

**Caracterização proteometabolômica dos componentes
da teia da aranha *Nephila clavipes* utilizados na
estratégia de captura de presas**

Franciele Grego Esteves

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

**Rio Claro
São Paulo - Brasil
Março/2017**

FRANCIELE GREGO ESTEVES

CARACTERIZAÇÃO PROTEOMETABOLÔMICA DOS
COMPONENTES DA TEIA DA ARANHA *Nephila clavipes*
UTILIZADOS NA ESTRATÉGIA DE CAPTURA DE PRESA

Orientador: Prof. Dr. Mario Sergio Palma

Co-Orientador: Dr. José Roberto Aparecido dos Santos-Pinto

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio
Claro-SP, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Biologia
Celular e Molecular.

Rio Claro

2017

595.44 Esteves, Franciele Grego
E79c Caracterização proteometabolômica dos componentes da
 teia da aranha *Nephila clavipes* utilizados na estratégia de
 captura de presas / Franciele Grego Esteves. - Rio Claro, 2017
 221 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
 Instituto de Biociências de Rio Claro
 Orientador: Mario Sergio Palma
 Coorientador: José Roberto Aparecido dos Santos-Pinto

 1. Aracnídeo. 2. Seda de aranha. 3. Glândulas de seda. 4.
 Toxinas. 5. Abordagem proteômica shotgun. 6. Abordagem
 metabolômica. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Caracterização proteometabolômica dos componentes da teia da aranha *Nephila clavipes* utilizados na estratégia de captura de presas

AUTORA: FRANCIELE GREGO ESTEVES

ORIENTADOR: MARIO SERGIO PALMA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARIO SERGIO PALMA
CEIS / IB Rio Claro


Prof. Dr. DANIEL MARTINS-DE-SOUZA
Departamento de Bioquímica / UNICAMP


Prof. Dr. PAULO CÉSAR GOMES
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara / UNESP

Rio Claro, 22 de março de 2017

*Dedico esse trabalho à minha família
e aos meus amigos.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por me fortalecer no dia a dia, por me capacitar a enfrentar os obstáculos e momentos difíceis da vida. Por me encorajar e estar ao meu lado na jornada que escolhi seguir e para a nova a qual Ele me guiará. E por acreditar e confiar que de alguma maneira está “olhando por mim”, me auxiliando a fazer as melhores escolhas para alcançar meus sonhos, objetivos e conquistas.

Agradeço a minha mãe Adriana e o meu pai Cleber Cassiano por sempre estarem ao meu lado, pelo exemplo de pessoas de força, caráter, superação e fé. Vocês são inspiração para meu crescimento e amadurecimento pessoal, obrigada por transmitirem a mim valores tão preciosos, os quais me permitiram chegar até aqui! Obrigada pelo amor, paciência e por aceitarem as minhas escolhas. Ao meu irmão Lucas pelo companheirismo, risadas e momentos de distração. Eu amo muito vocês três! Aos meus avós Anabela e Paschoal, Aparecida e Osvaldo pelo apoio e o incentivo aos estudos, por confiarem em mim e no meu potencial.... Agradeço a todos pelo apoio, amor e carinho, enfim, toda a atitude e pensamentos positivos de vocês foram fundamentais para que eu chegasse até esta etapa da minha vida!

Agradeço a minha amiga Manoela (Manu), pela amizade de anos, pelo carinho, troca de experiências e risadas, os nossos encontros são os melhores. Ao Julio pelo carinho e a amizade construída! Pela paciência, apoio e por me escutar sempre! E me fazer sorrir até nos momentos em que isso seria a última coisa que eu faria. Ao kenny pela amizade, conselhos e risadas! Maria Julia, Mitra e Letícia pela amizade mantida até hoje, mesmo que a distância.... Obrigada por vibrarem comigo a cada conquista e sempre torcerem pelo meu melhor! Sem dúvida vocês tiveram um papel fundamental neste percurso.

Agradeço o meu orientador, Prof. Dr. Mario Sergio Palma, pela oportunidade, ensinamentos, orientação, e pelo exemplo de postura profissional e dedicação à pesquisa. Obrigada por nesses anos me ensinar o que é a ciência, para onde ela nos leva e quais são as responsabilidades quando decidimos e escolhemos seguir a carreira acadêmica, a qual representa “um universo” do prazer do conhecimento e aprendizagem, de mais perguntas do que respostas, de desafios e dificuldades, mas também de grandes oportunidades. Enfim, obrigada pela oportunidade cedida, por transferir a mim o conhecimento e amor pela ciência, pela paciência, e confiança em mim depositada. Muito obrigada!

Agradeço também ao grupo do Laboratório de Biologia Estrutural e Zooquímica: Anally (Ana), Bibiana (Bibi), Caroline (Carol), José Roberto (Beto), Kenny,

Marcel e Nathalia, por toda ajuda direta ou indiretamente concedida e pela troca de experiências profissionais e conversas não profissionais também.

Agradeço em especial ao meu co-orientador Dr. José Roberto, pela ajuda e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho, pela paciência e por todo ensinamento e conhecimento científicos transmitidos a mim! Você foi fundamental no meu amadurecimento profissional e desenvolvimento do trabalho em grupo. E claro, obrigada pelas conversas, risadas e pela amizade construída! A Carool, pela troca de experiências profissionais, conversas e risadas! Agradeço a vocês por todo nosso empenho, esforço e trabalho em equipe, tentando dar o nosso melhor sempre! Considero ter sorte por ter colegas de trabalho como vocês. Contem sempre comigo. Enfim, obrigada pelo apoio e pela ENORME ajuda. Vocês são parte deste trabalho.

Agradeço à Universidade pela infraestrutura e pelo apoio acadêmico. Ao Luiz, a Ivana e o Felipe da Pós-graduação, sempre atenciosos! Agradeço aos funcionários por todos os serviços prestados e ao CEIS pela infraestrutura e materiais cedidos.

A FAPESP, pelo suporte financeiro concedido durante o desenvolvimento deste projeto (Proc. 2015/14220-8), junto ao programa BIOprocpecTA/FAPESP (Proc. 2011/51684-1).

Agradeço especialmente a todas as aranhas que foram utilizadas no presente estudo, em prol do conhecimento e desenvolvimento da ciência.

“Um dia você aprende que o tempo não é algo que possa voltar para trás, e que não importa em quantos pedaços seu coração foi partido, o mundo não vai parar para que você o conserte. Portanto... plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprende que realmente pode suportar... que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida!” - Willian Shakespeare

“Assim cada pessoa deixa sua marca em minha vida para sempre, umas porque me ajudam na construção, outras porque me apresentam projetos de sonho e outras ainda porque me desafiam a construí-los” (autor desconhecido modificado por Franciele).

Enfim, á todos o meu MUITO OBRIGADA!

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

% - por cento	FA - Ácido fórmico
α - Alfa	FDR - False Discovery Rate
β - Beta	FLA - Glândula flageliforme
Δ - Delta	FM - Fórmula molecular
°C - Graus Celsius	FOG - termonebulizador
γ - gama	GC - Cromatografia gasosa
μg - Micrograma	GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada ao espectrometro de massas
μL - Microlitro	GCxGC-MS - Cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada ao espectrômetro de massas
ϕ - Diâmetro	GO - Gene Ontology
Å - Ângstron	HFBA - ácido Heptafluorobutírico
ACN - Acetonitrila	HPLC - Cromatografia líquida de alta pressão
AGRE - Glândula agregada	IAA - Iodoacetamida
AMA - Glândula ampulada maior	iGlu - receptores ionotróficos de glutamato
AME - Glândula ampulada menor	IP - Índice de Preferência
CID - Dissociação induzida por colisão	kDa - Kilodalton
cm - Centímetro	L/min - Litros por minuto
Da - Dalton	LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada a espectrometro de massas
DDT - Ditreitol	LC-MS-IT-TOF - Cromatografia líquida acoplada ao espectrometro de massas <i>ion trap time-of-flight</i>
DI - Diâmetro	M - Molar
ECD - Dissociação por captura de elétrons	MEV - Microscopia eletrônica de varredura
ESI - Ionização por eletrospray	MET - Microscopia eletrônica de transmissão
ETD - Dissociação por transferência de elétrons	mg - Miligrama

mL - Mililitros	SCAN - varredura de espectro
mL/min - Mililitros por minuto	TFA - Ácido trifluoracético
ML - Microscopia de luz	TIC - Cromatograma de íons totais
Min – minutos	Tr ¹ - tempo de retenção da primeira dimensão
mM - Milimolar	Tr ² - tempo de retenção da segunda dimensão
mm - Milímetros	UBV - ultrabaixo volume
MS - Espectrometria de massas	US\$ - dólares
MS/MS - Espectrometria de massas sequencial	ug/cm ² - micrograma por centímetro quadrado
m/v - Massa por volume	V - Volts
m/z - Massa por carga	VE - Vesículas extracelulares
MW - Peso molecular	VMLs - Vesículas multilamelares
N - Normal	V/min - Volts por minuto
NanoLC-MS ⁿ - Cromatografia líquida em nanoescala acoplada a espectrometria de massas	v/v - volume volume
NCBI - <i>National Center for Biotechnology Information</i>	
ng - Nanograma	
ng/μL - Nanograma por microlitro	
nm - Nanômetro	
ns - Nanosegundo	
PIP – Probabilidade de Identificação da Proteínas	
PTMs - Modificações pós- traducionais	
RMN - Ressonância magnética nuclear	
RP-HPLC - Cromatografia líquida de alto desempenho	
RP-LCMS - Cromatografia líquida de alto desempenho acoplada ao espectrômetro de massas	
rpm - Rotações por minuto	

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. a) <i>Nephila clavipes</i> - aranha construtora de teia aérea orbital coletada no campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) localizado na cidade de Rio Claro, São Paulo. b) Em detalhe os fios de coloração amarelada que formam a teia orbital.....	21
Figura 2. a) Esquema representativo da anatomia de aranhas, destacando a região posterior abdominal, a qual estão localizadas as glândulas produtoras de seda. b) Em detalhe as sete glândulas produtoras de seda descritas para as aranhas do gênero <i>Nephila</i> : ampulada maior, flageliforme, ampulada menor, piriforme, agregada, tubuliforme e aciniforme (adaptado de RÖMER et al., 2008).....	23
Figura 3. Tipos de fios de seda secretados pelas aranhas tecedoras de teias orbitais. a) glândula ampulada maior - secreta os fios de seda dos raios da teia orbital, do <i>frame</i> e da linha de segurança “escape”; b) glândula flageliforme - secreta os fios de seda da espiral de captura; c) glândula ampulada menor - secreta os fios de seda que auxiliam a espiral de captura; d) glândula piriforme - secreta os fios de seda das conexões entre as sedas e a fixação sobre um substrato; e) glândula agregada - secreta um revestimento adesivo aquoso sobre a espiral; f) glândula tubuliforme - secreta os fios de seda que cobre/protege a ooteca externamente (bolsa de seda) após a postura; g) glândula aciniforme - secreta os fios de seda que protege a ooteca internamente (adaptado de RÖMER et al., 2008).....	24
Figura 4. Estrutura das gotículas presentes nos fios da espiral de captura da aranha <i>Nephila clavipes</i> . a) Eletromicrografia de varredura de ampliação da gotícula mostrando sua formação em várias camadas e ranhuras, base para a formação da gotícula; e ainda é possível verificar o fio axial duplo e identificar uma região mais alargada, consequência da deposição da gotícula viscosa. b) Eletromicrografia de varredura mostrando uma gotícula da teia que apresenta a camada externa (superfície da gotícula em cinza) e o conteúdo viscoso interno (camada interna de lipídeos em preto) (SALLES et al., 2006).....	25
Figura 5. Estrutura química da (I) toxina alcalóide (1-(2-guanidinoetil)-1,2,3,4-tetrahydro-3-(hidroximetil)- β -carbonila) e de um (II) composto organometálico (ferro [1-(3-diazenilfenil) etanol] identificados na seda da teia da aranha <i>N. clavipes</i> (MARQUES et al., 2005).....	28
Figura 6. Estrutura química da (I) glutamina, (II) ácido hidroxí-indolacético, (III) 6-hidroxitripargina, (IV) arginina, (V) epinefrina, (VI) espermidina, (VII) prolina, (VIII) ácido cisteico, identificados na seda da teia da aranha <i>N. clavipes</i> a partir da comparação com a biblioteca de padrões, utilizando-se das condições cromatográficas padronizadas por Saidemberg (2012).....	29
Figura 7. Estrutura química de duas acilpoliaminas: (I) NPTX-12 e (II) NPTX-615 identificadas na seda da teia da aranha <i>N. clavipes</i> a partir da comparação com a biblioteca de padrões, utilizando-se das condições cromatográficas padronizadas por Saidemberg (2012).....	30
Figura 8. Esquema representativo da preparação da amostra para a análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). a) Experimento I - os fios permaneceram em sua forma íntegra para a observação das gotículas. b) Experimento II - os fios foram tratados, verificando dessa forma a remoção das gotículas e visualização apenas das fibras dos fios.....	36
Figura 9. Esquema representativo da preparação da amostra para a análise por microscopia de luz (ML). Coleta da teia e separação da camada oleosa extraída das gotículas presentes nos fios de seda. Essa separação ocorreu em água, sob agitação durante um período de 4 horas. Posteriormente o microtubo com o extrato foi deixado em	

- repouso para que houvesse a separação das fases pelo processo de decantação. A camada sobrenadante, que corresponde a uma fina camada de óleo, foi coletada e inserida em lâmina e coberta por lamínula, para ser analisada por microscópio de luz..... 38
- Figura 10.** Esquema representativo do Bioensaio de Repelência. **a)** placa de Petri evidenciando a linha divisória que separa a área com a solução (composto + solvente) da área apenas com o solvente. **b)** experimento controle com o papel de filtro não tratado quimicamente, demonstrando a dispersão aleatória das formigas. **c)** Perfil de dispersão das formigas na placa de Petri quando ocorre repelência a um dado composto. **d)** Perfil de dispersão das formigas na placa de Petri quando não ocorre repelência a um dado composto..... 42
- Figura 11.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das gotículas dos fios de seda da teia da aranha *N. clavipes*. **a)** imagem da distribuição das gotículas sobre o fio intacto da espiral de captura. **b)** imagem com vista aproximada destacando uma gotícula com formato ovóide. **c)** imagem de dois fios de seda após a lavagem das gotículas com água e metanol (100%). **d)** imagem com vista aproximada de um dos fios de seda, mostrando que as gotículas foram removidas após a lavagem..... 49
- Figura 12.** Microscopia de luz (ML). **a)** imagem da fina camada oleosa sobrenadante do “lavado aquoso da teia” de *N. clavipes*. **b)** aumento da figura “a” destacando o formato globular das vesículas. **c)** aumento da figura “b” destacando conteúdo mais denso armazenado no interior da vesícula, apontado por setas pretas. **d)** imagem evidenciando o formato fusiforme presumivelmente pela fusão de vesículas lipídicas, apontadas por setas pretas..... 50
- Figura 13.** Ultra secção da gotícula envolta do fio de seda pertencente a espiral de captura da teia de *N. clavipes* - técnica de citoquímica de ácido tânico e imidazol para identificação de proteínas e lipídeos respectivamente através de MET. É possível observar diversas estruturas globulares (vesículas lipídicas) suspensas dentro do conteúdo aquoso da gotícula. No interior das vesículas lipídicas há conteúdo eletrodense, que correspondem as proteínas armazenadas (figura extraída da tese de SALLES, 2003). 51
- Figura 14.** Cromatograma GCxGC-2D representativo da análise da amostra de seda (“lavado hexânico da teia”) da aranha *N. clavipes* mostrando os 316 picos cromatográficos (cada “mancha” representa um pico)..... 56
- Figura 15.** Cromatograma 3D representativo da análise do lavado hexânico da teia da aranha *N. clavipes*..... 57
- Figura 16.** Cromatograma GCxGC-2D representativo das análises dos padrões, sobrepostos à amostra de lavado hexânico da teia de *N. clavipes*. Padrões de alcanos saturados (C7-C40) e padrões de ácidos graxos (C16:1, C18:1, C18:2). O pico cromatográfico assinalado com o círculo branco corresponde ao ácido palmítico e o círculo vermelho corresponde ao ácido dodecanóico..... 60
- Figura 17.** Cromatograma 2D representativo de bolhas (“bubble-plot”) da análise da amostra de seda (“lavado da teia”) da aranha *N. clavipes*, mostrando a área superficial e cada pico cromatográfico representado por uma bolha, a qual possui um valor de área proporcional ao seu tamanho em diâmetro (ϕ)..... 62
- Figura 18.** Cromatograma GCxGC-2D representativo da análise da amostra de seda (“lavado da teia”) da aranha *N. clavipes*, mostrando o agrupamento de cada função orgânica representado por uma cor diferente. Contorno laranja - álcool, contorno preto - ácidos graxos, contorno vermelho - metil éster e contorno branco - hidrocarbonetos..... 63
- Figura 19.** Imagens registradas dos bioensaios de repelência (Experimento I-V). **a)** esquema da Placa de Petri evidenciando a linha divisória que separa a área com a solução repelente (composto + solvente, lado direito da placa indicado pelo círculo

- laranja) e a área apenas com o solvente (lado esquerdo da placa indicado pelo círculo verde). **b)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência ao “extrato da teia” (Experimento I). **c)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência ao ácido dodecanóico (Experimento II). **d)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando atração ao ácido palmitoléico (Experimento III). **e)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência à mistura de hidrocarbonetos C7-C40 (Experimento V). **f)** perfil de dispersão das formigas na placa sem tratamento químico prévio do papel de filtro – controle (Experimento V)..... 69
- Figura 20.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV). **a)** imagem da região dorsal da cabeça e tórax da abelha *A. mellifera*, aumento de 30x. **b)** aumento da figura “a” destacando a região dorsal do tórax, onde foi aplicada as diferentes concentrações do ácido palmítico para cada experimento, aumento de 50x..... 72
- Figura 21.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da camada superficial da cutícula de *A. mellifera* (experimento I-V). **a)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 2ng/μL (experimento II). **b)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 3ng/μL (experimento III). **c)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 4ng/μL (experimento IV). **d)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 5ng/μL (experimento V); nesta figura é possível observar uma região em que existe um degaste da camada superficial da cutícula, provavelmente devido ao processo de desintegração/dissolução causado pelo ácido palmítico (seta preta). **e)** controle com metanol 100% (experimento I), a cutícula se apresentou em sua forma íntegra Todas as fotos se apresentam no aumento de 3000x..... 73
- Figura 22.** Diagrama de Venn representando as proteínas identificadas, que são comuns ou exclusivas, das 4 principais glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As glândulas ampulada maior, ampulada menor, flageliforme e agregada estão envolvidas no processo de fiação para a construção da teia..... 96
- Figura 23.** Diagrama de Venn representando as proteínas identificadas, que são comuns ou exclusivas, do conjunto de glândulas produtoras de seda (AGRE, AMA, FLA e AME) e a seda da teia da aranha *N. clavipes*..... 97
- Figura 24.** Diagrama de Venn representando as toxinas identificadas, que são comuns ou exclusivas, das 4 principais glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As glândulas ampulada maior, ampulada menor, flageliforme e agregada estão envolvidas no processo de fiação para a construção da teia.das glândulas produtoras de seda (agregada, flageliforme, ampulada maior e menor)..... 107
- Figura 25.** Diagrama de Venn representando as toxinas identificadas, que são comuns ou exclusivas, do conjunto de glândulas produtoras de seda (AGRE, AMA, FLA e AME) e a seda da teia da aranha *N. clavipes*..... 108
- Figura 26.** Alinhamentos de algumas das proteínas semelhantes a conotoxinas. **a)** Alinhamento da Omega-conotoxina (códigos de acesso: Q9XZK4, Q9XZL5, Q3YEF3, Q9U651, Q9XZK3). **b)** Alinhamento da Alpha-conotoxin (códigos de acesso: Q6PTD5, Q6PTD4, A1X8B6, A1X8C3). **c)** Alinhamento da Alpha-D-conotoxin (códigos de acesso: P0CE28, P0CE29, P0CE30). Vermelho - região altamente conservada; azul - região de baixa conservação; amarelo - todos os fragmentos proteolíticos obtidos experimentalmente para as proteínas semelhantes à conotoxinas identificadas na seda da teia e glândulas produtoras de seda de *N. clavipes*..... 114
- Figura 27.** Exemplificação de possibilidades de proteínas encriptadas na seda da teia da aranha *N. clavipes*. Representação desde a extração das proteínas da seda da teia, seguida de digestão em solução - shotgun em que o pool de proteínas digerido por tripsina gerou um pool de fragmentos peptídicos, os quais foram analisados por LC-MS. Os resultados foram processados por bioinformática e a identificação obtida através da sobreposição dos fragmentos peptídicos obtidos experimentalmente na amostra da seda da teia com proteínas depositadas nos bancos de dados. **a)** Conotoxina 1 é identificada

através da sobreposição de 2 fragmentos peptídicos (Z3 e Z4), os quais são originados da Proteína Z (proteína-mãe), sendo assim, a conotoxina 1 esta encriptada na proteína Z.	
b) Conotoxina 2 é identificada através da sobreposição de 3 fragmentos peptídicos (Y4, Y5 e X4), os quais são originados de duas proteínas-mãe diferentes, sendo assim, fragmentos funcionais da conotoxina 2 estão encriptados na proteína Y e proteína X.	
c) Conotoxina 3 é identificada através da sobreposição de 3 fragmentos peptídicos (X1, Y2 e Z6), os quais são originados de três proteínas-mãe diferentes, sendo assim, fragmentos funcionais da conotoxina 3 estão encriptados na proteína X, proteína Y e Proteína Z.....	118
Figura 28. Distribuição do total de proteínas identificadas nas glândulas produtoras de seda e na seda da teia da aranha <i>N. clavipes</i> , de acordo com o seu papel funcional.....	120
Figura 29. Distribuição das proteínas identificadas nas glândulas de seda e na seda da teia de acordo com o seu papel funcional.....	121
Figura 30. Representação do mecanismo geral de ação proposto para as proteínas e compostos de baixa massa molecular identificados nas glândulas produtoras de seda e na seda da (a) aranha <i>N. clavipes</i> . (b) glândula produtora de seda; (c) ducto de fiação, onde ocorrem as trocas de íons, perda de água, dobramento/conformação das espidroínas; (d) fibras da seda, constituídas pelas espidroínas, após a secreção pelo ducto de fiação; (e) captura do inseto-presa pela teia, destacando o contato da cutícula do inseto com as gotículas presentes na seda; (f) ácidos graxos presentes na gotícula podem interagir quimicamente com a camada de cera da cutícula do inseto, promovendo a dissolução/desestabilização da camada de cera com abertura de espaços/poros e aumento da permeabilidade da cutícula; (g) representação básica do tegumento do inseto-presa, destacando a liberação de vesículas (em amarelo) após o contato da cutícula do inseto-presa com as gotículas. A seta curvilínea pontilhada indica o processo de liberação e fusão das vesículas com a membrana do tecido mole do inseto-presa; após essa fusão ocorre a liberação do conteúdo vesicular que contém toxinas, neurotoxinas e (enzimas proteolíticas (representadas pelos pontos em cinza) dentro da hemocele.....	124

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Peptídeos da família das bradicininas identificados na seda da teia da aranha <i>N. clavipes</i> (VOLSI et al., 2006).....	28
Tabela 2. Identificação de alguns compostos presentes no lavado hexânico da teia da aranha <i>N. clavipes</i> , por comparação com padrões químicos, mostrando o tempo de retenção da primeira (Tr1) e da segunda (Tr2) dimensão, relação massa carga (m/z), fórmula molecular (FM) e a % relativa do volume do pico.....	58
Tabela 3. Bioensaio de repelência do extrato da teia de <i>N. clavipes</i> em água. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o extrato da teia mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,92).....	66
Tabela 4. Bioensaio de repelência do ácido dodecanóico em metanol. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o ácido dodecanóico mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,98).....	67
Tabela 5. Bioensaio de repelência do ácido palmitoléico em metanol. Foram realizados 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o ácido palmitoléico não se mostrou eficiente em repelir as formigas (IP= +0,42).....	67
Tabela 6. Bioensaios de repelência do mix de hidrocarbonetos C7-C40 em hexano. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o mix de hidrocarbonetos mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,98).....	68
Tabela 7. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – i) Proteínas estruturais da seda da teia que compõem as fibras da seda, as espidroínas. Na tabela foram apenas consideradas proteínas pertencentes a ordem Araneae (aranhas) obtidas através da busca contra o banco de dados Arachnidae. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.....	79
Tabela 8. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – ii) Transporte de íons durante o processo de fiação da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxos, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.....	82
Tabela 9. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iii) Dobramento/conformação e PTM das espidroínas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxos, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.....	84
Tabela 10. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iv) Proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxos, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.....	87

Tabela 11. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – v) Preservação fibrilar da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBIInr. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína..... 89

Tabela 12. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – vi) Proteínas housekeeping. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBIInr. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína..... 91

Tabela 13. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes apenas a ordem Araneae (aranhas). MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína..... 99

Tabela 14. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas proteínas de venenos de organismos marinhos e insetos em sua maioria da ordem Hymenoptera, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arthropoda e NCBIInr. MW: Peso Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína..... 104

Tabela 15. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas apenas as proteínas semelhantes à conotoxinas, identificadas na seda da teia e nas glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As buscas foram realizadas contra o banco de dados do NCBIInr. MW: Peso Molecular, MS MS Peptídeo: fragmentos peptídicos obtidos experimentalmente na seda e nas glândulas produtoras de seda; PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína..... 111

RESUMO

A aranha *Nephila clavipes* pertence ao grupo das aranhas construtoras de teias orbitais, que desenvolveram a capacidade de sintetizar fios adesivos. Esses fios adesivos são encontrados nos círculos centrais destas teias, e apresentam gotículas oleosas contendo vesículas que aprisionam em seu interior soluções de proteínas, peptídeos e muitos compostos de baixa massa molecular. Estudos da análise química dessas gotículas identificaram toxinas, ácidos graxos saturados e até alcaloides. Especula-se que quando um inseto-presa é aprisionado pela teia, os ácidos graxos dessas gotículas auxiliam no processo de desestabilização da cutícula do inseto, permitindo a difusão das toxinas para o interior do corpo da presa. Também são relatados alcaloides que atuam como repelentes a predadores em algumas teias, e como inseto-toxinas em outras. A presença dessas moléculas são evidências de que a teia não é uma simples ferramenta para captura mecânica e aprisionamento de presas, mas sim uma complexa estrutura, que parece desempenhar um papel estratégico “ativo” na captura de suas presas. Considerando isso, o objetivo deste estudo foi analisar a ultraestrutura, a disposição das gotículas sobre os fios de seda, e visualizar a presença de vesículas lipídicas extraídas das gotículas da teia orbital da aranha *N. clavipes* através de microscopia. Além disso explorou-se a riqueza do perfil químico dos compostos de baixas massas moleculares da seda da teia através da cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a um detector de massas; e por fim investigar a riqueza de proteínas presentes na seda da teia e nas glândulas produtoras de seda, através da digestão proteolítica em solução, cromatografia líquida, e espectrometria de massas, ressaltando as possíveis toxinas envolvidas na paralisia de presas. Primeiramente, foi realizado um estudo com microscopia eletrônica de varredura das gotículas depositadas sobre os fios de seda, e com microscopia de luz das vesículas lipídicas que se encontram em suspensão, retidas dentro do conteúdo aquoso das gotículas. Posteriormente na análise da perfilagem química foram encontrados 316 compostos, dentre esses 25 foram identificados a partir de padrões químicos, sendo a maioria hidrocarbonetos saturados e alguns ácidos graxos. Este estudo também demonstrou através de

bioensaios de repelência, que alguns dos ácidos graxos e hidrocarbonetos identificados nas gotículas da teia apresentaram potencial como repelentes a formigas invasoras. Enquanto que o ácido palmítico apresentou ação potencial no processo de dissolução/desintegração da camada superficial da cutícula de abelhas, para permitir a passagem das toxinas ao interior do corpo das presas da aranha *N. clavipes*. Na análise proteômica foram indentificados um total de 2051 proteínas na seda da teia, sendo que 163 dessas proteínas são toxinas. Também foram identificadas um total de 927, 1961, 849, e 860 proteínas nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor, respectivamente; sendo que desses totais, 194, 78, 32 e 30 são toxinas pertencentes a cada glândula citada acima, respectivamente. Este estudo sugere que as glândulas de seda, principalmente a glândula agregada, podem sintetizar e depositar sobre a seda da teia toxinas importantes, que são comuns a alguns venenos animais, tornando dessa forma as teias como uma estrutura ativa na captura de presas. A partir dos resultados obtidos foi possível elaborar uma hipótese que relaciona o papel das gotículas, vesículas lipídicas e dos compostos identificados como parte da estratégia química da teia na pré-digestão e paralisia da presa. Portanto, este estudo forneceu uma melhor compreensão da química-ecológica da captura de presas pela teia da aranha *N. clavipes*, além de informações que podem possibilitar o uso desses compostos no desenvolvimento de inseticida-seletivo, ou até mesmo em possíveis aplicações farmacológicas.

Palavras chave: seda de aranha, glândulas de seda, toxinas, abordagem proteômica shotgun, abordagem metabolômica, microscopia, bioensaios.

ABSTRACT

Nephila clavipes belongs to the group of orb-weaving spiders that have developed the ability to synthesize adhesive threads. Such adhesive threads are found in the core circles of the orb-webs, and present oily droplets which in turn contain many vesicles in suspension, entrapping solutions of proteins, peptides and many small-molecular mass compounds. Chemical analysis studies of these droplets identified toxins, saturated fatty acids and even alkaloids. It is speculated that when an insect-prey is trapped by the web, the fatty acids of these droplets aid in the process of destabilizing the insect cuticle allowing the diffusion of the toxins into the prey body. Some studies also reported alkaloids that act as repellents to predators in some webs, and as insect-toxins in others. The presence of these molecules is evidence that the web is not a simple tool for mechanical capture and imprisonment of prey; but rather a complex structure that seems to play a strategic "active" role in capturing its prey. Considering this, the aim of this study was to analyze the ultrastructure, the disposition of the droplets on the silk fibers, and to visualize the presence of lipid vesicles extracted from the web's droplets of *N. clavipes* spider, by microscopy. In addition, the richness of the chemical profile of the small-molecular mass compounds in the web-silk was explored through comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a mass detector; and finally to investigate the richness of proteins present in web-silk and silk-producing glands through in solution proteolytic digestion, liquid chromatography, and mass spectrometry, highlighting the possible toxins involved in the prey paralysis. First, was performed scanning electron microscopy study of the droplets deposited on the web-silk and light microscopy of the suspended lipid vesicles retained within the aqueous contents of the droplets. Posteriorly in the profiling chemical analysis were identified 316 compounds, among these 25 were identified from chemical standards, most of them are hydrocarbons saturated and some fatty acids. This study also demonstrated through repellence bioassays, that some of the fatty acids and hydrocarbons identified in the web's droplets presented potential as repellents

to invasive ants. While the palmitic acid presented potential action in the process of dissolution / disintegration superficial layer of cuticle bees, to allow the diffusion of toxins into the prey body. In the proteomic analysis a total of 2051 proteins were identified in the web-silk, of which 163 of these proteins are toxins. A total of 927, 1961, 849, and 860 proteins were also identified in the aggregate, major ampullate, flagelliform and minor ampullate glands, respectively; and of these totals, 194, 78, 32 and 30 are toxins belonging to each gland mentioned above, respectively. This study suggests that silk-producing glands, especially the aggregate gland, can synthesize and deposit on the silk-web important toxins, which are common to some animal venoms, thereby making the webs an active structure in the prey capture. From the obtained results it was possible to elaborate a hypothesis that relates the role of the droplets, lipid vesicles and the compounds identified as part of the chemical strategy of the web in the pre-digestion and prey paralysis. Thus, this study provided a better understanding of the chemical-ecological prey capture by *N. clavipes* spider web, in addition to information that may enable the use of these compounds in the development of insecticide-selective or even possible pharmacological applications.

Key words: web-silk, silk-producing glands, toxins, shotgun proteomic approach, metabolomic approach, microscopy, bioassays.

SUMÁRIO

	Página
1	INTRODUÇÃO 20
2	JUSTIFICATIVA 33
3	OBJETIVOS 34
4	MATERIAL E MÉTODOS 35
4.1	Microscopia 35
4.1.1.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 35
4.1.1.1.	Observação dos fios da espiral de captura íntegro 35
4.1.1.2.	Observação dos fios da espiral de captura tratado com solventes 35
4.1.2.	Microscopia de luz da camada oleosa extraída das gotículas presentes na espiral de captura da teia 37
4.2.	Perfilagem química dos compostos de baixas massas moleculares da teia 38
4.2.1.	Análise dos compostos de baixas massas moleculares por cromatografia bidimensional abrangente (GCxGC), acoplada ao detector de massas 39
4.3.	Bioensaios 40
4.3.1.	Bioensaio de Repelência 40
4.3.2.	Bioensaio para verificar a ação de ácidos graxos sobre a cutícula de <i>Apis mellifera</i> 43
4.4.	Análise Proteômica 44
4.4.1.	Obtenção das glândulas e da seda da teia da aranha <i>Nephila clavipes</i> 44
4.4.2.	Extração da fração de proteínas solúveis da teia 44
4.4.3.	Extração das proteínas presentes nas secreções das glândulas produtoras de seda 45
4.4.4.	Digestão em solução - estratégia <i>shotgun</i> 45
4.4.5.	Espectrometria de massas dos extratos da seda da teia e glândulas produtoras de seda 46
4.4.6.	Identificação das proteínas presentes nos extratos da seda da teia e glândulas produtoras de seda 46
4.4.7.	Análise e interpretação dos dados utilizando o Gene Ontology (GO) 47
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES 48
5.1	Microscopia 48

5.1.1.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	48
5.1.2.	Microscopia de Luz (ML).....	50
5.2.	Perfilagem química dos compostos de baixas massas moleculares da teia	55
5.2.1.	Análise dos compostos de baixas massas moleculares das gotículas depositadas sob os fios de seda da espiral de captura da teia	55
5.3.	Bioensaios	65
5.3.1.	Bioensaio de Repelência	65
5.3.2.	Bioensaio para verificar a ação de ácidos graxos sobre a cutícula de <i>Apis mellifera</i>	71
5.4.	Análise Proteômica	77
5.4.1.	Análise das proteínas dos fios da seda da teia e da secreção das glândulas produtoras de seda	77
6.	CONCLUSÃO	123
7.	REFERÊNCIAS.....	127
8.	APÊNDICE.....	143

1. Introdução

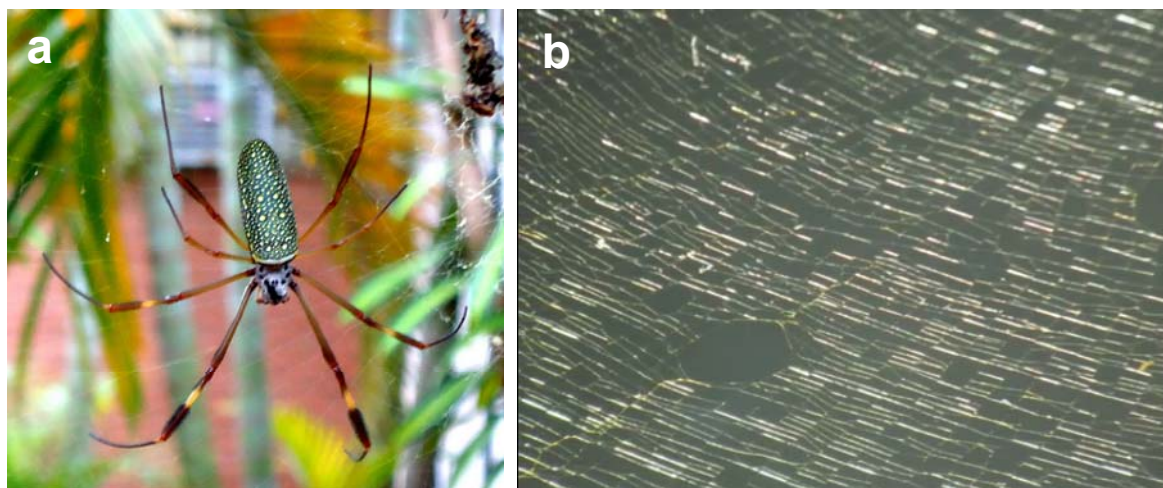
As aranhas pertencem ao filo Artrópoda, sendo amplamente dispersas em todo o mundo, e cuja história evolutiva possui relatos de até 390 milhões de anos (SELDEN et al., 2008). Existem pelo menos, 46.058 espécies de aranhas descritas em 109 famílias, ocupando o sétimo lugar na diversidade total de espécies entre todos os outros grupos de organismos (disponível em: <<http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog/COUNTS.html>>, acessado em: 17/08/2016).

As aranhas do gênero *Nephila* estão situadas dentro da ordem Araneae, pertencente à família Nephilidae, cuja distribuição geográfica é predominantemente subtropical, sendo encontradas nas três Américas. As aranhas *Nephila clavipes* (figura 1) também conhecidas como aranhas construtoras de teia orbital (KUNTNER et al., 2008; PLATNICK, 2010), apresentam um comportamento predatório considerado sedentário, pois as mesmas não saem para caçar; suas presas são capturadas através das teias, as quais exibem um ritual de captura relativamente complexo (HUMENIK, et al., 2011). Devido a isso, essas aranhas tecedoras constroem grandes teias circulares, às vezes chegando a 1 metro de diâmetro, construídas levemente inclinadas nos espaços entre a vegetação e em áreas de florestas nas margens de rios; essa teia possui coloração amarelada e fios altamente resistentes, os mesmos podem se esticar até 30% do comprimento de seu fio antes de se romper, ou seja, apresentam uma resistência física muito grande a rupturas, sendo assim capazes de capturar até pequenas aves como o beija-flor. São animais polípagos, que constroem suas teias estrategicamente entre os galhos das árvores, em uma altura em que costumam voar insetos, os quais ficam presos na teia servindo de alimento para essas aranhas (COMSTOCK, 1975).

Para a captura de suas presas, as aranhas utilizam de estratégias nas quais tanto o veneno quanto a teia apresentam papéis relevantes. O principal propósito do veneno das aranhas é promover a paralisia ou morte de suas presas, e ainda realizar uma pré-digestão da presa capturada (MILTON, 1974). Esse veneno é constituído de uma mistura complexa de substâncias inativas e biologicamente ativas, sendo os principais constituintes: proteínas, peptídeos, poliaminas, ácidos nucleicos, aminoácidos livres, moaminas livres, sais

inorgânicos e muitos compostos orgânicos de baixas massas moleculares (VASSILEVSKI, et al., 2009; ZHONG et al., 2014).

Figura 1. a) *Nephila clavipes* - aranha construtora de teia aérea orbital coletada no campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) localizado na cidade de Rio Claro, São Paulo. b) Em detalhe os fios de coloração amarelada que formam a teia orbital.



As aranhas produzem uma variedade de toxinas que afetam o sistema nervoso (ESCOUBAS, 2000); essas neurotoxinas são caracterizadas de acordo com sua natureza química (proteínas, peptídeos ou compostos orgânicos de baixas massas moleculares) (MCCORNICK & MEINWALD 1993). A maioria das neurotoxinas, descritas nos venenos de aranhas, agem em receptores neuronais e/ou em proteínas de membrana, envolvidas com a mediação da liberação de neurotransmissores.

A maioria das aranhas apresentam venenos que contêm muitos tipos de peptídeos com propriedades de bioinseticidas, que atuam com uma elevada potência e rapidez na morte de uma grande quantidade de pragas (VASSILEVSKI et al., 2009; WINDLEY et al., 2012). Esse impacto ecológico significativo no controle da redução de insetos-pragas e em ecossistemas naturais gerenciados (TERBORGH et al., 2001; LANGELLOTTO et al., 2004), está intimamente ligado ao uso de veneno letal para subjugar a presa, que em combinação com a produção de teias facilita a eficiente captura de presas a um gasto mínimo de energia.

A seda da aranha é caracterizada pela incrível resistência e elasticidade, atraindo o interesse dos pesquisadores sobre suas propriedades bioquímicas e físicas (ELICES, et al., 2011; RISING, et al., 2005); além de interesse industrial na sua aplicação no desenvolvimento de novos biomateriais que podem ser utilizados tanto na biomedicina e engenharia de tecidos, quanto na indústria têxtil (ALTMAN et al., 2003). As fibras constituintes da seda são produzidas pelas glândulas de seda localizadas dentro da metade posterior do abdômen da fêmea (figura 2a). Existem diferentes tipos de glândulas produtoras de seda, sendo cada uma responsável pela produção de um tipo específico de fio de seda, cuja localização dentro da arquitetura funcional da teia é bem definida pela aranha (figura 3) (KOVOR, 1987).

Até então, foram descritos sete tipos diferentes de glândulas produtoras de seda; o número dessas glândulas depende do gênero e espécie. As aranhas tecedoras de teias orbitais, como por exemplo, aquelas do gênero *Nephila*, possuem um conjunto de glândulas abdominais composto por até sete diferentes glândulas: ampulada maior, ampulada menor, flageliforme, cilíndrica ou tubuliforme, aciniforme, piriforme e agregada (figura 2b) (ROUSSEAU et al., 2009). Essas glândulas são constituídas basicamente por três regiões: uma porção caudal, uma porção mediana dilatada secretora (ampola) e um longo ducto que se estende até as fiandeiras, localizadas na extremidade do abdômen, e sobre as quais existem as fúsculas, por onde os fios de seda são expelidos (RUPPERT & BARNES, 1996).

As glândulas de seda presentes na aranha *Nephila clavipes* representam uma conquista fundamental para o desenvolvimento dessa espécie, uma vez que a seda é utilizada, não só na construção das teias de captura, como também nos cuidados com a prole e para atrair os machos no processo de acasalamento (BITTENCOURT et al., 2012; RISING et al., 2005). As aranhas têm utilizado suas teias como estratégia para capturar presas há mais de 130 milhões de anos e o sucesso desta armadilha depende, principalmente, dos fios de captura. A aranha ancestral das tecedoras produzia fios de captura secos e menos organizados que os fios atuais. A substituição do fio de captura seco pelo viscoso, adesivo e altamente organizado foi um evento vantajoso para a evolução dessas aranhas, aumentando o número de famílias, gêneros e

espécies de aranhas construtoras de teias orbitais. Atualmente 95% de todas as aranhas tecedoras de teias orbitais produzem fios de captura adesivos (BOND & OPELL, 1998).

Figura 2. a) Esquema representativo da anatomia de aranhas, destacando a região posterior abdominal, a qual estão localizadas as glândulas produtoras de seda. **b)** Em detalhe as sete glândulas produtoras de seda descritas para as aranhas do gênero *Nephila*: ampulada maior, flageliforme, ampulada menor, piriforme, agregada, tubuliforme e aciniforme (adaptado de RÖMER et al., 2008).

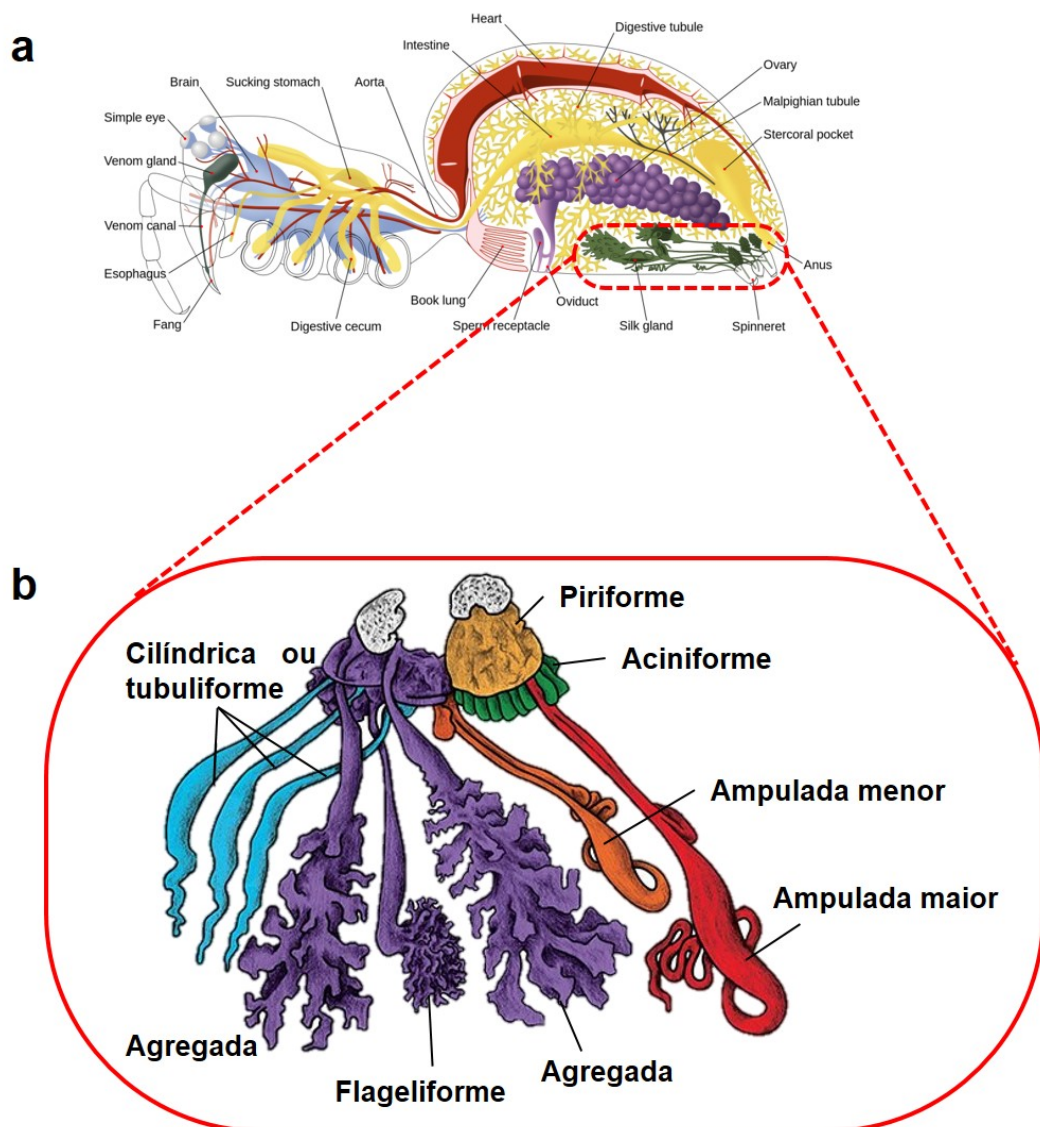
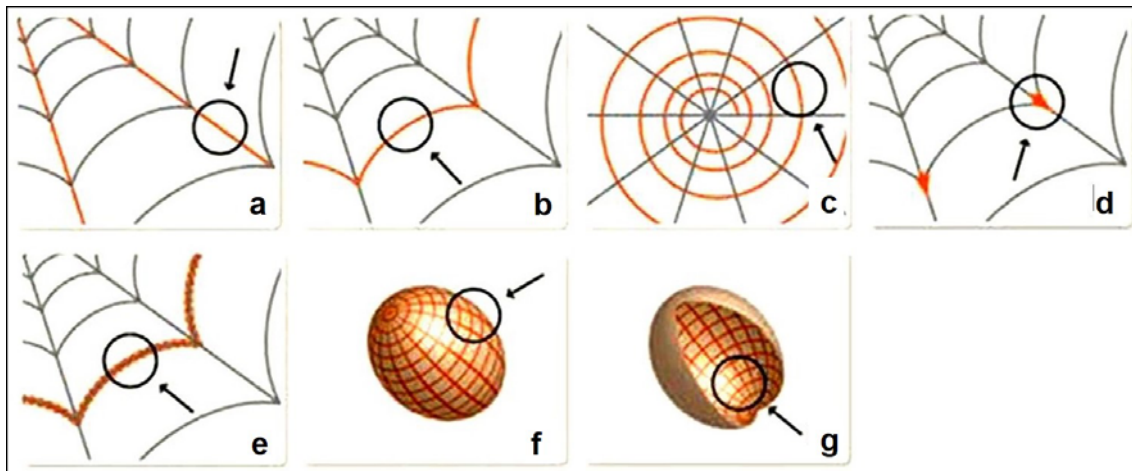


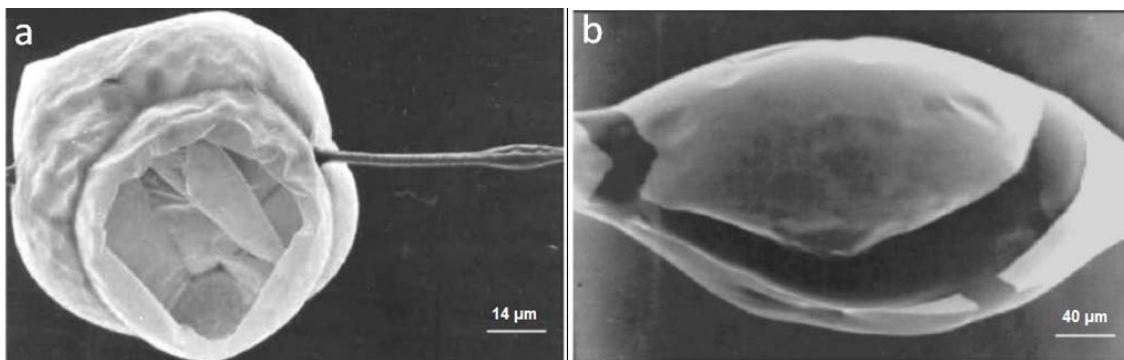
Figura 3. Tipos de fios de seda secretados pelas aranhas tecedoras de teias orbitais. **a)** glândula ampulada maior - secreta os fios de seda dos raios da teia orbital, do *frame* e da linha de segurança “escape”; **b)** glândula flageliforme - secreta os fios de seda da espiral de captura; **c)** glândula ampulada menor - secreta os fios de seda que auxiliam a espiral de captura; **d)** glândula piriforme - secreta os fios de seda das conexões entre as sedas e a fixação sobre um substrato; **e)** glândula agregada - secreta um revestimento adesivo aquoso sobre a espiral; **f)** glândula tubuliforme - secreta os fios de seda que cobre/protege a ooteca externamente (bolsa de seda) após a postura; **g)** glândula aciniforme - secreta os fios de seda que protege a ooteca internamente (adaptado de RÖMER et al., 2008).



A teia de captura é um sistema fibroso de sedas organizado em um desenho complexo, para a produção de uma armadilha moderadamente forte, mas excepcionalmente extensível (SWANSON, 2007) e eficaz na absorção de energia de presas voadoras (De MARGERIE et al., 2005; SENSENIG, et al 2010). A geometria espacial dessas teias é constituída macroscopicamente por dois tipos de fios de sedas: um fio rígido, o qual estabelece a estrutura primária da teia (também chamado de *frame*) que corresponde aos fios radiais formados por fibras de seda predominantemente constituídas pelas proteínas espidroínas-1 e espidroínas-2, produzidas pela glândula ampulada maior (RISING et al., 2007; DOS SANTOS-PINTO et al., 2015; DOS SANTOS-PINTO et al., 2016); e um fio viscoso situado ao centro, em forma de espiral formado por fibras constituídas pelas proteínas da seda flageliforme, as quais são produzidas pela glândula flageliforme; conhecido como fio de captura, este fio possui uma camada externa de seda adesiva não polimerizada revestida por um extrato aquoso (RÖMER et al., 2008). À medida que as fibras axiais são expelidas pela glândula flageliforme, um revestimento bastante viscoso é depositado simultaneamente pela glândula agregada sobre as fibras axiais,

formando gotículas, facilmente visíveis a olho nú (EBERHARD, 1982; SALLES et al., 2006; BLACKLEDGE, et al., 2009); imagens obtidas destas gotículas, em estudos de Salles e colaboradores (2006), com microscopia eletrônica de varredura estão mostrados na figura 4.

Figura 4. Estrutura das gotículas presentes nos fios da espiral de captura da aranha *Nephila clavipes*. **a)** Eletromicrografia de varredura de ampliação da gotícula mostrando sua formação em várias camadas e ranhuras, base para a formação da gotícula; e ainda é possível verificar o fio axial duplo e identificar uma região mais alargada, consequência da deposição da gotícula viscosa. **b)** Eletromicrografia de varredura mostrando uma gotícula da teia que apresenta a camada externa (superfície da gotícula em cinza) e o conteúdo viscoso interno (camada interna de lipídeos em preto) (SALLES et al., 2006).



Alguns estudos relacionam o papel da teia de captura com a seleção da dieta da aranha, com a finalidade de entender como algumas presas são aprisionadas com maior ou menor eficiência que outras; e esses estudos ainda sugerem que o processo pelo qual as presas (geralmente insetos) são capturadas não ocorre por acaso, nem de forma passiva, mas sim de forma elaborada, seletiva e ativa (STOWE, 1986; NENTWING, 1987). Isto acontece por duas razões: (1) a própria arquitetura da teia favorece a sua função de capturar, e de certa maneira, selecionar os tipos e tamanhos de presas; (2) por sua vez, as presas variam em suas habilidades de evitar as teias ou escapar delas, o que promove uma co-evolução bastante singular entre a presa e o predador (RAUBENHEIMER et al., 2009). A construção da teia varia em detalhes, como estrutura, posição, e tamanho, de acordo com as estratégias de captura da espécie; e as aranhas ainda podem selecionar suas presas de acordo com o ambiente físico para a construção da teia optando por variáveis como temperatura, umidade, vento, radiação solar e ainda a estrutura da

vegetação, suporte para a construção da teia. Dessa forma facilita o aprisionamento inicial da presa possibilitando o ataque e a inoculação do veneno (HUMENIK, et al., 2011).

Estudos com uma abordagem morfológica, molecular e estrutural revelam que a teia de captura da aranha *N. clavipes* é constituída por macro e micromoléculas, como proteínas, peptídeos e compostos de baixas massas moleculares. Essas moléculas têm demonstrado uma importância fundamental no que se refere às estratégias químicas adotadas tanto na defesa quanto na captura de presas. Salles e colaboradores (2006) através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e transmissão (MET), demonstraram que a teia da aranha *N. clavipes* apresenta gotículas contendo muitas vesículas lipídicas em suspensão dentro do interior aquoso destas gotículas. Também através de MET foi revelada a presença de lipídeos e proteínas nessas gotículas por técnicas de citoquímica por imidazol e ácido tânico, respectivamente. E ainda, a análise metabolômica dessas gotículas lipídicas por cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (GC-MS) revelaram a presença de alguns ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados, como ácido (*Z*)-*tetradec-9-enoico*; ácido (*9Z,12Z*)-*octadeca-9,12-dienoico*; ácido (*Z*)-*octadec-9-enoico*, entre outros (SALLES et al., 2006).

Ainda não se sabe exatamente qual é a função desses ácidos orgânicos presentes na teia de aranhas, porém alguns estudos descrevem a ação de ácidos como agentes tensoativos que auxiliam no processo de desestabilização da cutícula de artrópodes (WERNER, 1935; EISNER et al., 1978; WOOD-MANSON, 1882). Como exemplo de uso desses compostos, por outros artrópodes, como ferramenta de captura e/ou defesa, podemos mencionar a secreção de ácidos orgânicos (principalmente acético e caprílico) liberada pelo escorpião vinagre *Mastigoproctus giganteus*. Esses ácidos são secretados na forma de um jato de spray, pulverizado sobre o predador/presa quando o escorpião vinagre é perturbado (WERNER, 1935; WOOD-MANSON, 1882). Apesar dos ácidos acético e caprílico serem considerados ácidos fracos, estes aumentam consideravelmente a eficácia da pulverização contra artrópodes. Uma vez que, atuando como um agente tensoativo, o ácido caprílico promove a propagação das gotículas liberadas pelo spray do

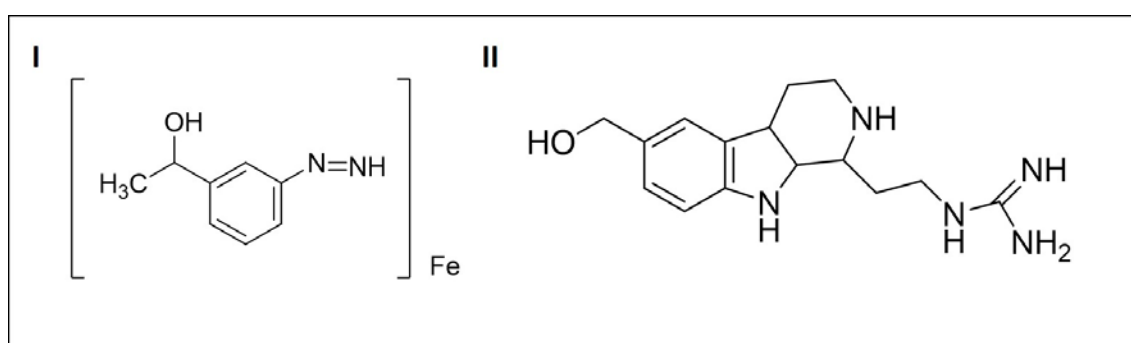
escorpião vinagre sobre a cutícula do predador/presa; e assim, aumenta a eficácia da área de contato e penetração do ácido acético através do tegumento do predador/presa, provavelmente pelo aumento da permeabilidade da barreira lipídica epicuticular (BETTINI, 1978).

A cutícula em artrópodes é a principal barreira contra infecções e apresenta uma natureza química complexa, sendo formada por duas camadas: a epicutícula e a procutícula. A epicutícula é a camada mais externa e delgada da cutícula, composta principalmente por hidrocarbonetos e por lipídeos esterificados, substratos específicos para a ação de lipases. Possui pelo menos duas camadas distintas, sendo a mais interna denominada de cutícula composta por lipoproteínas, lipídeos polimerizados e polifenóis, e a outra mais externa, uma camada orientada de ceras formada principalmente por hidrocarbonetos, lipídeos esterificados a partir de ácidos graxos (em sua maioria de cadeia longa) e álcoois (HACKMAN & FILSHIE, 1982; PEDRINI et al. 2007). Já a procutícula compreende a maior parte da cutícula sendo sua composição basicamente de natureza protéica e quitinosa (CLARKSON & CHANRLE, 1996). Nesta porção encontram-se, portanto, sítios específicos para ação de proteases e quitinases.

Ainda com relação as gotículas presentes nos fios de seda da aranha *N. clavipes*, em outros estudos foi demonstrado a presença de neurotransmissores nessas gotículas, tais como N-acetilaurina, 4-aminobutiramida, glicina, betaína, colina, e putrescina (HIGGINS, et al., 2001). Estudos de análise proteômica com a seda da teia, demonstraram a presença de proteínas de ação tóxica, como a proteinase cálcio-ativada e metaloproteinase *do tipo jararagina*, indicando assim o possível envolvimento destas enzimas no processo de paralisação e/ou pré-digestão das presas antes do ataque final pelas aranhas (SALLES et al., 2006). Marques e colaboradores (2005) demonstraram a presença de toxinas de baixas massas moleculares na teia da aranha *N. clavipes*; utilizando-se de espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear foram caracterizados um composto organometálico (ferro [1-(3-diazenilfenil) etanol] e uma toxina alcalóide (1-(2-guanidinoetil)-1,2,3,4-tetrahidro-3-(hidroximetil)- β -carbonila), os quais apresentam ações letais potentes (inseticidas) para as presas capturadas nas

teias de *N. clavipes* (figura 5I-II). Este resultado indica que o conteúdo das gotículas da teia pode ser letal e/ou paralítico para as presas e, conseqüentemente, deve desempenhar um importante papel no processo de paralisia/morte das mesmas sem a necessidade da inoculação do veneno pela aranha.

Figura 5. Estrutura química da (II) toxina alcalóide (1-(2-guanidinoetil)-1,2,3,4-tetrahydro-3-(hidroximetil)- β -carbonila) e de um (I) composto organometálico de ação inseticida ferro [1-(3-diazenilfenil) etanol] identificados na seda da teia da aranha *N. clavipes* (MARQUES et al., 2005).



Em estudos de Volsi e colaboradores (2006), também com a teia da aranha *N. clavipes*, foram detectados três peptídeos da família das bradicininas (nephilacinina-I, -II e -III), conforme mostrado na tabela 1. Esses compostos foram isolados por técnicas cromatográficas e suas sequências identificadas por espectrometria de massas (ESI-MS/MS), sendo caracterizados como toxinas, aplicadas pela aranha sobre a teia com a finalidade de causar a paralisia de presas.

Tabela 1. Peptídeos da família das bradicininas identificados na seda da teia da aranha *N. clavipes* (VOLSI et al., 2006).

Peptídeo	Sequência Primária
Nephilacinina-I	GNPFGFSPFR
Nephilacinina-II	EAPPFGFSPFR
Nephilacinina-III	PSPPFGFSPFR

As sedas de algumas aranhas contêm substâncias depositadas na superfície dos fios, com propriedades antimicrobianas; por meio de ensaios *in vitro* em cultura de bactérias *Bacillus subtilis* demonstrou-se que o material depositado sobre a seda da aranha *Tegenaria domestica* inibiu o crescimento dessas bactérias, evidenciando a ação bacteriostática e antimicrobiana do material depositado sobre os fios da seda (HEIMER, 1988; WRIGHT et al., 2012).

Em um estudo, realizado anteriormente por nosso grupo, foi construída uma biblioteca com padrões de metabólitos, a qual foi padronizada utilizando-se cromatografia de fase reversa de par iônico, utilizando-se o ácido heptafluorobutírico (HFBA) como agente de formação de par iônico. (SAIDEMBERG, 2012). Nesse estudo foi construída uma biblioteca de compostos de baixas massas moleculares, para ser utilizada com um sistema LC-MS-IT-TOF; foram encontrados aminoácidos, neurotransmissores, poliaminas, nucleotídeos e alcalóides, dentre eles: ácido hidroxindolacético, glutamina, prolina, arginina, ácido cisteico, epinefrina, adenosina difosfato, tripargina, hidroxitripargina e espermidina (figura 6). Além disso, também foram identificados a presença de duas acilpoliamino toxinas: NPTX-615 e NPTX-12 (figura 7) (SAIDEMBERG, 2012).

Figura 6. Estrutura química da (I) glutamina, (II) ácido hidroxindolacético, (III) 6-hidroxitripargina, (IV) arginina, (V) epinefrina, (VI) espermidina, (VII) prolina, (VIII) ácido cisteico, identificados na seda da teia da aranha *N. clavipes* a partir da comparação com a biblioteca de padrões, utilizando-se das condições cromatográficas padronizadas por Saidemberg (2012).

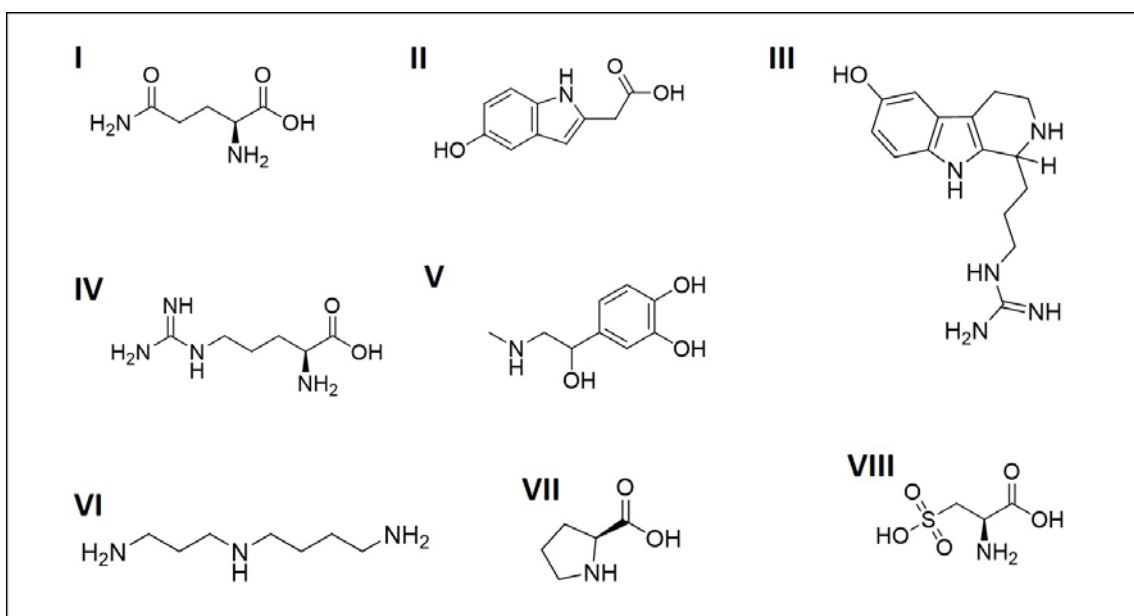
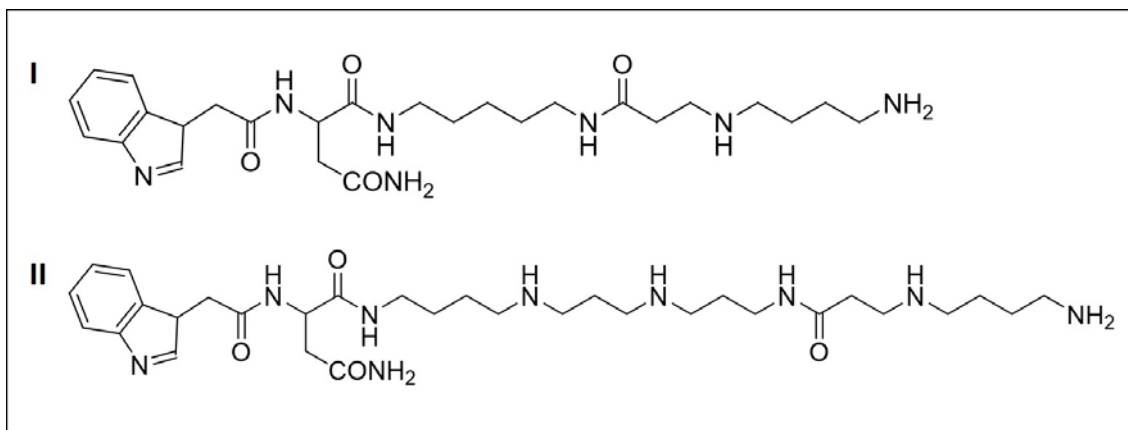


Figura 7. Estrutura química de duas acilpoliaminas: (I) NPTX-12 e (II) NPTX-615 identificadas na seda da teia da aranha *N. clavipes* a partir da comparação com a biblioteca de padrões, utilizando-se das condições cromatográficas padronizadas por Saidemberg (2012).



As acilpoliaminas foram descritas como toxinas neuroativas de baixas massas moleculares, que atuam como antagonistas de diferentes classes de receptores ionotrópicos de glutamato (PALMA e NAKAJIMA, 2005; SAIDEMBERG, 2012), geralmente encontradas em venenos de aranhas. Estes compostos possuem uma forte ação em junções neuromusculares de insetos, levando a uma rápida paralisia das presas (ADAMS et al., 1989). As investigações farmacológicas de toxinas poliaminas tem mostrado que estes compostos interagem com diversos alvos em insetos, tanto no sistema nervoso central como periférico; assim como também no sistema nervoso central de mamíferos, através de receptores ionotrópicos de glutamato (iGlu) como os alvos primários das toxinas poliaminas (MELLOR e USHERWOOD, 2004; STRØMGAARD et al., 2005).

As moléculas presentes nas teias de aranhas, descritas até então, e suas possíveis atuações, evidenciam que a teia não é somente uma mera ferramenta mecânica para captura e aprisionamento de presas, mas sim, demonstra um possível envolvimento ativo, desempenhando um papel estratégico “químico-ativo” na captura dos mais diversos tipos de presas.

Nas últimas décadas, a descoberta de novos componentes químicos/moleculares se beneficiou de tecnologias integradas que evoluíram durante o desenvolvimento de abordagens como a proteômica, peptidômica e metabolômica; e para a identificação estrutural dessas moléculas em amostras biológicas complexas, novas tecnologias surgiram com a finalidade de

aperfeiçoar os métodos analíticos, ditos clássicos (SCHULZ-KNAPPE et al., 1977; Van ASSCHE et al., 2015). O sucesso obtido das análises atuais é oriundo principalmente de instrumentos altamente sofisticados e de alta resolução, que possibilitam a descoberta de novas moléculas mesmo na quantidade de pico molar.

Umas das técnicas mais eficientes atualmente para a identificação de moléculas como proteínas, peptídeos e metabólitos é a espectrometria de massas, a qual permite a identificação e sequenciamento, fornecendo informações sobre a estrutura e função dessas moléculas (SCHAUER et al., 2005; WANT et al., 2006). Sendo assim, a espectrometria de massas é um dos métodos mais precisos, rápidos e confiáveis disponíveis para determinar as massas atômica e molecular de analitos com alta precisão em uma única análise. Porém, a caracterização dessas moléculas nas células, tecidos e fluidos corporais apresenta um grande número de desafios; entre os quais está a capacidade analítica para identificar e quantificar essas moléculas em amostras biológicas complexas, que podem conter de centenas a milhares de componentes potencialmente detectáveis numa única amostra. A espectrometria de massas sequenciais (MS/MS) de proteínas e peptídeos envolve a fragmentação dessas moléculas, e a posterior análise de suas sequências de aminoácidos. Para a análise de peptídeos geralmente são realizados processos de ionização, seguidos por fragmentação por meio de dissociação induzida por colisão (CID) (TABB et al., 2003), em complemento com outros métodos de fragmentação como a dissociação por captura de elétrons (ECD), e ainda a dissociação por transferência de elétrons (ETD) (SYKA et al., 2004).

Já os estudos de metabólitos têm sido realizados utilizando-se de técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN), e espectrometria de massas, geralmente associados a sistemas cromatográficos (ARENS et al., 2015). O uso de técnicas de cromatografia gasosa capilar de alta resolução (GC) e mais recentemente cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC), combinados com técnicas de espectrometria de massas também tem sido uma opção analítica interessante para análises de compostos naturais termo-resistentes (WANT et al., 2006; MOSTAFA, 2012; BEAN et al., 2015).

Dessa forma, pode-se constatar que o uso dessas técnicas analíticas poderá auxiliar na elucidação do perfil químico e estrutural de moléculas oriundas de amostras biológicas, como a seda da teia da aranha *N. clavipes*. Considerando-se que proteínas, peptídeos e compostos de baixas massas moleculares, presentes na teia de aranhas, podem representar possíveis modelos moleculares para o desenvolvimento racional de novas drogas e/ou inseticidas, o presente estudo teve como objetivo geral tentar identificar, através de técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas, os componentes macro e micromoleculares mais abundantes, presentes nas gotículas e na seda da teia da aranha *N. clavipes*. Aparentemente tais compostos podem desempenhar um papel importante na captura de presas, e que potencialmente poderão se constituir em modelos moleculares para o desenvolvimento racional de novos fármacos e/ou inseticidas.

2. JUSTIFICATIVA

Estudos tem relatado a presença de alguns compostos/toxinas nas fibras da seda produzidas por aranhas (MARQUES et al., 2005; SALLES et al., 2006; VOLSI et al., 2006; ZHANG et al., 2012; SANGGAARD et al., 2014), o que facilitaria a captura das presas que ao entrar em contato com a teia, sofreria a ação prévia desses compostos, que afetam o sistema nervoso da presa paralisando-a. Se faz necessário aprofundar o conhecimento sobre a composição de macro e micromoléculas presentes na teia, e entender a ultraestrutura das gotículas depositadas sobre a teia de captura; e dessa forma, compreender melhor o papel de cada glândula de seda e dos compostos produzidos e secretados pelas mesmas.

Sendo assim, esse estudo procurou alcançar alguns dos objetivos principais do projeto BIOprospecTA da FAPESP que surgiu como um projeto piloto para a bioprospecção da biodiversidade do Estado de São Paulo. O grupo de pesquisa em Biologia Estrutural e Zooquímica do CEIS/IBRC-UNESP possui experiência na área de caracterização de compostos orgânicos, proteínas, peptídeos e compostos de baixas massas moleculares em secreções de artrópodes e tem realizado a prospecção química de maneira sistemática, em insetos e aranhas da fauna do Estado de São Paulo, junto ao programa BIOprospecTA/FAPESP (Proc. 2011/51684-1). Para isso, foram utilizados equipamentos sofisticados e de alta resolução como GCxGC/MS, o qual mostra ser uma importante ferramenta para caracterização de compostos de baixas massas moleculares em misturas complexas, fornecendo em uma única análise uma maior quantidade de informações qualitativas e quantitativas, além de sua elevada sensibilidade. E também o nanoLC-ESI-CID/ETD-MS/MS, cromatografia líquida em nanoescala acoplada à espectrometria de massas *tandem*, o qual tem se tornado uma ferramenta essencial em aplicações proteômicas devido a sua sensibilidade e confiabilidade.

3. OBJETIVOS

1- Analisar a ultraestrutura e a disposição das gotículas sob os fios de seda presentes de forma intacta na espiral de captura da teia através de microscopia eletrônica de varredura (MEV);

2- Analisar e observar a presença de possíveis vesículas extracelulares presentes no interior das gotículas da seda, através de Microscopia de Luz (ML);

3- Investigar e elucidar o perfil químico de compostos de baixas massas moleculares presentes nas gotículas da seda da teia, enfatizando aqueles que possivelmente desempenham um “papel ativo” como estratégia na captura de presas através da análise do exometaboloma da teia;

4- Investigar a ação de um dos ácidos graxos mais abundantes, presentes na seda, sobre a cutícula de *Apis mellifera* (inseto-presa), através de bioensaios e MEV;

5- Investigar a possível relação de alguns dos compostos de baixas massas, identificados nas gotículas da seda, com o mecanismo de defesa da teia contra invasores predadores, através de bioensaio de repelência.

6- Investigar e elucidar o perfil proteômico presente diretamente da teia, e do secretoma das glândulas produtoras de seda, através da análise proteômica, em um sistema livre de gel, do tipo *shotgun*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Microscopia

4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As teias das aranhas *N. clavipes* foram coletadas no campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” localizado na cidade de Rio Claro, São Paulo, de maneira georeferenciada (22°23'43.6"S 47°32'38.9"W). A técnica de microscopia eletrônica de varredura foi utilizada com a finalidade de se observar as gotículas depositadas sob os fios da espiral de captura na sua forma íntegra; e também sob tratamento com água e depois com solvente orgânico como metanol, o que promoveu a desintegração das gotículas possibilitando a visualização apenas das fibras do fio.

4.1.1.1 Observação dos fios da espiral de captura íntegro

Experimento I: conforme representado na figura 8a - Os fios da espiral de captura da teia foram colocados sobre a superfície côncava da placa de Petri, ocupando toda a área da placa de forma a manter a integridade dos fios, através de sua suspensão. Posteriormente a placa de Petri foi exposta a vapor de tetróxido de ósmio 4% em água (Milli-Q) durante 20 horas (PETERS, 1995). Em suporte de alumínio, denominados *stub*, foi fixada fita adesiva de carbono dupla face, dessa forma, os fios tratados com ósmio foram inseridos sobre a fita adesiva de carbono dupla face, de modo que permaneceram livremente suspensos, “em forma de ponte”. Os fios de captura foram examinados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM-3000).

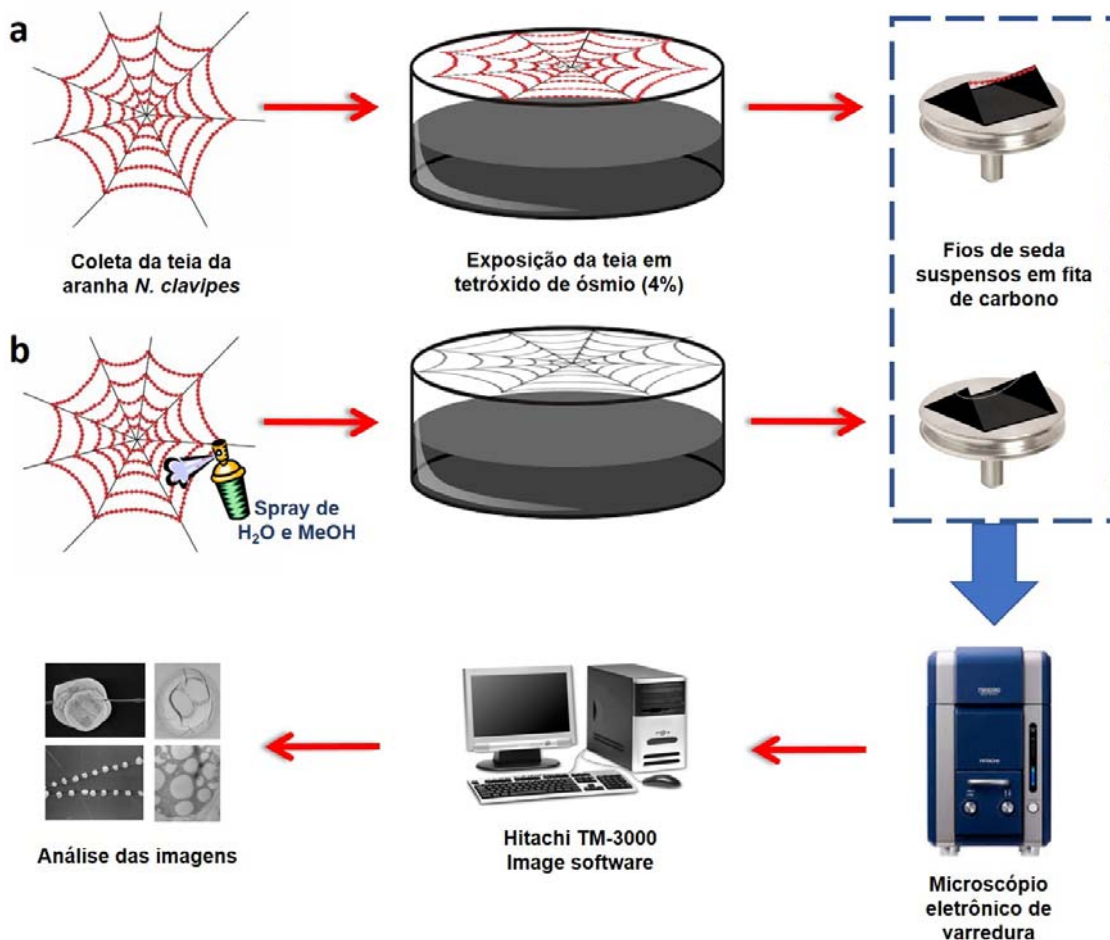
4.1.1.2 Observação dos fios da espiral de captura tratado com solventes

Experimento II: conforme representado na figura 8b - Os fios da espiral de captura da teia foram colocados sobre a superfície côncava da placa de Petri, ocupando toda a área da placa, de forma a manter a integridade dos fios, através de sua suspensão. Em seguida, a placa de Petri foi exposta primeiramente a um *spray* de água (Milli-Q) e depois a um *spray* de metanol 100% (TEDIA). Posteriormente a placa de Petri foi exposta a vapor de tetróxido de ósmio 4% em água (Milli-Q) durante 20 horas (PETERS, 1995). Em suporte de alumínio, denominados *stub*, foi fixada fita adesiva de carbono dupla face,

assim os fios tratados com ósmio foram inseridos sobre a fita adesiva de carbono dupla face de modo que permaneceram livremente suspensos, “em forma de ponte”. Os fios de captura foram examinados e fotografados em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM-3000).

É importante relatar que para as duas metodologias descritas acima (sessão 4.1.1.1 e 4.1.1.2) nenhuma das amostras foram submetidas ao ponto crítico de CO₂, e nem foram metalizadas por deposição de íons metálicos de ouro (*sputtering*). A fita de carbono dupla face que além de ser usada para auxiliar a fixação da amostra no *stub*, melhora a condutividade do material, pois o carbono também é um emissor de elétrons capaz de gerar imagens com boa resolução no MEV.

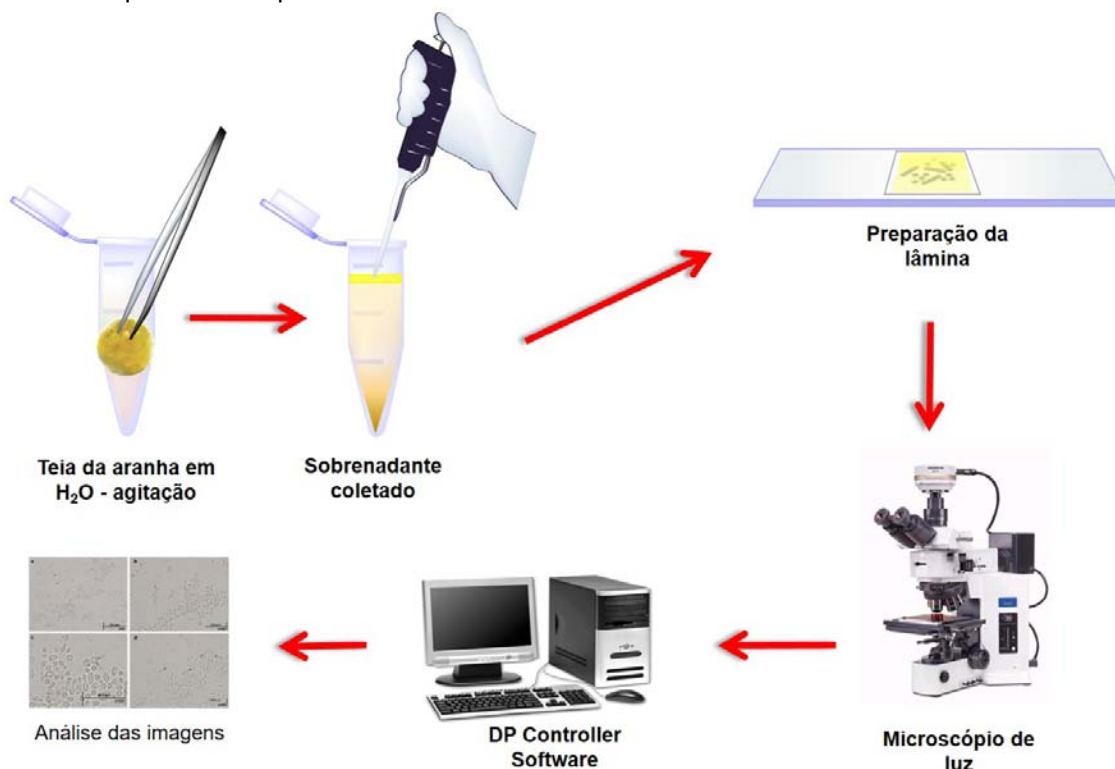
Figura 8. Esquema representativo da preparação da amostra para a análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). **a)** Experimento I - os fios permaneceram em sua forma íntegra para a observação das gotículas. **b)** Experimento II - os fios foram tratados, verificando dessa forma a remoção das gotículas e visualização apenas das fibras dos fios.



4.1.2 Microscopia de luz da camada oleosa extraída das gotículas presentes na espiral de captura da teia

A técnica de microscopia de luz foi realizada com a finalidade de observar as vesículas lipídicas retidas dentro do interior das gotículas oleosas, que por sua vez, estão depositadas sobre os fios de captura da teia, conforme representado na figura 9. As teias orbitais foram coletadas no campo, e limpas com o auxílio de pinças para a retirada de partículas contaminantes, os fios de seda foram “lavados” com água (Milli-Q) à 25°C, sob agitação por 4 horas. Após esse período, a amostra (denominada de “lavado aquoso da teia”) foi deixada em repouso, e por decantação duas fases foram separadas: uma fina camada oleosa sobrenadante, e uma fase aquosa mais densa. A fase sobrenadante foi coletada, colocada em lâmina e coberta com lamínula, para então ser observada em microscópio de luz. Não foi realizado nenhum tipo de coloração das lâminas. As fotomicrografias foram adquiridas por meio de uma câmara digital, Olympus DP-71, adaptada a um microscópio (Olympus, BX51). Para a aquisição das imagens foi utilizado o software DP Controller.

Figura 9. Esquema representativo da preparação da amostra para a análise por microscopia de luz (ML). Coleta da teia e separação da camada oleosa extraída das gotículas presentes nos fios de seda. Essa separação ocorreu em água, sob agitação durante um período de 4 horas. Posteriormente o microtubo com o extrato foi deixado em repouso para que houvesse a separação das fases pelo processo de decantação. A camada sobrenadante, que corresponde a uma fina camada de óleo, foi coletada e inserida em lâmina e coberta por lamínula, para ser analisada por microscópio de luz.



4.2. Perfilagem química dos compostos de baixa massas moleculares da teia

As teias orbitais foram coletadas no campo, e limpas com o auxílio de pinças para a retirada de partículas, restos de insetos, folhas e galhos aderidos à seda; evitando dessa forma uma contaminação da amostra. Após a limpeza, os fios de seda foram pesados e tratados para as análises do exometaboloma da teia. Os fios de seda foram “lavados” com Hexano 95% (Sigma-Aldrich) à 25°C, sob agitação por 4 horas. Após esse período, a amostra (denominada de “lavado hexânico da teia”) foi centrifugada à 8000 x g por 15 minutos, com o sobrenadante sendo coletado e imediatamente analisado no sistema GCxGC-MS.

4.2.1 Análise dos compostos de baixas massas moleculares por cromatografia bidimensional abrangente (GCxGC), acoplada ao detector de massas

Como equipamento analítico foi utilizado um sistema de cromatografia gasosa bidimensional abrangente, acoplado a um detector de massas (instrumento GCxGC/MS, SHIMADZU, mod. QP2010 Ultra). A separação cromatográfica foi realizada em duas colunas capilares conectadas em série, localizadas em um mesmo forno. A primeira coluna foi uma DB-1-5MS (Agilent) (com fase estacionária apolar: 100% Dimetilpolisiloxano; com dimensões de 15m x 0.25mm DI, 1µm de filme), utilizada na primeira dimensão para separação por ponto de ebulição; e a segunda coluna foi uma BPX-50 (SGE) (com fase estacionária polar: 50% Fenilpolisilfenileno Siloxano, com dimensões de 2.75 m x 0.1 mm DI, 0.1 µm de filme), usada na segunda dimensão para separação por polaridade. Utilizou-se o gás Hélio (pureza 99.995%) como carreador, a um fluxo constante de 9,8 mL.min⁻¹. A temperatura da coluna variou de 90 °C a 296 °C em um gradiente não linear de 126,5 minutos. A temperatura inicial de 90° C permaneceu por 5 minutos, aumentando-se então gradativamente a uma inclinação de 4° C /min até 240 °C; após esse tempo a temperatura aumentou a uma inclinação de 1 °C/min até alcançar a temperatura de 285 °C, que foi mantida 8 minutos. Então, aumentou-se a temperatura á uma inclinação de 1 °C/min até a temperatura de 296 °C, a qual foi mantida nos 20 minutos finais de análise. O atraso de solvente foi de 5 minutos e o tempo de equilíbrio de 3 minutos. A porta de injeção foi mantida aquecida a 280 °C e 1µL da amostra foi injetada no modo “splitless” (50s). O eluente da coluna de GC foi transferido via uma linha de transferência aquecida a 270 °C e introduzido em uma fonte de ionização por impacto eletrônico (EI) ajustada para 70 eV, e mantida a 230 °C. Os dados foram adquiridos e processados utilizando-se o programa Shimadzu GC Solution e para edição e construção de gráficos de imagem utilizou programa o GC Image R2.2 (GCxGC Edition).

Como sistema de modulação foi utilizado o modulador de loop fornecido pela ZOEX, mod. ZX-2. O sistema de modulação é composto por 2 jatos (dualjet) mais a região do trapping loop. Os jatos utilizam gás nitrogênio à um

fluxo de aproximadamente 6L/min. Um jato libera ar frio permanecendo aberto constantemente, enquanto que o outro jato libera ar quente periodicamente. Foi estabelecido um período de modulação de 7,5 segundos. A duração do jato quente (tempo em que o mesmo permanece aberto) variou de 220-950 milissegundos, a uma temperatura de 275°C. Os compostos foram inicialmente identificados por comparação com a biblioteca de espectros de massas NIST MS 11, 2011. Além da comparação de seus tempos de retenção e espectros de massas obtidos no modo SCAN (varredura de espectro) com padrões de alcanos saturados (C7-C40) (Sigma-Aldrich) Catalog 49452-U e alguns ácidos graxos (C16:1, C18:1, C18:2) (Sigma-Aldrich) UN10-1KT.

4.3. Bioensaios

4.3.1. Bioensaio de Repelência

Baseado nos resultados obtidos com a análise do lavado hexânico da seda da teia por GCxGC-MS, decidiu-se testar alguns dos compostos de baixas massas moleculares identificados, em uma possível capacidade dos mesmos em repelir possíveis insetos invasores/predadores da seda e/ou suas presas, como por exemplo, algumas espécies de formigas invasoras. Isto porque devido ao elevado valor nutritivo, tanto das teias quanto das aranhas residentes, essas tornam-se alvo de predação por essas formigas.

Há variados ensaios laboratoriais com a finalidade de verificar uma possível repelência de uma substância frente a um artrópode (SCHRECK, 1977). Algumas considerações devem ser levadas em conta para a realização desses ensaios, como: i) características ecológicas do artrópode, e ii) características químicas da substância ou do composto a ser testado (DAUTEL et al., 1999; BISSINGER & ROE, 2010). Esses bioensaios de repelência podem ser divididos em três categorias segundo DAUTEL et al., (2004): i) aqueles que utilizam hospedeiros, ii) os que utilizam algum estímulo associado ao hospedeiro, e iii) os que não utilizam nenhum hospedeiro, e nenhum tipo de estímulo.

Para o presente estudo foi escolhido o bioensaio da placa de Petri pertencente a terceira categoria (sem hospedeiro e sem estímulos) baseado no protocolo descrito por DAUTEL et al., (2004). Os bioensaios pertencentes a

terceira categoria são realizados como ponto inicial para os primeiros testes de repelência, a fim de verificar se compostos de interesse apresentam ou não potencial como repelente. Além disso, os bioensaios pertencentes a esta categoria são simples e baratos, permitindo assim o teste de inúmeros compostos de interesse em curtos períodos (DAUTEL, 2004). O protocolo se baseia primeiramente no tratamento químico do papel de filtro inserido no interior da placa. No papel de filtro uma linha divisória delimita a área tratada com uma solução com potencial repelente (solvente + composto) e a área tratada apenas com o solvente, conforme mostrado na figura 10a. Sendo assim, cinco experimentos foram realizados:

i) Experimento I: Foi preparado um lavado da teia em água (Milli-Q), uma solução denominada “extrato aquoso da teia” a uma concentração de 2,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (extrato/placa). Essa solução (100 μL) foi aplicada na placa correspondente a área denominada de “solvente + composto”. E na área denominada de “solvente” foi aplicado 100 μL de água.

ii) Experimento II: Foi preparado uma solução de ácido dodecanóico (Sigma-Aldrich, UN10-1KT) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 2,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (composto/placa). Essa solução (100 μL) foi aplicada na placa correspondente a área denominada de “solvente + composto”. E na área denominada de “solvente” foi aplicado 100 μL de metanol 100%.

iii) Experimento III: Foi preparado uma solução de ácido palmitoléico (Sigma-Aldrich, UN10-1KT) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 2,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (composto/placa). Essa solução (100 μL) foi aplicada na placa correspondente a área denominada de “solvente + composto”. E na área denominada de “solvente” foi aplicado 100 μL de metanol 100%.

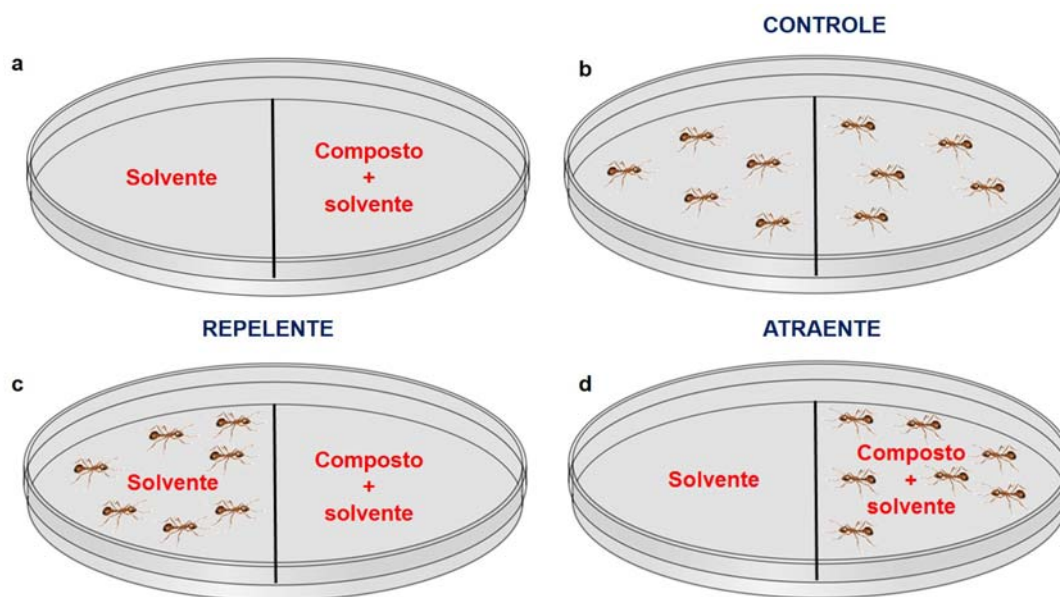
iv) Experimento IV: Foi preparado uma solução de Mix hidrocarbonetos C7-C40 (Sigma-Aldrich, UN10-1KT) em hexano 95% (Sigma-Aldrich) a uma concentração de 2,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (composto/placa). Essa solução (100 μL) foi aplicada na placa correspondente a área denominada de “solvente + composto”. E na área denominada de “solvente” foi aplicado 100 μL de metanol 100%.

v) Experimento V: Experimento controle realizado sem nenhum tipo de tratamento, conforme mostrado na figura 10b.

Após o tratamento químico do papel de filtro, aguardou-se um período de 10 minutos para evaporação do solvente. Para esse bioensaio, foram coletadas operárias da formiga invasora *Nylanderia fulva*. Estas operárias (n=10/placa) foram colocadas no interior das placas de Petri (60 x 15mm). Todos os experimentos realizados foram repetidos por 10 vezes e todos foram filmados com a câmera (Sony SteadyShot, modelo DSC-W320); os vídeos obtidos foram posteriormente analisados, sendo observado o deslocamento das formigas dentro da placa de Petri de acordo com as áreas denominadas anteriormente.

A repelência foi inferida de acordo com o número de operárias presentes na área denominada de “solvente + composto” e presentes na área denominada de “solvente” do papel filtro no interior da placa de Petri (figura 10c-d). (CARROLL et al., 2004; BISSINGER et al., 2009). Após a contagem foi calculado o valor do índice de preferência - IP (ABBOTT, 1925)

Figura 10. Esquema representativo do Bioensaio de Repelência. **a)** placa de Petri evidenciando a linha divisória que separa a área com a solução (composto + solvente) da área apenas com o solvente. **b)** experimento controle com o papel de filtro não tratado quimicamente, demonstrando a dispersão aleatória das formigas. **c)** Perfil de dispersão das formigas na placa de Petri quando ocorre repelência a um dado composto. **d)** Perfil de dispersão das formigas na placa de Petri quando não ocorre repelência a um dado composto.



4.3.2. Bioensaio para verificar a ação de ácidos graxos sobre a cutícula de *Apis mellifera*

Através da análise do metaboloma por GCxGC-MS das gotículas depositadas sobre os fios de seda, foram identificados alguns ácidos graxos no presente estudo; e com a finalidade de verificar o efeito da ação desses ácidos, sobre a cutícula de insetos, foi realizado um ensaio inicial em que diferentes concentrações de ácido palmítico foi depositado sobre a cutícula de abelhas *Apis mellifera* recém emergidas, durante um período de tempo para que posteriormente a superfície da cutícula fosse observada por microscopia eletrônica de varredura. Sendo assim, cinco experimentos foram realizados:

i) Experimento I: Experimento controle em que 10 μ L de Metanol 100% (TEDIA) foi aplicado sobre a cutícula da abelha, correspondente a área dorsal do tórax.

ii) Experimento II: Foi preparado uma solução de ácido palmítico (Sigma-Aldrich, P0500-10G) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 2ng/ μ L (ácido/metanol). Essa solução (10 μ L) foi aplicada sobre a cutícula da abelha, correspondente a área dorsal do tórax.

iii) Experimento III: Foi preparado uma solução de ácido palmítico (Sigma-Aldrich, P0500-10G) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 3 ng/ μ L (ácido/metanol). Essa solução (10 μ L) foi aplicada sobre a cutícula da abelha, correspondente a área dorsal do tórax.

iv) Experimento IV: Foi preparado uma solução de ácido palmítico (Sigma-Aldrich, P0500-10G) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 4ng/ μ L (ácido/metanol). Essa solução (10 μ L) foi aplicada sobre a cutícula da abelha, correspondente a área dorsal do tórax.

v) Experimento V: Foi preparado uma solução de ácido palmítico (Sigma-Aldrich, P0500-10G) em metanol 100% (TEDIA) a uma concentração de 5ng/ μ L (ácido/metanol). Essa solução (10 μ L) foi aplicada sobre a cutícula da abelha, correspondente a área dorsal do tórax.

Após o tratamento químico da superfície da cutícula com o ácido, aguardou-se um período de 5 minutos de reação. Posteriormente, as abelhas foram colocadas em freezer -20°C durante 2 minutos, para evaporação da

solução remanescente. Todos os experimentos realizados foram repetidos por 3 vezes.

Logo após, as abelhas foram fixadas em keta-aldeído, desidratadas em diferentes concentrações de acetona (50%, 75%, 90%, 95% e 100%) e para garantir a total desidratação das amostras, as mesmas foram submetidas ao ponto crítico de CO₂. As abelhas foram então inseridas em suporte de alumínio, denominados *stubs*, e metalizadas por deposição de íons metálicos de ouro (*sputtering*). Por fim, a superfície da cutícula das abelhas foi examinada e fotografada em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM-3000).

4.4. Análise Proteômica

4.4.1. Obtenção das glândulas e da seda da teia da aranha *N. clavipes*

As aranhas *N. clavipes* e suas teias orbitais foram coletadas no campus da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” localizado na cidade de Rio Claro, São Paulo, de maneira georeferenciada (22°23'43.6"S 47°32'38.9"W). As aranhas foram dissecadas para a retirada das glândulas produtoras de seda, mais especificamente aquelas que estão associadas com a produção das fibras que constituem a seda da teia, que são as glândulas ampulada maior (AMA), ampulada menor (AME), agregada (AGRE) e flageliforme (FLA).

4.4.2. Extração da fração de proteínas solúveis da teia

As teias foram coletadas no campo, e limpas com o auxílio de pinças para a retirada de partículas, restos de insetos, folhas e galhos aderidos à seda; evitando dessa forma uma contaminação da amostra. Após a limpeza, os fios de seda foram pesados (9 mg) e tratados para a extração dos princípios ativos existentes no seu revestimento. Sendo assim, o material limpo foi lavado com acetonitrila 50% (v/v), contendo 0,2 % (v/v) de um coquetel de inibidores de proteases (SIGMA) (3 mg de teia/1 mL de actetonitrila 50% (v/v) contendo o coquetel de inibidores de proteases, em triplicata). Após, as amostras (denominada de “lavado da teia”) foram centrifugadas à 8000 x g por 15 minutos, com o sobrenadante sendo coletado e liofilizado; as amostras foram

quantificadas por “peso seco”, e logo em seguida submetidas a digestão em solução com tripsina.

4.4.3. Extração das proteínas presentes nas secreções das glândulas produtoras de seda

As aranhas foram dissecadas para a retirada das glândulas, as quais foram separadas em frascos distintos. Logo após, em presença de água (Milli-Q) contendo 0,2 % (v/v) de um coquetel de inibidores de proteases (SIGMA), as glândulas foram individualmente comprimidas com auxílio de um mini-pistilo de Teflon, para provocar a liberação do conteúdo glandular (20 glândulas/1mL solução de água contendo o coquetel de inibidores de proteases, em triplicata para cada amostra). Em seguida as amostras (secretoma) foram centrifugadas à 8000 x g, por 10 min, com o sobrenadante sendo coletado e liofilizado; os extratos secos resultantes foram armazenados à -80°C até o momento de serem utilizados. As amostras foram quantificadas pelo método de Bradford (BioRad), utilizando-se albumina bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976).

4.4.4. Digestão em solução - estratégia *shotgun*

Para a aplicação da estratégia de *shotgun*, as amostras foram solublizadas em bicarbonato de amônio 50mM, pH 7.9 contendo urea 7.5 M, e incubadas por 60 minutos à 25°C sob leves agitações a cada 20 minutos. Em seguida foi realizado o tratamento de redução e alquilação com a adição de Ditioneitol (DTT) 10 mM por 60 minutos à 37°C; e iodoacetamida (IAA) 40 mM também por 60 minutos à 25°C. Após esses tratamentos, as amostras foram diluídas cinco vezes com bicarbonato de amônio 100 mM, pH 7.8, contendo cloreto de cálcio 1M. Em seguida foi adicionado tripsina (Promega) 40 ng/μL à 37°C por 16h. A reação de digestão foi interrompida com 5μL de ácido fórmico. As amostras digeridas foram dessalinizadas utilizando uma coluna SPE C18 (Discovery DSC-18, SUPELCO, Bellefonte, PA, USA) condicionada com acetonitrila/ácido trifluoracético (ACN/TFA 0.1%). Os peptídeos foram eluídos da coluna com ACN 80% / TFA 0.1%, secos em *speedvac* e solubilizados em ACN 50% / ácido fórmico 5% (v/v) para serem analisados.

4.4.5 Espectrometria de massas dos extratos da seda da teia e glândulas produtoras de seda

Para as análises de espectrometria de massas foi utilizado um espectrômetro do tipo nanoLC-ESI-CID/ETD-MS/MS (Amazon ETD, Bruker Daltonics Bremen, Alemanha), a coluna utilizada foi a PepMap100 C-18 *trap column* (300mm X 5mm) e PepMap100 C-18 *analytical column* (75mm X 150mm). Os dados de MS e MS/MS foram adquiridos em uma faixa de m/z 100 a m/z 2800. Foi utilizado um gradiente: A - 0.1% de ácido fórmico em água, B - 0.08% de ácido fórmico em ACN (4-30% de B (0-105 min), 80% de B (105-110 min), 4% de B (110-125 min)); e foi utilizado o princípio de dissociação de íons do tipo CID (Dissociação Induzida por Colisão) o qual gera íons típicos b- e y- observados. Os espectros MS/MS foram adquiridos e uma lista de picos foi gerada pelo software DataAnalysis 4.1 (Bruker Daltonics).

4.4.6. Identificação das proteínas presentes nos extratos da seda da teia e glândulas produtoras de seda

Para a identificação das proteínas presentes nos extratos da seda foi utilizado o servidor MASCOT 2.3.02 (Matrix Science, London, UK) realizando inicialmente buscas contra o banco de dados Arachnidae (404.857 de entradas, em 20/07/2015). Para as proteínas que não foram identificadas neste banco de dados, foram realizadas pesquisas contra outros bancos de dados como o Arthropoda e NCBI nr (6.448.695 e 363.947.122 de entradas, respectivamente, em 20/07/2015). Os parâmetros de busca foram utilizados de acordo com a taxonomia do organismo de estudo (*Metazoa / Other Metazoa*), assim como também conforme dados oriundos durante a manipulação experimental das amostras como o tipo de enzima proteolítica utilizada e possíveis modificações fixas e variáveis que possam ter ocorrido.

Dessa forma foram utilizados os seguintes parâmetros:

- a) Enzima: Tripsina
- b) Carbamidometilação (C) como modificação fixa
- c) Oxidação (M), como modificação variável

- d) Nº de clivagens perdidas pela enzima: 2
- e) Massa molecular do tipo: Monoisotópica
- f) Massa molecular: sem restrições
- g) Erro de tolerância de peptídeos $\pm 0.5\text{Da}$ e erro de tolerância de $\text{MS}^n \pm 0.8\text{Da}$
- h) Protonação: +2, +3, +4 para o estado da carga dos peptídeos
- i) Tipo de instrumento: ESI-Trap
- j) Foram admitidos Protein Scores significativos ($p < 0.05$) para a identificação das proteínas.

As proteínas identificadas foram submetidas a análise pelo algoritmo Scaffold 4.3.2 (Proteome Software Inc., Portland, OR), para validar a identificação dos peptídeos e cálculo do FDR - *false discovery rate* (menos que 1%). FDR foi calculado considerando pelo menos três sequências peptídicas distintas. De acordo com o FDR algoritmo implementado no Scaffold, a probabilidade de identificação dos peptídeos foi ajustada para um mínimo de 95%, enquanto que a probabilidade de identificação das proteínas foi de 99%.

4.4.7. Análise e interpretação dos dados utilizando o *Gene Ontology* (GO)

Com a finalidade de compreender e interpretar os dados proteômicos, a lista das proteínas identificadas foram analisadas e classificadas de acordo com os termos do GO (Schmidt et al., 2014). Apenas as proteínas não redundantes foram consideradas para análise funcional, onde não foram consideradas as proteínas classificadas como descaracterizadas, hipotéticas, proteínas putativas ou similares. Com base na classificação funcional utilizando o GO (componente celular, processo biológico e função molecular) destas proteínas (<http://geneontology.org/>), foi proposto um mecanismo geral de função para as proteínas identificadas nas glândulas produtoras da seda e na seda da teia. A análise do diagrama de Venn foi utilizado para identificar as proteínas exclusivas e compartilhadas para cada glândula de seda através do algoritmo FunRich (MOHASHIN et al., 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

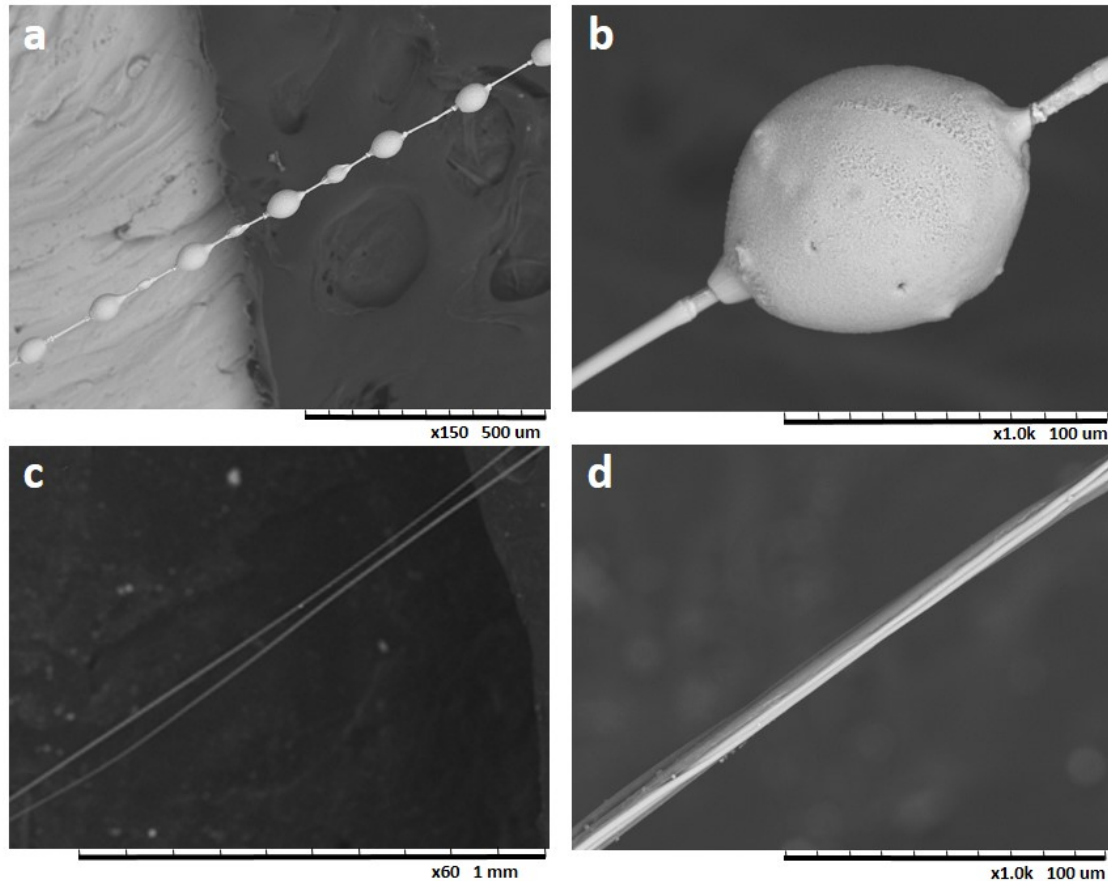
Com a finalidade de se obter informações sobre a morfologia dos fios de seda, e dos componentes moleculares da seda da teia da aranha *N. clavipes*, utilizados na estratégia de captura de presas, as amostras de seda e das glândulas produtoras de seda foram submetidas a um estudo com análise de microscopia eletrônica de varredura, análise de microscopia de luz, análise do perfil dos compostos de baixas massas moleculares e análise proteômica em um sistema livre de gel do tipo *shotgun*. Os resultados serão apresentados e discutidos na ordem mencionada acima, para que a leitura do texto e interpretação dos dados, no decorrer da dissertação, possam ocorrer de forma compreensível conforme o estudo foi realizado. Sendo assim, inicialmente, a presente dissertação apresenta os resultados obtidos com a análise de microscopia eletrônica de varredura, realizada com a finalidade de se obter informações sobre as características ultraestruturais dos fios de seda da espiral de captura.

5.1. Microscopia

5.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após examinar as fotos por MEV obtivemos informações sobre as características ultraestruturais da superfície dos fios intactos de seda da espiral de captura da teia da aranha *N. clavipes*. Foi observado a presença de diversas gotículas distribuídas ao longo dos fios da teia; as mesmas apresentaram morfologia externa que variou entre globular e ovóide, com tamanhos de 50 a 100 μm de diâmetro (Φ), distribuídas em intervalos regulares de mais ou menos de 100 μm , ao longo do fio da teia (figura 11a-b). A camada mais externa da gotícula lhe confere um aspecto sólido, fato este comprovado pela simples observação da sua forma regular, mantida mesmo após processamento por MEV. A figura 11c-d mostra que sob tratamento com água e depois com metanol, ocorre uma desintegração das gotículas possibilitando a visualização apenas das fibras do fio.

Figura 11. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das gotículas dos fios de seda da teia da aranha *N. clavipes*. **a)** imagem da distribuição das gotículas sobre o fio intacto da espiral de captura. **b)** imagem com vista aproximada destacando uma gotícula com formato ovóide. **c)** imagem de dois fios de seda após a lavagem das gotículas com água e metanol (100%). **d)** imagem com vista aproximada de um dos fios de seda, mostrando que as gotículas foram removidas após a lavagem.

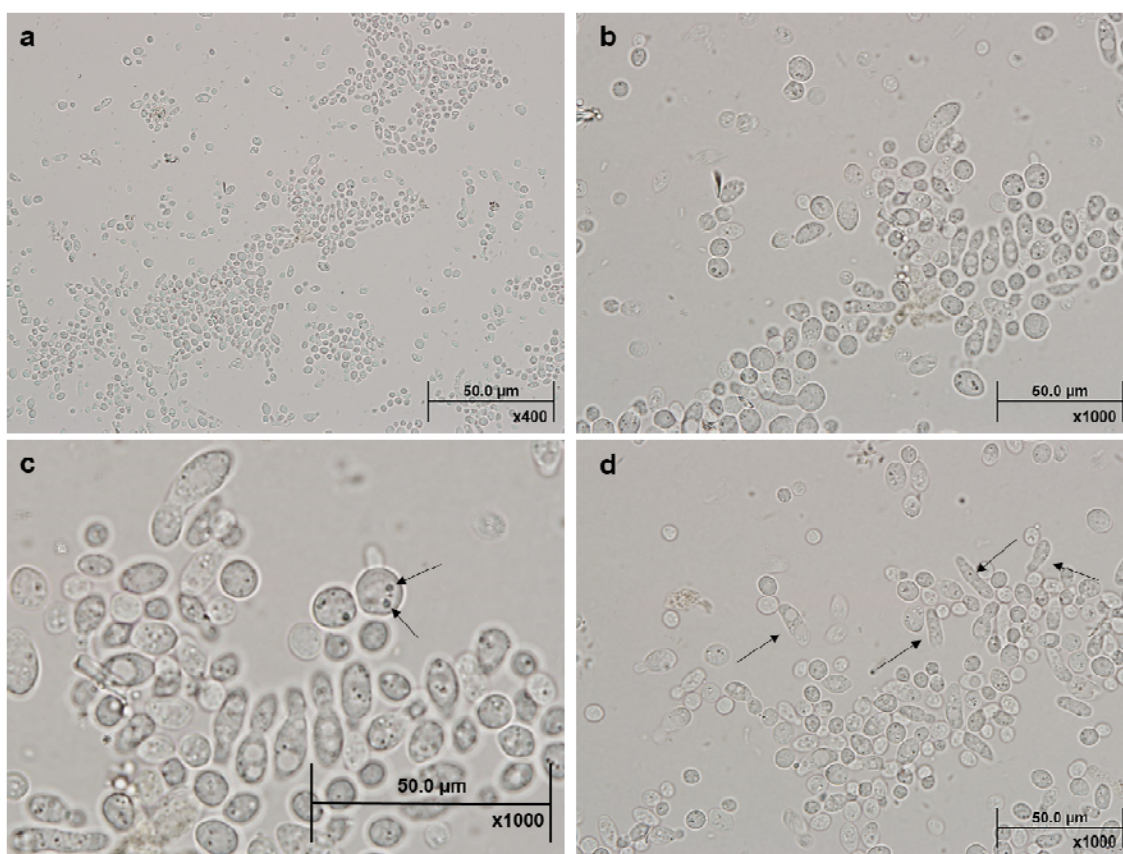


Após a análise das características ultraestruturais dos fios de seda da espiral de captura, obtivemos a confirmação da presença das gotículas sobre esses fios. Em seguida, decidimos realizar uma análise do conteúdo dessas gotículas através de análises de microscopia de luz. Para essa análise, uma nova amostra de seda foi coletada e os fios de seda foram “lavados” com água (Milli-Q) à 25°C, sob agitação por 4 horas. Esse processo mecânico de agitação, aparentemente, possibilitou o rompimento das gotículas presentes nos fios de seda, extravasando o seu conteúdo para o meio aquoso.

5.1.2 Microscopia de Luz (ML)

Após examinar as fotos obtidas por ML obtivemos informações sobre as características morfológicas da fina camada oleosa sobrenadante do “lavado aquoso da teia”. Foram encontradas estruturas globulares, com diâmetros que variam de 0,3 a 1,0 μm , e que possivelmente representam as vesículas lipídicas presentes no interior das gotículas da espiral de captura da teia (figura 12a-d). Nas imagens podemos observar a presença de muitas vesículas no formato fusiforme, presumivelmente formadas através da fusão de vesículas lipídicas. Essas vesículas aparentemente aprisionam material no seu interior (conteúdo mais denso apresentado na figura 12c).

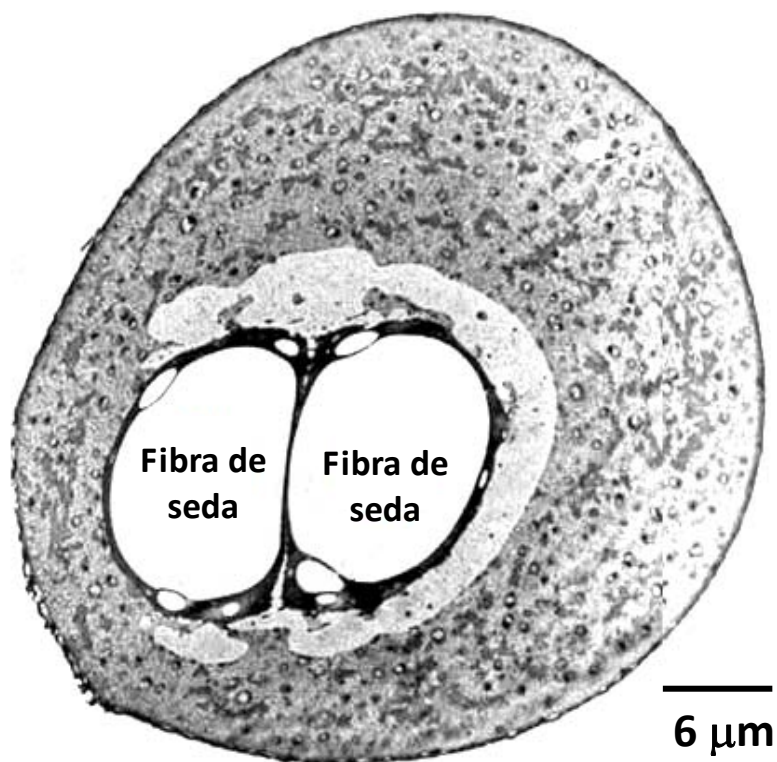
Figura 12. Microscopia de luz (ML). **a)** imagem da fina camada oleosa sobrenadante do “lavado aquoso da teia” de *N. clavipes*. **b)** aumento da figura “a” destacando o formato globular das vesículas. **c)** aumento da figura “b” destacando conteúdo mais denso armazenado no interior da vesícula, apontado por setas pretas. **d)** imagem evidenciando o formato fusiforme presumivelmente pela fusão de vesículas lipídicas, apontadas por setas pretas.



Aparentemente a camada externa da gotícula (50-100 μm Φ) se rompeu através do processo mecânico de agitação da teia em água, liberando então as

pequenas vesículas contidas em seu interior ($0,3-1\mu\text{m } \Phi$), as quais foram observadas na figura 12a-d. Essa observação corrobora com os resultados de microscopia eletrônica de transmissão (MET) obtidos por Salles e colaboradores (2003), o qual demonstra diversas vesículas ($0,4 \mu\text{m } \Phi$) suspensas dentro do conteúdo aquoso de uma gotícula ($40 \mu\text{m } \Phi$), observadas através da ultra secção de uma gotícula apresentada na figura 13.

Figura 13. Ultra secção da gotícula envolta do fio de seda pertencente a espiral de captura da teia de *N. clavipes* - técnica de citoquímica de ácido tânico e imidazol para identificação de proteínas e lipídeos respectivamente através de MET. É possível observar diversas estruturas globulares (vesículas lipídicas) suspensas dentro do conteúdo aquoso da gotícula. No interior das vesículas lipídicas há conteúdo eletrodense, que correspondem as proteínas armazenadas (figura extraída da tese de SALLES, 2003).



No presente estudo, os resultados evidenciam a presença de vesículas lipídicas extracelulares, as quais são retidas no interior das gotículas, porém não podemos afirmar qual é o tipo exato de vesícula lipídica (lipossomo, exossomo, etc). Essa questão poderá ser melhor discutida se levarmos em consideração alguns estudos, que serão mencionados abaixo, sobre a formação de vesículas, ácidos graxos e o conteúdo dessas vesículas.

Salles e colaboradores (2006) realizaram a análise bioquímica (GC-MS) e ultraestrutural por microscopia eletrônica de transmissão (MET) das gotículas da teia de *N. clavipes*. Nesse estudo foi revelado a existência de muitas vesículas, formadas por ácidos graxos em suspensão, retidas dentro do conteúdo aquoso das gotículas (figura 13, extraída da tese de Salles, 2003). Essas gotículas apresentaram uma série de alcalóides tóxicos, peptídeos e proteínas armazenadas em seu interior (SALLES, 2003; MARQUE et al., 2005; VOLSI et al., 2006).

Assim como nos estudos de Salles (2003) e Salles e colaboradores (2006) em que relata a presença de vesículas formadas por ácidos graxos em suspensão, armazenadas no interior das gotículas, estudos prévios relatam sobre o papel dos ácidos graxos (principalmente ácido caprílico) na secreção defensiva do pseudo-escorpião *Mastigoproctus giganteus*. Esses ácidos foram relatados como agentes tensoativos, ou seja, são agentes que promovem a difusão do material defensivo sobre a cutícula do inseto-presa, aumentando a permeabilidade da barreira epicuticular do mesmo, o que facilita a entrada de toxinas do veneno do pseudo-escorpião para o interior do corpo do inseto-presa (EISNER et al., 1978).

Em meio aquoso os fosfolipídeos e glicolipídeos formam prontamente lâminas bimoleculares. Isto pode favorecer a formação de uma estrutura globular denominada micela. As cabeças polares dos fosfo-glicolipídeos formam a superfície externa da micela, que é circundada por água, enquanto que as caudas constituídas por hidrocarbonetos são sequestradas no interior da micela, interagindo umas com as outras. Porém a micela é uma estrutura limitada com até 200 Å (20nm) de diâmetro. Os sais de ácidos graxos (como o palmitato de sódio, constituinte do sabão) formam prontamente micelas visto que contêm apenas uma cadeia.

Existe uma formação de estrutura mais favorecida para as lâminas bimoleculares de lipídeos e glicolipídeos em meio aquoso, as bicamadas lipídicas. Essas bicamadas formam-se espontaneamente por um processo de automontagem, sendo que as interações hidrofóbicas constituem a principal força motriz para a formação de bicamadas lipídicas, as quais podem alcançar dimensões macroscópicas de até 10^7 Å ou 10^6 nm (ALBERTS et al., 2012). Uma

das consequências biológicas significativas das interações hidrofóbicas é da tendência das bicamadas lipídicas se fecharem sobre elas mesmas, com consequente formação de compartimentos (ALBERTS et al., 2012). Sendo assim, a partir das interações hidrofóbicas podem ser formados por exemplo, os lipossomos, os quais por definição são vesículas constituídas de uma ou mais bicamadas fosfolipídicas orientadas concentricamente em torno de um compartimento aquoso (BATISTA et al., 2007). Esses lipossomos são importantes nos estudos de aplicações terapêuticas, pois os mesmos podem aprisionar fármacos ou DNA para experimentos de terapia gênica. Isto porque, os lipossomos fundem-se facilmente com a membrana plasmática de muitos tipos de células, introduzindo nelas as moléculas aprisionadas (ALBERTS et al., 2012). O tamanho dos lipossomos é variável, dentro do intervalo de 400 a 3500 nm de diâmetro (MOZAFARI, 2005).

Há também os exossomos, os quais são vesículas extracelulares originados de vesículas multilamelares (MLVs), com tamanho médio que varia de 40 a 100 nm de diâmetro (RAPOSO e STOOORVOGEL, 2013), esses podem aprisionar em seu interior proteínas, lipídeos e até ácidos nucleicos (COCUCCI et al., 2009). Além dos exossomos há outros tipos de vesículas extracelulares, como ectossomos e microvesículas (MVs), as quais são geradas por gemulação da membrana plasmática para o exterior da célula. O tamanho das mesmas varia de 50nm a 1µm de diâmetro, (BOBRIE et al., 2011).

A literatura destaca que apesar de muitos estudos atualmente publicados sobre a compreensão das diferentes vesículas, é importante salientar que mesmo com a combinação de diversas técnicas como a análise proteômica, microscopia eletrônica e diferentes protocolos de ultracentrifugação, ainda não são suficientes para discriminar os diferentes tipos de vesículas (BOBRIE, et al., 2011). É importante enfatizar que a maioria dos estudos não consegue elucidar exatamente qual é o tipo de vesículas identificadas em sua amostra, e se as mesmas são do tipo exossomos ou MVs; portanto, o termo vesículas extracelulares (EVs) é o mais apropriado ao nos referirmos em vesículas que não estão claramente definidas (RAPOSO e STOOORVOGEL, 2013).

No presente estudo, os resultados evidenciam a presença de vesículas lipídicas extracelulares, as quais são retidas no interior das gotículas, porém ainda não foi possível identificar com certeza qual é o tipo de vesícula lipídica (lipossomo, exossomo). No entanto, na análise proteômica da teia da aranha *N. clavipes* (sessão de resultados 5.4.) foram identificadas proteínas envolvidas na biogênese, transporte e secreção de exossomos, e a presença destas proteínas conseqüentemente sugere a possibilidade de que tais vesículas possam ser do tipo exossomos. Além disso, a presente dissertação também irá mostrar (sessão de resultados 5.4) um número expressivo de toxinas que foram identificadas na seda da teia da aranha *N. clavipes*. Essas toxinas (proteínas) muito provavelmente estão armazenadas no interior das vesículas lipídicas extracelulares, as quais estão em suspensão retidas dentro do material aquoso das gotículas. Esses resultados serão melhores discutidos mais adiante na presente dissertação.

Um dos objetivos em nossos futuros trabalhos será o isolamento das vesículas para a investigação química inicial dos fosfolipídeos e possíveis proteínas transmembranas que constituem essas vesículas extracelulares. E ainda, análises para verificar se essas vesículas apresentam também mRNA e outros tipos de moléculas em seu interior, além das proteínas relatadas no presente estudo.

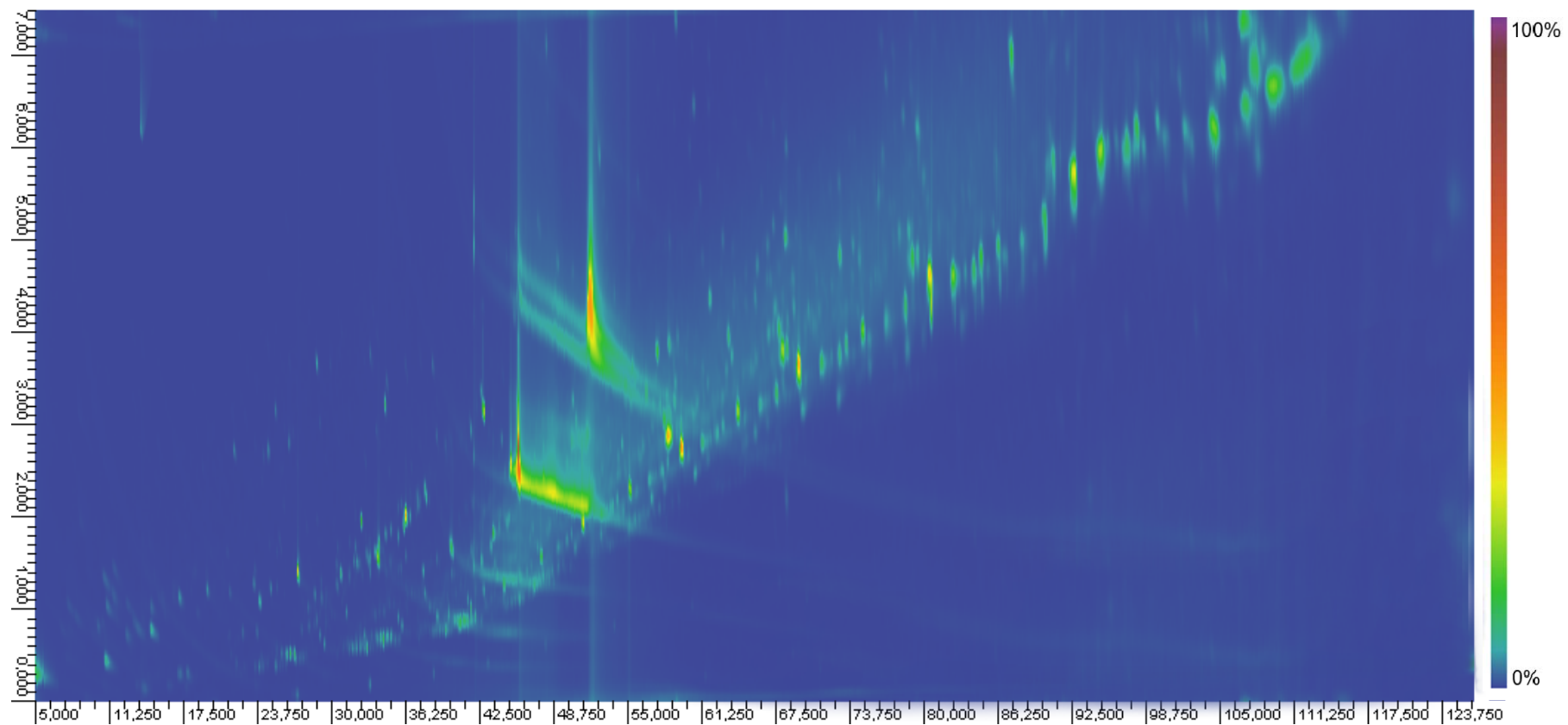
Continuando com a nossa investigação com relação ao conteúdo das gotículas presentes na seda da teia, decidimos investigar e elucidar o perfil químico dos compostos de baixas massas moleculares presentes nessas gotículas, enfatizando aqueles que possivelmente desempenham um “papel ativo” como estratégia na captura de presas. Sendo assim, realizamos então, uma análise do exometaboloma da teia conforme apresentado a seguir.

5.2. Perfilagem química dos compostos de baixa massas moleculares da teia

5.2.1. Análise dos compostos de baixa massas moleculares das gotículas depositadas sob fios de seda da espiral de captura da teia da aranha *Nephila clavipes*

As gotículas depositadas sobre os fios de seda da teia da aranha *N. clavipes* foram extraídas em hexano 95% (Sigma-Aldrich), sendo essa solução denominada como “lavado hexânico da teia”, e foi analisada por GCxGC-MS. A figura 14 mostra o cromatograma representativo da análise bidimensional por separação abrangente (cromatograma GCxGC-2D); nesta figura as cores representam a intensidade do sinal de detecção, onde os sinais mais intensos são representados por cores próximas ao vermelho, e os sinais menos intensos são representados por cores próximas ao azul escuro.

Figura 14. Cromatograma GCxGC-2D representativo da análise da amostra de seda (“lavado hexânico da teia”) da aranha *N. clavipes* mostrando os 316 picos cromatográficos (cada “mancha” representa um pico).



Nestes diagramas, o eixo X representa o tempo de retenção na primeira dimensão, e o eixo Y representa o tempo de retenção na segunda dimensão; o eixo Z foi substituído pela representação em cores de cada pico, conforme explicado acima. Cada “mancha” visualizada no diagrama de cores (cromatograma GCxGC-2D) representa a vista superior de um pico cromatográfico. Sendo assim, para análise GCxGC-MS do “lavado hexânico da teia” de *N. clavipes* foram encontrados 316 picos cromatográficos, ou seja, 316 compostos.

A figura 15, representa o cromatograma GCxGC em três dimensões - diagrama tridimensional (“3D plot”), no qual eixo X representa o tempo de retenção na primeira dimensão, o eixo Y, o tempo de retenção na segunda dimensão e o eixo Z, a intensidade de sinal (MUHLEN 2007).

A partir desses diagramas de cores (cromatograma GCxGC-2D) foi possível retirar informações dos compostos encontrados, como tempo de retenção das duas dimensões (Tr^1 e Tr^2), área superficial e do volume de cada pico cromatográfico, identificação (segundo a biblioteca NIST MS v.11) por comparação de espectros de massas e a porcentagem de similaridade em que o composto encontrado tem em relação aos compostos padrões da biblioteca, além de identificação através de padrões, conforme demonstrado na tabela 2.

Figura 15: Cromatograma 3D representativo da análise do lavado hexânico da teia da aranha *N. clavipes*.

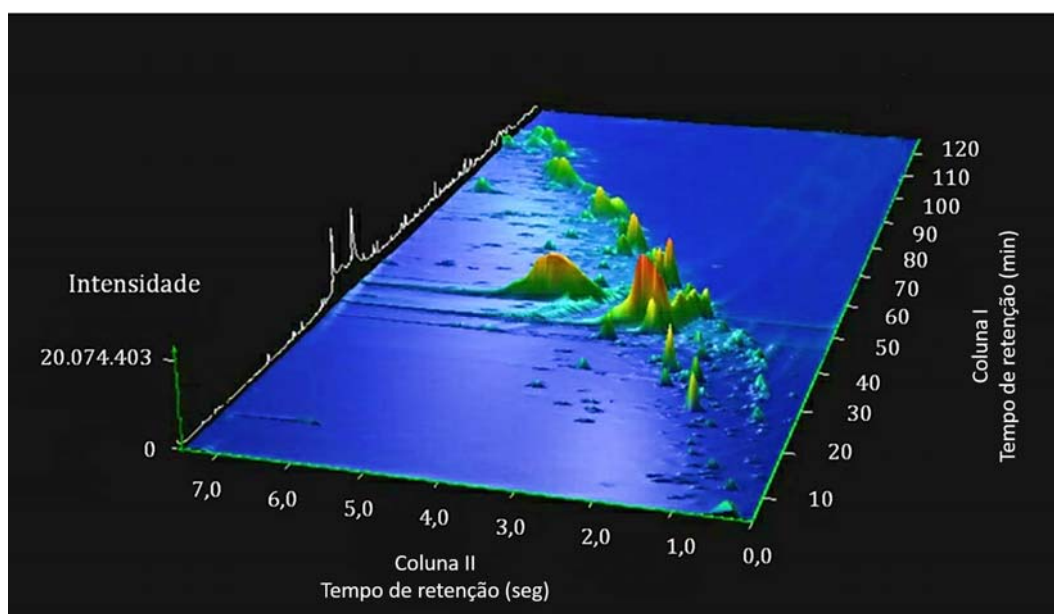


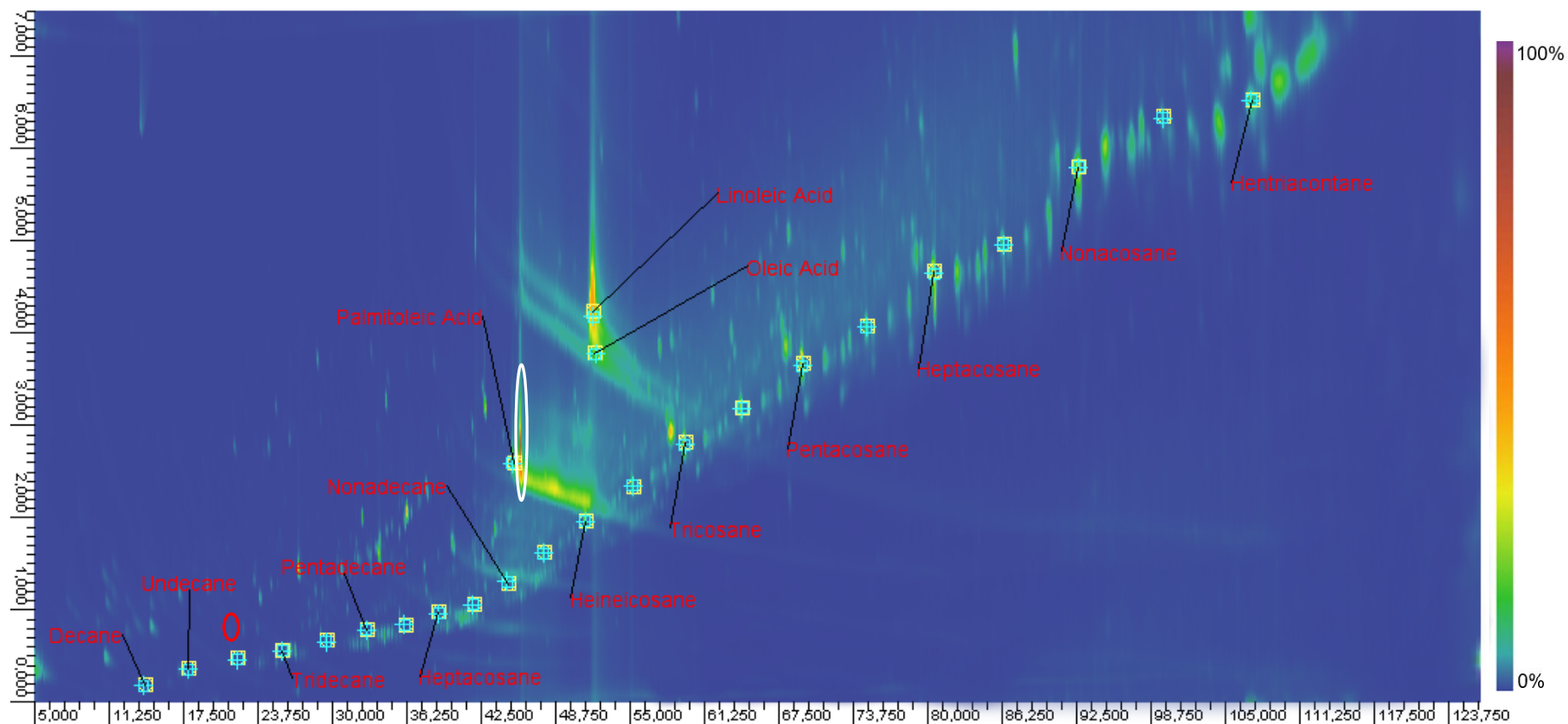
Tabela 2. Identificação de alguns compostos presentes no lavado hexânico da teia da aranha *N. clavipes*, por comparação com padrões químicos, mostrando o tempo de retenção da primeira (Tr1) e da segunda (Tr2) dimensão, relação massa carga (m/z), fórmula molecular (FM) e a % relativa do volume do pico.

Pico	Nome do composto	FM	m/z	Tr1(min.)	Tr2(sec.)	% relativa volume do pico
1	Decano	C ₁₀ H ₂₂	142	14,25	0,60	0,128
2	Undecano	C ₁₁ H ₂₄	156	17,88	0,80	0,109
3	Dodecano	C ₁₂ H ₂₆	170	22,00	0,90	0,042
4	Tridecano	C ₁₃ H ₂₈	184	26,13	1,00	0,188
5	Tetradecano	C ₁₄ H ₃₀	198	29,38	1,10	0,092
6	Pentadecano	C ₁₅ H ₃₂	212	32,75	1,20	0,150
7	Hexadecano	C ₁₆ H ₃₄	226	36,00	1,30	0,123
8	Heptadecano	C ₁₇ H ₃₆	240	38,88	1,40	0,272
9	Octadecano	C ₁₈ H ₃₈	254	41,75	1,50	0,221
10	Nonadecano	C ₁₉ H ₄₀	268	44,50	1,75	0,512
11	Ácido Palmitoléico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	45,13	3,05	1,342
12	Eicosano	C ₂₀ H ₄₂	282	47,75	2,05	0,863
13	Heneicosano	C ₂₁ H ₄₄	296	51,25	2,40	1,819
14	Ácido Oléico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	280	51,63	4,25	1,817
15	Ácido Linoléico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	282	51,88	4,80	57,86
16	Docosano	C ₂₂ H ₄₆	310	55,13	2,80	1,392
17	Tricosano	C ₂₃ H ₄₈	324	59,50	3,25	4,597
18	Tetracosano	C ₂₄ H ₅₀	338	64,25	3,65	2,163
19	Pentacosano	C ₂₅ H ₅₂	352	69,38	4,15	4,761
20	Hexacosano	C ₂₆ H ₅₄	366	74,88	4,50	2,079
21	Heptacosano	C ₂₇ H ₅₆	380	80,50	5,10	7,395
22	Octacosano	C ₂₈ H ₅₈	394	86,25	5,45	1,183
23	Nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	408	92,75	6,20	7,286
24	Triacontane	C ₃₀ H ₆₂	422	99,75	6,75	0,679
25	Hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	436	107,13	6,95	2,931

Podemos notar uma grande quantidade de compostos visualizados no cromatograma (316), porém, devido ao tempo para a redação e entrega da dissertação, até o momento, foram identificados 25 compostos, sendo 22 hidrocarbonetos alcanos saturados e 3 ácidos graxos. Esses resultados e outras informações referentes a esses compostos: tempo de retenção das duas dimensões (Tr1 e Tr2), relação massa carga (m/z) e a porcentagem relativa do

volume do pico, estão mostrados na tabela 2. Esses compostos foram inicialmente identificados por comparação de seus tempos de retenção e espectros de massas obtidos no modo SCAN (varredura de espectro), com padrões de alcanos saturados (C7-C40) e padrões de ácidos graxos (C16:1, C18:1, C18:2, C18:3) (Sigma-Aldrich). A figura 16 mostra os resultados desses padrões sobrepostos a amostra do lavado hexânico da teia”. Além dos 3 ácidos graxos identificados através dos compostos padrões da biblioteca e de padrões, conforme já mencionado anteriormente, também foram identificados os ácidos dodecanóico (assinalado com círculo vermelho) e palmítico (assinalado com círculo branco) (figura 16). Conforme podemos notar na figura 16 o ácido palmítico se apresenta em uma quantidade abundante na amostra; somente foi possível identificar esses dois ácidos através da biblioteca NIST MS v.11, por comparação de espectros de massas e a porcentagem de similaridade em que os compostos encontrados apresentam em relação aos compostos padrões da biblioteca. Além disso, também foi realizada a identificação por simulação da fragmentação dos picos correspondentes aos ácidos dodecanóico e palmítico na amostra, utilizando-se a ferramenta o programa ChemBioDraw Ultra 12.0 e WindowsChem-MS Calc.

Figura 16. Cromatograma GCxGC-2D representativo das análises dos padrões, sobrepostos à amostra de lavado hexânico da teia de *N. clavipes*. Padrões de alcanos saturados (C7-C40) e padrões de ácidos graxos (C16:1, C18:1, C18:2). O pico cromatográfico assinalado com o círculo branco corresponde ao ácido palmítico e o círculo vermelho corresponde ao ácido dodecanóico.



A figura 17 e tabela 2 mostram os dados representativos sobre a área superficial de cada pico cromatográfico, em que cada pico foi representado por uma “bolha” (“*bubble-plot*”) e sua área é proporcional ao valor do diâmetro da mesma. Valores do volume (comprimento x largura x intensidade) de cada pico cromatográfico da amostra também foram anotados (% relativa do volume do pico).

A partir dos resultados obtidos e através de uma análise prévia dos espectros, os compostos quimicamente relacionados foram agrupados de acordo com a sua função orgânica: cetona, ácido, álcool, hidrocarboneto, aldeído e éster. A figura 18 mostra esse agrupamento, no qual cada grupo está representado por uma cor diferente. Esse agrupamento, conhecido como “efeito telhado” (“*roof-tile effect*”), é um perfil relativo ao agrupamento dos picos de uma classe de compostos quimicamente relacionados em um espaço de separação, o qual se repete quando o número de carbonos destes compostos aumenta ou diminui, de forma a causar uma impressão visual de “telhado” na representação do cromatograma GCxGC-2D, sendo que cada conjunto alinhado de “telhas” corresponde a um grupo de compostos pertencentes a uma mesma classe de função orgânica, que apresenta um número determinado de carbonos (Von Muhlen et al., 2007)

No cromatograma GCxGC-2D da figura 18 pode-se ver uma tendência a formação de agrupamento de compostos quimicamente relacionados (“efeito telhado”), é possível observar isso principalmente para o agrupamento dos hidrocarbonetos. Assim como mencionado acima, os compostos estão agrupados segundo sua função orgânica, no qual cada grupo de função orgânica está representado com uma cor diferente.

Figura 17. Cromatograma 2D representativo de bolhas (“bubble-plot”) da análise da amostra de seda (“lavado da teia”) da aranha *N. clavipes*, mostrando a área superficial e cada pico cromatográfico representado por uma bolha, a qual possui um valor de área proporcional ao seu tamanho em diâmetro (ϕ).

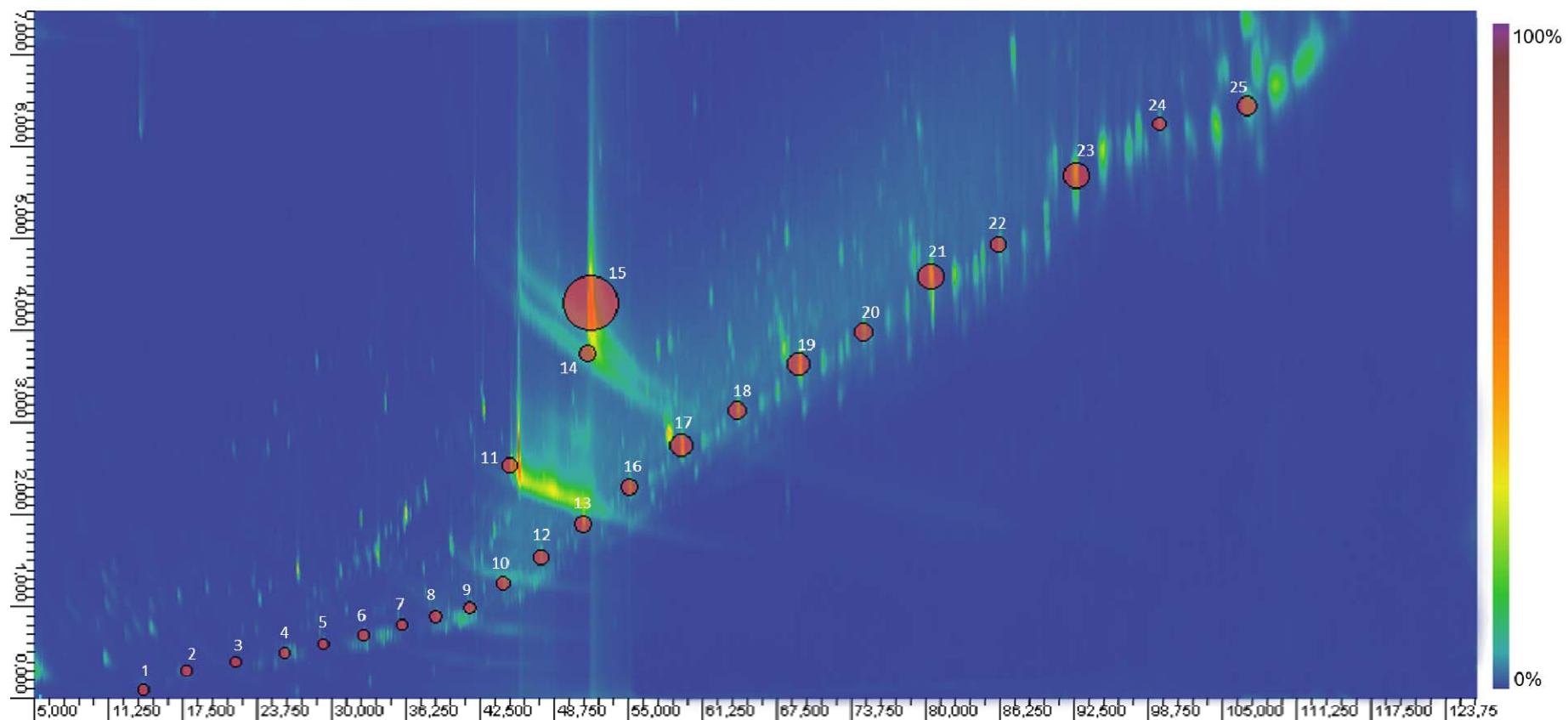
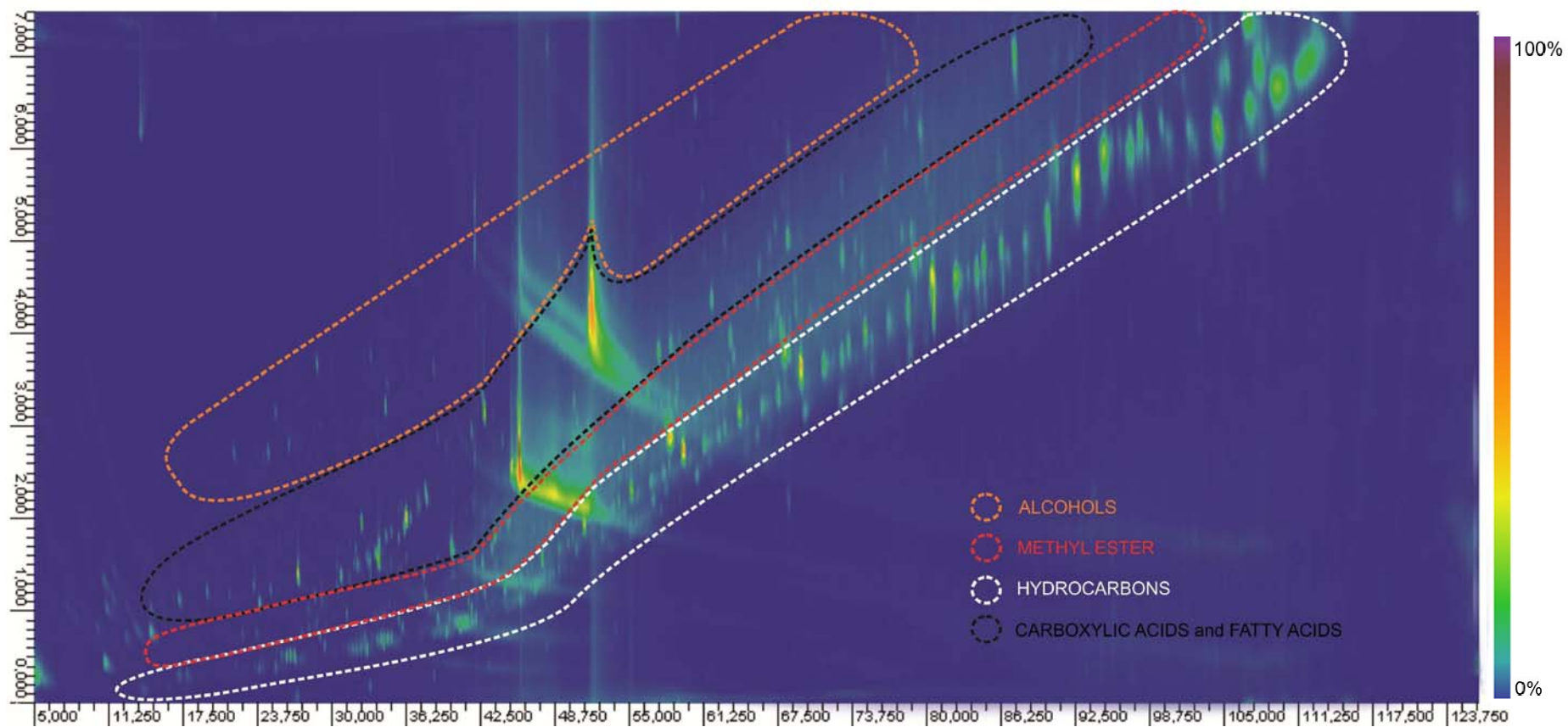


Figura 18. Cromatograma GCxGC-2D representativo da análise da amostra de seda (“lavado da teia”) da aranha *N. clavipes*, mostrando o agrupamento de cada função orgânica representado por uma cor diferente. Contorno laranja - álcool, contorno preto - ácidos graxos, contorno vermelho - metil éster e contorno branco - hidrocarbonetos.



Estudos realizados com o uso de análises GC-MS realizados por Salles e colaboradores (2006) com a seda da teia da aranha *N. clavipes*, demonstraram a presença de uma diversidade de ácidos graxos saturados como o ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido tridecanóico, ácido tetradecanóico, ácido octadecanóico e ácido icosanóico; e também de ácidos graxos insaturados como o ácido (Z)-tetradec-9-enoic. Alguns desses lipídeos também já foram relatados previamente em outros estudos sobre os lipídeos recobrando as fibras da teia (Prouvost et al., 1999; Schulz, 2001). Nas teias de *N. clavipes* a composição de lipídeos revelou que 85% dos mesmos eram compostos de uma mistura de ácido octadecanóico e ácido tridecanóico na proporção 1:1 (Salles et al., 2006). A função dessa camada de ácidos graxos sobre as fibras da seda ainda não está bem esclarecida, porém muitos dos ácidos graxos relatados podem estar envolvidos com a estrutura central da fibra, proporcionando uma superfície suave, regulação do conteúdo de água, repelindo-a da seda, e proteção da seda contra a degradação (Schulz, 2001; Salles et al., 2006). E em estudos de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) com técnica de citoquímica para detecção de lipídeos foi possível observar ácidos graxos sobre a superfície das fibras da seda da aranha *N. clavipes* (DOS SANTOS-PINTO et al., 2015).

Estudos tem relatado a presença de alguns compostos/toxinas nas fibras da seda produzidas por aranhas (Marques et al., 2005; Salles et al., 2006; Volsi et al., 2006; Zhang et al., 2011; Sanggaard et al., 2014), o que facilitaria a captura das presas que ao entrar em contato com a teia, sofreria a ação prévia desses compostos, que afetam o sistema nervoso da presa paralisando-a. Também foram descritos a presença de alguns ácidos graxos na teia (Salles et al., 2006) como possíveis agentes tensoativos, responsáveis pela desestabilização da cutícula de insetos deixando-a mais permeável, o que favorece a penetração e ação de toxinas como as da família das tetrahydro- β -carbolinas, que paralisam e matam as presas como descrito anteriormente por Marques, et al. (2005). Uma vez que um dos propósitos é paralisar ou matar a presa, a teia da aranha poderia, então, exercer um papel fundamental apresentando uma estratégia química tanto na defesa quanto na captura de presas.

5.3. Bioensaios

5.3.1. Bioensaio de Repelência

Após a análise dos resultados obtidos do lavado hexânico da seda da teia por GCxGC-MS, decidiu-se testar alguns dos compostos de baixas massas moleculares identificados, para avaliar o potencial dos mesmos em repelir insetos invasores da teia, que se alimentam das presas paralisadas pela aranha, como por exemplo, algumas espécies de formigas invasoras. Isto porque, devido ao elevado valor nutritivo tanto das teias, quanto das presas paralisadas, essas tornam-se alvo de predação pelas formigas. Conforme descrito em materiais e métodos, logo após a contagem do número de operárias presentes nas áreas tratada e não tratada com a solução “solvente + composto”, a repelência foi inferida de acordo com o valor do índice de preferência (IP). O IP é de natureza binomial (repelir ou atrair), calculado através da fórmula $(\log[p/(1-p)])$ descrita por ABBOTT (1925) (MCCULLAGHAND NELDER, 1989; CARROL, 2004), conforme mostrado abaixo.

Índice de preferência (IP)

$$I.P = [(\% IComp - \% IContr) / (\% IComp + \% IContr)]$$

IComp = nº de operárias presentes na área com o composto repelente.

IContr = nº operárias presentes na área apenas com o solvente.

Para a classificação do potencial repelente ou não repelente das soluções através de valores IP utilizou-se os seguintes parâmetros: valores de IP compreendidos entre $-1 < I.P. < -0,1$, são consideradas repelentes. Valores compreendidos entre $-0,1 < I.P. < +0,1$, ou seja, variação de $\pm 10\%$ do I.P. foram consideradas como neutras. Valores compreendidos entre $+0,1 < I.P. < +1$ são consideradas atraentes (ABBOTT, 1925; MCCULLAGHAND NELDER, 1989; CARROL, 2004)

Conforme resultados demonstrados nas tabelas 3, 4, 5 e 6, o “extrato da teia” em água (experimento I) apresentou o valor de IP de -0,92. A solução de ácido dodecanóico em metanol (experimento II) apresentou o valor de IP de -0,98. A solução de ácido palmitoléico em metanol (experimento III) apresentou o valor de IP de +0,42. A solução de “mistura de hidrocarbonetos” (C7-C40) em hexano (experimento IV) apresentou o valor de IP de -0,98 (tabelas 3-6).

Tabela 3. Bioensaio de repelência do extrato da teia de *N. clavipes* em água. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o extrato da teia mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,92).

Experimento I	Extrato da teia em Água		
	nº de formigas		Índice de Preferência(IP)
	Solvente	Extrato	
1	10	0	-1 (Repelente)
2	8	2	-0,6 (Repelente)
3	10	0	-1 (Repelente)
4	10	0	-1 (Repelente)
5	9	1	-0,8 (Repelente)
6	10	0	-1 (Repelente)
7	10	0	-1 (Repelente)
8	9	1	-0,8 (Repelente)
9	10	0	-1 (Repelente)
10	10	0	-0,8 (Repelente)
			-0,92 (Repelente)

Tabela 4. Bioensaio de repelência do ácido dodecanóico em metanol. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o ácido dodecanóico mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,98).

Experimento II	Ácido Dodecanóico em Metanol		
	nº de formigas		Índice de Preferência(IP)
	Solvente	Composto	
1	10	0	-1 (Repelente)
2	9	1	-0,8 (Repelente)
3	10	0	-1 (Repelente)
4	10	0	-1 (Repelente)
5	10	0	-1 (Repelente)
6	10	0	-1 (Repelente)
7	10	0	-1 (Repelente)
8	10	0	-1 (Repelente)
9	10	0	-1 (Repelente)
10	10	0	-1 (Repelente)
			-0,98 (Repelente)

Tabela 5. Bioensaio de repelência do ácido palmitoléico em metanol. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o ácido palmitoléico não se mostrou eficiente em repelir as formigas (IP= +0,42).

Experimento III	Ácido palmitoléico em Metanol		
	nº de formigas		Índice de Preferência(IP)
	Solvente	Composto	
1	3	7	+0,4 (Atraente)
2	1	9	+0,8 (Atraente)
3	3	7	+0,4 (Atraente)
4	9	1	-0,8 (Repelente)
5	1	9	+0,8 (Atraente)
6	1	9	+0,8 (Atraente)
7	2	8	+0,6 (Atraente)
8	1	9	+0,8 (Atraente)
9	4	6	+0,2 (Atraente)
10	4	6	+0,2 (Atraente)
			+0,42 (Atraente)

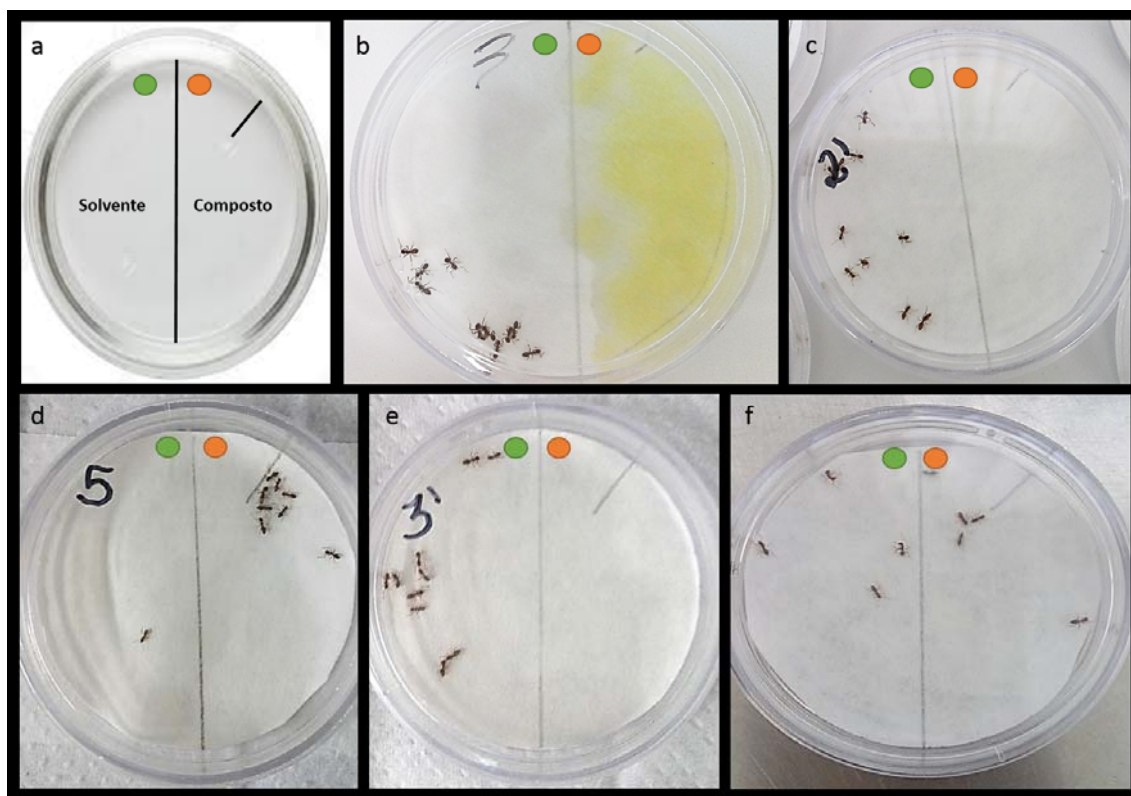
Tabela 6. Bioensaios de repelência do mix de hidrocarbonetos C7-C40 em hexano. Foram realizadas 10 repetições evidenciando que para a maioria das repetições, o mix de hidrocarbonetos mostrou-se eficiente em repelir as formigas (IP= -0,98).

Experimento IV	Mix hidrocarboneto C7-C40 em Hexano		
	nº de formigas		Índice de Preferência(IP)
	Solvente	Composto	
1	10	0	-1 (Repelente)
2	10	0	-1 (Repelente)
3	10	0	-1 (Repelente)
4	10	0	-1 (Repelente)
5	10	0	-1 (Repelente)
6	10	0	-1 (Repelente)
7	10	0	-1 (Repelente)
8	10	0	-1 (Repelente)
9	10	0	-1 (Repelente)
10	9	1	-0,8 (Repelente)
			-0,98 (Repelente)

Sendo assim, o “extrato da teia”, o ácido dodecanóico e a mistura padrão de hidrocarbonetos (C7-C40) possuem valores de IP compreendidos entre $-1 < I.P. < -0,1$, ou seja, esses compostos apresentam ação repelente. Já o ácido palmitoléico compreende valor de IP entre $+ 0,1 < I.P. < + 1$, ou seja, esse composto apresenta ação atraente.

A figura 19a-f mostra as imagens registradas para cada bioensaio de repelência (Experimentos I-V). A figura 19b apresenta uma coloração amarela correspondente a área que foi aplicada o “extrato aquoso da teia”, isto porque a teia possui uma pigmentação que confere uma coloração amarelada aos fios.

Figura 19. Imagens registradas dos bioensaios de repelência (Experimento I-V). **a)** esquema da Placa de Petri evidenciando a linha divisória que separa a área com a solução repelente (composto + solvente, lado direito da placa indicado pelo círculo laranja) e a área apenas com o solvente (lado esquerdo da placa indicado pelo círculo verde). **b)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência ao “extrato da teia” (Experimento I). **c)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência ao ácido dodecanóico (Experimento II). **d)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando atração ao ácido palmitoléico (Experimento III). **e)** perfil de dispersão das formigas na placa evidenciando repelência à mistura de hidrocarbonetos C7-C40 (Experimento V). **f)** perfil de dispersão das formigas na placa sem tratamento químico prévio do papel de filtro – controle (Experimento V).



As teias de aranhas apresentam propriedades que proporcionam notável eficiência na captura de suas presas, porém os restos de presas armazenados na teia, a composição rica em proteínas da seda e até mesmo a própria aranha residente tornam-se fontes de recursos nutricionais à potenciais predadores, como por exemplo as formigas (BJORKMAN-CHISWELL et al., 2004; GILLESPIE, 1993; VIEIRA & HÖFER, 1994; HALAJ et al., 1997). As formigas são insetos frequentemente “apanhados” por teias de algumas aranhas fiandeiras, mas raramente são encontradas nas teias de aranhas construtoras de teias orbitais. Isto porque as aranhas construtoras de teias orbitais possuem compostos químicos que atribuem proteção, e são responsáveis em repelir essas formigas (VOLLRATH & SELDEN, 2007; GRISWOLD et al, 1998).

Zhang e colaboradores (2011) coletaram teia orbital da aranha *Nephila antipodiana* e realizaram análises dos fios de seda por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) e identificaram um alcalóide, 2-pirrolidinona. Bioensaios de repelência realizados com fios de seda contendo 2-pirrolidinona evidenciaram que esse composto repeliu as formigas dos gêneros *Pheidole angulicollis* e *Monomorium pharaonis*, evitando que as mesmas atravessassem pelo fio. Além disso, este alcalóide está apenas presente nos fios de seda produzidos por aranhas adultas e grandes juvenis. O mesmo alcalóide é ausente em fios produzidos por aranhas juvenis pequenas, isto porque os fios de seda produzidos por pequenos juvenis são muito finos impossibilitando a travessia das formigas sob a teia. Sendo assim, a produção de 2-pirrolidinona é uma resposta adaptativa para a ameaça de inimigos naturais, em vez de um simples subproduto da síntese de seda (ZHANG et al., 2011).

A escolha da formiga invasora *N. fulva* para os bioensaios do presente estudo não foi aleatória. Essas formigas invasoras são nativas do Brasil e Argentina; nos EUA são conhecidas como “*crazy ants*” e ultimamente muito estudadas no Texas, uma vez que as mesmas causaram prejuízos de US\$ 146,5 milhões por invadirem aparelhos eletrônicos (ABC News). Além de onívoras atacam e matam outras espécies, monopolizam fontes de comidas e conseqüentemente ocasionam um desequilíbrio ao ecossistema ao qual estão inseridas (ED LEBRUN et al., 2014).

Relatos recentes na literatura revelaram que a formiga *N. fulva* pode neutralizar o veneno de outras espécies de formigas. LeBrun et al., (2014) analisaram o comportamento de operárias *N. fulva*, após o contato com operárias de *Solenopsis invicta*, espécie conhecida por seu veneno letal. Foi observado que as operárias de *N. fulva* secretam ácido fórmico através de uma glândula exócrina abdominal; esse ácido é transferido até a boca e pelo processo de *self-grooming* é espalhado sobre toda a cutícula do tegumento. Dessa forma, os pesquisadores sugeriram que o ácido fórmico apresenta uma atuação como uma barreira, impossibilitando a penetração do veneno da *S. invicta* no exoesqueleto da formiga *N. fulva*. Este mecanismo de proteção é provavelmente resultado de um longo processo evolutivo (ED LEBRUN et al., 2014).

Mediante esses resultados, apresentados por Ed LeBrun e colaboradores (2014), e os resultados dos bioensaios apresentados no presente estudo, podemos elaborar a seguinte questão: Poderia a espécie de formiga *N. fulva* neutralizar as toxinas presentes nas gotículas da teia da aranha *N. clavipes*? Se sim, a teia de aranha ao longo da evolução teria desenvolvido algum mecanismo de proteção para repelir essas formigas?

Através dos resultados demonstrados até o momento, podemos sugerir que alguns dos compostos químicos identificados nas gotículas da seda da teia da aranha *N. clavipes* podem apresentar um potencial repelente. Foi demonstrado que tanto o extrato da teia, quanto o ácido dodecanóico e o mix de hidrocarbonetos C7-C40, apresentam um potencial repelente. De acordo com o índice de preferência (IP), o mix de hidrocarboneto C7-C40 mostrou-se menos eficiente em repelir as formigas, do que o extrato da teia e o ácido dodecanóico; pois foi observado no ensaio que, apesar das formigas permanecerem na área apenas com o solvente, momentaneamente algumas delas ultrapassavam a linha divisória do papel de filtro para a área denominada de “solvente + composto” e retornavam (apenas para o Experimento IV).

5.3.2. Bioensaio para verificar a ação de ácidos graxos sobre a cutícula de *Apis mellifera*

Existem ainda algumas questões que precisam ser investigadas e discutidas. Uma delas é “como as toxinas conseguem penetrar o corpo do inseto”? Para que as toxinas encontradas (que serão discutidas mais adiante nos nossos resultados de análise proteômica) nas vesículas lipídicas, entre em contato com o corpo e o tecido mole do inseto existe uma barreira física a ser ultrapassada: a cutícula do inseto.

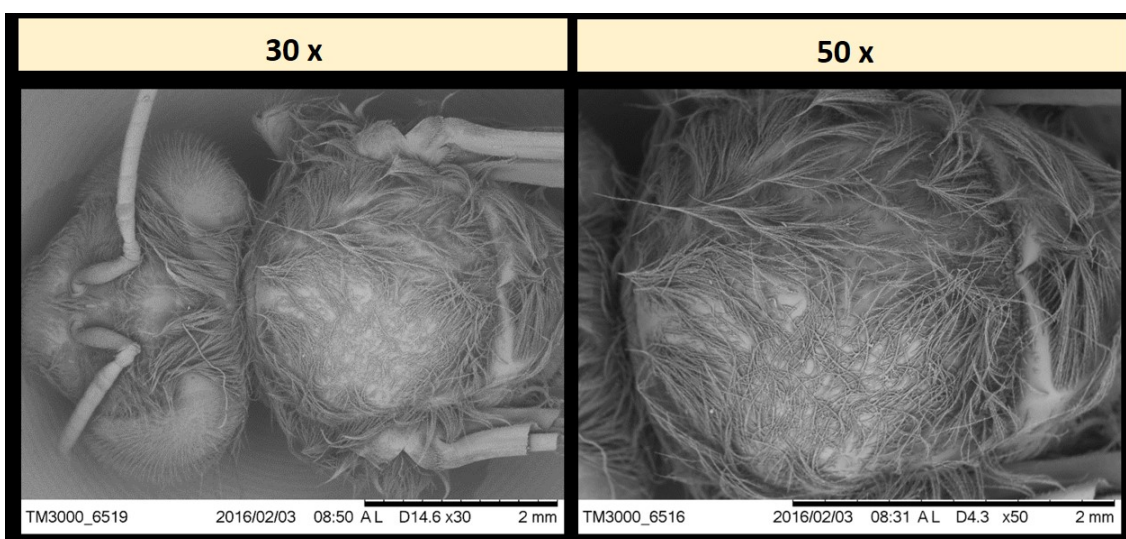
A cutícula do inseto é composta por uma camada de cera constituída principalmente por hidrocarbonetos e ácidos graxos de cadeia longa (PEDRINI et al., 2007), assim como, as gotículas presentes nos fios da teia da aranha *N. clavipes* também são compostas por ácidos graxos. Sendo assim, podemos especular que, quando os ácidos graxos das gotículas entram em contato com os ácidos graxos da camada de cera do inseto, ambos podem interagir quimicamente formando micelas, as quais desestabilizariam a camada de cera,

abrindo espaço/poros e aumentando assim a permeabilidade da cutícula às vesículas lipídicas que, posteriormente, entrarão no corpo do inseto.

Dessa maneira, decidimos realizar um bioensaio para verificar a ação de ácidos graxos sobre a cutícula da abelha *Apis mellifera*, considerada um inseto-presa da aranha *N. clavipes*. Para esse bioensaio, utilizamos o ácido palmítico, um dos ácidos graxos mais abundantes identificado na seda.

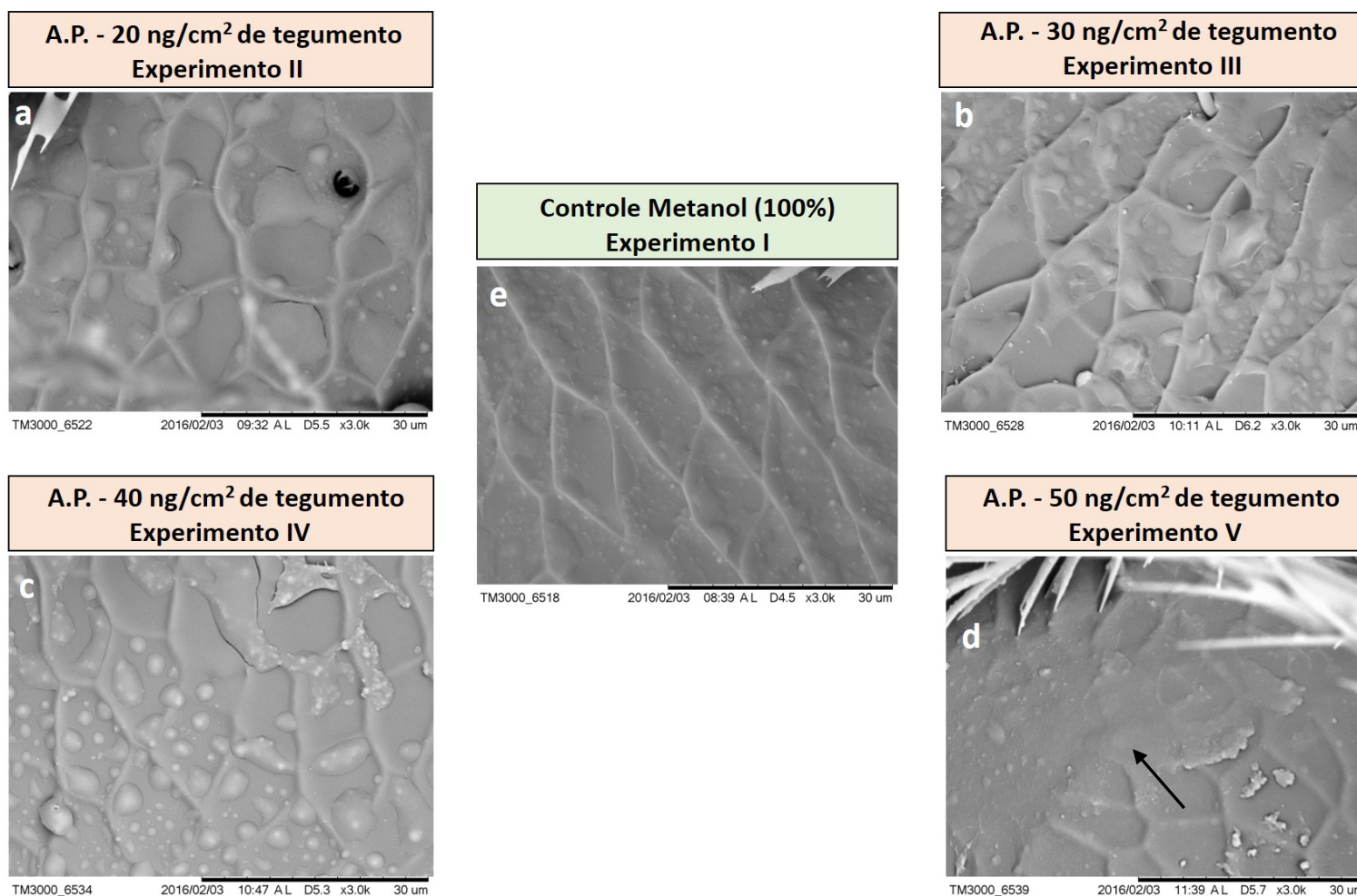
Ao examinar as fotos por MEV obtivemos informações sobre as características estruturais da superfície da cutícula de *A. mellifera* (figura 20) após o contato das mesmas com o ácido palmítico á diferentes concentrações. Para as fotos (figura 21) correspondentes ao experimento I (controle) a cutícula se apresentou em sua forma íntegra, enquanto que para os experimentos II-V (diferentes concentrações do ácido) foi possível observar uma alteração da camada superficial da cutícula de *A. mellifera*.

Figura 20. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). **a)** imagem da região dorsal da cabeça e tórax da abelha *A. mellifera*, aumento de 30x. **b)** aumento da figura “a” destacando a região dorsal do tórax, onde foi aplicada as diferentes concentrações do ácido palmítico para cada experimento, aumento de 50x.



Inicialmente o ácido parece promover um processo de desintegração/dissolução da cutícula. A dissolução da cutícula se apresentou de forma progressiva conforme o aumento da concentração do ácido (figura 21). Sendo assim, foi possível visualizar mais evidentemente a desintegração da superfície da cutícula na concentração de 50ng, seguida da concentração de 40ng, 30ng e 20ng - experimentos V, IV, III, II, respectivamente.

Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da camada superficial da cutícula de *A. mellifera* (experimento I-V). **a)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 2ng/μL (experimento II). **b)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 3ng/μL (experimento III). **c)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 4ng/μL (experimento IV). **d)** aplicação da solução de ácido palmítico/metanol à 5ng/μL (experimento V); nesta figura é possível observar uma região em que existe um desgaste da camada superficial da cutícula, provavelmente devido ao processo de desintegração/dissolução causado pelo ácido palmítico (seta preta). **e)** controle com metanol 100% (experimento I), a cutícula se apresentou em sua forma íntegra. Todas as fotos se apresentam no aumento de 3000x.



Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos para esse tipo de bioensaio, no qual verificamos a ação do ácido palmítico sobre a cutícula de *Apis mellifera*, será apresentado logo abaixo uma breve discussão de estudos já realizados, sobre a ação de inseticidas e bioinseticidas.

Na literatura é possível encontrar muitos estudos sobre os mecanismos de resistência dos insetos aos inseticidas e bioinseticidas. Os três mecanismos principais são: redução da penetração do inseticida/bioinseticida pela cutícula do inseto; detoxificação ou metabolização do inseticida/bioinseticida por enzimas; e redução da sensibilidade no sítio de ação do inseticida/bioinseticida pelo sistema nervoso (LORINI, 1999).

Ainda não está muito bem elucidado o mecanismo de ação de inseticidas de produtos domissanitários como, por exemplo, os sabões. Sabe-se que, podem agir por penetração dos ácidos graxos através da cutícula do inseto, dissolvendo ou rompendo as membranas celulares e perturbando assim a integridade das células causando seu colapso, destruindo as funções respiratórias, resultando em desidratação e morte do inseto. Também podem agir como reguladores de crescimento do inseto, interferindo no seu metabolismo celular e produção de hormônios de crescimento durante a metamorfose. Além disso, os sabões podem bloquear os espiráculos do inseto, interferindo na respiração (CLOYD, 2008).

Existem outros relatos do uso de detergentes e sabões como alternativas ao controle de diversos insetos-pragas que possuem corpo mole, como por exemplo, moscas-brancas, psilídeos, cochonilhas, tripés e afídeos. Acredita-se que ocorra pelo menos um dos seguintes eventos: afogamento dos insetos e ácaros; quebra da camada de cera presente na cutícula dos insetos (causando a morte pela excessiva perda de água); rompimento da membrana celular; inibição enzimática; remoção dos indivíduos das folhagens e/ou repelência (ENDERSBY & MORGAN, BUTLER et al., VILLAS BÔAS et al., CRANSHAW, CURKOVIC E ARAYA, COLLARD E EBERLY, CITADOS POR LAVOR, 2006).

Brito e colaboradores (2009) avaliaram a ação de alguns produtos domissanitários no controle do pulgão *Hyadaphis foeniculi*, o qual tem a erva-doce como hospedeira natural. O sabão em pó OMO em cores á 5% se

apresentou com maior custo/benefício quando aplicado semanalmente, sendo eficiente no controle do pulgão.

Esses produtos domissanitários também são utilizados em outras culturas, como a palma forrageira no controle da cochonilha-do-carmim (LOPES, 2001; CARVALHO, 2005) como a *Schefflera arboricola* no controle da Cochonilha *Protopulvinaria pyriformis Cockerell* (IMENES et al., 2002) e como o feijão-de-corda no controle do pulgão-preto (LAVOR, 2006).

Os inseticidas comerciais possuem três principais vias de aplicação: ingestão, pulverização espacial (UBV ou FOG) e pulverização direta/residual. A ação de inseticidas por pulverização espacial é aplicada na forma de vapor, gás, neblina (fumigante) e age através da penetração do inseticida pelos espiráculos dos insetos, juntamente com o ar, sendo conduzido para o interior do organismo até músculos e nervos.

O tamanho das partículas pela intoxicação por fumigação varia de 25-50 μ m para inseticidas a ultrabaixo volume (UBV) e menores de 25 μ m para termonebulizadores (FOG). Dessa forma são muito pequenas, e conseguem penetrar através dos espiráculos (estífgmas) e/ou serem absorvidas por determinadas partes do inseto, como por exemplo, através de partes não esclerosadas como antenas, patas, aparelho bucal, regiões intersegmentares do corpo do inseto (SILVA et al., 2009).

Já o inseticida de pulverização direta/residual, se diz direta quando em contato direto com o inseto-alvo e residual quando em contato com uma superfície sobre a qual o inseto irá pousar ou se deslocar. Esses atuam pelas vias traqueais (sistema respiratório), ou através da cutícula, pelos poros distribuídos pela superfície do corpo, nos pelos ou cerdas sensitivas implantadas na epicutícula, através de um filete nervoso que atravessa a camada de quitina ou ainda pelos tegumentos intersegmentares da cutícula, atingindo o sistema nervoso (MATIAS, 2012).

Para que o tóxico chegue a atuar por contato direto, é necessário que este atravesse a barreira epicutícula-cutícula. A condição básica para que isso aconteça é que o inseticida por contato seja lipossolúvel, isto é, possa agir como um detergente ou tensoativo, capaz de reduzir a tensão superficial quando dissolvido em água (GOODMAN & GILMAN, 2015).

Soluções aquosas e suspensões de inseticidas com alta tensão superficial, são incapazes de entrar pela traqueia. No entanto, óleos minerais e soluções aquosas adicionadas de substâncias que reduzem a tensão superficial dos líquidos podem penetrar com facilidade (MATIAS, 2012).

O Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (Ibilce) da UNESP de São José do Rio Preto está desenvolvendo um bioinseticida de origem vegetal, capaz de controlar diversas pragas agrícolas sem causar danos ao ambiente e com diversas vantagens em relação aos agrotóxicos convencionais. O produto é um composto da classe de ésteres de sacarose compostos pela reação de açúcar e ácidos graxos extraídos do óleo de soja. Através de análises de microscopia foi evidenciado que o produto age como um detergente/tensoativo diretamente na cutícula protetora do corpo de certas pragas, como ácaros e alguns insetos, dissolvendo a fina camada de cera (gordura) que os mesmos possuem no exoesqueleto; uma proteção natural cuja principal função é evitar a perda de água. Dessa forma, a pulverização do biopesticida (sucroésteres) sobre os insetos afeta o exoesqueleto e por consequência ocorre a perda de água, ou seja, os insetos morrem por desidratação (VASCONSELOS et al., 2007).

Considerando-se os dados da literatura, e os resultados obtidos no presente estudo, podemos elaborar a seguinte questão: Poderia o ácido palmítico e os outros ácidos identificados nas gotículas da seda da teia da aranha *N. clavipes* apresentarem ação similares a detergentes/pesticidas, ou seja, agirem como agentes tensoativos promovendo assim a dissolução da camada superficial de cera que constitui a cutícula de insetos?

Através dos resultados demonstrados até o momento, podemos sugerir que o ácido palmítico identificado nas gotículas da seda da teia da aranha *N. clavipes* é um composto que pode apresentar ação potencial na dissolução da camada superficial da cutícula de *A. mellifera*. Todas as concentrações de ácido palmítico, apresentaram um potencial na dissolução da camada superficial da cutícula. De acordo com as fotos de microscopia, a concentração de 20ng mostrou-se menos eficiente na dissolução da cutícula das abelhas, do que a concentração de 30ng, 40ng e 50ng, sendo esta última concentração a mais eficiente.

É importante mencionar aqui que, as gotículas depositadas sobre os fios de seda da teia de *N. clavipes*, analisadas pelo presente estudo variaram de 50-100 μm de diâmetro, conforme mostrado na figura 11. Enquanto que o tamanho das partículas pela intoxicação por fumigação varia de 25-50 μm para inseticidas a ultrabaixo volume (UBV) e menores de 25 μm para termonebulizadores (FOG) (SILVA et al., 2009). Sendo assim, podemos sugerir que as gotículas depositadas sobre os fios de seda também possam penetrar através dos espiráculos (estígmias); e/ou ainda, serem absorvidas por determinadas partes do inseto, como por exemplo, através de partes não esclerosadas como antenas, patas, aparelho bucal, regiões intersegmentares do corpo do inseto, assim como ocorre com os inseticidas.

Deste ponto em diante, a presente dissertação apresenta os resultados obtidos com a análise proteômica, em um sistema livre de gel, do tipo *shotgun*. Essa análise foi realizada com a finalidade de se investigar e elucidar o perfil proteômico das gotículas presentes nos fios de seda, e também do perfil proteômico do secretoma das glândulas produtoras de seda.

5.4 Análise Proteômica

5.4.1. Análise das proteínas dos fios de seda da teia e da secreção das glândulas produtoras de seda utilizando a abordagem proteômica de *shotgun*

Após as análises e processamento dos dados, foi possível identificar um total de 927, 1961, 849, 860 e 2051 proteínas para as glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor, e na seda da teia, respectivamente. Todas essas proteínas foram inicialmente classificadas de acordo com as funções atribuídas pelas análises no *Gene Ontology* – G.O. (componente celular, processo biológico e função molecular).

Lembrando que a teia é o produto da secreção de difentes glândulas produtoras de seda envolvidas no processo de fiação, é importante considerarmos que a busca por papéis funcionais de proteínas na base de dados G.O. prevê função molecular, processo biológico, e os componentes celulares (quando a informação está disponível) com base em relatórios de papéis intracelulares destas proteínas. Os papéis funcionais de proteínas

secretadas não são bem preditos pelas pesquisas de enriquecimento no G.O. (DOS SANTOS-PINTO et al., 2016); proteínas secretadas geralmente desempenham apenas papéis individuais no meio extracelular, uma vez que aparentemente, não existem interações como aquelas observadas em rotas metabólicas do citoplasma ou organelas.

O mecanismo de secreção das glândulas de seda de aranha não é bem conhecido; algumas glândulas podem secretar os seus produtos através de mecanismos holócrinos, enquanto outras glândulas podem secretar suas proteínas através de um mecanismo merócrino e/ou apócrino (BELL et al., 1969). Sendo assim, o secretoma das glândulas de seda podem conter uma mistura complexa de proteínas que são secretadas, e proteínas intracelulares típicas (geralmente designadas como “proteínas *housekeeping*”). Há relatos freqüentes sobre a existência de citocromo-oxidase C, chaperoninas e outras enzimas mitocondriais localizadas em regiões extra-mitocondriais, sugerindo a possibilidade da existência de mecanismos ainda desconhecidos de translocação de proteínas para outros destinos celulares, ou mesmo para o meio extracelular (SOLTYS et al., 1999; SOLTYS et al., 2000; GUPTA et al., 2008).

Com as análises G.O. não é possível prever de forma confiável a função de proteínas intracelulares, quando estas são secretadas para o meio extracelular; algumas vezes, na presente investigação ocorreu uma situação semelhante; sendo assim, decidiu-se assumir a função molecular destas proteínas previstas pelas análises G.O. e propor uma adaptação dessa função a um processo biológico específico para a situação de estudo no meio extracelular. Sendo assim, consideramos o processo biológico específico das amostras, ou seja, a complexidade das glândulas produtoras de seda e a sua relação com processo de fiação para a construção da teia, para classificar as proteínas em diferentes grupos funcionais.

As tabelas 7 à 13 apresentam essas proteínas organizadas em sete diferentes grupos funcionais relacionados com o seu papel, em potencial na teia (assim como descrito por DOS SANTOS-PINTO et al., 2016): (i) proteínas estruturais da seda da teia; (ii) proteínas de transporte de íons e moléculas relacionadas com a estabilidade das espidroínas; (iii) proteínas relacionadas

com o dobramento/conformação e modificação pós traducionais (PTM) das espidroínas; (iv) proteínas relacionadas com a proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo; (v) proteínas relacionadas com a preservação das características fibrilares da seda no meio ambiente; (vi) proteínas *housekeeping*; e (vii) proteínas relacionadas com a captura de presas e pré-digestão. Esses grupos serão melhores discutidos no decorrer da dissertação.

i) Proteínas estruturais da seda da teia

Foram identificadas na análise do presente trabalho 20, 10, 1, e 7 proteínas estruturais das fibras de seda da teia nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, e na seda da teia, respectivamente. A tabela 7 apresenta de forma simplificada os dados da análise proteômica para este grupo de proteínas, em que foram apenas consideradas as proteínas pertencentes a ordem Araneae (aranhas) obtidas através da busca contra o banco de dados Arachnidae. As proteínas estruturais da seda identificadas nesse grupo foram: espidroína-1 aciniforme (cinco formas diferentes), *spider glue 2* agregada, espidroína-1 *dragline silk*, proteínas-1 e -2 de recobrimento da ooteca, proteína da seda flageliforme, espidroína-1 da ampulada maior (oito formas), espidroínas-1A e -1B da ampulada maior, espidroína-2 da ampulada maior (duas formas), espidroína-*like* da ampulada maior (duas formas), espidroína da ampulada menor (duas formas), espidroína-2 piriforme, espidroína-2 piriforme, espidroína-1 tubuliforme (tabela 7).

Tabela 7. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – i) Proteínas estruturais da seda da teia que compõem as fibras da seda - as espidroínas. Na tabela foram apenas consideradas proteínas pertencentes a ordem Araneae (aranhas) obtidas através da busca contra o banco de dados Arachnidae. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

i) PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DA SEDA DA TEIA									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
Aciniform spidroin 1	K7YP04	630	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	+	-	-	-	-
Aciniform spidroin 1	K7YP12	28	<i>Latrodectus geometricus</i>	100	-	-	-	-	+

Aciniform spidroin 1	K7XWP4	33	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	+	-	-	-	-
Aciniform spidroin 1	Q64K55	270	<i>Argiope trifasciata</i>	100	+	-	-	-	-
Aciniform spidroin 1-like	A9QE53	60	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	-	-	-	-	+
Aggregate spider glue 2	B7SVM7	72	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	-
Dragline silk protein spidroin 1	O46172	49	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	-
Dragline silk spidroin 1	Q5UNJ1	21	<i>Nephila pilipes</i>	100	+	-	-	-	-
Egg case silk protein 2	E7D1A5	34	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	+	-	-	-	-
Eggcase silk protein	C5H5C9	34	<i>Nephila antipodiana</i>	100	+	-	-	-	-
Flagelliform silk protein	O44358	71	<i>Nephila clavipes</i>	100	-	-	+	-	-
Major ampullate silk protein 2	L0JUV0	227	<i>Argiope bruennichi</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	Q05H60	36	<i>Euprosthrops australis</i>	100	-	-	-	-	+
Major ampullate spidroin 1	Q692G2	31	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	E1AHU3	44	<i>Kukulcania hibernalis</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	Q6PY84	60	<i>Kukulcania hibernalis</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	Q692G5	22	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	Q9BIV1	36	<i>Argiope aurantia</i>	100	-	+	-	-	-
Major ampullate spidroin 1	S5CTA9	43	<i>Cyrtophora moluccensis</i>	100	-	+	-	-	-
Major ampullate spidroin 1 silk protein	G9JKN1	28	<i>Araneus ventricosus</i>	100	-	-	-	-	+
Major ampullate spidroin 1A	B5SYS5	25	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	+
Major ampullate spidroin 1B	B5SYS6	25	<i>Nephila clavipes</i>	100	-	+	-	-	-

Major ampullate spidroin 2	Q9BIT9	30	<i>Latrodectus geometricus</i>	100	-	+	-	-	-
Major ampullate spidroin-2	Q3ZTR2	24	<i>Argiope amoena</i>	100	-	+	-	-	-
Major ampullate spidroin-like protein	E1AHU6	31	<i>Diguetia canities</i>	100	+	-	-	-	-
Major ampullate spidroin-like protein	E1AHU7	50	<i>Diguetia canities</i>	100	+	+	-	-	-
Minor ampullate spidroin	K4MTL7	147	<i>Araneus ventricosus</i>	100	+	-	-	-	-
Minor ampullate spidroin	E1AHV5	26	<i>Uloborus diversus</i>	100	-	+	-	-	-
Pyriiform spidroin 1	C7T5D2	117	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	-	+	-	-	+
Pyriiform spidroin 2	G0WJI5	102	<i>Nephila clavipes</i>	100	-	-	-	-	+
Spidroin-1	P19837	61	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	-	-	-	-
Tubuliform spidroin	Q3BCG2	56	<i>Nephila clavipes</i>	100	+	+	-	-	-
Tubuliform spidroin 1	Q4G1W4	12	<i>Argiope aurantia</i>	100	+	-	-	-	-
Tubuliform spidroin 1	E1AHV2	46	<i>Agelenopsis aperta</i>	100	-	+	-	-	-

As proteínas espidroína-1 e espidroína-2 são secretadas pela glândula ampulada maior, e constituem as fibras da seda dos raios da teia orbital, do *frame* e da linha de segurança “escape” (VOLLRATH, 2000; RÖMER et al., 2008); e podem ser codificadas por diferentes genes (BECKWITT & ARCIDIACONO 1994; RÖMER et al., 2008; RISING et al., 2007; AYOUB et al., 2008). A espidroína-1 está presente em maior quantidade na seda do que a espidroína-2, sendo uniformemente distribuída por todas as fibras da seda. Já a espidroína-2 está ausente nas regiões periféricas, formando aglomerados em determinadas áreas centrais da fibra (SPONNER et al., 2005; YAZAWA et al., 2011). Os resultados mostrados acima, revela muitas diferentes formas de espidroínas, que ainda não têm suas funções bem conhecidas, abrindo um enorme campo de trabalho para o futuro.

É importante enfatizar que, as proteínas – espidroínas, que compõem as fibras da seda foram produzidas apenas pelas glândulas ampuladas maior, agregada e flageliforme. Não foram observadas espidroínas produzidas pelas glândula ampulada menor, possivelmente porque não havia nenhuma síntese de espidroínas por essa glândula, no momento da coleta da aranha, e/ou estas proteínas não estavam presentes em quantidades suficientes para serem detectadas.

ii) Proteínas relacionadas com o transporte de íons durante o processo de fiação da seda

Foram identificadas para este grupo 36, 27, 17, 15 e 82 proteínas relacionadas com o transporte de íons durante o processo de fiação da seda nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor e na seda da teia, respectivamente (tabela A1, apresentada no Apêndice). Algumas dessas proteínas estão apresentadas na tabela 8.

Tabela 8. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – ii) Transporte de íons durante o processo de fiação da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

ii) TRANSPORTE DE ÍONS DURANTE PROCESSO DE FIAÇÃO DA SEDA									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
Hemocyanin C chain	Q9NFL6	73	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	-	-	-	+
Hemocyanin D chain	P02241	72	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	+	+	-	+
Hemocyanin A chain	P14750	72	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	+	+	-	-	+
Hemocyanin B chain	Q9NFH9	72	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	+	-	-	-	+
Hemocyanin E chain	P02242	72	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	+	-	+	+
Hemocyanin F chain	Q9NFL5	72	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	+	+	-	-	+
Pseudohemocyanin-1 (Fragment)	Q6KF82	80	<i>Homarus americanus</i>	100	-	-	+	+	+
Pseudohemocyanin-2 (Fragment)	Q6KF81	79	<i>Homarus americanus</i>	100	-	-	-	-	+

Sodium channel protein	C9D7C8	232	<i>Tribolium castaneum</i>	100	-	-	+	+	-
Sodium channel protein	J9U5B4	248	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	100	-	-	-	-	+
Sodium channel protein	Q67FT1	214	<i>Mesobuthus martensii</i>	100	-	+	-	-	-
Sodium channel protein	Q7PJH0	238	<i>Anopheles gambiae</i>	100	-	-	+	+	-

Neste grupo, foram identificadas as proteínas Hemocianinas (formas de A a F), as quais estão relacionadas com o transporte de íons e oxigênio nas glândulas durante o processo de fiação da seda. Estudos descrevem as hemocianinas relacionadas, por exemplo, com o transporte de moléculas de oxigênio e íons cloreto, e processos de oxirredução (Rehm et al., 2012). Durante o processo de fiação ocorre uma notável mudança no meio, com o aumento na concentração dos íons potássio e fosfato, e uma diminuição na concentração dos íons cloreto e sódio, remoção de água e uma leve acidificação do meio (Knight et al., 2001; Sheibel et al., 2009).

A estabilidade das proteínas em uma solução aquosa, geralmente é afetada pelos íons circundantes. De acordo com estudos realizados, íons como sódio e cloreto, presentes na glândula inibem a agregação das proteínas da seda, e conseqüentemente a formação das fibras impedindo a separação da fase líquido-líquido (Sheibel et al., 2009). Enquanto que íons como potássio e fosfato promovem a agregação das proteínas e formação da estrutura. Essa mudança de íons, agindo sinergicamente com a diminuição do pH no meio favoreceria o desdobramento e β -cristalização das proteínas da seda (Knight et al., 2000; Vollrath et al., 2001). Estudos de Knight et al. (2001), sugerem que a capacidade de transportar prótons e íons para dentro do lúmen da glândula, enquanto transporta água para fora pode ser fundamental para a formação das fibras da seda, visto que a aranha ativa e controla cuidadosamente o ambiente iônico durante o processo de fiação, o que proporciona conseqüências importantes durante o dobramento das espidroínas. Sendo assim, os muitos tipos de hemocianinas identificadas podem estar relacionados com o transporte/remoção de íons cloreto, sódio, potássio e fosfato; e moléculas de

água que atuam no meio influenciando/favorecendo a estabilidade e dobramento das espidroínas, quando as mesmas estão sendo produzidas/sintetizadas pelas glândulas.

As hemocianinas, ainda podem estar envolvidas na atividade da enzima fenoloxidase, ou seja na pigmentação da teia. A fenoloxidase ocorre em quase todos os organismos, sendo essencialmente envolvida em vários processos como a resposta imune, cicatrização de feridas, pigmentação e esclerotização nos artrópodes (Averdam et al., 2003; Cunningham et al., 2007; Jaenicke et al., 2008).

A tabela 8 mostra somente algumas das proteínas identificadas relacionadas com transporte de íons durante o processo de fiação da seda. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A1 do Apêndice. Assim como, mencionado na sessão de materiais e métodos 4.4.6., inicialmente as buscas foram realizadas contra o banco de dados Arachnidae. Para as proteínas que não foram identificadas neste banco de dados, foram realizadas pesquisas contra outros bancos de dados como o Arthropoda e o NCBI nr. Sendo assim, para a tabela 8 e todas as outras tabelas em diante, estão apresentadas proteínas pertencentes a diferentes taxos, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr.

iii) Proteínas relacionadas com o dobramento/conformação e modificações pós traducionais (PTMs) das espidroínas

Foram identificadas para este grupo 84, 62, 42, 39 e 79 proteínas relacionadas com o dobramento/conformação e modificações pós traducionais (PTMs) das espidroínas nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor e na seda da teia, respectivamente (tabela A2, apresentada no Apêndice). Algumas dessas proteínas estão apresentadas na tabela 9.

Tabela 9. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iii) Dobramento/conformação e PTM das espidroínas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxos, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

iii) DOBRAMENTO/CONFORMAÇÃO E PTM DAS ESPIDROÍNAS									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
60 kDa chaperonin	C4YWN0	58	<i>Rickettsia endosymbiont of Ixodes scapularis</i>	100	-	-	-	+	-
Aminopectidase N	B2LRS8	113	<i>Helicoverpa armigera</i>	100	-	-	+	+	-
Aminopectidase N	P91887	107	<i>Plutella xylostella</i>	100	+	-	-	-	-
Aminopectidase N	P91885	107	<i>Manduca sexta</i>	100	-	-	-	+	-
Arginine kinase (Fragment)	B8QZY6	23	<i>Naupactus xanthographus</i>	100	-	+	-	-	-
Arginine kinase (Fragment)	B8R023	20	<i>Galapaganus ashlocki</i>	100	-	+	-	-	-
Arginine kinase	P51545	40	<i>Penaeus japonicus</i>	100	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9GYX1	40	<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	100	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9NH49	40	<i>Callinectes sapidus</i>	100	-	-	-	+	+
Calreticulin	Q64K80	48	<i>Ixodes ovatus</i>	100	-	-	+	-	-
Heat shock 70 kDa protein	P27541	70	<i>Brugia malayi</i>	100	+	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein 5	E4W3Z2	72	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	100	-	-	+	-	-
Heat shock protein 60	C1K659	61	<i>Pteromalus puparum</i>	100	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD1	69	<i>Diguetia mojavea</i>	100	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD3	69	<i>Diguetia signata</i>	100	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD9	68	<i>Diguetia sp. G510</i>	100	+	-	-	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Q7QIV1	22	<i>Anopheles gambiae</i>	100	-	+	-	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	P54985	18	<i>Blattella germanica</i>	100	-	-	-	+	+
Serine/threonine-protein kinase PLK4	B0WAU8	85	<i>Culex quinquefasciatus</i>	100	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase PLK4	Q16W24	85	<i>Aedes aegypti</i>	100	-	-	-	-	+

Nesse grupo foram identificadas as proteínas peptidil-prolil cistrans isomerase e dissulfeto isomerase, que podem atuar na complementação do dobramento das espidroínas; e também foi identificada uma série de proteínas de choque térmico como as proteínas de choque térmico-60, -70, -90 e -97, chaperonina e calreticulina. Sob condições normais, essas proteínas facilitam o transporte de proteínas entre compartimentos celulares, o dobramento de proteínas recém-sintetizadas e a degradação de proteínas instáveis (Parcellier et al., 2003). As proteínas de choque térmico também foram identificadas nos estudos de Hou et al. (2007) com a glândula de seda de *Bombix mori*.

Embora a função das proteínas de choque térmico seja incerta, no presente estudo, é sugerido que desempenham a função no dobramento e transporte das espidroínas, durante o processo de formação das fibras no ducto de fição da glândula. Essas proteínas de choque térmico também foram identificadas na teia e podem estar relacionadas na manutenção da estabilidade e integridade das proteínas da seda, uma vez que as mesmas no ambiente podem ser expostas, por exemplo, a variações de temperatura que conseqüentemente podem alterar a conformação estrutural dessas proteínas na teia.

Ainda neste grupo, também foi identificada a proteína calreticulina; uma proteína ligante de cálcio, com função chaperonina, que pode estar envolvida no processo de maturação das espidroínas através do dobramento dessas proteínas para atingir a sua correta conformação estrutural (Villagomez et al., 2009). Outra proteína incluída nesse grupo é a aminopeptidase, enzima que atua como protease catalisando a remoção de aminoácidos da região N-terminal de peptídeos e proteínas (Taylor, 1993).

A tabela 9 apresentou somente algumas das proteínas identificadas relacionadas com dobramento/conformação e modificações pós traducionais (PTMs) das espidroínas. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A2 do Apêndice.

iv) Proteínas relacionadas com a proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo

Foram identificadas para este grupo 49, 204, 95, 100 e 171 proteínas relacionadas com a proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor e na seda da teia, respectivamente (tabela A3, apresentada no Apêndice). Algumas dessas proteínas estão apresentadas na tabela 10.

Tabela 10. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iv) Proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

iv) PROTEÇÃO DAS ESPIDROÍNAS CONTRA O ESTRESSE OXIDATIVO									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
cytochrome c oxidase subunit I	B2BBU2	26	<i>Pimosa reniformis</i>	100	-	-	-	-	+
cytochrome c oxidase subunit I	B2BBU1	26	<i>Pimosa reniformis</i>	100	-	+	-	-	+
cytochrome oxidase subunit I	B5A2K9	26	<i>Tetragnatha rava</i>	100	-	+	-	-	+
cytochrome P450, putative	B7P1N3	30	<i>Ixodes scapularis</i>	100	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	O99818	57	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	100	-	+	-	-	+
cytochrome oxidase subunit 1	Q1AG64	16	<i>Arctosa rubicunda</i>	100	+	+	-	+	+
NADH dehydrogenase subunit 2	C8CP98	36	<i>Dermatophagoides farinae</i>	100	+	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 2 (mitochondrion)	H9M722	38	<i>Bothriocroton concolor</i>	100	-	+	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 2 (mitochondrion)	B3IUM2	36	<i>Ascoschoengastia sp. TATW-1</i>	100	-	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 4 (mitochondrion)	H9MFH7	49	<i>Paratemnoides elongatus</i>	100	-	+	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 5	Q8HKH0	14	<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	100	+	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	O99825	51	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	100	-	-	-	-	+

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q9ZYM7	65	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	100	-	-	-	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	O99827	17	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	100	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	O99817	37	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	100	-	+	-	-	+
Superoxide dismutase	B0X9L3	15	<i>Culex quinquefasciatus</i>	100	-	-	+	+	-
Thioredoxin-like protein	Q103C3	31	<i>Bombus ignitus</i>	100	-	-	+	+	-

Neste grupo foram incluídas as proteínas *Cytochrome oxidase subunit (I-III)*, *NADH dehydrogenase subunit (1-6)*, *cytochrome P450* e *NADH-ubiquinone oxidoreductase chain (1-6)*, que possivelmente estão envolvidas na preservação das espidroínas contra o estresse oxidativo, quando as mesmas estão sendo produzidas/sintetizadas pelas glândulas produtoras de seda. Ainda neste grupo, também estão incluídas as proteínas tiorredoxina peroxidase, superóxido dismutase e tiol peroxidase (Kanzok et al., 2001; Apel et al., 2004; Dayer et al., 2008). Essas proteínas, provavelmente estão relacionadas com a proteção das espidroínas contra o estresse oxidativo dentro das glândulas, no sentido de preservar intactas as estruturas das proteínas que constituem as fibras dos diferentes tipos de sedas das teias.

Tem sido sugerido que as proteínas peroxidases podem estar envolvidas também na formação de ligações cruzadas covalentes de ditiosina, para fortalecer as fibras da seda. A atividade de peroxidases já havia sido detectada na glândula ampulada maior das aranhas do gênero *Nephila*, e foi proposto que essa atividade poderia catalisar a formação de ligações cruzadas de ditiosina, e dessa forma ajudar na estabilização das proteínas das fibras na seda. No entanto, até então essa formação de ligações cruzadas nas fibras da seda não tem sido relatada, permanecendo por ser elucidada (Vollrath e Knight, 1999; Pouchkina et al., 2003). As peroxidases também foram identificadas nas glândulas de seda de *Bombix mori* e descritas como possivelmente envolvidas em cross-linking da matrix extracelular da glândula de seda (Suderman et al., 2006; Thein et al., 2009; Dong et al., 2013).

Muitas dessas proteínas também foram identificadas na seda da teia (tabela 10), e provavelmente estão envolvidas no processo de preservação das espiroínas contra o estresse oxidativo, considerando que a teia no meio ambiente está exposta conseqüentemente aos radicais livres e as variações de temperatura e umidade.

A tabela 10 apresentou somente algumas das proteínas identificadas relacionadas com a proteção das espiroínas contra o estresse oxidativo. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A3 do Apêndice.

v) Proteínas relacionadas com a preservação fibrilar da seda

Foram identificadas para este grupo 4, 5, 13, 15, e 24 proteínas relacionadas com a preservação fibrilar da seda nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor e na seda da teia, respectivamente (tabela A4, apresentada no Apêndice). Algumas dessas proteínas estão apresentadas na tabela 11.

Tabela 11. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – v) Preservação fibrilar da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

v) PRESERVAÇÃO FIBRILAR DA SEDA									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P54960	93	Blattella germanica	100	-	-	-	-	+
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	O76819	90	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	-	-	-	+
acetyl-CoA carboxylase	M9QV47	262	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	+	-	-	+
Apolipoporphins	Q25490	367	Manduca sexta	100	+	-	-	+	-

Apolipophorin-3	O77248	21	Spodoptera litura	100	-	-	-	-	+
Apolipophorin-3	P13276	21	Manduca sexta	100	-	-	-	-	+
Apolipophorin-3	Q6VU70	21	<i>Hyphantria cunea</i>	100	+	-	-	-	+
Apolipophorin-3	P81471	4	<i>Diatraea grandiosella</i>	100	-	-	-	-	+
Fatty acid synthase S-acetyltransferase	B0W8R9	248	<i>Culex quinquefasciatus</i>	100	-	-	+	+	-
Fatty acid synthase S-acetyltransferase	B0WEB3	264	<i>Culex quinquefasciatus</i>	100	-	-	+	+	-
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha type I, mitochondrial	P26267	44	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	-	-	-	+
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha type II, mitochondrial (Fragment)	P26268	43	<i>Aphonopelma sp.</i>	100	-	-	-	-	+

A tabela 11, mostra a identificação de proteínas que possivelmente estão relacionadas com a preservação das características fibrilares das espidroínas, quando as mesmas estão expostas ao meio ambiente, aos radicais livres e conseqüentemente as variações na umidade, temperatura. As proteínas identificadas foram: *acetyl-CoA carboxylase*, *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase*, *Fatty acid synthase S-acetyltransferase*, *Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha type I* e *Apolipophorin-3*. Essas proteínas podem estar envolvidas em processos metabólicos, como catálise e oxidação de ácidos graxos (Thorpe et al., 1995). Estudos relatam que as fibras da seda de aranhas são revestidas com uma camada de ácidos graxos que é aderida sobre a fibra, após a sua formação pela aranha (Vollrath et al., 2001; Salles et al., 2006; Sponner et al., 2007). Assim, como outras substâncias, os ácidos graxos encontram-se na solução viscosa, a qual é secretada pela glândula agregada e aderida sobre a fibra da teia (Vollrath & Knight, 2001; Schulz, 2001; Romer et al., 2008).

A tabela 11 apresentou somente algumas das proteínas identificadas relacionadas com a preservação fibrilar da seda, compartilhadas pela seda da teia e as glândulas produtoras de seda. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A4 do Apêndice.

vi) Proteínas Housekeeping

Foram identificadas para este grupo 528, 1557, 632, 647 e 1414 proteínas *Housekeeping* nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor e na seda da teia, respectivamente. Algumas dessas proteínas, relevantes para a nossa discussão, estão apresentadas na tabela 12. Essa tabela mostra somente algumas das proteínas *housekeeping* identificadas e compartilhadas pela seda da teia e as glândulas produtoras de seda. Devido a grande quantidade de dados a tabela completa mostrando as identificações das proteínas *housekeeping* não foi inserida na presente dissertação. Uma vez que, essa tabela consta de aproximadamente 250 páginas, a mesma será disponibilizada em formato digital no momento da entrega da versão final da dissertação, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

Tabela 12. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – vi) Proteínas *housekeeping*. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

vi) PROTEÍNAS HOUSEKEEPING									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
40S ribosomal protein SA	A6NA00	46	<i>Ornithodoros parkeri</i>	100	-	-	-	-	+
actin	B2YGD6	22	<i>Goleba lyra</i>	100	+	+	-	-	+
actin 5C, partial	J7I9M7	23	<i>Malloneta sp. B MRB245</i>	100	+	-	-	-	+
actin, partial	M9VWK7	24	<i>Cobanus extensus</i>	100	+	+	-	-	+
actin, partial	M9VPY4	24	<i>Mexigonus arizonensis</i>	100	+	+	-	-	+

DNA repair protein xp-E, putative	B7PIF3	127	<i>Ixodes scapularis</i>	100	-	-	-	-	+
Glutathione S-transferase	P46419	26	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	100	+	-	-	-	+
PREDICTED: ras-related protein Rab-1A-like	UPI00026584F4	23	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: ras-related protein Rab-30-like	UPI0002658E67	23	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: synaptosomal-associated protein 25-like	UPI0002659279	23	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
Ras-related protein Rab-1A	Q05974	22	<i>Lymnaea stagnalis</i>	100	+	-	-	-	-
Ras-related protein ORAB-1	C1BTD2	22	<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	100	+	-	-	-	-
Myosin heavy chain, striated muscle	P24733	222	<i>Argopecten irradians</i>	100	+	+	+	+	+
Paramyosin	Q967Z0	81	<i>Dermatophagoides farinae</i>	100	+	+	-	-	+
Paramyosin	Q9BMM8	102	<i>Sarcoptes scabiei</i>	100	+	-	-	-	+
PREDICTED: rab GTPase-activating protein 1-like	UPI00026576B5	104	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: rab-like protein 1-like	UPI00026581DF	66	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	+	-	-	-	-
PREDICTED: rac GTPase-activating protein 1-like	UPI0002659794	67	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: ral GTPase-activating protein subunit alpha-1	UPI0002657229	281	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: ral GTPase-activating protein subunit beta	UPI00026587E9	161	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: ras-related protein Rab-24-like isoform X2	AOA088A4K1	22	<i>Apis mellifera</i>	100	-	-	-	-	+
PREDICTED: ras-related protein Rab-6A-like	UPI0002659AD7	24	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: ras-related protein Ral-A-like	UPI00026599B5	28	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
PREDICTED: synaptotagmin 1-like	UPI0002658EA4	47	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	100	-	+	-	-	-
Probable Golgi SNAP receptor complex member 2	A8XP14	25	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	100	-	-	-	-	+

rab6 GTPase activating protein	B0W3L5	147	<i>Culex quinquefasciatus</i>	100	-	-	+	+	-
rab6-interacting	Q0IEN0	151	<i>Aedes aegypti</i>	100	-	+	-	-	-
Ras-like protein RAS2	P38976	21	<i>Hydra vulgaris</i>	100	-	-	-	-	+
Ras-related protein Rab-2	Q05975	24	<i>Lymnaea stagnalis</i>	100	-	-	-	-	+
Ras-related protein Rab-21	Q8WQ53	25	<i>Geodia cydonium</i>	100	-	-	-	-	+
SNAP-25 homolog	O01389	23	<i>Hirudo medicinalis</i>	100	-	-	+	+	-
Spastin	B7PXE3	72	<i>Ixodes scapularis</i>	100	+	-	-	-	+
Synaptotagmin	Q25393	48	<i>Loligo pealei</i>	100	-	+	-	-	-
Synaptotagmin-1	P41823	48	<i>Aplysia californica</i>	100	-	-	-	-	+
Tropomyosin	Q9NFZ4	33	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	100	-	-	-	-	+
Tropomyosin	O18416	33	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	100	-	-	-	-	+
Tropomyosin	Q23939	33	<i>Dermatophagoides farinae</i>	100	-	-	-	-	+

Neste grupo foram observadas proteínas *housekeeping* como: *actin*, *paramyosin*, *myosin*, *40S ribosomal protein SA*, *Glutathione S-transferase*, *DNA repair protein xp-E*, entre outras. Essas proteínas provavelmente são oriundas das células/tecidos glandulares; que provavelmente extravasaram durante o método de preparação do extrato protéico das glândulas.

A maioria das proteínas *housekeeping* estão associada ao processo de produção de energia, possivelmente para suportar a grande síntese de proteínas nas glândulas. Uma observação cuidadosa das identificações das proteínas *housekeeping* nos revela que todas as glândulas estão sintetizando em sua maioria *heme-binding proteins*, *iron-binding proteins*, *ATP-binding protein* e proteínas relacionadas com a fosforilação oxidativa, o que indica que as glândulas estão usando intensivamente o metabolismo mitocondrial para produzir energia, provavelmente para sustentar a biossíntese dos produtos que são secretados (principalmente as proteínas constituintes da seda, as espidroínas).

Além dessas proteínas citadas acima, também foram identificadas proteínas possivelmente envolvidas na secreção de vesículas do tipo exossomos, entre elas a *RAS-related protein Rab-24-like isoform X2*, *Ras-like protein RAS-2*, *Ras-related protein Rab-2*, *Ras-related protein Rab-21* (tabela 12). Várias proteínas denominadas *Rab* como *RAB 11*, *RAB27*, *RAB35* são

conhecidas por desempenharem um papel na secreção de vesículas exossômicas, e demonstrarem envolvimento no tráfego dessas vesículas entre compartimentos intracelulares (SAVINA et al., 2005; HSU et al., 2010). Algumas dessas proteínas estão apresentadas na tabela 12.

O termo exossomo foi proposto em 1987 para designar vesículas intraendossomais liberadas extracelularmente (JOHNSTONE et al., 1987). Os exossomos são pequenas vesículas de membrana (40-100 nm de diâmetro) secretadas pela maioria dos tipos celulares a partir de endossomos multivesiculares. Essas vesículas de membrana são secretadas para o ambiente extracelular juntamente com seu conteúdo, composto de numerosas proteínas, lipídeos e até ácidos nucleicos, interferindo em processos de comunicação celular (COCUCCI et al., 2009). Diversos estudos têm investigado o papel dessas vesículas como mensageiras intracelulares gerais (COCUCCI et al., 2009).

Os exossomos originam-se de compartimento multivesicular interno, chamados corpos multivesiculares (MVBs) os quais são endossomos tardios. Apesar da biogênese dos exossomos ainda não estar bem elucidada, sabe-se que para a formação de MVBs é necessária a participação das proteínas ESCRT (complexo endossomal necessário para transporte), tetraspaninas e o lipídeo LBPA (ácido lisobisfosfatídico) (BABST, 2005; MICHELET et al., 2012). O processo final de secreção do exossomo ocorre através da fusão de MVBs com a membrana plasmática, muito provavelmente com auxílio de um complexo de proteínas SNARE de natureza ainda desconhecida (RAO et al., 2004). Ainda nos nossos resultados com a análise proteômica da seda da teia de *N. clavipes* também foram encontradas proteínas relacionadas ao complexo de proteínas SNARES: *Probable Golgi SNAP receptor complex member 2* e *Synaptotagmin-1* (tabela 12).

Estudos relatam que o processo de liberação, secreção e ancoramento de vesículas extracelulares em membranas-alvo requerem proteínas como actina e microtúbulos, cinesinas e miosinas, pequenas GTPases e proteínas relacionadas ao complexo-SNAREs (CAI et al., 2007). No presente estudo foram identificadas nas glândulas e na teia muitas proteínas actinas, tropomiosinas, miosinas, microtúbulo, cinesinas e GTPases (tabela 12).

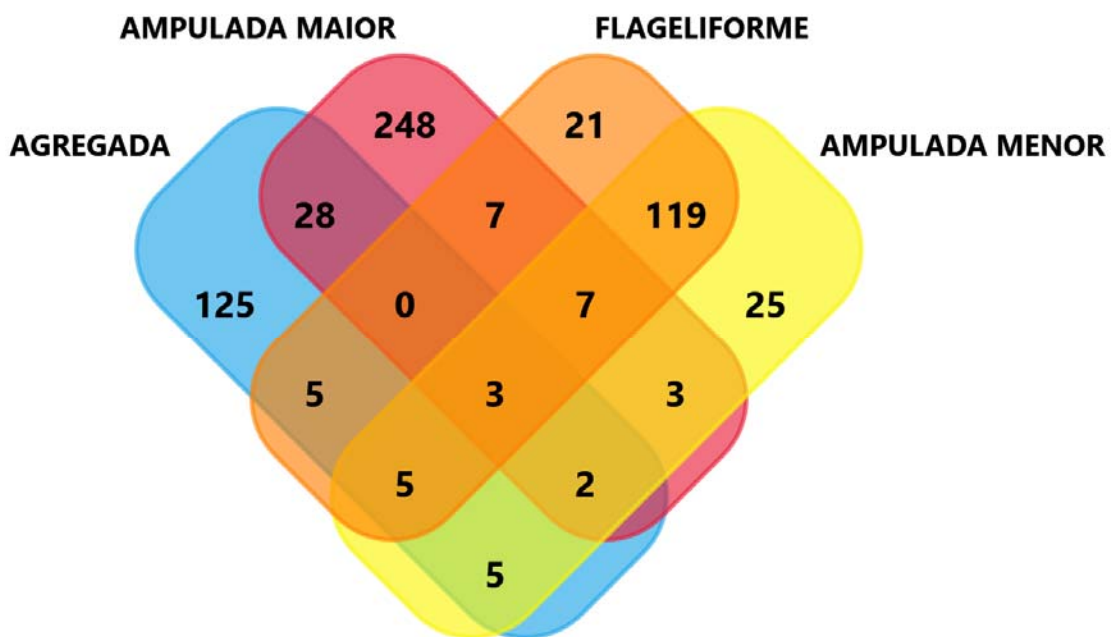
Inicialmente essas proteínas estão sendo classificadas como *housekeeping*, pois ainda, não investigamos o processo pelo qual as vesículas extracelulares identificadas nas nossas amostras são produzidas, transportadas e liberadas dentro das glândulas para então serem secretadas sobre a teia.

Na glândula agregada foram identificadas 129 proteínas que já foram relatadas na literatura (RAO et al, 2004; SAVINA et al., 2005; CAI et al., 2007) como proteínas relacionadas com a formação, transporte e secreção de exossomos: *Ras-related protein ORAB-1*, *Ras-related protein Rab-1A* e *predicted: rab-like protein 1-like*, além de muitas formas de actinas, tropomiosinas, miosinas, cinesinas e pequenas GTPases, algumas delas estão apresentadas na tabela 12. Assim como, na glândula ampulada maior foram identificadas 92 proteínas, principalmente actinas, as quais possivelmente estão envolvidas no processo de locomoção de vesículas exossômicas (tabela 12). Nos nossos resultados, essas proteínas que estão envolvidas na secreção, transporte e liberação de vesículas exossômicas foram identificadas principalmente pela glândula agregada, uma vez que a mesma é a glândula responsável por depositar as gotículas contendo as vesículas lipídicas extracelulares sobre os fios de seda da teia.

Após estabelecidos os grupos funcionais para caga glândula de seda e para a seda da teia conforme mencionado acima, decidimos então realizar uma análise de comparação das proteínas indentificadas nas diferentes amostras, para verificar quais são compartilhadas ou exclusivas de cada amostra. Primeiro realizamos uma análise comparativa das proteínas identificadas entre as quatro glândulas - agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor. Esta análise esta demonstrada no diagrama de Venn na figura 22 e foi realizada considerando somente as proteínas pertencentes a quatro grupos funcionais: transporte de íons durante o processo de fiação da seda (ii), conformação/dobramento e PTMs das espidroínas (iii), proteção da seda contra o estresse oxidativo (iv) e preservação das características fibrilares da seda (v). Uma vez que, essas proteínas estão diretamente envolvidas com a manutenção da integridade e a estabilidade das proteínas estruturais da seda - as espidroínas. Enquanto que as proteínas estruturais da seda (i) são a “teia propriamente dita” e as proteínas *housekeeping* (vi) como já mencionado

anteriormente, possivelmente são proteínas intracelulares típicas secretadas juntamente com outras proteínas complexas através do mecanismos de secreção apócrino das diferentes glândulas, não sendo portanto, incluídas no diagrama de Venn.

Figura 22. Diagrama de Venn representando as proteínas identificadas, que são comuns ou exclusivas, das 4 principais glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As glândulas ampulada maior, ampulada menor, flageliforme e agregada estão envolvidas no processo de fiação para a construção da teia.

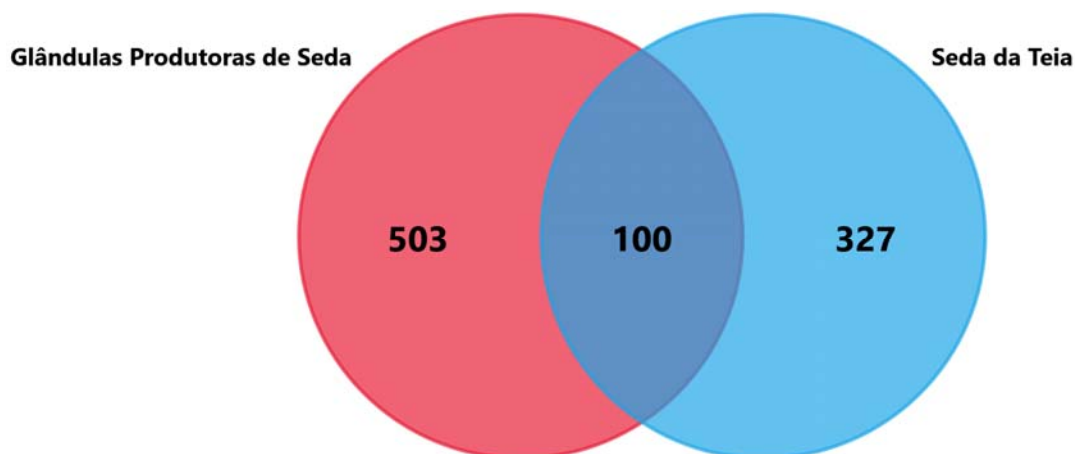


Através da análise desse diagrama podemos retirar algumas informações: foram identificadas 125, 248, 21, e 25 proteínas exclusivas para as glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, e ampulada menor, respectivamente. A intersecção entre as quatro glândulas $AGRE \cap FLA \cap AME \cap AMA$, revelou que 3 proteínas identificadas são comuns entre elas, essas proteínas são: Cytochrome b (D0UDA0), Cytochrome c oxidase subunit 1 (Q1AG64), Serine/threonine-protein kinase smg-1 (Q61CW2) E ainda, uma comparação somente entre duas glândulas revelou que existem 119 proteínas comuns entre as glândulas ampulada menor e flageliforme ($FLA \cap AME$); 28 proteínas comuns entre as glândulas agregada e ampulada maior ($AGRE \cap AMA$); 5 proteínas comuns entre as glândulas flageliforme e

agregada ($AGRE \cap FLA$); 3 proteínas comuns entre as glândulas ampulada menor e maior ($AME \cap AMA$); 5 proteínas comuns entre as glândulas agregada e ampulada menor ($AGRE \cap AME$); e 7 proteínas comuns entre as glândulas ampulada maior e flageliforme ($AMA \cap FLA$) (Figura 22).

Uma segunda análise comparativa foi realizada entre as proteínas identificadas das quatro glândulas - agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor com as proteínas identificadas na seda da teia. Esta análise está demonstrada no diagrama de Venn na figura 23 e foi realizada também, considerando somente as proteínas pertencentes a quatro grupos funcionais: transporte de íons durante o processo de fiação da seda (ii), conformação/dobramento e PTMs das espiroínas (iii), proteção da seda contra o estresse oxidativo (iv) e preservação das características fibrilares da seda (v), conforme já mencionado anteriormente.

Figura 23. Diagrama de Venn representando as proteínas identificadas, que são comuns ou exclusivas, do conjunto de glândulas produtoras de seda (AGRE, AMA, FLA e AME) e a seda da teia da aranha *N. clavipes*.



Através da análise desse diagrama podemos retirar algumas informações: a intersecção entre $(AMA+AME+AGRE+FLA) \cap SEDA DA TEIA$, revelou que 100 proteínas são comuns entre as glândulas produtoras de seda e a seda da teia. Além disso, existem 327 proteínas que são exclusivas da

seda da teia, assim como, 503 proteínas são exclusivas das glândulas produtoras de seda (figura 23).

Dessa forma, a partir da análise dos dois diagramas acima é possível concluir que a glândula ampulada maior apresenta o maior número de proteínas exclusivas, 248. Além disso, das 100 proteínas comuns entre as glândulas e a seda da teia, é importante ressaltar que 46 dessas proteínas são encontradas na glândula ampulada maior. Portanto, a glândula ampulada maior é a que mais contribui na composição de proteínas na seda da teia. Enquanto que as glândulas flageliforme e ampulada menor demonstraram compartilhar 134 proteínas, ou seja, a composição dessas duas glândulas é muito similar. Conforme já mencionado acima, esses resultados são referentes as proteínas identificadas e pertencentes somente aos grupos funcionais ii, iii, iv e v.

O fato de existir proteínas que são exclusivas nas glândulas produtoras de seda, possivelmente está relacionado ao armazenamento dessas proteínas para serem secretadas em um dado momento, quando necessário. Em estudos de Maques et al (2005) foi demonstrado que algumas toxinas de baixas massas moleculares só são sintetizadas por certas glândulas produtoras de seda e somente depositadas sob a seda da teia em determinados períodos do ano, como primavera e verão ou outono e inverno, de acordo com a dieta da aranha. Assim como, podemos sugerir que as proteínas exclusivas da seda da teia, são proteínas que foram secretadas sobre a seda da teia em um determinado momento, mas que não estão ou não estavam sendo mais sintetizadas pelas glândulas no momento em que essas aranhas foram coletadas e dissecadas para a retirada de suas glândulas.

O próximo grupo funcional será discutido abaixo em destaque, uma vez que, esse grupo representa as proteínas relacionadas com a estratégia de captura e pré digestão de presas pela teia quando o inseto-presa entra e contato com a mesma. Sendo assim, este grupo funcional é o ponto-central do presente estudo.

vii) Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas

Foram identificadas 206, 96, 49, 44, 274 proteínas semelhantes a toxinas neurotoxinas, enzimas proteolíticas e defensinas presentes nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, ampulada menor, e seda da teia, respectivamente (tabela A5, apresentada no Apêndice). A maior parte dessas proteínas são típicas de venenos animais, ou seja, neurotoxinas utilizadas para a paralisia e morte de presas.

A tabela 13 mostra somente algumas das proteínas identificadas semelhantes a toxinas de venenos isolados e caracterizados originalmente de aranhas e compartilhadas pela seda da teia e as glândulas produtoras de seda. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A5 do Apêndice.

Tabela 13. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes apenas a ordem Araneae (aranhas). MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

vii) CAPTURA DE PRESAS E PRÉ-DIGESTÃO									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
Alpha-latrotoxin	L7XDS4	153	<i>Latrodectus pallidus</i>	95	+	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7XE04	153	<i>Latrodectus sp. LatDR</i>	100	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7XGA6	155	<i>Latrodectus hesperus</i>	99	-	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin-Lhe1a	P0DJE3	159	<i>Latrodectus hesperus</i>	100	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin-Lh1a	G0LXV8	151	<i>Latrodectus hasseltii</i>	100	+	-	+	+	+
Alpha-latrocrustotoxin-Lt1a	Q9XZC0	158	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	100	+	+	+	+	+
Alpha-latroinsectotoxin-Lt1a	Q02989	158	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	100	+	+	+	+	+
Alpha-latrotoxin	L7X8P2	156	<i>Steatoda grossa</i>	100	-	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7X8L6	24	<i>Latrodectus mirabilis</i>	100	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin-Lt1a	P23631	157	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	100	+	-	+	-	+

Astacin-like metalloprotease toxin 1	A0FKN6	30	<i>Loxosceles intermedia</i>	100	+	-	-	-	+
Delta-latroinsectotoxin-Lt1a	Q25338	136	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	100	+	+	+	+	+
Kappa-theraphotoxin-Cg1a 1	P0C247	10	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	100	+	-	+	+	+
Omega-theraphotoxin-Hs1a	P68424	8	<i>Haplopelma schmidti</i>	100	-	+	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alpha11	Q1W695	35	<i>Loxosceles intermedia</i>	100	+	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-beta1D1	Q1W694	35	<i>Loxosceles intermedia</i>	100	+	+	+	+	+
Phospholipase D LiSicTox-alpha11-1	P0C2L1	3	<i>Loxosceles laeta</i>	100	+	-	-	-	+
U18-ctenitoxin-Pn1a	P83999	5	<i>Phoneutria nigriventer</i>	100	-	-	-	-	+
U21-ctenitoxin-Pn1a	P84033	27	<i>Phoneutria nigriventer</i>	100	+	-	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1d	Q5Y4Y2	8	<i>Agelena orientalis</i>	100	+	-	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1f	Q5Y4Y0	8	<i>Agelena orientalis</i>	100	+	+	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1m	Q5Y4X3	8	<i>Agelena orientalis</i>	100	+	-	-	-	+
U2-sicaritoxin-Li1a	Q6B4T3	9	<i>Loxosceles intermedia</i>	100	+	-	-	-	+
U4-ctenitoxin-Pk1a	P83896	5	<i>Phoneutria keyserlingi</i>	100	+	+	-	-	+
U9-agatoxin-Ao1a	Q5Y4U3	12	<i>Agelena orientalis</i>	100	-	+	-	-	+

Estudos relatam a ocorrência de toxinas protéicas e peptídicas típicas de venenos, presentes nas gotículas nas fibras da seda da teia de aranhas (MARQUES et al., 2005; SALLES et al., 2006; Volsi et al., 2006; ZHANG et al., 2011; SANGGAARD et al., 2014). O sequenciamento genômico do DNA da aranha africana *Stegodypus mimosarum* relatou a presença de nove proteínas comuns entre as secreções do veneno e das glândulas de seda dessa aranha. Entre essas proteínas foram identificadas *stegotoxins-A3, -B1, -B2 and -B4*; *venom phospholipase-A2*; *venom aminopeptidase-A*; *venom cystatin*; *astacin-like metalloprotease*; *venom pancreatic-like triacylglycerol lipase-D* (SANGGAARD et al., 2014). Outros estudos descrevem que os ovos da aranha “viúva-negra”, *Latrodectus tredecimguttatus*, possuem toxinas (YAN et

al, 2014) com atividade na degradação de proteínas teciduais, inibição em canais iônicos (neurotoxinas), bloqueio da transmissão neuromuscular, anafilaxia, indução a apoptose e hiperalgesia (XU & WANG, 2016). Através de análises proteômicas e transcriptômicas foram identificados nos ovos de *Latrodectus tredecimguttatus* a neurotoxina *U24-ctenitoxin-Pn1a*, além de *metalloprotease phopolipase*, *phosphatase*, *allergen*, *Plancitoxin-1* entre outras (XU & WANG, 2016).

Assim como descrito para os estudos mencionados acima, nos nossos resultados também foram identificadas as proteínas pertencentes ao grupo de *Ctenitoxin*, entre elas a *U4-ctenitoxin-Pk1a*, *U21-ctenitoxin-Pn1a* e *U18-ctenitoxin-Pn1a* (tabela 13). Além dessas proteínas também foram identificadas outras como *Plancitoxin-1*, *Venom allergen (2 e 5)*, *venom phospholipase -A1 e -A2*, *aminopeptidase-N*, *astacin-like metalloprotease* e muitas formas diferentes de *phospholipase-D*. Esses resultados estão apresentados na tabela A5 do Apêndice.

Um papel ativo, além do papel mecânico de captura de presas, foi anteriormente proposto para as teias de aranhas do gênero *Nephila*, quando uma série de peptídeos tóxicos, proteases e neurotoxinas de baixas massas moleculares foram relatados em gotículas da teia de *N. clavipes* (MARQUES et al., 2005; SALLES et al., 2006; VOLSI et al., 2006). A identificação de diversas neurotoxinas no presente resultado (tabela 13 e tabela A5 do Apêndice) sugere que estas proteínas contribuem para paralisia de presas, facilitando a captura, e corrobora com a hipótese de que a teia da aranha *N. clavipes* desempenha um papel ativo na captura dessas presas.

As aranhas representam um dos grupos que possuem um grande número de espécies venenosas (Platnik, N.I. The World Spider Catalog, Version14.0. [<http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>]); e dentre as proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas que foram identificadas nas glândulas produtoras de seda e na seda da teia (tabela A5 do Apêndice), algumas proteínas são representativas de diferentes famílias de aranhas, como:

i) *Sphigomyelinase D* - uma proteína que provoca dermonecrose em mamíferos; é considerada uma proteína de veneno única para as aranhas da família Sicariidae, como as aranhas marrom (gênero *Loxosceles*) e aranhas do gênero *Sicarius*. Esta proteína é utilizada como marcador nos estudos de evolução molecular deste grupo de aranhas (Binford et al., 2009); e provavelmente pode estar envolvida com a pré-digestão das presas capturadas pelas teias;

ii) *Latrotoxins* - constituem uma família de neurotoxinas típicas dos venenos de aranhas Theridiidae (constituídas principalmente pelas viúvas negras - gênero *Latrodectus*); sendo importante na paralisia e captura de presas, e também é utilizada como referência molecular em estudos de evolução molecular deste grupo de aranhas (Garb et al., 2013);

iii) *Zodatoxins* - são toxinas paralisantes, apresentando também ação antimicrobiana, isolada a partir do veneno do *Lachesana tarabaevi* (Jungo et al., 2010);

iv) *Ctenitoxin Pn ou Pk* - péptidos neurotóxicos presentes no veneno pertencentes a família *Ctenidae* (GLENN et al ., 2008), neste caso as aranhas *Phoneutria nigriventer (Pn)* e *Phoneutria keyserlingi (Pk)*. As *Ctenitoxin Pn* tem complexos efeitos sobre canais de sódio, seu efeito principal parece ser o retardamento da inativação da corrente de sódio em axônios isolado de insetos (MATAVEL et al., 2002, De LIMA et al., 2002) .

v) *Agatoxins* - classe químicamente diversa de poliaminas e toxinas peptídicas, as quais são isoladas de aranhas *Agelenopsis sp.* Seu mecanismo de ação inclui bloqueio de canais iônicos dependentes de glutamato, os canais de sódio dependentes de voltagem, ou canais de cálcio dependentes de voltagem(UNCHITEL, 1997). Os subtipos α -*agatoxin* e μ -*agatoxin*, tem efeito de rápida paralisia em insetos (ADAMS , 2004).

vi) *Theraphotoxin* – proteínas neurotóxicas, isoladas do veneno das aranhas tarantulas da família Theraphosidae. Efeitos de ativação dos canais de

potássio, inibição de canais de sódio, causando o bloqueio da transmissão neuromuscular e paralisia em insetos (LI et al., 2003).

vii) Lycotoxins – constitui uma família de peptídeos antimicrobianos típicos do veneno da aranha *Lycosa singoriensis* (YAN et al., 1998).

Os resultados acima demonstram que a aranha *N. clavipes* (Araneidae) está expressando toxinas até então consideradas únicas do ponto de vista evolutivo, de pelo menos dois grupos distantes de aranhas, i.e., *sphingomyelinase-D* da aranha do gênero *Loxosceles* (Sicariidae) e *latrotoxins* da aranha viúva negra do gênero *Latrodectus* (Theriidae). Além disso, a *N. clavipes* também está expressando toxinas consideradas típicas de outros dois grupos de famílias de aranhas não muito distantes filogeneticamente entre elas, i.e., as *zodatoxins* da aranha *L. tarabaevi* (Zodariidae) e *lycotoxins* da aranha do gênero *Lycosa* da família Lycosidae. Atualmente, existem duas hipóteses sugerindo que as famílias Sicariidae e Theriidae evoluíram independentemente uma da outra (BINFORD et al., 2009; GARB et al., 2013). Ao invés disso, os resultados do presente estudo estão sugerindo que algumas dessas proteínas podem estar presentes em todas as famílias de aranhas. Hipóteses anteriores foram elaboradas baseadas na presença ou ausência dessas proteínas nos venenos de aranhas; na maioria das investigações anteriores a ocorrência dessas proteínas utilizadas como marcadores moleculares de evolução, não foram investigadas nas glândulas de seda, mas somente nos venenos. Ainda deve ser especulado que, filogeneticamente as aranhas da família Araneidae representam um grupo intermediário entre dois clados mais distantes (Sicariidae and Theriidae) na filogenia das famílias de aranhas (GREGORY et al., 2003), e portanto, compartilham características genéticas e bioquímicas comuns entre ambos os extremos.

As toxinas de venenos animais (aranhas, serpentes, escorpiões, moluscos marinhos – *Conus*, e anêmonas) são frequentemente membros de grandes famílias de genes que representam bibliotecas combinatórias naturais; isto é, eles contêm grupos de toxinas que apresentam sequências homólogas (CASEWELL et al., 2013; SACHKOVA et al., 2014; HANEY et al., 2014).

Assim, a evolução molecular de venenos animais pode ser altamente dinâmica e parece ser frequentemente moldada por duplicação de genes e uma forte seleção diversificada, assim como a co-evolução e a convergência (FRY et al., 2006; BINFORD et al., 2009; DOLEY et al., 2009). Dessa forma, decidimos também realizar uma busca dos nossos dados contra outros bancos de dados como o Arthropoda e NCBI nr. Isto permitiu que, além das identificações das proteínas semelhantes a toxinas de venenos de aranhas, também encontrássemos identificações de proteínas semelhantes à toxinas comumente relatadas em outros venenos animais, como venenos de organismos marinhos e insetos, em sua maioria da ordem Hymenoptera. Algumas dessas proteínas identificadas estão apresentadas na tabela 14. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A5, do Apêndice.

Tabela 14. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas proteínas de venenos de organismos marinhos e insetos em sua maioria da ordem Hymenoptera, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arthropoda e NCBI nr. MM: Massa Molecular, PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

vii) CAPTURA DE PRESAS E PRÉ-DIGESTÃO									
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
					AGRE	AMA	FLA	AME	
Venom allergen 5	Q5BLY5	24	<i>Tityus serrulatus</i>	100	-	-	-	-	+
Toxin Acra2	P0C2A0	2	<i>Androctonus crassicauda</i>	100	-	-	-	-	+
Sarcotoxin II-3	P24490	31	<i>Sarcophaga peregrina</i>	100	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-1A	P08375	7	<i>Sarcophaga peregrina</i>	100	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-1B	P08376	7	<i>Sarcophaga peregrina</i>	100	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-2A	P14667	31	<i>Sarcophaga peregrina</i>	100	-	-	-	-	+
Pg-superfamily toxin Gsg9.1	P0C846	9	<i>Gemmula sogodensis</i>	100	-	-	-	-	+
Pg-superfamily toxin Gdm9.1	P0C847	9	<i>Gemmula diomedea</i>	100	-	-	-	-	+

Pg-superfamily toxin Gkn9.1	P0C848	9	<i>Gemmula kieneri</i>	100	-	-	-	-	+
Pg-superfamily toxin Gsp9.1	P0C845	9	<i>Gemmula speciosa</i>	100	-	-	-	-	+
Pg-superfamily toxin Gsp9.2	P0C850	9	<i>Gemmula speciosa</i>	100	-	-	-	-	+
O-superfamily conotoxin S6.11	P0C834	8	<i>Conus striatus</i>	100	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Ca1.1	P0C1V9	7	<i>Conus characteristicus</i>	100	+	+	-	-	+
Alpha-conotoxin Ca1.2	P0C1W0	7	<i>Conus characteristicus</i>	100	+	+	-	-	+
Alpha-conotoxin Mr1.2	A6M934	7	<i>Conus marmoreus</i>	100	+	-	-	-	+
Alpha-D-conotoxin Ms20.4	P0CE29	10	<i>Conus mustelinus</i>	100	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin AulB	P56640	6	<i>Conus aulicus</i>	100	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lp1.4	A1X8B6	7	<i>Conus leopardus</i>	100	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lp1.8	A1X8C3	7	<i>Conus leopardus</i>	100	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lt1.3	Q2I2R6	7	<i>Conus litteratus</i>	100	-	-	-	-	+

Algumas proteínas identificadas (tabela 14) nas buscas realizadas contra os bancos de dados Arthropoda e NCBI nr foram:

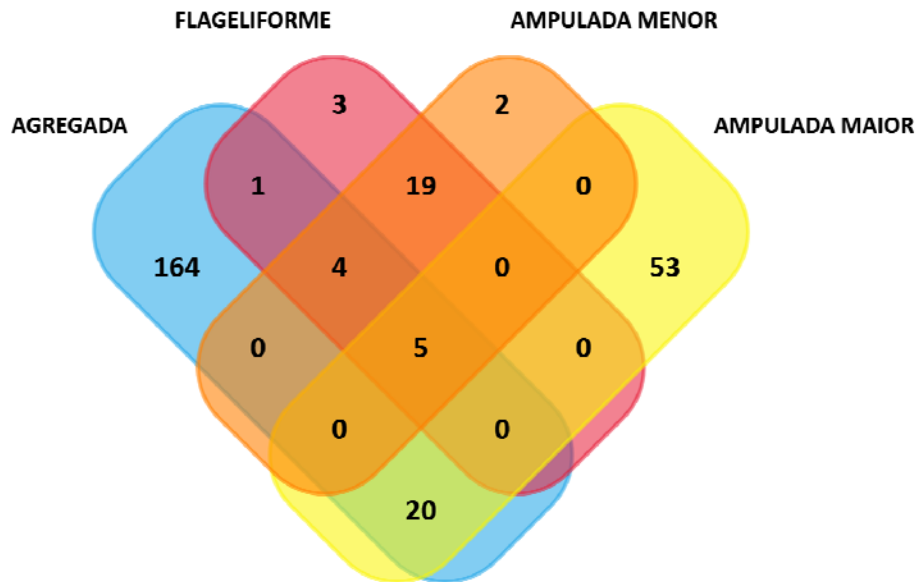
- i) *venom allergen-5*, conhecido como antígeno-5 - um dos principais alérgenos relatado nos venenos de vespas (MONSALVE et al., 1999; DOS SANTOS et al., 2010);
- ii) muitas toxinas isoladas de veneno de escorpião como *Toxin Acra-2*, uma neurotoxina do veneno do escorpião *Androctonus crassicauda* (CALISKAN et al., 2006);
- iii) algumas toxinas *sarcotoxin (1A, 1B, 2A e II-3)* de ação antibacterianas presentes na hemolinfa da mosca *Sarcophaga sp.* (KANAI & NATORI, 1989; ANDO & NATORI, 1988);

- iv) algumas toxinas *Pg* (*Gsg9.1*, *Gdm9.1*, *Gkn9.1*, *Gsp9.1* e 2) da super família *Pg* de peptídeos ricos em ponte dissulfeto isoladas do veneno de caracóis de *Gemmula sp* (HERALDI et al., 2008);
- v) e conotoxinas que constituem um grupo de neurotoxinas típicas dos venenos de *Conus* (OLIVERA et al., 1985). Essas proteínas semelhantes a conotoxinas serão melhores discutidas posteriormente na presente dissertação.

Estes resultados estão indicando que os genes destas proteínas/peptídeos podem ter evoluído independentemente em todos esses animais. Corroborando esta hipótese é importante mencionar a ocorrência do peptídeo *glacontryphan-M* com 100% de cobertura de sequência presente nas asas da borboleta *Hebomoia glaucippe*, o qual é estrutural e funcionalmente muito semelhante às toxinas peptídicas relatadas nos venenos de *Conus* (Bae et al., 2012). Nas análises da seda da teia da aranha *N. clavipes* do presente estudo também foi indentificada a proteína *glacontryphan-M* com 40% de cobertura de sequência (tabela A5 do Apêndice).

Considerando esses resultados obtidos para o grupo de proteínas relacionadas a captura e pré-digestão de presas (vii), dentro dos bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr, decidimos então realizar uma análise de comparação somente das toxinas indentificadas nas diferentes amostras, para verificar quais são compartilhadas ou exclusivas de cada amostra. Primeiro realizamos uma análise comparativa das toxinas identificadas entre as quatro glândulas - agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor. Esta análise esta demonstrada no diagrama de Venn na figura 24.

Figura 24. Diagrama de Venn representando as toxinas identificadas, que são comuns ou exclusivas, das 4 principais glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As glândulas ampulada maior, ampulada menor, flageliforme e agregada estão envolvidas no processo de fiação para a construção da teia das glândulas produtoras de seda (agregada, flageliforme, ampulada maior e menor).



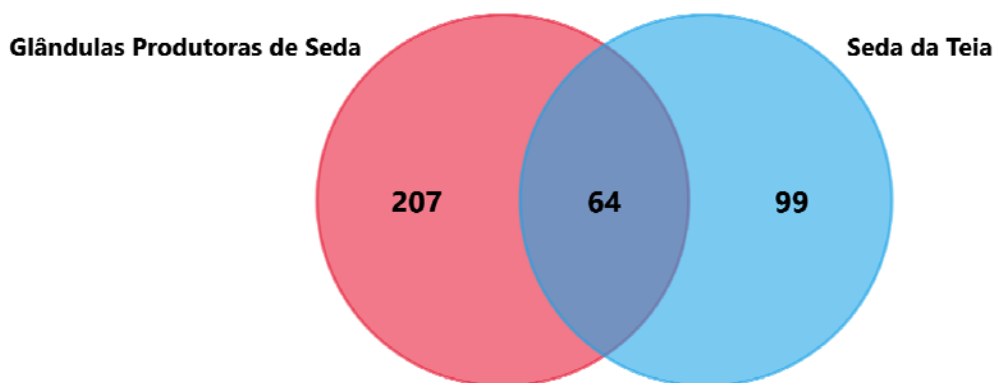
Através da análise desse diagrama podemos retirar algumas informações: foram identificadas 164, 53, 3, e 2 toxinas exclusivas para as glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme, e ampulada menor, respectivamente. A intersecção entre as quatro glândulas $AGRE \cap FLA \cap AME \cap AMA$, revelou que apenas 5 toxinas identificadas são comuns entre elas; essas toxinas são: Alpha-latrocrustotoxin-Lt1a (Q9XZC0), Alpha-latroinsectotoxin-Lt1a (Q02989), Delta-latroinsectotoxin-Lt1a (Q25338), Sphingomyelin phosphodiesterase D LiSicTox-betaID1 (Q1W694), alpha-latrotoxin, partial (L7X7N7) (Figura 24).

Nas análises entre somente duas glândulas, podemos notar que existem 19 toxinas comuns entre as glândulas ampulada menor e flageliforme ($FLA \cap AME$); 20 toxinas comuns entre as glândulas agregada e ampulada maior ($AGRE \cap AMA$); e apenas 1 toxina em comum entre as glândulas flageliforme e agregada ($AGRE \cap FLA$). Por fim, a comparação entre as glândulas ampulada menor e ampulada maior, assim como entre as glândulas

agregada e ampulada menor e as glândulas flageliforme e ampulada maior, revelou que não existem toxinas comuns entre elas (Figura 24).

Uma segunda análise comparativa foi realizada entre as toxinas identificadas das quatro glândulas - agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor com as toxinas identificadas na seda da teia. Esta análise está demonstrada no diagrama de Venn na figura 25.

Figura 25. Diagrama de Venn representando as toxinas identificadas, que são comuns ou exclusivas, do conjunto de glândulas produtoras de seda (AGRE, AMA, FLA e AME) e a seda da teia da aranha *N. clavipes*.



Através da análise desse diagrama podemos retirar algumas informações: a intersecção entre $(AMA+AME+AGRE+FLA) \cap SEDA DA TEIA$, revelou que 64 toxinas são comuns entre as glândulas produtoras de seda e a seda da teia. Além disso, existem 99 toxinas que são exclusivas da seda da teia, assim como, 207 toxinas são exclusivas das glândulas produtoras de seda.

O fato de existir toxinas que são exclusivas nas glândulas produtoras de seda possivelmente está relacionado ao armazenamento dessas proteínas para serem secretadas em um dado momento, quando necessário. Em estudos de Marques et al (2005) foi demonstrado que algumas toxinas de baixas massas moleculares só são sintetizadas por certas glândulas produtoras de seda e somente depositadas sob a seda da teia, em determinados períodos do ano, como primavera e verão ou outono e inverno; de acordo com a dieta da aranha. Um exemplo, são as β -carbonilas que só foram detectadas em

amostras coletadas durante os períodos de primavera e verão (MARQUES, 2002). Dessa forma, podemos sugerir que as proteínas exclusivas da seda da teia são toxinas que foram secretadas sobre a seda da teia em um determinado momento, mas que não estão ou não estavam sendo mais sintetizadas pelas glândulas, no momento em que essas aranhas foram coletadas e dissecadas para a retirada das glândulas.

Portanto, a partir da análise dos dois diagramas acima é possível concluir que a glândula agregada apresenta o maior número de toxinas exclusivas, 164. As glândulas flageliforme e ampulada menor demonstraram compartilhar 28 toxinas, ou seja, a composição dessas duas glândulas é muito similar. Além disso, das 64 toxinas em comum entre as glândulas e a seda da teia, é importante ressaltar que 55 dessas toxinas são encontradas na glândula agregada. Nos nossos resultados, essas toxinas foram identificadas em sua maioria na glândula agregada, uma vez que a mesma é a glândula responsável por depositar as gotículas contendo as vesículas lipídicas extracelulares sobre os fios de seda da teia. E como já discutido anteriormente, as vesículas podem armazenar essas toxinas.

Como mencionado anteriormente, a partir deste ponto, a presente dissertação apresenta os resultados de identificações de proteínas semelhantes à conotoxinas. Sendo assim, iniciaremos a discussão desses resultados elaborando a seguinte questão: É possível encontrar proteínas semelhantes à conotoxinas em outros organismos? Ou seja, é possível encontrar nos animais terrestres, toxinas semelhantes àquelas normalmente observadas em organismos marinhos?

Proteínas semelhantes à conotoxinas

Os caramujos marinhos (*Cone snails*) desenvolveram uma grande diversidade de peptídeos venenosos, como uma estratégia evolutiva para a rápida paralisação de presas e defesa. Nos estudos de Davis e colaboradores (2009), são estimados cerca de 100 cono-peptídeos por espécie. As conotoxinas são peptídeos neurotóxicos, ricos em resíduos de cisteína, que afetam receptores de neurotransmissores e bloqueiam vasta gama de canais

iônicos das presas de caracóis marinhos (*Conus sp.*) (Anderson e Bokor, 2012).

Alguns estudos relatam fármacos derivados de conotoxinas, um exemplo é a Ziconotida, uma ω -conotoxina isolada originalmente do veneno do *Conus magus*. Sendo um fármaco alternativo á morfina, com um efeito 1000 vezes mais potente sem causar dependência nos pacientes (McGivern, 2007). Algumas conotoxinas como α -conotoxinas, κ -conotoxinas e δ -conotoxinas podem ser utilizadas como armas aerossol, que podem ocasionar parada respiratória quando inaladas. Sendo assim, existe a preocupação com relação ao uso dessas moléculas em ações de bioterrorismo. (ROY et al., 2012).

Nos nossos resultados foram identificadas 85 proteínas semelhantes a conotoxinas tanto nas glândulas produtoras de seda quando na seda da teia. Essas identificações foram obtidas a partir da busca dos nossos dados contra o banco de dados do NCBI nr. A tabela 15 apresenta algumas dessas proteínas que foram identificadas na seda da teia da aranha *N. clavipes*. Devido a grande quantidade de dados as demais identificações estão apresentadas na tabela A5 do Apêndice.

Tabela 15. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas apenas as proteínas semelhantes à conotoxinas, identificadas na seda da teia e nas glândulas produtoras de seda da aranha *N. clavipes*. As buscas foram realizadas contra o banco de dados do NCBI nr. MM: Massa Molecular, MS MS Peptídeo: fragmentos peptídicos obtidos experimentalmente na seda e nas glândulas produtoras de seda; PIP: Probabilidade de Identificação da Proteína, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

Proteínas semelhantes à conotoxinas										
Nome da Proteína	Código de Acesso	MM (kDa)	Taxonomia	MS MS Peptideo (Probabilidade%)	PIP (%)	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
Alpha-D-conotoxin Ms20.2-like	P0CE28	10	<i>Conus mustelinus</i>	CCLTRMCGTMCCARSGCTCVYHWR(100); MCGTMCCARSGCTCVYHWR(100); MCGTMCCARSGCTCVYHWRR(100); MLKLEMLLVLLILPLFYFDAGGQVVGQDWR(100); SGCTCVYHWRRGHGCSCPG(100)	100	+	-	-	-	+
Alpha-D-conotoxin Ms20.4-like	P0CE29	10	<i>Conus mustelinus</i>	DNEAECQINTPGSSWGKCCMTR(100); GGRDNEAECQINTPGSSWGKCCMTR(100); GNGLARYPQRGGR(100); MCGTMCCARSGCTCVYHWR(100); MCGTMCCARSGCTCVYHWRR(100); MPKLAVVLLVLLILPLSYFDVAGGQAAEGDRR(100); SGCTCVYHWRRGHGCSCPG(100)	100	+	-	-	-	+
Alpha-D-conotoxin Ms20.5-like	P0CE30	10	<i>Conus mustelinus</i>	CCLTRMCGPMCCARSGCTCVYHWR(100); LAVVLLVLLILPLSYFDAAGGQAAEGDRR(100); MCGPMCCARSGCTCVYHWRR(100); SGCTCVYHWRRGHGCSCPG(100)	100	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lp1.1-like	Q6PTD5	7	<i>Conus leopardus</i>	ALDAMNAAASNKASRLIALAVR(100); MGMRMMFIMFMLVVLATTVVFTSDR(100);	100	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lp1.2-like	Q6PTD4	7	<i>Conus leopardus</i>	GMRMMFTVFLVVLATTVVSFTSDRAFDGR(100); MMFTVFLVVLATTVVSFTSDR(100)	100	-	-	-	-	+

Alpha-conotoxin Lp1.4-like	A1X8B6	7	<i>Conus leopardus</i>	GMRMMSIMFMLVVLATTVVVSFTSDRALDAMNAAASK(100); MGMRMMSIMFMLVVLATTVVVSFTSDR(100); MMSIMFMLVVLATTVVVSFTSDR(100); MMSIMFMLVVLATTVVVSFTSDRALDAMNAAASK(100)	100	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lp1.8-like	A1X8C3	7	<i>Conus leopardus</i>	GMRMMFTMFLLVVLTTTVVSFNDR(100); GMWDECCDDPPCRQNNMEHCPAS(100); MGMRMMFTMFLLVVLTTTVVSFNDR(100); MMFTMFLLVVLTTTVVSFNDR(100)	100	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin SO-4-like	Q9XZK3	8	<i>Conus striatus</i>	ICCGFCSPYSKICMNYPKN(100); KLTCMVIVAVLLLACQLITADDSRGTQK(100); LTCMVIVAVLLLACQLITADDSR(100); MKLTCMVIVAVLLLACQLITADDSR(100); STTKVSKATDCIEAGNYCGPTVMK(100)	100	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin SO-5-like	Q9XZK4	8	<i>Conus striatus</i>	STTKVSKATDCIEAGNYCGPTVMK(100); KLTCMVIVAVLLLACQLITADDSRGTQK(100); LTCMVIVAVLLLACQLITADDSR(100); STTKVSKSTSCMEAGSYCGSTTR(100)	100	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin SVIA mutant 2-like	Q9XZL5	8	<i>Conus striatus</i>	LTCMVIVAVLLLACQLITAEDSR(100); MKLTCMVIVAVLLLACQLITAEDSR(100); TLRSTARR(100)	100	+	-	-	-	+
Omega-conotoxin TeA61-like	Q3YEF3	8	<i>Conus textile</i>	AHHEMKNPEASK(100); KLTCMMIVAVLFLTAWTFATADDSSNGLGNLFLKAHHEMK(100); LTCMMIVAVLFLTAWTFATADDSSNGLGNLFLKAHHEMKNPEASK(100)	100	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin TxMKLT1-0141-like	Q9U651	8	<i>Conus textile</i>	AHHEMKNPEASK(100); LTCMMIVAVLFLTAWTFATADDSSNGLENLFPKAHHEMK(100); MKLTCMMIVAVLFLTAWTFATADDSSNGLENLFPK(100)	100	-	-	-	-	+

Dentre as proteínas semelhantes a conotoxinas identificadas nos nossos resultados podemos destacar as ω -conotoxinas, α -conotoxinas e α -D-conotoxinas. As sequências dessas proteínas depositadas nos bancos de dados foram utilizadas para a realização de um alinhamento entre elas. Esse alinhamento está demonstrado na figura 26, na qual a região assinalada em amarelo corresponde as sequências das proteínas conotoxinas sobrepostas com os fragmentos peptídicos obtidos experimentalmente em nossas análises.

Sendo assim, a α -D-conotoxina Ms20.4 originalmente isolada do veneno de *Conus mustelinus* foi identificada com 100% de cobertura de sequência na seda da teia de *N. clavipes*. A cobertura de sequência variou de 40-100% para as outras proteínas identificadas semelhantes à conotoxinas na seda da teia e glândulas produtoras de seda.

Figura 26. Alinhamentos de algumas das proteínas semelhantes a conotoxinas. **a)** Alinhamento da Omega-conotoxina (códigos de acesso: Q9XZK4, Q9XZL5, Q3YEF3, Q9U651, Q9XZK3). **b)** Alinhamento da Alpha-conotoxin (códigos de acesso: Q6PTD5, Q6PTD4, A1X8B6, A1X8C3). **c)** Alinhamento da Alpha-D-conotoxin (códigos de acesso: P0CE28, P0CE29, P0CE30). Vermelho - região altamente conservada; azul - região de baixa conservação; amarelo - todos os fragmentos proteolíticos obtidos experimentalmente para as proteínas semelhantes à conotoxinas identificadas na seda da teia e glândulas produtoras de seda de *N. clavipes*.

a		1-----+-----+-----+-----50
	Omega-conotoxin SO-4	MKLT CMV I VA VLL L TAC Q LI TAD D SRGT Q K HRS L RSTTKV SK---A---T
	Omega-conotoxin SO-5	MKLT CV M I VA VLL L TAC Q LI TAD D SRGT Q K HRS L RSTTKV SK---S---T
	Omega-conotoxin SVIA mutant 2	MKLT CMV I VA VLL L TAC Q LI TA E DSRGT Q K H R TLRSTARR SK---SE L TT
	Omega-conotoxin TeA61	MKLT CM M I VA VL F LTA W T F A TAD D SS N GLG N L F L KA H HEM KN P EAS K LNE
	Omega-conotoxin TxMKLT1-0141	MKLT CM M I VA VL F LTA W T F A TAD D SS N GLE N L F P KA H HEM KN P EAS K LNE
	Consensus	MKLT Cmm I VA VL L LTA c q li TA # DS r gt q k hr-lrst--- sk---s-l-t
		51-----+-----+-----+---84
	Omega-conotoxin SO-4	DCIEAGNY CG P T VM K I CC GF CSPY S KICMN Y P KN
	Omega-conotoxin SO-5	SC M EAGSY CG S T T- R I CC GY CAYFGK K CID Y P SN
Omega-conotoxin SVIA mutant 2	R C R P SG S PC G V T S-- I CC G R CS R G K CT--- ----	
Omega-conotoxin TeA61	R C LDAGE V CD I F F- P T CC GY C I LL F CA--- ----	
Omega-conotoxin TxMKLT1-0141	R C LDAGE I CD F F F- P T CC GY C I LL F CA--- ----	
Consensus	r C --a G -- C g -t---i CC Gy C-----c-----	

b

```

1-----+-----+-----+-----50
Alpha-conotoxin Lp1.1 MGMRMMFIMF MLVVLATTVV TFTSDRALDA MNAASNKAS RLIALAVRGC
Alpha-conotoxin Lp1.4 MGMRMMSIMF MLVVLATTVV SFTSDRALDA MNAASKKAS RLIALAVRGC
Alpha-conotoxin Lp1.2 MGMRMMFTVF LLVVLATTVV SFTSDRAFDG RNAAASDKAS DLISLAVRGC
Alpha-conotoxin Lp1.8 MGMRMMFTMF LLVVLTTTVV SFNSDRESNH ENRRTSNQIT RGMW---DEC
Consensus MGMRMMftmF $LVVLattVV sFTSDRa-#- -NaaaSnkas rli-lavrgc

51-----+-----68
Alpha-conotoxin Lp1.1 CARAACAGIH QELCGGGR
Alpha-conotoxin Lp1.4 CSHPACSGNH QELCDGRR
Alpha-conotoxin Lp1.2 CSHPACSVNN PYFCGGKR
Alpha-conotoxin Lp1.8 CDDPPCRQNN MEHCPAS
Consensus C--paC--nn -e-C-g-r

```

c

```

1-----+-----+-----+-----50
Alpha-D-conotoxin Ms20.2 MLKLEMLLVV LLILPLFYFD -AGGQVVQGD WRS DGLARYL QRGDRDVR-E
Alpha-D-conotoxin Ms20.4 MPKLAVVLLV LLILPLSYFD VAGGQAAEGD RRGNGLARYP QRGGRDNEAE
Alpha-D-conotoxin Ms20.5 MPKLAVVLLV LLILPLSYFD AAGGQAAEGD RRGNGLARYL QRGGRDNEAE
Consensus MpKLavvLlV LLILPLsYFD -AGGQaa#GD rRg#GLARYl QRGgRDneaE

51-----+-----+-----+-----95
Alpha-D-conotoxin Ms20.2 CNINTPGSSW GKCCLTRMCG TMCCARSGCT CVYHWRRGHG CSCP G
Alpha-D-conotoxin Ms20.4 CQINTPGSSW GKCCMTRMCG TMCCARSGCT CVYHWRRGHG CSCP G
Alpha-D-conotoxin Ms20.5 CQINTPGSSW GKCCLTRMCG PMCCARSGCT CVYHWRRGHG CSCP G
Consensus C#INTPGSSW GKCC$TRMCG tMCCARSGCT CVYHWRRGHG CSCP G

```

Ao discutir a identificação dessas proteínas semelhantes á conotoxinas, e mesmo a α -D-conotoxina Ms20.4 que se apresentou com 100% de cobertura de sequência, é necessário muito cuidado ao afirmar que as mesmas se apresentam ativa na teia. Em se tratando de análise proteômica, em um sistema livre de gel, do tipo *shotgun*, é importante considerarmos que um *pool* de proteínas foi clivado por tripsina resultando em um *pool* de fragmentos peptídicos, que foram identificados com a realização de um *screening* de um banco de dados utilizando parâmetros pré-definidos. Sendo assim, existe a possibilidade de que o resultado final das identificações possam ser fragmentos peptídicos originados de diferentes proteínas, ou seja, alguns fragmentos peptídicos que correspondem à sequências de conotoxinas identificadas nas análises, possam estar “encriptadas” dentro das sequências de outras proteínas presentes nas amostras.

O conceito de *proteínas-mãe* e peptídeos encriptados foi introduzido a mais de uma década e consiste no estudo de proteínas nas quais são identificados fragmentos internos funcionais (peptídeos encriptados). De forma informal e simples, podemos dizer que dentro de uma molécula maior existem outras menores, porém com formas e atividades diferentes da maior de todas, ou da maior imediatamente anterior (BRAND et al, 2012).

Peptídeos bioativos tem cerca de três a vinte resíduos de aminoácidos por molécula, estes podem estar encriptados dentro de uma sequência de uma proteína. Peptídeos encriptados tornam-se ativos quando são liberados da sequência da proteína, principalmente por hidrólise química ácida e alcalina, ação proteolítica de microorganismos ou por hidrólise enzimática de proteínas (ERDEMAN, et al, 2008; MOLLER et al, 2008; AGYEI e DANQUAH, 2011; HARNEDY e FITZ, 2012). Esses peptídeos encriptados podem ser encontrados em fontes animais e vegetais, como leite, produtos lácteos, ovos, peixes, ostras, cereais (arroz, trigo, trigo sarraceno, cevada e milho), soja, sementes de rabanete e outras fontes ricas em proteínas (LI et al, 2002; SINGH et al, 2014; NONGONIERMA e FITZ, 2015).

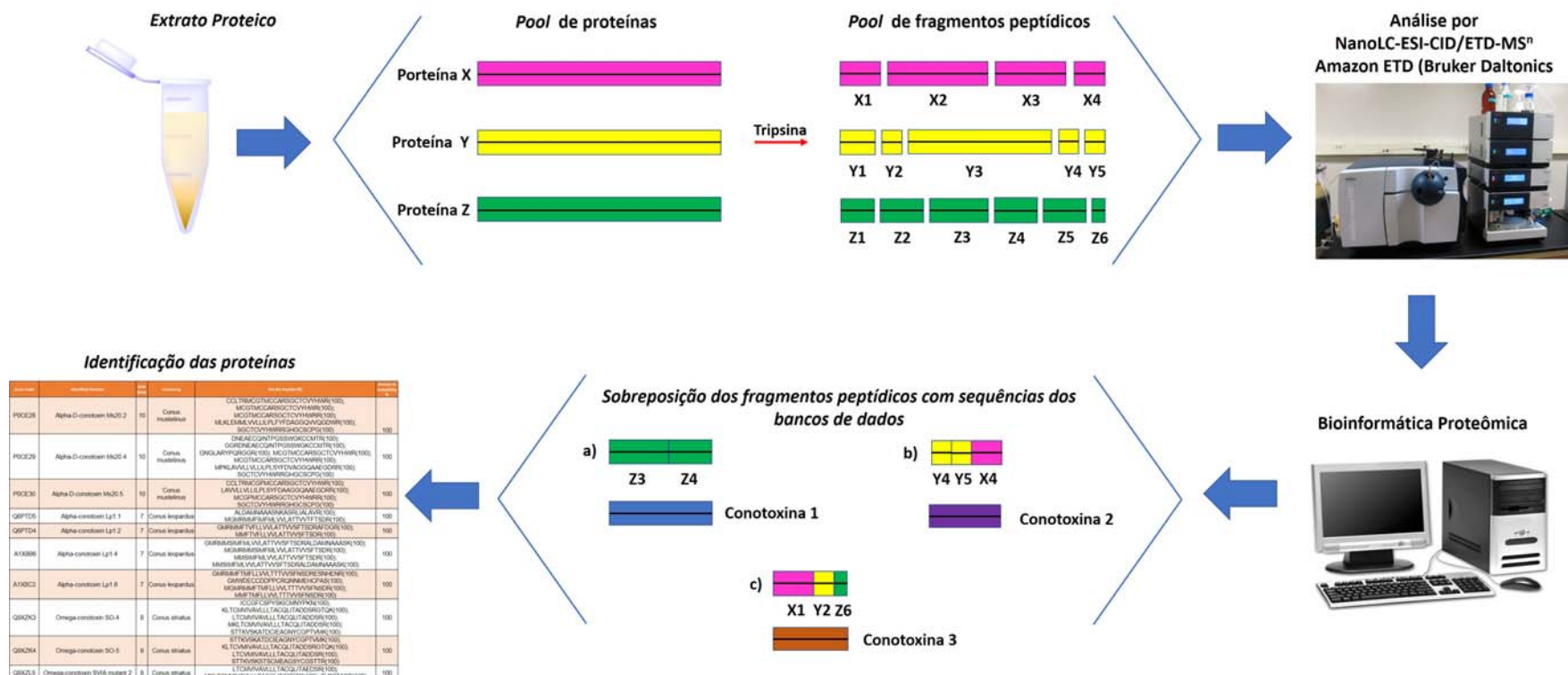
A Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia, juntamente com a Universidade de Brasília (UnB), realizaram análise de proteínas do endosperma do café e identificaram peptídeos inéditos com efeito similar ao da

morfina, ou seja, apresentam atividade analgésica e ansiolítica. Esses foram encontrados encriptados em uma família de proteínas chamada dehidrina; e possuem estruturas semelhantes às de alguns opióides endógenos de humano, como a encefalina, um neurotransmissor capaz de modular a dor. Peptídeos análogos a estes foram sintetizados quimicamente e tiveram sua atividade comprovada por meio de testes antinociceptivos em camundongos. O efeito analgésico dos peptídeos em camundongos revelou-se prolongar por cerca de quatro horas, e não provocou efeitos colaterais significativos (VINECKY, 2015).

Outro exemplo são os peptídeos antioxidantes encriptados produzidos pela hidrólise de vários substratos de proteínas, tais como proteínas de peixe, soja, algas marinhas e uma variedade de produtos lácteos (SAMPATH KUMAR et al, 2011; JE et al, 2005; BAMDAD et al, 2011; BYUN et al, 2009; MEIRA et al, 2012). Os radicais livres desempenham um papel crítico em transtornos relacionados à saúde e podem levar a doenças cardíacas, aterosclerose, diabetes, câncer e doenças neurológicas (BUTTERFIELD et al, 2002). Em alimentos, eles podem resultar na deterioração de atributos de qualidades como sabor, cor e textura (Zhong, et al, 2011). Os Peptídeos antioxidantes possuem a capacidade de retardar ou prevenir processos oxidativos a partir da doação de elétrons, com estabilização do radical livre, que permanece na estrutura do antioxidante e não na reação.

Sendo assim, os fragmentos de peptídeos identificados em nossos resultados, podem ser fragmentos internos funcionais de conotoxinas, encriptados dentro das sequências de outras *proteínas-mãe* como representado no esquema da Figura 27.

Figura 27. Exemplificação de possibilidades de proteínas encriptadas na seda da teia da aranha *N. clavipes*. Representação desde a extração das proteínas da seda da teia, seguida de digestão em solução - *shotgun* em que o *pool* de proteínas digerido por tripsina gerou um *pool* de fragmentos peptídicos, os quais foram analisados por LC-MS. Os resultados foram processados por bioinformática e a identificação obtida através da sobreposição dos fragmentos peptídicos obtidos experimentalmente na amostra da seda da teia com proteínas depositadas nos bancos de dados. **a)** Conotoxina 1 é identificada através da sobreposição de 2 fragmentos peptídicos (Z3 e Z4), os quais são originados da Proteína Z (proteína-mãe), sendo assim, a conotoxina 1 esta encriptada na proteína Z. **b)** Conotoxina 2 é identificada através da sobreposição de 3 fragmentos peptídicos (Y4, Y5 e X4), os quais são originados de duas proteínas-mãe diferentes, sendo assim, fragmentos funcionais da conotoxina 2 estão encriptados na proteína Y e proteína X. **c)** Conotoxina 3 é identificada através da sobreposição de 3 fragmentos peptídicos (X1, Y2 e Z6), os quais são originados de três proteínas-mãe diferentes, sendo assim, fragmentos funcionais da conotoxina 3 estão encriptados na proteína X, proteína Y e Proteína Z.

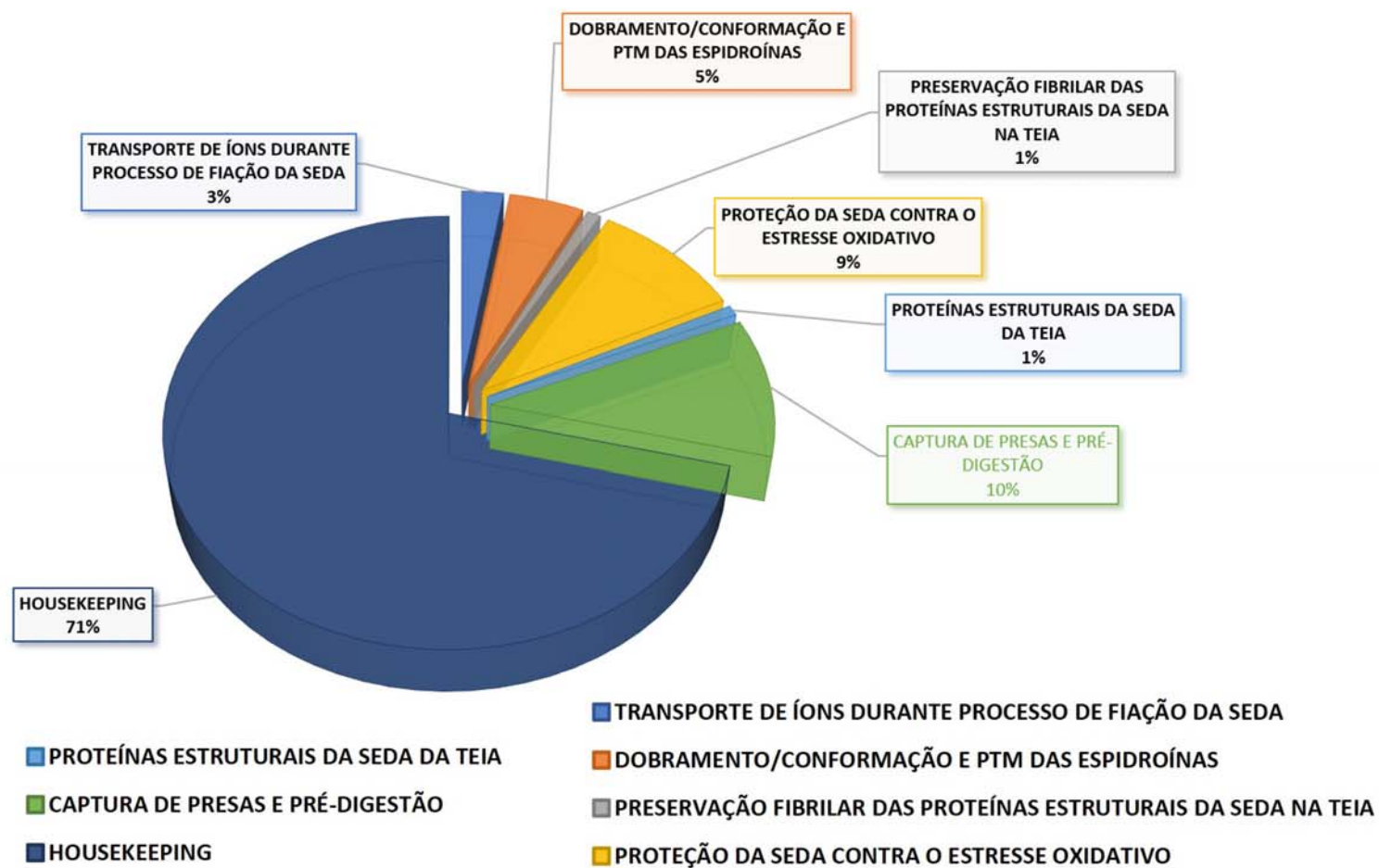


Portanto, até o momento podemos afirmar que identificamos proteínas semelhantes a conotoxinas, as quais podem se encontrar na sua forma ativa ou inativa como peptídeos encriptados. É importante considerar que estamos analisando a amostra de um organismo que ainda não apresenta um genoma totalmente elucidado, no caso a aranha do gênero *Nephila*.

Futuramente será realizado a análise peptidômica da seda da teia, e alguns peptídeos de potencial ação tóxica, principalmente os semelhantes a conotoxinas, serão isolados, sintetizados e submetidos a ensaios funcionais para avaliação das funções biológicas e efeito fisiológicos desses peptídeos sobre os insetos.

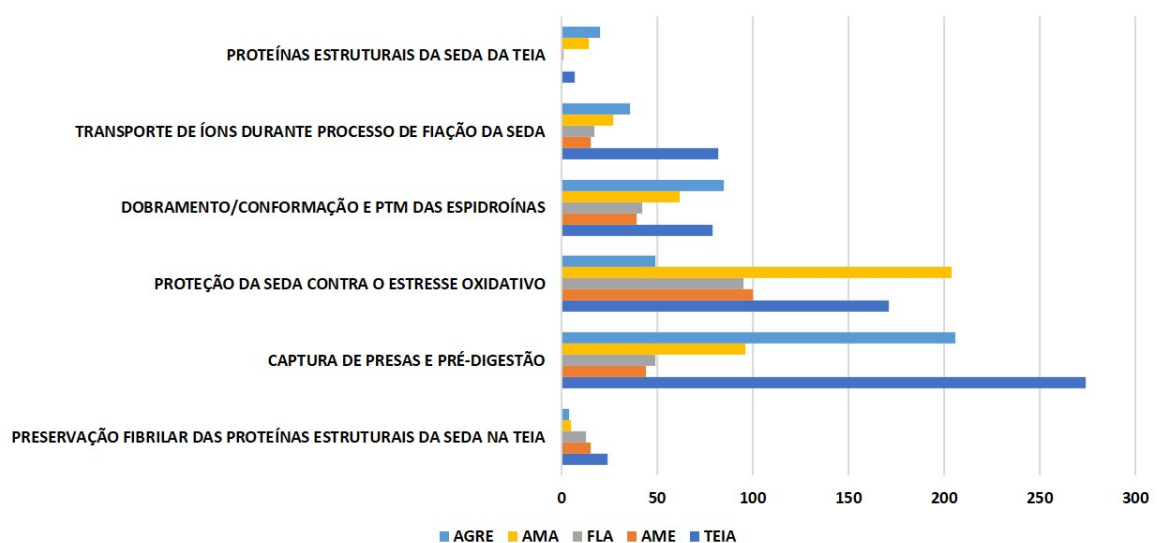
Com os resultados obtidos pela análise proteômica do presente estudo, foram identificadas 4868 proteínas totais (proteínas da teia + proteínas das glândulas). A figura 28 demonstra que 71% do total de proteínas identificadas são proteínas *housekeeping*, este elevado número está relacionado ao processo de produção de energia, possivelmente para suportar a grande síntese de proteínas nas glândulas e dos seus produtos que são secretados; 10% estão envolvidas no processo de captura e pré-digestão de presas; 9% na proteção da seda contra o estresse oxidativo; 5% no dobramento/conformação e PTMs das espídroinas; 3% no transporte de ions durante o processo de fiação da seda; 1% de proteínas estruturais da seda; e ainda, 1% de proteínas relacionadas a preservação fibrilar das proteínas estruturais da seda.

Figura 28. Distribuição do total de proteínas identificadas nas glândulas produtoras de seda e na seda da teia da aranha *N. clavipes*, de acordo com o seu papel funcional.



A figura 29, demonstra a contribuição de cada glândula para a biossíntese de proteína de cada grupo funcional, assim como também, a quantidade de proteínas de cada grupo, presentes na teia. Sendo assim, as proteínas - espidroínas, que compõem as fibras da seda foram produzidas apenas pelas glândulas agregada, ampulada maior, e flageliforme. As espidroínas da glândula ampulada menor não foram observadas, possivelmente porque não havia nenhuma síntese de espidroínas no momento da coleta da aranha, e/ou estas proteínas não estavam presentes em quantidades suficientes para serem detectadas. A biossíntese e secreção de proteínas semelhantes à toxinas, neurotoxinas, enzimas proteolíticas e defensinas também foram observadas nas quatro glândulas produtoras de seda.

Figura 29. Distribuição das proteínas identificadas nas glândulas de seda e na seda da teia de acordo com o seu papel funcional.



Podemos notar que, a maior parte das proteínas secretadas pela glândula ampulada maior estão relacionadas com a função de proteção da seda contra o estresse oxidativo. Já para a glândula agregada a maior parte das proteínas apresentam funções relacionadas com a captura e pré-digestão de presas (figura 29). Os resultados demonstraram que a glândula agregada produziu o maior número de toxinas dentre as glândulas produtoras de seda, uma vez que, esta glândula produz e secreta as gotículas aquosas sobre a teia.

Possivelmente essas toxinas estão retidas no interior das gotículas, e muito provavelmente armazenadas dentro das vesículas lipídicas extracelulares.

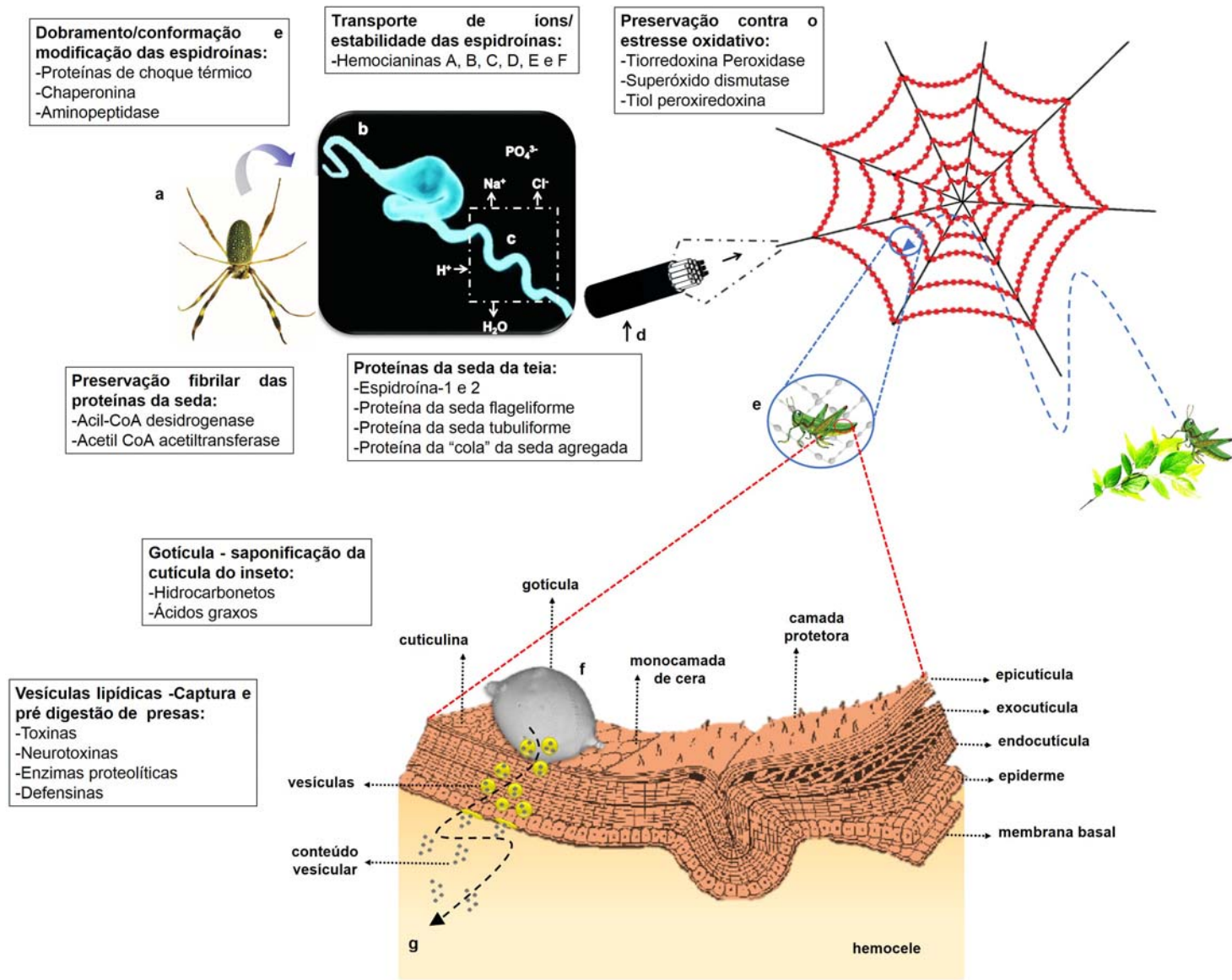
Utilizando a estratégia *shotgun*, foi possível identificar um elevado número de proteínas, que até então, não haviam sido identificadas em estudos anteriores realizados pelo nosso grupo. Dessa forma, foi possível aprimorar ainda mais o mecanismo anteriormente proposto por dos Santos-Pinto e colaboradores (2016), incluindo muitas outras proteínas que ainda não tinham sido identificadas nas análises realizadas anteriormente pelo nosso grupo, principalmente se tratando das proteínas semelhantes à toxinas, foram identificadas em uma quantidade 15 vezes maior nas glândulas produtoras de seda (tabela A5 do Apêndice).

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados de MEV, ML, bioensaio de repelência e bioensaio da camada superficial da cutícula, análise proteometabolômica, e ainda os dados já disponíveis na literatura, foi possível elaborar pela primeira vez uma hipótese, na qual tentamos relacionar o papel das gotículas, das vesículas lipídicas e dos compostos identificados na análise proteometabolômica da seda, como parte da estratégia da teia na captura de de presas.

Hipótese: Quando um inseto é capturado pela teia, ocorre o primeiro contato entre a cutícula do inseto e as gotículas depositadas sobre a seda. Lembrando que a camada de cera dos insetos é constituída principalmente por hidrocarbonetos e ácidos graxos de cadeia longa, estes quando entram em contato com os ácidos graxos das gotículas da teia podem interagir quimicamente formando micelas, promovendo então a dissolução/desestabilização da camada de cera; abrindo dessa forma, espaços/poros e aumentando assim a permeabilidade da cutícula. O aumento da permeabilidade da cutícula favorece a entrada das vesículas lipídicas para dentro do corpo do inseto. Uma vez dentro do corpo do inseto, essas vesículas lipídicas podem se fundir com as membranas dos tecidos moles do inseto, liberando assim as toxinas aprisionadas por elas para a hemolinfa, paralisando o inseto (figura 28).

Figura 30. Representação do mecanismo geral de ação proposto para as proteínas e compostos de baixa massa molecular identificados nas glândulas produtoras de seda e na seda da (a) aranha *N. clavipes*. (b) glândula produtora de seda; (c) ducto de fiação, onde ocorrem as trocas de íons, perda de água, dobramento/conformação das espidroínas; (d) fibras da seda, constituídas pelas espidroínas, após a secreção pelo ducto de fiação; (e) captura do inseto-presa pela teia, destacando o contato da cutícula do inseto com as gotículas presentes na seda; (f) ácidos graxos presentes na gotícula podem interagir quimicamente com a camada de cera da cutícula do inseto, promovendo a dissolução/desestabilização da camada de cera com abertura de espaços/poros e aumento da permeabilidade da cutícula; (g) representação básica do tegumento do inseto-presa, destacando a liberação de vesículas (em amarelo) após o contato da cutícula do inseto-presa com as gotículas. A seta curvilínea pontilhada indica o processo de liberação e fusão das vesículas com a membrana do tecido mole do inseto-presa; após essa fusão ocorre a liberação do conteúdo vesicular que contém toxinas, neurotoxinas e enzimas proteolíticas (representadas pelos pontos em cinza) dentro da hemocele.



Como resultado da análise do perfil metabolômico da seda da teia, 316 compostos foram assinalados, dos quais 25 foram identificados; dentre eles 22 hidrocarbonetos saturados e os ácidos oléico, linoléico e palmitoléico. A partir dos compostos identificados foram realizados ensaios funcionais para determinar a atividade biológica de alguns compostos na teia. Foi realizado o bioensaio de repelência, o qual demonstrou que o ácido dodecanóico e em seguida, porém com menor eficiência, a mistura de hidrocarbonetos (C7-C40), como possíveis compostos com potencial repelente contra formigas invasoras da espécie *N. fulva*. Por fim, o ácido palmítico identificado nas análises das gotículas depositadas sobre a seda, demonstrou ação potencial no processo de dissolução/desintegração da camada superficial da cutícula de *A. mellifera*.

Como resultado da análise do perfil proteômico da seda da teia da aranha *N. clavipes* foram identificadas 2051 proteínas, as quais foram agrupadas em sete diferentes grupos funcionais. Nesta análise destacamos a presença de 274 proteínas semelhantes à toxinas, neurotoxinas, enzimas proteolíticas e defensinas, as quais são proteínas responsáveis pela pré-digestão, paralisia e até a morte de alguns insetos-presa. A evidência dessas toxinas sobre a teia sugere que as mesmas desempenham um papel químico ativo na captura de presas. Tendo em vista o importante papel das glândulas de seda, durante o processo de fiação e produção da seda, identificamos um total de 927, 1961, 849, e 860 proteínas nas glândulas agregada, ampulada maior, flageliforme e ampulada menor, respectivamente. Essas proteínas possivelmente estão envolvidas no processo de fiação, manutenção da seda, e na proteção da integridade das proteínas da seda. Desse total de proteínas mencionado acima, 206 são proteínas semelhantes à toxinas, neurotoxinas, enzimas proteolíticas e defensinas, pertencentes a glândula agregada; 96 pertencentes a glândula ampulada maior; 49 pertencentes a glândula flageliforme e 44 pertencentes a glândula ampulada menor. A glândula ampulada maior demonstrou apresentar uma maior contribuição para a composição das proteínas presentes na seda da teia; enquanto que a glândula agregada demonstrou apresentar uma maior contribuição na composição de toxinas presentes na seda da teia.

Portanto, os resultados do presente estudo fornecem uma visão geral do perfil proteometabolômico da seda da teia da aranha *N. clavipes*, relacionando a presença de certos compostos químicos não só como parte da composição e preservação estrutural da teia, mas também como compostos ativos na captura de presas; além de compostos repelentes, possivelmente relacionados com a proteção contra predadores da aranha, e recursos nutricionais (presas armazenadas) da teia. E ainda, com os

resultados apresentados até então, foi possível descrever pela primeira vez uma hipótese que contribuiu para um melhor entendimento da interação químico-ecológica desses compostos na captura de insetos-presa pela teia da aranha *N. clavipes*, demonstrando que a teia não é apenas uma mera ferramenta mecânica, mas apresenta um envolvimento químico-ativo na captura de presas. Esses resultados também poderão contribuir para futuros estudos, que possam possibilitar o uso dos compostos identificados, em aplicações no desenvolvimento de inseticida-seletivo, ou até mesmo em possíveis aplicações farmacológicas.

7. REFERÊNCIAS

- ABC NEWS. **New Ant Species Arrives with a Taste for Electronics, Scientists Say**. Disponível em: <<http://abcnews.go.com/Technology/attack-crazy-ants-ant-species-arrives-taste-electronics/story?id=19246157>>. Acesso em: 13 agosto 2016.
- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.
- ADAMS, M. E., HEROLD, E. E., VENEMA, V. J. Two classes of channel-specific toxins from funnel web spider venom. **J. Comp. Physiol.** v. 164, n.3, 1989.
- AGYEI, D.; DANQUAH, M.K. Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. **Biotechnol. Adv.**, v. 29, p. 272–277, 2011.
- ALBERT, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. Lipídeos e membranas celulares. In: **Biologia Molecular da Célula**. 5ª Ed., p. 357-457, 2012.
- ALTMAN, G. H.; DIAZ, F.; JAKUBA, C.; CALABRO, T.; HORAN R. L.; CHEN, J.; LU, H.; RICHMOND, J.; KAPLAN, D. L. Silk-based biomaterials. **Biomaterials**, v. 24, p. 401-416, 2003.
- ANDERSON, P.D. & BOKOR, G. Conotoxins: Potencial weapons from the sea. **J. Bioterr. Biodef.** v. 3, p. 2-4, 2012.
- ANDO, K.; NATORI, S. Molecular cloning, sequencing, and characterization of cDNA for sarcotoxin IIA, an inducible antibacterial protein of *Sarcophaga peregrina* (flesh fly). **Biochemistry**, v. 27, p. 1715-1721, 1988.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 55, p. 373–99, 2004.
- AVERDAM, A.; MARKL, J.; BURMESTER, T. Subunit sequences of the 4 x 6-mer hemocyanin from the golden orb-web spider, *Nephila inaurata*. **Eur J Biochem.** v. 270(16), p. 3432-9, 2003.
- BABST M. A protein's final ESCRT. **Traffic**, v. 6, p. 2–9, 2005.
- BAMDAD, F.; WU, J.; CHEN, L. Effects of enzymatic hydrolysis on molecular structure and antioxidant activity of barley hordein. **J. Cereal Sci.**, v. 54, p. 20–28, 2011.
- BATISTA, C.M.; DE CARVALHO, C.M.B.; MAGALHÃES, N.S.S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.43 p. 167-178, 2007.

BECKWITT, R.; ARCIDIACONO, S. Sequence conservation in the C-terminal region of spider silk proteins (spidroin) from *Nephila clavipes* (Tetragnathidae) and *Araneus bicentenarius* (Araneidae). **J Biol Chem**, v. 9, p. 6661-6663, 1994.

BAE, N.; LI, L.; LÖDL, M.; LUBEC, G. Peptide toxin glacontryphan-M is present in the wings of the butterfly *Hebomoia glaucippe* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pieridae). **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 109, p. 17920-17924, 2012.

BEAN, H.D.; HILL, J.E.; DIMANDJA, J.M.D. Improving the quality of biomarker candidates in untargeted metabolomics via peak table-based alignment of comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry data. **Journal of Chromatography A**, v. 1394, p. 111-117, 2015.

BELL, A.L.; PEAKALL, D.B. Changes in fine structure during silk protein production in the ampullate glands of the spider *Araneus sericatus*. **J. Cell. Biol.**, v. 42, p. 284-295, 1969.

BETTINI, S. **Arthropod Venoms**. 1.ed. New York. p. 87-98, 1978.

BINFORD, G.J.; BODNER, M.R.; CORDES, M.H.; BALDWIN, K.L.; RYNERSON, M.R.; BURNS, S.N.; ZOBEL-THROPP, P.A. Molecular evolution, functional variation, and proposed nomenclature of the gene family that includes sphingomyelinase D in sicariid spider venoms. **Mol. Biol. Evol.**, v. 26, p. 547-566, 2009.

BLACKLEDGE, T.A.; SCHARFF, N.; CODDINGTON, J.A.; SZUTS, T.; WENZELD, J.W.; HAYASHI, C.Y.; AGNARSSON, I. Reconstructing web evolution and spider diversification in the molecular era. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 106, n. 13, p. 5229–5234, 2009.

BJORKMAN-CHISWELL B. T.; KULINSKI M. M.; MUSCAT R. L.; NGUYEN K. A.; NORTON B.A.; SYMONDS M.R.E.; WESTHORPE G.E.; ELGAR M.A. Web-building spiders attract prey by storing decaying matter. **Naturwissenschaften**, v. 91, p. 245–248, 2004.

BISSINGER, B.W.; ROE, R.M. Repellents: Past, present, and future. **Pesticide Biochemistry & Physiology**, San Diego, v. 96, n. 2, p. 63-79, 2010.

BITTENCOURT, D., OLIVEIRA, P.F., PROSDOCIMI, F.; RECH, E.L. Protein families, natural history and biotechnological aspects of spider silk. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, p. 2360–2380, 2012.

BOBRIE, A.; COLOMBO, M.; RAPOSO, G.; THERY, C. Exosome Secretion: Molecular Mechanisms and Roles in Immune Responses. **Traffic**, v. 12, p. 1659-1668, 2011.

- BOND, J.A.; OPELL, B.D. Testing adaptative radiation and key innovation hypothesis in spiders. **Evolution**, v. 52, p. 403-414, 1998.
- BRAND, G.D.; MAGALHÃES, M.T.Q.; TINOCO, M.L.P.; ARAGÃO, F.J.L.; NICOLI, J.; KELLY, S.M.; COOPER, A.; BLOCH, C. Probing Protein Sequences as Sources for Encrypted Antimicrobial Peptides. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, 2012.
- BRITO, L.M.P.; SANTOS, J.F.; GRANGEIRO, J.I.T.; OLIVEIRA, M.M.; SILVA, P.D.A. Controle alternativo do pulgão da erva-doce com produtos domissanitários. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, v. 3, p. 17-22, 2008.
- BUTTERFIELD, D.A.; CASTEGNA, A.; POCERNICH, C.B.; DRAKE, J.; SCAPAGNINI, G.; CALABRESE, V. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. **J. Nutr. Biochem.**, v. 13, p. 444-461, 2002.
- BUTLER JR., G. D. et al. Insecticidal effect of selected soaps, oils and detergents on the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist**, v. 76, p. 161-167, 1993.
- BYUN, H.G.; LEE, J.K.; PARK, H.G.; JEON, J.K.; KIM, S.K. Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. **Process. Biochem.**, v. 44, p. 842-846, 2009.
- CAI, H.; REINISCH, K.; FERRO-NOVICK, S. Coats, tethers, Rabs, and SNAREs work together to mediate the intracellular destination of a transport vesicle. **Dev. Cell**. v. 12, p. 671-682, 2007.
- CALISKAN, F.; GARCIA, B.I.; CORONAS, F.I.V.; BATISTA, C.V.F.; ZAMUDIO, F.Z.; POSSANI, L.D. **Characterization of venom components from the scorpion *Androctonus crassicauda* of Turkey: peptides and genes.** **Toxicon**, v. 48, p. 12-22, 2006.
- CARROLL, J.F.; SOLBERG, V.B; KLUN, J.A.; KRAMER, M.; DEBBOUN, M. Comparative activity of deet and AI3-37220 repellents against the ticks *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in laboratory bioassays. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, p. 249-254, 2004.
- CARVALHO, R.A. **Controle alternativo da cochonilha do carmim na palma forrageira.** João Pessoa: Secretaria de Estado de Desenvolvimento Econômico-PB, 2005. 23 p. il.
- CASEWELL, N.R.; WÜSTER, W.; VONK, F.J.; HARRISON, R.A.; FRY, B.G. Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms. **Trends. Ecol. Evol.**, v. 28, p. 219-229, 2013.
- CLARKSON, J.M.; CHARNLEY, A.K. new insights into the mechanisms of fungal PATHOGENESIS IN INSECTS. **Trends in Microbiology**, v. 4, p. 197-204, 1996.

CLOYD, A.R. "Soaps" and detergents: should they be used on roses. University of Illinois. Disponível em: <<http://chattanooga.rose.org/Soaps%20and%20Detergents.htm>> Acesso em: 02/12/2016.

COCUCCI, E.; RACCHETTI, G.; MELDOLESI, J. Shedding macrovesicles: artefacts no more. **Trends Cell Biol.**, v. 19, p. 43-51, 2009.

COLLARD, J. & EBERLY, D. Integrated Pest Management: a toolkit of practices and principles. **Arbor Age**, v. 25, p. 26-28, 2005.

COMSTOCK, J. H. **The spider book**. 4^a ed., London, Cornell University Press, 1975.

CRANSHAW, W. S. **Insect control: Soaps and detergents**. Home & Garden, Colorado State University, n. 5547, 2003. Disponível em: <<http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05547.html>>. Acessado em maio de 2016.

CUNNINGHAM, M.G.F.; POLLERO, R.J. Arachnid lipoproteins: comparative aspects. **Comp Biochem Physiol.**, v. 146C, p. 79-87, 2007.

CURKOVIC, T. & ARAYA, J. E. Acaricidal action of two detergents against *Panonychus ulmi* (Koch) and *Panonychus citri* (Mcgregor) (Acarina: Tetranychidae) in the laboratory. **Crop Protection**, v. 23, p. 731-733, 2004.

DAUTEL, H.; KAHL, O.; SIEMS, K.; OPPENRIEDER, M.; MÜLLERKUHRT, L.; HILKER, M. A novel test system for detection of tick repellents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, n. 3, p. 431-441, 1999.

DAYER, R.; FISCHER, B. B.; EGGEN, R. I.; LEMAIRE, S. D. The peroxiredoxin and glutathione peroxidase families in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Genetics**, v. 179(1), p. 41-57, 2008.

DONG, Z.; ZHAO, P.; WANG, C.; ZHANG, Y.; CHEN, J.; WANG, X.; LIN, Y.; XIA, Q. Comparative Proteomics Reveal Diverse Functions and Dynamic Changes of *Bombyx mori* Silk Proteins Spun from Different Development Stages. **J. Proteome Res.** v. 12, p. 5213–5222, 2013.

de LIMA, M.E.; STANKIEWICZ, M.; HAMON, A.; FIGUEIREDO, S.G.; CORDEIRO, M.N.; DINIZ, C.R.; MARTIN-EAUCLAIRE, M.-F.; PELHATE, M. The toxin Tx4(6-1) from the spider *Phoneutria nigriventer* slows down Na⁺ current inactivation in insect CNS via binding to receptor site 3. **J. Insect Physiol.**, v. 48, p. 53–61, 2002.

de MARGERIE E.; SANCHEZ S.; CUBO J.; CASTANET J. Torsional resistance as a principal component of the structural design of long bones: comparative multivariate evidence in birds. **Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.**, v. 282A, p. 49–66, 2005.

dos SANTOS-PINTO, J. R. A. **Análise Estrutural das Proteínas da Seda da Teia da Aranha *Nephila clavipes* por uma Abordagem Proteômica**. Tese (Doutorado em Biologia Molecular e Celular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2014.

dos SANTOS-PINTO, J.R.; GARCIA, A.M.; ARCURI, H.A.; ESTEVES, F.G.; SALLES, H.C.; LUBEC, G.; PALMA, M.S. Silkomics: Insight into the Silk Spinning Process of Spiders. **J. Proteome Res.**, v. 15(4), p. 1179-1193, 2016.

DOLEY, R.; MACKESSY, S.; MANJUNATHA, R.M. Role of accelerated segment switch in exons to alter targeting (ASSET) in the molecular evolution of snake venom proteins. **BMC Evol Biol.**, v. 9, p. 146, 2009.

EBERHARD, W. G. Behavioral characters for the higher classification of orb-weaving spiders. **Evolution**, v. 36, p. 1067–1095, 1982.

EISNER, T.; ALSOP, D.; MEINWALD, J. Secretions of Opiliones, whip-scorpions and pseudoscorpions. In **Arthropod Venoms**; Bettini, S., Ed.; Sprinegr-Verlag: Berlin, Germany, p 972, 1978.

ELICES, M.; PLAZA, G. R.; PEREZ-RIGUEIRO, J.; GUINEA, G. V. The hidden link between supercontraction and mechanical behavior of spider silks. **J. Mech. Behav. Biomed. Mater.**, v. 4, p. 658–669, 2011.

ENDERSBY, N. M. & MORGAN, W. C. Alternatives to synthetic chemical insecticides for use in crucifer crops. *Biological Agriculture and Horticulture*, v. 8, p. 33-52, 1991.

ESCOUBAS, P.; DIOCHOT, S.; CORZO, G. Isolation of a tarantula toxin specific for a class of proton-gated Na⁺ channels. **Biochimie**, v. 82, p. 893, 2000.

ERDMANN, K.; CHEUNG, B.W.Y.; SCHRODER, H. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. **J. Nutr. Biochem.** v. 19, p. 643–65, 2008.

FRY, B.G.; VIDAL, N.; NORMAN, J.A. Early evolution of the venom system in lizards and snakes. **Nature**, v. 439, p. 584-588, 2006.

GARB, J.E.; HAYASHI, C.Y. Molecular evolution of α -Latrotoxin, the exceptionally potent vertebrate neurotoxin in black widow spider venom. **Mol. Biol. Evol.**, v. 30, p. 999-1014, 2013.

GILLESPIE R. G., REIMER N. The effect of alien predatory ants (Hymenoptera: Formicidae) on Hawaiian endemic spiders (Araneae: Tetragnathidae). **Pac. Sci.**, v. 47, p. 21–33, 1993.

- GOODMAN & GILMAM. Editors: RANDA, HILAL-DANDAN, R.; BRUTON, L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman e Gilman**. 2. Ed. Porto Alegre, 2015.
- GONIL, P. & SAJOMSANG, W. Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 514-522, 2012.
- GRISWOLD C. E.; CODDINGTON J. A.; HORMIGA G.; SCHARFF N. Phylogeny of the orb-web building spiders (Araneae, Orbiculariae: Deinopoidea, Araneoidea). *Zool. J. Linn. Soc.*, v. 123, p. 1–99, 1998.
- GREGORY, T.R.; SHORTHOUSE, D.P. Genome size of spiders. **J. Heredity**, v. 94, p. 285-290, 2003.
- GUPTA, R.S.; RAMACHANDRA, N.B., BOWES, T.; SINGH, B. Unusual cellular disposition of the mitochondrial molecular chaperones Hsp60, Hsp70 and Hsp10. **Novartis Found Symp.**, v. 291, p. 137-140, 2008.
- HACKMAN, R.H.; FILSHIE, B.K. The tick cuticle. In: Obenchain F.D.; GALUN, R., Editors. *Physiology of ticks – current themes in tropical science*, v. 1, p. 35, 1982.
- HALAJ J.; ROSS D. W.; MOLDENKE A. R. Negative effects of ant foraging on spiders in Douglas-fir canopies. **Oecologia**, v. 109, p. 313–322, 1997.
- HANEY, R.A.; AYOUB, N.A.; CLARKE, T.H.; HAYASHI, C.Y.; GARB, J.E. Dramatic expansion of the black widow toxin arsenal uncovered by multi-tissue transcriptomics and venom proteomics. **BMC Genomics**, v. 15, p. 366, 2014.
- HEIMER S. **Wunderbare Welt der Spinnen**. Urania Verlag Leipzig Jena Berlin, 1988.
- HERALDI, F. M. 3rd.; IMPERIAL, J.; BANDYOPADHYAY, P.K.; OLIVERA, B.M.; CONCEPCION, G.P.; SANTOS, A. D. **A rapidly diverging superfamily of peptide toxins in venomous Gemmula species**. **Toxicon**, v. 51, p. 890-897, 2008.
- HIGGINS, L. E.; TILLINGAST, E. K.; TOWNLEY, M. A. RANKIN, J. Variation in the chemical composition of orb webs built by the spider *Nephila clavipes* (araneae, tetragnathidae). **Arachol**, v. 29, p. 82, 2001.
- HUMENIK, M.; SCHEIBEL T.; SMITH, A. Spider silk: understanding the structure-function relationship of a natural fiber. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 103, p. 131 – 185, 2011.

HOU, Y.; XIA, Q.; ZHAO, P.; ZOU, Y.; LIU, H.; GUAN, J.; GONG, J.; XIANG, Z. Studies on middle and posterior silk glands of silkworm (*Bombyx mori*) using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** v. 37, p. 486-496, 2007.

HSU, C.; MOROHASHI, Y.; YOSHIMURA, S.; MANRIQUE-HOYOS, N.; JUNG, S.; LAUTERBACH, M.A.; BAKHTI, M.; GRØNBORG, M.; MÖBIUS, W.; RHEE, J. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A—**C. J. Cell Biol.** v. 189, p. 223–232, 2010.

10.1083/jcb.200911018

IMENES, S.D.L.; BERGMANN, E.C.; FARIA, A.M. de; MARTINS, W.R. **Registro de alta infestação e efeito de soluções de sabão no controle da cochonilha** *Protopulvinaria pyriformis* Cockerell, 1894 (Hemiptera, Coccidae) em *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr. (Araliaceae). *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 69, n.1, p. 59-62, jan./mar. 2002.

JAENICKE, E.; DECKER, H. Kinetic properties of catecholoxidase activity of tarantula hemocyanin. **FEBS Journal**, v. 275, p.1518-1528, 2008.

JE, J.Y.; PARK, P.J.; KIM, S.K. Antioxidant activity of a peptide isolated from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. **Food Res. Int.** v. 38, p. 45–50, 2005.

JOHNSTONE, RM, ADAM, M.; HAMMOND, J.R.; ORR, L.; TURBIDE, C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). **J. Biol. Chem.** v. 262, p. 9412–20, 1987.

KANZOK, S.M.; FECHNER, A.; BAUER, H.; ULSCHMID, J.K.; MULLER, H.M.; BOTELLAMUNOZ, J.; SCHNEUWLY, S.; SCHIRMER, H.; BECKER, K. Substitution of the thioredoxin system for the glutathione reductase in *Drosophila melanogaster*. **Science**, v. 291, p. 643-646, 2001.

KNIGHT, D. P.; KNIGHT, M. M.; VOLLRATH, F. Beta transition and stress-induced phase separation in the spinning of spider dragline silk. **Int. J. Biol. Macromol.** v. 27, p. 105-210, 2000.

KNIGHT, D.P.; VOLLRATH, F. Changes in element composition along the spinning duct in a *Nephila* spider. **Naturwissenschaften**, v. 88, p. 179-182, 2001.

LORINI, I. **Grãos armazenados: resistência de pragas a inseticidas químicos**, 1999. Disponível em <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co45.htm>. Acessado em: janeiro de 2016.

JUNGO, F.; ESTREICHER, A.; BAIROCH, A.; BOUGUELERET, L.; XENARIOS, I. Animal Toxins: How is Complexity Represented in Databases? **Toxins**, v. 2(2), p. 262-282, 2010.

KANAI, A.; NATORI, S. Analysis of a gene cluster for sarcotoxin II, a group of antibacterial proteins of *Sarcophaga peregrina*. **Mol. Cell. Biol.**, v. 10, p. 6114-6122, 1990.

KANAI, A.; NATORI, S. Cloning of gene cluster for sarcotoxin I, antibacterial proteins of *Sarcophaga peregrina*. **FEBS Lett.**, v. 258, p. 199-202, 1989.

KOVOOR, J. **Comparative structure and histochemistry of silkproducing organs in arachnids**. In *Ecophysiology of Spiders*; Nentwig, W., Ed.; Springer: Berlin, p. 160-186, 1987.

KUNTNER, M.; CODDINGTON, J. A.; HORMIGA, G. Phylogeny of extant nephilid orbweaving spiders (Araneae, Nephilidae): testing morphological and ethological homologies. **Cladistics**, v. 24, n. 2, p. 147 - 217, 2008.

LANGELLOTTO, G. A.; DENNO, R. F. Responses of invertebrate natural enemies to complex-structured habitats: a meta-analytical synthesis. *Oecologia*. v. 139, p. 1–10, 2004.

LAVOR, M.T.F. de C. Atividade biológica de produtos domissanitários para o controle alternativo do pulgão- preto no feijão de cordapre . Di s p o n í v e l em: <http://www.fitotecnia.ufc.br/Disserta%E7%F5es/2006_Maria_Tarcisia.pdf>. Acesso em: 15/02/2017.

LeBRUN, E. G; JONES, N. T.; GILBERT, L. E. Chemical Warfare Among Invaders: A Detoxification Interaction Facilitates an Ant Invasion. **Science**, v. 343, p. 1014-1017, 2014.

LEFÈVRE, T.; ROUSSEAU, M.E.; PÉZOLET, M. Protein secondary structure and orientation in silk as revealed by Raman spectromicroscopy. **Biophys J.**, v. 92(8), p. 2885-95, 2007.

LEFÈVRE, T.; BOUDREAU, S.; CLOUTIER, C.; PÉZOLET, M. Diversity of molecular transformations involved in the formation of spider silks. **J. Mol. Biol.**, v. 405, p. 238-253, 2011.

LI, C.H.; MATSUI, T.; MATSUMOTO, K.; YAMASAKI, R.; KAWASAKI, T. Latent production of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from buckwheat protein. **J. Pept. Sci.** v.8, p. 267–274, 2002.

LOPES, E.B. **Cochonilha-do-carmim** (*Dactylopius coccus* Costa): uma nova praga da palma forrageira do cariri paraibano. Relatório Técnico-Fitossanitário. Emepa, 2001. 18 p. il.

MARQUES, M. R. **Detecção e caracterização estrutural das toxinas apresentadas na teia de aranha *Nephila clavipes* (LINNAEUS 1767)**. Rio Claro, 2002.

MARQUES, M.R.; MENDES, A.M.; TORMENA, C.F.; SOUZA, B.M.; MARCONDES, L.M.; RITTNER, R.; PALMA, M.S. Structure Determination of a Tetrahydro-b-carboline of Arthropod Origin: A Novel Alkaloid-Toxin Subclass from the Web of Spider *Nephila clavipes*. **Chemistry and Biodiversity**, v. 2, p. 525-533, 2005.

MATIAS, R.S. Gerenciamento de Sinantrópicos. Mecanismo de ação dos inseticidas. Disponível em: <<http://matiasinantropicos.blogspot.com.br/2012/09/mecanismo-de-acao-dos-inseticidas.html>>. Acessado em: 20/01/2017.

McCORMIC, K.D.; MEINWALD, J. Neurotoxic acylpolyamines from spider venoms. **Journal of Ecology Chemistry**, v. 19, p. 2411-2451, 1993.

McCULLAGH, P. AND NELDER, J. A. **Generalized linear models**. 2ª ed., United State of America, 1989.

McGIVERN, J.P. Ziconotide: a review of its pharmacology and use in the treatment of pain. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v.3 p. 69-85, 2007.

MEIRA, S.M.M.; DAROIT, D.J.; HELFER, V.E.; CORREA, A.P.F.; SEGALIN, J.; CARRO, S.; BRANDELLI, A. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. **Food Res. Int.**, v. 48, p. 322–329, 2012.

MELLOR, I.R.; USHERWOOD, P.N.R. Targeting ionotropic receptors with polyamine-containing toxins. **Toxicon** v. 43, p. 493, 2004.

MICHELET, X.; DJEDDI, A.; LEGOUIS, R. Developmental and cellular functions of the ESCRT machinery in pluricellular organisms. **Biol Cell**, v. 102, p. 191–202. 2010.

MILTON, S. A. **Venom Diseases**. Charles C. Thomas Publishing, Illionois, 1974.

MOLLER, N.P.; SCHOLZ-AHRENS, K.E.; ROOS, N.; SCHREZENMEIR, J. Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. **Eur. J. Nutr.**, v. 47, p. 171–182, 2008.

MONSALVE, R. I.; GANG, L.; KING, T. P. Expressions of recombinant venom allergen, antigen 5 of yellowjacket (*Vespula Vulgaris*) and paper wasp (*Polistes annularis*), in bactéria or yeast. **Protein Exp. Purif.**, v. 16, p. 410-416, 1999.

MOZAFARI, M.R. Liposomes: an overview of manufacturing techniques. **Cell. Mol. Biol. Lett**, v.10, p.711-719, 2005.

NENTWIN, W. the prey spiders. In NENTWING, W. **Ecophysiology of spiders**. Springer-Verlag, Berlin, p. 249-63, 1987.

- NONGONIERMA, A.B.; FITZGERALD, R.J. Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. **Peptides**, v. 73, p. 20–34, 2015.
- OPELL, B. D.; BOND, J. E. Changes in the mechanical properties of capture threads and the evolution of modern orb-weaving spiders. **Evol. Ecol. Res.**, v. 3, p. 567–581, 2001.
- PALMA, M. S.; NAKAJIMA, T. A Natural Combinatorial Chemistry Strategy in Acylpolyamine Toxins From Nephilinae Orb-Web Spiders. **Toxin Rev.**, v. 24, p. 209-234, 2005.
- PARCELLIER, A.; GURBUXANI, S.; SCHMITT, E.; SOLARY, E.; GARRIDO, C. Heat shock proteins cellular chaperones that modulate mitochondrial cell death pathways. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 304, p. 505-512, 2003.
- PAULINO, A.T.; SIMIONATO, J.I.; GARCIA, J.C.; NOZAKI, J. Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. **Carbohydrate Polymers**, v.64, p. 98–103, 2006.
- PLATNICK, N. I. **The world spider catalog.**, version 11.0. American Museum of Natural History. Disponível em: <<http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog/COUNTS.html>>. Acessado em: 4 dez. 2014.
- PEDRINI, N.; CRESPO, R.; JUAREZ, M.P. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 146, p. 124-137, 2007.
- PETERS, H. M. Ultrastructure of orb spider gluey capture threads. **Naturwissenschaften**, v. 82, p. 380-382, 1995.
- POUCHKINA, N.N.; STANCHEV, B.S.; MCQUEEN-MANSON, S.J. From EST sequence to spider silk spinning: identification and molecular characterisation of *Nephila senegalensis* major ampullate gland peroxidase NsPox. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, p. 229-238, 2003.
- PROUVOST, O.; TRABALON, M.; PAPKE, M.; SCHULZ, S. Contact sex signals on web and cuticle of *Tegenaria atrica* (Araneae, Agelenidae). **Arch. Insect Biochem. Physiol.** v. 40, p. 194, 1999.
- RAO, S.K., C. HUYNH, V. PROUX-GILLARDEAUX, T. GALLI, AND N.W. ANDREWS. Identification of snares involved in synaptotagmin vii-regulated lysosomal exocytosis. **J. BIOL. CHEM.** v. 279, p. 20471–20479, 2004.
- Raubenheimer D, Simpson SJ, Mayntz D. Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. **Funct. Ecol.** v. 23, p. 4–16, 2009.
- RAPOSO, G. & STOORVOGEL, W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. **J. Cell Biol.**, v. 200, p. 373-383, 2013.

- REHM, P.; PICK, C.; BORNER, J.; MARKL, J.; BURMESTER, T. The diversity and evolution of chelicerate hemocyanins. *BMC Evol Biol.* 12,19, 1-13, 2012.
- RISING, A.; NIMMERVOLL, H.; GRIP, S.; FERNANDEZ-ARIAS, A. Spider silk proteins mechanical property and gene sequence. *Zoolog. Sci.*, v. 22, p. 273-81, 2005.
- RISING, A.; JOHANSSON, J.; LARSON, G.; BONGCAM-RUDLOFF, E.; ENGSTRÖM, W.; HJÄLM, G. Major ampullate spidroins from *euprostenops australis*: multiplicity at protein, mRNA and gene levels. *Insect Mol Biol.*, v. 16, p. 551-561, 2007.
- RISING, A.; WIDHE, M.; JOHANSSON, J.; HEDHAMMAR, M. Spider silk proteins: recent advances in recombinant production, structure–function relationships and biomedical applications. *Cell. Mol. Life Sci.*, v. 68, p. 169-184, 2011.
- RÖMER, L.; SCHEIBEL, T. The elaborate structure of spider silk: structure and function of a natural high performance fiber. *Prion*, v. 2, n .4, p. 154-61, 2008.
- ROUSSEAU, M. E.; LEFÈVRE, T.; PÉZOLET, M. Conformation and orientation of proteins in various types of silk fibers produced by *Nephila clavipes* spiders. *Biomacromolecules*, v. 10, p. 2945-53, 2009.
- ROY, C.J, REED, D.S; HUTT J.A. Aerobiology and inhalation exposure to biological select agents and toxins. *Vet Pathol.*, v. 47, p. 779-789, 2012
- RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6 Ed. São Paulo. Editora Roca Ltda, p. 1029, 1996.
- SACHKOVA, M.Y.; SLAVOKHOTOVA, A.A.; GRISHIN, E.V.; VASSILEVSKI, A.A. Structure of the yellow sac spider *Cheiracanthium punctorium* genes provides clues to evolution of insecticidal two-domain knottin toxins. *Insect Molecular Biology*, v. 23, p. 527-538, 2014.
- SAIDEMBERG, D.M. **Análise comparativa do secretoma de componentes de baixas massas moleculares dos venenos de vespas sociais pela abordagem de “footprinting”**. Relatório FAPESP Pós-Doutorado – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.
- SALLES, H. C. **Estratégias químicas da teia de aranha *Nephila clavipes* (LINNAEUS, 1767) usadas para captura de presas**. Tese (Doutorado em Biologia Molecular e Celular) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2003.
- SALLES H.C.; VOLSI, E.C.F.R.; MARQUES, M.R.; SOUZA, B.M.; DOS SANTOS, L.D.; TORMEN C.F.; MENDES, M.A.; PALMA M.S. The Venomous Secrets of theWeb Droplets from the Viscid Spiral of the Orb-Weaver Spider

Nephila clavipes (Araneae, Tetragnatidae). **Chemistry & Biodiversity**, v. 3, p. 727-741, 2006.

SAMPATH KUMAR, N.S.; NAZEER, R.A.; JAIGANESH, R. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) viscera protein. **Peptides**, v. 32, p. 1496–1501, 2011.

SANGGAARD, K. W.; BECHSGAARD, J. S.; FANG, X.; DUAN, J.; DYRLUND, T. F.; GUPTA, V.; JIANG, X.; CHENG, L.; FAN, D.; FENG, Y.; HAN, L.; HUANG, Z.; WU, Z.; LIAO, L.; SETTEPANI, V.; THØGERSEN, I. B.; VANTHOURNOUT, B.; WANG, T.; ZHU, Y.; FUNCH, P.; ENGHILD, J. J.; SCHAUSER, L.; ANDERSEN, S. U.; VILLESSEN, P.; SCHIERUP, M. H.; BILDE, T.; WANG, J. Spider genomes provide insight into composition and evolution of venom and silk. **Nature Communications**, n. 3765, 2014.

SAVINA, A.; FADER, C.M.; DAMIANI, M.T.; COLOMBO, M.I. Rab11 promotes docking and fusion of multivesicular bodies in a calciumdependent manner. **Traffic**, v. 6, p. 131–143, 2005.

SCHAUER, N.; STEINHAUSER, D.; STRELKOV, S.; SCHOMBURG, D.; ALLISON, G.; VAIDYANATHAN, S.; ROWLAND, J.J.; KELL, D. B.; GOODACRE, R. Discrimination of aerobic endospore-forming bacteria via electrospray ionization mass spectrometry of whole cell suspensions. **Anal. Chem.**, v. 73, p. 4134–4144, 2001.

SCHEIBEL, T.; HEIM, M.; KEERL, D. Spider silk: From soluble protein to extraordinary fiber. **Angew. Chem. Int.** v. 48, p. 3584-3596, 2009.

SCHMIDT, A.; FORNE, I.; IMHOF, A. Bioinformatic analysis of proteomics data. **BMC Systems Biology**, v. 8, S(3), 2014.

SCHULZ, S. Composition of the silk lipids of the spider *Nephila clavipes*. **Lipids**, v. 36, p. 637-647, 2001.

SCHRECK, C.E. Techniques for the evaluation of insect repellents: a critical review. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 22, p. 101-119, 1977.

SCHULZ-KNAPPE, P.; SCHRADER, M.; STÄNDKER, L.; RICHTER, R.; HESS, R.; JÜRGENS, M.; FORSSMANN, W.G. Peptide bank generated by large-scale preparation of circulating human peptides. **J Chromatogr. A**, Netherlands, v. 776, p. 125-132, 1977.

SELDEN, P.A.; SHEAR, W.A.; SUTTON, M.D. Fossil evidence for the origin of spider spinnerets, and a proposed arachnid order. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 20781–20785, 2008.

- SENSENG, A.; AGNARSSON, I.; BLACKLEDGE, T. A. Behavioural and biomaterial coevolution in spider orb webs. **J. Evol. Biol.**, v. 23, p. 1839–1856, 2010.
- SINGH, B.P.; VIJ, S.; HATI, S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. **Peptides**, v. 54, p. 171–179, 2014.
- SILVA, A.R.; LEITE, M.T.; FERREIRA, M.C.; TAMBELLINI, M.V. Caracterização do diâmetro de gotas de aerossóis em inseticidas domissanitários. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.437-442, 2009.
- STRØMGAARD, K.; JENSEN, L.S.; VOGENSEN, S.B. Polyamine toxins: development of selective ligands for ionotropic receptors. **Toxicon**, v. 45, p. 249–254, 2005.
- SOLTYS, B.J.; GUPTA, R.S. Mitochondrial-matrix proteins at unexpected locations: are they exported? **Trends Biochem Sci.**, v. 24(5), p. 174-177, 1999.
- SOLTYS, B.J.; GUPTA, R.S. Mitochondrial proteins at unexpected cellular locations: export of proteins from mitochondria from an evolutionary perspective. **Int Rev Cytol.**, v. 194, p. 133-196, 2000.
- SPONNER, A.; SCHLOTT, B.; VOLLRATH, F.; UNGER, E. Characterization of the protein components of *Nephila clavipes* dragline silk. **Biochemistry**, v. 44, p. 4727- 4736, 2005.
- SPONNER, A.; VATER, W.; MONAJEMBASHI, S.; UNGER, E.; GROSSE, F.; WEISSHART, K. Composition and hierarchical organisation of a spider silk. **PLoS ONE**, v. 2(10), p. 998, 2007.
- STOWE, M.K. Prey specialization in Araneidae. In: Shear, W.A. **Spider: WEBS, Behavior and Evolution**. Stanford, CA.: Stanford University, Press, p. 101-131, 1986.
- SUDERMAN, R. J.; DITTMER, N. T.; KANOST, M. R.; KRAMER, K. J. Model reactions for insect cuticle sclerotization: cross-linking of recombinant cuticular proteins upon their laccase-catalyzed oxidative conjugation with catechols. **Insect Biochem. Mol. Biol.** v. 36(4), p. 353-365, 2006.
- SWANSON, B.O.; BLACKLEDGE, T.A.; HAYASHI, C.Y. Spider capture silk: performance implications of variation in an exceptional biomaterial. **J. Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol.**, v. 307A, p. 654–666, 2007.
- SYKA, J. E. P.; COON, J. J.; SCHROEDER, M. J.; SHABANOWITZ, J.; HUNT, D. F. Peptide and protein sequence analysis by electron transfer dissociation mass spectrometry. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, USA, United States, v. 101, p. 9528–9533, 2004.

SYNOWIECKI, J. & AL-KHATEEB, N.A.A.Q. Mycelia of *Mucorrouxii* as a source of chitin and chitosan. **Food Chemistry**, v. 60, p. 605–610, 1997.

TAYLOR, A. **Amino peptidases: structure and function**. *FASEB J.* 1;7(2),290-8, 1993. Teia de aranha pode ser matéria prima para a indústria. Revista do Ministério da Ciência e Tecnologia. On-line, <<http://www.mct.gov.br/comunicação/textos/default.asp>>, acessado em : Agosto de 2016.

TERBORGH, J.; LOPEZ L.; NUÑEZ, P.; RAO, M.; SHAHABUDDIN, G.; ORIHUELA, G.; RIVEROS, M.; ASCANIO, R.; ADLER H.G.; LAMBERT T.D.; BALBAS, L. Ecological meltdown in predator-free forest fragments. **Science**, v. 294, p. 1923–1926, 2001.

THEIN, M. C.; WINTER, A. D.; STEPEK, G.; MCCORMACK, G.; STAPLETON, G.; JOHNSTONE, I. L.; PAGE, A. P. Combined extracellular matrix cross-linking activity of the peroxidase MLT-7 and the dual oxidase BLI-3 is critical for post-embryonic viability in *Caenorhabditis elegans*. **J. Biol. Chem.** v. 284(26), p. 17549-63, 2009.

THORPE, C.; KIM, J.J. Structure and mechanism of action of the acyl-CoA dehydrogenases. **FASEB J.** v. 9(9), p. 718-25, 1995.

VASCONCELOS, Y. Morte por desidratação Biopesticida à base de sacarose e óleo de soja elimina pragas da agricultura. **Engenharia Agrícola**, pesquisa FAPESP 137, p. 70-71, 2007.

VINECKY, F. **Identificação e caracterização de peptídeos opioides presentes na fração proteica de grãos de Coffea arábica**. Tese de doutorado em biologia molecular da UnB, Brasília, 2015.

VASSILEVSKI, A.A.; KOZLOV, S.A.; GRISHIN, E.V. Molecular diversity of spider venom. **Biochemistry**, v. 74, p. 1505 – 1534, 2009.

VIEIRA R.S.; HÖFER H. Prey spectrum of two army ant species in central Amazonia, with special attention on their effect on spider populations. **Andrias**, v. 13, p. 189–198, 1994.

VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. D. de; BEZERRA, I. C. Manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolii*. Brasília: EMBRAPA-CNPq, Circular técnica, v. 9, p. 11, 1997.

VILLAGOMEZ, M.; SZABO, E.; PODCHEKO, A.; FENG, T.; PAPP, S.; OPAS, M. Calreticulin and focal-contact-dependent adhesion. **Biochem Cell Biol.** v. 87(4), p. 545-56, 2009.

VOLLRATH, F. Strength and structure of spiders' silks. **J. Biotechnol.**, v. 74, p. 67, 2000.

- VOLLRATH F.; SELDEN P. The role of behavior in the evolution of spiders, silks, and webs. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 38, p. 819–846, 2007.
- VOLLRATH, F. Spider webs and silk. **Sci. Am.** v. 266, p. 70-76, 1992.
- VOLLRATH, F.; KNIGHT, D.P. Liquid crystalline spinning of spider silk. **Nature**, v. 410, p. 541-548, 2001.
- VOLSI, E.C.F.R.; MENDES, M.A.; MARQUES, M.R.; dos SANTOS, L.D.; SANTOS, K.S.; de SOUZA, B.M.; BARBIERI, E.F.; PALMA, M.S. Multiple bradykinin-related peptides from the capture web of the spider *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnatidae). **Peptides**, v. 27, p. 690-697, 2006.
- YAN, L.; ADAMS, M.E. **Lycotoxins, antimicrobial peptides from venom of the wolf spider *Lycosa carolinensis***. **J. Biol. Chem.**, v. 273, p. 2059-2066, 1998.
- YAZAWA, K.; YAMAGUCHI, E.; KNIGHT, D.; ASAKURA, T. ¹³C solid state NMR study of the ¹³C-labeled peptide, (E)8GGLGGQGAG(A)6GGAGQGGYGG as a model for the local structure of *Nephila clavipes* dragline silk (MaSp1) before and after spinning. **Biopolymers**, v. 97(6), p. 347-54, 2011.
- WANT, E. J.; O'MAILLE, G.; SMITH, C. A.; BRANDON, T. R.; URITBOONTHAI, W.; QIN, C.; TRAUGER, S. A.; SIUZDAK, G. Solvent-Dependent Metabolite Distribution, Clustering, and Protein Extraction for Serum Profiling with Mass Spectrometry. **Anal. Chem.** v. 78, p. 743-752, 2006.
- WINDLEY, M.J.; HERZIG, V.; DZIEMBOROWICZ, S.A. HARDY, M.V.; KING, G.F.; NICHOLSON, G.M. Spider venom peptides as bioinsectides. **Toxins**, v. 4, p. 191-227, 2012.
- WRIGHT, S & GOODACRE, S. Evidence for antimicrobial activity associated with common house spider silk. **BMC Research Notes**, v. 5(326), p.1-6, 2012.
- WU, T.; ZIVANOVIC, S.; DRAUGHON, F.A.; SAMS, C.E. Chitin and chitosan-value-added products from mushroom waste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52 p. 7905–7910, 2004.
- XU, D. & WANG, X. Transcriptome analysis to understand the toxicity of *Latrodectus tredecimguttatus* Eggs. **Toxins**, v. 8, 3-23, 2016.
- ZHANG, S.; TECK, H.K.; WEE, K.S., YEE, H.L.; MARK A.E.; DAIQIN, L. A novel property of spider silk: chemical defence against ants. **Proc. R. Soc. B.**, v. 279, p. 1824–1830, 2011.
- ZHONG, S.Y.; MA, C.W.; LIN, Y.C.; LUO, Y.K. Antioxidant properties of peptide fractions from silver carp (*Hyophthalmichthys molitrix*) processing by-product

protein hydrolysates evaluated by electron spin resonance spectrometry. **Food Chem.**, v. 126, p. 1636–1642, 2011.

ZHONG, Y.; SONG, B.; MO, G; YUAN, M.; LI, H.; WANG, P.; YUAN, M.; LU, Q. A Novel Neurotoxin from Venom of the Spider, *Brachypelma albopilosum*. **Plos one**, v. 9, p. 1 – 6, 2014.

8. Apêndice

Tabelas A1, A2, A3, A4 e A5

Tabela A1. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – ii) Transporte de íons durante o processo de fiação da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MW: Peso Molecular, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

ii) TRANSPORTE DE ÍONS DURANTE PROCESSO DE FIAÇÃO DA SEDA										
Nome da Proteína	Código de Acesso	Taxonomia	MW (kDa)	Função Molecular	Componente Celular	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
AGAP010249-PA	Q7Q0N1	<i>Anopheles gambiae</i>	104	potassium:chloride symporter activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Aquaporin AQPae.a	Q9NHW7	<i>Aedes aegypti</i>	26	transporter activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Bumetanide-sensitive sodium-	Q25479	<i>Manduca sexta</i>	117	cation:chloride symporter activity	integral component of membrane	-	+	+	-	+
Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type	P35316	<i>Artemia franciscana</i>	110	ATP binding	integral component of membrane	-	-	+	+	+
Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type	Q7PPA5	<i>Anopheles gambiae</i>	112	ATP binding	integral component of plasma membrane	+	-	-	-	+
Degenerin mec-10	Q60NC0	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	82	sodium channel activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Degenerin mec-4	Q17298	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	87	sodium channel activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Extracellular giant hemoglobin major globin subunit A1	Q7M419	<i>Oligobranchia mashikoi</i>	17	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Extracellular globin	P26914	<i>Pseudoterranova decipiens</i>	39	heme binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Extracellular globin	P28316	<i>Ascaris suum</i>	41	heme binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Extracellular globin-2	P02218	<i>Lumbricus terrestris</i>	16	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Extracellular globin-2A	P09966	<i>Tylorrhynchus heterochaetus</i>	17	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+

Extracellular globin-E7	P19364	<i>Artemia sp.</i>	17	heme binding	-	-	-	-	-	+
FMRFamide-activated amiloride-sensitive sodium channel	Q25011	<i>Helix aspersa</i>	71	sodium channel activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
FMRFamide-gated Na ⁺ channel	Q9NBC7	<i>Planorbella trivolvis</i>	70	sodium channel activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Globin	Q8T7J9	<i>Yoldia eightsii</i>	16	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin	P02215	<i>Cerithidea rhizophorarum</i>	16	heme binding	extracellular region	+	-	-	-	+
Globin	P29287	<i>Bursatella leachii</i>	15	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin	P80722	<i>Isoparorchis hypselobagri</i>	17	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin	Q7M424	<i>Buccinum undatum</i>	16	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin C, coelomic	P80018	<i>Caudina arenicola</i>	18	heme binding	extracellular region	-	-	-	+	+
Globin CTT-I/CTT-IA	P02221	<i>Chironomus thummi thummi</i>	17	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin CTT-III	P02229	<i>Chironomus thummi thummi</i>	16	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin CTT-VIIB-3	P12548	<i>Chironomus thummi thummi</i>	17	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin CTT-VIIB-5/CTT-VIIB-9	P84298	<i>Chironomus thummi thummi</i>	17	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin CTT-Z	P29245	<i>Chironomus thummi piger</i>	18	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin CTT-Z	Q23761	<i>Chironomus thummi thummi</i>	18	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Globin D, coelomic	P80017	<i>Caudina arenicola</i>	18	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin, cuticular isoform	P51536	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	20	heme binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Globin, major monomeric component	P02216	<i>Glycera dibranchiata</i>	15	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin, major polymeric component P1	P23216	<i>Glycera dibranchiata</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+

Globin, minor	P25165	<i>Anadara trapezia</i>	17	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin, minor monomeric component (Fragment)	P02217	<i>Glycera dibranchiata</i>	5	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin, monomeric component M-IV	P15447	<i>Glycera dibranchiata</i>	15	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin, polymeric component P2	P21659	<i>Glycera dibranchiata</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-1	P02213	<i>Anadara inaequivalvis</i>	16	heme binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Globin-1	P15161	<i>Paracaudina chilensis</i>	18	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-1 subunit alpha	P14395	<i>Anadara trapezia</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-1 subunit beta	P04251	<i>Anadara trapezia</i>	17	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-2 A chain	P14821	<i>Anadara inaequivalvis</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-2 B chain	P14822	<i>Anadara inaequivalvis</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-2B	P14394	<i>Anadara trapezia</i>	16	heme binding	-	-	-	-	-	+
Globin-like protein 9	A8XGY6	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	28	heme binding	-	-	-	-	-	+
Hemerythrin-like protein	A7T0T1	<i>Nematostella vectensis</i>	18	iron ion binding	-	-	-	+	-	-
Hemocyanin	P80888	<i>Palinurus vulgaris</i>	76	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin 2-c chain	P81732	<i>Megathura crenulata</i>	48	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin A chain	P04254	<i>Panulirus interruptus</i>	76	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin A chain	P14750	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	+	+	-	-	+
Hemocyanin AA6 chain	P80476	<i>Androctonus australis</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin A-type, units Ode to Odg (Fragment)	P12659	<i>Enteroctopus dofeini</i>	142	metal ion binding	-	-	+	-	-	+
Hemocyanin B chain	P10787	<i>Panulirus interruptus</i>	75	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin B chain	P83180	<i>Astacus leptodactylus</i>	65	metal ion binding	extracellular space	-	-	+	-	+
Hemocyanin B chain	Q9NFH9	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	+	-	-	-	-
Hemocyanin C chain	P80096	<i>Panulirus interruptus</i>	76	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin C chain	Q9NFL6	<i>Aphonopelma sp.</i>	73	chloride ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+

Hemocyanin D chain	P02241	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	-	+	+	-	+
Hemocyanin E chain	P02242	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	-	+	-	+	+
Hemocyanin F chain	Q9NFL5	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	+	+	-	-	+
Hemocyanin G chain	Q9NFL4	<i>Aphonopelma sp.</i>	72	chloride ion binding	extracellular space	+	+	-	-	+
Hemocyanin G-type, units Oda to Odg	O61363	<i>Enteroctopus dofleini</i>	332	metal ion binding	-	-	+	+	-	+
Hemocyanin II	P04253	<i>Limulus polyphemus</i>	73	chloride ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin subunit 2	P84293	<i>Carcinus aestuarii</i>	75	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemocyanin subunit 2 (Fragment)	C6H0Z6	<i>Pandinus imperator</i>	69	oxidoreductase activity	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit 3b	C6H0Z8	<i>Pandinus imperator</i>	73	oxidoreductase activity	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit 3c	C6H0Z7	<i>Pandinus imperator</i>	74	oxidoreductase activity	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit 5a	C6H100	<i>Pandinus imperator</i>	72	oxidoreductase activity	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit 5b	C6H102	<i>Pandinus imperator</i>	74	oxidoreductase activity	-	+	+	-	-	-
Hemocyanin subunit a	G8YZR1	<i>Euphrynichus bacillifer</i>	73	metal ion binding	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit A	Q86N94	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	72	chloride ion binding	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit A (Fragment)	R4KZ51	<i>Gasteracantha cancriformis</i>	13	-	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit A (Fragment)	R4L9L2	<i>Hypochilus gertschi</i>	13	-	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit b	G8YZR9	<i>Mastigoproctus giganteus</i>	72	metal ion binding	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit B	Q86N93	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	73	chloride ion binding	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit B	Q8IFJ8	<i>Scutigera coleoptrata</i>	76	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Hemocyanin subunit c	G8YZS0	<i>Mastigoproctus giganteus</i>	74	metal ion binding	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit C	Q8T115	<i>Scutigera coleoptrata</i>	78	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Hemocyanin subunit D	Q86N92	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	72	chloride ion binding	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit D	Q95P07	<i>Scutigera coleoptrata</i>	77	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	+	+

Hemocyanin subunit D	E7D194	<i>Latrodectus hesperus</i>	38	-	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit e	G8YZR5	<i>Euphrynichus bacillifer</i>	71	metal ion binding	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit e	G8YZS2	<i>Mastigoproctus giganteus</i>	72	metal ion binding	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit E	Q86N91	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	71	chloride ion binding	-	+	-	+	-	-
Hemocyanin subunit f	G8YZR6	<i>Euphrynichus bacillifer</i>	72	metal ion binding	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit F	Q86N90	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	72	chloride ion binding	-	+	-	+	-	-
Hemocyanin subunit g	G8YZS4	<i>Mastigoproctus giganteus</i>	72	metal ion binding	-	-	+	-	-	-
Hemocyanin subunit G	Q86N89	<i>Nephila inaurata madagascariensis</i>	71	chloride ion binding	-	+	-	+	-	-
Hemocyanin subunit G (Fragment)	R4LAM1	<i>Gasteracantha cancriformis</i>	13	-	-	+	-	-	-	-
Hemocyanin subunit X	Q8T116	<i>Scutigera coleoptrata</i>	80	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Hemocyanin, beta-C chain unit D (Fragment)	P12031	<i>Helix pomatia</i>	47	metal ion binding	-	-	-	-	-	+
Hemocyanin, units G and H (Fragment)	P56826	<i>Sepia officinalis</i>	63	metal ion binding	-	+	-	+	-	+
Hemoglobin F-I	P06148	<i>Urechis caupo</i>	15	heme binding	-	-	-	-	+	-
Hemoglobin-1	P41260	<i>Phacoides pectinatus</i>	15	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Hemoglobin-3	P41262	<i>Phacoides pectinatus</i>	18	heme binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Myoglobin	Q01966	<i>Haliotis diversicolor</i>	41	heme binding	-	-	-	-	-	+
Myoglobin	P51535	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	17	heme binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Myohemerythrin	Q9GYZ9	<i>Theromyzon tessulatum</i>	14	iron ion binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Pseudohemocyanin-1 (Fragment)	Q6KF82	<i>Homarus americanus</i>	80	oxidoreductase activity	-	-	-	+	+	+
Pseudohemocyanin-2 (Fragment)	Q6KF81	<i>Homarus americanus</i>	79	oxidoreductase activity	-	-	-	-	-	+
Sodium channel protein	C9D7C8	<i>Tribolium castaneum</i>	232	calcium ion binding	voltage-gated sodium channel complex	-	-	+	+	-

Sodium channel protein	J9U5B4	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	248	calcium ion binding	voltage-gated sodium channel complex	-	-	-	-	+
Sodium channel protein	Q67FT1	<i>Mesobuthus martensii</i>	214	calcium ion binding	voltage-gated sodium channel complex	-	+	-	-	-
Sodium channel protein	Q7PJH0	<i>Anopheles gambiae</i>	238	calcium ion binding	plasma membrane	-	-	+	+	-
Sodium channel protein 1 brain	Q05973	<i>Heterololigo bleekeri</i>	174	voltage-gated sodium channel activity	voltage-gated sodium channel complex	-	-	-	-	+
Sodium/potassium ATPase alpha subunit (Fragment)	Q6W965	<i>Conopeum sp. FEA-2003</i>	46	nucleotide binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Sodium/potassium ATPase alpha subunit (Fragment)	Q6W969	<i>Doru lineare</i>	45	nucleotide binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium ATPase alpha subunit (Fragment)	Q6W974	<i>Loxosceles reclusa</i>	45	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium ATPase alpha subunit (Fragment)	Q6W975	<i>Garypus californicus</i>	43	nucleotide binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha	A4LAB2	<i>Doryteuthis pealeii</i>	113	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha	Q16N76	<i>Aedes aegypti</i>	111	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha	S5G623	<i>Neoseiulus cucumeris</i>	110	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha	P35317	<i>Hydra vulgaris</i>	114	ATP binding	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha	Q6RWA9	<i>Taenia solium</i>	112	ATP binding	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-A	P17326	<i>Artemia franciscana</i>	111	ATP binding	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-B	P28774	<i>Artemia franciscana</i>	111	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	-	+
Transferrin	P22297	<i>Manduca sexta</i>	75	metal ion binding	extracellular space	-	-	-	-	+
Transferrin	Q26643	<i>Sarcophaga peregrina</i>	71	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Voltage-dependent calcium channel	P91744	<i>Heterololigo bleekeri</i>	250	voltage-gated calcium channel activity	voltage-gated calcium channel complex	-	-	+	+	-

Voltage-dependent calcium channel type A subunit alpha-1	C9D7C2	<i>Apis mellifera</i>	216	calcium ion binding	voltage-gated calcium channel complex	-	-	-	-	+
Voltage-dependent calcium channel unc-36	A8XP97	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	145	calcium channel regulator activity	voltage-gated calcium channel complex	+	-	-	+	+
Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha	Q16QJ2	<i>Aedes aegypti</i>	206	voltage-gated calcium channel activity	voltage-gated calcium channel complex	+	+	-	-	-
Voltage-dependent non-L-type calcium channel alpha-1 subunit isoform A	Q869H2	<i>Lymnaea stagnalis</i>	241	calcium ion binding	voltage-gated calcium channel complex	+	-	-	-	-
Voltage-dependent non-L-type calcium channel alpha-1 subunit isoform b	Q869H1	<i>Lymnaea stagnalis</i>	185	calcium ion binding	voltage-gated calcium channel complex	+	-	-	-	-
Voltage-gated calcium channel alpha2-delta subunit 1	A7LBJ7	<i>Anopheles gambiae</i>	142	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Voltage-gated sensitive sodium channel (Fragment)	D3JF8	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	197	ion channel activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Voltage-gated sodium channel alpha subunit (Fragment)	D3JU69	<i>Tetranychus urticae</i>	117	voltage-gated sodium channel activity	voltage-gated sodium channel complex	-	+	-	-	-
V-type proton ATPase catalytic subunit A	P31400	<i>Manduca sexta</i>	68	ATP binding	proton-transporting V-type ATPase, V1 domain	+	+	-	+	-
V-type proton ATPase subunit H	Q9U5N0	<i>Manduca sexta</i>	55	proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism	vacuolar proton-transporting V-type ATPase, V1 domain	+	-	-	+	-

Tabela A2. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iii) Dobramento/conformação e PTM das espidroínas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MW: Peso Molecular, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

iii) DOBRAMENTO/CONFORMAÇÃO E PTM DAS ESPIDROÍNAS										
Nome da Proteína	Código de Acesso	Taxonomia	MW (kDa)	Função Molecular	Componente Celular	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
5'-AMP-activated protein kinase catalytic subunit alpha-2 (Fragment)	B0XJJ1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	40	ATP binding	-	-	-	+	+	-
60 kDa chaperonin	C4YWN0	<i>Rickettsia endosymbiont of Ixodes scapularis</i>	58	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	+	-
60 kDa heat shock protein, mitochondrial-like Protein	D6WKD1	<i>Tribolium castaneum</i>	61	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
70 kDa heat shock protein form 2 (Fragment)	B8XGP8	<i>Rimicaris exoculata</i>	66	ATP binding	-	-	-	+	+	-
90-kDa heat-shock protein (Fragment)	Q7YZI7	<i>Sycon sp. AR-2003</i>	66	ATP binding	-	+	-	+	+	-
97 kDa heat shock protein	Q06068	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	99	ATP binding	-	+	-	-	+	+
97 kDa heat shock protein	Q94738	<i>Strongylocentrotus franciscanus</i>	98	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Adenylate kinase	P25824	<i>Schistosoma mansoni</i>	22	adenylate kinase activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
Adenylate kinase	Q1HQK0	<i>Aedes aegypti</i>	26	adenylate kinase activity	cytosol	-	-	-	-	+
AGAP004002-PA	Q7Q270	<i>Anopheles gambiae</i>	61	ATP binding	cytoplasm	+	-	+	+	-
AGAP008249-PA	Q7Q467	<i>Anopheles gambiae</i>	59	ATP binding	cytoplasm	-	+	-	-	-
Alkaline phosphatase	B0W2L4	<i>Culex quinquefasciatus</i>	101	alkaline phosphatase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-

Alkaline phosphatase	B0XF66	<i>Culex quinquefasciatus</i>	59	alkaline phosphatase activity	-	-	-	+	+	-
Alkaline phosphatase	Q17FS9	<i>Aedes aegypti</i>	58	alkaline phosphatase activity	-	-	-	+	+	-
Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase [UDP-forming] 1	A8WRG3	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	156	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase (UDP-forming) activity	alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase complex (UDP-forming)	+	+	-	-	+
Aminopeptidase N	B2LRS8	<i>Helicoverpa armigera</i>	113	aminopeptidase activity	-	-	-	+	+	-
Aminopeptidase N	P91887	<i>Plutella xylostella</i>	107	aminopeptidase activity	anchored component of membrane	+	-	-	-	-
Aminopeptidase N	P91885	<i>Manduca sexta</i>	107	aminopeptidase activity	anchored component of membrane	-	-	-	+	-
Aminopeptidase N 2	Q9XYV3	<i>Lymantria dispar</i>	107	aminopeptidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Aminopeptidase N1	A4D0J3	<i>Trichoplusia ni</i>	110	aminopeptidase activity	-	-	+	-	-	-
Arginine kinase	O15990	<i>Liolophura japonica</i>	39	arginine kinase activity	-	-	-	-	-	+
Arginine kinase	O15992	<i>Anthopleura japonica</i>	80	arginine kinase activity	-	-	-	+	-	+
Arginine kinase	O61367	<i>Apis mellifera</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+
Arginine kinase	P14208	<i>Homarus gammarus</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	-	+
Arginine kinase	P51541	<i>Limulus polyphemus</i>	40	arginine kinase activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
Arginine kinase	P51544	<i>Haliotis madaka</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	-	+
Arginine kinase	P51545	<i>Penaeus japonicus</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9GYX1	<i>Pachygrapsus marmoratus</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9NH49	<i>Callinectes sapidus</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9U9J4	<i>Carcinus maenas</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+
Arginine kinase	Q9XY07	<i>Stichopus japonicus</i>	42	arginine kinase activity	-	-	-	-	-	+
Arginine kinase	Q95PM9	<i>Plodia interpunctella</i>	40	arginine kinase activity	-	-	-	-	+	+

Arginine kinase (Fragment)	B8QZY6	<i>Naupactus xanthographus</i>	23	kinase activity	-	-	+	-	-	-
Arginine kinase (Fragment)	B8R023	<i>Galapaganus ashlocki</i>	20	kinase activity	-	-	+	-	-	-
Arginine kinase-like Protein	A0A139WNX9	<i>Tribolium castaneum</i>	40	ATP binding	-	-	-	-	-	+
ATP-dependent 6-phosphofructokinase	K7ISN4	<i>Nasonia vitripennis</i>	87	6-phosphofructokinase activity	cytoplasm	-	-	+	+	-
ATP-dependent 6-phosphofructokinase	Q27665	<i>Haemonchus contortus</i>	87	6-phosphofructokinase activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
ATP-dependent 6-phosphofructokinase	Q27778	<i>Schistosoma mansoni</i>	86	6-phosphofructokinase activity	cytoplasm	+	-	-	-	+
BAG family molecular chaperone regulator 1	Q61D31	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	24	-	-	-	-	+	-	-
Beta-1,4-mannosyltransferase bre-3	A8XAC4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	52	beta-1,4-mannosyltransferase activity	cytoplasm	-	+	+	-	-
Bifunctional 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate synthase	Q27128	<i>Urechis caupo</i>	68	adenylylsulfate kinase activity	-	-	-	-	-	+
Calcium-independent protein kinase C	Q16975	<i>Aplysia californica</i>	84	ATP binding	intracellular	+	-	-	-	-
Calreticulin	Q64K80	<i>Ixodes ovatus</i>	48	calcium ion binding	endoplasmic reticulum	-	-	+	-	-
Ceratitis capitata heat shock-like protein	Q17310	<i>Ceratitis capitata</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Coiled-coil domain-containing protein 22 homolog	Q7PZ96	<i>Anopheles gambiae</i>	63	cullin family protein binding	-	+	-	-	-	-
Dual serine/threonine and tyrosine protein kinase	A2CI35	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	108	ATP binding	apical plasma membrane	+	-	-	-	-
Dual serine/threonine and tyrosine protein kinase	Q1L6Q1	<i>Apis mellifera</i>	110	ATP binding	apical plasma membrane	-	-	+	+	+
Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase mbk-1	A8X4H1	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	103	ATP binding	nucleus	-	-	-	-	+

Glycoamine kinase	P51546	<i>Hediste diversicolor</i>	44	ATP binding	-	-	-	-	-	+
GTP:AMP phosphotransferase, mitochondrial	A0A0B4J2T5	<i>Nasonia vitripennis</i>	34	adenylate kinase activity	mitochondrial matrix	-	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein	P27541	<i>Brugia malayi</i>	70	ATP binding	-	+	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein	Q05944	<i>Hydra vulgaris</i>	71	ATP binding	-	-	-	-	+	+
Heat shock 70 kDa protein	P11503	<i>Onchocerca volvulus</i>	36	ATP binding	-	+	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein	P12795	<i>Schistosoma japonicum</i>	22	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein 5	E4W3Z2	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	72	ATP binding	-	-	-	+	-	-
Heat shock 70 kDa protein C	P19208	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	73	ATP binding	endoplasmic reticulum lumen	-	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein cognate 4	B0WP93	<i>Culex quinquefasciatus</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock 70 kDa protein cognate 4	Q9U639	<i>Manduca sexta</i>	71	ATP binding	nucleus	-	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein homolog	P08418	<i>Schistosoma mansoni</i>	70	ATP binding	-	+	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein II	P22623	<i>Paracentrotus lividus</i>	41	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock 70 kDa protein IV	Q06248	<i>Paracentrotus lividus</i>	70	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock 70kDa protein (Fragment)	Q94614	<i>Mesocestoides corti</i>	71	ATP binding	-	-	-	+	+	-
Heat shock 90 kDa protein (Fragment)	Q2N193	<i>Platynereis dumerilii</i>	67	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock cognate 70	Q8ITL4	<i>Chironomus yoshimatsui</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock cognate 70 kDa protein	Q24789	<i>Echinococcus granulosus</i>	73	ATP binding	-	-	-	-	+	+
Heat shock protein (Fragment)	F0J9B6	<i>Amblyomma variegatum</i>	24	ATP binding	-	-	-	+	-	-
Heat shock protein 40 (Fragment)	B8PXLO	<i>Tigriopus japonicus</i>	36	-	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 60	COLI99	<i>Litopenaeus vannamei</i>	61	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-

Heat shock protein 60	C1K659	<i>Pteromalus puparum</i>	61	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Heat shock protein 60	C7ED93	<i>Chilo suppressalis</i>	61	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Heat shock protein 60	O46219	<i>Culicoides variipennis</i>	62	ATP binding	cytoplasm	+	-	+	+	-
Heat shock protein 60	S5FWR8	<i>Neoseiulus cucumeris</i>	62	ATP binding	cytoplasm	-	+	-	-	+
Heat shock protein 60	O96783	<i>Plectus acuminatus</i>	62	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70	A2TF45	<i>Laternula elliptica</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70	A6YT30	<i>Trichinella nativa</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70	B0LVF7	<i>Dugesia japonica</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70	B1NI97	<i>Fasciola gigantica</i>	71	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70	L7V065	<i>Dermatophagoides farinae</i>	72	ATP binding	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70	O62564	<i>Rhabdocalyptus dawsoni</i>	72	ATP binding	-	+	-	+	+	-
Heat shock protein 70	Q0KKB4	<i>Mamestra brassicae</i>	70	ATP binding	-	-	-	+	+	-
Heat shock protein 70	S5G8N2	<i>Neoseiulus cucumeris</i>	72	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70	P91902	<i>Ceratitis capitata</i>	70	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock protein 70 A1	P41825	<i>Anopheles albimanus</i>	70	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock protein 70 B2	P41827	<i>Anopheles albimanus</i>	70	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Heat shock protein 70-1	G8Z373	<i>Panonychus citri</i>	71	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70-2	G8Z374	<i>Panonychus citri</i>	71	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70-C	Q8ISB1	<i>Panagrellus redivivus</i>	73	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70-C	Q8MUA7	<i>Heterodera glycines</i>	73	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLC3	<i>Diguetia mojavea</i>	69	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLC4	<i>Diguetia mojavea</i>	68	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLC7	<i>Diguetia canities</i>	69	ATP binding	-	-	-	+	+	-

Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLC8	<i>Diguetia sp. G510</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD0	<i>Diguetia sp. G510</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD1	<i>Diguetia mojavea</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD3	<i>Diguetia signata</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLD9	<i>Diguetia sp. G510</i>	68	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLE3	<i>Diguetia canities</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLE6	<i>Physocyclus sp. G597</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLE7	<i>Physocyclus sp. G597</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLE8	<i>Psilochorus sp. G540</i>	69	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLE9	<i>Psilochorus sp. G540</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLF3	<i>Pholcus phalangioides</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLF9	<i>Kibramoa guapa</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG0	<i>Kibramoa guapa</i>	69	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG1	<i>Kibramoa guapa</i>	69	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG3	<i>Plectreurys conifera</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG5	<i>Plectreurys tristis</i>	68	ATP binding	-	+	-	+	+	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG6	<i>Plectreurys tristis</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-

Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG7	<i>Plectreureys tristis</i>	69	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG8	<i>Plectreureys tristis</i>	68	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 70kDa (Fragment)	A5HLG9	<i>Plectreureys tristis</i>	69	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 70L (Fragment)	Q0Z7Z6	<i>Dermacentor variabilis</i>	52	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 83	Q7PT10	<i>Anopheles gambiae</i>	82	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	+	+
Heat shock protein 90	A7L9T9	<i>Crassostrea gigas</i>	83	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 90	A7XGM3	<i>Metapenaeus ensis</i>	83	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 90	B9VNT3	<i>Steinernema feltiae</i>	81	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 90	F1CGQ9	<i>Panonychus citri</i>	83	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 90	O61998	<i>Brugia pahangi</i>	83	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	+
Heat shock protein 90	Q5I5Q5	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	82	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein 90	S5FZD2	<i>Neoseiulus cucumeris</i>	82	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein 90	Q61W58	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	81	ATP binding	perinuclear region of cytoplasm	-	-	-	-	+
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	D9IQ94	<i>Joubertophyllodes modularis</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDH9	<i>Alicorhagia sp. AD1316</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDI2	<i>Liochthonius sp. AD1300</i>	62	ATP binding	-	-	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDI9	<i>Ptyctima gen. sp. AD1287</i>	62	ATP binding	-	-	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDJ0	<i>Gehypochthonius sp. AD1358</i>	62	ATP binding	-	-	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDJ1	<i>Camisia segnis</i>	62	ATP binding	-	-	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDJ2	<i>Malaconothrus gracilis</i>	62	ATP binding	-	+	+	-	-	-

Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDJ9	<i>Ovanoetus sp. AD678</i>	63	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDK0	<i>Aphodanoetus teinophallus</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDK1	<i>Pelzneria sp. AD974</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDK4	<i>Histiostomatidae gen. sp. AD655</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDL0	<i>Anoetus sp. AD664</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDL8	<i>Thalassophagacarus faime</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDL9	<i>Vidia sp. AD452</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDM1	<i>Crabrovidia sp. AD610</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDM3	<i>Hyadesia aff. curassaviensis AD605</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDM9	<i>Chaetodactylus krombeini</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDN1	<i>Afrocanestrinia sp. n. AD456</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDP2	<i>Marmosopus sp. AD727</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDP3	<i>Marsupialichus brasiliensis</i>	62	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDQ1	<i>Acarus siro</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDQ9	<i>Boletoglyphus extremiorientalis</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDR3	<i>Askinasia sp. AD304</i>	62	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDS8	<i>Freyana anatina</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-

Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDV5	<i>Aetacarus sp. n. AD537</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDV6	<i>Gabucinia delibata</i>	62	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZDV9	<i>Capitolichus sp. C PBK-2011</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZE02	<i>Megninia ginglymura</i>	62	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZE03	<i>Megniniella sp. AD966</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZE18	<i>Hyomesalges sp. AD1028</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZE38	<i>Otodectes cynotis</i>	63	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZE39	<i>Psoroptes ovis</i>	62	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZEA4	<i>Alaudicola bureschi</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZEA8	<i>Amerodectes sp. AD1195</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZEA9	<i>Pterodectinae gen. sp. AD648</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein cognate 5 (Fragment)	I1ZED6	<i>Yunkeracarus hylomyscus</i>	62	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Heat shock protein homolog	Q07160	<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	20	-	-	-	-	-	-	+
HSP 75	S5GI83	<i>Neoseiulus cucumeris</i>	79	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Hsp60 protein	Q9U5N2	<i>Myzus persicae</i>	60	ATP binding	cytoplasm	+	+	-	-	-
HSP70 family member (Fragment)	F0J8P3	<i>Amblyomma variegatum</i>	56	ATP binding	-	-	-	+	-	-
Hsp90	A5JVD7	<i>Lucilia cuprina</i>	82	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Hsp90	C5J3T0	<i>Heterodera glycines</i>	83	ATP binding	-	+	-	-	-	-

Hsp90	Q5WQZ6	<i>Opisthophthalmus carinatus</i>	83	ATP binding	-	+	+	-	-	-
Hsp-90	Q6QR01	<i>Chiromantes haematocheir</i>	83	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Hsp90 protein	Q5CAQ8	<i>Delia antiqua</i>	82	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Leucine aminopeptidase	Q0KKA6	<i>Haemaphysalis longicornis</i>	56	aminopeptidase activity	cytoplasm	+	-	-	-	-
Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 1	B0WZ06	<i>Culex quinquefasciatus</i>	253	ATP binding	intracellular	-	-	+	-	-
Lombicine kinase	O15991	<i>Eisenia fetida</i>	42	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Membrane alanyl aminopeptidase	Q11000	<i>Heliothis virescens</i>	113	aminopeptidase activity	anchored component of membrane	-	-	+	-	+
Membrane-associated guanylate kinase	B0W6S1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	93	kinase activity	-	-	-	+	+	-
Membrane-bound alkaline phosphatase	P29523	<i>Bombyx mori</i>	60	alkaline phosphatase activity	anchored component of membrane	-	-	-	-	+
Mitochondrial 60 kDa heat shock protein	Q6RFF9	<i>Anemonia viridis</i>	63	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Mitogen-activated protein kinase kinase kinase dlk-1	A8X775	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	96	ATP binding	cell junction	-	+	+	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	A1KYY3	<i>Suidasia medanensis</i>	18	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	-	-	-	+	+	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	C1BVN9	<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	23	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	-	-	+	-	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Q7QIV1	<i>Anopheles gambiae</i>	22	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	-	-	+	-	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	P54985	<i>Blattella germanica</i>	18	peptide binding	cytoplasm	-	-	-	+	+
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	Q26565	<i>Schistosoma mansoni</i>	18	peptide binding	-	-	-	-	-	+
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase 1	Q27450	<i>Brugia malayi</i>	98	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	-	+	-	-	-	-
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	Q26551	<i>Schistosoma mansoni</i>	23	peptide binding	endoplasmic reticulum lumen	-	-	-	+	-

Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	Q27774	<i>Schistosoma japonicum</i>	23	peptide binding	endoplasmic reticulum lumen	-	-	+	-	-
Peptidylprolyl isomerase	D3TSE2	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	23	calcium ion binding	-	-	-	+	-	-
Phosphatidylinositol 3-kinase age-1	POC5E7	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	134	1-phosphatidylinositol-3-kinase activity	intracellular	-	-	+	-	+
Phosphoenolpyruvate carboxykinase	A9P774	<i>Rhipicephalus microplus</i>	70	GTP binding	-	-	-	+	+	-
Phosphoenolpyruvate carboxykinase (Fragment)	B3XX70	<i>Nicrophorus tomentosus</i>	17	GTP binding	-	-	-	+	+	-
Phosphoenolpyruvate carboxykinase [GTP]	Q05893	<i>Ascaris suum</i>	72	GTP binding	-	-	+	+	+	+
Phosphoglycerate kinase	C1LAI9	<i>Schistosoma japonicum</i>	34	phosphoglycerate kinase activity	-	+	-	-	-	-
Phosphoglycerate kinase	O61471	<i>Aplysia californica</i>	44	ATP binding	cytoplasm	+	-	+	-	-
Phosphoglycerate kinase	Q86DX7	<i>Schistosoma japonicum</i>	44	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Protein arginine N-methyltransferase 7	Q16NS8	<i>Aedes aegypti</i>	77	protein-arginine omega-N symmetric methyltransferase activity	-	-	-	-	-	+
Protein CBR-HSP-60	A8XDX6	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	60	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Protein kinase (Fragment)	D0URG5	<i>Amblyomma sp. 'Amb2'</i>	34	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Protein kinase (Fragment)	D0URI7	<i>Idiogaryops pumilis</i>	34	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Protein kinase (Fragment)	D0URK5	<i>Prokoenia wheeleri</i>	34	ATP binding	-	-	+	-	-	-
Protein kinase C	Q25378	<i>Lytechinus pictus</i>	75	ATP binding	intracellular	-	+	-	-	-
Protein kinase C-like 3	A8WUG4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	68	ATP binding	cortical actin cytoskeleton	-	-	-	-	+
Raf homolog serine/threonine-protein kinase	Q61UC4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	90	ATP binding	intracellular	+	+	-	-	+

Serine hydroxymethyltransferase	Q60V73	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	56	glycine hydroxymethyltransferase activity	-	-	+	+	-	+
Serine protease	B0WF73	<i>Culex quinquefasciatus</i>	44	serine-type endopeptidase activity	-	-	-	+	+	-
Serine protease	B0XD04	<i>Culex quinquefasciatus</i>	65	serine-type endopeptidase activity	-	-	-	+	+	-
Serine/threonine kinase NLK	A8XSC1	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	74	ATP binding	cell cortex	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase chk-1	Q61RA2	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	56	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase dkf-1	A8XWC4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	87	ATP binding	cytoplasm	-	+	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase dkf-2	A8XQD5	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	133	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase H1 homolog	Q4KTY1	<i>Pinctada fucata</i>	47	ATP binding	-	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase par-1	A8WYE4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	117	ATP binding	cell cortex	-	-	-	+	+
Serine/threonine-protein kinase par-4	A8X0C4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	73	ATP binding	cell cortex	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase PLK4	A7SNN5	<i>Nematostella vectensis</i>	108	ATP binding	centriole	-	-	+	-	+
Serine/threonine-protein kinase PLK4	B0WAU8	<i>Culex quinquefasciatus</i>	85	ATP binding	centriole	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase PLK4	Q16W24	<i>Aedes aegypti</i>	85	ATP binding	centriole	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase sax-1	A8XJL7	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	55	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Serine/threonine-protein kinase smg-1	Q61CW2	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	265	ATP binding	cytoplasm	+	+	+	+	+
Serine/threonine-protein kinase spk-1	Q61IS6	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	126	ATP binding	integral component of membrane	+	-	-	+	+

Serine/threonine-protein phosphatase 4 catalytic subunit 1	A8XE00	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	37	metal ion binding	cytoplasm	-	+	-	-	-
Serine/threonine-protein phosphatase Pgam5, mitochondrial	Q61CA3	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	32	phosphoprotein phosphatase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
SJCHGC09129 protein	Q5DH23	<i>Schistosoma japonicum</i>	62	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	-
Small heat shock protein OV25-1	P29778	<i>Onchocerca volvulus</i>	20	-	-	-	-	-	-	+
Small heat shock protein p36	Q7YZT0	<i>Taenia saginata</i>	36	-	cytoplasm	-	-	-	-	+
Stress-activated protein kinase JNK	Q966Y3	<i>Suberites domuncula</i>	42	ATP binding	intracellular	-	-	-	-	+
Stress-activated protein kinase JNK-1	Q9U6D2	<i>Ancylostoma caninum</i>	43	ATP binding	intracellular	-	-	-	-	+
Testis-specific serine/threonine kinase	B0W2Z6	<i>Culex quinquefasciatus</i>	46	ATP binding	-	+	-	-	-	-
Transmembrane emp24 domain-containing protein	A7SXX3	<i>Nematostella vectensis</i>	23	-	cytoplasmic vesicle membrane	-	-	+	-	+
Tyrosine-protein kinase HTK16	P53356	<i>Hydra vulgaris</i>	86	ATP binding	-	-	-	+	-	+
Tyrosine-protein kinase isoform SRK1	P42686	<i>Spongilla lacustris</i>	58	ATP binding	cytoplasm	-	-	-	-	+
Tyrosine-protein kinase isoform SRK4	P42690	<i>Spongilla lacustris</i>	58	ATP binding	cytoplasm	+	-	-	-	+
Tyrosine-protein kinase SPK-1	P42687	<i>Girardia tigrina</i>	57	ATP binding	-	-	+	-	-	+
Tyrosine-protein kinase STK	P17713	<i>Hydra vulgaris</i>	57	ATP binding	-	-	-	-	-	+

Tabela A3. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – iv) Proteção das espidroinas contra o estresse oxidativo. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBIInr. MW: Peso Molecular, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

iv) PROTEÇÃO DA SEDA CONTRA O ESTRESSE OXIDATIVO										
Nome da Proteína	Código de Acesso	Taxonomia	MW (kDa)	Função Molecular	Componente Celular	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
AAEL014616-PA	Q16FV8	<i>Aedes aegypti</i>	62	heme binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
AGAP007237-PA	Q7QJ29	<i>Anopheles gambiae</i>	169	heme binding	extracellular space	-	-	+	+	-
Catalase	P90682	<i>Ascaris suum</i>	62	catalase activity	peroxisome	-	-	+	-	+
Chorion peroxidase	P82600	<i>Aedes aegypti</i>	90	heme binding	extracellular region	+	-	-	-	+
Chorion peroxidase	Q7QH73	<i>Anopheles gambiae</i>	86	heme binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Cuticular glutathione peroxidase	P35666	<i>Wuchereria bancrofti</i>	26	glutathione peroxidase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Cuticular glutathione peroxidase	P67877	<i>Brugia malayi</i>	26	glutathione peroxidase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Cytochrome b	B3IUK9	<i>Walchia hayashii</i>	41	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome b	C8CP99	<i>Dermatophagoides farinae</i>	41	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b	H9M734	<i>Bothriocroton concolor</i>	41	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b	Q8WA84	<i>Thyropygus sp. DVL-2001</i>	42	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome b	A0EYN2	<i>Xenoturbella bocki</i>	43	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b	A9UKA2	<i>Bugula neritina</i>	42	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+

Cytochrome b	O99828	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	41	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b	P34845	<i>Apis mellifera ligustica</i>	45	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b	Q34945	<i>Lumbricus terrestris</i>	43	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	+	-	-
Cytochrome b	Q36427	<i>Locusta migratoria</i>	44	electron carrier activity	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b	Q5DNB7	<i>Leptorhynchoides thecatus</i>	43	electron carrier activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b (Fragment)	B9V126	<i>Trogulus cristatus</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome b (Fragment)	D0UD41	<i>Calathocratus africanus</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Cytochrome b (Fragment)	D0UD69	<i>Platybessobius singularis</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b (Fragment)	D0UD70	<i>Platybessobius cf. singularis ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	+	+	-
Cytochrome b (Fragment)	D0UD74	<i>Platybessobius cf. singularis ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b (Fragment)	D0UD78	<i>Pyza bosnica</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b (Fragment)	D0UD82	<i>Trogulus cf. banaticus ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome b (Fragment)	D0UDA0	<i>Trogulus cf. martensi ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	+	+	+	+	+
Cytochrome b (Fragment)	D0UDA2	<i>Trogulus cf. nepaeformis ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b (Fragment)	D0UDC0	<i>Trogulus sp. ALS-2009</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Cytochrome b (Fragment)	E9L6E1	<i>Panonychus citri</i>	21	electron carrier activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome b (Fragment)	Q7YIG6	<i>Pemphigus obesinymphae</i>	27	electron carrier activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-

Cytochrome b apoenzyme (Fragment)	Q75Z23	<i>Euhadra sandai oki</i>	28	electron carrier activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c	P00037	<i>Samia cynthia</i>	12	electron carrier activity	mitochondrial intermembrane space	-	-	-	-	+
Cytochrome c 2.1	A8WQY3	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	12	electron carrier activity	mitochondrial intermembrane space	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	B0FWC7	<i>Aedes aegypti</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	H9M736	<i>Bothriocroton undatum</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1	H9MFI3	<i>Pseudogarypus banksi</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1	K9K2Z9	<i>Simulium reptans</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	L7PCK5	<i>Haemaphysalis parva</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1	O99818	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P12700	<i>Paracentrotus lividus</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P20374	<i>Apis mellifera ligustica</i>	59	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P25001	<i>Pisaster ochraceus</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P41774	<i>Mytilus edulis</i>	62	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	+	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P48887	<i>Albinaria caerulea</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P50668	<i>Choristoneura biennis</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P50671	<i>Choristoneura rosaceana</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	P67794	<i>Choristoneura pinus</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1	Q33820	<i>Patiria pectinifera</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q34941	<i>Lumbricus terrestris</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q36421	<i>Locusta migratoria</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q37705	<i>Artemia franciscana</i>	56	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	+	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q8HCL2	<i>Varroa destructor</i>	58	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q8HEI7	<i>Varroa destructor</i>	58	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1	Q96000	<i>Pecten maximus</i>	54	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A0MKC1	<i>Meta menardi</i>	35	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A2TAK5	<i>Aleiodes apiculatus</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A2TCE6	<i>Aepocerus sp. ex Ficus obtusifolia/dugandii B</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3R891	<i>Blepharipa sp. fimbriataDHJ12</i>	11	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RA57	<i>Lespesia aletiae</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RB35	<i>Patelloa sp. xanthuraDHJ01</i>	20	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RJK8	<i>Cyrba algerina</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RJM2	<i>Plexippus paykulli</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RJM5	<i>Portia heteroidea</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RJM7	<i>Portia labiata</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A3RJM8	<i>Portia quei</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A4Q9J2	<i>Bemisia tabaci</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A5A4F3	<i>Polydora cornuta</i>	32	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A7J4T3	<i>Cancer oregonensis</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A8B3Z9	<i>Bekkochlamys sp. ITH-2007</i>	48	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	A9XGS9	<i>Oxypilus nasutus</i>	53	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2BBU1	<i>Pimoid reniformis</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2BBU2	<i>Pimoid reniformis</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2BBW9	<i>Bathyphantes tongluensis</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2BBX1	<i>Dicymbium sinofacetum</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2X606	<i>Technomyrmex albipes</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2X632	<i>Technomyrmex vitiensis</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	+	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B2X633	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B3GTJ3	<i>Mastigodiptomus albuquerqueensis</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B3GTM2	<i>Mastigodiptomus montezumae</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	+	+	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B3SLS8	<i>Pheidole hyatti</i>	39	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B4YSN6	<i>Aoraki calcarobtusa westlandica</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B5A2K9	<i>Tetraglathia rava</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B5A2L1	<i>Tetraglathia rava</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B5A2L3	<i>Tetraglathia rava</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B5A2M9	<i>Tetraglathia marquesiana</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B5A2N8	<i>Tetraglathia maxillosa</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B6CVE0	<i>Pseudogarypus bicornis</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B6Z211	<i>Simaetha sp. WPM-2008</i>	36	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B7ZDV8	<i>Oreina cacaliae</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	B8QES4	<i>Oxysternon silenus</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C0KI4	<i>Mastophora phrynosoma</i>	47	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C0KII9	<i>Pimonia sp. TAB-2009</i>	45	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C1ITM2	<i>Loxosceles rufescens</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C5GZP8	<i>Melipona sp. MP96</i>	40	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C5H2H8	<i>Exaerete azteca</i>	40	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	C7C4P5	<i>Trigonopterus scharfi</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D0Q990	<i>Banchinae sp. BOLD:AAE2465</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D0VQZ0	<i>Selenops mexicanus</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D0VR62	<i>Selenops sp. n. 2 SCC-2010</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D3J1T3	<i>Stylocellus sp. Sumatra 4a</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D3J1U2	<i>Stylocellus sp. Peninsula 2</i>	29	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	D3J1U4	<i>Stylocellus sp. Peninsula 5</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2ELY8	<i>Dermacentor albipictus</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2ILW0	<i>Selenops geraldinae</i>	27	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2ILZ6	<i>Selenops melanurus</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM09	<i>Selenops submaculosus</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM32	<i>Selenops aissus</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM36	<i>Selenops aissus</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM40	<i>Selenops sp. n. 11 SCC-2010</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM64	<i>Selenops sp. n. 17 SCC-2010</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IM65	<i>Selenops sp. n. 16 SCC-2010</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IMB5	<i>Selenops sp. n. 13 SCC-2010</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E2IMD1	<i>Selenops submaculosus</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	E7BXI5	<i>Mughiphantes nigromaculatus</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	F1LJI7	<i>Nicrophorus distinctus</i>	53	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	F1LJJ7	<i>Nicrophorus kieticus</i>	49	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G1CR81	<i>Nephila constricta</i>	20	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G1CR82	<i>Nephila inaurata</i>	20	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G1CRA5	<i>Nephila inaurata</i>	45	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G4WHU1	<i>Dysdera aneris</i>	38	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G8FRL8	<i>Aliatypus coylei</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	G8I0N0	<i>Dysdera adriatica</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	I1SS97	<i>Pardosa prosaica</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	I1SS99	<i>Pardosa prosaica</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	J7KFZ0	<i>Aphonopelma sp. 3 JSW-2012</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K4EX84	<i>Uroobovella vinicolora</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K4EYJ4	<i>Uroobovella dryocoetis</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K4NTK2	<i>Anelosimus guacamayos</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K4NVL0	<i>Anelosimus tosus</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K4NVQ1	<i>Anelosimus elegans</i>	15	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7QGQ3	<i>Carcinoscorpius rotundicauda</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7SQ26	<i>Ameronothrus sp. BOLD:AAD2349</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7T0G0	<i>Eupodidae sp.</i> BOLD:AAW0399	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7T299	<i>Phytoseiidae sp.</i> BOLD:ABV2847	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7T7B8	<i>Penthaleus sp.</i> BOLD:AAH0993	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7TBR1	<i>Digamasellidae sp.</i> BOLD:AAL8174	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7TD23	<i>Dinychidae sp.</i> BOLD:AAH7238	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7TFZ7	<i>Cyta sp. MYMCE532-12</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	K7TJG8	<i>Ologamasidae sp.</i> BOLD:AAF9169	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1P4G5	<i>Agelena koreana</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1P4K9	<i>Selenops bursarius</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1P4N9	<i>Evarcha albaria</i>	27	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1P4P6	<i>Plexippus paykulli</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1PSS5	<i>Tetragnatha maxillosa</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1PSU1	<i>Araneus ishizawai</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1PSX4	<i>Cyclosa confusa</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1PT12	<i>Paratheuma shirahamaensis</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1PT85	<i>Sitticus penicillatus</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1QE90	<i>Clubiona kurilensis</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M1QEB9	<i>Oxytate striatipes</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M9VRG0	<i>Euophrys a-notata</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	M9XHP2	<i>Spinturnix andegavinus</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	O47535	<i>Timema californicum</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	O47536	<i>Timema californicum</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q0P072	<i>Mesobuthus gibbosus</i>	15	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q157L0	<i>Agelenopsis aperta</i>	17	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AG64	<i>Arctosa rubicunda</i>	16	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AG72	<i>Pardosa mackenziana</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AG76	<i>Agelenopsis utahana</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AG81	<i>Pardosa fuscula</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGA3	<i>Parasteatoda tepidariorum</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGB8	<i>Platycryptus undatus</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGC6	<i>Philodromus vulgaris</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGD1	<i>Leucauge venusta</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGE4	<i>Enoplognatha ovata</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGF0	<i>Tetragnatha straminea</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGH1	<i>Phidippus clarus</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGH2	<i>Philodromus sp. BOLD:AAI2835</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGH8	<i>Phidippus purpuratus</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGM1	<i>Tetragnatha straminea</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGN6	<i>Neoscona arabesca</i>	19	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGQ5	<i>Mimetus notius</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGR2	<i>Latrodectus hesperus</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1AGR7	<i>Tetragnatha guatemalensis</i>	22	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1ALH1	<i>Niphargus virei</i>	15	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q1L2P4	<i>Fangensis insulanus</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8K6	<i>Diaea sp. JEG-089</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8L3	<i>Mecaphesa rothi</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8L7	<i>Mecaphesa naevigera</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8L8	<i>Mecaphesa hiatus</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8L9	<i>Mecaphesa arida</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8M7	<i>Mecaphesa cavata</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2F8N1	<i>Misumenops melloleitaoi</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q2MW99	<i>Perigonia lusca</i>	16	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q33897	<i>Aramigus tessellatus</i>	29	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q33927	<i>Aramigus tessellatus</i>	29	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q3ZRY3	<i>Cyphophthalmus teyrovskiy</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q3ZRY6	<i>Cyphophthalmus rumijae</i>	23	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q574R1	<i>Hyles tithymali deserticola</i>	51	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q590C8	<i>Musca autumnalis</i>	18	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q59D64	<i>Cicindela</i>	27	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q5YFY1	<i>Pogonomyrmex californicus</i>	39	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q66TF3	<i>Moneilema armatum</i>	24	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q66TF5	<i>Moneilema armatum</i>	17	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6DQA2	<i>Moneilema gigas</i>	48	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6E7U0	<i>Streptocephalus cafer</i>	21	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6GX13	<i>Amorphinopsis siamensis</i>	17	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6KE48	<i>Eulaema meriana</i>	33	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6RV56	<i>Tetragnatha kukuhaa</i>	26	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6RV93	<i>Tetragnatha kamakou</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6SJK5	<i>Papilio nobilis</i>	57	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6WC44	<i>Lyssomanes viridis</i>	32	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6X286	<i>Fissidentalium candidum</i>	25	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q6YKF0	<i>Aphodius globulus</i>	29	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q8HBX6	<i>Daktulosphaira vitifoliae</i>	17	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q94RX0	<i>Tomicus minor</i>	50	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q957H5	<i>Cyclorhipidion pruinosum</i>	43	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q9G2U8	<i>Pimelia boyeri</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q9GA32	<i>Mediaster aequalis</i>	49	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)	Q9MKX6	<i>Aethina tumida</i>	38	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	-	-
Cytochrome c oxidase subunit 2	P29878	<i>Schistocerca gregaria</i>	26	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 2	P29879	<i>Sitophilus granarius</i>	26	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 2	P29881	<i>Zootermopsis angusticollis</i>	26	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	-	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 2	Q00227	<i>Mytilus edulis</i>	28	copper ion binding	integral component of membrane	-	+	+	+	+
Cytochrome c oxidase subunit 2	Q37411	<i>Patiria pectinifera</i>	26	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit 2	Q6U6Y4	<i>Hemideina maori</i>	19	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 2 (Fragment)	G3GF40	<i>Austrarchaea alani</i>	21	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+

Cytochrome c oxidase subunit 2 (Fragment)	Q6U6Y3	<i>Hemideina maori</i>	19	copper ion binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 3	P14574	<i>Locusta migratoria</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	+	-
Cytochrome c oxidase subunit 3	P41775	<i>Mytilus edulis</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome c oxidase subunit I (Fragment)	Q5YFX8	<i>Pogonomyrmex californicus</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome c type-2	P92505	<i>Ascaris suum</i>	12	electron carrier activity	mitochondrial intermembrane space	-	-	-	-	+
Cytochrome c-2	P84030	<i>Ceratitis capitata</i>	12	electron carrier activity	mitochondrial intermembrane space	-	-	-	-	+
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	A2TCD9	<i>Heterandrium sp. ex Ficus trigonata</i>	31	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	A8BXV7	<i>Columbicola streptopeliae</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	A8BXZ1	<i>Columbicola theresae</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	B2Z8S6	<i>Necterosoma penicillatum</i>	30	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	Q8M3T6	<i>Episbates pederiformis</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Cytochrome oxidase subunit I (Fragment)	Q94QX2	<i>Columbicola adamsi</i>	14	cytochrome-c oxidase activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome oxidase subunit II	Q94QM0	<i>Miramella alpina</i>	14	copper ion binding	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome P450	B5AII7	<i>Anopheles funestus</i>	59	heme binding	integral component of membrane	-	+	-	-	-
Cytochrome P450	B7S8W6	<i>Glyptapanteles indiensis</i>	57	heme binding	-	-	-	+	+	-
Cytochrome P450	K7ZPF1	<i>Culex quinquefasciatus</i>	62	heme binding	-	-	-	-	-	+
Cytochrome P450	Q8IU14	<i>Plutella xylostella</i>	60	heme binding	-	+	-	-	-	-
Cytochrome P450	Q9U9B9	<i>Manduca sexta</i>	60	heme binding	-	-	-	+	+	-

Cytochrome P450 1A1	B0WTQ0	<i>Culex quinquefasciatus</i>	61	heme binding	-	+	-	-	-	-
Cytochrome P450 2L1	Q27712	<i>Panulirus argus</i>	57	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 307a1	B0XDB2	<i>Culex quinquefasciatus</i>	59	heme binding	-	-	-	+	+	-
Cytochrome P450 4C1	P29981	<i>Blaberus discoidalis</i>	59	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 4c21	Q964T1	<i>Blattella germanica</i>	58	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 4F12	B0XCA6	<i>Culex quinquefasciatus</i>	50	heme binding	-	-	+	-	-	-
Cytochrome P450 4g1-like Protein	A0A139WKY0	<i>Tribolium castaneum</i>	57	heme binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6A1	P13527	<i>Musca domestica</i>	59	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B2	Q27664	<i>Helicoverpa armigera</i>	58	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	+	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B3	Q27756	<i>Papilio polyxenes</i>	57	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B4	Q27902	<i>Papilio glaucus</i>	58	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B5	Q95036	<i>Papilio glaucus</i>	55	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B6	Q95031	<i>Helicoverpa armigera</i>	58	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	+	-	-	-	+
Cytochrome P450 6B7	O61387	<i>Helicoverpa armigera</i>	58	aromatase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6BQ12	D2A095	<i>Tribolium castaneum</i>	60	heme binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6d1	Q27698	<i>Musca domestica</i>	59	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6d3	Q964Q7	<i>Musca domestica</i>	60	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+

Cytochrome P450 6j1	Q964R1	<i>Blattella germanica</i>	58	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6k1	Q964R0	<i>Blattella germanica</i>	60	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 6l1	Q9GQM9	<i>Blattella germanica</i>	57	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 9e2	Q964T2	<i>Blattella germanica</i>	61	heme binding	endoplasmic reticulum membrane	+	-	-	-	+
Cytochrome P450 CYP12A2	O18635	<i>Musca domestica</i>	62	heme binding	-	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 CYP306A2v2	K4JNB8	<i>Laodelphax striatella</i>	57	heme binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 CYP405A2	D2JLJ6	<i>Zygaena filipendulae</i>	58	heme binding	-	-	-	-	-	+
Cytochrome P450 CYP9A19	A5HKL9	<i>Bombyx mori</i>	61	heme binding	-	-	+	-	-	-
Cytochrome P450, putative	B7P1N3	<i>Ixodes scapularis</i>	30	heme binding	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Dihydropteridine reductase	E2A057	<i>Camponotus floridanus</i>	26	oxidoreductase activity	-	-	-	+	+	-
Glutathione peroxidase	Q00277	<i>Schistosoma mansoni</i>	19	glutathione peroxidase activity	-	-	-	-	-	+
NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10	Q1HPL8	<i>Bombyx mori</i>	19	-	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 2, mitochondrial-like Protein	D6WC60	<i>Tribolium castaneum</i>	52	NAD binding	-	+	-	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 1 (Fragment)	Q8HKF3	<i>Rhipicephalus maculatus</i>	4	-	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 1 (Fragment)	Q8HKH5	<i>Bothriocroton undatum</i>	2	-	mitochondrion	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 2	B3IUL2	<i>Walchia hayashii</i>	36	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 2	B3IUM2	<i>Ascoschoengastia sp. TATW-1</i>	36	-	integral component of membrane	-	-	-	-	+

NADH dehydrogenase subunit 2	C8CP98	<i>Dermatophagoides farinae</i>	36	-	integral component of membrane	+	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 2	L7NVX4	<i>Phyxioschema suthepium</i>	34	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 2	Q2VTF7	<i>Mytilus trossulus</i>	34	-	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH dehydrogenase subunit 2	Q535G5	<i>Argiope bruennichi</i>	36	-	integral component of membrane	+	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 2 (Fragment)	C9E6Q1	<i>Sturnophagoides bakeri</i>	28	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 4L	Q1JQR0	<i>Nephila clavata</i>	11	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5	B2C9E2	<i>Tetranychus urticae</i>	62	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5	D9IV38	<i>Panonychus citri</i>	63	-	integral component of membrane	+	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5	D9J2T1	<i>Panonychus citri</i>	63	-	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5	E0AE52	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	62	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5	Q85TH8	<i>Melipona bicolor</i>	66	-	integral component of membrane	-	-	-	+	-
NADH dehydrogenase subunit 5 (Fragment)	Q1X7N9	<i>Leptotrombidium fletcheri</i>	36	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5 (Fragment)	Q6W4Z8	<i>Anopheles gambiae</i>	24	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit 5 (Fragment)	Q8HKH0	<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	14	-	integral component of membrane	+	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 6	C5HII2	<i>Diplonychus rusticus</i>	19	-	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH dehydrogenase subunit 6	E0WBP3	<i>Wallacidia oculata</i>	19	-	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH dehydrogenase subunit 6	Q8HQ07	<i>Thrips imaginis</i>	18	-	integral component of membrane	-	-	+	+	-

NADH dehydrogenase subunit I (Fragment)	M1QXT9	<i>Lycosa munieri</i>	3	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit II (Fragment)	Q8HFN4	<i>Melanoplus confusus</i>	17	-	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit II (Fragment)	Q8LYV4	<i>Melanoplus dawsoni</i>	17	-	mitochondrion	-	-	+	+	-
NADH dehydrogenase subunit II (Fragment)	Q94QL6	<i>Bohemanella frigida</i>	17	-	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH dehydrogenase subunit III (Fragment)	Q9MIJ2	<i>Cicindela sperata</i>	2	-	mitochondrion	-	+	-	-	-
NADH dehydrogenase subunit III (Fragment)	Q9MIK6	<i>Cicindela hamata</i>	2	-	mitochondrion	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1	A3RE70	<i>Metaseiulus occidentalis</i>	32	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1	L7NVY6	<i>Pholcus phalangioides</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1	Q6JCP8	<i>Aleurochiton aceris</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1	Q6UNW0	<i>Lampsilis ornata</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	A0MKA0	<i>Stegodyphus mimosarum</i>	14	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	A0SW78	<i>Anelosimus eximius</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	A0SW86	<i>Anelosimus nr. sallee 040A</i>	12	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	A3RJT4	<i>Spartaeus platnicki</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	A4ZDH4	<i>Cyprogenia aberti</i>	22	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	B0FWD8	<i>Aedes aegypti</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	B1NWA1	<i>Venatrix arenaris</i>	21	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	B1NWA4	<i>Venatrix fontis</i>	21	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	B1NWC6	<i>Venatrix fontis</i>	21	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	B4XXW7	<i>Pholcus ornatus</i>	11	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	COLM87	<i>Anelosimus eximius</i>	12	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	COLMD9	<i>Anelosimus eximius</i>	12	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	COLMF5	<i>Anelosimus eximius</i>	12	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	D0VRG9	<i>Selenops insularis</i>	10	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	D0VRY1	<i>Selenops lindborgi</i>	10	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	I1V7K6	<i>Leiobunum crassipalpe</i>	33	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	I1V7L5	<i>Leiobunum relictum</i>	33	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	I1V7P1	<i>Leiobunum bimaculatum</i>	33	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	J7I314	<i>Afromarengo sp. MRB262</i>	11	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	K4NT52	<i>Anelosimus studiosus</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	K4NT67	<i>Anelosimus tosus</i>	10	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	M9VPC1	<i>Zabkattus richardsi</i>	8	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	M9VSA5	<i>Agobardus cf. anormalis montanus JXZ-2013</i>	12	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	M9VWQ8	<i>Palpelius cf. discedens</i> <i>JXZ-2013</i>	5	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	O47479	<i>Heterololigo bleekeri</i>	35	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	O63623	<i>Dalbulus charlesi</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	P09045	<i>Locusta migratoria</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	P12772	<i>Paracentrotus lividus</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	P15548	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	P33502	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	P34847	<i>Apis mellifera ligustica</i>	37	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q0ZCV4	<i>Havaika cf. pubens</i> MAA-2006	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q1X8R8	<i>Placobdella costata</i>	22	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q2QAT5	<i>Lamprotula rochechouarti</i>	23	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q37546	<i>Lumbricus terrestris</i>	35	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q3I6Q9	<i>Aulonia albimana</i>	21	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q4KYS0	<i>Obovaria jacksoniana</i>	26	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q8HEC4	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	33	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q94UQ5	<i>Junonia coenia</i>	18	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q94UR1	<i>Nymphalis antiopa</i>	26	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q94UR4	<i>Nymphalis xanthomelas</i>	26	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q94US6	<i>Polygonia gracilis</i>	26	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q94US8	<i>Polygonia satyrus</i>	27	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 1 (Fragment)	Q96186	<i>Pecten maximus</i>	40	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	B0LY09	<i>Lygus lineolaris</i>	40	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	B2CKV7	<i>Buthus occitanus</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	B7SMK5	<i>Physopelta gutta</i>	38	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	C7FIJ1	<i>Mayetiola destructor</i>	39	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	E3UHH9	<i>Opilio parietinus</i>	36	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	H6WT82	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	40	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	H9M722	<i>Bothriocroton concolor</i>	38	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	H9M760	<i>Amblyomma elaphense</i>	39	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	L7PCD3	<i>Haemaphysalis parva</i>	38	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	M1KVZ1	<i>Dolycoris baccarum</i>	38	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	O99817	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	37	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	P33503	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	40	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	P34849	<i>Apis mellifera ligustica</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	P48902	<i>Albinaria caerulea</i>	35	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	Q00229	<i>Mytilus edulis</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	+	-	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	Q33636	<i>Anopheles albimanus</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	Q36426	<i>Locusta migratoria</i>	39	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	Q76LR2	<i>Haemaphysalis flava</i>	38	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	Q8HEC1	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	33	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2	R4IKL6	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	37	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2 (Fragment)	D3G849	<i>Phortica pseudogigas</i>	39	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	A5JF72	<i>Reticulitermes hageni</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	B6DEB9	<i>Acrida willemsei</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	C5HIK4	<i>Lycorma delicatula</i>	14	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	C5HIN0	<i>Aquarius paludum</i>	14	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	P24997	<i>Pisaster ochraceus</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	P33509	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	14	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	P34851	<i>Apis mellifera ligustica</i>	14	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	Q00568	<i>Mytilus edulis</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	Q36422	<i>Locusta migratoria</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 3	Q37709	<i>Artemia franciscana</i>	13	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	D5HKW2	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	52	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	D9J2T0	<i>Panonychus citri</i>	47	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	E0AE51	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	47	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	G3F3Y1	<i>Argynnis hyperbius</i>	53	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	H9M744	<i>Bothriocroton undatum</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	H9MFH7	<i>Paratemnoides elongatus</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	O99825	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P12775	<i>Paracentrotus lividus</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P15551	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P33511	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P34852	<i>Anopheles gambiae</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P34853	<i>Apis mellifera ligustica</i>	53	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P34941	<i>Arbacia lixula</i>	51	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	P51898	<i>Anopheles arabiensis</i>	25	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	Q1HR20	<i>Aedes aegypti</i>	52	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4	Q34949	<i>Lumbricus terrestris</i>	50	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U801	<i>Bolbe pallida</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U816	<i>Ciulfina biseriata</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U821	<i>Ligariella gracilis</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8C8	<i>Oxypilus sp. MN154</i>	50	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8D8	<i>Popa spurca spurca</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8G0	<i>Hoplocorypha sp. MN190</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8J9	<i>Stenopyga ziela</i>	50	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8P7	<i>Oxypilus nigericus</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4 (Fragment)	D3U8U6	<i>Amorphoscelis sp. MN337</i>	49	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4L	Q8HEB9	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	9	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	A7YIR5	<i>Bactrocera dorsalis</i>	64	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	B0FWD3	<i>Aedes aegypti</i>	67	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	B2CKE0	<i>Phrynus sp. 1 SEM-2008</i>	62	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	B3IUM9	<i>Ascoschoengastia sp. TATW-1</i>	62	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	C1KRJ9	<i>Tachypleus tridentatus</i>	65	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	C8YXC4	<i>Mongoloraphidia harmandi</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	D0UY37	<i>Stylochyrus rarior</i>	63	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	H9M730	<i>Bothriocroton concolor</i>	65	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	H9M781	<i>Amblyomma sphenodonti</i>	64	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	K7QG85	<i>Carcinoscorpius rotundicauda</i>	65	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	L7PCD2	<i>Haemaphysalis formosensis</i>	64	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	L7PCT8	<i>Amblyomma cajennense</i>	63	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	M4KDV9	<i>Cupido argiades</i>	67	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P11993	<i>Patiria pectinifera</i>	71	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P15552	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	69	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P24884	<i>Ascaris suum</i>	63	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P33510	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P34854	<i>Anopheles gambiae</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P34855	<i>Apis mellifera ligustica</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P48918	<i>Albinaria caerulea</i>	61	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	P51899	<i>Anopheles arabiensis</i>	44	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q31696	<i>Anopheles quadriannulatus</i>	30	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q34947	<i>Lumbricus terrestris</i>	64	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q35099	<i>Metridium senile</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q36428	<i>Locusta migratoria</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q37710	<i>Artemia franciscana</i>	60	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q4W8D4	<i>Leptotrombidium pallidum</i>	58	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q5G797	<i>Centruroides limpidus</i>	62	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q5QRW7	<i>Mesobuthus gibbosus</i>	62	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q6JCU0	<i>Aleurodicus dugesii</i>	66	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q6JT38	<i>Songthela hangzhouensis</i>	61	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	+	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q6PYA3	<i>Habronattus oregonensis</i>	61	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q76F85	<i>Ornithodoros porcinus</i>	63	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	Q9ZYM7	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	65	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	+	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	R4HER6	<i>Melanitis leda</i>	67	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5	R9QZV5	<i>Amata formosae</i>	67	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	A7YKR6	<i>Anopheles marajoara</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	A9X2X8	<i>Cautires sp. UPOL 000L06</i>	39	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	A9ZMX3	<i>Catocala dissimilis</i>	29	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	B7UBW9	<i>Carabus jankowskii</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	P92099	<i>Carabus markamensis</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q37443	<i>Carabus blaptoides babaianus</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q3LV57	<i>Amblyomma americanum</i>	63	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q4G3P6	<i>Anopheles funestus</i>	31	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q75XY6	<i>Neomicropteryx sp. 4-YK-2003</i>	32	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q85GQ4	<i>Carabus eous eous</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q85GQ9	<i>Carabus cicatricosus cicatricosus</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q8HDW5	<i>Carabus dongchuanicus</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q8M6W0	<i>Delias pasithoe</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q9G6L8	<i>Troides haliphron</i>	34	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q9GBL3	<i>Carabus potanini</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (Fragment)	Q9GBM0	<i>Carabus uenoianus</i>	41	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	B0FWD6	<i>Aedes aegypti</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	O99827	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	17	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	P33513	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	21	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	P34856	<i>Anopheles gambiae</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	P34857	<i>Apis mellifera ligustica</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	Q34050	<i>Ceratitis capitata</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	+	-	-	-

NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 6	Q36425	<i>Locusta migratoria</i>	20	NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
NADPH-cytochrome P450 reductase	B0WFH4	<i>Culex quinquefasciatus</i>	52	oxidoreductase activity	-	-	-	+	+	-
Peroxidasin homolog	A8WQH2	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	147	heme binding	extracellular space	+	+	-	-	-
Peroxinectin	C6ETD3	<i>Scylla serrata</i>	88	peroxidase activity	chorion	-	-	+	+	-
Peroxiredoxin-6	C1BNK0	<i>Caligus rogercresseyi</i>	24	peroxiredoxin activity	cell	-	-	+	+	-
Superoxide dismutase	B0X9L3	<i>Culex quinquefasciatus</i>	15	metal ion binding	-	-	-	+	+	-
Thioredoxin domain-containing protein 3 homolog	P90666	<i>Heliocidaris crassispina</i>	92	nucleoside diphosphate kinase activity	cell	-	+	-	-	+
Thioredoxin-like protein	Q103C3	<i>Bombus ignitus</i>	31	protein disulfide oxidoreductase activity	cell	-	-	+	+	-

Tabela A4. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia – v) Preservação fibrilar da seda. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes a diferentes taxas, obtidas através da busca contra os bancos de dados Arachnidae, Arthropoda e NCBI nr. MW: Peso Molecular, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glandula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

v) PRESERVAÇÃO FIBRILAR DAS PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DA SEDA NA TEIA										
Nome da Proteína	Código de Acesso	Taxonomia	MW (kDa)	Função Molecular	Componente Celular	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
Apolipoporphin-3	O77248	<i>Spodoptera litura</i>	21	lipid binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Apolipoporphin-3	P13276	<i>Manduca sexta</i>	21	lipid binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Apolipoporphin-3	Q6VU70	<i>Hyphantria cunea</i>	21	lipid binding	extracellular region	+	-	-	-	+
Apolipoporphin-3	P81471	<i>Diatraea grandiosella</i>	4	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Apolipoporphins	Q25490	<i>Manduca sexta</i>	367	lipid binding	extracellular region	+	-	-	+	-
Apolipoporphins	Q9U943	<i>Locusta migratoria</i>	372	lipid binding	extracellular region	+	-	-	-	-
3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase	D6WSF8	<i>Tribolium castaneum</i>	89	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	+	+	-
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	O76819	<i>Agrotis ipsilon</i>	90	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P16237	<i>Schistosoma mansoni</i>	107	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity	endoplasmic reticulum membrane	-	+	+	-	+
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P16393	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	101	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	+	+
3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	P54960	<i>Blattella germanica</i>	93	hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
3-hydroxyacyl-coa dehydrogenase	B5M758	<i>Amblyomma americanum</i>	22	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase activity	-	-	+	-	-	-

3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase	A7RIT9	<i>Nematostella vectensis</i>	31	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase	Q60W34	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	32	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
AAEL009531-PA	Q16VL3	<i>Aedes aegypti</i>	141	lipid transporter activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Acetyl-coa carboxylase	B0WE67	<i>Culex quinquefasciatus</i>	260	acetyl-CoA carboxylase activity	-	-	-	+	+	-
Acetyl-CoA carboxylase	M9QV47	<i>Tetranychus urticae</i>	262	acetyl-CoA carboxylase activity	-	-	+	-	-	+
Acyl-coa dehydrogenase (Fragment)	B0XAC9	<i>Culex quinquefasciatus</i>	68	acyl-CoA dehydrogenase activity	-	-	-	+	+	-
Acyl-CoA Delta	O44390	<i>Trichoplusia ni</i>	40	acyl-CoA delta11-desaturase activity	endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Adenylosuccinate lyase	Q60Q90	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	54	(S)-2-(5-amino-1-(5-phospho-D-ribosyl)imidazole-4-carboxamido)succinate AMP-lyase (fumarate-forming) activity	-	-	-	-	-	+
AGAP008807-PA (Fragment)	A0NE24	<i>Anopheles gambiae</i>	431	lipid transporter activity	-	-	-	+	+	-
Argininosuccinate synthase	Q0IFL5	<i>Aedes aegypti</i>	46	argininosuccinate synthase activity	-	-	-	-	+	-
Crotonobetainyl-CoA dehydrogenase	B0XAC8	<i>Culex quinquefasciatus</i>	65	acyl-CoA dehydrogenase activity	-	-	-	+	+	-
Elongation of very long chain fatty acids protein AAEL008004	Q1HRV8	<i>Aedes aegypti</i>	41	3-oxo-arachidoyl-CoA synthase activity	integral component of endoplasmic reticulum membrane	-	-	-	-	+
Fatty acid synthase S-acetyltransferase	B0W8R9	<i>Culex quinquefasciatus</i>	248	hydrolase activity, acting on ester bonds	-	-	-	+	+	-
Fatty acid synthase S-acetyltransferase	B0WEB3	<i>Culex quinquefasciatus</i>	264	-	-	-	-	+	+	-
Fatty acid-binding protein 1	Q9UAS2	<i>Fasciola gigantica</i>	15	lipid binding	-	-	-	-	-	+

Fatty acid-binding protein Fh15	Q7M4G0	<i>Fasciola hepatica</i>	15	lipid binding	-	-	-	-	-	+
Fatty acid-binding protein type 2	Q7M4G1	<i>Fasciola hepatica</i>	15	lipid binding	-	-	+	-	-	-
Fatty-acid and retinol-binding protein 1	Q8WT59	<i>Onchocerca gutturosa</i>	21	fatty acid binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Glycolipid transfer protein-like protein (Fragment)	A3F4R0	<i>Taenia asiatica</i>	22	glycolipid binding	cytoplasm	-	-	+	+	-
Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase 2	P54870	<i>Blattella germanica</i>	51	hydroxymethylglutaryl-CoA synthase activity	-	-	-	-	-	+
Mitochondrial medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	Q1HQM4	<i>Aedes aegypti</i>	46	acyl-CoA dehydrogenase activity	-	-	+	+	+	-
Propionyl-CoA carboxylase alpha chain, mitochondrial	Q612F5	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	81	ATP binding	mitochondrial matrix	-	-	-	-	+
Protein CBR-VIT-6	A8WRB9	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	193	lipid transporter activity	intracellular	+	-	-	-	-
Pyruvate dehydrogenase	O02623	<i>Ascaris suum</i>	45	ATP binding	mitochondrial matrix	-	-	-	-	+
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha type I, mitochondrial	P26267	<i>Ascaris suum</i>	44	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) activity	mitochondrial matrix	-	-	-	-	+
Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha type II, mitochondrial	P26268	<i>Ascaris suum</i>	43	pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) activity	mitochondrial matrix	-	-	-	-	+
Succinate dehydrogenase (Fragment)	R9W2P7	<i>Diploptera punctata</i>	43	oxidoreductase activity	-	-	-	-	-	+
Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	A8WPF0	<i>Caenorhabditis briggsae</i>	31	2 iron, 2 sulfur cluster binding	mitochondrial inner membrane	-	-	-	-	+
Succinyl-CoA:3-ketoacid-coenzyme A transferase	C1BMM0	<i>Caligus rogercresseyi</i>	55	3-oxoacid CoA-transferase activity	mitochondrion	-	-	+	+	-
Trans-2-enoyl-CoA reductase, mitochondrial	B0WHZ2	<i>Culex quinquefasciatus</i>	39	oxidoreductase activity	-	-	-	+	+	-

Tabela A5. Agrupamento das proteínas de acordo com o seu papel funcional na teia: Proteínas relacionadas com a captura e pré-digestão de presas. Na tabela foram consideradas proteínas pertencentes apenas a ordem Araneae (aranhas). MW: Peso Molecular, AGRE: Glândula agregada, AMA: Glândula ampulada maior, FLA: Glândula flageliforme, AME: Glândula ampulada menor, (+) presença da proteína, (-) ausência da proteína.

vii) CAPTURA E PRÉ DIGESTÃO DE PRESAS										
Nome da Proteína	Código de Acesso	Taxonomia	MW (kDa)	Função Molecular	Componente Celular	Glândulas de Seda				Teia
						AGRE	AMA	FLA	AME	
Alcohol dehydrogenase class-3	P81431	<i>Octopus vulgaris</i>	40	alcohol dehydrogenase (NAD) activity	cytoplasm	-	-	-	-	+
Allergen Cr-PI	Q25641	<i>Periplaneta americana</i>	81	nutrient reservoir activity	extracellular space	-	-	-	-	+
Allergen Mag	P39673	<i>Dermatophagoides farinae</i>	40	-	-	-	-	-	-	+
Alpha/kappa-conotoxin-like fe14.2	Q0N4U3	<i>Conus ferrugineus</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin AulB	P56640	<i>Conus aulicus</i>	6	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin GIC	Q86RB2	<i>Conus geographus</i>	4	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin Lp1.1	Q6PTD5	<i>Conus leopardus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Lt14.1	Q2I2R5	<i>Conus litteratus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Ms20.3	C3VVN5	<i>Conus mustelinus</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin Vc1A	P69747	<i>Conus victoriae</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Ac1.1b	P0CAQ5	<i>Conus achatinus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ai1.2	P0CB08	<i>Conus ammiralis</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Bn1.1	P0CE73	<i>Conus bandanus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+

Alpha-conotoxin-like Bn1.3	P0C1Y2	<i>Conus bandanus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ca1.1	P0C1V9	<i>Conus characteristicus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ca1.2	P0C1W0	<i>Conus characteristicus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Cp20.1	P0CE24	<i>Conus capitaneus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Cp20.4	P0CE26	<i>Conus capitaneus</i>	11	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Lp1.2	Q6PTD4	<i>Conus leopardus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Lp1.4	A1X8B6	<i>Conus leopardus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Lp1.7	A1X8C3	<i>Conus leopardus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Lt1.2	Q2I2R7	<i>Conus litteratus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Lt1.3	Q2I2R6	<i>Conus litteratus</i>	8	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like MI20.1	C4PWC4	<i>Conus miles</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like MI20.3	P0CE32	<i>Conus miles</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Mr1.2	A6M934	<i>Conus marmoreus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ms20.2	P0CE28	<i>Conus mustelinus</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ms20.4	P0CE29	<i>Conus mustelinus</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Ms20.5	P0CE30	<i>Conus mustelinus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Pu1.1	A0SE60	<i>Conus pulicarius</i>	8	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Pu1.4	P0C8U8	<i>Conus pulicarius</i>	9	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Qc1.1c	A1X8C6	<i>Conus quercinus</i>	4	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+

Alpha-conotoxin-like Qc1.2	Q6PTD6	<i>Conus quercinus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Qc1.6	A1X8D1	<i>Conus quercinus</i>	4	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Tx1	Q9XZK6	<i>Conus textile</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-conotoxin-like Tx2	Q9XZK7	<i>Conus textile</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Alpha-conotoxin-like Vt20.1	P0CE36	<i>Conus vitulinus</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-insect toxin LqhaIT	P17728	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Alpha-latrocrustotoxin-Lt1a	Q9XZC0	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	158	-	extracellular region	+	+	+	+	+
Alpha-latroitoxin-Lt1a	Q02989	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	158	-	extracellular region	+	+	+	+	+
Alpha-latrotoxin	L7X8P2	<i>Steatoda grossa</i>	156	-	-	-	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7X3J1	<i>Latrodectus hasseltii</i>	24	-	-	-	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7X7N7	<i>Latrodectus geometricus</i>	24	-	-	+	+	+	+	-
Alpha-latrotoxin	L7X7P6	<i>Latrodectus mirabilis</i>	24	-	-	-	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7X7Q4	<i>Steatoda capensis</i>	24	-	-	-	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7X8I3	<i>Latrodectus renivulvatus</i>	24	-	-	+	-	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7X8I8	<i>Latrodectus variegatus</i>	24	-	-	-	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7X8J9	<i>Latrodectus sp. 018</i>	24	-	-	+	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7X8L1	<i>Latrodectus hasseltii</i>	24	-	-	-	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7X8L6	<i>Latrodectus mirabilis</i>	24	-	-	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7X8N6	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	153	-	-	+	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7XAW2	<i>Latrodectus diaguita</i>	24	-	-	-	-	-	-	+

Alpha-latrotoxin	L7XCU0	<i>Latrodectus geometricus</i>	153	-	-	+	+	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7XDR9	<i>Latrodectus hasseltii</i>	153	-	-	+	-	-	-	-
Alpha-latrotoxin	L7XDS4	<i>Latrodectus pallidus</i>	153	-	-	+	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7XE04	<i>Latrodectus sp. LatDR</i>	153	-	-	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin	L7XGA6	<i>Latrodectus hesperus</i>	155	-	-	-	-	-	-	+
Alpha-latrotoxin-Lh1a	G0LXV8	<i>Latrodectus hasseltii</i>	151	-	extracellular region	+	-	+	+	+
Alpha-latrotoxin-Lhe1a	P0DJE3	<i>Latrodectus hesperus</i>	159	-	extracellular region	+	+	-	-	+
Alpha-latrotoxin-Lt1a	P23631	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	157	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Alpha-like toxin CsEv5	P58779	<i>Centruroides sculpturatus</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-like toxin Lqh3	P56678	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Alpha-toxin Amm5	P01482	<i>Androctonus mauritanicus mauritanicus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Alpha-toxin Amm8	Q7YXD3	<i>Androctonus mauritanicus mauritanicus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Alpha-toxin Ts5	P46115	<i>Tityus serrulatus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Aminopeptidase N	P91885	<i>Manduca sexta</i>	107	aminopeptidase activity	anchored component of membrane	-	-	-	+	+
Aminopeptidase N	Q10737	<i>Haemonchus contortus</i>	111	aminopeptidase activity	integral component of membrane	-	-	-	-	+
Antigen EG13	Q07839	<i>Echinococcus granulosus</i>	47	-	-	-	-	-	-	+
Antimicrobial protein 1	A1YV58	<i>Scylla serrata</i>	14	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Anti-neuroexcitation peptide 3	Q9BKJ0	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+

Aplysianin-A	Q17043	<i>Aplysia kurodai</i>	62	oxidoreductase activity	-	-	-	-	-	+
Astacin-like metalloprotease toxin 1	A0FKN6	<i>Loxosceles intermedia</i>	30	metalloendopeptidase activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Astacin-like metalloprotease toxin 2	C9D7R2	<i>Loxosceles intermedia</i>	29	metalloendopeptidase activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Astacin-like metalloprotease toxin 3	C9D7R3	<i>Loxosceles intermedia</i>	28	metalloendopeptidase activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Attacin	Q26431	<i>Bombyx mori</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Attacin-A	P50725	<i>Trichoplusia ni</i>	28	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Attacin-B	P01512	<i>Hyalophora cecropia</i>	26	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Attacin-E	P01513	<i>Hyalophora cecropia</i>	25	-	extracellular region	-	-	+	-	+
Beta/kappa-theraphotoxin-Cg2a	Q2PAY4	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Beta-1,3-glucan-binding protein	Q8MU95	<i>Plodia interpunctella</i>	55	carbohydrate binding	extracellular region	-	-	-	+	+
Beta-1,3-glucan-binding protein	Q9NL89	<i>Bombyx mori</i>	56	carbohydrate binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-1,3-glucan-binding protein	P81182	<i>Litopenaeus vannamei</i>	164	-	extracellular region	+	-	+	-	+
Beta-1,3-glucan-binding protein	O96363	<i>Hyphantria cunea</i>	53	carbohydrate binding	extracellular region	-	+	-	-	+
Beta-1,3-glucan-binding protein 1	Q9NJ98	<i>Manduca sexta</i>	55	carbohydrate binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-1,3-glucan-binding protein 2	Q8ISB6	<i>Manduca sexta</i>	54	carbohydrate binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-insect depressant toxin LqhIT2	Q26292	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Beta-insect depressant toxin LqqIT2	P19855	<i>Leiurus quinquestriatus quinquestriatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	+
Beta-insect excitatory toxin 1	P01497	<i>Androctonus australis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	+
Beta-insect excitatory toxin 2	P15147	<i>Androctonus australis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Beta-insect excitatory toxin Bj-xtrIT	P56637	<i>Hottentotta judaicus</i>	11	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-

Beta-insect excitatory toxin BmK IT-AP	O77091	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Beta-insect excitatory toxin BmKIT1	O61668	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Beta-insect excitatory toxin LqhIT1b	P68722	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	+
Beta-insect excitatory toxin LqhIT1c	P68723	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-insect excitatory toxin LqhIT1d	P68724	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-mammal toxin Tpa2	P84631	<i>Tityus pachyurus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Beta-mammal/insect toxin Lqhb1	P0C5H3	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Beta-neurotoxin CsslX	F1CGT6	<i>Centruroides suffusus suffusus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Beta-toxin Cn5	P45663	<i>Centruroides noxius</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	+
Beta-toxin Tz1	Q2NME3	<i>Tityus zulianus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Big defensin	Q0H293	<i>Argopecten irradians</i>	14	-	extracellular region	-	-	-	-	+
BmK AGP-SYPU2	Q9NJC7	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
BmKBT-like peptide	M4GX67	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Cecropin-1	Q06589	<i>Ceratitis capitata</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Cecropin-A	P01507	<i>Hyalophora cecropia</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Cecropin-B	P04142	<i>Bombyx mori</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Cecropin-C type 1	Q9Y0X9	<i>Aedes albopictus</i>	6	-	extracellular region	-	-	-	-	+

Chitinase 10	Q0Z939	<i>Tribolium castaneum</i>	305	chitinase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Chitinase-like protein EN03	Q9GV28	<i>Bombyx mori</i>	48	chitinase activity	extracellular region	-	-	-	+	+
Chitinase-like protein Idgf1	Q2PQN0	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	51	chitinase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Chitooligosaccharidolytic beta-N-acetylglucosaminidase	P49010	<i>Bombyx mori</i>	68	beta-N-acetylhexosaminidase activity	-	-	-	-	-	+
Chlorotoxin	P45639	<i>Leiurus quinquestriatus quinquestriatus</i>	4	metalloendopeptidase inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Collagenolytic protease 23 kDa	P34156	<i>Chionoecetes opilio</i>	2	metallopeptidase activity	-	-	-	-	-	+
Collagenolytic protease 28 kDa	P20731	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	2	serine-type peptidase activity	-	-	-	-	-	+
Collagenolytic protease 36 kDa C	P20734	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	2	serine-type peptidase activity	-	-	-	-	-	+
Conodipine-M alpha chain	Q9TWL9	<i>Conus magus</i>	8	phospholipase A2 activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin BeB34	Q3YEH6	<i>Conus betulinus</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin BeB54	Q3YEF9	<i>Conus betulinus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Bt11.1	P0C251	<i>Conus betulinus</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Ca11.3	D2DGD5	<i>Conus characteristicus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Ca11a	D2DGD3	<i>Conus characteristicus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Ca11b	D2DGD4	<i>Conus characteristicus</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Ca8.1	B0L0Y5	<i>Conus characteristicus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Cal14.1c	D2Y102	<i>Conus californicus</i>	7	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Conotoxin CcTx	P58928	<i>Conus consors</i>	3	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Gla-MrII	P69770	<i>Conus marmoreus</i>	11	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Gm5.1	Q9U6Z9	<i>Conus gloriamaris</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-

Conotoxin King-Kong 1	P18512	<i>Conus textile</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin King-Kong 2	P18513	<i>Conus textile</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Leo-T1	P0C906	<i>Conus leopardus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin LiC33	Q3YEH4	<i>Conus lividus</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin LiCr95	Q3YEE6	<i>Conus lividus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Lp5.1	Q6PN81	<i>Conus leopardus</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Lt5.1	Q1A3R3	<i>Conus litteratus</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Lt6.5	Q2I2R0	<i>Conus litteratus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Malr34	Q3YEF1	<i>Conus marmoreus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin mr5.3	Q6PN83	<i>Conus marmoreus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin mr5.4a	Q6PN82	<i>Conus marmoreus</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin mr5a	P69764	<i>Conus marmoreus</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin p5a	Q9U6Z6	<i>Conus purpurascens</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Pn-B0151	Q9BPG0	<i>Conus pennaceus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin PnMRCL-0111	Q9BPF4	<i>Conus pennaceus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Pu11.1	D2DGD6	<i>Conus pulicarius</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Conotoxin Pu5.5	P0C640	<i>Conus pulicarius</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin Qc3.1	Q5EHP1	<i>Conus quercinus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Conotoxin S6.11	P0C834	<i>Conus striatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Conotoxin Vc6.3	P69760	<i>Conus victoriae</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Conotoxin VxVIB	Q8IS41	<i>Conus vexillum</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Contulakin-Lt2	Q2I2P2	<i>Conus litteratus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+

Ctenidin-3	P86797	<i>Cupiennius salei</i>	12	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Cystine knot toxin	S5MFI4	<i>Dolomedes mizhoanus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Cystine knot toxin	S5MJU2	<i>Dolomedes mizhoanus</i>	10	-	-	+	-	-	-	-
Cystine knot toxin	S5N3S9	<i>Dolomedes mizhoanus</i>	9	-	-	-	-	+	+	-
Cystine knot toxin	S5N3U3	<i>Dolomedes mizhoanus</i>	10	-	-	-	+	-	-	-
Defense protein 3	Q5MGE6	<i>Lonomia obliqua</i>	25	-	extracellular region	-	-	-	-	+
DELTA-actitoxin-Aeq1a	P61914	<i>Actinia equina</i>	24	channel activity	extracellular region	+	-	-	-	+
DELTA-actitoxin-Aeq1b	Q93109	<i>Actinia equina</i>	24	channel activity	extracellular region	+	-	-	-	-
DELTA-actitoxin-Aeq1c	Q9Y1U9	<i>Actinia equina</i>	24	channel activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Delta-actitoxin-Aeq2a	Q9NJK2	<i>Actinia equina</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Delta-actitoxin-Amc3a	P69928	<i>Antheopsis maculata</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
DELTA-alicitoxin-Pse1a	P0DL55	<i>Phyllodiscus semoni</i>	25	channel activity	extracellular region	+	-	-	-	+
DELTA-alicitoxin-Pse2a	P58911	<i>Phyllodiscus semoni</i>	56	-	extracellular region	+	-	-	-	+
DELTA-alicitoxin-Pse2b	P58912	<i>Phyllodiscus semoni</i>	54	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Delta-conotoxin-like S6.8	B2KJ30	<i>Conus striatus</i>	9	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Delta-ctenitoxin-Pr2d	P83904	<i>Phoneutria reidy</i>	5	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Delta-latroinsectotoxin-Lt1a	Q25338	<i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	136	-	extracellular region	+	+	+	+	+
DELTA-stichotoxin-Hcr4b	P0C1F8	<i>Heteractis crispa</i>	19	channel activity	extracellular region	-	-	-	-	+
DELTA-stichotoxin-Hmg2a	Q9U6X1	<i>Heteractis magnifica</i>	23	channel activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Delta-stichotoxin-Sgt2a	Q76CA3	<i>Stichodactyla gigantea</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Delta-stichotoxin-Sgt3a	Q76CA0	<i>Stichodactyla gigantea</i>	9	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Delta-stichotoxin-Shd3a	B1B5I9	<i>Stichodactyla haddoni</i>	9	-	extracellular region	+	-	-	-	-
DELTA-thalatoxin-Avl1a	Q5R231	<i>Actineria villosa</i>	25	channel activity	extracellular region	+	-	-	-	+
DELTA-thalatoxin-Avl2a	Q76DT2	<i>Actineria villosa</i>	55	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Delta-theraphotoxin-Cg1a 2	B1P1B7	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-

Depressant scorpion toxin BmKIM	Q8I0K7	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Der f 5 allergen	A1KXG5	<i>Dermatophagoides farinae</i>	15	-	-	-	+	-	-	-
Diapause-specific peptide	Q8T0W8	<i>Gastrophysa atrocyanea</i>	7	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Diptericin-D	P18684	<i>Protophormia terraenovae</i>	11	-	-	-	-	-	-	+
Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10-like Protein	A0A139WMP5	<i>Tribolium castaneum</i>	123	metal ion binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Echotoxin-2	Q76CA2	<i>Monoplex parthenopeus</i>	30	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Endochitinase	P36362	<i>Manduca sexta</i>	62	chitinase activity	extracellular region	-	-	+	-	+
Esterase B1	P16854	<i>Culex pipiens</i>	61	carboxylic ester hydrolase activity	-	-	-	-	-	+
Esterase B2	P21370	<i>Culex pipiens</i>	25	carboxylic ester hydrolase activity	-	-	-	-	-	+
Esterase E4	P35501	<i>Myzus persicae</i>	61	carboxylic ester hydrolase activity	-	-	-	+	-	+
Esterase FE4	P35502	<i>Myzus persicae</i>	63	carboxylic ester hydrolase activity	-	-	-	-	-	+
Female-specific histamine-binding protein 2	O77421	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	21	amine binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Glacontryphan-M	P62903	<i>Conus marmoreus</i>	63	-	-	-	-	-	-	+
Glycoprotein antigen BM86	P20736	<i>Rhipicephalus microplus</i>	72	-	anchored component of membrane	+	+	-	-	-
Group 14 allergen protein	Q8N0N0	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	191	lipid transporter activity	-	+	+	+	+	-
Group 2 allergen Ale o 2	Q2VXY3	<i>Aleuroglyphus ovatus</i>	16	-	-	-	+	-	-	-
Hainantoxin-XV-2	D2Y2B8	<i>Haploelma hainanum</i>	13	-	extracellular region	-	-	+	+	-

Hainantoxin-XVII	D2Y2C5	<i>Haplopelma hainanum</i>	11	-	extracellular region	-	-	+	+	-
Hemolin	P25033	<i>Hyalophora cecropia</i>	46	-	extracellular space	-	-	-	-	+
Hemolin	P31398	<i>Manduca sexta</i>	46	-	extracellular space	-	-	-	-	+
Heteroscorpine-1	POC2F4	<i>Heterometrus laoticus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Hg-scorpine-like 2	POC8W5	<i>Hadrurus gertschi</i>	11	-	extracellular region	-	-	+	-	+
High molecular weight allergen M-177	Q9U785	<i>Euroglyphus maynei</i>	191	lipid transporter activity	-	+	+	-	-	-
HW18gL8 toxin-like	B2ZBA9	<i>Haplopelma schmidtii</i>	12	-	-	+	-	-	-	-
Hyaluronidase	Q08169	<i>Apis mellifera</i>	44	hyaluronoglucosaminidase activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Hyaluronidase	P49371	<i>Dolichovespula maculata</i>	39	hyaluronoglucosaminidase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Hydralysin-1	Q86LR2	<i>Hydra viridissima</i>	26	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Insect toxin 2-13	P68725	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Insect toxin 2-53	P68726	<i>Leiurus quinquestriatus hebraeus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Insect toxin BsIT4	P82814	<i>Hottentotta tamulus indicus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Insect toxin TbIT-1	P60275	<i>Tityus bahiensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Insectotoxin-I1	P15220	<i>Mesobuthus eupeus</i>	4	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Insectotoxin-I3	P60268	<i>Mesobuthus eupeus</i>	4	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Insectotoxin-I5A	P15222	<i>Mesobuthus eupeus</i>	4	-	extracellular region	+	-	+	+	-
Insect-toxin Cn10	Q94435	<i>Centruroides noxius</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Iota-conotoxin-like R11.3	Q7Z090	<i>Conus radiatus</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Kappa-actitoxin-Aer3a	Q0EAE5	<i>Anemonia erythraea</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	+

Kappa-actitoxin-Bgr1a	P29186	<i>Bunodosoma granuliferum</i>	4	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Kappa-conotoxin SIVA	P0C828	<i>Conus striatus</i>	7	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Kappa-conotoxin-like SIVB	P0C829	<i>Conus striatus</i>	9	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Kappa-theraphotoxin-Cg1a 1	P0C247	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	+	-	+
Kappa-theraphotoxin-Cg1a 5	B1P1E3	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Kappa-theraphotoxin-Gr1a	P56852	<i>Grammostola rosea</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Killer toxin-resistance protein, putative	B7PJA9	<i>Ixodes scapularis</i>	156	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase activity	endoplasmic reticulum	+	+	-	-	+
Kunitz-type kappaPI-theraphotoxin-Hs1a	P68425	<i>Haplopelma schmidti</i>	10	serine-type endopeptidase inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Kunitz-type U15-theraphotoxin-Hs1a	B2ZBB8	<i>Haplopelma schmidti</i>	10	serine-type endopeptidase inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Latartoxin-2a	B3EWF4	<i>Lachesana tarabaevi</i>	13	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Lipolysis-activating peptide 1-alpha chain	Q6WJF5	<i>Mesobuthus martensii</i>	11	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Lysenin	O18423	<i>Eisenia fetida</i>	33	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Lysozyme	P86383	<i>Meretrix lusoria</i>	13	lysozyme activity	extracellular region	-	-	+	-	-
Lysozyme	P37715	<i>Asterias rubens</i>	3	lysozyme activity	-	-	-	-	-	+
Lysozyme c-1	Q17005	<i>Anopheles gambiae</i>	15	lysozyme activity	extracellular space	-	-	-	-	+
Major allergen Ani s 1	Q7Z1K3	<i>Anisakis simplex</i>	21	serine-type endopeptidase inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Major antigen	P21249	<i>Onchocerca volvulus</i>	237	-	-	+	-	-	-	+

Makatoxin-1	P56569	<i>Mesobuthus martensii</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Makatoxin-2	Q86BW9	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Makatoxin-3	P59853	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Matrix metalloproteinase 16	Q4G2F5	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	63	calcium ion binding	extracellular matrix	-	-	+	+	-
Metalloendopeptidase	Q2YHL3	<i>Haemonchus contortus</i>	57	metalloendopeptidase activity	-	-	-	+	+	-
Millepora cytotoxin-1	A8QZJ5	<i>Millepora dichotoma</i>	26	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Mite allergen Der f 6	P49276	<i>Dermatophagoides farinae</i>	31	serine-type endopeptidase activity	extracellular region	-	-	-	+	+
Mite allergen Der p 5	P14004	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	16	-	-	+	-	-	-	+
Mite allergen Der p 6	P49277	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	2	serine-type peptidase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mite allergen Eur m 3	O97370	<i>Euroglyphus maynei</i>	28	serine-type endopeptidase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mite group 2 allergen Der f 2	Q00855	<i>Dermatophagoides farinae</i>	16	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Mite group 2 allergen Pso o 2	Q965E2	<i>Psoroptes ovis</i>	15	-	extracellular region	-	-	-	-	+
M-lycotoxin-Hc1a	P61507	<i>Hogna carolinensis</i>	3	-	extracellular region	-	+	-	-	-
M-lycotoxin-Ls3a	P0C2U6	<i>Lycosa singoriensis</i>	2	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Mu-conotoxin MrVIB	Q26443	<i>Conus marmoreus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-conotoxin PIIIA	P58925	<i>Conus purpurascens</i>	8	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-conotoxin SIIIA	Q86DU6	<i>Conus striatus</i>	8	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Mu-ctenitoxin-Pn1a	P17727	<i>Phoneutria nigriventer</i>	12	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-hexatoxin-Mg1a	P83558	<i>Macrothele gigas</i>	14	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-

Multidrug resistance-associated protein 1	B0WWS0	<i>Culex quinquefasciatus</i>	143	ATPase activity, coupled to transmembrane movement of substances	integral component of membrane	+	-	-	-	-
Multidrug resistance-associated protein 2	B0W305	<i>Culex quinquefasciatus</i>	159	ATPase activity, coupled to transmembrane movement of substances	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Mu-theraphotoxin-Cg1a	B1P1F7	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-theraphotoxin-Hhn2a 1	D2Y1X9	<i>Haplopelma hainanum</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-theraphotoxin-Hhn2a 6	D2Y1Z4	<i>Haplopelma hainanum</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Mu-theraphotoxin-Hhn2b 1	D2Y1X6	<i>Haplopelma hainanum</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Myticin-B	P82102	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	11	-	extracellular region	-	-	-	-	+
M-zodatoxin-Lt4a	Q1ELU5	<i>Lachesana tarabaevi</i>	24	-	extracellular region	-	-	-	-	+
M-zodatoxin-Lt4b	Q1ELU4	<i>Lachesana tarabaevi</i>	20	-	extracellular region	-	-	-	-	+
M-zodatoxin-Lt8h	P85247	<i>Lachesana tarabaevi</i>	15	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin 8	P04098	<i>Buthus occitanus tunetanus</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin 8-related gene product 1/2/3	Q2YHM1	<i>Androctonus mauritanicus mauritanicus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin alpha-KTx 12.7	P0CI48	<i>Lychas mucronatus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin beta-KTx 7	D9U2A7	<i>Lychas mucronatus</i>	11	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Neurotoxin B-II	P01526	<i>Cerebratulus lacteus</i>	6	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin BmK-M3	P15227	<i>Mesobuthus martensii</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-

Neurotoxin BtITx3	P83400	<i>Mesobuthus tamulus</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin Cex1	Q68PH4	<i>Centruroides exilicauda</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Neurotoxin Cex2	Q68PH3	<i>Centruroides exilicauda</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Neurotoxin LmNaTx17	D9U2A1	<i>Lychas mucronatus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurotoxin LmNaTx3	D9U298	<i>Lychas mucronatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Neurotoxin LmNaTx34.5	P0CI60	<i>Lychas mucronatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Neurotoxin TxP1-1	C6ZJP9	<i>Pyemotes sp. PA4</i>	22	-	-	+	-	-	-	-
Neurotoxin X-29S	Q7Z0F1	<i>Mesobuthus martensii</i>	6	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Neurotoxin-1"	P01479	<i>Androctonus australis</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Neurtoxin 10	P0CJ01	<i>Lychas mucronatus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Omega/Kappa-hexatoxin-Hv1g_6 insecticidal toxin	S0F208	<i>Hadronyche versuta</i>	8	-	-	+	-	-	-	-
Omega-agatoxin-Aa1b	P15970	<i>Agelenopsis aperta</i>	4	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-agatoxin-Aa3d	P81746	<i>Agelenopsis aperta</i>	4	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-agatoxin-Aa4a	P30288	<i>Agelenopsis aperta</i>	5	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin CVIA	P58917	<i>Conus catus</i>	8	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-conotoxin SO-3	Q9XZK2	<i>Conus striatus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-conotoxin-like 2/7	Q5K0B9	<i>Conus imperialis</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin-like 3	Q5K0C0	<i>Conus imperialis</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin-like SO-4	Q9XZK3	<i>Conus striatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+

Omega-conotoxin-like SO-5	Q9XZK4	<i>Conus striatus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin-like SVIA mutant 1	Q9XZL4	<i>Conus striatus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-conotoxin-like SVIA mutant 2	Q9XZL5	<i>Conus striatus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Omega-conotoxin-like TeA61	Q3YEF3	<i>Conus textile</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-conotoxin-like TxMKLT1-0141	Q9U651	<i>Conus textile</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-hexatoxin-Ar1a	P83580	<i>Atrax robustus</i>	9	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Omega-hexatoxin-Ar1b	A5A3H1	<i>Atrax robustus</i>	8	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Omega-hexatoxin-Hvn1b_2 insecticidal toxin	S0F205	<i>Hadronyche venenata</i>	9	calcium channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
OMEGA-stichotoxin-Sgt1a	Q76CA1	<i>Stichodactyla gigantea</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Omega-theraphotoxin-Bs2a	B3FIV1	<i>Brachypelma smithi</i>	11	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Omega-theraphotoxin-Hs1a	P68424	<i>Haplopelma schmidti</i>	8	-	extracellular region	-	+	-	-	+
Opiscorpine-2	Q5WR01	<i>Opisthophthalmus carinatus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Opistoporin-1	P83313	<i>Opisthophthalmus carinatus</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Orientotoxin-1	Q7M3V4	<i>Vespa orientalis</i>	17	lysophospholipase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Orientotoxin-2	Q7M3V3	<i>Vespa orientalis</i>	15	phospholipase A2 activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Peptide BmKn1	Q9GQW4	<i>Mesobuthus martensii</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Peptidoglycan-recognition protein	D2STU4	<i>Anopheles arabiensis</i>	20	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase activity	-	-	-	+	+	-

Peptidoglycan-recognition protein	D2STZ2	<i>Anopheles gambiae</i>	20	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase activity	-	-	-	+	+	-
Peritrophin-48	P91745	<i>Lucilia cuprina</i>	41	chitin binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phenoloxidase subunit 1	Q27451	<i>Bombyx mori</i>	79	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phenoloxidase subunit 1	P85046	<i>Simulium damnosum</i>	23	metal ion binding	extracellular region	-	+	+	-	-
Phenoloxidase subunit 1	O44249	<i>Manduca sexta</i>	79	chloride ion binding	extracellular region	-	-	+	-	+
Phenoloxidase subunit 2	Q27452	<i>Bombyx mori</i>	80	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phenoloxidase subunit 2	Q25519	<i>Manduca sexta</i>	80	chloride ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A1	Q9U6W0	<i>Polistes annularis</i>	33	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	+	-	+
Phospholipase A1	A2VBC4	<i>Polybia paulista</i>	36	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A1	Q3ZU95	<i>Vespula germanica</i>	33	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A1	P49369	<i>Vespula vulgaris</i>	38	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A1 1	Q6Q252	<i>Polistes dominula</i>	38	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A1 2	P53357	<i>Dolichovespula maculata</i>	34	1-acyl-2-lysophosphatidylserine acylhydrolase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase A2	P0C8L9	<i>Hadrurus gertschi</i>	27	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase C-like protein	C5J8D0	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	24	calcium ion binding	intracellular	-	+	-	-	-
Phospholipase D LarSicTox-alpha1B1ai	Q4ZFU1	<i>Loxosceles arizonica</i>	34	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+

Phospholipase D LarSicTox-alphaB2a	Q7Z1Y7	<i>Loxosceles arizonica</i>	36	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LbSicTox-alphaB1a	Q5YD77	<i>Loxosceles boneti</i>	31	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LbSicTox-betaA1a	Q5YD76	<i>Loxosceles boneti</i>	32	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LgSicTox-alphaA1	Q4VDB5	<i>Loxosceles gaucho</i>	31	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alpha-1	P0C2L0	<i>Loxosceles intermedia</i>	4	metal ion binding	extracellular region	-	+	-	-	-
Phospholipase D LiSicTox-alphaA2bi	B2KKV6	<i>Loxosceles intermedia</i>	34	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaA2bii	B2KKV7	<i>Loxosceles intermedia</i>	34	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaII1	Q1W695	<i>Loxosceles intermedia</i>	35	metal ion binding	extracellular region	+	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaII2	B2KKW0	<i>Loxosceles intermedia</i>	36	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaV1	A4USB4	<i>Loxosceles intermedia</i>	35	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-betaA1i	Q2XQ09	<i>Loxosceles intermedia</i>	34	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-betaID1	Q1W694	<i>Loxosceles intermedia</i>	35	metal ion binding	extracellular region	+	+	+	+	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaIII-1	P0C2L1	<i>Loxosceles laeta</i>	3	metal ion binding	extracellular region	+	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaIII1i	Q8I914	<i>Loxosceles laeta</i>	35	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaIII1ii	Q1KY80	<i>Loxosceles laeta</i>	32	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaIII2	Q1KY79	<i>Loxosceles laeta</i>	33	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LiSicTox-alphaIII3i	Q8I913	<i>Loxosceles laeta</i>	35	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D LspiSicTox-betaIE2iii	C0JB43	<i>Loxosceles spinulosa</i>	31	metal ion binding	extracellular region	-	+	-	-	-

Phospholipase D LsSicTox-alphaIA1	Q56JA9	<i>Loxosceles similis</i>	31	metal ion binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Phospholipase D SdSicTox-betaIB2i	C0JB89	<i>Sicarius cf. damarensis</i>	32	metal ion binding	extracellular region	-	+	-	-	-
Plancitoxin-1	Q75WF2	<i>Acanthaster planci</i>	40	deoxyribonuclease II activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Potassium channel toxin AaTXK-beta	P69939	<i>Androctonus australis</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Potassium channel toxin alpha-KTx	P0C8X8	<i>Hadrurus gertschi</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Potassium channel toxin alpha-KTx 1.5	Q9NII6	<i>Mesobuthus martensii</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 11.2	P60165	<i>Parabuthus villosus</i>	4	potassium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 15.4	Q867F4	<i>Androctonus australis</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Potassium channel toxin alpha-KTx 15.5	Q86SD8	<i>Androctonus australis</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Potassium channel toxin alpha-KTx 16.2	Q9N BG9	<i>Mesobuthus martensii</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 17.2	P0CI46	<i>Lychas mucronatus</i>	6	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 2.6	P59849	<i>Centruroides limbatus</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	+	+	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 22.1	Q8MUB1	<i>Mesobuthus martensii</i>	7	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 27.3	P0CI84	<i>Lychas mucronatus</i>	7	-	extracellular region	-	-	+	+	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 3.5	P45696	<i>Androctonus australis</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 3.6	Q9NII7	<i>Mesobuthus martensii</i>	6	potassium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 3.8	P59886	<i>Hottentotta tamulus indicus</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-

Potassium channel toxin alpha-KTx 4.3	P59925	<i>Tityus discrepans</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 5.3	Q9TVX3	<i>Mesobuthus martensii</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.10	Q6XLL5	<i>Opisthophthalmus carinatus</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	+
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.11	P0C194	<i>Opisthacanthus madagascariensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.13	P84094	<i>Heterometrus spinifer</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.14	P84864	<i>Hadrurus gertschi</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.16	C5J896	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 6.3	P59867	<i>Heterometrus spinifer</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin alpha-KTx 8.2	Q9U8D2	<i>Mesobuthus martensii</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Potassium channel toxin BmTXK-beta-2	Q9N661	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Potassium channel toxin gamma-KTx 1.1	Q86QT3	<i>Centruroides noxius</i>	7	potassium channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	+
Potassium channel toxin gamma-KTx 2.1	Q9BKB7	<i>Mesobuthus eupeus</i>	6	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Potassium channel toxin Ttr-beta-KTx	Q0GY46	<i>Tityus trivittatus</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Procalin	Q9U6R6	<i>Triatoma protracta</i>	19	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Putative alpha-conotoxin Qc alphaL-1	A1X8B8	<i>Conus quercinus</i>	8	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	+
Putative alpha-conotoxin Qc alphaL-2	A1X8B9	<i>Conus quercinus</i>	8	acetylcholine receptor inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8R704	<i>Ixodes ricinus</i>	32	-	-	-	+	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8R9K4	<i>Ixodes ricinus</i>	25	-	-	+	-	-	-	-

Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8R9N2	<i>Ixodes ricinus</i>	25	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8REY5	<i>Ixodes ricinus</i>	32	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8RFI3	<i>Ixodes ricinus</i>	27	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8RK52	<i>Ixodes ricinus</i>	32	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8RK67	<i>Ixodes ricinus</i>	31	-	-	-	+	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein	A0A0K8RK70	<i>Ixodes ricinus</i>	34	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein (Fragment)	A0A0K8RMQ2	<i>Ixodes ricinus</i>	34	-	-	+	-	-	-	-
Putative cytotoxin-like protein (Fragment)	A0A0K8RPR3	<i>Ixodes ricinus</i>	30	-	-	-	+	-	-	-
Putative toxin	D5J6Y1	<i>Pelinobius muticus</i>	13	-	-	+	+	-	-	-
Putative toxin	D5J6Y2	<i>Pelinobius muticus</i>	12	-	-	-	+	-	-	-
Putative toxin (Fragment)	C5J8C9	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	9	-	-	-	+	-	-	-
Putative uncharacterized protein	B3RWC4	<i>Trichoplax adhaerens</i>	195	carbohydrate binding	integral component of membrane	-	-	+	+	-
Rhinocerosin	O76145	<i>Oryctes rhinoceros</i>	16	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Sapecin-B	P31529	<i>Sarcophaga peregrina</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Sarcotoxin II-3	P24490	<i>Sarcophaga peregrina</i>	31	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-1A	P08375	<i>Sarcophaga peregrina</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-1B	P08376	<i>Sarcophaga peregrina</i>	7	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Sarcotoxin-2A	P14667	<i>Sarcophaga peregrina</i>	31	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Scolopendra 20417.15 Da toxin (Fragment)	P0C8D7	<i>Scolopendra viridicornis nigra</i>	5	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Scolopendra 20528.11 Da toxin (Fragment)	P0C8D4	<i>Scolopendra angulata</i>	3	-	extracellular region	+	-	-	-	-
Scolopendra 20566.01 Da toxin (Fragment)	P0C8D5	<i>Scolopendra angulata</i>	3	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Scorpine	P56972	<i>Pandinus imperator</i>	10	-	extracellular region	-	-	-	-	+
SE-cephalotoxin	B2DCR8	<i>Sepia esculenta</i>	120	-	extracellular region	+	-	-	-	+

Serine protease SSP1	O96900	<i>Scolopendra subspinipes</i>	31	serine-type endopeptidase activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Serine proteinase inhibitor (Fragment)	Q684X9	<i>Mesobuthus gibbosus</i>	12	-	extracellular space	-	+	-	-	-
Serpin 17 inhibitory serine protease inhibitor (Fragment)	C6JZV5	<i>Anopheles gambiae</i>	21	peptidase activity	extracellular space	-	+	+	+	-
Serpin 8 inhibitory serine protease inhibitor (Fragment)	C6JYK9	<i>Anopheles arabiensis</i>	25	peptidase activity	extracellular space	-	-	+	+	-
Serpin-29	C0J8H8	<i>Bombyx mori</i>	42	-	-	-	-	+	+	-
Sodium channel neurotoxin alpha type NaTxalpha-12 (Fragment)	E7CZZ1	<i>Mesobuthus eupeus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Tachykinins	Q868G6	<i>Apis mellifera</i>	39	neurotransmitter transporter activity	extracellular space	-	-	-	-	+
Tachyplestin-1	P14213	<i>Tachypleus tridentatus</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Tachyplestin-2	P14214	<i>Tachypleus tridentatus</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Tau/kappa-theraphotoxin-Pc1a	P0C244	<i>Psalmopoeus cambridgei</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin AahP1005	Q9BLM4	<i>Androctonus australis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Toxin Aam2	Q86SE0	<i>Androctonus amoreuxi</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin Acra II-1	P0C295	<i>Androctonus crassicauda</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin Acra2 (Fragment)	P0C2A0	<i>Androctonus crassicauda</i>	2	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin BmCa-1	Q8I6X9	<i>Mesobuthus martensii</i>	7	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin BmKa1	Q9GYX2	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin BmKAEP	P15228	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin BmKaTX15	Q9GNG8	<i>Mesobuthus martensii</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-

Toxin BmKaTx16	Q9GQV6	<i>Mesobuthus martensii</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin CaTX-A	Q9GNN8	<i>Carybdea alata</i>	52	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin CfTX-1	A7L035	<i>Chironex fleckeri</i>	51	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin CfTX-2	A7L036	<i>Chironex fleckeri</i>	52	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin ClI4	Q7Z1K8	<i>Centruroides limpidus</i>	10	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin ClI5c	Q7YT61	<i>Centruroides limpidus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin ClI9	Q8WRY4	<i>Centruroides limpidus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	+
Toxin Cn1	P15223	<i>Centruroides noxius</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin CngtIII	P45664	<i>Centruroides noxius</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin CqTX-A	P58762	<i>Chiropsalmus quadrigatus</i>	52	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin CrTX-A	Q9GV72	<i>Carybdea rastonii</i>	49	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin CsE9	Q95WC9	<i>Centruroides sculpturatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin CsEv1	P01492	<i>Centruroides sculpturatus</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Toxin Css39.8	B7FDP2	<i>Centruroides suffusus suffusus</i>	10	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
Toxin CSTX-11	B3EWT1	<i>Cupiennius salei</i>	8	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin Os1	P15224	<i>Orthochirus scrobiculosus</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin Tb2	P56609	<i>Tityus bahiensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Toxin Tb2-II	P60276	<i>Tityus bahiensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Toxin Td10	Q1I176	<i>Tityus discrepans</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-

Toxin Td2	Q1I179	<i>Tityus discrepans</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin Td7	Q1I164	<i>Tityus discrepans</i>	8	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin Td8	Q1I163	<i>Tityus discrepans</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin TdII-4	P60263	<i>Tityus discrepans</i>	3	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin TdNa1	C9X4J9	<i>Tityus discrepans</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin TdNa3	C9X4K1	<i>Tityus discrepans</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
Toxin TdNa6	C9X4K4	<i>Tityus discrepans</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Toxin To3	P60213	<i>Tityus obscurus</i>	10	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin tox21A	Q07338	<i>Pyemotes tritici</i>	33	-	extracellular region	+	-	-	-	+
Toxin Tpa5	H1ZZI6	<i>Tityus pachyurus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin Tpa7	H1ZZI8	<i>Tityus pachyurus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin Tst1	P56612	<i>Tityus stigmurus</i>	9	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
Toxin TxP-I	P20798	<i>Pyemotes tritici</i>	32	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Toxin-like TcoNTxP1	Q5G8A8	<i>Tityus costatus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide Gdm9.1	P0C847	<i>Gemmula diomedea</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide Gkn9.1	P0C848	<i>Gemmula kieneri</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide Gsg9.1	P0C846	<i>Gemmula sagodensis</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide Gsp9.1	P0C845	<i>Gemmula speciosa</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide Gsp9.2	P0C850	<i>Gemmula speciosa</i>	9	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Turriptide PalAa (Fragment)	P0C1X4	<i>Polystira albida</i>	11	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U10-agatoxin-Ao1a	Q5Y4U2	<i>Agelena orientalis</i>	13	-	extracellular region	+	-	-	-	-

U10-ctenitoxin-Pr1a	P84000	<i>Phoneutria reidy</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
U11-hexatoxin-Mg1a	Q75WH3	<i>Macrothele gigas</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U12-lycotoxin-Ls1a	B6DD13	<i>Lycosa singoriensis</i>	10	-	extracellular region	-	+	-	-	-
U13-hexatoxin-Mg1a	Q75WG7	<i>Macrothele gigas</i>	13	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U13-theraphotoxin-Cg1a	B1P1D7	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	10	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	+	-	-	-
U17-ctenitoxin-Pn1a	P83996	<i>Phoneutria nigriventer</i>	4	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	-	+
U18-ctenitoxin-Pn1a	P83999	<i>Phoneutria nigriventer</i>	5	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U1-ctenitoxin-Pn1a	P61229	<i>Phoneutria nigriventer</i>	9	-	extracellular region	-	+	-	-	-
U1-cyrtautoxin-As1a	P49267	<i>Apomastus schlingeri</i>	8	-	extracellular region	-	+	-	-	-
U1-plectoxin-Pt1c	P36985	<i>Plectreurys tristis</i>	9	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U1-plectoxin-Pt1f	P36988	<i>Plectreurys tristis</i>	5	-	extracellular region	-	+	-	-	-
U1-segestritoxin-Sf1a	P61504	<i>Segestria florentina</i>	4	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U1-theraphotoxin-Pm1a	D5J6X1	<i>Pelinobius muticus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
U21-ctenitoxin-Pn1a	P84033	<i>Phoneutria nigriventer</i>	27	serine-type endopeptidase activity	extracellular region	+	-	-	-	+
U24-ctenitoxin-Pn1a	P84032	<i>Phoneutria nigriventer</i>	15	cysteine-type endopeptidase inhibitor activity	extracellular region	+	-	-	-	-
U26-theraphotoxin-Cg1b	B1P1H7	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	12	sodium channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	-	+	-
U2-agatoxin-Ao1d	Q5Y4Y2	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1f	Q5Y4Y0	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	+	+	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1i	Q5Y4X7	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U2-agatoxin-Ao1k	Q5Y4X5	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	-	-	+	+	-
U2-agatoxin-Ao1m	Q5Y4X3	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	+
U2-ctenitoxin-Pn1a	P29423	<i>Phoneutria nigriventer</i>	10	-	extracellular region	+	-	-	-	-

U2-plectoxin-Pt1a	P36989	<i>Plectreurys tristis</i>	5	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U2-sicaritoxin-Li1a	Q6B4T3	<i>Loxosceles intermedia</i>	9	-	extracellular region	+	-	-	-	+
U2-theraphotoxin-Cg1a	B1P1A2	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	7	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
U31-theraphotoxin-Cg1a	B1P1I3	<i>Chilobrachys guangxiensis</i>	13	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U3-agatoxin-Ao1i	Q5Y4V0	<i>Agelena orientalis</i>	8	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U3-aranetoxin-Ce1a	Q8MTX1	<i>Caerostris extrusa</i>	11	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U3-ctenitoxin-Pk1a	P83915	<i>Phoneutria keyserlingi</i>	3	-	extracellular region	+	-	-	-	-
U4-ctenitoxin-Pk1a	P83896	<i>Phoneutria keyserlingi</i>	5	-	extracellular region	+	-	-	-	+
U7-theraphotoxin-Hhn1a 2	D2Y2A1	<i>Haplopelma hainanum</i>	11	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	-	+	+	-
U8-hexatoxin-Mg1a	Q75WH6	<i>Macrothele gigas</i>	8	-	extracellular region	-	-	-	-	+
U9-agatoxin-Ao1a	Q5Y4U3	<i>Agelena orientalis</i>	12	-	extracellular region	-	+	-	-	+
Uncharacterized protein	J9K363	<i>Acyrthosiphon pisum</i>	89	serine-type peptidase activity	-	-	-	-	-	+
Uncharacterized protein	K7JDE2	<i>Nasonia vitripennis</i>	67	-	-	-	-	+	+	-
Venom acid phosphatase Acph-1	Q5BLY5	<i>Apis mellifera</i>	45	acid phosphatase activity	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 2	P35775	<i>Solenopsis invicta</i>	15	odorant binding	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	Q05108	<i>Dolichovespula arenaria</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	Q05109	<i>Polistes annularis</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	P35780	<i>Polistes fuscatus</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	P35785	<i>Vespula pensylvanica</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	P35787	<i>Vespula vidua</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	P81656	<i>Polistes dominula</i>	25	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5	P83377	<i>Polistes gallicus</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5.01	P35781	<i>Vespa crabro</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+

Venom allergen 5.02	P10737	<i>Dolichovespula maculata</i>	24	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom allergen 5.02	P35782	<i>Vespa crabro</i>	23	-	extracellular region	-	-	-	-	+
Venom metalloprotease-1	E4VNZ7	<i>Mesobuthus eupeus</i>	45	metal ion binding	-	-	+	-	-	+
Venom protein 30.1	P0CJ18	<i>Lychas mucronatus</i>	17	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Venom sodium channel toxin-3	E4VP24	<i>Mesobuthus eupeus</i>	9	ion channel inhibitor activity	extracellular region	-	+	-	-	-
Venom toxin (Fragment)	C5J8B3	<i>Opisthacanthus cayaporum</i>	25	-	extracellular region	-	+	-	-	-
Zinc metalloprotease	Q86RS4	<i>Manduca sexta</i>	88	metalloendopeptidase activity	integral component of membrane	-	-	+	+	-