): 261–270. doi:10.1016/j.immuni.2006.06.009.

- Zhang, Hao, Ole Lund, and Morten Nielsen. 2009. "The PickPocket Method for Predicting Binding Specificities for Receptors Based on Receptor Pocket Similarities: Application to MHC-peptide Binding." *Bioinformatics* 25 (10) (May 15): 1293–1299. doi:10.1093/bioinformatics/btp137.
- Zhang, Hao, Claus Lundegaard, and Morten Nielsen. 2009. "Pan-specific MHC Class I Predictors: a Benchmark of HLA Class I Pan-specific Prediction Methods." *Bioinformatics (Oxford, England)* 25 (1) (January 1): 83–89. doi:10.1093/bioinformatics/btn579.
- Zhang, Lianming, Yiqing Chen, Hau-San Wong, Shuigeng Zhou, Hiroshi Mamitsuka, and Shanfeng Zhu. 2012. "TEPITOPEpan: Extending TEPITOPE for Peptide Binding Prediction Covering over 700 HLA-DR Molecules." *PLoS ONE* 7 (2) (February 23): e30483. doi:10.1371/journal.pone.0030483.
- Zhang, Lianming, Keiko Udaka, Hiroshi Mamitsuka, and Shanfeng Zhu. 2011. "Toward More Accurate Pan-Specific MHC-Peptide Binding Prediction: A Review of Current Methods and Tools." *Briefings in Bioinformatics* (September 22). doi:10.1093/bib/bbr060. <http://bib.oxfordjournals.org/content/early/2011/09/21/bib.bbr060>.
- Ziegler, Andreas, Claudia A Müller, Rainer A Böckmann, and Barbara Uchanska-Ziegler. 2009. "Low-affinity Peptides and T-cell Selection." *Trends in Immunology* 30 (2) (February): 53–60. doi:10.1016/j.it.2008.11.004.
- Zinkernagel, R M, and P C Doherty. 1974. "Restriction of in Vitro T Cell-mediated Cytotoxicity in Lymphocytic Choriomeningitis Within a Syngeneic or Semiallogeneic System." *Nature* 248 (450) (April 19): 701–702.