

Recherche des enzymes impliquées dans la voie de dégradation du 2-EHN

Les enzymes impliquées dans la voie de dégradation « partielle » du 2-EHN par *M. austroafricanum* IFP 2173 ont été recherchées par une approche protéomique. Nous avons identifié 35 protéines solubles spécifiques par électrophorèse bi-dimensionnelle. L'identification des protéines induites a été confirmée par comparaison de gels 2DE colorés au bleu colloïdal et par un marquage métabolique au ^{35}S . Les protéines membranaires (transmembranaires et associées à la membrane) ont été analysées sur gel SDS-PAGE, et comparées grâce à une identification exhaustive en LC-MS/MS. Nous avons comparé le degré d'expression des protéines sur la base de l'abondance relative calculée à partir d'indices de l'abondance de peptides, les « Spectral count » et les « emPAI ». Le résultat de l'analyse a montré que 300 protéines sont spécifiques au 2-EHN et que 65 sont plus abondantes sur 2-EHN et que les enzymes clés de la voie de dégradation des acides gras sont induites.

Parmi ces enzymes figurent les enzymes de la β -oxydation, toutes retrouvées, lors de l'analyse protéomique des protéines solubles, sauf la thiolase qui catalyse la dernière étape du cycle. Plusieurs copies de ces enzymes ont été retrouvées au cours de l'analyse. Ceci permet d'une part de mettre en évidence la redondance de ces enzymes et d'autre part de montrer que la souche IFP 2173 est bien équipée pour dégrader les acides gras. Nous avons retrouvé plusieurs enzymes ayant une activité estérase et d'autres impliquées dans le métabolisme de l'azote. Ceci conforte les résultats qui ont montré que la bactérie utilise le 2-EHN comme unique source d'azote. Une protéine certainement impliquée dans la synthèse des acides mycoliques, « mycolic acid condensate », méritera que l'on s'attarde sur son mode d'action car elle est induite sur 2-EHN.

Pour l'étape initiale de dégradation du 2-EHN, deux cytochromes P450 alcane 1-mono-oxygénase de type CYP153 ont été mis en évidence, l'un d'eux étant l'une des protéines induites les plus abondantes. Il s'agit du CYP153-1 qui a 99 % d'identité de séquence avec CYP153A de *Mycobacterium* sp. HXN-1500 (van Beilen *et al.* 2006).

Toutes ces protéines pourraient intervenir dans la voie de dégradation du 2-EHN. Néanmoins, afin d'attribuer un rôle à chacune d'entre elles, il faut vérifier qu'elles interviennent effectivement dans la voie métabolique. Le clonage et l'expression de certaines enzymes a été entrepris et permettra à terme de connaître plus précisément leur activité catalytique et leur implication dans la dégradation du 2-EHN.

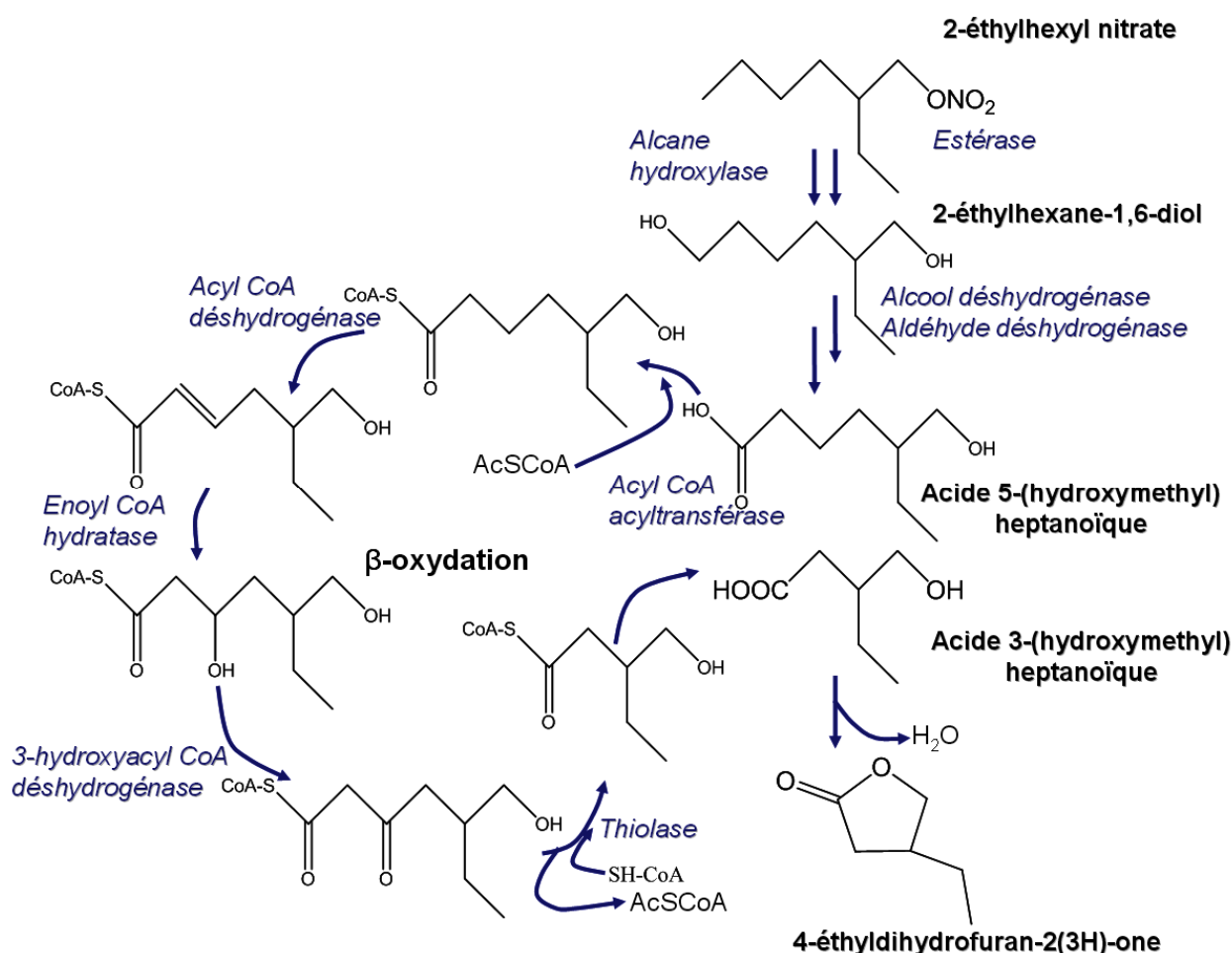


Figure 5.1 : Voie de dégradation du 2-EHN et enzymes impliquées chez *M. austroafricanum* IFP2173

4 Existence de multiples alcane hydroxylases dans la souche IFP 2173

La plupart des protéines identifiées sont similaires à celles du génome de *M. vanbaalenii* PYR-1. Cette souche a été étudiée pour sa capacité à dégrader les HAP (Moody *et al.*, 2005), et son génome a été séquencé en 2006 puis ré-annoté en avril 2008. Comme elle ne faisait pas partie du lot de souches dont j'ai testé la capacité à dégrader le 2-EHN au début de cette étude, j'ai refait des tests pour savoir si la souche PYR-1 dégradait le 2-EHN. Les résultats ont montré que même si elle possède un grand nombre d'enzymes en commun *M. austroafricanum* IFP 2173, elle ne dégrade pas le 2-EHN.

En me basant sur des séquences du génome de la souche PYR-1, j'ai cloné deux gènes codant pour des alcane hydroxylases membranaires à partir du génome de IFP 2173. Les alcane hydroxylases de la souche IFP 2173 sont presque identiques à celles de la souche PYR-1.

La souche IFP 2173 a donc deux alcane hydroxylases membranaires et au moins un cytochrome P450 de type CYP153.

5 AlkB ou CYP153 ?

Dans cette étude, nous avons mis en évidence que *M. austroafricanum* IFP 2173 est équipée de trois alcane hydroxylases, deux membranaires à fer binucléaire et une à fer hémique. Je n'ai à ce jour pas trouvé de gène codant pour le second CYP153 identifié grâce à l'analyse protéomique. La représentation de l'organisation des gènes tels qu'ils ont été retrouvés est illustrée par la **figure 5.2**.

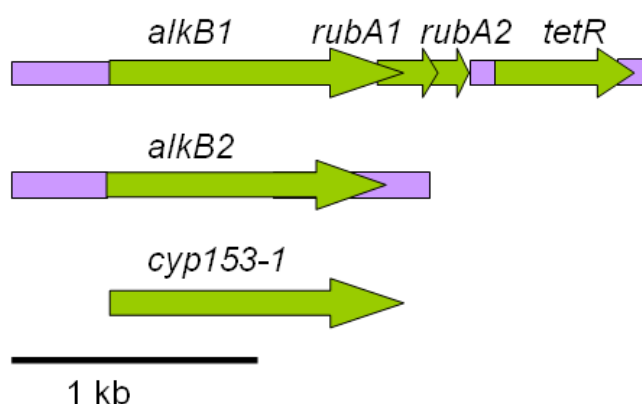


Figure 5.2 : Organisation génétique des alcane hydroxylases retrouvées chez *M. austroafricanum* IFP 2173

Quelques résultats d'analyse supplémentaires apportent des informations sur l'expression de ces enzymes, en rapport avec le métabolisme du 2-EHN :

Des expériences de RT-PCR (amplification par PCR après traitement à la reverse transcriptase) ont montré que des gènes codant pour les alcane hydroxylases transmembranaire sont transcrits dans la souche IFP 2173 en croissance sur plusieurs substrats carbonés dont l'acétate et le 2-EHN. Curieusement, aucune des deux alcane hydroxylases membranaires n'a été détectée lors de l'analyse protéomique, suggérant qu'elles n'ont pas été séparées sur gel SDS ou bien qu'elles ont donné très peu de peptides identifiables par LC-MS.

Le cytochrome P450 de type CYP153-1 est clairement induit sur 2-EHN, selon l'analyse protéomique.

Ces résultats incitent à penser que c'est plutôt le CYP153 qui serait impliqué dans l'étape initiale d'oxydation du 2-EHN, mais nous ne pouvons pas exclure *a priori* la participation de l'une ou l'autre des alcane hydroxylases.

Une bactérie comportant trois alcane hydroxylases de même nature a été mise en évidence suite au séquençage du génome de *Alcanivorax borkumensis* SK2 (Schneiker *et al.*, 2006). D'après les études menées sur cette bactérie, il a été montré que son AlkB1 oxyde les alcanes de C₅ à C₁₆ et l'AlkB2 vise les alcanes de C₈ à C₁₆. Concernant le CYP153, son spectre d'action n'a pas été déterminé mais les auteurs ont noté que son expression est constitutive (Martins dos Santos *et al.*, 2008). Seule une caractérisation biochimique pourra nous permettre de conclure sur le spectre d'action des alcane hydroxylases de la souche IFP 2173.

6 Expression et Clonage des alcanes hydroxylases

Afin de savoir quelle alcane hydroxylase est impliquée dans l'étape initiale de dégradation du 2-EHN, nous n'avions pas d'autre choix que de faire le clonage et l'expression de ces enzymes. Les alcane hydroxylases membranaires et le cytochrome P450 de type CYP153 *a priori* soluble n'ont pas été produits de façon satisfaisante chez *E. coli* pour vérifier leur activité vis-à-vis du 2-EHN. Nous avons alors testé l'expression chez *M. smegmatis* mc². Pour ce faire, nous avons utilisé deux systèmes d'expression différents :

Pour les gènes *alkB*, nous avons utilisé un système d'expression des gènes chez *Mycobacterium smegmatis* mc²155 qui a fait ses preuves pour exprimer un cluster de gènes impliqués dans la dégradation du pyrène (Pagnout *et al.*, 2007). Malgré les précautions prises pour insérer les gènes *alkB* et leurs séquences promotrices, nous n'avons pas mis en évidence d'oxydation du 2-EHN. Plusieurs raisons peuvent être évoquées pour expliquer ce résultat :

- 1 *M. smegmatis* mc²155 n'a peut-être pas reconnu les séquences promoteurs des gènes de *M. austroafricanum* IFP 2173.

- 2 Les alcane hydroxylases n'ont pas été synthétisées en quantité suffisante ou n'ont pas été correctement insérées dans la membrane

- 3 La transformation de *M. smegmatis* mc²155 n'a peut-être pas marché bien que tous les tests aient été effectués en présence de l'antibiotique approprié.

Les constructions que j'ai réalisées devront donc être vérifiées pour s'assurer de la présence des gènes *alkB* dans les souches transformées et pour savoir si les protéines sont bien synthétisées.

Pour le cytochrome CYP153-1, nous avons tenté l'expression dans la souche *M. smegmatis* mc²4517 optimisée pour la synthèse de protéines recombinantes (Goldstone *et al.*,

2008). Cependant, nous n'avons pu obtenir de souche transformée contenant le gène codant le CYP153-1.

Ces résultats laissent en suspens la question de l'alcane hydroxylase impliquée dans la dégradation du 2-EHN.

7 Perspectives

Cette thèse a permis de bien dégager la problématique de la dégradation du 2-EHN. Quatre axes majeurs de poursuites des recherches sont à envisager :

- La recherche d'une bactérie capable soit de dégrader la 4-EDF, soit de minéraliser totalement le 2-EHN.
- La caractérisation des alcane hydroxylases de la souche IFP 2173.
- La recherche d'une ou plusieurs protéines spécifiques expliquant la capacité de dégradation du 2-EHN par la souche IFP 2173.
- L'utilisation de protéines spécifiques au 2-EHN pour mettre au point des marqueurs de la dégradation des alcanes récalcitrants à la biodégradation dans les sols.

Recherche d'un microorganisme capable de dégrader la 4-EDF

Afin de démontrer que l'intermédiaire de dégradation du 2-EHN n'est pas récalcitrant, il conviendrait d'entreprendre des essais pour isoler des bactéries qui minéralisent la 4-EDF. Nous pourrions procéder comme lors de la tentative d'isolement de souches sur 2-EHN (Solano-Serena *et al.*, 2008). Grâce la 4-EDF synthétisé par voie chimique, nous disposons de suffisamment de produit pour isoler des souches capables de dégrader ce composé. Si une telle souche était isolée, il serait alors possible de minéraliser totalement le 2-EHN en utilisant deux souches : la souche IFP 2173 qui produit la 4-EDF et la souche isolée qui l'utilise comme substrat. Le 2-EHN pourrait donc ainsi être dégradé en utilisant ces deux bactéries, en comensalisme.

Pour approfondir cette étude, nous pourrions essayer de récupérer le gène qui est responsable de la dégradation de la 4-EDF, chez cette seconde bactérie, et de l'introduire chez *M. austroafricanum* IFP 2173. La souche IFP 2173 ainsi transformée pourrait être capable de minéraliser totalement le 2-EHN.

Identification de l'alcane hydroxylase impliquée dans l'étape initiale de dégradation du 2-EHN

J'ai montré que la souche de *M. austroafricanum* IFP 2173 possède au moins trois alcane hydroxylases.

Chaque gène d'alcane hydroxylase trouvé a été cloné dans un système d'expression qui permet de tester leur activité vis-à-vis des alcanes et du 2-EHN.

Je n'ai pas pu montrer l'activité des alcane hydroxylases transmembranaires, AlkB1 et AlkB2 vis-à-vis des alcanes en C₆, C₈ et du 2-EHN avec le système d'expression utilisé chez *M. smegmatis* mc²155. J'ai testé la dégradation du 2-EHN par *P. putida* Gpo1 pGEc47ΔB-pCom8-PFR1500 (van Beilen *et al.*, 2005) et il s'avère que cette souche exprimant le CYP153 de *Mycobacterium* sp. HXN-1500 (qui a deux acides aminés de différence avec celui de la souche IFP 2173) ne dégrade pas le 2-EHN, ni le 2-éthylhexanol.

Pour poursuivre nos travaux, il conviendrait, d'utiliser un autre vecteur d'expression chez *Mycobacterium smegmatis*. Ainsi, les alcane hydroxylases de la souche IFP 2173 pourraient être insérées dans ce vecteur. Ces derniers seront utilisés pour transformer *M. smegmatis*. Ces souches transformées seraient alors testées vis à vis des *n*-alcanes et du 2-EHN.

Recherche de protéines spécifiques facilitant la dégradation du 2-EHN par la souche IFP 2173

La souche IFP 2173 est la seule qui dégrade le 2-EHN sans HMN (en milieu biphasique). Je pense que cette particularité pourrait avoir deux origines :

- la synthèse de biosurfactants par la bactérie,
- une modification de sa paroi par modification des peptidoglycanes ou de la composition en acides mycoliques.

Concernant le premier point, j'ai observé que le milieu de culture liquide devenait trouble lors de la dégradation du 2-EHN par la souche IFP 2173. Ce phénomène n'est pas dû à la biomasse mais à la présence de substances visiblement hydrophobes puisqu'elles forment un film sur l'eau. Ce surnageant de culture mériterait d'être analysé pour savoir s'il s'agit effectivement de biosurfactants.

L'analyse protéomique a permis de trouver certaines protéines impliquées dans le métabolisme des lipides membranaires comme les « glycosyl transférase » ou le « mycolic acid condensate ». Etant donné l'hydrophobicité de la paroi (**figure 5.3**) sur 2-EHN. En effet,

la souche forme des agrégats très hydrophobes, en suspension, dans le milieu liquide. Nous pouvons penser la bactérie modifie son enveloppe pour accéder au substrat. Des analyses comme celles de Bouchez-Naïtali *et al.* (1999) pourraient être entreprises dans un premier temps. Nous pourrions essayer de déterminer la composition en glycosides et en glycolipides, déterminer la tension interfaciale et la tension de surface (potentiel γ) et mesurer l'hydrophobicité cellulaire (par détermination du pourcentage d'adhérence à l'hexadécane). A terme, il conviendrait de rechercher les enzymes responsables de ces modifications.



Figure 5.3 : Photo de *M. austroafricanum* IFP 2173 en milieu aqueux et en présence de 2-EHN

Recherche de marqueurs de la dégradation du 2-EHN dans les sols

Par une approche protéomique

Grâce à la somme de données accumulée par l'analyse protéomique, nous avons un panel de protéines induites ou spécifiques de la dégradation des hydrocarbures et plus particulièrement du 2-EHN que l'on peut classer parmi les hydrocarbures branchés récalcitrants à la dégradation. En analysant les protéines des bactéries du sol par électrophorèse 1D et 2D, puis en les identifiant par analyse en LC-MS/MS, tel que cela a été décrit par Benndorf *et al.*, (2007) nous pourrions déterminer le métaprotéome d'un sol contaminé par les hydrocarbures. Les résultats de l'analyse des protéines induites sur 2-EHN pourront alors être utilisés, à titre de comparaison, pour retrouver des protéines marqueurs de la dégradation des hydrocarbures. En comparant le jeu de données du métaprotéome du sol et celui obtenu sur 2-EHN nous pourrions retrouver des protéines marqueurs de la dégradation des hydrocarbures.

Par une approche génomique

Il s'agit ici de cibler les gènes codant des enzymes présentes dans le sol et susceptibles d'agir vis-à-vis des hydrocarbures. Pour ce faire, nous pourrions extraire des ADN du sol et faire par simple analyse PCR avec des oligonucléotides spécifiques des gènes *alkB1*, *alkB2* et de *cyp153* pour rechercher ces enzymes, indiquant une activité de dégradation des alcanes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Adekambi, T., Colson, P. & Drancourt, M. (2003). rpoB-based identification of nonpigmented and late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *J Clin Microbiol* **41**, 5699-5708.

Alvarez, H. M. (2003). Relationship between beta-oxidation pathway and the hydrocarbon-degradation profile in actinomycete bacteria. *International Biodeterioration and biodegradation* **52**, 35-42.

Arndt, A. & Eikmanns, B. J. (2007). The alcohol dehydrogenase gene adhA in *Corynebacterium glutamicum* is subject to carbon catabolite repression. *J Bacteriol* **189**, 7408-7416.

Arpigny, J. L. & Jaeger, K. E. (1999). Bacterial lipolytic enzymes: classification and properties. *Biochem J* **343 Pt 1**, 177-183.

Ashraf, W., Mihdhir, A. & Murrell, J. C. (1994). Bacterial oxidation of propane. *FEMS Microbiol Lett* **122**, 1-6.

Asperger, O., Naumann, A. & Kleber, H. P. (1981). Occurrence of cytochrome P450 in *Acinetobacter* strains after growth on n-hexadecane. *FEMS Microbiol Lett* **11**, 309-312.

ATC (2004). 2-Ethylhexyl nitrate (2EHN). In *Best Practice Manual*, pp. 1-24: Additives Technical Committee-Europe. Document 79.

Aurilia, V., Parracino, A. & D'Auria, S. (2008). Microbial carbohydrate esterases in cold adapted environments. *Gene* **410**, 234-240.

Ayala, M. & Torres, E. (2004). Enzymatic activation of alkanes: constraints and prospective. *Applied Catalysis A: General* **272**, 1-13.

B

Ban-Weiss, G. A., Chen, J. Y., Buchholz, B. A. & Dibble, R. W. (2007). A numerical investigation into the anomalous slight NO_x increase when burning biodiesel; A new (old) theory. *Fuel Processing Technology* **88**, 659-667.

Bassan, A., Blomberg, M. R. & Siegbahn, P. E. (2004). A theoretical study of the cis-dihydroxylation mechanism in naphthalene 1,2-dioxygenase. *J Biol Inorg Chem* **9**, 439-452.

Battersby, N. S., Ciccognani, D., Evans, M. R., King, D., Painter, H. A., Peterson, D. R. & Starkey, M. (1999). An 'inherent' biodegradability test for oil products: description and

results of an international ring test. CONCAWE Biodegradation Task Force. *Chemosphere* **38**, 3219-3235.

Baulard, A. R., Besra, G. S. & Brennan, P. J. (1999). The cell wall core of *Mycobacterium*: structure, biogenesis and genetics. In *Mycobacteria : Molecular biology and virulence*, pp. 240-286. Edited by C. a. D. Ratledge, J.W. Blackwell science Ltd. U.K.

Béguin, P., Chauvaux, S., Miras, I., Francois, A., Fayolle, F. & Monot, F. (2003). Genes Involved in the Degradation of Ether Fuels by bacteria of the *Mycobacterium/Rhodococcus* Group. *Oil & Gas Science and Technology - Rev IFP* **58**, 489-495.

Benndorf, D., Balcke, G. U., Harms, H. & von Bergen, M. (2007). Functional metaproteome analysis of protein extracts from contaminated soil and groundwater. *ISME J* **1**, 224-234.

Bogan, B. W., Lahner, L. M., Sullivan, W. R. & Paterek, J. R. (2003). Degradation of straight-chain aliphatic and high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a strain of *Mycobacterium austroafricanum*. *J Appl Microbiol* **94**, 230-239.

Bornscheuer, U. T. (2002). Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis. *FEMS Microbiol Rev* **26**, 73-81.

Bouchez-Naitali, M., Rakatozafy, H., Marchal, R., Leveau, J. Y. & Vandecasteele, J. P. (1999). Diversity of bacterial strains degrading hexadecane in relation to the mode of substrate uptake. *J Appl Microbiol* **86**, 421-428.

Bouchez, M., Blanchet, D. & Vandecasteele, J. P. (1995a). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism. *Appl Microbiol Biotechnol* **43**, 156-164.

Bouchez, M., Blanchet, D. & Vandecasteele, J. P. (1995b). Substrate availability in phenanthrene biodegradation: transfer mechanism and influence on metabolism. *Appl Microbiol Biotechnol* **43**, 952-960.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* **72**, 248-254.

Britton, L. N. (1984). Microbial degradation of aliphatic hydrocarbons. 89-129.

Butler, W. R. & Guthertz, L. S. (2001). Mycolic acid analysis by high-performance liquid chromatography for identification of *Mycobacterium* species. *Clin Microbiol Rev* **14**, 704-726.

C

Catelani, D., Colombi, A., Sorlini, C. & Treccani, V. (1977). Metabolism of quaternary carbon compounds: 2,2-dimethylheptane and tertbutylbenzene. *Appl Environ Microbiol* **34**, 351-354.

Cavener, D. R. (1992). GMC oxidoreductases. A newly defined family of homologous proteins with diverse catalytic activities. *J Mol Biol* **223**, 811-814.

Chauvaux, S., Chevalier, F., Le Dantec, C., Fayolle, F., Miras, I., Kunst, F. & Beguin, P. (2001). Cloning of a genetically unstable cytochrome P-450 gene cluster involved in degradation of the pollutant ethyl tert-butyl ether by *Rhodococcus ruber*. *J Bacteriol* **183**, 6551-6557.

D

de Vries, G. E., Harms, N., Maurer, K., Papendrecht, A. & Stouthamer, A. H. (1988). Physiological regulation of *Paracoccus denitrificans* methanol dehydrogenase synthesis and activity. *J Bacteriol* **170**, 3731-3737.

Dean-Ross, D. & Cerniglia, C. E. (1996). Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens*. *Appl Microbiol Biotechnol* **46**, 307-312.

Deeth, R. J. & Dalton, H. (1998). Methane activation by methane monooxygenase: free radicals, Fe-C bonding, substrate dependent pathways and the role of the regulatory protein. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **3**, 302-306.

Denison, M. S. & Whitlock, J. P., Jr. (1995). Xenobiotic-inducible transcription of cytochrome P450 genes. *J Biol Chem* **270**, 18175-18178.

Dubbels, B. L., Sayavedra-Soto, L. A. & Arp, D. J. (2007). Butane monooxygenase of *Pseudomonas butanovora*: purification and biochemical characterization of a terminal-alkane hydroxylating diiron monooxygenase. *Microbiology* **153**, 1808-1816.

E

Eggink, G., Lageveen, R. G., Altenburg, B. & Witholt, B. (1987). Controlled and functional expression of the *Pseudomonas oleovorans* alkane utilizing system in *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*. *J Biol Chem* **262**, 17712-17718.

Eggink, G., Engel, H., Vriend, G., Terpstra, P. & Witholt, B. (1990). Rubredoxin reductase of *Pseudomonas oleovorans*. Structural relationship to other flavoprotein oxidoreductases based on one NAD and two FAD fingerprints. *J Mol Biol* **212**, 135-142.

European Environment Agency (2007). Progress in management of contaminated sites (CSI 015): http://themes.eea.europa.eu/IMS/IMS/ISpecs/ISpecification20041007131746/IAssessment1152619898983/view_content.

F

Fall, R. R., Brown, J. L. & Schaeffer, T. L. (1979). Enzyme recruitment allows the biodegradation of recalcitrant branched hydrocarbons by *Pseudomonas citronellolis*. *Appl Environ Microbiol* **38**, 715-722.

Feng, L., Wang, W., Cheng, J. & other authors (2007). Genome and proteome of long-chain alkane degrading *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 isolated from a deep-subsurface oil reservoir. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 5602-5607.

Floyd, M. M., Tang, J., Kane, M. & Emerson, D. (2005). Captured diversity in a culture collection: case study of the geographic and habitat distributions of environmental isolates held at the american type culture collection. *Appl Environ Microbiol* **71**, 2813-2823.

Fojan, P., Jonson, P. H., Petersen, M. T. & Petersen, S. B. (2000). What distinguishes an esterase from a lipase: a novel structural approach. *Biochimie* **82**, 1033-1041.

Forster-Fromme, K., Chattopadhyay, A. & Jendrossek, D. (2008). Biochemical characterization of AtuD from *Pseudomonas aeruginosa*, the first member of a new subgroup of acyl-CoA dehydrogenases with specificity for citronellyl-CoA. *Microbiology* **154**, 789-796.

Francois, A., Mathis, H., Godefroy, D., Piveteau, P., Fayolle, F. & Monot, F. (2002). Biodegradation of methyl tert-butyl ether and other fuel oxygenates by a new strain, *Mycobacterium austroafricanum* IFP 2012. *Appl Environ Microbiol* **68**, 2754-2762.

Fu, X., Gharib, S. A., Green, P. S., Aitken, M. L., Frazer, D. A., Park, D. R., Vaisar, T. & Heinecke, J. W. (2008). Spectral index for assessment of differential protein expression in shotgun proteomics. *J Proteome Res* **7**, 845-854.

Fujii, T., Narikawa, T., Takeda, K. & Kato, J. (2004). Biotransformation of various alkanes using the *Escherichia coli* expressing an alkane hydroxylase system from *Gordonia* sp. TF6. *Biosci Biotechnol Biochem* **68**, 2171-2177.

Funhoff, E. G., Bauer, U., Garcia-Rubio, I., Witholt, B. & van Beilen, J. B. (2006). CYP153A6, a soluble P450 oxygenase catalyzing terminal-alkane hydroxylation. *J Bacteriol* **188**, 5220-5227.

G

Goldstone, R. M., Moreland, N. J., Bashiri, G., Baker, E. N. & Shaun Lott, J. (2008). A new Gateway vector and expression protocol for fast and efficient recombinant protein expression in *Mycobacterium smegmatis*. *Protein Expr Purif* **57**, 81-87.

Gołofit-Szymczak, M. (2005). 2-EHN Documentation. In *International Journal Of Occupational Safety and Ergonomics*. Warszawa, Czerniakowska CIOP PIP. <http://www.ciop.pl/12444.html#rs2#rs2>.

Gonzalez-Duarte, R. & Albalat, R. (2005). Merging protein, gene and genomic data: the evolution of the MDR-ADH family. *Heredity* **95**, 184-197.

Gorg, A., Obermaier, C., Boguth, G., Harder, A., Scheibe, B., Wildgruber, R. & Weiss, W. (2000). The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* **21**, 1037-1053.

Goswami, P. & Singh, H. D. (1991). Different modes of hydrocarbon uptake by two *Pseudomonas* species. *Biotechnology and Bioengineering* **37**, 1-11.

Graves, P. R. & Haystead, T. A. (2002). Molecular biologist's guide to proteomics. *Microbiol Mol Biol Rev* **66**, 39-63.

Guengerich, F. P. & MacDonald, T. L. (1990). Mechanisms of cytochrome P-450 catalysis. *Faseb J* **4**, 2453-2459.

H

Hamamura, N., Storfa, R. T., Semprini, L. & Arp, D. J. (1999). Diversity in butane monooxygenases among butane-grown bacteria. *Appl Environ Microbiol* **65**, 4586-4593.

Hamamura, N., Yeager, C. M. & Arp, D. J. (2001). Two distinct monooxygenases for alkane oxidation in *Nocardioides* sp. strain CF8. *Appl Environ Microbiol* **67**, 4992-4998.

Hartman, S., De Bont, J. A. M. & Stackebrandt, E. (2006). The Genus *Mycobacterium* - Nonmedical. In *Prokaryotes*, pp. 889-918. Edited by Springer. New York.

Heiss-Blanquet, S., Benoit, Y., Marechaux, C. & Monot, F. (2005). Assessing the role of alkane hydroxylase genotypes in environmental samples by competitive PCR. *J Appl Microbiol* **99**, 1392-1403.

Hempel, J., von Bahr-Lindstrom, H. & Jornvall, H. (1984). Aldehyde dehydrogenase from human liver. Primary structure of the cytoplasmic isoenzyme. *Eur J Biochem* **141**, 21-35.

Hempel, J., Nicholas, H. & Lindahl, R. (1993). Aldehyde dehydrogenases: widespread structural and functional diversity within a shared framework. *Protein Sci* **2**, 1890-1900.

Hiltunen, J. K. & Qin, Y. (2000). beta-oxidation - strategies for the metabolism of a wide variety of acyl-CoA esters. *Biochim Biophys Acta* **1484**, 117-128.

Hoffmann, C., Leis, A., Niederweis, M., Plitzko, J. M. & Engelhardt, H. (2008). Disclosure of the mycobacterial outer membrane: cryo-electron tomography and vitreous sections reveal the lipid bilayer structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 3963-3967.

Hommel, R. K. (1994). Formation and function of biosurfactant for degradation of water-insoluble substrate. In *Biochemistry of microbial degradation*, pp. 63-87. Edited by C. Raledge. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Houssaini-Iraqi, M., Lazraq, M. H., Clavel-Seres, S., Rastogi, N. & David, H. L. (1992). Cloning and expression of *Mycobacterium aurum* carotenogenesis genes in *Mycobacterium smegmatis*. *FEMS Microbiol Lett* **69**, 239-244.

I

Ishihama, Y., Oda, Y., Tabata, T., Sato, T., Nagasu, T., Rappsilber, J. & Mann, M. (2005). Exponentially modified protein abundance index (emPAI) for estimation of absolute protein amount in proteomics by the number of sequenced peptides per protein. *Mol Cell Proteomics* **4**, 1265-1272.

J

Johnson, E. L., Smith, C. A., O'Reilly, K. T. & Hyman, M. R. (2004). Induction of methyl tertiary butyl ether (MTBE)-oxidizing activity in *Mycobacterium vaccae* JOB5 by MTBE. *Appl Environ Microbiol* **70**, 1023-1030.

Jornvall, H. (1994). The alcohol dehydrogenase system. *EXS* **71**, 221-229.

Jouanneau, Y., Willison, J. C., Meyer, C., Krivobok, S., Chevron, N., Besombes, J. L. & Blake, G. (2005). Stimulation of pyrene mineralization in freshwater sediments by bacterial and plant bioaugmentation. *Environ Sci Technol* **39**, 5729-5735.

K

Karakousis, P. C., Bishai, W. R. & Dorman, S. E. (2004). *Mycobacterium tuberculosis* cell envelope lipids and the host immune response. *Cell Microbiol* **6**, 105-116.

Kim, I. S., Park, J.-S. & Kim, K.-W. (2001). Enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons using nonionic surfactants in soil slurry *Applied Geochemistry* **16**, 1419-1425.

Kim, S. J., Kweon, O., Freeman, J. P., Jones, R. C., Adjei, M. D., Jhoo, J. W., Edmondson, R. D. & Cerniglia, C. E. (2006). Molecular cloning and expression of genes encoding a novel dioxygenase involved in low- and high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. *Appl Environ Microbiol* **72**, 1045-1054.

Kloos, K., Munch, J. C. & Schlöter, M. (2006). A new method for the detection of alkane-monooxygenase homologous genes (alkB) in soils based on PCR-hybridization. *J Microbiol Methods* **66**, 486-496.

Klose, J. (1975). Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals. *Humangenetik* **26**, 231-243.

Kok, M., Oldenhuis, R., van der Linden, M. P., Meulenberg, C. H., Kingma, J. & Witholt, B. (1989a). The *Pseudomonas oleovorans* *alkBAC* operon encodes two structurally related rubredoxins and an aldehyde dehydrogenase. *J Biol Chem* **264**, 5442-5451.

Kok, M., Oldenhuis, R., van der Linden, M. P., Raatjes, P., Kingma, J., van Lelyveld, P. H. & Witholt, B. (1989b). The *Pseudomonas oleovorans* alkane hydroxylase gene. Sequence and expression. *J Biol Chem* **264**, 5435-5441.

Kopp, D. A. & Lippard, S. J. (2002). Soluble methane monooxygenase: activation of dioxygen and methane. *Curr Opin Chem Biol* **6**, 568-576.

Kotani, T., Kawashima, Y., Yurimoto, H., Kato, N. & Sakai, Y. (2006). Gene structure and regulation of alkane monooxygenases in propane-utilizing *Mycobacterium* sp. TY-6 and *Pseudonocardia* sp. TY-7. *J Biosci Bioeng* **102**, 184-192.

Krivobok, S., Kuony, S., Meyer, C., Louwagie, M., Willison, J. C. & Jouanneau, Y. (2003). Identification of pyrene-induced proteins in *Mycobacterium* sp. strain 6PY1: evidence for two ring-hydroxylating dioxygenases. *J Bacteriol* **185**, 3828-3841.

L

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.

Larkin, M. J., Kulakov, L. A. & Allen, C. C. (2005). Biodegradation and *Rhodococcus*--masters of catabolic versatility. *Curr Opin Biotechnol* **16**, 282-290.

Leahy, J. G. & Colwell, R. R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol Rev* **54**, 305-315.

Lee, M., Kim, M. K., Kwon, M. J., Park, B. D., Kim, M. H., Goodfellow, M. & Lee, S. T. (2005). Effect of the synthesized mycolic acid on the biodegradation of diesel oil by *Gordonia nitida* strain LE31. *J Biosci Bioeng* **100**, 429-436.

Lopes Ferreira, N., Maciel, H., Mathis, H., Monot, F., Fayolle-Guichard, F. & Greer, C. W. (2006). Isolation and characterization of a new *Mycobacterium austroafricanum* strain, IFP 2015, growing on MTBE. *Appl Microbiol Biotechnol* **70**, 358-365.

Lopes Ferreira, N., Mathis, H., Labbe, D., Monot, F., Greer, C. W. & Fayolle-Guichard, F. (2007). n-Alkane assimilation and tert-butyl alcohol (TBA) oxidation capacity in *Mycobacterium austroafricanum* strains. *Appl Microbiol Biotechnol* **75**, 909-919.

Loviny, T., Norton, P. M. & Hartley, B. S. (1985). Ribitol dehydrogenase of *Klebsiella aerogenes*. Sequence of the structural gene. *Biochem J* **230**, 579-585.

M

MacKintosh, R. W. & Fewson, C. A. (1987). Microbial aromatic alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Prog Clin Biol Res* **232**, 259-273.

Maier, T., Forster, H. H., Asperger, O. & Hahn, U. (2001). Molecular characterization of the 56-kDa CYP153 from *Acinetobacter* sp. EB104. *Biochem Biophys Res Commun* **286**, 652-658.

Marchler-Bauer, A., Anderson, J. B., Derbyshire, M. K. & other authors (2007). CDD: a conserved domain database for interactive domain family analysis. *Nucleic Acids Res* **35**, D237-240.

Martins dos Santos, V. A. P., Yakimov, M. M., Timmis, K. N. & Golyshin, P. N. (2008). Genomic Insights into oil Biodegradation in marine Systems. In *Microbial Degradation Genomics and Molecular Biology*, pp. 270-295. Edited by E. Diaz. Norfolk, UK: Caister Academic Press.

Matsushita, K., Nagatani, Y., Shinagawa, E., Adachi, O. & Ameyama, M. (1991). Reconstitution of the ethanol oxidase respiratory chain in membranes of quinoprotein alcohol dehydrogenase-deficient *Gluconobacter suboxydans* subsp. alpha strains. *J Bacteriol* **173**, 3440-3445.

Mc Kenna, E. J. (1972). Microbial oxidation of methyl branched alkanes. In *Degradation of synthetic organic molecule in the biosphere*. San Francisco, Academy of science, Washington,D.C.

McKenna, E. J. & Kallio, R. E. (1971). Microbial metabolism of the isoprenoid alkane pristane. *Proc Natl Acad Sci U S A* **68**, 1552-1554.

Middlebrook, G., Cohn, M. L. & Schaefer, W. B. (1954). Studies on isoniazid and tubercle bacilli. III. The isolation, drug-susceptibility, and catalase-testing of tubercle bacilli from isoniazid-treated patients. *Am Rev Tuberc* **70**, 852-872.

Middlebrook, G. & Cohn, M. L. (1958). Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods. *Am J Public Health Nations Health* **48**, 844-853.

Miura, Y. (1978). Mechanism of liquid hydrocarbon uptake by micro-organisms. *J Microbiol Methods* **6**, 99-112.

Moody, J. D., Freeman, J. P. & Cerniglia, C. E. (2005). Degradation of benz[a]anthracene by *Mycobacterium vanbaalenii* strain PYR-1. *Biodegradation* **16**, 513-526.

Munro, A. W. & Lindsay, J. G. (1996). Bacterial cytochromes P-450. *Mol Microbiol* **20**, 1115-1125.

N

-
- Nagy, P. L., Marolewski, A., Benkovic, S. J. & Zalkin, H. (1995).** Formyltetrahydrofolate hydrolase, a regulatory enzyme that functions to balance pools of tetrahydrofolate and one-carbon tetrahydrofolate adducts in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **177**, 1292-1298.
- Nakamiya, K., Sato, A., Takahara, Y. & Iida, T. (1985).** Microbial oxidation of isoterpenoid alkanes, phytane, norpristane and farnesane. *Agric Biol Chem* **49**, 1993-2002.
- Nakamiya, K., Hashimoto, S., Ito, H., Edmonds, J. S., Yasuhara, A. & Morita, M. (2005).** Microbial treatment of bis (2-ethylhexyl) phthalate in polyvinyl chloride with isolated bacteria. *J Biosci Bioeng* **99**, 115-119.
- Nalli, S., Cooper, D. G. & Nicell, J. A. (2002).** Biodegradation of plasticizer by *Rhodococcus rhodochrous*. *Biodegradation* **13**, 343-352.
- Nalli, S., Cooper, D. G. & Nicell, J. A. (2006).** Interaction of metabolites with *R. rhodochrous* during the biodegradation of di-ester plasticizers. *Chemosphere*.
- Narhi, L. O. & Fulco, A. J. (1987).** Identification and characterization of two functional domains in cytochrome P-450BM-3, a catalytically self-sufficient monooxygenase induced by barbiturates in *Bacillus megaterium*. *J Biol Chem* **262**, 6683-6690.
- Nebert, D. W. & Nelson, D. R. (1991).** P450 gene nomenclature based on evolution. *Methods Enzymol* **206**, 3-11.
- Nelson, D. R. (2003).** Cytochrome P450 gene superfamily.
- Neuhoff, V., Arold, N., Taube, D. & Ehrhardt, W. (1988).** Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250. *Electrophoresis* **9**, 255-262.
- Nicolau, E., Kerhoas, L., Lettere, M., Jouanneau, Y. & Marchal, R. (2008).** Biodegradation of 2-ethylhexyl nitrate by *Mycobacterium austroafricanum* IFP 2173. *Appl Environ Microbiol* **74**, 6187-6193.
- Nieboer, M., Gunnewijk, M., van Beilen, J. B. & Witholt, B. (1997).** Determinants for overproduction of the *Pseudomonas oleovorans* cytoplasmic membrane protein alkane hydroxylase in alk⁺ *Escherichia coli* W3110. *J Bacteriol* **179**, 762-768.
- Nishioka, T., Iwata, M., Imaoka, T., Mutoh, M., Egashira, Y., Nishiyama, T., Shin, T. & Fujii, T. (2006).** A mono-2-ethylhexyl phthalate hydrolase from a *Gordonia* sp. that is able to dissimilate di-2-ethylhexyl phthalate. *Appl Environ Microbiol* **72**, 2394-2399.

O

O'Connell, M. A., Orr, G. & Shapiro, L. (1990). Purification and characterization of fatty acid beta-oxidation enzymes from *Caulobacter crescentus*. *J Bacteriol* **172**, 997-1004.

Ollis, D. L., Cheah, E., Cygler, M. & other authors (1992). The alpha/beta hydrolase fold. *Protein Eng* **5**, 197-211.

P

Pagnout, C., Frache, G., Poupin, P., Maunit, B., Muller, J. F. & Ferard, J. F. (2007). Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in *Mycobacterium* sp. strain SNP11: expression in *Mycobacterium smegmatis* mc²155. *Res Microbiol* **158**, 175-186.

Palomo, J. M., Segura, R. L., Fernandez-Lorente, G., Pernas, M., Rua, M. L., Guisan, J. M. & Fernandez-Lafuente, R. (2004). Purification, immobilization, and stabilization of a lipase from *Bacillus thermocatenulatus* by interfacial adsorption on hydrophobic supports. *Biotechnol Prog* **20**, 630-635.

Pamp, S. J. & Tolker-Nielsen, T. (2007). Multiple roles of biosurfactants in structural biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* **189**, 2531-2539.

Paul, T. R. & Beveridge, T. J. (1992). Reevaluation of envelope profiles and cytoplasmic ultrastructure of mycobacteria processed by conventional embedding and freeze-substitution protocols. *J Bacteriol* **174**, 6508-6517.

Pelletier, I. & Altenbuchner, J. (1995). A bacterial esterase is homologous with non-haem haloperoxidases and displays brominating activity. *Microbiology* **141** (Pt 2), 459-468.

Penet, S., Marchal, R., Sghir, A. & Monot, F. (2004). Biodegradation of hydrocarbon cuts used for diesel oil formulation. *Appl Microbiol Biotechnol* **66**, 40-47.

Penet, S., Vendeuvre, C., Bertoncini, F., Marchal, R. & Monot, F. (2006). Characterisation of biodegradation capacities of environmental microflorae for diesel oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Biodegradation*, 1-9.

Peng, X., Taki, H., Komukai, S. & other authors (2006). Characterization of four *Rhodococcus* alcohol dehydrogenase genes responsible for the oxidation of aromatic alcohols. *Appl Microbiol Biotechnol* **71**, 824-832.

Petersen, E. I., Valinger, G., Solkner, B., Stubenrauch, G. & Schwab, H. (2001). A novel esterase from *Burkholderia gladioli* which shows high deacetylation activity on cephalosporins is related to beta-lactamases and DD-peptidases. *J Biotechnol* **89**, 11-25.

Peterson, J. A., Kusunose, M., Kusunose, E. & Coon, M. J. (1967). Enzymatic omega-oxidation. II. Function of rubredoxin as the electron carrier in omega-hydroxylation. *J Biol Chem* **242**, 4334-4340.

Peterson, J. A. & Coon, M. J. (1968). Enzymatic omega-oxidation. 3. Purification and properties of rubredoxin, a component of the omega-hydroxylation system of *Pseudomonas oleovorans*. *J Biol Chem* **243**, 329-334.

Peterson, J. A., Lorence, M. C. & Amarneh, B. (1990). Putidaredoxin reductase and putidaredoxin. Cloning, sequence determination, and heterologous expression of the proteins. *J Biol Chem* **265**, 6066-6073.

Peterson, J. A., Lu, J. Y., Geisselsoder, J., Graham-Lorence, S., Carmona, C., Witney, F. & Lorence, M. C. (1992). Cytochrome P-450terp. Isolation and purification of the protein and cloning and sequencing of its operon. *J Biol Chem* **267**, 14193-14203.

Petit, J. F. & Lederer, E. (1984). The structure of the mycobacterial cell wall. In *The Mycobacteria*, pp. 301-322. Edited by L. G. Kubica G.P. Wayne. New York, USA: Marcel Dekker.

Pirnack, M. P. (1977). Microbial oxidation of methyl branched alkanes. *Crit Rev Biotechnol* **5**, 413-422.

Pirnik, M. P., Atlas, R. M. & Bartha, R. (1974). Hydrocarbon metabolism by *Brevibacterium erythrogenes*: normal and branched alkanes. *J Bacteriol* **119**, 868-878.

Poupin, P., Ducrocq, V., Hallier-Soulier, S. & Truffaut, N. (1999). Cloning and characterization of the genes encoding a cytochrome P450 (PipA) involved in piperidine and pyrrolidine utilization and its regulatory protein (PipR) in *Mycobacterium smegmatis* mc²155. *J Bacteriol* **181**, 3419-3426.

R

Reid, M. F. & Fewson, C. A. (1994). Molecular characterization of microbial alcohol dehydrogenases. *Crit Rev Microbiol* **20**, 13-56.

Ringuet, H., Akoua-Koffi, C., Honore, S., Varnerot, A., Vincent, V., Berche, P., Gaillard, J. L. & Pierre-Audigier, C. (1999). hsp65 sequencing for identification of rapidly growing mycobacteria. *J Clin Microbiol* **37**, 852-857.

Rojo, F. (2005). Specificity at the end of the tunnel: understanding substrate length discrimination by the AlkB alkane hydroxylase. *J Bacteriol* **187**, 19-22.

Rontani, J. F., Bertrand, J. C., Blanc, F. & Giushi, G. (1986). Gas Chromatography and gas chromatography/mass spectrometry applied to the determination of a new pathway of pristane degradation by a marine mixed bacterial population. *Mar Chem* **18**, 9-16.

Rosenberg, E. (1986). Microbial surfactants. *Crit Rev Biotechnol* **3**, 109-132.

Roy, P. K., Singh, H. D. & Baruah, J. N. (1978). Metabolism of n-alkane in *Endomycopsis lipolytica* (*Saccharomycopsis lipolytica*): Part IV--Characteristics of lipid formation from n-alkanes by non-proliferating cells. *Indian J Biochem Biophys* **15**, 456-461.

S

Sabirova, J. S., Ferrer, M., Lunsdorf, H., Wray, V., Kalscheuer, R., Steinbuchel, A., Timmis, K. N. & Golyshin, P. N. (2006a). Mutation in a "tesB-like" hydroxyacyl-coenzyme A-specific thioesterase gene causes hyperproduction of extracellular polyhydroxyalkanoates by *Alcanivorax borkumensis* SK2. *J Bacteriol* **188**, 8452-8459.

Sabirova, J. S., Ferrer, M., Regenhardt, D., Timmis, K. N. & Golyshin, P. N. (2006b). Proteomic insights into metabolic adaptations in *Alcanivorax borkumensis* induced by alkane utilization. *J Bacteriol* **188**, 3763-3773.

Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schaeffer, T. L., Cantwell, S. G., Brown, J. L., Watt, D. S. & Fall, R. R. (1979). Microbial growth on hydrocarbons: terminal branching inhibits biodegradation. *Appl Environ Microbiol* **38**, 742-746.

Schagger, H. (2006). Tricine-SDS-PAGE. *Nat Protoc* **1**, 16-22.

Scheele, G. A. (1975). Two-dimensional gel analysis of soluble proteins. Characterization of guinea pig exocrine pancreatic proteins. *J Biol Chem* **250**, 5375-5385.

Schneiker, S., Dos Santos, V. A., Bartels, D. & other authors (2006). Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Nat Biotechnol* **24**, 997-1004.

Seubert, W. & Fass, E. (1964). Studies on the Bacterial Degradation of Isoprenoids. Iv. The Purification and Properties of Beta-Isohexenylglutaconyl-CoA-Hydratase and Beta-Hydroxy-Beta-Isohexenylglutaryl-CoA-Lyase. *Biochem Z* **341**, 23-34.

Shanklin, J., Achim, C., Schmidt, H., Fox, B. G. & Munck, E. (1997). Mossbauer studies of alkane omega-hydroxylase: evidence for a diiron cluster in an integral-membrane enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**, 2981-2986.

Shanklin, J. & Whittle, E. (2003). Evidence linking the *Pseudomonas oleovorans* alkane omega-hydroxylase, an integral membrane diiron enzyme, and the fatty acid desaturase family. *FEBS Lett* **545**, 188-192.

Shaw, J. P. & Harayama, S. (1990). Purification and characterisation of TOL plasmid-encoded benzyl alcohol dehydrogenase and benzaldehyde dehydrogenase of *Pseudomonas putida*. *Eur J Biochem* **191**, 705-714.

Shen, Y., Stehmeier, L. G. & Voordouw, G. (1998). Identification of Hydrocarbon-Degrading Bacteria in Soil by Reverse Sample Genome Probing. *Appl Environ Microbiol* **64**, 637-645.

- Singer, M. E. & Finnerty, W. R. (1984).** *Microbial metabolism of straight-chain and branched alkanes*. New York: Macmillan Publisher.
- Smith, C. A. & Hyman, M. R. (2004).** Oxidation of methyl tert-butyl ether by alkane hydroxylase in dicyclopropylketone-induced and n-octane-grown *Pseudomonas putida* GPo1. *Appl Environ Microbiol* **70**, 4544-4550.
- Smits, T. H., Balada, S. B., Witholt, B. & van Beilen, J. B. (2002).** Functional analysis of alkane hydroxylases from gram-negative and gram-positive bacteria. *J Bacteriol* **184**, 1733-1742.
- Snapper, S. B., Melton, R. E., Mustafa, S., Kieser, T. & Jacobs, W. R., Jr. (1990).** Isolation and characterization of efficient plasmid transformation mutants of *Mycobacterium smegmatis*. *Mol Microbiol* **4**, 1911-1919.
- Sokolovska, I., Rozenberg, R., Riez, C., Rouxhet, P. G., Agathos, S. N. & Wattiau, P. (2003).** Carbon source-induced modifications in the mycolic acid content and cell wall permeability of *Rhodococcus erythropolis* E1. *Appl Environ Microbiol* **69**, 7019-7027.
- Solano-Serena, F., Marchal, R., Ropars, M., Lebeault, J. M. & Vandecasteele, J. P. (1999).** Biodegradation of gasoline: kinetics, mass balance and fate of individual hydrocarbons. *J Appl Microbiol* **86**, 1008-1016.
- Solano-Serena, F., Marchal, R., Casaregola, S., Vasnier, C., Lebeault, J. M. & Vandecasteele, J. P. (2000a).** A *Mycobacterium* strain with extended capacities for degradation of gasoline hydrocarbons. *Appl Environ Microbiol* **66**, 2392-2399.
- Solano-Serena, F., Marchal, R., Lebeault, J. M. & Vandecasteele, J. P. (2000b).** Selection of microbial populations degrading recalcitrant hydrocarbons of gasoline by monitoring of culture-headspace composition. *Lett Appl Microbiol* **30**, 19-22.
- Solano-Serena, F., Marchal, R., Heiss, S. & Vandecasteele, J. P. (2004).** Degradation of isooctane by *Mycobacterium austroafricanum* IFP 2173: growth and catabolic pathway. *J Appl Microbiol* **97**, 629-639.
- Solano-Serena, F., Nicolau, E., Favreau, G., Jouanneau, Y. & Marchal, R. (2008).** Biodegradability of 2-ethylhexyl nitrate (2-EHN), a cetane improver of diesel oil. *Biodegradation*.
- Someroja, S. & Savolainen, H. (1983).** Neurochemical effects of ethylhexyl nitrate in rats. *Toxicol Lett* **19**, 189-193.
- Sophos, N. A., Pappa, A., Ziegler, T. L. & Vasiliou, V. (2001).** Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: the 2000 update. *Chem Biol Interact* **130-132**, 323-337.
- Sophos, N. A. & Vasiliou, V. (2003).** Aldehyde dehydrogenase gene superfamily: the 2002 update. *Chem Biol Interact* **143-144**, 5-22.

Soror, S. H., Verma, V., Rao, R., Rasool, S., Koul, S., Qazi, G. N. & Cullum, J. (2007). A cold-active esterase of *Streptomyces coelicolor* A3(2): from genome sequence to enzyme activity. *J Ind Microbiol Biotechnol* **34**, 525-531.

Sugimoto, M., Tanabe, M., Hataya, M., Enokibara, S., Duine, J. A. & Kawai, F. (2001). The first step in polyethylene glycol degradation by sphingomonads proceeds via a flavoprotein alcohol dehydrogenase containing flavin adenine dinucleotide. *J Bacteriol* **183**, 6694-6698.

Suppes, G. J., Goff, M., Burkhart, M. L., Bockwinkel, K., Mason, M. H., Botts, J. B. & Heppert, J. A. (2001). Multifunctional Diesel Fuel Additives from Triglycerides. *Energy Fuels* **15**, 151-157.

Szybist, J. P., Boehman, A. L., Taylor, J. D. & McCormick, R. L. (2005). Evaluation of formulation strategies to eliminate the biodiesel NOx effect. *Fuel Processing Technology* **86**, 1109-1126.

T

Takemura, H., Kondo, K., Horinouchi, S. & Beppu, T. (1993). Induction by ethanol of alcohol dehydrogenase activity in *Acetobacter pasteurianus*. *J Bacteriol* **175**, 6857-6866.

Tamarit, J., Cabiscol, E., Aguilar, J. & Ros, J. (1997). Differential inactivation of alcohol dehydrogenase isoenzymes in *Zymomonas mobilis* by oxygen. *J Bacteriol* **179**, 1102-1104.

The American Chemistry Council Petroleum additives panel (2006). High Production Volume Challenge program Final Submission for Nitric Acid, 2-Ethylhexyl Ester, pp. 11.

Thijsse, G. J. E. & Van der Linden, A. C. (1961). Iso-alkanes oxidation by a *Pseudomonas*. *Ant van Leeuw* **27**, 171-179.

Toyama, H., Mathews, F. S., Adachi, O. & Matsushita, K. (2004). Quinohemoprotein alcohol dehydrogenases: structure, function, and physiology. *Arch Biochem Biophys* **428**, 10-21.

Tusnady, G. E. & Simon, I. (2001). The HMMTOP transmembrane topology prediction server. *Bioinformatics* **17**, 849-850.

U

Ueda, T. & Coon, M. J. (1972). Enzymatic oxidation. VII. Reduced diphosphopyridine nucleotide-rubredoxin reductase: properties and function as an electron carrier in hydroxylation. *J Biol Chem* **247**, 5010-5016.

V

- Vahaoja, P., Kuokkanen, T., Valimäki, I., Vuoti, S. & Perämäki, P. (2005).** Biodegradabilities of some chain oils in groundwater as determined by the respirometric BOD OxiTop method. *Anal Bioanal Chem* **381**, 445-450.
- van Beilen, J. B., Eggink, G., Enequist, H., Bos, R. & Witholt, B. (1992a).** DNA sequence determination and functional characterization of the OCT-plasmid-encoded alkJKL genes of *Pseudomonas oleovorans*. *Mol Microbiol* **6**, 3121-3136.
- van Beilen, J. B., Penninga, D. & Witholt, B. (1992b).** Topology of the membrane-bound alkane hydroxylase of *Pseudomonas oleovorans*. *J Biol Chem* **267**, 9194-9201.
- van Beilen, J. B., Wubbolts, M. G. & Witholt, B. (1994).** Genetics of alkane oxidation by *Pseudomonas oleovorans*. *Biodegradation* **5**, 161-174.
- van Beilen, J. B., Panke, S., Lucchini, S., Franchini, A. G., Rothlisberger, M. & Witholt, B. (2001).** Analysis of *Pseudomonas putida* alkane-degradation gene clusters and flanking insertion sequences: evolution and regulation of the alk genes. *Microbiology* **147**, 1621-1630.
- van Beilen, J. B., Neuenschwander, M., Smits, T. H., Roth, C., Balada, S. B. & Witholt, B. (2002a).** Rubredoxins involved in alkane oxidation. *J Bacteriol* **184**, 1722-1732.
- van Beilen, J. B., Smits, T. H., Whyte, L. G., Schorcht, S., Rothlisberger, M., Plaggemeier, T., Engesser, K. H. & Witholt, B. (2002b).** Alkane hydroxylase homologues in Gram-positive strains. *Environ Microbiol* **4**, 676-682.
- van Beilen, J. B., Li, Z., Duetz, W. A., Smits, T. H. & Witholt, B. (2003).** Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment. *Oil & Gas Science and Technology - Rev IFP* **58**, 427-440.
- van Beilen, J. B., Marin, M. M., Smits, T. H., Rothlisberger, M., Franchini, A. G., Witholt, B. & Rojo, F. (2004).** Characterization of two alkane hydroxylase genes from the marine hydrocarbonoclastic bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Environ Microbiol* **6**, 264-273.
- van Beilen, J. B. & Funhoff, E. G. (2005).** Expanding the alkane oxygenase toolbox: new enzymes and applications. *Curr Opin Biotechnol* **16**, 308-314.
- van Beilen, J. B., Holtackers, R., Luscher, D., Bauer, U., Witholt, B. & Duetz, W. A. (2005a).** Biocatalytic production of perillyl alcohol from limonene by using a novel *Mycobacterium* sp. cytochrome P450 alkane hydroxylase expressed in *Pseudomonas putida*. *Appl Environ Microbiol* **71**, 1737-1744.
- van Beilen, J. B., Smits, T. H., Roos, F. F., Brunner, T., Balada, S. B., Rothlisberger, M. & Witholt, B. (2005b).** Identification of an amino acid position that determines the substrate range of integral membrane alkane hydroxylases. *J Bacteriol* **187**, 85-91.

van Beilen, J. B., Funhoff, E. G., van Loon, A. & other authors (2006). Cytochrome P450 Alkane Hydroxylases of the CYP153 Family Are Common in Alkane-Degrading Eubacteria Lacking Integral Membrane Alkane Hydroxylases. *Appl Environ Microbiol* **72**, 59-65.

van Beilen, J. B. & Funhoff, E. G. (2007). Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation. *Appl Microbiol Biotechnol* **74**, 13-21.

Vandecasteele, J. P. (2005). Biodegradation des hydrocarbures aliphatiques et alicycliques. In *Microbiologie Pétrolière*, pp. 173-239. Edited by E. Technip. Paris.

Varela, E., Bockle, B., Romero, A., Martinez, A. T. & Martinez, M. J. (2000). Biochemical characterization, cDNA cloning and protein crystallization of aryl-alcohol oxidase from *Pleurotus pulmonarius*. *Biochim Biophys Acta* **1476**, 129-138.

W

Wang, Y., Ogawa, M., Fukuda, K., Miyamoto, H. & Taniguchi, H. (2006). Isolation and identification of mycobacteria from soils at an illegal dumping site and landfills in Japan. *Microbiol Immunol* **50**, 513-524.

Wasinger, V. C., Cordwell, S. J., Cerpa-Poljak, A. & other authors (1995). Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis* **16**, 1090-1094.

Watkinson, R. J. & Morgan, P. (1990). Physiology of aliphatic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Biodegradation* **1**, 79-92.

Wei, Y., Schottel, J. L., Derewenda, U., Swenson, L., Patkar, S. & Derewenda, Z. S. (1995). A novel variant of the catalytic triad in the *Streptomyces scabies* esterase. *Nat Struct Biol* **2**, 218-223.

Whyte, L. G., Smits, T. H., Labbe, D., Witholt, B., Greer, C. W. & van Beilen, J. B. (2002). Gene cloning and characterization of multiple alkane hydroxylase systems in *Rhodococcus* strains Q15 and NRRL B-16531. *Appl Environ Microbiol* **68**, 5933-5942.

Wick, L. Y., Pasche, N., Bernasconi, S. M., Pelz, O. & Harms, H. (2003). Characterization of multiple-substrate utilization by anthracene-degrading *Mycobacterium frederiksbergense* LB501T. *Appl Environ Microbiol* **69**, 6133-6142.

X

Xia, Q., Hendrickson, E. L., Wang, T., Lamont, R. J., Leigh, J. A. & Hackett, M. (2007). Protein abundance ratios for global studies of prokaryotes. *Proteomics* **7**, 2904-2919.

Y

Yokoyama, S., Yokoyama, R., Kinlaw, C. S. & Harry, D. E. (1990). Molecular evolution of the zinc-containing long-chain alcohol dehydrogenase genes. *Mol Biol Evol* **7**, 143-154.

Z

Zuber, B., Chami, M., Houssin, C., Dubochet, J., Griffiths, G. & Daffe, M. (2008). Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in their native state. *J Bacteriol* **190**, 5672-5680.

ANNEXES

ANNEXES

Table S2: Proteins found in both 2-EHN and acetate-grown cells.

Relative abundances of proteins based on peptide spectral counts were calculated as indicated in Materials and Methods. Lines shown on a light gray background highlight proteins more abundant n 2-EHN than on acetate. Proteins found to be at least two-fold more abundant on 2-EHN than on acetate were shown on dark gray background

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
DNA-directed RNA polymerase subunit beta' - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RPOC_MYCVP	147052.31	3093,40	147052	37,35	46	0,3609	0,3539	1,02	0,88	2391,62	147052	33,16	38	0,2572	0,2649	1,12	0,74
UPF0182 protein Mvan_1814 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	Y1814_MYCVP	109188.24	1779,18	109188	32,14	22	0,2582	0,1820	0,74	0,71	1879,76	109188	31,24	23	0,2860	0,1960	0,97	0,87
Bacterial nucleoid protein Hbs - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T702_MYCVP	21780.83	759,14	21781	33,33	9	1,0708	0,5482	1,02	0,90	724,28	21781	33,33	8	0,7972	0,4486	0,96	1,23
Glutamate dehydrogenase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCE6_MYCVP	176342.48	1352,96	176342	16,84	21	0,0625	0,0922	0,34	0,45	2187,41	176342	24,89	31	0,1259	0,1534	0,86	0,85
Protein translocase subunit secA 1 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	SECA1_MYCVP	104706.66	2582,72	104707	44,69	36	0,4502	0,4132	0,77	0,72	2022,14	104707	34,38	27	0,3074	0,2631	0,79	0,73
Putative uncharacterized protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TFZ4_MYCVP	41883.71	1161,06	41884	49,87	13	0,4323	0,3425	1,62	2,12	898,64	41884	30,79	10	0,2623	0,2312	0,72	0,93
60 kDa chaperonin - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T352_MYCVP	56479.01	1566,86	56479	53,42	18	0,4498	0,3608	0,48	0,31	1595,22	56479	48,43	18	0,4404	0,3651	0,69	0,25
Aldehyde dehydrogenase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T1A6_MYCVP	50532.71	995,56	50533	36,17	11	0,1837	0,2007	0,20	0,26	1261,03	50533	37,91	15	0,5043	0,3239	0,59	0,76
ATP synthase subunit alpha - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	ATPA_MYCVP	58539.13	1811,65	58539	51,11	21	0,5222	0,4408	1,11	0,40	1169,06	58539	35,74	16	0,2985	0,2854	0,56	0,25

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Glycerol dehydratase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGM8_MYCVP	79383.7	593,87	79384	13,17	8	0,0552	0,0750	0,15	0,19	1110,18	79384	28,40	15	0,1694	0,1679	0,55	0,71
60 kDa chaperonin - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T577_MYCVP	56450.72	1321,39	56451	53,41	16	0,2760	0,2985	0,28	0,26	1421,39	56451	50,49	18	0,4070	0,3651	0,52	0,67
DoxX family protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAJ9_MYCVP	28987.64	635,93	28988	38,89	8	0,3046	0,2808	0,28	0,36	864,06	28988	46,30	11	1,0185	0,4816	0,51	0,65
ATP synthase B chain - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TD58_MYCVP	47254.07	1431,81	47254	53,61	17	0,4578	0,4414	0,86	1,12	1458,72	47254	49,65	18	0,8895	0,4943	0,49	0,64
ATP synthase F1, beta subunit - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TD55_MYCVP	51712.54	2655,75	51713	84,89	27	2,9295	0,9114	1,27	0,19	1491,79	51713	59,57	17	0,4829	0,3838	0,49	0,13
Alanyl-tRNA synthetase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8E8_MYCVP	96732.02	1359,64	96732	32,74	18	0,1474	0,1629	0,33	0,26	1415,76	96732	29,04	17	0,1661	0,1526	0,49	0,31
Elongation factor Tu - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	EFTU_MYCVP	43775.51	1353,75	43776	70,28	18	1,2031	0,5601	0,71	0,35	1259,20	43776	59,45	16	1,1674	0,4577	0,45	0,13
SPFH domain, Band 7 family protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8R6_MYCVP	43890.91	900,84	43891	43,50	11	0,2296	0,2458	0,24	0,31	741,35	43891	31,83	11	0,3050	0,2488	0,45	0,58
AMP-dependent synthetase and ligase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TDN5_MYCVP	65646.4	959,91	65646	36,41	15	0,2148	0,2162	0,26	0,35	787,24	65646	26,51	12	0,1762	0,1602	0,44	0,29
2-oxoglutarate dehydrogenase E2 component - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB23_MYCVP	60755.09	978,12	60755	29,48	13	0,1873	0,1965	0,22	0,29	959,23	60755	29,48	13	0,2170	0,1989	0,42	0,54
60 kDa chaperonin 2 GroEL2 - M. ulcerans (strain Agy99)	A0PNL7_MYCUA	56524.08	661,97	56524	20,15	9	0,0967	0,1315	0,15	0,02	761,22	56524	20,33	10	0,1314	0,1529	0,42	0,04
Conserved large membrane protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T1J6_MYCVP	109259.06	1344,01	109259	22,72	18	0,1163	0,1386	0,44	0,41	959,62	109259	18,35	14	0,0806	0,1018	0,42	0,54
2-oxoglutarate decarboxylase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	KGD_MYCVP	136894.62	954,84	136895	14,47	15	0,0620	0,0832	0,25	0,07	809,17	136895	14,39	12	0,0704	0,0647	0,42	0,22

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
ATPase AAA-2 domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TG29_MYCVP	93507.17	1032,39	93507	20,71	16	0,1092	0,1455	0,30	0,21	1162,87	93507	26,94	18	0,1338	0,1726	0,41	0,27
Aldehyde dehydrogenase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T359_MYCVP	54677.22	1099,65	54677	37,02	13	0,2668	0,2285	0,30	0,40	825,97	54677	25,75	9	0,1728	0,1390	0,39	0,51
ATP synthase subunit alpha - M. smegmatis (strain ATCC 700084 / mc(2)155)	ATPA_MYCS2	58852.41	958,43	58852	27,48	12	0,2568	0,1835	0,40	0,00	736,01	58852	23,18	9	0,1549	0,1263	0,39	0,00
DNA-directed RNA polymerase subunit beta - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RPOB_MYCVP	128409.17	1376,65	128409	20,82	19	0,1304	0,1208	0,42	0,40	1240,67	128409	19,88	19	0,1051	0,1222	0,39	0,25
DNA-directed RNA polymerase - Kineococcus radiotolerans SRS30216	A6W5T1_KINRA	144009.61	900,42	144010	10,39	13	0,0542	0,0662	0,26	0,00	777,98	144010	9,01	11	0,0489	0,0552	0,39	0,00
DNA-directed RNA polymerase subunit beta' - Thermobifida fusca (strain YX)	RPOC_THEFY	145204.74	788,40	145205	9,62	13	0,0457	0,0655	0,24	0,00	702,21	145205	8,26	11	0,0405	0,0547	0,39	0,00
ATP synthase F1, beta subunit - M. gilvum PYR-GCK	A4T8K2_9MYCO	52187.69	2008,64	52188	66,88	21	1,5056	0,5401	1,00	0,00	1024,92	52188	45,57	13	0,2780	0,2472	0,38	0,00
Elongation factor Tu - M. paratuberculosis	EFTU_MYCPA	43743.51	1015,79	43744	43,32	13	0,7066	0,3194	0,57	0,00	972,63	43744	39,55	12	0,6819	0,2850	0,37	0,00
DNA-directed RNA polymerase - Salinispora tropica CNB-440	A4XBQ5_9ACTO	143940.44	741,96	143940	8,94	12	0,0424	0,0604	0,22	0,00	648,53	143940	7,57	10	0,0370	0,0496	0,37	0,00
AMP-dependent synthetase and ligase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TA99_MYCVP	106130.07	1438,73	106130	23,96	18	0,1541	0,1439	0,40	0,52	928,03	106130	20,75	14	0,0904	0,1055	0,35	0,45
UPF0182 protein Mmcs_1415 - M. sp. (strain MCS)	Y1415_MYCSS	109334.6	628,51	109335	11,18	8	0,0430	0,0519	0,21	0,02	641,59	109335	11,68	9	0,0622	0,0601	0,35	0,07
Short-chain dehydrogenase/reductase SDR - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T1O8_MYCVP	49410.64	1189,46	49411	46,17	15	0,2884	0,3316	0,37	0,48	1365,88	49411	51,28	16	0,4428	0,3729	0,34	0,44
30S ribosomal protein S3 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RS3_MYCVP	30690.16	617,05	30690	36,79	9	0,2354	0,3100	0,21	0,28	623,34	30690	42,14	9	0,2928	0,3137	0,34	0,38

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
ABC transporter-related protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T5C6_MYCVP	91158.67	620,81	91159	17,03	9	0,0665	0,0733	0,17	0,22	731,42	91159	16,06	12	0,1289	0,1051	0,34	0,44
Phage shock protein A, PspA - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T7R2_MYCVP	29466.92	807,29	29467	46,32	9	0,4682	0,3303	0,26	0,35	1048,76	29467	71,32	13	1,2702	0,6392	0,32	0,42
Peroxidase/catalase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TA09_MYCVP	82156.54	842,93	82157	16,49	10	0,0757	0,0941	0,17	0,22	941,76	82157	21,69	12	0,1382	0,1196	0,32	0,38
Carbamoyl-phosphate synthase large chain - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	CARB_MYCVP	119250.73	610,18	119251	10,43	10	0,0578	0,0607	0,18	0,14	865,98	119251	15,11	14	0,0899	0,0915	0,32	0,36
Nitrate reductase, alpha subunit - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TDS1_MYCVP	135975.57	1050,54	135976	16,18	17	0,0718	0,0977	0,29	0,36	929,28	135976	13,59	13	0,0523	0,0716	0,32	0,42
30S ribosomal protein S13 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RS13_MYCVP	14342.78	526,60	14343	43,85	6	0,6226	0,5441	0,24	0,31	609,61	14343	43,85	7	0,6589	0,7424	0,31	0,40
Extracellular solute-binding protein, family 1 precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9P5_MYCVP	35423.05	540,96	35423	24,53	6	0,1874	0,1411	0,29	0,38	841,48	35423	36,96	8	0,3061	0,2121	0,31	0,38
Putative uncharacterized protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TBP7_MYCVP	69303.03	1404,49	69303	45,56	20	0,3063	0,3080	0,48	0,62	1062,61	69303	32,86	15	0,1771	0,2025	0,31	0,40
Dihydrolipoyl dehydrogenase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T382_MYCVP	49718.61	464,47	49719	18,63	6	0,0593	0,0927	0,16	0,14	587,09	49719	22,62	8	0,1055	0,1349	0,31	0,18
AMP-dependent synthetase and ligase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAZ4_MYCVP	64511.65	768,07	64512	28,16	10	0,0922	0,1272	0,16	0,21	747,42	64512	28,16	10	0,1808	0,1287	0,31	0,40
2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component - M. gilvum PYR-GCK	A4T8U7_9MYCO	140933.68	715,11	140934	10,69	11	0,0396	0,0560	0,20	0,03	599,96	140934	9,45	9	0,0460	0,0452	0,31	0,07
DNA-directed RNA polymerase subunit beta' - Corynebacterium diphtheriae	RPOC_CORDI	147891.15	614,69	147891	7,59	9	0,0374	0,0423	0,21	0,03	540,78	147891	7,29	8	0,0322	0,0376	0,31	0,04
FAD dependent oxidoreductase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T5J9_MYCVP	63539.49	1189,55	63539	41,03	15	0,2456	0,2266	0,32	0,41	1109,48	63539	40,00	16	0,2396	0,2523	0,30	0,38

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Isocitrate lyase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9D2_MYCVP	85792.26	933,38	85792	19,00	15	0,1136	0,1497	0,28	0,24	886,95	85792	20,28	14	0,0926	0,1383	0,30	0,25
ATP synthase F1, alpha subunit - M. gilvum PYR-GCK	A4T8K0_9MYCO	59050.4	749,96	59050	22,39	10	0,2150	0,1429	0,30	0,00	612,56	59050	20,34	8	0,1239	0,1085	0,30	0,00
Bacterioferritin - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9J5_MYCVP	18317.24	748,74	18317	62,05	9	1,6935	0,7578	0,37	0,14	730,59	18317	74,70	10	1,7920	0,9583	0,28	0,13
Extracellular solute-binding protein, family 3 precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T7U0_MYCVP	29017.56	747,69	29018	45,88	9	0,3571	0,3383	0,29	0,38	762,24	29018	45,88	9	0,4403	0,3423	0,28	0,36
ATP synthase F1, beta subunit - M. smegmatis (strain ATCC 700084 / mc(2)155)	A0R200_MYCS2	51584.43	1643,00	51584	53,85	17	0,7422	0,3807	0,87	0,00	898,38	51584	37,82	11	0,2102	0,1976	0,28	0,00
AMP-dependent synthetase and ligase - M. gilvum PYR-GCK	A4T8Y5_9MYCO	65400.96	389,69	65401	10,61	5	0,0605	0,0543	0,20	0,03	401,91	65401	12,79	6	0,0959	0,0678	0,28	0,09
HAD-superfamily hydrolase, subfamily IIB - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCI4_MYCVP	134838.59	264,43	134839	3,76	4	0,0125	0,0195	0,05	0,07	834,03	134839	10,94	12	0,0484	0,0659	0,28	0,36
Fatty acid synthase, bacterial type - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCK2_MYCVP	327946.1	174,16	327946	1,07	3	0,0037	0,0058	0,04	0,05	683,86	327946	5,03	12	0,0180	0,0247	0,28	0,33
MihF - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8H3_MYCVP	11674.48	516,78	11674	48,11	7	3,2965	1,1166	0,45	0,47	608,39	11674	57,55	8	1,9287	1,5586	0,27	0,27
Transcriptional regulator, Crp/Fnr family - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGA5_MYCVP	24776.19	323,81	24776	32,00	5	0,1467	0,1768	0,12	0,16	686,61	24776	50,67	9	0,6026	0,4429	0,27	0,34
Putative uncharacterized protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T1P9_MYCVP	43299.94	1043,36	43300	54,45	12	0,4050	0,2861	0,45	0,55	679,34	43300	41,48	9	0,2481	0,1895	0,27	0,34
Fumarate reductase/succinate dehydrogenase flavoprotein domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TFF3_MYCVP	59931.0	1352,68	59931	43,42	17	0,3187	0,2995	0,36	0,47	844,85	59931	26,10	11	0,2028	0,1611	0,27	0,34
Saccharopine dehydrogenase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TC30_MYCVP	44785.73	955,50	44786	43,20	13	0,2784	0,3083	0,24	0,31	679,93	44786	27,92	8	0,2088	0,1543	0,27	0,34

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Polyribonucleotide nucleotidyltransferase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T7L4_MYCVP	80123.29	452,60	80123	12,73	7	0,0622	0,0635	0,17	0,22	767,72	80123	22,68	12	0,1321	0,1236	0,27	0,34
Polyposphate kinase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T704_MYCVP	81338.97	171,12	81339	4,06	2	0,0157	0,0160	0,04	0,05	913,16	81339	24,63	12	0,1294	0,1213	0,27	0,27
2-oxo-acid dehydrogenase E1 subunit, homodimeric type - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB14_MYCVP	103009.75	613,54	103010	10,26	9	0,0460	0,0635	0,13	0,17	587,05	103010	10,15	9	0,0605	0,0643	0,27	0,34
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T396_MYCVP	22999.38	536,81	22999	43,06	6	0,2076	0,2553	0,11	0,14	809,82	22999	52,15	11	0,5926	0,7389	0,25	0,33
Short-chain dehydrogenase/reductase SDR - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T1R6_MYCVP	28219.06	604,56	28219	33,98	8	0,2261	0,2926	0,13	0,17	721,65	28219	33,98	8	0,2392	0,2960	0,25	0,33
UspA domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4V6_MYCVP	29922.71	443,60	29923	24,18	5	0,0885	0,1383	0,11	0,14	669,81	29923	24,91	7	0,2185	0,2226	0,25	0,33
Alpha amylase, catalytic region - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TD28_MYCVP	78030.41	545,95	78030	15,51	8	0,0643	0,0766	0,13	0,17	873,03	78030	24,54	12	0,1152	0,1279	0,25	0,33
Putative esterase precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9L3_MYCVP	36354.8	377,24	36355	15,76	5	0,1804	0,1082	0,20	0,26	384,59	36355	15,76	5	0,1909	0,1095	0,25	0,33
L-glutamine synthetase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB29_MYCVP	53650.54	1239,90	53651	40,86	15	0,4236	0,2917	0,49	0,55	546,85	53651	21,97	7	0,1251	0,1032	0,25	0,25
ATPase AAA-2 domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T2U7_MYCVP	92274.31	335,18	92274	8,00	6	0,0290	0,0454	0,11	0,07	667,87	92274	16,47	11	0,0622	0,0930	0,25	0,16
1,4-alpha-glucan branching enzyme - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TD29_MYCVP	83368.61	466,88	83369	10,83	6	0,0592	0,0508	0,16	0,21	532,34	83369	12,55	7	0,0871	0,0613	0,25	0,33

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T2Q8_MYCVP	109506.69	895,00	109507	15,50	11	0,0642	0,0749	0,20	0,26	682,44	109507	12,86	9	0,0620	0,0600	0,25	0,33
Protein translocase subunit secA 1 - M. ulcerans (strain Agy99)	SECA1_MYCUA	106260.2	635,61	106260	8,49	9	0,0551	0,0613	0,21	0,05	460,87	106260	8,39	8	0,0526	0,0542	0,25	0,15
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCD8_MYCVP	16174.64	701,99	16175	83,89	8	1,6011	0,7674	0,32	0,41	741,96	16175	83,89	8	1,6942	0,7765	0,24	0,31
50S ribosomal protein L15 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4S5_MYCVP	15519.49	419,19	15519	40,82	5	0,3059	0,3500	0,25	0,33	566,93	15519	41,50	6	0,7314	0,4837	0,24	0,31
50S ribosomal protein L1 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RL1_MYCVP	24964.24	723,87	24964	45,22	8	0,4016	0,3559	0,18	0,14	770,36	24964	50,00	9	0,5970	0,4395	0,24	0,18
Elongation factor Tu - M. duvalii (S)-2-hydroxy-acid oxidase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1C3G9_9MYCO	23566.19	547,69	23566	44,39	7	0,8844	0,3127	0,32	0,00	667,99	23566	44,39	8	1,2899	0,3937	0,24	0,00
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4N1_MYCVP	42021.73	722,28	42022	36,65	10	0,1457	0,2276	0,16	0,12	635,59	42022	33,33	8	0,1777	0,1680	0,24	0,22
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8Y8_MYCVP	20555.4	199,02	20555	16,24	3	0,1068	0,1143	0,15	0,19	244,71	20555	16,24	3	0,1130	0,1157	0,24	0,31
1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCF2_MYCVP	57046.1	496,72	57046	16,99	7	0,0716	0,0948	0,13	0,17	492,63	57046	19,50	8	0,1013	0,1133	0,24	0,31
60 kDa chaperonin 1 - Thermobifida fusca (strain YX)	CH601_THEFY	57487.32	254,68	57487	6,51	4	0,0312	0,0488	0,07	0,03	505,91	57487	9,00	5	0,0636	0,0637	0,24	0,00
Preprotein translocase secA1 1 subunit - M. tuberculosis (strain F11)	A1QWH6_MYCTF	107535.98	546,83	107536	8,09	8	0,0490	0,0529	0,20	0,05	380,50	107536	7,98	7	0,0463	0,0461	0,24	0,15
30S ribosomal protein S7 - M. gilvum PYR-GCK	A4T1R4_9MYCO	17521.48	551,37	17521	55,35	8	0,8417	0,6586	0,30	0,31	607,46	17521	55,35	8	0,5667	0,6664	0,22	0,20
50S ribosomal protein L22 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4P4_MYCVP	16544.97	406,66	16545	46,67	4	0,4657	0,2238	0,24	0,31	498,71	16545	48,00	5	0,2880	0,3181	0,22	0,29
ABC transporter-related protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T364_MYCVP	32123.51	563,77	32124	37,67	8	0,2979	0,2415	0,22	0,29	707,36	32124	40,75	9	0,4191	0,2923	0,22	0,27

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
ATPase associated with various cellular activities, AAA_3 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8Q6_MYCVP	41506.06	998,86	41506	56,10	15	0,3970	0,4439	0,29	0,38	794,73	41506	46,49	11	0,2075	0,2708	0,22	0,29
Cell division ATP-binding protein FtsE - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T6D4_MYCVP	25537.54	316,49	25538	28,02	5	0,1404	0,1697	0,08	0,10	366,91	25538	28,45	5	0,1871	0,1717	0,22	0,29
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T2R3_MYCVP	66326.37	789,44	66326	27,57	12	0,1236	0,1562	0,18	0,24	730,60	66326	26,91	11	0,1058	0,1408	0,22	0,29
UspA domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4W2_MYCVP	31270.4	133,12	31270	8,80	2	0,0281	0,0439	0,04	0,05	429,13	31270	25,00	5	0,2042	0,1323	0,22	0,24
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGZ8_MYCVP	55019.72	634,76	55020	21,00	9	0,0872	0,1363	0,12	0,16	597,51	55020	15,40	8	0,1062	0,1185	0,22	0,29
Succinate dehydrogenase subunit A - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T5G6_MYCVP	64130.25	990,75	64130	27,62	13	0,1727	0,1825	0,22	0,29	632,41	64130	18,70	9	0,0985	0,1135	0,22	0,29
LGFP repeat protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T7V3_MYCVP	71365.92	694,50	71366	25,31	8	0,0811	0,0852	0,17	0,22	583,00	71366	20,99	7	0,0858	0,0735	0,22	0,29
Protein kinase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T414_MYCVP	103885.82	147,63	103886	4,34	3	0,0121	0,0189	0,04	0,05	709,70	103886	13,77	10	0,0540	0,0721	0,22	0,29
Aminopeptidase N. Metallo peptidase. MEROPS family M01 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TCD4_MYCVP	94980.44	516,04	94980	13,09	8	0,0447	0,0609	0,17	0,22	477,13	94980	13,56	8	0,0473	0,0616	0,22	0,29
10 kDa chaperonin - M. gilvum PYR-GCK	A4TEN7_9MYCO	10770.58	331,03	10771	68,04	5	0,4107	0,6418	0,08	0,10	475,80	10771	79,38	6	0,9011	0,9452	0,21	0,27
Short-chain dehydrogenase/reductase SDR - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8C8_MYCVP	26926.39	438,55	26926	32,38	7	0,2445	0,2562	0,17	0,22	644,14	26926	44,67	10	0,5102	0,4634	0,21	0,27
DivIVA family protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAW0_MYCVP	29817.8	1165,83	29818	71,22	15	1,0267	0,8246	0,53	0,69	643,51	29818	38,38	10	0,3079	0,3904	0,21	0,27

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Bacterioferritin - M. gilvum PYR-GCK	A4TAG8_MYCO	18401.28	440,88	18401	29,94	6	0,9266	0,3605	0,29	0,03	471,07	18401	29,94	6	0,6413	0,3648	0,21	0,04
Enolase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	ENO_MYCVP	44948.04	1267,83	44948	56,26	15	0,2772	0,3879	0,38	0,38	1143,66	44948	44,68	13	0,2627	0,3108	0,21	0,16
Rieske - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB03_MYCVP	44233.66	1311,11	44234	39,30	16	0,5227	0,4445	0,33	0,43	779,82	44234	27,11	10	0,1646	0,2140	0,21	0,27
Short-chain dehydrogenase/reductase SDR - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGU3_MYCVP	28306.91	212,10	28307	18,29	3	0,0948	0,0780	0,07	0,09	450,15	28307	28,79	6	0,1969	0,1924	0,21	0,27
ATP synthase gamma chain - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	ATPG_MYCVP	33565.26	649,50	33565	36,57	9	0,2382	0,2703	0,28	0,36	601,71	33565	28,80	7	0,1534	0,1894	0,21	0,27
ABC transporter-related protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T852_MYCVP	44157.67	1005,45	44158	36,91	11	0,3183	0,2440	0,22	0,16	532,56	44158	19,70	6	0,1238	0,1084	0,21	0,27
Catalase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TA03_MYCVP	77886.79	800,51	77887	24,51	13	0,1411	0,1406	0,36	0,38	671,98	77887	19,58	10	0,1051	0,1018	0,21	0,27
ABC transporter domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9W6_MYCVP	70700.0	1094,87	70700	32,87	15	0,1494	0,1949	0,24	0,31	584,85	70700	18,69	9	0,0973	0,1006	0,21	0,27
Carbamoyl-phosphate synthase L chain, ATP-binding - M. gilvum PYR-GCK	A4TF27_MYCO	63033.42	810,81	63033	32,46	9	0,1938	0,1147	0,25	0,26	550,56	63033	22,16	7	0,0889	0,0851	0,21	0,18
Probable malate:quinone oxidoreductase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	MQO_MYCVP	55846.63	668,00	55847	28,38	9	0,1118	0,1335	0,16	0,21	518,80	55847	16,80	6	0,0777	0,0815	0,21	0,27
Beta-ketoacyl synthase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9S5_MYCVP	156802.47	888,64	156802	13,11	15	0,0454	0,0709	0,24	0,31	798,21	156802	12,08	14	0,0443	0,0662	0,21	0,27
Alanyl-tRNA synthetase - M. smegmatis (strain ATCC 700084 / mc(2)155)	A0QWQ4_MYCS2	96723.12	432,75	96723	8,20	6	0,0328	0,0431	0,11	0,00	431,49	96723	8,20	6	0,0404	0,0436	0,21	0,00
50S ribosomal protein L23 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RL23_MYCVP	10923.02	204,34	10923	43,00	3	0,2683	0,2634	0,11	0,14	380,42	10923	64,00	6	0,6195	0,9257	0,20	0,25

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
50S ribosomal protein L10 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RL10_MYCVP	18544.88	632,03	18545	61,90	8	0,5910	0,5873	0,22	0,29	680,18	18545	61,90	8	0,7742	0,5943	0,20	0,25
Putative uncharacterized protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAI8_MYCVP	13176.77	354,23	13177	50,42	4	0,2918	0,3139	0,11	0,14	401,46	13177	57,98	5	0,5924	0,4614	0,20	0,25
SOUL heme-binding protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB69_MYCVP	21524.92	324,87	21525	32,66	5	0,3607	0,2156	0,21	0,28	520,89	21525	47,69	8	0,6871	0,4605	0,20	0,25
Elongation factor Tu - M. nonchromogenicum	A1C3C9_MYCNO	23649.23	544,59	23649	44,39	7	1,0276	0,3104	0,32	0,17	552,17	23649	35,98	7	0,7853	0,3141	0,20	0,00
ABC transporter-related protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8C9_MYCVP	37575.64	964,59	37576	42,57	13	0,3379	0,4097	0,26	0,35	736,81	37576	38,86	10	0,2425	0,2714	0,20	0,25
SSU ribosomal protein S5P - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4S3_MYCVP	23098.18	571,59	23098	49,77	8	0,3157	0,4014	0,16	0,17	450,69	23098	31,67	6	0,2718	0,2565	0,20	0,22
UspA domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T6I2_MYCVP	30977.02	160,30	30977	11,03	2	0,0283	0,0442	0,04	0,05	490,31	30977	35,66	6	0,3353	0,1703	0,20	0,24
Elongation factor Tu - Saccharopolyspora erythraea (strain NRRL 23338)	EFTU_SACEN	44013.56	489,58	44014	21,25	6	0,2567	0,1075	0,32	0,17	617,24	44014	21,25	7	0,2420	0,1324	0,20	0,05
Isocitrate dehydrogenase, NADP-dependent - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TA13_MYCVP	82312.64	579,69	82313	16,98	9	0,0601	0,0827	0,20	0,21	756,75	82313	21,93	11	0,0799	0,1070	0,20	0,25
Amino acid permease-associated region - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGM9_MYCVP	54647.37	492,60	54647	16,27	6	0,0755	0,0827	0,29	0,38	460,97	54647	16,27	6	0,0676	0,0836	0,20	0,25
Phosphoenolpyruvate carboxylase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8L4_MYCVP	102786.23	627,78	102786	13,06	10	0,0461	0,0721	0,13	0,09	551,98	102786	12,10	10	0,0488	0,0729	0,20	0,16
ATP synthase subunit alpha - M. paratuberculosis	ATPA_MYCPA	59955.89	632,89	59956	15,05	8	0,1281	0,1051	0,24	0,07	391,76	59956	10,83	5	0,0603	0,0606	0,20	0,11
Alanyl-tRNA synthetase - M. sp. (strain KMS)	A1UFI3_MYCSK	96879.24	409,26	96879	8,59	6	0,0327	0,0430	0,09	0,00	561,74	96879	10,89	7	0,0403	0,0518	0,20	0,00

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
UspA domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAD9_MYCVP	15175.01	466,21	15175	53,06	7	0,4246	0,6635	0,20	0,14	487,68	15175	53,06	7	0,4493	0,6714	0,18	0,24
Electron transfer flavoprotein, alpha subunit - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T6W5_MYCVP	31955.8	510,43	31956	33,12	7	0,1285	0,2008	0,09	0,12	705,48	31956	44,83	9	0,2339	0,2954	0,18	0,24
50S ribosomal protein L5 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4R8_MYCVP	21174.14	444,09	21174	43,23	6	0,4558	0,2899	0,28	0,36	589,10	21174	54,17	6	0,5874	0,2933	0,18	0,24
ABC-1 domain protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T4H6_MYCVP	50070.41	366,86	50070	15,60	5	0,0471	0,0737	0,08	0,10	827,41	50070	29,89	11	0,1759	0,2056	0,18	0,11
Periplasmic solute binding protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TFZ5_MYCVP	31898.17	687,98	31898	34,77	9	0,4599	0,2919	0,33	0,43	574,47	31898	27,81	7	0,2742	0,2032	0,18	0,24
50S ribosomal protein L2 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	RL2_MYCVP	30381.28	418,18	30381	28,99	6	0,1109	0,1733	0,09	0,12	469,18	30381	29,35	6	0,2135	0,1754	0,18	0,24
Anion-transporting ATPase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGB0_MYCVP	40915.0	485,54	40915	37,47	9	0,2002	0,2030	0,16	0,21	418,21	40915	24,08	8	0,1375	0,1742	0,18	0,24
Extracellular ligand-binding receptor precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8Z8_MYCVP	41593.68	1161,92	41594	67,99	14	0,4391	0,3924	0,45	0,59	726,17	41594	36,51	8	0,2066	0,1704	0,18	0,24
Putative membrane protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T117_MYCVP	15285.45	168,14	15285	18,12	2	0,1069	0,0988	0,15	0,19	235,91	15285	39,86	3	0,2424	0,1690	0,18	0,24
Glycosyltransferases-like protein - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TGW4_MYCVP	72580.89	417,91	72581	11,84	6	0,0534	0,0595	0,11	0,14	594,15	72581	16,39	9	0,0839	0,0975	0,18	0,24
ATP synthase subunit alpha - M. sp. (strain JLS)	ATPA_MYCSJ	59602.61	503,19	59603	14,60	7	0,0903	0,0899	0,18	0,10	360,58	59603	10,54	5	0,0609	0,0611	0,18	0,07
ATP synthase epsilon chain - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	ATPE_MYCVP	13321.74	488,23	13322	44,63	4	0,3965	0,3060	0,16	0,21	493,88	13322	44,63	4	0,3003	0,3097	0,17	0,22

Description	Accession	MW	ACETATE								2-EHN							
			score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount		score	mass	coverage	#peps	emPAI		SpCount	
							%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques					%Abdc emPAI Mascot	%Abdc notre emPAI	%Abdc SpC total	%Abdc SpC uniques
Putative alanine and proline rich membrane protein precursor - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TFR0_MYCVP	17744.88	430,85	17745	56,52	6	0,3203	0,3825	0,15	0,19	402,74	17745	56,52	5	0,2590	0,2885	0,17	0,22
Photosystem I assembly BtpA - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T8C7_MYCVP	28605.89	330,79	28606	24,06	6	0,2219	0,1881	0,15	0,19	432,74	28606	38,72	7	0,2348	0,2376	0,17	0,22
50S ribosomal protein L3 - M. sp. (strain JLS)	RL3_MYCSJ	22849.02	245,02	22849	17,39	3	0,1657	0,1010	0,11	0,03	324,64	22849	23,67	4	0,2231	0,1477	0,17	0,04
SSU ribosomal protein S1P - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TAF3_MYCVP	53505.34	1353,39	53505	43,00	17	0,4253	0,3576	0,33	0,36	572,64	53505	30,04	9	0,1254	0,1428	0,17	0,18
Adenosylhomocysteinase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T5W9_MYCVP	52973.93	517,43	52974	19,42	8	0,0915	0,1227	0,12	0,05	459,43	52974	18,09	7	0,0968	0,1048	0,17	0,18
Putative conserved membrane protein MmpS3 - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TB06_MYCVP	28694.04	269,01	28694	19,62	3	0,0700	0,0770	0,11	0,14	259,45	28694	19,62	3	0,0988	0,0779	0,17	0,22
Valyl-tRNA synthetase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1TC28_MYCVP	99480.1	535,51	99480	10,40	8	0,0370	0,0578	0,13	0,17	553,74	99480	12,72	9	0,0448	0,0670	0,17	0,22
Peroxidase/catalase - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T9D9_MYCVP	80799.68	433,75	80800	11,17	6	0,0337	0,0527	0,11	0,14	515,64	80800	15,94	7	0,0426	0,0636	0,17	0,22
Carbon starvation protein CstA - M. vanbaalenii (strain DSM 7251 / PYR-1)	A1T6P1_MYCVP	81590.54	485,96	81591	11,88	7	0,0464	0,0621	0,11	0,14	463,88	81591	11,88	6	0,0491	0,0527	0,17	0,22
Alanyl-tRNA synthetase - M. gilvum PYR-GCK	A4TBW4_9MYCO	96941.07	406,75	96941	9,42	6	0,0381	0,0430	0,11	0,03	559,98	96941	11,66	7	0,0462	0,0517	0,17	0,04
DNA-directed RNA polymerase subunit beta 2 - Nocardia farcinica	RPOB2_NOCFa	128526.64	571,56	128527	8,39	8	0,0398	0,0434	0,15	0,03	571,15	128527	10,19	9	0,0421	0,0501	0,17	0,04
Protein translocase subunit secA 1 - M. sp. (strain JLS)	SECA1_MYCSJ	106268.18	388,12	106268	5,90	6	0,0343	0,0389	0,13	0,00	281,68	106268	5,80	5	0,0263	0,0322	0,17	0,00
2-oxoglutarate decarboxylase - M. smegmatis (strain ATCC 700084 / mc(2)155)	KGD_MYCS2	135859.28	341,43	135859	4,29	5	0,0157	0,0245	0,08	0,02	341,79	135859	5,26	6	0,0238	0,0301	0,17	0,04