**Isolierung von DNA und Konstruktion einer
Metagenombank aus dem Sediment des Flusses Leine:
partielle Sequenzierung und Annotation des Metagenoms
sowie Analyse der mikrobiellen Diversität**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Jessica Estelle Schmitz
aus Hamburg

Göttingen, 2004

D7

Referent: PD Dr. R. Daniel

Korreferent: Prof. Dr. W. Liebl

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Januar 2005

INHALTSVERZEIHNIS

	Seite
INHALTSVERZEICHNIS	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XI
1 EINLEITUNG	1
2 MATERIAL UND METHODEN	4
2.1 Verwendete Organismen, Plasmide und Oligonukleotide	4
2.2 Nährmedien	6
2.2.1 LB-(Luria-Bertani) Medium (SAMBROK et al., 1989)	6
2.2.2 TB-Medium (SAMBROK et al., 1989)	7
2.2.3 SOB-Medium (HANAHAH; 1983)	7
2.2.4 <i>Citrobacter</i> -Mineralmedium mit Hefeextraktzusatz (AVERHOFF; 1988, modifiziert)	8
2.2.5 Carbonyl-Indikator-Medium CONWAY et al., 1987, modifiziert	8
2.2.6 Spurenelementelösung SL-4 (PFENNIG und LIPPERT, 1966)	9
2.2.7 Vitaminlösung (WOLIN et al., 1964, modifiziert)	9
2.2.8 Antibiotika und sonstige Medienzusätze	10
2.3 Zellanzucht	10
2.3.1 Aerobe Anzucht	10
2.3.2 Anaerobe Anzucht	10
2.3.3 Stammhaltung	11
2.3.4 Anzucht von rekombinanten <i>E. coli</i> -Stämmen zur heterologen Genexpression	11
2.2.4.1 Expression mit dem “pET Directional TOPO [®] Expression”-Kit	11

2.4	Bestimmung von Wachstumsparametern	13
2.4.1	Bestimmung der optischen Dichte	13
2.4.2	Bestimmung des pH-Wertes	13
2.5	Standardtechniken für das Arbeiten mit Nukleinsäuren	13
2.5.1	Behandlung von Geräten und Lösungen	13
2.5.2	Puffer und Lösungen	14
2.5.3	Fällung, Reinigung und Konzentration von Nukleinsäuren	14
2.5.3.1	Fällung von Nukleinsäuren	14
2.5.3.2	DNA-Fällung nach Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation	14
2.5.3.3	Mikrodialyse von DNA	15
2.5.3.4	Dialyse von Umwelt-DNA	15
2.5.3.5	Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren	15
2.5.3.6	Isolierung von DNA-Fragmenten mittels “QIAquick Gel Extraction”-Kit	16
2.5.3.7	Reinigung von DNA-Fragmenten mittels “QIAquick PCR Purification”-Kit	16
2.6	Isolierung von Nukleinsäuren	16
2.6.1	Isolierung von DNA aus Umweltproben (ZHOU et al., 1996)	16
2.6.2	Reinigung von Umwelt-DANN (HENNE et al., 1999)	17
2.6.3	Isolierung von Plasmid-DNA	18
2.6.3.1	Plasmidschnellpräparation (HOLMES & QUIGLEY, 1981)	18
2.6.3.2	Minipräparation von Plasmiden mittels “QIAprep Spin Miniprep Kit”	18
2.6.3.3	Minipräparation von Plasmiden mittels „NucleoSpinPlasmid“-Kit	19
2.6.3.4	Präparative Plasmidisolierung über Anionenaustausch-chromatographie	19

2.6.3.5	Robotgesteuerte Plasmidpräparation	20
2.7	Gelelektrophorese von Nukleinsäuren	21
2.7.1	Standard-Agarose-Gelelektrophorese	21
2.7.2	„Pulse-field“-Gelelektrophorese	22
2.7.3	Größenbestimmung von Nukleinsäuren	22
2.8	Enzymatische Modifikation von DNA	23
2.8.1	Schneiden von DNA durch Restriktionsendonukleasen	23
2.8.2	Dephosphorylierung von DNA-Fragmenten	23
2.8.3	Ligation von DNA-Fragmenten	24
2.8.3.1	Ligation mit T4-DNA-Ligase	24
2.8.3.2	Klonierung mit dem “TOPO-TA-Cloning®”-Kit	24
2.9	Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation (SAMBROOK et al., 1989, modifiziert)	25
2.10	Polymerasekettenreaktion (PCR)	26
2.10.1	Amplifikation von DNA-Fragmenten mit der <i>Taq</i> - oder <i>Pfu</i> -DNA Polymerase	26
2.10.2	Amplifikation von DNA-Fragmenten mit der KOD Hifi DNA Polymerase (Fa.Novagen)	27
2.11	Übertragung von DNA in <i>E. coli</i> und Selektion rekombinanter Klone	28
2.11.1	Hocheffiziente Transformation in <i>E. coli</i>	28
2.11.2	Transformation in <i>E. coli</i> durch Elektroporation /POWEER et al., 1990)	29
2.11.3	Transduktion	30
2.11.4	Transduktion mit den “Gigapack® III Gold Packaging Extract”	30
2.11.4	Der X-Gal-Test zur Selektion rekombinanter Klone	31

2.11.5	Plattentest zur Überprüfung der Verwertung von C2-C4-Polyolen	31
2.12	Sequenzierung von DNA	32
2.12.1	Sequenzierung mit ABI DNA Sequencer 377	33
2.12.2	Sequenzierung mit dem MegaBACE 1000 Capillar Sequencer	35
2.13	Die Prozessierung von Rohsequenzen	36
2.13.1	Einführung in die Prozessierung von DNA-Sequenzen mittels des STADEN-Software-Packets	36
2.13.1.1	„Pregap4“	37
2.13.1.2	„Gap4“	37
2.14	Methoden zur Überwindung von Sequenzlücken in einem Sequenzierungsprojekt	38
2.14.1	Identifikation von Contigüberlappungen mit „Gap4“ oder „Align two Sequences“ (NCBI)	38
2.14.2	„Primer-Walking“	39
2.14.3	Kombinatorische PCR	40
2.15	Sequenzanalyse	40
2.15.1	ORF („open reading frame“)-Vorhersage	40
2.15.2	Annotation der Cosmidsequenzen	41
2.15.3	Untersuchung der 16S rRNA-Gene auf das Vorhandensein chimärer Sequenzen	43
2.16	Herstellung von Rohextrakten	44
2.16.1	Zellaufschluss mit der Frenchpresse	44
2.17	Proteinbestimmung (BRADFORD, 1976)	44
2.18	Bestimmung von Enzymaktivitäten	45
2.18.1	Erythrit-Dehydrogenase (RUCH et al., 1974; BOENIGK et al., 1991)	46

2.18.2	Kinasen (Palmgren, 1990)	47
2.18.3	Dihydroxyaceton-Kinase	48
2.18.3.1	ATP – abhängige Dihydroxyaceton – Kinase (JOHNSON et al., 1984)	48
2.18.3.2	PEP – abhängige Dihydroxyaceton – Kinase (SUN et al., 2003)	49
2.18.4	Kohlenstoffmonoxid-Dehydrogenase (KRAUT et al., 1989)	50
2.19	Methoden zur Proteinanreicherung	50
2.19.1	Metall-Chelat-Affinitätschromatographie	50
2.19.1.1	Vorbereitung der Säule	51
2.19.1.2	Reinigung löslicher Proteine unter nativen Bedingungen	51
2.19.1.3	Regeneration der Säule	52
2.19.1.4	Reinigung löslicher Proteine mit Protino® Ni –Säulen (Fa. Macherey-Nagel, Düren)	52
2.20	Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	52
2.20.1	SDS-PAGE nach SCHÄGGER und VON JAGOW	52
2.20.2	Native Gradienten-PAGE	54
2.21	Proteinfärbung in Polyacrylamidgelen	55
2.21.1	Coomassie-Färbung	55
2.21.2	Aktivitätsfärbung von Erythrit-Dehydrogenasen (Gabriel, 1971; modifiziert)	56
2.22	Western Blot (TOBWIN et al., 1979; modifiziert)	56
2.22.1	Immunodetektion von Proteinen auf Blot-Membranen	58
2.22.1.1	Chromogene Methoden	58
2.22.1.1.1	Färbung mit dem Anti-V5-Alkalische-Phosphatase-Konjugat	58
2.22.1.1.2	Nachweis des His ₆ -Tag durch Antikörper	59

2.23	Molekularmassenbestimmung	59
2.23.1	Molekularmassenbestimmung durch SDS-PAGE	59
2.23.2	Molekularmassenbestimmung durch Gradienten-PAGE (ANDERSON et al., 1972; NISHIZAWA et al., 1988)	61
2.24	Chemikalien, Enzyme und Gase	62
3	EXPERIMENTE UND ERGEBNISSE	64
3.1	Probennahme	65
3.2	Konstruktion von Metagenombanken in <i>Escherichia coli</i>	66
3.2.1	Isolierung von chromosomaler DNA aus dem Leinesediment	66
3.2.2	Klonierung der Umwelt-DNA	67
3.2.2.1	Herstellung einer Plasmid-Genbank	68
3.2.2.2	Herstellung einer Cosmid-Genbank	70
3.3	Analyse der phylogenetischen Diversität mittels 16S rRNA-Genanalyse	71
3.3.1	Ergebnisse der Analyse der archaeellen 16S-rRNA- Gensequenzen	85
3.3.2	Ergebnisse der Analyse der bakteriellen 16S-rRNA- Gensequenzen	88
3.4	Sequenzierung von Cosmiden aus der Leinesediment- Metagenom-Cosmid-Genbank	99
3.4.1	Ergebnisse der Sequenzierung	100
3.4.1.1	Das Cosmid slc_1a	126
3.4.1.2	Das Cosmid slc_1f	128
3.4.1.3	Das Cosmid slc_1g	129
3.4.1.4	Das Cosmid slc_1h	129

3.4.1.5	Das Cosmid slc_1p	131
3.4.1.6	Das Cosmid slc_1q	131
3.4.1.7	Das Cosmid slc_1s	132
3.4.1.8	Das Cosmid slc_1t	132
3.4.1.9	Das Cosmid slc_1u	134
3.4.1.10	Das Cosmid slc_1x	134
3.4.1.10.1	Experimentelle Untersuchung der Dihydroxyaceton-Kinase	145
3.4.1.11	Das Cosmid slc_2g	146
3.4.1.12	Das Cosmid slc_2j	146
3.5	Sequenzabhängige und auf Aktivität basierende Durchmusterung von Metagenombanken	147
3.5.1	Sequenzabhängige Durchmusterung von Genbanken	147
3.6	Isolierung und Charakterisierung einer Erythrit-Oxidoreduktase	148
3.6.1	Stand der Vorarbeiten	149
3.6.2	Sequenzierung und Annotation des pEry1-Inserts	149
3.6.3	Wachstumskurve des Klons <i>E. coli</i> JM109/pEry1	152
3.6.4	Bestimmung der Größe des nativen Proteins über native Gradienten-PAGE und Aktivitätsfärbung	154
3.6.5	Photometrische Messung der Enzymaktivität, Pufferbedingungen sowie Coenzym-Spezifität	155
3.6.6	Klonierung des ORF2 in den pET101/D-TOPO-Vektor	156
3.6.7	Expression des ORF2-Gens sowie Reinigung und Nachweis des von ORF2 kodierten Proteins	157
3.6.8	Enzymtest mit dem Rohextrakt von <i>E. coli</i> BL21 StarTM/pETery20	160
3.6.9	Mutation des ORF2 durch Restriktionsverdau mit BclII	161

4	DISKUSSION	162
4.1	Phylogenetische Analyse des Leinesedimentes	162
4.1.1	Versuch einer Rekonstruktion des Kohlenstoff- und Energieflusses in der mikrobiellen Gemeinschaft	171
4.1.2	Versuch einer Rekonstruktion des Stickstoffkreislaufes in der mikrobiellen Gemeinschaft	178
4.1.3	Kritische Betrachtung der Methode der 16S rRNA-Genanalyse	181
4.1.4	Fazit der phylogenetischen Untersuchungen	182
4.2	Metagenom-Sequenzierung	184
4.2.1	Das Cosmid slc_1x	188
4.2.1.1	Das CO - Dehydrogenase-Gencluster	188
4.2.1.2	Das <i>ugp</i> - Gencluster	191
4.2.1.3	Das Dihydroxyaceton-Kinase-Cluster	194
4.2.2	Aminosäurestoffwechsel	198
4.3	Annotation und Funktionalität	200
4.4	Durchmusterung von Metagenom-Genbanken	204
4.5	Ausblick	209
5	ZUSAMMENFASSUNG	211
6	LITERATURVERZEICHNIS	215

7	ANHANG	A1
7.1	Das Cosmid slc_1a	A1
7.1.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A1
7.1.2	Sequenz des Cosmides slc_1a	A2
7.2	Das Cosmid slc_1f	A8
7.2.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A8
7.2.2	Sequenz des Cosmides slc_1f	A9
7.3	Das Cosmid slc_1g	A14
7.3.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A14
7.3.2	Sequenz des Cosmides slc_1g	A15
7.4	Das Cosmid slc_1h	A22
7.4.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A22
7.4.2	Sequenz des Cosmides slc_1h	A23
7.5	Das Cosmid slc_1p	A29
7.5.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A29
7.5.2	Sequenz des Cosmides slc_1p	A30
7.6	Das Cosmid slc_1q	A36
7.6.1	Festlegung der Gene über „Genemark“	A36
7.6.2	Aminosäuresequenzen der übersetzten cDNA	A36
7.6.3	Sequenz des Cosmides slc_1q	A37
7.7	Das Cosmid slc_1s	A43
7.7.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A43
7.7.2	Sequenz des Cosmides slc_1s	A44

7.8	Das Cosmid slc_1t	A49
7.8.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A49
7.8.2	Sequenz des Cosmides slc_1t	A50
7.9	Das Cosmid slc_1u	A56
7.9.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A56
7.9.2	Sequenz des Cosmides slc_1u	A57
7.10	Das Cosmid slc_1x	A62
7.10.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A62
7.10.2	Sequenz des Cosmides slc_1x	A63
7.11	Das Cosmid slc_2g	A69
7.11.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A69
7.11.2	Sequenz des Cosmides slc_2g	A69
7.12	Das Cosmid slc_2j	A75
7.12.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A75
7.12.2	Sequenz des Cosmides slc_2j	A76
7.13	Bakterielle 16S rRNA-Gensequenzen	A82
7.14	Archaeelle 16S rRNA-Gensequenzen	A110
7.15	Das Insert des Plasmides pEry1	A120
7.15.1	Lage der offenen Leserahmen (ORFs)	A120
7.15.2	Sequenz	A120

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Abb.	Abbildung
ABC	ATP-bindende Kasette, ATP-binding cassette
Amp	Ampicillin
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
AS	Aminosäure(n)
BD	Big dye _v
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BLASTN	BLAST auf Nukleotidebene
BLASTP	BLAST auf Proteinebene
bp	Basenpaar(e)
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celcius
C	Cytosin
ca.	circa
cm	Zentimeter
CO	Kohlenstoffmonoxid
CoA	Coenzym A
C-terminal	carboxyterminal
Da	Dalton
d. h.	das heißt
dest.	destilliert
Dha	Dihydroxyaceton
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleotid-5'-triphosphat
DTT	Dithiotreitol
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
E-Cup	Eppendorf-Reaktionsgefäß
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
et al.	et alteri, und andere
Fa.	Firma
FAD	Flavinadenindinukleotid
FeS-Cluster	Eisen-Schwefel-Cluster
FMN	Flavinmononucleotid
g	Gramm
G	Guanin
Gap	Genomassemblierungsprogramm, genome assembly program
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
x g	-fache Erdbeschleunigung (9,81 m/s ²)
h	Stunde
Hrsg.	Herausgeber
HPLC	high performance liquid chromatography
i. d. R.	in der Regel
IPTG	Isopropyl-®-thiogalactopyranosid
k	Kilo
kb	Kilobasenpaare
kDa	Kilodalton

l	Liter
LB	Luria-Bertani
μ	Mikro
M	Molar (Mol pro Liter); Mega (10 ⁶)
<i>M.</i>	<i>Mesorhizobium</i>
m	Meter; milli- (10 ⁻³)
MCS	multiple Klonierungsstelle, multiple cloning site
min	Minute
mol	Mol
n	Nano
Na ⁺	Natrium
NAD(H)	Nicotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form)
NBT	Nitroblau-Tetrazoliumchlorid
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Nr.	Nummer
N-terminal	aminoterminal
OD	Optische Dichte
ORF	offener Leserahmen, open reading frame
PCR	Polymerasekettenreaktion, polymerase chain reaction
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFAM	Datenbank für Protein-Familien und Hidden-Markov-Modelle
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PMS	Phenazinmethosulfat
<i>R.</i>	<i>Rhodobacter</i>
RDP	Ribosomal Database Project
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
RSA	Rinderserumalbumin
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
s.	siehe
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
SDS	Natriumdodecylsulfat
sp.	species
T	Thymin
TEMED	N, N, N', N'-Tetramethylethylendiamid
T _m	Schmelztemperatur
TM	transmembrane Helix/Helices
Tris	Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
U	Unit (Einheit der Enzymaktivität)
<i>ugp</i> phosphate"	Aufnahme von Glycerin-Phosphat, "uptake of glycerol
ü. N.	über Nacht
Upm	Umdrehungen pro Minute
v/v	Volumen pro Volumen
V	Volt
w/v	Masse pro Volumen
X-Gal	5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-D-Galactosid
z. B.	zum Beispiel

Aminosäuren

A	Ala	Alanin	M	Met	Methionin
C	Cys	Cystein	N	Asn	Asparagin
D	Asp	Aspartat	P	Pro	Prolin
E	Glu	Glutamat	Q	Gln	Glutamin
F	Phe	Phenylalanin	R	Arg	Arginin
G	Gly	Glycin	S	Ser	Serin
H	His	Histidin	T	Thr	Threonin
I	Ile	Isoleucin	V	Val	Valin
K	Lys	Lysin	W	Trp	Tryptophan
L	Leu	Leucin	Y	Tyr	Tyrosin

1 EINLEITUNG

Flüsse stellen einen besonderen Lebensraum dar. Im globalen Wassersystem verbinden sie Land- und Wasserhabitate. Charakteristisch für diesen Standort ist die Bewegung des Wassers, in dem eine Fülle verschiedener Substanzen - wie z. B. organischer Detritus und anorganische Partikel - transportiert wird. Zur Charakterisierung von Flüssen reichen physikalische und chemische Parameter nicht aus. Die mikrobielle Umsetzung organischen - und auch anorganischen Materials - stellt einen wesentlichen Beitrag des gesamten Stoffflusses in diesem Ökosystem dar (BÖCKELMANN et al., 2000). Intensive mikrobiologisch-geochemische Vorgänge finden besonders im Bereich der Sediment-Wassergrenze statt. Dort wird das frisch sedimentierte organische Material zersetzt. Auch wenn zumindest aerobe Sedimente meist sehr heterogen sind, so kann doch eine systematische Abfolge von Redoxprozessen nachgewiesen werden. In der obersten Schicht, die wenige Millimeter bis Zentimeter umfassen kann, findet eine intensive Mineralisierung statt. Es bilden sich über kleine Distanzen Konzentrationsgradienten der gelösten Stoffe, die von der Intensität der ablaufenden Stoffwechselprozesse abhängig sind. Zu den typischen Stoffwechselprozessen gehören die Denitrifikation, die anaerobe Atmung und die Methanogenese (ROTHFUSS und REMDE, 1998). Auch die Sauerstoffkonzentration kann sich innerhalb weniger Millimeter signifikant ändern. Aerobe und anaerobe Zonen können in unmittelbarer Nachbarschaft liegen (MÜLLER und WEHRLI, 1998). Dies führt dazu, dass in einer einzigen Sedimentprobe Mikroorganismen enthalten sein können, die sich stark in den Anforderungen an die Umgebung und in ihren Stoffwechselfähigkeiten unterscheiden. Die Fähigkeit von Mikroorganismen, in Abwesenheit von Sauerstoff organisches Material zu mineralisieren und dabei Stoffwechselenergie zu gewinnen, ist für den Nährstoffkreislauf und Energiefluss in aquatischen Ökosystemen von entscheidender Bedeutung (ROTHFUSS und REMDE, 1998). Dennoch wurden bei biologischen Charakterisierungen von Sedimenten bislang meist nur Erhebungen der Artendiversität von Makroinvertebraten z. B. für Bewertungen des qualitativen Zustandes von Sedimenten herangezogen. Aber auch andere Untersuchungen beschäftigten sich in der Vergangenheit nur wenig mit Süßwassersedimenten. Das ist vor allem dadurch begründet, dass Mikroorganismen aufgrund ihrer Größe extrem schwer in der Natur zu

untersuchen sind. Dabei ist ihr zahlenmäßiges Vorkommen immens. Es wird geschätzt, dass im Süßwasser etwa 10^6 Mikroorganismen pro Milliliter und etwa 100fach mehr Zellen im Sediment vorkommen (WHITMAN et al., 1998; KÖBEL-BOEHLKE et al., 1988). Aufgrund der Probleme bei der *In-situ*-Untersuchung wurde versucht, Mikroorganismen zu kultivieren. Dabei stellte sich heraus, dass eine große Diskrepanz zwischen der Anzahl mikroskopisch sichtbarer und der Anzahl kultivierbarer Zellen bestand. Einige Organismen ließen sich deshalb gut charakterisieren, der Großteil blieb allerdings unbekannt (RONDON et al., 1999). Für die meisten natürlichen Habitate wird heute angenommen, dass weniger als 1 % der Mikroorganismen mit Standardtechniken kultiviert werden können (AMANN et al., 1995; GIOVANNONI und RAPPE 2000; GIOVANNONI et al., 1990; KELLENBERGER, 2001). Allerdings sind auch gerade in diesem Bereich in den letzten Jahren große Fortschritte erzielt worden (DANIEL, 2004). Dennoch bleibt die deutliche Mehrheit der Mikroorganismen über Kultivierungen unzugänglich. Um dieses Problem zu lösen, wurden Techniken entwickelt, die kultivierungsunabhängig versuchen, ein detaillierteres Bild der mikrobiellen Diversität und Funktion in natürlichen Umgebungen zu erhalten (RONDON et al., 1999). Entscheidend war hierbei die Entwicklung von Techniken, die es erlauben, DNA aus Umweltproben zu isolieren und direkt zu klonieren (PACE et al., 1985). Inzwischen steht eine Vielzahl verschiedener Methoden zur kulturunabhängigen Charakterisierung von mikrobiellen Gemeinschaften zur Verfügung. Diese erlauben Einblicke sowohl in die Diversität eines Standortes als auch in das genetische Potential und in die physiologischen Aktivitäten. Für die funktionalen und sequenzbasierten Untersuchungen der Gesamtheit aller mikrobiellen Genome einer Umweltprobe wurde der Begriff „Metagenomics“ geprägt (RIESENFELD et al., 2004). In einem ersten Schritt wird häufig die phylogenetische Diversität eines Standortes mittels der Amplifikation und anschließenden Sequenzierung der 16S rRNA-Gene analysiert. Die hierbei gewonnenen Sequenzdaten bestätigen die Annahme, dass durch Kultivierung nur ein kleiner Teil der Diversität erfasst werden kann. So werden die erhaltenen 16S rRNA-Sequenzdaten in 52 Phyla eingeteilt, von denen 26 nur durch 16S rRNA-Gensequenzen in den Datenbanken repräsentiert sind (HUGENHOLTZ et al., 2002). Sequenzierungen größerer klonierter DNA-Fragmente gaben außerdem Hinweise auf bislang unbekannte Stoffwechselfähigkeiten von Mikroorganismen (RIESENFELD et al., 2004). Neben dem Interesse, das mikrobielle Leben in Ökosystemen zu verstehen, eröffnet die direkte Klonierung von Umwelt-DNA die Chance, sich das genetische

Potential aller Organismen auf der Suche nach Naturprodukten mit industrieller Relevanz nutzbar zu machen. Sequenz- und aktivitätsbasierende Screeningverfahren wurden entwickelt und zur Durchmusterung von Metagenombanken auf das Vorkommen unterschiedlichster Zielgene eingesetzt. Dabei wurden sowohl biotechnologisch interessante Enzyme wie z. B. Lipasen, Amylasen, Chitinasen, Cellulasen, Alkohol-Oxidoreduktasen und Diol-Dehydrogenasen als auch Naturstoffe wie Antibiotika entdeckt (BRADY et al., 2001; COTTRELL, et al., 1999; HEALY et al., 1995; HENNE et al., 2000; KNIETSCH et al., 2003a; KNIETSCH et al., 2003b; RICHARDSON et al., 2002). Die erhaltenen Ergebnisse verdeutlichten das hohe unentdeckte Potential von Mikroorganismen und deren Genprodukten für den Einsatz in biotechnologischen Verfahren. Die Anpassungen von Mikroorganismen an veränderte Umweltbedingungen und Substrate z. B. anthropogenen Ursprungs erfolgt verhältnismäßig schnell. Dadurch sind Mikroorganismen zum einen von Nutzen beim Abbau von Umweltgiften. Zum anderen scheint die Entwicklung von interessanten Abbauwegen, selbst wenn sie zunächst nicht vorhanden sind, in verhältnismäßig kurzer Zeit möglich zu sein (HANDELSMAN und WACKETT, 2002). Neueste Studien haben sich zum Ziel gesetzt, große Teile von Metagenomen wie z. B. von Proben der Sargasso Sea oder eines Trinkwasser-Biofilms auf Sequenzebene zu erfassen (BREITBART et al., 2002; BREITBART et al., 2003; SCHMEISSER et al., 2003; TYSON et al., 2004; VENTER et al., 2004).

Ziel dieser Arbeit war es, durch umfangreiche Sequenzierungen einen Einblick in die phylogenetische und physiologische Diversität im Leinesediment zu gewinnen. Dafür wurde DNA aus Proben des Leinesedimentes isoliert. Diese stand für eine PCR-basierende Amplifikation der 16S rRNA-Gene und deren anschließende Klonierung und Sequenzierung zur Verfügung. Es konnte sowohl ein erster Einblick in die bakterielle als auch in die archaeelle Diversität des Leinesedimentes gewonnen werden. Außerdem wurde sie zur Herstellung von Plasmid- und Cosmid-Genbanken eingesetzt. 14 zufällig ausgewählte Cosmide wurden vollständig sequenziert, die Sequenzdaten ausgewertet und teilweise experimentell überprüft. Des Weiteren stand ein Klon zur Verfügung, der aus einem Screening mit Metagenom-Genbanken hervorgegangen war, bei dem Gene gesucht wurden, die *E. coli* die Fähigkeit vermitteln, mit Erythrit als einziger C- und Energiequelle zu wachsen. Das für diese Fähigkeit zuständige Gen sollte identifiziert und das Genprodukt biochemisch charakterisiert werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Verwendete Organismen, Plasmide und Oligonukleotide

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Organismen sind in Tabelle 1, die Plasmide in Tabelle 2 aufgeführt. Tabelle 3 gibt eine Übersicht über die verwendeten Oligonukleotide.

Tabelle 1: Verwendete Organismen

Stamm	relevanter Geno- oder Phänotyp	Herkunft/Referenz
<i>Escherichia coli</i> DH5 α	F ⁻ endA1, ϕ 80lacZ Δ M15 Δ (lacZYAargF)U169, endA1, recA1, hsdR17(r _K ⁻ m _K ⁺), deoR, thi- 1, supE44, λ -, gryA96, relA1	HANAHAN, 1983
<i>Escherichia coli</i> BL21(DE3)	F ⁻ ompT hsdS _B (r _B -m _B -) , gal dcm rne131 (DE3)	Invitrogen, Carlsbad, USA
<i>Escherichia coli</i> TOP10	F ⁻ mcrA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) Φ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 deoR araD139 Δ (ara-leu)7697 galU galK rpsL (Str ^R) endA1 nupG	Invitrogen, Carlsbad, USA
<i>Escherichia coli</i> JM109	F ⁻ , RecA1, endA1, gyrA96, thi, hsdR17(r _K ⁻ m _K ⁺), supE44, relA1, λ -, c(lac-proAB), traD36, proAB, lacI ^q lacZ Δ M15	
<i>Escherichia coli</i> ECL707	F ⁻ gld :: Δ Tn10 glpK :: Δ Tn10 ptsD :: Δ Tn10 araD139 flbB Δ lacU169 ptsF25 relA rpsL thi	SPRENGER et al., 1989

Tabelle 2: Vektoren und rekombinante Plasmide

Plasmid	relevantes Merkmal	Herkunft/Referenz
pBluescript [®] IISK+	Ap ^r , <i>lacPOZ</i> , pMB1-Replikon	Stratagene, San Diego, USA
pBluescript SK ⁺	Ap ^r , <i>lacPOZ</i> , pMB1-Replikon	Stratagene, San Diego, USA
pCR2.1-TOPO	Ap ^r , Kan ^r , pMB1-Replikon	Invitrogen, Carlsbad, USA
pET101/D-TOPO	Ap ^r His ₆ -tag C-terminal, V5-epitop-tag	Invitrogen, Carlsbad, USA
superCos1 (sCos1)	Ap ^r ; Kan ^r ; <i>cos</i>	Stratagene, San Diego, USA
pAK204		Knietsch et al., 2002

Tabelle 3: Verwendete Oligonukleotide

Bezeichnung	Sequenz	Referenz
rev	5'-TTCACACAGGAAACAGCT-3'	
for	5'-ACGACGTTGTAAAACGACGGCCAG-3'	
eryrev	5'-CCGCTTCTGCCGCTCCA-3'	
eryfor	5'- <u>CACCAT</u> GAAGATCGCAGTCATTC-3'	
erystop	5'-TCACCGCTTCTGCCGCTCC-3'	
erylong	5'-GTCCCTCGGCGGCGCC-3'	
T7	5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3'	Invitrogen, Carlsbad, USA
T7 Reverse	5'-TAGTTATTGCTCAGCGGTGG-3'	Invitrogen, Carlsbad, USA
pET101rev	5'-TAGTTATTGCTC-3'	
pET101for	5'-CGATCCCGCGAAATTAATACG-3'	
16S08	5'-AGAGTTTGATC(A/C)TGGC-3'	MUYZER et al., 1995

16S513	5'-CGTGCCAGCAGCCGCGG-3'	
16S1504	5'-TACCTTGTTACGACTT-3'	MUYZER et al., 1995
A1530R	5'-GGAGGTGATCCAGCCG-3'	ITOH et al., 2003
A800F	5'-GTAGTCCYGGCYGTAAAC-3`*`	KOLGONOVA et al., 2002
23FPL	5'-GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGAYCTG GTYGATYCTG-3`*`	DEES und GHIORSE, 2001
927R	5'-CGSTTGTGGTGCTCCC-3`*`	DEES und GHIORSE, 2001

* Y = C+T S = G oder C

Die Erkennungssequenz für die gerichtete Klonierung in den Expressionsvektor pET101/D-TOPO ist unterstrichen.

2.2 Nährmedien

Alle aufgeführten Medien wurden durch 30-minütiges Autoklavieren bei 121°C sterilisiert. Die C-Quellen für Mineralmedien wurden separat autoklaviert und erst unmittelbar vor dem Animpfen zugegeben. Zur Herstellung von Agarplatten wurde dem Medium vor dem Autoklavieren 1,5 % (w/v) Agar zugefügt.

Anaerobe Medien wurden nach der von COSTILOW (1981) beschriebenen Methode unter Begasung mit sauerstofffreiem Stickstoff hergestellt.

2.2.1 LB-(Luria-Bertani) Medium (SAMBROOK et al., 1989)

Trypton	10	g
Hefeextrakt	5	g
NaCl	10	g
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

2.2.2 TB-Medium (SAMBROOK et al., 1989)

Trypton	12	g
Hefeextrakt	24	g
Glycerin (87%, v/v)	4	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 980	ml
5 x Phosphatpuffer		
KH ₂ PO ₄	11,55	g
K ₂ HPO ₄	62,70	g
H ₂ O _{dest.}	ad 100	ml

Nach dem Autoklavieren wurden 20 ml 5 x Phosphatpuffer und 20 ml 10 %ige Glukoselösung zugegeben.

2.2.3 SOB-Medium (HANAHAHAN, 1983)

Trypton	20	g
Hefeextrakt	5	g
NaCl	0,58	g
KCl	0,18	g
MgCl ₂	2,0	g
MgSO ₄	2,5	g
H ₂ O _{dest.}	ad 980	ml

2.2.4 Citrobacter-Mineralmedium mit Hefeextraktzusatz (AVERHOFF, 1988; modifiziert)

KH ₂ PO ₄	6,0	g
K ₂ HPO ₄	14,0	g
(NH ₄) ₂ SO ₄	3,0	g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,2	g
CoCl ₂ (50 mM)	85,0	µl
Hefeextrakt	1	%
SL-4	1,0	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml
pH-Wert einstellen auf 7,5		
zusätzlich bei anaeroben Medien:		
Resazurin (0,1%)	1,0	ml
Cystein-HCl (200 g/l)	1,0	ml

Für die Anzucht von rekombinanten *E. coli*-Stämmen enthielt das Medium zusätzlich Thiamin-HCl (10 mM).

Die Kohlenstoffquelle wurde 0,03 bis 0,05 molar nach dem Autoklavieren hinzugefügt. Bei der Herstellung anaeroben Mediums wurde dieses für 25 min mit N₂ durchgast, mit einem Butyl-Gummistopfen verschlossen und für 30 min bei 121 °C autoklaviert. Als Reduktionsmittel diente eine Cystein-HCl-Lösung, die direkt vor dem Animpfen zugesetzt wurde.

2.2.5 Carbonyl-Indikator-Medium (CONWAY et al., 1987, modifiziert)

Um 1 l Indikatormedium zu erhalten, wurde 1 l LB-Medium (s. 2.2.1) hergestellt, autoklaviert und auf ca. 45 °C abgekühlt. Zugefügt wurden:

Pararosanilin	20	mg
Na ₂ S ₂ O ₅	100	mg

Pararosanilin und Natriumbisulfit wurden vor der Zugabe im Dunkeln in 20 bis 30 ml H₂O gelöst und der pH-Wert auf 7,0 eingestellt. Als C-Quellen wurden dem Medium Glycerin, 1,2-Propandiol oder Ethylenglykol in einer Endkonzentration von 1 % zugesetzt.

2.2.6 Spurenelementelösung SL-4 (PFENNIG und LIPPERT, 1966)

Na ₂ -EDTA	5,0	g
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	2,0	g
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	0,1	g
MnCl ₂ x 4 H ₂ O	0,03	g
H ₃ BO ₄	0,3	g
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	0,2	g
CuCl ₂ x 2 H ₂ O	0,01	g
NiCl ₂ x 6 H ₂ O	0,02	g
NaMoO ₄ x 2 H ₂ O	0,03	g
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

Der pH-Wert wurde auf 6,7 eingestellt und die Lösung lichtgeschützt bei 4 °C gelagert.

2.2.7 Vitaminlösung (WOLIN et al., 1964, modifiziert)

Biotin	2	mg
Folsäure	2	mg
Pyridoxin x HCl	10	mg
Thiamin x HCl	15	mg
Riboflavin	5	mg
Nikotinsäure	5	mg
Ca-Pantothenat	5	mg
Vitamin B ₁₂	10	µg
p-Aminobenzoessäure	5	mg
α-Liponsäure	1	mg
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

2.2.8 Antibiotika und sonstige Medienzusätze

Für die Anzucht rekombinanter *E. coli*-Stämme wurden die in Tabelle 4 aufgeführten Medienzusätze verwendet.

Tabelle 4: Verwendete Medienzusätze und Konzentrationen

Medienzusatz	Stammlösung	Arbeitskonzentration
Ampicillin	50 mg/ml 50 % Ethanol	50-100 µg/ml
Chloramphenicol	25 mg/ml Ethanol	25-50 µg/ml
IPTG	25 mg/ml H ₂ O _{dest.}	50 µg/ml
X-Gal	20 mg/ml Dimethylformamid	40 µg/ml

Die IPTG-Stammlösung wurde steril filtriert. Die Zugabe der Komponenten erfolgte erst nach dem Abkühlen der autoklavierten Medien auf mindestens 60 °C. Die Lagerung erfolgte bei -20 °C.

2.3 Zellanzucht

2.3.1 Aerobe Anzucht

Die aerobe Anzucht von *E. coli* erfolgte in Reagenzgläsern oder Erlenmeyerkolben. Das Kulturvolumen betrug ca. 20 % des Füllvolumens der Reagenzgläser bzw. Erlenmeyerkolben. Die Kulturen wurden unter Schütteln bei 30 °C oder 37 °C inkubiert.

2.3.2 Anaerobe Anzucht

Anaerobe Kulturen wurden mit einem 1 bis 10%igen (v/v) Inokulum aus einer Stammkultur (s. 2.3.3) oder aus einer aeroben Vorkultur beimpft. Die Inkubation erfolgte bei 30 °C in Hungate-Röhrchen (Anaerobe Test Tubes, Hungate Type, 16 × 125 mm, Fa. Bellco Glass Inc., Vineland, New Jersey, USA). Für das Überimpfen wurden sterile Einwegspritzen benutzt.

2.3.3 Stammhaltung

Agarplatten mit *E. coli* konnten maximal bis zu 8 Wochen bei 4 °C gelagert werden. Zur längerfristigen Konservierung wurden Stammkulturen angelegt. Dazu wurden diese bei 30 °C in LB-Medium (s. 2.2.1) angezogen. In der logarithmischen Wachstumsphase wurden dann 0,9 ml Zellsuspension entnommen, mit 0,1 ml DMSO versetzt und bei -70 °C gelagert. Zur Konservierung von Stammkulturen in Mikrotiterplatten wurden zu jeder 150 µl Kultur in jedem „Well“ 15 µl DMSO gegeben.

2.3.4 Anzucht von rekombinanten *E. coli*-Stämmen zur heterologen Genexpression

2.3.4.1 Expression mit dem “pET Directional TOPO® Expression”-Kit

Der “pET Directional TOPO® Expression”-Kit (Fa. Invitrogen, Carlsbad, USA) nutzt die Klonierungsstrategie des “TOPO-Cloning” (s. Abbildung 3 und detaillierte Erklärung des Grundprinzips unter 2.8.3.2), um blunt-end-PCR-Produkte gerichtet in einen “high-level”-Expressionsvektor zu klonieren.

Abbildung 1: Physikalische Karte des Expressionsvektors pET101/D

lacO, lac-Operator; *lacI*, lac-Repressor; RBS, Ribosomenbindestelle; EK, Enterokinase-Erkennungsstelle; *rop*, erleichtert “low-copy”-Replikation in *E. coli*

Außerdem besteht die Möglichkeit das Zielgen N- oder C-terminal mit einem Tag (u. a. His₆-Tag) zu versehen, der später eine einfache Detektion mit Antikörpern oder die Reinigung des gebildeten Proteins ermöglicht. Die physikalische Karte des verwendeten Vektors pET101/D ist in Abbildung 1 dargestellt. Die gerichtete TOPO-Klonierung (s. Abbildung 2) wurde durch das Anhängen einer spezifischen Sequenz (5'-CACC) an das durch PCR amplifizierte Zielgen erreicht, die komplementär (3'-GTGG) als Einzelstrang-Überhang auf dem Vektor vorhanden war. Dieser Überhang drang in das 5'-Ende des PCR-Produkts ein und stabilisierte so die korrekte Orientierung des inserierten Gens.

Das pET-Expressionssystem macht sich die hohe Aktivität und Spezifität der T7-RNA-Polymerase zu Nutze. Dies ermöglicht ausgehend vom T7-Promotor eine regulierte Expression von heterologen Genen in *E. coli* (ROSENBERG et al., 1987; STUDIER und MOFFATT, 1986; STUDIER et al. 1990). Für die Expression wird der *E. coli*-Stamm BL21 Star™ (DE3) herangezogen. Dieser Stamm trägt den defekten, lysogenen λ-Phagen DE3, der folgende Elemente chromosomal kodiert enthält: den Lac-Repressor, *lacI*, die T7-RNA-Polymerase-Gene unter der Kontrolle des *lacUV5*-Promotors und einen Teil des *lacZ*-Gens.

Abbildung 2: Schematische Darstellung der gerichteten TOPO-Klonierung

Wenn dieser Vektor in einem DE3-lysogenen Stamm etabliert wurde, wirkte der gebildete *lac*-Repressor zum einen an dem *lacUV5*-Promotor im Wirtschromosom und reprimierte dort die Expression der T7-Polymerase und zum anderen am T7-Promotor

des Vektors. Letzteres verhinderte die Expression der inserierten Gene. Die Expression der T7-RNA-Polymerase und der inserierten Gene ließ sich somit durch die Zugabe von IPTG induzieren.

2.4 Bestimmung von Wachstumsparametern

2.4.1 Bestimmung der optischen Dichte

Die Bestimmung der optischen Dichte (OD) erfolgte anhand von Trübungsmessungen bei einer Wellenlänge von 600 nm in einem Spektralphotometer (UV-VIS Spektrophotometer V-550, Fa. Jasco, Jena) in Plastikküvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm. Bei Zelldichten $E_{600} > 0,3$ wurden die Proben mit steriler Nährlösung entsprechend verdünnt. Die Messungen erfolgten gegen Medium als Leerwert.

Die OD bei Wachstumsversuchen konnte direkt im Röhrchen mit Hilfe eines Photometers der Fa. Milton Roy (Spectronic 21, Rochester, New York, USA) bei 600 nm in einem Extinktionsbereich zwischen 0 und 2,0 verfolgt werden. Als Referenz dienten Röhrchen mit unbeimpftem Medium.

2.4.2 Bestimmung des pH-Wertes

Der pH-Wert wurde mit einem WTW pH-Meter pH 526 (Fa. WTW GmbH, Weilheim) mit einer Glas-Calomel-Elektrode SenTix41 (Fa. WTW GmbH, Weilheim) bestimmt. Vor den Messungen wurde das Gerät für den entsprechenden Messbereich mit Eichlösungen (pH 4,0 und pH 7,0 der Fa. Riedel de Haen AG, Hannover) geeicht.

2.5 Standardtechniken für das Arbeiten mit Nukleinsäuren

2.5.1 Behandlung von Geräten und Lösungen

Alle hitzestabilen Lösungen und Geräte wurden zur Inaktivierung von Nukleasen für 20 min bei 121 °C autoklaviert. Hitzelabile Geräte wurden mit 70 % (v/v) Ethanol gewaschen und Metalloberflächen abgeflammt. Hitzelabile Biochemikalien wurden sterilfiltriert.

2.5.2 Puffer und Lösungen

Im Folgenden sind die Zusammensetzungen einiger Puffer und Lösungen aufgeführt, die im nachfolgenden Text nicht näher erläutert werden. Die Herstellung niedrigerer Pufferkonzentrationen erfolgte durch Verdünnung des Puffers mit H₂O_{dest.}.

10 x TE-Puffer

1 M Tris-Puffer (pH 8,0)	100	ml
0,5 M EDTA (pH 8,0)	10	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

50 x TAE-Puffer

Tris	242	g
Eisessig	57	ml
0,5 M EDTA (pH 8,0)	100	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

2.5.3 Fällung, Reinigung und Konzentration von Nukleinsäuren

2.5.3.1 Fällung von Nukleinsäuren

Die Konzentration von Nukleinsäuren erfolgte durch Fällung mit Ethanol oder Isopropanol. Durch Zugabe von 3 M Na-Acetat (pH 5,5) wurde, falls notwendig, die Ionenstärke erhöht (Endkonzentration 0,3 M). Zur Präzipitation der Nukleinsäuren erfolgte die Zugabe von 2 Vol. Ethanol (96 %) bzw. 0,6 Vol. Isopropanol (96 %). Die Ethanolfällung erfolgte durch Inkubation bei -70 °C für mindestens 20 min, bei Isopropanol wurde mindestens 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Nukleinsäuren wurden durch Zentrifugation (13000 bis 16000 x g, 4 °C oder RT, 30 min) pelletiert. Das Pellet wurde mit 1 ml eiskaltem Ethanol (70 %, v/v) gewaschen, getrocknet und in dem gewünschten Volumen sterilem H₂O oder TE-Puffer aufgenommen.

2.5.3.2 DNA-Fällung nach Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation

Ziel dieser Fällung war die Abtrennung von Saccharose nach der Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation (s. 2.9). Dazu wurde jedes Aliquot aus dem Gradienten mit 0,5 Vol. PEG-NaCl-Lösung (20 % PEG 6000, 2,5 M NaCl) versetzt und über Nacht

bei RT inkubiert. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation der Lösungen (30 min, 22650 x g, RT). Der Überstand wurde abgenommen, das Pellet mit 0,5 ml Ethanol (70 % (v/v), RT) versetzt und nochmals unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Wiederum wurde der Überstand abgenommen, das Pellet getrocknet und in 20 - 30 µl sterilem H₂O aufgenommen. Alle Schritte wurden bei RT durchgeführt, da bei Einsatz niedrigerer Temperaturen das Polyethylenglykol ausfällt.

2.5.3.3 Mikrodialyse von DNA

Um die Effizienz der Elektroporation (s. 2.11.2) zu erhöhen, wurden Salze durch eine Mikrodialyse entfernt. Die Dialyse wurde in einer kleinen Petrischale gegen steriles H₂O als Dialysepuffer durchgeführt. Zunächst wurden kleine Membranfilterscheiben (Porengröße 0,025 µm, Fa. Milipore, Eschborn) mit der glänzenden Seite nach oben auf die Wasseroberfläche gegeben. Dann wurden mit einer Pipette vorsichtig 5 bis 10 µl der Probe auf die Dialysemembran aufgetragen. Nach 30 min konnten die dialysierten Proben abgenommen werden.

2.5.3.4 Dialyse von Umwelt-DNA

Enthielt die aus den Standort-Proben isolierte DNA zu hohe Salzkonzentrationen, musste sie vor einer weiteren Reinigung zunächst einer Dialyse unterzogen werden. Zu diesem Zweck wurden 20 bis 30 cm lange Dialyseschlauchstücke in TE-Puffer autoklaviert. Anschließend wurde die DNA-Lösung in die Schläuche eingefüllt, die an beiden Enden mit Dialyseschlauch-Klammern verschlossen wurden. Die DNA-Lösung wurde dann 24 h gegen TE-Puffer dialysiert. Nach etwa 4 bis 5 h wurde der Puffer ausgewechselt. Anschließend erfolgte eine Fällung der DNA mit Ethanol (s. 2.5.3.1).

2.5.3.5 Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren

Die Bestimmung der Konzentration von Nukleinsäuren in wässriger Lösung erfolgte photometrisch bei einer Wellenlänge von 260 nm.

Eine Extinktion von 1 entspricht etwa:

50 µg/ml doppelsträngiger DNA,

40 µg/ml einzelsträngiger DNA oder

30 µg/ml einzelsträngiger Oligonukleotide.

Die Reinheit von Nukleinsäure-Lösungen konnte durch das Verhältnis OD₂₆₀ zu OD₂₈₀ bestimmt werden. Bei reinen DNA-Lösungen sollte dieser Wert zwischen 1,8 und 2,0

liegen (SAMBROOK et al., 1989), niedrigere Werte weisen auf Verunreinigungen mit Proteinen hin.

2.5.3.6 Isolierung von DNA-Fragmenten mittels “QIAquick Gel Extraction”-Kit

Zur Isolierung von DNA-Fragmenten wurde der “QIAquick Gel Extraction”-Kit (Fa. Qiagen GmbH, Hilden) herangezogen. Die Methode beruht auf der Bindung der DNA an eine Silica-Membran in Gegenwart von hohen Salzkonzentrationen. Der Kit kann zur Extraktion von DNA-Fragmenten von einer Größe von 0,1 bis 10 kb aus Agarosegelen in TAE-Puffer genutzt werden. Die Extraktion erfolgte nach den im Herstellerprotokoll beschriebenen Arbeitsschritten. Die DNA wurde mit $H_2O_{dest.}$ eluiert und bis zur weiteren Verwendung bei $-20^{\circ}C$ aufbewahrt.

2.5.3.7 Reinigung von DNA-Fragmenten mittels “QIAquick PCR Purification”-Kit

Zur Reinigung von PCR-Produkten und anderen linearen DNA-Fragmenten wurde der “QIAquick PCR Purification”-Kit (Fa. Qiagen GmbH, Hilden) genutzt. Wie auch beim “QIAquick Gelextraction”-Kit (s. 2.5.3.6) wird die DNA bei hohen Salzkonzentrationen an eine Silica-Membran gebunden. Die Reinigung wurde nach den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Die Elution der DNA erfolgte mit $H_2O_{dest.}$. Die so gereinigten PCR-Produkte wurden bis zu ihrer weiteren Verwendung bei $-20^{\circ}C$ gelagert.

2.6 Isolierung von Nukleinsäuren

2.6.1 Isolierung von DNA aus Umweltproben (ZHOU et al., 1996)

Diese Methode der DNA-Isolierung aus Bodenproben beruht auf der direkten Lyse der Zellen, so dass sie vor dem Aufschluss nicht von den Bodenpartikeln abgetrennt werden müssen. Weiterhin wird so die zusätzlich im Boden frei vorliegende DNA erhalten.

Zur DNA-Isolierung wurden 50 g Sediment mit 135 ml DNA-Extraktionspuffer (DEP) und 1 ml Proteinase K (10 mg/ml) versetzt und für 30 min bei $37^{\circ}C$ horizontal geschüttelt (225 Upm). Nach der Zugabe von 15 ml 20 % SDS (oder 30 ml 10 %) wurde das Gemisch für 2 h bei $65^{\circ}C$ inkubiert und dabei alle 15 bis 20 min vorsichtig geschüttelt.

Zur Trennung der bereits gelösten DNA von der Sedimentmatrix wurde anschließend zentrifugiert (10 min, 7000 Upm, Rotor GS3, Sorvall Zentrifuge, Fa. Du Pont Instruments, Newton, USA, RT) und der Überstand in einen GS3-Zentrifugenbecher überführt. Das Pellet wurde noch zweimal in je 45 ml DEP und 5 ml 20 % SDS suspendiert und nach einer 10-minütigen Inkubation bei 65 °C wie oben beschrieben zentrifugiert.

Zur Extraktion der DNA wurde den gesammelten Überständen 1 Vol. Chloroform/Isoamylalkohol (24:1) zugesetzt und für 10 min bei 7000 Upm (Rotor GS3, Sorvall Zentrifuge, Fa. Du Pont Instruments, Newton, USA) und RT zentrifugiert.

Die Fällung der DNA erfolgte durch Zugabe von 0,6 Vol. Isopropanol für 1 h bei RT. Nach einer Zentrifugation bei 9000 Upm für 20 min bei RT wurde das Pellet mit eiskaltem Ethanol (70 % v/v) gewaschen und in 4 bis 5 ml sterilem H₂O aufgenommen.

DNA-Extraktionspuffer (DEP)

Tris	100	mM
EDTA	100	mM
Na ₂ HPO ₄	100	mM
NaCl	1,5	M
CTAB	1	%
pH 8,0		

2.6.2 Reinigung von Umwelt-DNA (HENNE et al., 1999)

Bei der verwendeten Methode zur Isolierung von DNA aus Standortproben (s. 2.6.1) wurden neben der DNA auch Huminsäuren gefällt, die in nachfolgenden Klonierungsschritten Restriktionsenzyme und Ligase inhibieren können. Durch Reinigung über das “WizardTM Plus Minipreps DNA Purification System” (Fa. Promega Deutschland GmbH, Mannheim) konnten die Huminsäuren zum größten Teil abgetrennt werden. Jedoch ist diese Methode mit einem hohen Verlust an DNA verbunden.

Die Reinigung erfolgte nacheinander über zwei Minisäulen. Dazu wurden 150 µl DNA-Lösung mit 150 µl H₂O verdünnt, mit 1 ml “DNA Purification Resin” versetzt und auf den Säulenkörper gegeben. Nach dem Waschen mit 2 ml “Wash”-Puffer wurde zum Trocknen des Säulenmaterials bei 2000 Upm für 2 min zentrifugiert. Die Elution der

DNA aus der Säulenmatrix erfolgte mit jeweils 50 µl TE-Puffer (65 – 70 °C). Da bei dieser Methode die Bindekapazität des Säulenmaterials stark überschritten wird, wurde die Elution sechsmal wiederholt. Das vereinigte Eluat wurde wieder mit 1 ml Resin versetzt und auf die zweite Säule aufgetragen. Die Elution wurde viermal wiederholt.

2.6.3 Isolierung von Plasmid-DNA

2.6.3.1 Plasmidschnellpräparation (HOLMES & QUIGLEY, 1981)

Diese Methode diente vor allem zum schnellen Nachweis und zur Charakterisierung von Klonierungsergebnissen.

1,5 ml einer über Nacht gewachsenen Kultur wurden geerntet (5000 x g, 5 min, RT) und in 350 µl STET-Puffer suspendiert. Nach Zugabe von 25 µl Lysozym-Lösung (10 mg/ml 10 mM Tris-HCl, pH 8,0) und einer kurzen Inkubation des Ansatzes bei RT erfolgte anschließend eine Denaturierung für 1 min bei 100 °C. Zellreste und denaturierte Proteine wurden nach Zentrifugation (16000 x g, 10 min) mit einem sterilen Zahnstocher entfernt. Nach der Zugabe von 40 µl Na-Acetat (2,5 M, pH 5,2) und 420 µl Isopropanol wurde das Plasmid durch Zentrifugation (16000 x g, 5 min) pelletiert. Das enthaltene Pellet wurde mit Ethanol (70 %, (v/v)) gewaschen, getrocknet und in 50 µl H₂O_{dest.} suspendiert.

STET-Puffer

NaCl	100	mM
Tris-HCl	10	mM
EDTA	1	mM
Triton X-100	5	%
pH 8,0		

2.6.3.2 Minipräparation von Plasmiden mittels “QIAprep Spin Miniprep Kit”

Zum Erhalt von sehr sauberer Plasmid-DNA wurde der “QIAprep Spin Miniprep Kit” (Fa. Qiagen) genutzt.

1,5 ml einer 5-ml-Übernachtskultur wurden für 5 min bei 6000 x g zentrifugiert und das Zellpellet in 250 µl Puffer P1 suspendiert. Es folgte die Zugabe von 250 µl Puffer P2, Schwenken bis zum Aufklaren der Lösung und Neutralisation durch Zusatz von 350 µl

Puffer N3. Durch Zentrifugation (10 min, 13000 x g) wurden die ausgefällten Proteine und Zelltrümmer sedimentiert. Der Überstand wurde anschließend auf eine „QIAprep“-Säule aufgetragen, die eine Silica-Gel-Membran für die selektive Adsorption von Plasmid-DNA enthält. Durch Zentrifugation (1 min, 13000 x g) erfolgte die Bindung der DNA an die Membran, der Durchfluss wurde verworfen. Nach einem Waschschrift mit 750 µl Puffer PE und dem Trocknen durch Zentrifugation (1 min, 13000 x g) wurde die Plasmid-DNA mit 30 bzw. 50 µl H₂O_{dest.} eluiert.

Bei der Präparation von Cosmid-DNA wurden in zwei parallelen Ansätzen jeweils 4 ml Übernachtskultur mit zwei Zentrifugationsschritten in je einem 2 ml Reaktionsgefäß pelletiert und anschließend, wie oben beschrieben, mit den Puffern P1, P2 und N3 behandelt. Der gewonnene Überstand in beiden Reaktionsgefäßen wurde nacheinander über eine „QIAprep“-Säule gegeben, so dass die DNA der insgesamt 8 ml Kultur an eine Säule gebunden war. An die Bindung der DNA schloss sich ein Waschschrift mit 500 µl PB-Puffer an. Das weitere Vorgehen entsprach dem der Plasmid-Präparation. Die DNA wurde mit 50 µl 70 °C warmen H₂O_{dest.} eluiert.

Alle verwendeten Puffer wurden vom Hersteller mitgeliefert.

2.6.3.3 Minipräparation von Plasmiden mittels „NucleoSpinPlasmid“-Kit

Alternativ zur Plasmid-Präparation mit dem „QIAprep Spin Miniprep Kit“ wurde auch der „NucleoSpinPlasmid“-Kit der Firma Macherey und Nagel genutzt. Prinzip und Vorgehen dieses Kits entsprechen denen des „QIAprep Spin Miniprep Kits“. Es entsprechen sich dabei die Puffer A1 und P1, A2 und P2, A3 (von diesem wurden abweichend 300 µl eingesetzt) und N3, AW und PB sowie A4 (von diesem wurden alternativ 600 µl eingesetzt) und PE. Alle verwendeten Puffer wurden vom Hersteller mitgeliefert.

2.6.3.4 Präparative Plasmidisolierung über Anionenaustauschchromatographie

Die Isolierung größerer Mengen an Plasmid-DNA erfolgte nach alkalischer Lyse mit den Puffern P1, P2 und P3 über Anionenaustauschchromatographie (Qiagen Plasmid Midi-Kit, Fa. Qiagen).

25 ml Zellkultur wurden bei einer OD₆₀₀ von 1 bis 1,5 geerntet und in 4 ml P1-Puffer suspendiert. Es folgte die Zugabe von 4 ml P2-Puffer und eine Inkubation für 5 min bei RT. Anschließend wurden 4 ml P3-Puffer zugefügt und für 30 min auf Eis inkubiert.

Nach Zentrifugation (30 min, 16000 x g, 4 °C) wurde der Überstand abgenommen und zur vollständigen Aufklärung erneut für 15 min zentrifugiert.

Der dabei erhaltene Überstand konnte dann auf eine mit 4 ml QBT-Puffer äquilibrierte „Quiagen-tip-100“-Säule aufgetragen. Es folgte ein Waschschriff mit 20 ml QC-Puffer und die Elution der Plasmid-DNA durch Zugabe von 5 ml QF-Puffer. Die DNA wurde mit 0,7 Vol. Isopropanol gefällt und durch Zentrifugation (30 min, 16000 x g, 4 °C) pelletiert. Das Sediment wurde anschließend mit Ethanol (70 %, v/v) gewaschen und getrocknet und in 100 bis 200 µl H₂O aufgenommen.

Für die Isolierung von Plasmid-DNA aus größeren Kulturvolumina als 100 ml wurde die Menge an P1, P2 und P3 entsprechend erhöht. Die Anionenaustauschchromatographie erfolgte dann in mehreren Durchgängen, wobei die Säule nach jeder Elution mit 4 ml QBT-Puffer neu äquilibriert wurde. Auf diese Weise wurde Plasmid-DNA aus Kulturvolumina bis 250 ml isoliert.

Alle verwendeten Puffer wurden vom Hersteller mitgeliefert.

2.6.3.5 Robotgesteuerte Plasmidpräparation

Die große Menge zu sequenzierender rekombinanter Plasmide in einem Sequenzierungsprojekt macht eine Automatisierung der Plasmidpräparation notwendig. Mittels eines robotgesteuerten Systems (Qiagen-BioRobot 9600®) konnte die Präparation von Plasmid-DNA im 96er Maßstab durchgeführt werden (http://www.qiagen.com/literature/handbooks/qp/1019952_QPHB_prot04.pdf).

Ausgangsmaterial war dabei ein 96er „Flat-Bottom-Block“, der pro Loch („Well“) 1,3 ml TB-Medium mit dem entsprechenden Antibiotikum enthielt. Der Block wurde manuell mit 96 rekombinanten Klonen beimpft. Dazu wurden entsprechende einzeln liegende Kolonien von einer Agarplatte mittels Zahnstocher in die einzelnen „Wells“ überimpft. Die Anzucht des mit einem luftdurchlässigen „Aerosheet“ abgeklebten Blocks erfolgte ü. N. (mindestens 18 h) bei 37 °C im Schüttelinkubator (350 Upm). Abzentrifugiert wurde der Block für 20 min bei 3300 Upm mit einer Plattenzentrifuge (Heraeus 2.0 Megafuge). Dieser Block wurde dann in das Robotsystem Qiagen-BioRobot 9600® eingespannt. Prinzipiell erfolgte die Aufreinigung der Plasmid-DNA, wie unter 2.6.3.2 erläutert, über Anionenaustauschchromatographie. Die Puffer P1, P2 und P3 wurden automatisch über eine Nadel in die „Wells“ des „Flat-Bottom-Blocks“ pipettiert. Anschließend transferierte das System das Lysat aus dem Block heraus in

eine 96er „TurboFilter“-Platte. Automatisch wurde nun durch Anlegen eines Vakuums das gebildete Präzipitat - bestehend aus Zellproteinen und hochmolekularer DNA - aus dem Lysat herausgefiltert. Die das Präzipitat enthaltende „TurboFilter“-Platte wurde verworfen. Der Durchfluss wurde in einer unter der „TurboFilter“-Platte befindlichen 96er „QIAprep“-Platte aufgefangen, welche aus 96 Anionenaustauschchromatographie-Säulchen bestand. Die im Durchfluss enthaltene Plasmid-DNA wurde durch erneutes Anlegen eines Vakuums an die 96 Säulchen der „QIAprep“-Platte gebunden, und anschließend mit den Puffern PB und PE gewaschen. Nach Trocknung der „QIAprep“-Platte erfolgte die Elution der Plasmid-DNA in eine 96er Mikrotiter-Platte mit 100 µl H₂O pro „Well“. Ausbeuten rangierten i. d. R. im Bereich von 100-300 ng/µl.

2.7 Gelelektrophorese von Nukleinsäuren

2.7.1 Standard-Agarose-Gelelektrophorese

Zur analytischen Auftrennung von DNA-Fragmenten diente die Standard-Agarose-Gelelektrophorese (SAMBROOK et al., 1989). Es wurden Gele mit einem Volumen von 10 bis 25 ml gegossen. Die Agarosekonzentration variierte zwischen 0,8 und 1,5 %. Die Proben wurden vor dem Auftragen mit 0,2 Volumen Stopp-Mix versetzt, um sie zu beschweren und um die Lauffront zu markieren. Als Elektrophoresepuffer wurde 1-fach TAE-Puffer verwendet. Die Elektrophorese wurde bei einer konstanten Spannung zwischen 40 und 100 V durchgeführt, wodurch sich je nach Gelgröße eine Laufzeit von 1 bis 4 h ergab. Nach Beendigung der Elektrophorese wurden die Agarosegele in einem Ethidiumbromidbad (1 µg/ml H₂O) für 10 bis 30 min angefärbt. Nach kurzem Entfärben im Wasserbad konnten die Gele auf der Gel Doc 2000-Anlage (Fa. Biorad, München) bei Licht der Wellenlänge 254 nm begutachtet werden. Zur Dokumentation diente ein Videoprinter (Intas Video Graphic Printer UP-890 CE, Fa. Sony Corporation, Japan), der eine Bildübertragung auf Thermopapier ermöglichte.

Stopp-Mix

Saccharose	50	% (w/v)
Harnstoff	7	M
EDTA	1	mM
Bromphenolblau	0,1	% (w/v)

2.7.2 „Pulse-field“-Gelelektrophorese

Die „Pulse-field“-Gelelektrophorese wurde mit dem „Rotaphor R 23“ der Firma Biometra (Göttingen) durchgeführt. Die Vorbereitungen des Gerätes und die Herstellung des Agarose-Gels erfolgten nach Herstellerangaben. Es wurde die „SeaKem® Gold Agarose“ (Fa. Biozym) eingesetzt. Die Elektrophorese fand für 23 Stunden bei 13 °C und einer logarithmisch von 180 V auf 120 V sinkenden Spannung statt. Der Winkel nahm linear von 120° bis 110° und das „Pulse“-Intervall logarithmisch von 30 s auf 5 s ab.

TBE-Puffer

Tris HCl	89	mM
Borsäure	89	mM
EDTA	2	mM
pH 8,3		

2.7.3 Größenbestimmung von Nukleinsäuren

Als Größenstandard für lineare DNA-Fragmente wurde für die Standard-Agarose-Gelelektrophorese der „Ladder-Mix“ (Fa. MBI Fermentas, St. Leon-Rot) eingesetzt.

Die Größen der Fragmente betrugen in kb:

10,0	3,5	1,2	0,6
8,0	3,0	1,03	0,5
6,0	2,5	0,9	0,4
5,0	2,0	0,8	0,3
4,0	1,5	0,7	

und 2 weitere kleinere Fragmente, die meist im Gel nicht mehr sichtbar waren.

In der „Pulse-field“-Gelelektrophorese wurden die Standards „Lamda Ladder PFG Marker“ und der „Yeast Chromosome PFG Marker“ verwendet:

Der „Lamda Ladder PFG Marker“ enthält Fragmente der folgenden Größen: 48,5 kb, 97 kb, 145 kb, 194 kb, 242,5 kb, 291 kb, 339,5 kb, 388 kb, 436,5 kb, 485,0 kb, 533 kb, 582 kb, 630 kb, 679 kb, 727,5 kb, 776 kb, 824,5 kb, 873 kb, 921,5 kb, 970 kb, 1,018 kb.

Der „Yeast Chromosome PFG Marker“ zeigt folgende Banden: 1900 kb, 1640 kb, 1120 kb, 1100 kb, 945 kb, 915 kb, 815 kb, 785 kb, 745 kb, 680kb, 610 kb, 555 kb, 450 kb, 375 kb, 295 kb, 225 kb.

2.8 Enzymatische Modifikation von DNA

2.8.1 Schneiden von DNA durch Restriktionsendonukleasen

Die Sequenz-spezifische Spaltung von DNA mit Restriktionsendonukleasen lieferte lineare DNA-Fragmente mit definierten Enden. Die Spaltung erfolgte in den vom Hersteller mitgelieferten Puffersystemen bei den empfohlenen Temperaturen. Die Ansätze wurden mit einem Gesamtvolumen von mindestens 15 µl für 2 bis 15 Stunden durchgeführt. Zur Vermeidung einer zu hohen Glycerinkonzentration im Reaktionsansatz durfte das Volumen der zugegebenen Enzymlösung höchstens 1/10 des Gesamtvolumens betragen.

Die partielle Spaltung von Standort-DNA wurde zeitlimitiert durchgeführt. Es wurde routinemäßig mit 1 U Restriktionsenzym gearbeitet. Die Verdauung wurde in bestimmten Zeitabständen durch Zugabe von EDTA (20 mM) und Inkubation auf Eis gestoppt. Die partielle Spaltung der Cosmide zur Erstellung der Shotgun-Plasmidgenbanken erfolgte enzymlimitiert. Dafür wurde ausgehend von 0,5 U Enzym pro 40 µl Ansatz über eine Verdünnungsreihe in 1:2-Verdünnungsschritten die Enzymkonzentration bis zur Verdünnungsstufe 1/512 reduziert. Die Restriktion erfolgte für 20 min bei 37 °C und wurde für 15 min bei 65 °C abgestoppt.

2.8.2 Dephosphorylierung von DNA-Fragmenten

Zur Erhöhung der Effizienz einer Ligationsreaktion zwischen Insert-DNA und Vektor-DNA wurde die Vektor-DNA an den 5'-Enden dephosphoryliert. Auf die Weise sollte eine Rezirkularisierung des Vektors verhindert werden. Es wurde die alkalische Phosphatase der Fa. MBI Fermentas GmbH eingesetzt. Nach vollständiger Spaltung des Vektors wurde 1 U alkalische Phosphatase pro µg DNA zugesetzt und für 30 min bei 37 °C inkubiert.

2.8.3 Ligation von DNA-Fragmenten

2.8.3.1 Ligation mit T4-DNA-Ligase

Zur Verknüpfung von linearisierter, dephosphorylierter Vektor- und Insert-DNA wurde T4-DNA-Ligase eingesetzt, die in Anwesenheit von ATP eine Phosphodiesterbindung zwischen 3'-OH- und 5'-PO₄-Enden von Nukleinsäuren katalysiert. Die Ligationen wurden in einem Volumen von 20 µl durchgeführt. Es wurden jeweils 0,2 bis 1 µg Vektor- bzw. Insert-DNA eingesetzt. Der Ansatz enthielt weiterhin 1 U T4-DNA-Ligase und in 1-facher Konzentration den vom Hersteller mitgelieferten Reaktionspuffer. Die Ligationsansätze mit kohäsiven Enden wurden über Nacht bei 16 °C, für 2 bis 4 h bei Raumtemperatur oder für 48 h bei 4 °C inkubiert. Zur Ligation glatter Enden wurden 2 U Ligase eingesetzt und die Ansätze für 1 h bei 37 °C inkubiert.

2.8.3.2 Klonierung mit dem "TOPO-TA-Cloning®"-Kit

Für eine besonders effektive Klonierung von PCR-Produkten, die mit der *Taq*-DNA-Polymerase in einer Polymerasekettenreaktion (s. 2.10.1) amplifiziert wurden, wurde der "TOPO-TA-Cloning®"-Kit (Fa. Invitrogen) verwendet. Für diese Art der Klonierung wird keine Ligase benötigt.

Die *Taq*-DNA-Polymerase besitzt eine von der Matrize unabhängige terminale Transferase-Aktivität und hängt an die 3'-Enden von PCR-Produkten einzelne Desoxyadenosine (A) an. Der im Kit vorhandene, bereits linearisierte Vektor pCR2.1-TOPO besitzt analog dazu an den 3'-Enden einzelne Desoxythymidin-Reste (T). Dies erlaubt eine Ligation nach der sogenannten TA-Methode. Des Weiteren besitzt der Vektor die kovalent gebundene Topoisomerase I des *Vaccinia*-Virus. Die Topoisomerase I bindet an spezifische Sequenzen doppelsträngiger DNA und spaltet dort das Phosphodiester-Gerüst stromabwärts der Sequenz 5'-CCCTT in einem Strang (SHUMAN, 1991). Die Energie dieser Spaltungsreaktion wird durch Ausbildung einer kovalenten Bindung zwischen dem 3'-Phosphat des gespaltenen Stranges und dem Tyrosin-274 der Topoisomerase I konserviert. Die Reaktion zwischen DNA und Protein kann durch den Angriff des 5'-Hydroxyl-Restes umgekehrt werden, was dann zur Abspaltung der Topoisomerase I führt (SHUMAN, 1994). Dieses Prinzip wird zur effizienten Klonierung von PCR-Produkten genutzt (s. Abbildung 3).

Abbildung 3: Schematische Darstellung der TOPO-TA-Klonierung

2.9 Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation (SAMBROOK et al., 1989; modifiziert)

Die Größenfraktionierung von Fragmenten partiell verdauter, chromosomaler DNA, die zur Klonierung eingesetzt werden sollte, erfolgte mittels einer Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation. Bei dieser sehr schonenden Methode werden die verschiedenen Fragmentgrößen entsprechend ihrer Schwebedichte im Saccharosegradienten getrennt. Zunächst wurde ein Saccharose-Stufengradient (10 – 40 %) in 10 ml-Zentrifugenröhrchen (Sorvall Polyallomer 3699, Fa. Du Pont de Nemours Deutschland GmbH, Dreieich) hergestellt. Dazu wurden je 1,9 ml 40 %, 32,5 %, 25 %, 17,5 % und 10 % Saccharose (jeweils w/v in 1 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, pH 8,0) beginnend mit der höchsten Konzentration übereinander geschichtet und nach jeder Stufe eingefroren. Auf den fertigen Gradienten wurde 100 - 200 µg partiell verdaute chromosomale DNA aufgetragen. Die Zentrifugation erfolgte in einem “swing-out”-Rotor (Sorvall TH641, Fa. Du Pont de Nemours) in einer Ultrazentrifuge (Sorvall OTD 55 B, 27000 Upm, 24 h, 20 °C). Zur Ernte des Gradienten wurden vorsichtig je 400 µl von oben beginnend abgenommen. Anschließend erfolgte eine DNA-Fällung mit PEG/NaCl aus Saccharose (s. 2.5.3.2). 10 µl jeder dritten Fraktion wurden durch Agarose-Gelelektrophorese (s. 2.7.1) auf Größe und Qualität hin überprüft.

2.10 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

2.10.1 Amplifikation von DNA-Fragmenten mit der *Taq*- oder *Pfu*-DNA-Polymerase

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde zur Herstellung spezifischer DNA-Fragmente für Klonierungen oder Sequenzierungen verwendet. Als Enzyme wurden die *Taq*-DNA-Polymerase (Fa. MBI Fermentas) und die *Pfu*-DNA-Polymerase (Fa. MBI Fermentas) eingesetzt. Die Reaktionen wurden entsprechend den Herstellerempfehlungen in einem Volumen von 50 bzw. 100 µl durchgeführt und enthielten folgende Bestandteile:

DNA	0,5 - 1	µg
Oligonukleotide	je 100	pmol
dNTP-Gemisch	200	µM
DNA Polymerase	1	U
Reaktionspuffer (10x)	10	µl
MgCl ₂ oder MgSO ₄	1,5	mM
H ₂ O _{dest.}	ad 100	µl

Die Temperaturzyklen wurden den jeweiligen Anforderungen in Bezug auf die Hybridisierungstemperatur (x) und die Dauer der Kettenverlängerung (y) angepasst. Sie wurden nach folgendem Schema durchgeführt:

30 Zyklen	Denaturierung	95 °C	2 min
	Denaturierung	95 °C	1 min
	Hybridisierung	x °C	1 min
	Kettenverlängerung	72 o. 75 °C	y min
Ende der Zyklen	Kettenverlängerung	72 o. 75 °C	10 min

Für die Einstellung der Parameter waren die zu erwartende Fragmentlänge und die Schmelztemperatur T_m der verwendeten Oligonukleotide entscheidend. Für die Hybridisierung wurde entsprechend der zu erwartenden Fragmentlänge eine Zeit von ca. 1 min/1000 Bp gewählt. Die optimale Hybridisierungstemperatur wurde nach der

Schmelztemperatur T_m der Oligonukleotide festgelegt, die über folgende Formel errechnet wurde:

$$T_m = 69,3 + 0,41 (\% \text{ GC-Gehalt}) - 650/L$$

L = Länge des Oligonukleotids

% GC-Gehalt = prozentualer GC-Gehalt des Oligonukleotids

Durch Verkürzung der Hybridisierungsdauer, Verringerung der Oligonukleotidkonzentration und Variation der $MgCl_2$ -Konzentration konnte die Spezifität der PCR optimiert werden.

Bei der 16S rRNA-Gen spezifischen PCR wurden stark verlängerte Zeiten (ca. 3 x) für die Kettenverlängerung verwendet, um die Entstehung von chimären Sequenzen zu minimieren (MEYERHANS et al., 1990; WANG und WANG, 1996).

Die Temperaturzyklen wurden mit dem "Mastercycler Gradient" (Fa. Eppendorf, Hamburg) durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden durch Agarose-Gelelektrophorese (s.2.7.1) analysiert.

2.10.2 Amplifikation von DNA-Fragmenten mit der KOD Hifi DNA Polymerase (Fa. Novagen)

Für die Amplifikation längerer DNA-Fragmente, die blunt-end in den pET101/D-TOPO-Vektor kloniert werden sollten, wurde die KOD Hifi DNA Polymerase (Fa. Novagen) eingesetzt. Diese Polymerase hat eine „Proofreading“-Aktivität und extrem kurze Hybridisierungs- und Verlängerungszeiten. Dadurch wichen das Pipettierschema und die Temperaturzyklen extrem von den der anderen verwendeten Polymerasen ab.

DNA	0,5 - 1	µg
Oligonukleotide	0,4	µM
dNTP-Gemisch	200	µM
DNA Polymerase	1	U
Reaktionspuffer (10x)	5	µl
$MgCl_2$	1	mM
$H_2O_{dest.}$	ad 50	µl

Fragmentgröße 1-2 kb

Denaturierung	98 °C	5 min
Zyklen	25	
Denaturierung	98 °C	15 s
Hybridisierung	$T_m - 5\text{ °C}$	2 s
Kettenverlängerung	72	20 s

Fragmentgröße 3-4 kb

Denaturierung	98 °C	5 min
Zyklen	25 - 30	
Denaturierung	98 °C	15 s
Hybridisierung	$T_m - 5\text{ °C}$	5 s
Kettenverlängerung	72	40 s

2.11 Übertragung von DNA in *E. coli* und Selektion rekombinanter Klone

2.11.1 Hocheffiziente Transformation in *E. coli* (INOUE et al., 1990)

Zur Herstellung hocheffizienter Transformanten wurde *E. coli* aus einer Stammkultur auf eine LB-Agar-Platte ausgestrichen und über Nacht bei 37 °C inkubiert. Aus 10 bis 12 Einzelkolonien wurde eine 5 ml Vorkultur angeimpft. Diese diente als Inokulum für 250 ml SOB-Medium (s. 2.2.3). Diese Kultur wurde bei 16 °C schüttelnd bis zu einer OD₆₀₀ von 0,6 inkubiert. Nach einer Inkubation für 10 min auf Eis wurden die Zellen zentrifugiert (10 min, 2500 x g, 4 °C), in 80 ml eiskalter TB-Lösung suspendiert und für 10 min auf Eis abgekühlt. Es folgte eine Zentrifugation der Zellen (10 min, 2500 x g, 4 °C) und Suspension in 20 ml TB-Lösung mit DMSO (Endkonzentration 7 %, v/v). Nach einer Inkubation für 10 min auf Eis wurden Aliquots von 200 µl in flüssigem N₂ eingefroren und direkt zur Transformation eingesetzt oder bei - 70 °C gelagert.

Zur Transformation wurden 200 µl Zellsuspension auf Eis aufgetaut und nach der Zugabe von 1 bis 20 µl DNA-Lösung (ca. 10 bis 500 ng) für 30 min auf Eis inkubiert.

Es folgte ein Hitzeschock für 1 min bei 42 °C, eine kurze Inkubation auf Eis und die Zugabe von 0,8 ml LB-Medium. Zur Ausprägung der plasmidkodierten Antibiotikaresistenz wurden die Ansätze für 60 min bei 37 °C inkubiert und anschließend die Suspension auf LB-Agarplatten mit entsprechendem Antibiotikum ausplattiert.

TB-Lösung

Pipes	10	mM
MnCl ₂	55	mM
CaCl ₂	15	mM
KCl	250	mM
pH 6,7		

Das MnCl₂ wurde ungelöst und separat autoklaviert.

2.11.2 Transformation in *E. coli* durch Elektroporation (DOWER et al., 1988)

Diese Methode beruht auf der Permeabilisierung der Zellmembran durch Elektroschock. Dieser verursacht einen kurzfristigen reversiblen lokalen Zusammenbruch des Membranpotentials bzw. eine Desorganisation der Membranstruktur (CHASSY et al., 1988) und erleichtert damit die Aufnahme von Makromolekülen wie z. B. Plasmid-DNA in die Zelle.

Zur Herstellung elektrokompenter Zellen wurde eine 5-ml-Übernachtskultur in 250 ml LB-Medium (s. 2.2.1) überimpft und bei 30 °C unter Schütteln bis zu einer OD₆₀₀ von 0,5 bis 1,0 inkubiert. Die Kultur wurde für 15 bis 30 min auf Eis gehalten und danach für 10 min bei 5000 x g und 4 °C zentrifugiert. Das Pellet wurde zweimal mit 1 Volumen H₂O_{dest.} und anschließend mit 10 ml Glycerin (10 %, (v/v)) gewaschen. Abschließend erfolgte die Suspendierung in 0,5 ml Glycerin (10 %, v/v). Aliquots der Suspension wurden bei -70 °C gelagert.

Pro Ansatz wurden 40 µl Zellsuspension auf Eis aufgetaut, in eine sterile, vorgekühlte Elektroporationsküvette (Elektrodenabstand 0,2 cm) überführt und mit 1 bis 5 µl dialysierter DNA-Lösung versetzt. Die Elektroporation erfolgte in einem Gene Pulser TM (Bio Rad Laboratories GmbH, München) bei 25 µF, 200 Ω und 2,5 kV, wodurch eine Feldstärke von 12,5 kV/cm und eine Zeitkonstante von 3,5 bis 4,5 ms erreicht

wurde. Nach dem Stromimpuls wurden die Zellen sofort in 1 ml LB-Medium aufgenommen, 60 min bei 37 °C inkubiert und anschließend auf LB-Agarplatten mit den entsprechenden Antibiotika ausplattiert.

2.11.3 Transduktion

2.11.3.1 Transduktion mit den “Gigapack® III Gold Packaging Extract”

Zunächst wurden die vom Hersteller (Fa. Stratagene, San Diego, USA) gelieferten, bei -70 °C gelagerten Lysate durch Reiben zwischen den Fingern aufgetaut. Dann wurden sofort 0,1 - 1,0 µg (max. 4 µl) ligierte DNA hinzugefügt und vorsichtig mit der Pipettenspitze gemischt. Anschließend wurde das Gemisch kurz (3 - 5 s) zentrifugiert und für 2 h bei RT inkubiert. Anschließend wurden 500 µl SM-Puffer und 20 µl Chloroform zugefügt, vorsichtig gemischt und zum Sedimentieren des ”Abfalls” kurz (5 - 10 s) zentrifugiert. Die in Phagenköpfe verpackte DNA befand sich nun im Überstand und konnte bei 4 °C bis zu 4 Wochen aufgehoben werden.

Für die Infektion mit den durch den “Gigapack® III Gold Packaging Extract” (Fa. Stratagene) *in vitro* verpackten Ligationsansätzen wurden *E. coli* XL1blue eingesetzt. Zur Ausbildung des für die Transduktion notwendigen λ-Rezeptors wurden die Stämme in LB-Medium (s. 2.2.1) mit 0,2 % (w/v) Maltose und 10 mM MgSO₄ für 6 bis 8 h bei 37 °C oder für 12 h bei 30 °C angezogen. Das Pellet wurde in MgSO₄-Lösung (10 mM) suspendiert und auf eine OD₆₀₀ von 0,5 - 1,0 eingestellt. Diese Suspension wurde bei 4 °C gelagert und noch am gleichen Tag zur Transduktion eingesetzt.

Vom Verpackungsansatz wurden verschiedene Verdünnungen (z.B. 1:10, 1:50) in SM-Puffer hergestellt. Jeweils 25 µl dieser Verdünnungen wurden mit 25 µl Empfängerzellen vermischt und für 30 min bei RT inkubiert. Anschließend wurden jeweils 200 µl LB-Medium (s. 2.2.1) hinzugefügt. Zur Ausbildung der entsprechenden Antibiotikaresistenz erfolgte eine Inkubation für 1 h bei 37 °C. Zum Ausplattieren auf Agarplatten mit entsprechendem Antibiotikum wurden die Ansätze 1 min zentrifugiert, der Überstand abgenommen und die sedimentierten Zellen in 50 µl LB-Medium resuspendiert.

SM-Puffer

NaCl	5,8	g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2,0	g
Tris (1 M)	50,0	ml
Gelatine (2%, (w/v))	5,0	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml
pH 7,5		

2.11.4 Der X-Gal-Test zur Selektion rekombinanter Klone

Bei Klonierungen ist es entscheidend, Klone, die nach Übertragung von DNA nur den Vektor enthalten, von denjenigen, die ein Plasmid mit Insert tragen, unterscheiden zu können. Aus diesem Grund wurde ein zusätzliches Screeningsystem neben der plasmidkodierten Antibiotikaresistenz benutzt. Plasmide der pBluescript-Reihe enthalten neben dem Promotor- und Operator-Bereich des *lac*-Operons auch das 5'-Ende des *lacZ*-Genes (VIEIRA und MESSING, 1982). Dieses kodiert für das sogenannte α -Peptid, welches die inaktive β -Galaktosidase von Wirtsstämmen wie *E. coli* DH5 α komplementieren kann. Da sich die multiple Klonierungsstelle der verwendeten Vektoren innerhalb des aminoterminalen Bereichs des *lacZ*-Gens befindet, ist eine α -Komplementation nur möglich, wenn das Plasmid kein Insert besitzt. Der Nachweis der aktiven β -Galaktosidase auf Agarplatten erfolgte durch Zugabe des Induktors IPTG (Isopropyl- β -thiogalaktopyranosid) und des Substrats X-Gal (5-Brom-4-chlor-indoyl- β -D-galaktosid), welches durch das Enzym gespalten wird. Dabei entsteht in Anwesenheit von Sauerstoff der blaue Farbstoff 5-Brom-4-chlor-indigo, welcher der Indikator für rekombinante *E. coli*-Stämme ist, die ein Plasmid ohne Insert tragen.

2.11.5 Plattentest zur Überprüfung der Verwertung von C2-C4-Polyolen

Alkohol-Oxidoreduktasen katalysieren eine Vielzahl essentieller mikrobiologischer Redoxreaktionen, bei denen Alkohole, Aldehyde und Ketone umgewandelt werden.

Alkohol-Oxidoreduktasen werden je nach Kofaktor-Bedürfnissen in 3 Gruppen unterteilt: Man unterscheidet NAD(P)^+ -abhängige Dehydrogenasen (Typ I, Typ II und Typ III), die NAD(P)^+ -unabhängigen Dehydrogenasen (mit Kofaktoren wie FAD, PQQ oder F_{420}) und die Oxidasen (REID und FEWSON, 1994). Besonders die NAD(P)^+ -abhängigen sind von biotechnologischem Interesse, da sie meist eine hohe Enantioselektivität besitzen. Damit eignen sie sich sehr gut zur Synthese chiraler Alkohole, Hydroxysäuren und Aminosäuren (HUMMEL, 1997 und 1999). Aus diesem Grund wurden alle ORFs, die eine entsprechende Annotation hatten zumindest initial auf eine tatsächliche Aktivität hin untersucht. Dabei wurde ein Testsystem genutzt, das sich zu Nutzen macht, dass bei der Umsetzung kurzkettiger Alkohole durch Oxidoreduktasen Carbonyl-Verbindungen entstehen, die in einem Plattentest nachgewiesen werden können. Hierzu werden dem Indikatormedium, das neben dem Testsubstrat auch Komplexbestandteile enthielt, die allen Klonen ein Wachstum erlaubten, eine Mischung aus Pararosanilin und Natriumbisulfit zugesetzt. Diese beiden Substanzen bilden zusammen ein Schiff'sches Reagenz. Bei der Reaktion mit Carbonyl-Verbindungen entsteht Azomethin, eine rot gefärbte Schiff'sche Base (CONWAY et al., 1987). Positive Kolonien sind damit aufgrund ihrer Rotfärbung und der Ausbildung eines roten Hofes leicht zu identifizieren.

2.12 Sequenzierung von DNA

Die Sequenzierung von DNA, sei es die Sequenzierung von rekombinanten Plasmiden/Cosmiden oder die Sequenzierung von PCR-Produkten, wurde an ABI PRISM 337 Geräten (Applied Biosystems, Weiterstadt) oder am MegaBACE 1000 System (Amersham Bioscience, Molecular Dynamics) durchgeführt. Beide Gerätearten sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden. Detaillierte Angaben sind den Internetseiten der beiden Firmen (<http://www.appliedbiosystems.com> und http://www5.amershambiosciences.com/aptrix/upp01077.nsf/content/na_homepage) zu entnehmen.

2.12.1 Sequenzierung mit ABI DNA Sequencer 377

Der ABI PRISM® 377 DNA Sequencer (Fa. Perkin-Elmer/Applied Biosystems) analysiert automatisch DNA-Moleküle, die mit multiplen Fluoreszenzfarbstoffen (Big Dye® Terminatoren) markiert sind, wobei für jede DNA-Base ein anderer Farbstoff gewählt wird. Die Markierung der DNA erfolgt dabei nach dem Prinzip der von SANGER et al. (1977) entwickelten Didesoxy- oder Kettenabbruch-Methode. Die zu sequenzierenden, markierten Proben werden auf ein vertikal verlaufendes Polyacrylamid-Gel aufgetragen und durch Anlegen einer Spannung elektrophoretisch aufgetrennt. 96 Proben können dabei gleichzeitig sequenziert werden. Die Farbstoffe werden beim Durchlaufen des unteren Endes des Gels mittels eines Lasers detektiert und die Signale anschließend einer Computeranalyse unterzogen. Die Fluoreszenzsignale werden dabei über das sogenannte „Base calling“ (s. 2.13) automatisch in Sequenzdaten umgewandelt. Zur Markierung der DNA wurde das „Big Dye® Terminator Cycle Sequencing Kit“ benutzt, das eine spezielle DNA-Polymerase enthielt (Ampli-TaqR DNA-Polymerase). Ein optimal hergestellter Sequenzieransatz (s. u.) konnte so in einem ü. N.-Lauf zu einer auflösbaren DNA-Leseweite von ca. 800 Basen führen. Die Sequenzierungsprozedur mit dem ABI PRISM® 377 umfasste folgende Schritte:

- Reinigung der Glasplatten
- Gießen des Polyacrylamid-Gels zwischen die Glasplatten
- Einbau des Gels in das Gerät
- Plattencheck und Vorlauf
- Beladen des Gels mit 96 Proben
- Starten der Elektrophorese

Tabelle 5 gibt einen Einblick in die Zusammensetzung eines Sequenziergels und in die einzustellenden Parameter am ABI PRISM® 377 zur Durchführung eines Sequenzierlaufes.

Tabelle 5: Parameter zur Beschaffenheit eines Sequenziergels (4,25%ig) sowie zur Bedienung eines ABI PRISM® 377 bei einem ü. N.-Lauf

Harnstoff 7 M	18	g
Acrylamid (30%, 29:1)	5,3	ml
10x TBE long run	6	ml
H ₂ O bidest	21,5	ml
10% APS	250	µl
TEMED	25	µl
Geldicke	0,2	mm
Gellänge	48	cm
Spannung	3500	V
Stromstärke	60	mA
Leistung	40	W
Temperatur	45	°C
CCD Offset	0	
CCD Gain	4	
Vorlaufzeit	90	sec
Laufzeit	1,5 + 14,5	h
Laufpuffer	2x TTE oben, 1x TTE unten	
Minimale Anzahl der „Scans“	22000	

Die Zusammensetzung eines Sequenzieransatzes variierte je nach Art der DNA (Plasmid, Cosmid oder PCR) sowie nach dessen G+C-Gehalt. Der Ansatz erfolgte normalerweise im 96er Maßstab. Typischerweise wurde zur Sequenzierung von Inserts der Plasmide der Shotgun-Cosmid-Genbanken folgender Ansatz pipettiert (im „Premix“ sind die „ABI Big Dye® Terminatoren“ enthalten):

„1/2-half BD-Ansatz“

“Premix”	2	μl
“half BD”	1	μl
Betain (5 M)	1	μl
Oligonukleotid (5 pmol/μl)	x	μl
H ₂ O	x μl = 400 ng	
DNA-Template (max. 13 μl)	20	μl

Dieser Ansatz wurde dann in einen 96er PCR-Thermoblock (MWG-Primus 96 plus) gegeben und dort 2 min bei 98 °C denaturiert. Folgendes Programm wurde anschließend gestartet, wobei sich die Anlagerungstemperatur nach den Schmelztemperaturen der verwendeten Oligonukleotide richtete, die meistens zwischen 54 °C und 60 °C lag:

Denaturierung	96 °C	20	s
Anlagerung	i. d. R. 50 °C	15	s
Polymerisierung	60 °C	4	min

Es schloss sich eine Fällung mit Ethanol (96 %) und 3 M Natriumacetat (pH 4,6) an, um überschüssige, nicht eingebaute farbstoffmarkierte Terminatoren zu entfernen, da diese sonst als „Dye-Blobs“ in den ersten 100 Basen der Sequenz erscheinen würden. Vor dem Auftragen auf das Sequenziergel wurde die gefällte DNA mit 1 μl Stop-Mix (Formamid zu Loading Puffer (50 mg Blue Dextran/ml 25mM EDTA, pH 8,0) im Verhältnis 5:1) versetzt.

2.12.2 Sequenzierung mit dem „MegaBACE 1000 Capillar Sequencer“

Das „MegaBACE 1000“-System analysiert wie das „ABI PRISM® 377“-Gerät automatisch DNA-Moleküle, die mit multiplen Fluoreszenzfarbstoffen („DYEnamic ET Dye® Terminatoren“) markiert sind. Ein Lasersystem übernimmt die Detektion der Fluoreszenzsignale. Im Gegensatz zum ABI Gerät benutzt der „MegaBACE 1000“ die Kapillar-Technik: Die Elektrophorese findet in winzig kleinen (ca. 100 μm im Durchmesser) Kapillaren statt, die eine Polyacrylamid-Matrix enthalten, die das System über Hochdruck aus 6 Matrix-Tubes in die Kapillaren hineinschießen kann. Diese

Kapillaren sind in 6 Arrays mit jeweils 16 Einzelkapillaren angeordnet. Zum Beladen des Systems werden die Proben in einer 96er Platte in die Maschine gestellt. Durch eine angelegte Spannung gelangen die Proben in die Kapillaren, in denen dann die elektrophoretische Auftrennung stattfindet. Die Bedienung des Gerätes folgte dann den auf dem Display erscheinenden Anweisungen. Das System kann im Hochdurchsatz arbeiten und dabei 96 Proben in 2-4 Stunden mit einer Leseweite von ca. 600 Basen sequenzieren. Im Gegensatz zum „ABI PRISM® 377“ zeigt der „MegaBACE 1000“ eine höhere Empfindlichkeit bei schwankenden DNA-Konzentrationen, so dass diese nach Möglichkeit im Vorfeld angeglichen werden sollten. Alle gewonnenen Rohdaten werden nach Ende eines Laufes automatisch mittels „Base calling“ ausgewertet. Die Probenbereitung entsprach weitestgehend der bereits beschriebenen Methode für den „ABI PRISM® 377“ (s. 2.12.1). Abweichend davon wurde das „Amersham-DYEnamic-ET-Dye-Terminator-Cycle-Sequencing Kit“ benutzt.

2.13 Die Prozessierung von Rohsequenzen

Nach einem Sequenzierlauf werden die Rohdaten, die Fluoreszenzsignale und -intensitäten, automatisch analysiert und in DNA-Sequenzen umgerechnet, was als „Base calling“ bezeichnet wird. Benutzt wurde der „Basecaller Phred“ (EWING et al., 1998). Dieser liest die Rohdaten von den DNA Sequenziermaschinen („trace files“), rechnet sie in DNA-Basen um und teilt diesen zusätzlich einen Qualitätswert zu. „Phred“ kann sowohl die Rohdaten vom „ABI 377 DNA-Gerät“ als auch vom „Megabace 1000“ lesen. Die Sequenzen und die dazugehörigen Qualitätswerte können dann zur Assemblierung mit Hilfe von Sequenzassemblierungsprogrammen benutzt werden (BONFIELD & STADEN, 1996).

2.13.1 Einführung in die Prozessierung von DNA-Sequenzen mittels des STADEN-Software-Packets

Das STADEN-Software-Packet beinhaltet verschiedene Programme zum Selektieren, Aufbereiten, Assemblieren und Editieren von DNA-Sequenzen (STADEN et al., 2000). Es würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, auf die Struktur und Funktionsweise der einzelnen Programme einzugehen. Hier soll nur ein Überblick über die Anwendung des Software-Paketes im Rahmen des Leinesediment-Metagenomsequenzierungsprojektes

gegeben werden. Eine ausführliche Dokumentation kann unter http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/pubseq/staden_home.html abgerufen werden. Im Wesentlichen wurden zur Prozessierung der DNA-Sequenzen die Programme „Pregap4“ und „Gap4“ genutzt.

2.13.1.1 „Pregap4“

Bevor DNA-Sequenzen in das Genomassemblierungsprogramm „Gap4“ eingespeist werden können, müssen diese durch diverse Prozesse geleitet werden, welche das Programm „Pregap4“ leistet (BONFIELD & STADEN, 1996):

- Screening auf Vektor-Kontaminationen: Sequenzen, die den Vektor-Sequenzen (pBluescriptIIISK⁺ oder superCos1) entsprechen, fallen aus der Datenbank heraus.
- Screening auf Kontamination mit *E. coli* DNA: Bei der Herstellung der Genbank kann es zu Kontaminationen mit der DNA des Wirtstammes (*E. coli* DH5 α) kommen. Diese Daten müssen ebenfalls entfernt werden.
- Qualitätskontrolle: Sequenzen mit einer geringen Qualität fallen aus der Datenbank heraus.
- „Vektor-Clipping“: Es werden die Basen einer Sequenz maskiert, die im Übergang zum Insert der Vektor-Sequenz entsprechen.
- Umformatierung in ein neues Dateiformat: Zur Assemblierung benötigt „Gap4“ ein anderes Dateiformat („experiment files“).

Zur Erleichterung der Prozessierung der Rohdaten wurden im Göttinger Genomanalyselabor Computerskripte entwickelt, die hier nicht näher erläutert werden sollen. Prinzipiell bewerkstelligten solche Skripte das Umbenennen von Dateinamen, das Einleiten der Rohsequenzen in „Pregap4“ und das Sortieren der Ausgabe von „Pregap4“ in mehrere Listen („Failed, Passed, ScreenVector“, etc.).

Bei der Prozessierung der 16S rRNA-Gensequenzen wurde aufgrund der großen Ähnlichkeiten dieser Gene auch zu denen von *E. coli* auf das Screening nach *E. coli*-Kontaminationen verzichtet.

2.13.1.2 „Gap4“

Gap4 ist ein Genomassemblierungsprogramm; es kann aber auch wie in diesem Projekt für kleinere DNA-Abschnitte wie Cosmide oder große Plasmide verwendet werden (BONFIELD et al., 1995). Neben der Assemblierung kann das Programm auch zur Editierung der Sequenzen benutzt werden. Gap4 ist des Weiteren unerlässlich beim

sogenannten „Finishing“, dem Schließen von Sequenzlücken in einem Sequenzierungsprojekt.

Assemblierung: Mit Hilfe von Algorithmen („PHRAP“, <http://bozeman.mbt.washington.edu/phrap.docs/phrap.html>) werden Sequenzüberlappungen auffindig gemacht. Sequenzläufe („readings“), die solche Sequenzüberlappungen aufweisen, werden dann passend zueinander ausgerichtet („Alignment“) und zu zusammenhängenden DNA-Abschnitten, den sogenannten Contigs, zusammengefasst. Aus den „alignten“ Sequenzen innerhalb eines Contigs bildet das Programm dann eine Consensus-Sequenz.

„Editierung“: Ziel ist es hierbei, die Qualität der Consensus-Sequenz eines Contigs zu verbessern und Fehler in der Assemblierung zu detektieren und aufzulösen. Dabei wurden entsprechende Einzelsequenzen markiert, aus dem Contig extrahiert und dann manuell in den Datensatz zu passenden Contigs zurücktransferiert. Die Fehlerrate sollte nicht höher als 1 in 10000 Basen betragen. Dabei lässt sich die Qualität jeder einzelnen Base in der Consensus-Sequenz über deren „Base Confidence“-Wert überprüfen.

„Finishing“: In „Gap4“ können zwei (oder mehrere) Contigs anhand der Lage und Orientierung der enthaltenen „readings“ zueinander geordnet werden, was eine Hilfe zur Überwindung von Sequenzlücken zwischen Contigs ist. Gegebenenfalls können Contigs dann semi-manuell mit Hilfe der Funktion „Join Contigs“ miteinander verbunden werden.

2.14 Methoden zur Überwindung von Sequenzlücken in einem Sequenzierungsprojekt

2.14.1 Identifikation von Contigüberlappungen mit „Gap4“ oder „Align two Sequences“ (NCBI)

Nach erfolgter Assemblierung, deren Überprüfung und der ersten Editierung sämtlicher Contigs wurde versucht, überlappende Contigs zu identifizieren. Dies geschah zum einen automatisch über die Funktion „Find Internal Joins“, in „Gap4“. Jede gefundene potentielle Contigüberlappung bedurfte im „Join Contigs Editor“ einer genauen Überprüfung. Zum anderen wurde ‚extern‘ nach überlappenden Contigs gesucht, indem die Enden einiger Contigs gegen die anderer bei NCBI („National Center for

Biotechnology; www.ncbi.nlm.nih.gov) mit dem Algorithmus „Align two Sequences“ verglichen wurden. Contigs, die potentiell überlappten, wurden dann in „Gap4“ manuell über „Join Contigs“ zueinander ausgerichtet und gegebenenfalls miteinander verbunden. Bei der Zusammenführung der 16S rRNA-Gen-Sequenzläufe eines Plasmids wurde ausschließlich mit der zweiten Methode gearbeitet, da „Find Internal Joins“ aufgrund der Ähnlichkeit aller Sequenzen nicht genutzt werden konnte.

2.14.2 „Primer-Walking“

Mit Hilfe der „Gap4“-Funktion „Template Display“ können einzelne Contigs visuell dargestellt werden: dort sind alle im Contig enthaltenen „Readings“ und deren Templates aufgeführt. Ein Template entspricht dabei einem Insert eines rekombinanten Plasmids der Cosmid-Genbank. Anzumerken ist, dass die Inserts der Plasmide von beiden Seiten her ansequenziert wurden („forward“ und „reverse“). Da die durchschnittliche Insertgröße zwischen 2 und 4 kb lag und ein typischer Sequenzierlauf etwa 600-700 Basen lang war, bedeutete dies, dass ein Insert (= Template) nicht vollständig sequenziert wurde. Im „Template Display“ sind die beiden „readings“ desselben Templates zueinander angeordnet. Mit Hilfe der Funktion „Order Contigs“ ließen sich dann solche Contigs aneinander reihen, die an den Rändern „readings“ beinhalteten, die zu demselben Template gehörten: Beispielsweise begann oder endete der Contig A mit dem „forward reading“ des Templates X, während Contig B nun mit dem „reverse reading“ des Templates X endete oder begann. Teilweise konnten benachbarte Contigs durch gemeinsame BLAST-Hits bei NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) mit „BLASTX“ identifiziert werden. Damit war es nun möglich, durch ein sogenanntes „Primer-Walking“ die Lücke zwischen diesen beiden Contigs zu schließen: es wurde ein Sequenzierprimer vom Ende eines der beiden „readings“ abgeleitet (mit der Orientierung zum Insertinneren), der dann zur Sequenzierung des entsprechenden „Templates“ eingesetzt wurde. So konnte man die überbrückende Sequenz zwischen den Contigs ermitteln und die Lücke sofort oder nach einem weiteren Ableiten eines Oligonukleotids schließen. Waren keine Lücken überspannenden Plasmide vorhanden, wurde das Cosmid selbst als „Template“ eingesetzt. Konnte auch mit dieser Methode keine Lücken schließende Sequenz erhalten werden, wurde versucht mit einer PCR-Reaktion mit dem Cosmid als „Template“ und den die Lücke flankierenden Oligonukleotiden das fehlende DNA-Fragment zu

amplifizieren. Dieses konnte gegebenenfalls in den pCR2.1-TOPO-Vektor (s. 2.8.3.2) kloniert und dann sowohl mit den verwendeten Oligonukleotiden als auch den Standardprimern für den pCR2.1-TOPO-Vektor sequenziert werden.

2.14.3 Kombinatorische PCR

Des Weiteren wurde die Methode der kombinatorischen PCR eingesetzt. Hierbei wurden zuerst Oligonukleotide von allen Contigrändern abgeleitet mit der Orientierung zum Contigende hin. Nun wurden diese in allen denkbaren Kombinationen miteinander eingesetzt, wobei eine durchschnittliche Lückengröße von nicht mehr als 2 kb angenommen wurde. Falls die Anzahl an möglichen Kombinationen zu groß erschien, wurden zur Erleichterung der Arbeit auch Subsätze von Oligonukleotidkombinationen angesetzt. Jedes erhaltende PCR-Produkt wurde sofort sequenziert und die Sequenz zum Lückenschluss eingesetzt.

2.15 Sequenzanalyse

Nach Beendigung der Sequenzierungsphase und dem Schluss der letzten Lücken in der Cosmid-Sequenz wurde versucht, alle in der Sequenz vorkommenden Gene zu identifizieren. Dafür wurden zunächst mögliche Gene vorhergesagt (ORF („open reading frame“)-Vorhersage) und diesen anschließend mögliche Funktionen zugewiesen.

2.15.1 ORF („open reading frame“)-Vorhersage

Alle ORF-Vorhersageprogramme für Prokaryoten basieren auf dem Auffinden von Start (ATG, GTG, TTG)- und Stopcodons (TAA, TGA, TAG) auf allen sechs möglichen Leserahmen. Danach werden solche Sequenzbereiche festgelegt, die zwischen dem Start- und Stopcodon auf demselben Leserahmen eine bestimmte „Cutoff“-Größe erreichen (oft 30 Codons). Dieser Bereich wird als ORF bezeichnet, stellt also ein potentiell Gen dar. In dem Leinesediment-Metagenom-Sequenzierprojekt wurde die ORF-Vorhersage per Hand mit dem Programm „Artemis“ (www.sanger.ac.uk/Software/Artemis) durchgeführt. Dieses Programm zeigt alle möglichen ORFs mit einer minimalen Größe an. In diesem Projekt wurden dabei 30

Codons als Wert eingestellt. Die daraus resultierenden ORFs in den 6 Leserahmen wurden nun auf folgende Parameter hin untersucht:

Homologien zu bekannten Proteinen: Die angezeigten potentiellen ORFs werden in „Artemis“ auch in die Aminosäuresequenz übersetzt. Damit war es möglich, in der NCBI-Datenbank (www.ncbi.nlm.nih.gov) mittels „BLASTP“ nach ähnlichen Proteinen zu suchen. Gab es solche mit einer guten Übereinstimmung, war dies das stärkste Anzeichen dafür, dass der vorliegende ORF tatsächlich ein Gen darstellte.

Die Länge: Bei der Festlegung der Länge eines ORFs war die Art des Startcodons entscheidend: ATG-Startcodons wurden gegenüber den anderen bevorzugt, TGA-Startcodons den TAG-Startcodons vorgezogen. Zum Finden der unterschiedlichen Startcodons eines ORFs wurde die Funktion „Trim selected features to next any“ genutzt.

Der GC-Frameplot: In „Artemis“ ist es möglich sich die G+C-Häufigkeit an den 3 möglichen Codonpositionen graphisch anzeigen zu lassen. Empirische Forschungen (persönliche Mitteilung Heiko Liesegang) haben gezeigt, dass sich diese Häufigkeiten am Start und Stopp eines Gens häufig umkehren. Dies kann eine Hilfe und ein Hinweis für das Vorliegen eines Gens sein, ist aber keine notwendige Bedingung.

Ribosomenbindestelle: Bei jedem ORF wurde überprüft, ob 4-12 Basen stromaufwärts eine Ribosomenbindestelle vorhanden war.

Mit diesen Kriterien wurden die wahrscheinlichsten ORFs übernommen. Dabei wurden soweit es möglich war Überlappungen von ORFs in unterschiedlichen Leserahmen ausgeschlossen.

Im Verlauf der Sequenzierung stellte sich heraus, dass ein Cosmid DNA eukaryotischen Ursprungs enthielt. Für die ORF-Vorhersage musste in diesem Fall berücksichtigt werden, dass eukaryotische Gene anders als prokaryotische organisiert sind. Aus diesem Grund wurde die ORF-Vorhersage in diesem Fall mit dem Programm „GeneMark“ (opal.biology.gatech.edu/GeneMark/eukhmm.cgi) durchgeführt.

2.15.2 Annotation der Cosmidsequenzen

Die vorhergesagten ORFs wurden in das ERGO-Programm eingespeist. Dieses berechnet mittels FASTA-Algorithmus' die Ähnlichkeiten aller Cosmid-ORFs – auf Nukleotid- wie auf Proteinebene – zu Sequenzen der internen ERGO-Datenbank. Der für diese Arbeit zugängliche Teil der nicht redundanten internen ERGO-Datenbank

umfasste zum Zeitpunkt der Annotation (Mai 2004) Sequenzen – i. d. R. vollständige Genome – aus 405 Organismen: 27 Archaeen, 80 Eukaryoten, 90 Viren und 208 Bakterien. Das ERGO-Programm weist allen Cosmid-ORFs automatisch eine Funktion zu, die aus dem Ähnlichkeitsvergleich mit der internen ERGO-Datenbank abgeleitet werden. Wenn keine Ähnlichkeiten in der Datenbank gefunden werden, bezeichnete das Programm den entsprechenden ORF als hypothetisch. Diese automatische Annotation musste für die Leinesediment-Cosmide - ORF für ORF - überprüft werden, da sich der interne Datenbank-Abgleich oftmals als ungenügend herausstellte. Deshalb wurde eine Ähnlichkeitssuche mit allen ORFs mit der NCBI-Datenbank (www.ncbi.nlm.nih.gov) durchgeführt. Der NCBI-Sequenzabgleich umfasst eine Vielzahl von Nukleotid- und Proteinsequenz-Datenbanken wie die PDB-, SwissProt-, Pir-, DDBJ-, EMBL- und die GenBank-Datenbank. Es wurden die Ähnlichkeitswerte berücksichtigt. Dabei wird eine signifikante Homologie zwischen zwei Proteinsequenzen im Allgemeinen als eine Proteinidentität größer als 30% bei einer Überlappung („Alignment“) von mehr als 60 % der Eingabe (query)- und der Vergleichssequenz definiert. Insbesondere wurde darauf geachtet, ob sich unter den homologen Proteinen eines betrachteten ORFs auch eines (oder mehrere) befand, das (die) bereits biochemisch charakterisiert ist (sind); dessen (deren) Funktion wurde – bei entsprechend hoher Homologie – dem ORF vorrangig zugewiesen. So z. B. konnte vielen der von ERGO als hypothetisch bezeichneten ORFs durch diesen zusätzlichen externen NCBI-Sequenzabgleich eine Funktion zugewiesen werden. Der externe Sequenzabgleich erwies sich gegenüber dem internen Abgleich i. d. R. als umfassender, aktueller und genauer in der Funktionszuordnung. Als weitere Fehlermöglichkeit der automatischen ERGO-Annotation wurde erkannt, dass ERGO dem betrachteten ORF die Funktion desjenigen Proteins zuwies, das den höchsten Ähnlichkeitswert (Smith-Waterman-Score) zum betrachteten ORF aufwies. Gerade bei geringer Homologie, also einem niedrigen Smith-Waterman-Score, zeigte sich aber oftmals, dass die dem ORF zugewiesene Funktion zu ungenau oder aber auch zu speziell war (WATERMAN, 1984). Außerdem wurde die genetische Umgebung des betrachteten ORFs mit der Umgebung homologer ORFs verglichen. Dies war mit den ERGO-Funktionen „Pinned Regions“ oder „Contig Regions“ oder alternativ bei NCBI möglich. Durch solch einen Vergleich konnte ermittelt werden, wie homolog die genomische Organisation zwischen den verwandten Organismen und dem Cosmid ist und ob ein ORF fehlte oder zusätzlich vorlag, was auf einen Fehler der ORF-Vorhersage hinweisen kann. Im Rahmen der Annotation wurde

versucht, eine Identifizierung und Entfernung hypothetischer ORFs vorzunehmen, die mit solchen ORFs überlappen, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit Gene darstellen. Mit Hilfe homologer Proteine konnten außerdem die Größen der ORFs in „Artemis“ überprüft werden. Wichen die meisten homologen Proteine von der vorhergesagten Größe ab und ein alternativer Start konnte gefunden werden, wurde die Größe modifiziert. Der Abgleich mit den Domänen-Datenbanken „Pfam“ (www.sanger.ac.uk/Software/Pfam) und „ProSite“ (www.expasy.org/prosite) ermöglichte in einigen Fällen auch beim Fehlen homologer (und experimentell bestätigter) Proteinsequenzen anhand konservierter Domänen die Zuordnung von Funktionen. Außerdem konnte das Protein mit TMPred (http://www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html) auf das Vorhandensein von transmembranen Helices untersucht werden.

2.15.3 Untersuchung der 16S rRNA-Gene auf das Vorhandensein chimerer Sequenzen

Die Sequenzen der 16S rRNA-Gene wurden mit den Programmen „CHIMERA_CHECK version 2.7“ des „Ribosomal Database Project“ (RDP; LARSEN et al., 1993) unter der Internetadresse <http://rdp.cme.msu.edu/cgis/chimera.cgi> und dem Programm „Bellerophon chimera detection program“ unter der Internetadresse <http://foo.math.uq.au/~huber/bellerophon.pl> auf das Vorhandensein von Chimeren überprüft. Das Programm „CHIMERA_CHECK version 2.7“ überprüft, ob es einen möglichen Schnittpunkt in der zu untersuchenden Sequenz gibt, der die Sequenz in zwei Teile teilt, die jeweils zu einer anderen Sequenz aus der RDP-Datenbank die größte Übereinstimmung haben. Dabei macht das Programm „CHIMERA_CHECK version 2.7“ keine definitive Aussage darüber, ob eine Sequenz ein Chimere ist, so dass bei jeder Sequenz im Einzelnen auf das Vorhandensein von Artefakten entschieden werden muss. Das Programm „Bellerophon chimera detection program“ berechnet dagegen 2 mögliche Stammbäume mit dem Anfang und dem Ende aller Sequenzen. Ergeben sich dabei unterschiedliche Verzweigungen, ist dies ein Anzeichen dafür, dass es sich bei den entsprechenden Sequenzen um Chimere handelt.

2.16 Herstellung von Rohextrakten

2.16.1 Zellaufschluss mit der Frenchpresse

Für die Herstellung von Rohextrakten mit der French-Presse wurde von einem Kulturvolumen mit mindestens 25 ml ausgegangen. Zunächst wurden die Zellen durch Zentrifugation (6000 Upm, 10 min, 4 °C, GS3-Rotor, Sorvall RC-5B-Zentrifuge, Fa. Du Pont de Nemours GmbH) geerntet und das Pellet in einem geeigneten Puffer aufgenommen. Die Zellsuspension wurde dann in eine vorgekühlte French-Press-Apparatur (Fa. SLM Aminco, Urbana, USA) gefüllt. Der Aufschluss der Zellen fand bei einem Druck von 140 Mpa statt. Der Vorgang wurde zweimal wiederholt, wobei vor dem ersten Mal eine Spatelspitze DNase I (Fa. Boehringer, Mannheim) zugegeben wurde. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation bei 15000 Upm und 4 °C für 30 min (SS34-Rotor, Sorvall RC-5B-Zentrifuge, Fa. Du Pont de Nemours GmbH). Der erhaltene Extrakt wurde als Rohextrakt bezeichnet und konnte bis zur weiteren Verwendung bei –20 °C gelagert werden.

2.17 Proteinbestimmung (BRADFORD, 1976)

Die Bestimmung der Proteinkonzentration erfolgte in modifizierter Form nach der Methode von BRADFORD (1976).

Es wurden 20 µl einer Probe zu 1 ml Bradford-Reagenz gegeben. Wenn nötig, konnte die Probe mit H₂O_{dest.} verdünnt werden. Nach einer Inkubation für 10 min bei RT wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 580 nm gegen einen Leerwert gemessen. Zur Konzentrationsbestimmung wurde eine Eichgerade mit Rinderserumalbumin in einem Bereich von 0 bis 10 µg/ml aufgenommen.

Bradford-Reagenz

Serva Blau G-250	70	mg
Ethanol (96 %, v/v)	50	ml
H ₃ PO ₄ (85 %, v/v)	100	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml

Nach vollständigem Lösen des Farbstoffs in Ethanol und Zugabe der übrigen Bestandteile erfolgte eine Filtration durch einen Faltenfilter. Das Reagenz wurde lichtgeschützt gelagert und war ca. 1 Jahr haltbar.

2.18 Bestimmung von Enzymaktivitäten

Die Enzymaktivitäten wurden im Bereich der linearen Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Proteinmenge bestimmt. Eine Enzymeinheit 1 U entspricht dabei dem Umsatz von 1 µmol Substrat pro Minute. Die Volumenaktivitäten [U/ml] wurden nach folgender Formel berechnet.

$$U/ml = \frac{\Delta E / \text{min} \times V}{\epsilon \times d \times v}$$

$\Delta E/\text{min}$ = Extinktionsänderung pro Minute

V = Volumen der Küvette [ml]

ϵ = Extinktionskoeffizient [$\text{ml} \times \mu\text{mol}^{-1} \times \text{cm}$]

d = Schichtdicke der Küvette [cm]

v = Volumen der eingesetzten Probe

Die spezifische Enzymaktivität [U/mg Protein] ergab sich aus der Division der Volumenaktivität [U/ml] durch die ermittelte Proteinkonzentration [mg/ml] (s. 2.17).

2.18.1 Erythrit-Dehydrogenase (RUCH et al., 1974; BOENIGK et al., 1991)

Die Aktivität der Erythrit-Dehydrogenase wurde in Oxidationsrichtung bei Raumtemperatur über die Extinktionsänderung bei 365 nm aufgrund der NAD^+ -Reduktion bestimmt.

Testansatz:

Puffer	870 – 970	μl
NAD^+ oder NADP^+ (180 mM)	10	μl
Probe	10 – 100	μl
Start mit:		
Substrat (5 M)	20	μl

Das Gesamtvolumen des Testansatzes betrug immer 1 ml. Es wurden 3 verschiedene Puffer eingesetzt:

K_2CO_3 -Puffer

K_2CO_3	0,1	M
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	30	mM
pH 9,0		

Alkohol-Dehydrogenase (ADH)-Puffer

Na- PO_4 -Puffer	50	mM
Glycin	130	mM
pH 8,5		

HEPES-Puffer

HEPES- NH_4OH	10	μM
reduziertes Gluthation	0,9	μM
MgCl_2	2	μM
pH 8		

Zur Feststellung ob die Erythrit-Dehydrogenase auch in der Lage ist die Reduktion von L-Erythrulose oder D-Erythrose zu Alkoholen zu katalysieren, wurden beide Substanzen als Substrate eingesetzt. Die Oxidation von NADH wurde photometrisch bei 365 nm in einer Plastikküvette (d=1) verfolgt.

Testansatz:

Triethanolamin-Puffer (0,1 M, pH7,5)	950	μl
NADH (24,5 mM in 0,6 M NaHCO ₃)	15	μl
Probe	10	μl
Start mit:		
Substrat (1 M)	10	μl

2.18.2 Kinasen (PALMGREN, 1990)

Kinase-Aktivitäten von Enzymen können in einem gekoppelten Enzymtest photometrisch gemessen werden. Das durch die Kinase-Aktivität entstehende ADP wird über 2 weitere Enzymreaktionen mit der Pyruvat-Kinase und der Laktat-Dehydrogenase als NADH-Oxidation photometrisch sichtbar gemacht. Die Abnahme der NADH-Konzentration wurde bei 365 nm am Photometer verfolgt.

Testansatz:

MOPS	10	mM
Saccharose	330	mM
MgCl ₂	4	mM
KCl	140	mM
EDTA	1	mM
RSA	1	mg/ml
DTT	1	mM
ATP	2	mM

PEP	1	mM
NADH	0,5	mM
Pyruvat-Kinase	60	µg/ml
Laktat-Dehydrogenase	30	µg/ml
pH 7		

Die Reaktion wurde durch die Zugabe des Substrates gestartet.

2.18.3 Dihydroxyaceton-Kinase

Dihydroxyaceton-Kinasen können sowohl ATP- als auch PEP- abhängig sein. Für beide Arten von Dihydroxyaceton-Kinasen gibt es geeignete photometrische Enzymtests, die die Kinase-Aktivität an die NADH-abhängige Reduktion des Reaktionsproduktes Dihydroxyaceton-Phosphat durch die Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase (G3P-DH) koppeln. Diese Reaktion kann durch die Oxidation von NADH photometrisch bei 340 nm verfolgt werden. Werden die Tests mit Rohextrakten von *E. coli* durchgeführt, ist es wichtig, die *E. coli* eigene Glycerin-Dehydrogenase, die die Reduktion von Dihydroxyaceton NADH-abhängig katalysiert, durch die Zugabe des Chelatbildners α , α -Dipyridyl zu inhibieren. Eine Störung des Testes durch die Glycerin-Kinase von *E. coli* kann durch Zugabe von 100 mM Glycerin umgangen werden.

2.18.3.1 ATP – abhängige Dihydroxyaceton – Kinase (JOHNSON et al., 1984)

Die ATP-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase-Aktivität kann mit folgendem Testansatz gemessen werden. Dabei wird die optische Dichte bei 340 nm verfolgt.

Testansatz (900 µl):

Triethanolamin-HCl-Puffer (pH 7,0)	50	mM
MgCl ₂	1	mM
α , α -Dipyridyl	10	mM
NADH	0,1	mM
G3P-DH	2	µg
Rohextrakt	1–50	µl
Dihydroxyaceton	1	mM

Start mit:

ATP (0,1 mM)	100	μl
Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase	2	μg

Zunächst wurde die optische Dichte bei 340 nm für 2 Minuten verfolgt, bevor die eigentliche Reaktion durch die Zugabe von 100 μl ATP (0,1 mM) und 2 μg Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase gestartet wurde. Die Reaktion wurde für 4 Minuten verfolgt.

2.18.3.2 PEP – abhängige Dihydroxyaceton – Kinase (SUN et al., 2003)

Eine PEP-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase-Aktivität wird mit folgendem Testansatz verfolgt:

Testansatz (900 μl):

KH ₂ PO ₄ (pH 7,5)	55,6	mM
Dihydroxyaceton	1,11	mM
MgCl ₂	2,78	mM
α, α-Dipyridyl	11,1	mM
DTT	2,78	mM
NADH	0,56	mM
Rohextrakt	1 – 50	μl

Start mit:

PEP (10 mM)	100	μl
Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase	2	μg

Zunächst wurde die optische Dichte bei 340 nm für 2 Minuten verfolgt, bevor die eigentliche Reaktion durch die Zugabe von 100 μl PEP (10 mM) und 2 μg Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase gestartet wurde. Die Reaktion wurde für 4 Minuten verfolgt.

2.18.4 Kohlenstoffmonoxid-Dehydrogenase (KRAUT et al., 1989)

Die Aktivität der Kohlenstoffmonoxid-Dehydrogenase (CO-DH) kann spektroskopisch anhand der Reduktion von INT (2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-2H-tetrazolium-chlorid) verfolgt werden. MPMS (1-Methoxyphenazin-methosulfat) dient dabei als Elektronenüberträger zwischen der CO-DH und dem INT. Durch die Reduktion des INT entsteht ein rotes Formazan, dessen Bildung bei 496 nm photometrisch messbar ist. Das CO wird in Phosphatpuffer gelöster Form mit einer Spritze dem Testansatz in einer 1 ml Plastikkuvette zugefügt und damit die Reaktion gestartet. Für den Extinktionskoeffizient bei 496 nm wurde ein Wert von $\epsilon = 17,981 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ angenommen.

Testansatz:

INT (9,9 mM)	250	μl
MPMS (8,9 mM)	50	μl
Triton X-100 (25 %)	500	μl
Phosphatpuffer	19,2	μl
(50 mM KH_2PO_4 -NaOH; pH 7,2)		
Rohextrakt	1 – 50	μl

Start mit:

Phosphatpuffer (50 mM KH_2PO_4 -NaOH; pH 7,2) mit CO bei 25 °C gesättigt	200	μl
--	-----	---------------

2.19 Methoden zur Proteinanreicherung

2.19.1 Metall-Chelat-Affinitätschromatographie

Das Prinzip der Metall-Chelat-Affinitätschromatographie beruht auf der Fähigkeit bestimmter Aminosäuren, z. B. Histidin, als Elektronendonator an Proteinoberflächen zu fungieren und so an Metallionen wie Ni^{2+} und Cu^{2+} zu binden (HOCHULI et al., 1988; YIP et al., 1989). Die Metallionen wiederum sind über Chelatgruppen an ein Trägermaterial (Agarose oder Sepharose) gebunden.

Die Metall-Chelat-Chromatographie besitzt im neutralen pH-Bereich ihre größte Spezifität und Effizienz. Die Elution der Proteine findet unter Verwendung eines Imidazolgradienten statt. Imidazol führt zu einer kompetitiven Verdrängung des Histidins. Alternativ kann eine Elution durch einen pH-Gradienten erfolgen.

2.19.1.1 Vorbereitung der Säule

Für die Metall-Chelat-Chromatographie wurde Ni^{2+} -Nitrilotriessigsäure-Agarose (NTA-Agarose; Fa. Qiagen GmbH) verwendet. Nach dem Einsetzen der unteren Fritte wurden 4 - 6 ml Ni^{2+} -NTA-Agarose in eine PD 10-Säule (Fa. Amersham Pharmacia, Freiburg) eingefüllt. Nach der Sedimentation des Trägermaterials wurde die Säule mit dem Zellaufschlusspuffer gespült und bei 4 °C aufbewahrt.

2.19.1.2 Reinigung löslicher Proteine unter nativen Bedingungen

Zur Reinigung löslicher Proteine unter nativen Bedingungen wurde der Rohextrakt mit der Ni^{2+} -NTA-Agarose, die mit Zellaufschlusspuffer äquilibriert worden war, unter Rühren bei 4 °C für 1 h inkubiert. Nach dieser Inkubation wurde die Lösung in den Säulenkörper einer PD-10 Säule gefüllt. Nach dem Absetzen der Agarose wurde diese zunächst mit einem geeigneten Volumen Zellaufschlusspuffer gewaschen. Es folgte ein weiterer Waschschrift mit Puffer I. Die Elution der Proteine erfolgte in mehreren Schritten mit Puffer II.

Vor einer erneuten Verwendung der Säule wurde das Chromatographiematerial mit Puffer II gespült und dann mit dem Zellaufschlusspuffer äquilibriert.

Zellaufschlusspuffer

NaH_2PO_4	50 mM
NaCl	300 mM
Imidazol	10 mM
pH 8,0	

Puffer I

NaH_2PO_4	50 mM
NaCl	300 mM
Imidazol	20 mM
pH 8,0	

Puffer II

NaH_2PO_4	50 mM
NaCl	300 mM
Imidazol	250 mM
pH 8,0	

2.19.1.3 Regeneration der Säule

Die Notwendigkeit einer Regeneration der Ni^{2+} -NTA-Agarose wurde durch eine Farbänderung von grün-blau nach bräunlich-grau angezeigt. Durch das chelatierende Agens EDTA erfolgte die Elution des Nickels von der Säule. Nach einer anschließenden Wiederbeladung mit Ni^{2+} -Ionen stand das Säulenmaterial erneut für mehrere Reinigungszyklen zur Verfügung. Die Regeneration des Säulenmaterials erfolgte anhand des Herstellerprotokolls.

2.19.1.4 Reinigung löslicher Proteine mit Protino[®] Ni –Säulen (Fa. Macherey-Nagel, Düren)

Das Prinzip der Proteinaufreinigung mit Hilfe dieser Säulen entspricht dem der Metall-Chelat-Affinitätschromatographie. Das hier eingesetzte Trägermaterial sind Silica-Kügelchen, die als Chelatgruppe TED (Tris-carboxymethylethylendiamin) binden. TED bindet 5 der 6 Koordinationsstellen des Nickels, so dass nur noch eine für das rekombinante Protein zur Verfügung steht. Damit soll sowohl ein Auswaschen des Metalls verhindert als auch eine spezifischere Bindung des aufzureinigenden Proteins verbessert werden. Im Gegensatz zu auf Agarose-basierendem Trägermaterial soll durch weniger Seitenketten unspezifischen Bindungen entgegengewirkt werden. Die Aufreinigung erfolgte nach Herstellerangaben.

2.20 Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)

Polyacrylamid-Gelelektrophoresen unter denaturierenden und nicht denaturierenden Bedingungen wurden in Minigel-Elektrophorese-Kammern (Fa. Bio-Rad, München) mit 8,5 x 8,0 x 0,1 cm-großen Glasplatten durchgeführt.

2.20.1 SDS-PAGE nach SCHÄGGER und VON JAGOW (1987)

Trenn- und Sammelgel hatten folgende Zusammensetzung (Menge für 2 Gele):

<u>Trenngel:</u>	Gelpuffer	3	ml
12,5%ig	Acrylamidlösung	2,25	ml
	$\text{H}_2\text{O}_{\text{dest.}}$	3,75	ml
	APS-Lösung	50	μl
	TEMED	5	μl

<u>Sammelgel:</u>	Gelpuffer	1,13	ml
	Acrylamidlösung	375	µl
	H ₂ O _{dest.}	3	ml
	APS-Lösung	45	µl
	TEMED	4,5	µl

Zunächst wurden Acrylamidlösung, Gelpuffer und H₂O_{dest.} gemischt. Nach der Zugabe von TEMED und APS-Lösung wurde das Gel gegossen und mit H₂O_{dest.} überschichtet, um eine ebene Fläche zu erhalten. Nach Polymerisation des Trenngels (ca. 30 min) konnte das H₂O_{dest.} abgenommen und das Sammelgel gegossen werden, in das zur Formung von Geltaschen ein Kamm luftblasenfrei eingesetzt wurde. Nach 30 min war das Gel vollständig polymerisiert und konnte verwendet werden.

Die Proben wurden vor dem Auftragen im Verhältnis 1:3 mit Denaturierungspuffer gemischt. Anschließend wurden die Proben auf das mit Elektrophoresepuffer überschichtete Gel mit Hilfe einer Hamiltonspritze aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte zunächst bei einer Spannung von 100 V, bis die blaue Markerbande das Trenngel erreicht hatte, und wurde dann auf 130 V erhöht. Als Netzgerät diente ein Gene-Power-Supply GPS 200/400 (Fa. Amersham Pharmacia). Die Elektrophorese wurde beendet, wenn die Markerbande das Gelende erreicht hatte.

Acrylamidlösung

Acrylamid	96	g
Bisacrylamid	3	g
H ₂ O _{dest.}	ad 200	ml

Gelpuffer

Tris	181,7	g
SDS	1,5	g
H ₂ O _{dest.}	ad 500	ml
	pH 8,4	

Kathodenpuffer

Tris	12,1	g
Tricin	17,9	g
SDS	1	g
H ₂ O _{dest.}	ad 1000	ml
pH 8,5		

Denaturierungspuffer

Tris	0,2	g
SDS	1,2	g
Serva-Blau G250	3	mg
Glycerin	3	ml
2-Mercaptoethanol	0,5	ml
H ₂ O _{dest.}	ad 10	ml
	pH 6,8	

Anodenpuffer

Tris		
H ₂ O _{dest.}	24,2	g
pH 8,9	ad 1000	ml

APS-Lösung

Ammoniumpersulfat	0,1	g
H ₂ O _{dest.}	ad 1	ml

2.20.2 Native Gradienten-PAGE

Für ein Gradientengel von 4 bis 20 % wurden Polyacrylamidlösungen folgender Zusammensetzung verwendet:

<u>“Leichte” Lösung:</u>	Acrylamid	4,0	g
	Bisacrylamid	0,2	g
	Gelpuffer	ad 100	ml

<u>“Schwere” Lösung:</u>	Acrylamid	20,0	g
	Bisacrylamid	1,0	g
	Glycerin (87 % [v/v])	8,6	ml
	Gelpuffer	ad 100	ml

Die Lösungen wurde lichtgeschützt bei 4 °C gelagert.

Für das Trenngel von 4 bis 20 % (w/v) wurden jeweils 2 ml “Leichte” und “Schwere” Lösung in die Kammern eines kleinen Gradientenmischers gefüllt und unter Rühren je 3 µl TEMED und 15 µl APS-Lösung (s.2.20.1) in die einzelnen Kammern gegeben. Nach dem Öffnen des Gradientenmischers konnte die Acrylamidlösung mit Hilfe einer Peristaltikpumpe (Meredos GS, Fa. Meredos, Nörten-Hardenberg) zwischen die Glasplatten gegossen werden. Anschließend erfolgte die Überschichtung des Trenngels mit ca. 1 ml H₂O_{dest.}. Nach Polymerisierung des Gels für 30 min wurde das H₂O_{dest.} abgenommen. Dann wurde das Sammelgel gegossen, für das 2 ml “Leichte” Lösung, 3 µl TEMED und 15 µl APS-Lösung verwendet wurden. Direkt im Anschluss wurde ein Kamm luftblasenfrei eingesetzt. Nach der Polymerisierung für 30 min konnte das Gel in die Elektrophoresekammer eingesetzt werden und die Pufferreservoirs mit Elektrodenpuffer gefüllt werden. Nachdem der Kamm entfernt worden war, wurde zunächst eine Vorelektrophorese (100 V, 30 min) durchgeführt. Danach konnten die mit

0,1 Volumen Beschwerungslösung versetzten Proben aufgetragen werden. Die Elektrophorese erfolgte bei 4 °C und 100 V für 20 bis 24 h.

Gelpuffer

Tris	250	mM
pH 8,5		

Elektrodenpuffer

Tris	0,1	M
Glycin	0,1	M
pH 8,7		

Beschwerungslösung

Saccharose	4	g
Bromphenolblau	5	mg
H ₂ O _{dest.}	ad 10	ml

Die Beschwerungslösung wurde bei –20 °C gelagert.

2.21 Proteinfärbung in Polyacrylamidgelen

2.21.1 Coomassie-Färbung

Nach Beendigung der Elektrophorese wurden die Gele kurz mit H₂O_{dest.} gespült und dann für 60 min in die Coomassie-Färbelösung gelegt. Nach Spülen mit H₂O_{dest.} wurde das Gel entfärbt, wobei die Entfärbelösung mehrfach gewechselt wurde. Bei guter Transparenz des Hintergrundes konnten die Gele ausgewertet werden.

Coomassie-Färbelösung

Coomassie-Blau G-250	0,08	% (w/v)
Coomassie-Blau R-250	0,08	% (w/v)
Methanol	45	% (v/v)
Eisessig	10	% (v/v)

Entfärbelösung

Methanol	33	% (v/v)
Eisessig	10	% (v/v)

2.21.2 Aktivitätsfärbung von Erythrit-Dehydrogenasen (Gabriel, 1971; modifiziert)

Der spezifische Nachweis der aktiven Erythrit - Dehydrogenase im Gel erfolgte durch Nitroblau-Tetrazoliumchlorid (NBT). Das Testsystem beruhte darauf, dass das bei der Oxidation von Erythrit gebildete NADH NBT direkt oder über den Elektronenüberträger Phenazinmethosulfat (PMS) irreversibel zum Diformazan reduziert. Der mit der Reduktion verbundene Farbwechsel von gelb zu blau ließ das Enzym als distinkte Bande im Gel sichtbar werden.

Die Gele wurden in die Färbelösung überführt und im Dunkeln bei Raumtemperatur bis zum Erscheinen von Banden inkubiert. Anschließend wurden die Gele in 7 % Essigsäure fixiert.

Färbelösung

K ₂ CO ₃ (100 mM, pH 8,5)	86	ml
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,4	g
NAD ⁺ (100 mM)	2	ml
NBT (10 mg/ml)	5	ml
PMS (0,8 mg/ml)	5	ml
Erythrit	12,14	g

2.22 Western Blot (TOBWIN et al., 1979; modifiziert)

Die Methode des elektrophoretischen Proteintransfers auf Membranen (TOBWIN et al., 1979) wurde für den spezifischen Nachweis von Proteinen mit His₆-Tag bzw. V5-Epitop angewandt. Der Western-Blot wurde in einer Mini-Blot-Apparatur „Mini Trans-Blot® Electrophoretic Transfer Cell“, Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH, München) durchgeführt. Nach der SDS-Page (s. 2.20.1) wurden das Gel sowie auf Gelgröße zugeschnittene 2 Lagen Whatman-Papier (Whatman 3 mm, Fa. Schleicher und Schuell GmbH, Dassel), die Nitrocellulose-Membran (Hybond ECL Nitrocellulose Membrane; Fa. Amersham, Freiburg) und 2 Glasfiberpads 10 Minuten in gekühltem Transferpuffer getränkt. Anschließend wurde der Blot luftblasenfrei in der Gelhalterungskassette auf der Anodenseite aufgebaut und durch Andrücken der Anodenseite auf die Kathodenseite fest verschlossen:

Kathode (-)

Galsfiberpad
 1 Lage Whatman
 SDS-Polyacrylamidgel
 Membran
 1 Lage Whatman
 Glasfiberpad

Anode (+)

Zusammen mit der Blotelektrodeneinheit wurde die Kassette in die mit Puffer gefüllte Blot-Kammer eingesetzt. Der Tranfer erfolgte bei einer Spannung von 120 V und 4 °C für eine Stunde.

Transferpuffer

Tris-base	25 mM
Glycin	192 mM
Methanol (20 %[v/v])	200 ml
ad H ₂ O _{dest.}	1000 ml
pH 8,1 – 8,4	

Der pH-Wert darf nicht mit Säure oder Base eingestellt werden. Lag der pH-Wert außerhalb dieses Bereiches, wurde der Puffer erneut angesetzt.

Bei der vor dem Western-Blot durchgeführten SDS-Page wurde ein sogenannter „Prestained-Marker“ („peqGold Protein Marker IV (Prestained)“; Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH) verwendet. Anhand dieser bereits gefärbten Banden konnte der Proteintransfer überprüft werden. Die Membran konnte direkt nach dem Western-Blot der gewünschten Färbung unterzogen werden.

2.22.1 Immunodetektion von Proteinen auf Blot-Membranen

Gebloottete Antigene bieten die Möglichkeit, sie mit Konjugaten oder Antikörpern anzufärben. Bei der Verwendung von Antikörpern hängt die Spezifität der Immunfärbung von der Spezifität des primären und sekundären Antikörpers und deren eingesetzten Konzentrationen ab.

2.22.1.1 Chromogene Methoden

2.22.1.1.1 Färbung mit dem Anti-V5-Alkalische-Phosphatase-Konjugat

Dieses Verfahren dient dem Nachweis von rekombinanten Proteinen auf Blot-Membranen, die das V5-Epitop enthalten. Dieses besteht aus 14 Aminosäuren, die von den P- und V-Proteinen des *Paramyxovirus* SV5 abgeleitet sind (SOUTHERN et al., 1991). Es wird mit Hilfe des pET101/D-TOPO-Vektors carboxyterminal an rekombinante Proteine angehängt. Der Nachweis beruht auf der Affinität des mit alkalischer Phosphatase gekoppelten Anti-V5-Antikörpers gegen das V5-Epitop. Antigen-Antikörper-Komplexe können durch den Umsatz geeigneter Substrate von der alkalischen Phosphatase anhand der resultierenden Farbänderung sichtbar gemacht werden. Hier fand als Färbelösung das „AP System“ der Firma Promega (Mannheim) Einsatz.

Die Inkubationen und das Waschen der Membranen wurden unter Schwenken bei RT nach folgendem Protokoll durchgeführt:

1. die getrocknete Membran mit H₂O_{dest} befeuchten
2. 1,5 Stunden in Block-Puffer inkubieren
3. 2 x mit TBST-Puffer schwenken
4. 1 x 15 Minuten in TBST-Puffer waschen
5. 2 x 5 Minuten in TBST-Puffer waschen
6. 2 Stunden Inkubation mit 25 ml Antikörperlösung (1:3000-Verdünnung mit TBST mit Blocking-Puffer (Fa. Amersham, Freiburg)
7. Wiederholung der Schritte 3) bis 5)
8. Waschen mit TBS-Lösung
9. Behandlung mit Färbelösung im Dunkeln, bis die Banden deutlich sichtbar sind
10. zum Stoppen der Reaktion 10 Minuten mit Wasser_{dest.} spülen

Die Membran wurde sofort mit Hilfe eines Scanners dokumentiert und bei RT getrocknet.

TBS-Puffer 10-fach

NaCl	1,4	M
Tis-HCl	0,1	M
pH 7,4		

TBST-Puffer 5-fach

NaCl	1,4	M
Tis-HCl	0,1	M
Tween-20	0,1	% [v/v]
pH 7,5		

2.22.1.1.2 Nachweis des His₆-Tag durch Antikörper

Mit Hilfe geeigneter Vektoren können 6 aufeinander folgende Histidin-Reste (His₆-Tag) carboxy- oder aminoterminal an rekombinante Proteine angehängt werden. An diesen sogenannte His₆-Tag kann ein primären Antikörper (Maus-anti-His-Antikörper, Fa. Amersham, Freiburg) binden. An diesen primären Antikörper bindet dann in einem zweiten Schritt ein an die alkalische Phosphatase gekoppelter sekundärer Antikörper. Auch bei diesem System kann ein solcher Komplex durch den Umsatz geeigneter Substrate von der alkalischen Phosphatase anhand der resultierenden Farbänderung sichtbar gemacht werden.

Die Inkubationen und das Waschen der Membranen wurden unter Schwenken bei RT nach dem unter 2.22.1.1.1 beschriebenen Protokoll durchgeführt. Da es sich hier um ein System mit einem primären und einem sekundären Antikörper handelt, musste der primäre Antikörper nach Schritt 6 durch Waschen, wie unter den Schritten 3 bis 5 beschrieben, entfernt werden. Außerdem erfolgte die Inkubation dieses Antikörpers nur für eine Stunde. Die nachfolgenden Schritte entsprachen den Schritten 6 bis 10. Die Verdünnung des primären Antikörpers betrug 1:3000, die des sekundären 1:10000.

2.23 Molekularmassenbestimmung

2.23.1 Molekularmassenbestimmung durch SDS-PAGE

SDS lagert sich an Proteine an und zerstört fast alle nicht-kovalenten Wechselwirkungen, so dass die Dissoziation von Proteinen in ihre Untereinheiten erreicht wird. Durch die Bindung des negativ geladenen Detergenz wird die Eigenladung der Proteine weitgehend vernachlässigbar und damit eine gelelektrophoretische Auftrennung ermöglicht, die nahezu ausschließlich auf der Masse der Moleküle beruht. Nach der SDS-PAGE und Färbung der Proteine konnte die Molekularmasse eines Proteins ermittelt werden, indem dessen Wanderungsgeschwindigkeit mit der von Markerproteinen verglichen wurde. Die Auftragung des Logarithmus der Molekularmassen der Markerproteine gegen den R_F -Wert (Wanderungsstrecke des Proteins bezogen auf die Wanderungsstrecke des Farbstoffmarkers) ergibt eine Eichgerade, anhand derer die Molekularmasse des jeweiligen Proteins berechnet werden konnte. Als Markerproteine wurden die Proteine

des „peqGold Protein Marker“-Kits (Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH) oder die des „Prestained SDS-PAGE Standard Low Range“ (Fa. Bio-Rad Laboratories) eingesetzt.

Markerproteine „peqGold Protein Marker“-Kits

β-Galaktosidase	116 kDa
Rinderserumalbumin	66,2 kDa
Ovalbumin	45 kDa
Laktat-Dehydrogenase	35 kDa
RE <i>Bsp</i> 98I	25 kDa
β –Laktoglobulin	18,4 kDa
Lysozym	14,4 kDa

Markerproteine „ Prestained SDS-PAGE Standard Low Range ”

Phosphorylase b	103 kDa
Rinderserumalbumin	77 kDa
Ovalbumin	50 kDa
„Carbonic Anhydrase“	34,3 kDa
Sojabohnen Trypsin	28,8 kDa
Inhibitor	
Lysozym	20,7 kDa

Alternativ zum „peqGold Protein Marker“-Kits wurde in SDS-Gelen, von denen die Proteine anschließend in einen Western-Blot (s. 2.22) auf Membranen transferiert werden sollten, der „peqGold Protein Marker IV (Prestained)“-Kit (Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH) verwendet. Da kovalent gebundene Farbstoffe das Laufverhalten von Proteinen beeinflussen, ist dieser Marker nur für annäherungsweise Molekulargewichtsbestimmungen geeignet. Die Banden entsprechen folgenden Größen: 170 kDa, 130 kDa, 100 kDa, 72 kDa, 55 kDa, 40 kDa, 33 kDa, 24 kDa, 17 kDa, 11kDa.

2.23.2 Molekularmassenbestimmung durch Gradienten-PAGE (ANDERSON et al., 1972; NISHIZAWA et al., 1988)

Die Auftrennung von Proteinen im nativen Polyacrylamid-Gradientengel (s.2.20.2) hängt in erster Linie von der Größe der Proteine ab. Mit steigender Acrylamidkonzentration nimmt die Porengröße ab und so wird das Weiterwandern von größeren Proteinen verhindert. Die Eigenladung der Proteine ist hier theoretisch vernachlässigbar (MARGOLIS und KENRICK, 1967).

Nach Auftrennung durch native Gradienten-PAGE (s. 2.20.2) und Anfärben der Proteinbanden (s. 2.21.1) konnte die Molekularmasse von Proteinen berechnet werden, indem die Wanderungsstrecke mit der von Markerproteinen verglichen wurde. Zunächst wurde dafür die Gelkonzentration an den Bereichen bestimmt, in denen die Proteine angefärbt worden waren. Hierfür wurde folgende Formel herangezogen:

$$\% \text{ Acrylamid} = 4 + (\text{cm Probe} \times 23,5 \text{ cm}^{-1} \text{ Gel})$$

Anschließend kann der Logarithmus des Molekulargewichtes gegen den Logarithmus der Gelkonzentration aufgetragen werden.

Als Markerproteine wurde der "HMW Calibration"-Kit (Fa. Amersham Pharmacia) eingesetzt.

Markerproteine "HMW Calibration"-Kit

Protein	Molekularmasse	RF-Wert
Thyroglobin	669 kDa	0,453
Ferritin	440 kDa	0,570
Katalase	232 kDa	0,651
Laktat-Dehydrogenase	140 kDa	0,714
Rinderserumalbumin	66 kDa	0,957

2.24 Chemikalien, Enzyme und Gase

Es wurden Chemikalien des handelsüblichen Reinheitsgrades der Firmen Boehringer (Mannheim), Fluka (Buchs, Schweiz), Merck (Darmstadt), Riedel de Haen (Hannover), Serva (Heidelberg) und Sigma (Taufkirchen) verwendet. Des Weiteren wurde mit Biochemikalien, Enzymen etc. folgender Firmen gearbeitet:

Amersham Pharmacia, Freiburg:

Nylonmembranen, HMW Calibration-Kit, PD10-Säulen

Bio-Rad Laboratories, München:

Prestained SDS-PAGE Standard Low Range

Biozym GmbH, Hess. Oldendorf:

Elektroporationsküvetten

Dr. Riex GmbH, Uetersen:

L-Erythrulose

Eppendorf, Wesseling-Berzdorf:

Elektroporationsküvetten

Eurogentec, Seraing, Belgien:

Agarose

Gerbu Biotechnik GmbH, Gaiberg:

IPTG, X-Gal, Ampicillin, Proteinase K

Invitrogen, Carlsbad, CA, USA:

pET Directional TOPO Expression Kit, TOPO TA Cloning Kit

Macherey-Nagel, Düren:

Nucleo Spin Plasmid, Protino[®] Ni –Säulen

MBI Fermentas GmbH, St. Leon-Rot:

Taq-DNA-Polymerase, *Pfu*-DNA-Polymerase T4-DNA-Ligase, Ladder-Mix,

Nukleotide, Restriktionsendonukleasen

Messer Griesheim GmbH, Kassel:

Stickstoff

Metabion, Martiensried:

Oligonukleotide

Millipore, Eschborn:

Mikrodialyse-Filter

New-England Biolabs GmbH, Freiburg:

Restriktionsendonukleasen

Novagen, Darmstadt:

KOD Hifi DNA Polymerase

PeqLab Biotechnologie GmbH, Erlangen:

peqGold Protein-Marker, peqGold Protein-Marker IV (Prestained)

Promega, Deutschland GmbH, Mannheim:

WizardTM *Plus* Minipreps DNA Purification System, *Pfu*-DNA-Polymerase, AP-System

Qiagen GmbH, Hilden:

Plasmid Midi-Kit, QIAprep Spin Miniprep Kit, Qiaquick PCR-Purification-Kit;

Qiaquick Gel Extraction Kit, RNA/DNA Maxi Kit

Sartorius AG, Göttingen:

Sterilfilter

Sigma Chemie GmbH, Deisenhofen:

D-Erythrose, Erythrit, Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase

Stratagene, USA:

Gigapack® III Gold Packaging Extract

Whatman, Maidstone, England:

Whatman-Filterpapier3MM

3 EXPERIMENTE UND ERGEBNISSE

Die komplexe Charakterisierung von Standorten bezüglich ihrer phylogenetischen und physiologischen Aktivität ist mit heutigen molekularbiologischen Methoden unabhängig von Standardkultivierungstechniken möglich (TYSON et al., 2004; VENTER et al., 2004). Grundlage dafür ist die direkte Isolierung der Standort-DNA und die Konstruktion von Genbanken (Metagenombanken), die dann für Sequenzierungsprojekte zur Verfügung stehen. Die angelegten Genbanken können aber auch bei sequenz- oder aktivitätsbasierenden Durchmusterungen als Quelle für biotechnologisch relevante Enzyme oder bioaktive Agenzien dienen (DANIEL, 2004). Es konnten bereits verschiedene Enzyme z.B. Lipasen/Esterasen (HENNE et al., 2000; RONDON et al., 2000), B₁₂-abhängige Glycerin-Dehydratasen und Diol-Dehydratasen (KNIETSCH et al., 2003b), Alkohol-Oxidoreduktasen (KNIETSCH et al., 2002) und antibakterielle Wirkstoffe (BRADY et al., 2001; GILLESPIE et al., 2002; OSBURNE et al., 2001; RONDON et al., 2000) aus Umweltproben identifiziert und charakterisiert werden. In dieser Arbeit sollte, wie in Abbildung 4 schematisch dargestellt, sowohl ein

Abbildung 4: Schematische Darstellung der Vorgehensweise dieser Arbeit

Einblick in die physiologische als auch die phylogenetische Diversität des Metagenoms des Leinesedimentes gewonnen werden. Außerdem sollte eine aus einer Boden-Metagenombank isolierte potentielle Erythrit-Dehydrogenase identifiziert und biochemisch charakterisiert werden.

3.1 Probennahme

Als Ausgangsmaterial dieser Arbeit diente eine Probe des Leinesedimentes. Die Leine ist ein 247 km langer Fluss, der in Thüringen in der Nähe der Stadt Leinefelde entspringt. Sie fließt u. a. durch Göttingen und Hannover, bevor sie sich mit der Aller vereinigt, die dann in die Weser mündet.

Die Sedimentprobe wurde am 7. September 2001 in Stockhausen ca. 10 km südlich von Göttingen genommen. Der Ort der Probennahme liegt etwa 70 km stromabwärts der Quelle. Das Probenmaterial umfasste die oberen 15 cm der Sedimentschicht. Die Probe wurde sofort in kleinere Portionen von ca. 100 g aliquotiert und bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Die Wassertemperatur zum Zeitpunkt der Probennahme betrug $13\text{ }^{\circ}\text{C}$, der pH-Wert des Wassers 7,7. Weitere Angaben zum Vorkommen von Verbindungen von anorganischen Ionen im Sediment und gelösten Ionen im Wasser beruhen auf Angaben des „Niedersächsischen Landesamtes für Ökologie“, die dort persönlich angefordert wurden und in Tabelle 6 wiedergegeben sind. Die Sediment- und Wasseruntersuchungen wurden in Reckershausen (Niedersachsen) etwa 8 km stromaufwärts von Stockhausen am 5. September (Wasser) bzw. am 18. September 2001 (Sediment) vorgenommen. Die Fließgeschwindigkeit des Wassers in Reckershausen betrug 2001 im Mittel $2,2\text{ m}^3/\text{s}$, die durchschnittliche Wassertemperatur $9,7\text{ }^{\circ}\text{C}$. Im Jahresverlauf traten aber Schwankungen von $1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Januar und $16,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ im August auf. Die Sauerstoffsättigung betrug in den letzten Jahren (1990-2001) über 95 %. Die Konzentrationen der Ionen der Elemente Hg, As, Cd, Cr, Ni, Pb, und Zn lagen im Wasser unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenze.

Tabelle 6: Ergebnisse der Wasser- bzw. Sedimentanalyse des „Niedersächsischen Landesamtes für Ökologie“ am 5. September bzw. 18. September 2001 in Reckershausen (Niedersachsen)

Unter Sediment ist die Fraktion des Sedimentes zu verstehen, die eine Korngröße von weniger als 20 µm Durchmesser umfasst. Die Sedimentprobe wurde zunächst gesiebt und anschließend für die Analyse mit Königswasser behandelt, um die gebundenen Ionen in Lösung zu bringen. Für eine genauere Beschreibung des Vorgehens kann man beim „Niedersächsischen Landesamt für Ökologie“ nachgefragt werden. Die Konzentrationen von gebundenen Kalium-, Natrium-, Calcium-, Magnesium- und Eisenionen wurden für das Sediment nicht ermittelt (-). DOC („Dissolved Organic Carbon“) = gesamter gelöster organischer Kohlenstoff; TOC („Total Organic Carbon“) = gesamter organischer Kohlenstoff vor Sedimentation oder Filtration; < Wert unterhalb der Nachweisgrenze.

	K	Na	Ca	Mg	Fe	Hg	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Wasser	4,8 mg/l	20,0 mg/l	130,0 mg/l	21,0 mg/l	0,1 mg/l	<	<	<	<	1,6 µg/kg	<	<	<
Sediment	-	-	-	-	-	0,11 mg/ kg	9,3 mg/ kg	0,40 mg/ kg	48,0 mg/ kg	40,0 mg/ kg	32,0 mg/ kg	41,0 mg/ kg	260,0 mg/ kg

	HCO ₃ ⁻	DOC	TOC	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	NH ₄ ⁺	Gesamt- Stickstoff	Ortho- Phosphat	Gesamt- Phosphat	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
Wasser	244,0 mg/l	2,5 mg/l C	3,1 mg/l C	7,0 mg/l N	0,09 mg/l N	0,14 mg/l N	8,9 mg/l N	0,23 mg/l P	0,28 mg/l P	36,0 mg/l Cl	180,0 mg/l SO ₄ ²⁻

3.2 Konstruktion von Metagenombanken in *Escherichia coli*

3.2.1 Isolierung von chromosomaler DNA aus dem Leinesediment

Die Präparation der DNA aus dem Leinesediment erfolgte mit der Methode der direkten Lyse von ZHOU et al. (1996), mit der sowohl frei vorliegende DNA als auch die DNA aus den im Sediment lebenden Bakterien isoliert werden kann. Bei dieser Methode werden die Zellen durch eine Hitzeinkubation des Sedimentes in einem Hochsalzextraktionspuffer mit Proteinase K, Detergenzien (SDS, CTAB) und EDTA aufgeschlossen. Nach der Abtrennung der Sedimentpartikel und der Zelltrümmer durch Zentrifugation und der Extraktion der DNA mit Chloroform/Isoamylalkohol konnte die DNA mit Isopropanol gefällt werden (s. 2.6.1). Da meist bei der Präzipitation der DNA viel Salz auskristallisierte, musste eine Dialyse in TE-Puffer bei 4 °C über Nacht

durchgeführt werden (s. 2.5.3.4). Anschließend wurde die DNA erneut gefällt. Wurden zudem viele Matrixbestandteile wie z. B. Huminsäure koextrahiert, was anhand der Braunfärbung der DNA-Lösung erkannt werden konnte, wurde die DNA mit Hilfe des “Wizard DNA Purification Systems” (s. 2.6.2) gereinigt. Dies war wichtig, da Huminsäuren Restriktionsenzyme, Polymerasen und Ligasen inhibieren (TEBBE und VAHJEN, 1993), die für die nachfolgenden Modifikationsschritte der DNA benötigt wurden. Mit diesem Vorgehen konnten zwischen 23 und 27 µg DNA pro g Leinesediment erhalten werden. Wie in Abbildung 5 A) dargestellt, konnte mit einer DNA-Trennung durch eine „Pulse-Field“-Gelelektrophorese (s. 2.7.2) gezeigt werden, dass hochmolekulare DNA (über 450 kb) isoliert werden konnte.

Abbildung 5: Isolierte Leinesediment-DNA, partieller Verdau und Saccharosegradient

A) „Pulse-Field“-Gelelektrophorese (s. 2.7.2) mit isolierter DNA aus einer Leinesediment-Probe (L): Die DNA wurde, wie unter 2.6.1 beschrieben, isoliert. Es wurden 3 µl eingesetzt. Die mit „λ“ beschriftete Spur enthält den Standard „Lamda Ladder PFG-Marker“ (Fa. Biolab), dessen zugehörige Größen links vermerkt sind. Die beiden obersten Angaben entsprechenden den Größen des Standards „Yeast Chromosome PFG Marker“ (Fa. Biolabs). Dieser Standard ist in der Spur „Y“ aufgetragen.

B) Partielle Verdau der Leinesediment-DNA: Die isolierte DNA wurde wie unter 2.6.2 beschrieben gereinigt und anschließend, wie unter 2.8.1 beschrieben, partiell mit *Bsp143I* verdaut. Die Reaktion wurde nach den über den Spuren verzeichneten Sekunden mit EDTA auf Eis abgestoppt. Es wurden 5 µl des Verdau aufgetragen. S bedeutet Standard.

C) Saccharosegradienten-Dichtezentrifugation: Die partiell verdaute DNA wurde mittels einer Saccharosegradienten-Dichtegradientenzentrifugation (s. 2.9) größenfraktioniert und anschließend, wie unter 2.5.3.2 beschrieben, gefällt. Die Zahlen über den Spuren entsprechen den aufgetragenen Fraktionen des Gradienten. Es wurden jeweils 6 µl eingesetzt.

3.2.2 Klonierung der Umwelt-DNA

Bei der Konstruktion der Leinesediment-Metagenombanken wurden zwei unterschiedliche Strategien verfolgt. Zum einen sollte die Umwelt-DNA für die Durchmusterung nach Genen mit gewünschten Aktivitäten zur Verfügung stehen, zum

anderen sollten größere zusammenhängende DNA-Fragmente sequenziert werden. Dementsprechend wurden zwei verschiedene Vektorsysteme für die Klonierung der DNA genutzt. Kleinere DNA-Fragmente wurden in den Plasmid-Vektor pBluescript®II SK+ (bzw. pBluescript SK⁺, ältere Variante; beide von der Fa. Stratagene, San Diego, USA), größere in den Cosmid-Vektor superCosI (Stratagene, San Diego, USA) kloniert.

Unabhängig von der Wahl des Vektors wurde die Umwelt-DNA für die Klonierung mit dem Enzym *Bsp143I* zeitlimitiert partiell verdaut. *Bsp143I* ist ein Isoschizomer von *Sau3AI* und hat eine 4 bp-lange Erkennungssequenz (↓GATC). Damit schneidet das Enzym so häufig, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit eine nahezu gleichmäßige Verteilung aller vorkommenden DNA-Fragmente erreicht werden kann. Limitierend wirken dabei stark unterschiedliche G+C-Gehalte der verschiedenen Fragmente. Dem Restriktionsansatz wurden innerhalb von 5 Minuten 8 Proben entnommen und die DNA-Spaltung mit EDTA auf Eis abgestoppt (s. 2.8.1). Anschließend wurde der Verdau im Agarosegel analysiert. Ein solches Agarosegel ist in Abbildung 5 B) dargestellt. Mittels einer Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation (s. 2.9) wurde die DNA größenfraktioniert. Nach der Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation wurde die DNA gefällt (s. 2.5.3.2) und die Größe der in den unterschiedlichen Fraktionen enthaltenen DNA im Agarosegel analysiert. In der Abbildung 5 C) sind die Fraktionen eines Saccharosegradienten dargestellt, die für die anschließenden Klonierungen verwendet werden konnten. Für die Klonierung in den Vektor pBluescript®II SK+ wurden Fraktionen genommen, welche DNA-Fragmente enthielten, die größer als 2 kb waren (Fraktionen 24 und 27, Abbildung 5 C)). Fraktionen mit Fragmenten > 10 kb eigneten sich für die Klonierung in superCosI (Fraktionen 30 und 33, Abbildung 5 C)).

3.2.2.1 Herstellung einer Plasmid-Genbank

Der Plasmid-Vektor pBluescript®II SK+ (Stratagene, San Diego, USA) eignet sich aus verschiedenen Gründen für die Herstellung von Plasmid-Genbanken, die anschließend in Screening-Systemen eingesetzt werden sollen: Er liegt in *E. coli* in hoher Kopienzahl vor, was gegebenenfalls eine detektierbare heterologe Genexpression ermöglicht. Die auf dem Vektor kodierte Ampicillin-Resistenz erlaubt eine Selektion der Transformanten und das ebenfalls vektorkodierte *lacZ*-Gen die Identifizierung rekombinanter Plasmide durch den X-Gal-Test (s. 2.11.14). In pBluescript®II SK+ können, wie bereits beschrieben, DNA-Fragmente bis zu einer Größe von ca. 10 kb

kloniert werden. Dies kann einer Größe von mehreren Genen entsprechen. Ziel war es, um möglichst viel Umwelt-DNA mit wenig Klonen durchmustern zu können, möglichst große DNA-Fragmente zu klonieren. Außerdem ermöglichen größere Inserts das Vorhandensein von kleineren Genclustern und damit ein Screening nach von ihnen kodierten Funktionen.

Saccharose-Dichtegradientenzentrifugations-Fraktionen mit DNA-Fragmenten, die größer als 2 kb waren, wurden mit der T4-Ligase in pBluescript®II SK+ ligiert (s. 2.8.3.1). Dieser war zuvor mit *Bam*HI-geschnitten (s. 2.8.1) und anschließend dephosphoryliert (s. 2.8.2) worden. Die Ligationsansätze wurden dann in *E. coli* DH5 α (s. 2.10.1) transformiert und die Transformanten auf LB-Ampicillin-Agar mit X-Gal und IPTG ausplattiert. Zur Charakterisierung der Genbank wurden die Klone auf den Platten ausgezählt und mittels des X-Gal-Testes das Verhältnis von Kolonien mit Inserts tragenden Plasmiden zu Kolonien mit Plasmiden ohne Insert bestimmt. Außerdem wurden 30 Klone in LB-Ampicillin-Medium angezogen. Ihre Plasmide wurden präpariert und mit *Sac*I und *Hind*III verdaut. Mit diesem Vorgehen konnten die maximale, minimale und durchschnittliche Insertgröße ermittelt werden. War die durchschnittliche Insertgröße größer als 2,5 kb, wurden die Klone zur Konservierung der Genbank von den Platten abgeschwemmt, die Plasmide isoliert (s. 2.6.3.4) und bei –20 °C gelagert. In Tabelle 7 sind die auf diese Weise bestimmten Parameter der partiellen Genbanken aufgeführt.

Tabelle 7: Zusammenfassung der Eigenschaften der Plasmid-Genbanken aus Leinesediment

Die Insertgrößen wurden durch Isolierung (s. 2.6.6.2) und Restriktionsverdau (s. 2.8.1) von 30 Plasmiden ermittelt. Die Bestimmung des Anteils der Insert-tragenden Plasmide erfolgte durch den X-Gal-Test (s. 2.10.4). Dazu wurde je Genbank 1 μ l Plasmid-DNA in *E. coli* DH5 α transformiert (s. 2.10.1). Die Transformanten wurden auf LB-Agar, der mit Ampicillin, X-Gal und IPTG versetzt war, ausplattiert.

Bezeichnung der Genbank	Plasmiden mit Insert	minimale Insertgröße	maximale Insertgröße	$\varnothing$ Insertgröße	Insert-häufigkeit
SI1	5700	1,1 kb	8,5 kb	3,3 kb	63 %
SI2	7600	1,1 kb	7,8 kb	3,7 kb	28 %
SI3	2000	1,8 kb	14,0 kb	6,1 kb	77 %
SI4	7500	1,2 kb	11,1 kb	4,1 kb	76 %
SI5	9000	1,0 kb	6,8 kb	3,8 kb	68 %
Gesamtzahl der Klone: 31800			Gesamtinsertgröße: 124080 kb		

Insgesamt wurden ca. 32000 Plasmide mit Insert gewonnen. Das entspricht ca. 124 Mb klonierter DNA. Die durchschnittliche Insertgröße der Klone aller Teilgenbanken beträgt 3,9 kb. Die Insertgrößen liegen zwischen 1,0 und 14,0 kb.

3.2.2.2 Herstellung einer Cosmid-Genbank

Die Verwendung von Cosmiden zur Erstellung einer Genbank hat gegenüber den Plasmiden den Vorteil, dass große DNA-Abschnitte kloniert werden können. Damit besteht die Möglichkeit, die Genbank nach Enzymen oder Aktivitäten zu durchsuchen, die in großen Genclustern organisiert vorliegen. Außerdem stehen für Sequenzierungsprojekte wie diesem große (funktionell) zusammenhängende DNA-Fragmente zur Verfügung, die einen gewissen Einblick in die Aktivitäten des unbekannten Ursprungsorganismus gewähren. Der in dieser Arbeit verwendete Cosmid-Vektor superCosI (Abbildung 6) trägt Gene zur Ausbildung einer zweifachen Antibiotikaresistenz gegen Ampicillin (Amp^R) und Neomycin (Neo^R), wodurch eine Selektion der Cosmide ermöglicht wird. Außerdem besitzt der Vektor eine doppelte Kopie des Cos-Elementes des Bakteriophagen Lambda.

Abbildung 6: Der Cosmid-Vektor SuperCos1 (Fa. Stratagene, EVANS et al., 1989)

Dieses wird zur Verpackung concatemerer DNA in Phagenköpfe benötigt. Die doppelte Kopienzahl dieses Elementes soll die Klonierungseffizienz dadurch erhöhen, dass beim Ausschneiden eines der Cos-Elemente zwei unterschiedliche Vektorenden generiert werden. Damit sinkt die Anzahl an Kolonien, die sich aufgrund der Verpackung von concatemerer Vektor-DNA ohne klonierte Umwelt-DNA bilden (WENZEL und

HERMANN, 1996). Bei der Vektorpräparation wird zunächst der Vektor mit dem Restriktionsenzym *Xba*I linearisiert und mit alkalischer Phosphatase dephosphoryliert. Nach Reinigung der DNA mit dem „PCR Purification Kit“ (Fa. Qiagen, s. 2.5.3.7) erfolgte eine zweite Spaltung mit dem Enzym *Bam*HI, eine weitere Dephosphorylierung und eine weitere Reinigung. Der präparierte Cosmid-Vektor konnte dann mit der Leinesediment-DNA ligiert werden. Der superCosI-Vektor hat eine Klonierungskapazität von 31 bis 48 kb, das heißt, dass nur Cosmide mit solchen Insertgrößen erfolgreich verpackt werden. Deshalb wurden in den Ligationen solche Fraktionen aus der Saccharose-Dichtegradientenzentrifugation eingesetzt, die mindestens 10 kb-große DNA-Fragmente beinhalteten. Die Verpackungsreaktion und Transduktion erfolgte mit dem in vitro-Verpackungsextrakt Gigapack® III XL (s. 2.11.3). Mit dieser Methode konnten 400 cosmidtragende *E. coli*-Klone gewonnen werden. Bei der Sequenzierung einzelner Cosmide konnten Insertgrößen zwischen 33732 bp und 44530 bp festgestellt werden (s. 3.4.1). Die Insertgrößen liegen damit in der Größenordnung der Klonierungskapazität. Die rekombinanten Klone wurden zur Konservierung in Mikrotiterplatten gepickt und bei – 70 °C gelagert.

3.3 Analyse der phylogenetischen Diversität mittels 16S rRNA-Genanalyse

Die Untersuchung der phylogenetischen Diversität des Leinesedimentes erfolgte durch die Amplifikation von 16S rRNA-Genen mittels PCR (s. 2.10.1) und anschließender Sequenzierung (s. 2.12.1). Als Template wurde die direkt aus dem Boden extrahierte DNA eingesetzt (s. 2.6.1). In 4 verschiedenen PCR-Reaktionen fanden 3 verschiedene Oligonukleotidpaare Verwendung, von denen laut Literaturangaben die Oligonukleotidpaare A1530R und A800F (ITOH et al., 2003; KOLGONOVA et al., 2002) und 23FPL und 927R (DEES und GHIORSE, 2001) gegen archaeelle und das Oligonukleotidpaar 16S08 und 16S1504 (MUYZER et al., 1992) gegen bakterielle 16S rRNA-Gene gerichtet waren. Die Nummerierung bezieht sich dabei auf die entsprechende Position des 16S rRNA-Gens bei *E. coli*. Bei der PCR können bei einer unvollständigen Strangsynthese während der Elongation artifizielle PCR-Produkte entstehen, die aus der rDNA zweier Organismen zusammengesetzt sind (WANG und WANG, 1996). Auch fragmentierte Template-DNA fördert die Entstehung solcher

Artefakte (LIESACK et al., 1991; PÄÄBO et al., 1990). Um diesem Problem zu begegnen, wurden stark verlängerte Elongationszeiten gewählt. Die Kettenverlängerung der vollständigen bakteriellen 16S rRNA-Gene (ca. 1500 bp) erfolgte für 4 Minuten, die der 900 bp-langen archaeellen 16S rRNA-Gen-Fragmente für 2 Minuten bzw. die der 730 bp umfassenden Gen-Fragmente für 1,5 Minuten. Bei einer Syntheseleistung der *Taq*-DNA-Polymerase von 2 bis 4 kb pro Minute entspricht dies einer 2- bis 5-fach verlängerten Elongationszeit. Zusätzlich wurde die eingesetzte Template-DNA vor der PCR durch eine Agarose-Gelelektrophorese (s. 2.7.1) auf das Vorliegen hochmolekularer DNA kontrolliert. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden aus einem Agarosegel ausgeschnitten, extrahiert (s. 2.5.3.6) und anschließend in den pCR2.1-TOPO-Vektor kloniert. Die Ansätze wurden in *E. coli* TOP10-Zellen transformiert und auf LB-Medium mit Ampicillin, IPTG und X-Gal ausplattiert. 25 weiße Kolonien wurden in LB-Medium mit Ampicillin angezogen, die Plasmide präpariert und mit *Eco*RI geschnitten. Enthielten mehr als 70 % der Plasmide ein Insert mit der erwarteten Größe, wurden von 960 Klonen des Transformationsansatzes Stammkulturen in Mikrotiterplatten angelegt (s. 2.3.3). Pro PCR-Ansatz wurde eine Mikrotiter-Platte zum Beimpfen eines „Flat-Bottom-Blocks“ für eine robotgesteuerte Plasmidpräparation (2.6.3.5) herangezogen. Die präparierten Plasmide wurden dann in einer Sequenzreaktion (s. 2.12.1) eingesetzt. Die Sequenzierung erfolgte mit den Standardoligonukleotiden rev und for (s. Tabelle 3) mit dem „ABI DNA Sequencer 377“. Es folgten das „Basecalling“ der Rohdaten mit dem Programm „Phred“ (s. 2.13.1), die Prozessierung der von „Phred“ generierten Daten mit dem Programm „Pregap4“ (s. 2.13.1.1) und die Bearbeitung der Sequenzen in dem Programm „Gap4“ (s. 2.13.1.2). Konnten die „forward“- und „reverse“-Sequenzläufe nicht zu einer Gesamtsequenz zusammengesetzt werden, wurde durch eine erneute Sequenzreaktion mit dem Oligonukleotid 16S513 (s. Tabelle 3) die bestehende Sequenzlücke geschlossen. Sequenzbereiche mit schlechter Qualität wurden durch wiederholte Sequenzierungen verbessert. Wie der Tabelle 8 entnommen werden kann, wurden mit den Oligonukleotiden, die gegen bakterielle 16S rRNA-Gene gerichtet sind, 35 (PCR 1) bzw. 55 (PCR 2) 16S rRNA-Gene sequenziert (Nummerierung der PCR-Reaktionen s. Tabelle 8). Aus der PCR mit den gegen archaeelle 16S rRNA-Gene gerichteten Oligonukleotiden 23FPL und 927R (PCR 3) gingen 57 bzw. mit den Oligonukleotiden A800F und A1530R (PCR 4) 60 Sequenzen hervor. Die vollständigen Sequenzen wurden anschließend mit den Programmen „CHIMERA_CHECK version 2.7“ des

„Ribosomal Database Project“ (RDP; LARSEN et al., 1993) und dem Programm „Bellerophon chimera detection programm“ auf das Vorhandensein von Chimeren überprüft (s. 2.15.3). Es ergaben sich folgende in Tabelle 8 dargestellten Ergebnisse:

Tabelle 8: Überblick über die generierten 16S rRNA-Gensequenzen und die Häufigkeit von Chimeren

PCR-Reaktion	Bezeichnung der Sequenzen	Oligonukleotidpaar	Sequenzierte 16 S rRNA-Gene	Anzahl chimerer Sequenzen	Prozentualer Anteil chimerer Sequenzen
PCR 1	sl11xx bzw. sl12xx	16S08+16S1504	35	8	22 %
PCR 2	sl13xx	16S08+16S1504	55	11	20 %
PCR 3	sl31xx	23FPL+927R	57	3	5 %
PCR 4	sl32xx	A800F+A1530R	60	3	5 %

xx = Klonnummer

Die Untersuchung der in der PCR 1 generierten Sequenzen ergab eine starke Häufung von chimeren Sequenzen, deren einer Teil 100 % Identität zu *E. coli* zeigte. In diesem Fall muss davon ausgegangen werden, dass hier eine Kontamination des PCR-Ansatzes mit *E. coli* (-DNA) vorlag. Diese Sequenzen wurden trotzdem zur phylogenetischen Charakterisierung des Leinesedimentes herangezogen, da der Rest der Sequenzen eindeutig einem anderen Organismus zugeordnet werden konnte. Diese Sequenzen weichen deshalb von der erwarteten Länge von ca. 1500 bp ab. HUGENHOLTZ und HUBER (2003) raten bei Chimeren dazu, sie entweder gar nicht in öffentliche Datenbanken zu integrieren oder aber als 2 getrennte Fragmente einzuführen. Insofern ist ein solches Vorgehen durchaus zu rechtfertigen, da in diesem Fall eine klare Grenze zwischen dem Teil, der auf *E. coli*-DNA zurückzuführen ist, und dem Teil, der anhand der DNA anderer Organismen amplifiziert wurde, vorliegt. In anderen Fällen, besonders bei Chimeren aus Sequenzen nah verwandter Organismen, ist dies nur noch schwer möglich. Im Folgenden sind auch die Chimere in die Tabellen und Stammbäume aufgenommen, die eine Entscheidung bezüglich der Schnittstelle zwischen den Sequenzen erlaubten. Sie werden durch einen Stern (*) gekennzeichnet. Wie aus der Tabelle 8 entnommen werden kann, entstanden besonders viele Chimere bei der Amplifikation mit dem Oligonukleotidpaar 16S08/16S1504.

Die chimerbereinigten Sequenzen wurden nun mit den Datenbanken von NCBI und RDP (LARSEN et al., 1993) verglichen. Jede Sequenz wurde anschließend mit den

ähnlichsten Sequenzen der beiden Datenbanken mit dem Programm „ClustalW“ verglichen, um die Identität der Sequenzen über ihre Gesamtlänge zu erhalten. In der Tabelle 9 ist zu jeder Sequenz die ähnlichste Sequenz aus beiden Datenbanken wiedergegeben, dabei wurden nur Sequenzen berücksichtigt, die mehr als 400 bp umfassen. Außerdem wurde soweit vorhanden zu jeder Datenbank-Sequenz der Standort, aus dem sie amplifiziert wurde, und die phylogenetische Klassifizierung vermerkt.

Tabelle 9: Phylogenetische Einordnung der 16S rRNA-Gensequenzen des Leinesedimentes anhand ihrer nächsten Verwandten aus den Datenbanken von NCBI und RDP

In der Tabelle werden folgende Abkürzungen und Formulierungen verwendet:

Rotsee = Sediment des Rotsees, Schweiz; **Valkea Kotinen** = Oberflächenwasser aus finnischen Waldsee Valkea Kotinen; **DCP** = Dichlorpropan dechlorierende Mischkultur; **TCB** = anaerobes Trichlorbenzen umsetzendes mikrobielles Konsortium; **KWL** = Wasserrohrsystem, kontaminiert mit Kohlenwasserstoffen und chlorierten Lösungsmitteln;

Klone, bei denen in der Klassifikationsspalte „unklassifiziert“ steht, sind überhaupt nicht klassifiziert. Sie wurden entsprechend der Anordnung in den Stammbäumen in die Tabelle übernommen. Bei Klonen, bei denen die Bezeichnung „nicht genauer klassifiziert“ auftritt, ist bislang nur eine ungenaue Klassifizierung erfolgt. Solche Sequenzen sind entsprechend der letzten Kategorie in der Tabelle klassifiziert.

Bei 16S rRNA-Gensequenzen, bei denen die nächst verwandte Sequenz in der NCBI und der RDP-Datenbank die gleiche Identität zeigte, sind beide in die Tabelle mit aufgenommen.

I. Archaea

I.I *Methanomicrobia*

I.I.I *Methanosarcinales*

I.I.I.I *Methanosaetaceae*

Sequenzname: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3104	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3109	899	Klon Rot18	Y18091	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3115	896	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3116	899	Klon S15-8	AJ236489	<i>Methanosaeta</i>	Anaerober Reisfeldboden	96
3125	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3128	899	Klon Rot18	Y18091	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3130	901	<i>Methanosaeta</i> unkultiviertes Archeon WCHD3-03	AF050611	<i>Methanosaeta</i>	KWL	97
3131	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3132	898	<i>Methanosaeta concilii</i> Stamm VeAc9	Y15402	<i>Methanosaeta</i>	Organismus	99
3134	899	<i>Methanosaeta concilii</i> Stamm Opfikon	X51423	<i>Methanosaeta</i>	Organismus	89
3137	899	Klon Rot16	Y18090	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	99
3142	899	Klon Rot16	Y18090	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3143	899	<i>Methanosaeta concilii</i> Stamm Opfikon	X51423	<i>Methanosaeta</i>	Organismus	92

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3144	899	Klon Rot25	Y18094	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	97
3146	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	97
3151	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3153	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3155	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3158	899	Klon Rot18	Y18091	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3166	99	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	97
3170	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3171	889	Klon Rot18	Y18091	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	96
3172	899	Klon Rot16	Y18090	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	97
3174	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3176	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3180	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	98
3181	899	Klon Rot11	Y18087	<i>Methanosaeta</i>	Rotsee	97
3187	899	Unkultiviertes Archaeon S15-8	AJ236489	Umweltprobe	Boden	99
3189	900	<i>Methanosaeta</i> sp. Klon A1	AJ133791	<i>Methanosaeta</i>	Keine Angabe	83
3194	677	<i>Methanosaeta</i> unkultiviertes Archeon WCHD3-03	AF050611	<i>Methanosaeta</i>	KWL	92

I.I.I.II *Methanosacrinaceae*

3106	791	<i>Methanomethylovorans</i> <i>hollandica</i> DMS1	AF120163	Methanomethylovorans	Süßwasser-Sediment	88
3113	900	Klon S30-19	AJ236528	<i>Methanomethylovorans</i>	Anaerober Reisfeldboden	86
3114*	510	Unkultiviertes „Green Bay“ Archaeon	AF293017	Unklassifiziert	Süßwasser	
3118	902	<i>Methanosarcina</i> sp. Stamm VeA23	Y15400	<i>Methanosarcina</i>	Anaerober Reisfeldboden	98
3138	902	Klon 2MT7	AF015991	Nicht genauer klassifiziert	Küstensalzmarsch	90

I.I.II *Methanomicrobiales*

I.I.I.II MCU. *Bourgense*-Untergruppe

3110	896	Klon Rot7	Y18085	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	99
3117	896	Klon Rot7	Y18085	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	99
3119	897	Klon VAL1	AJ131263	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	96
3122	896	Klon Rot24	Y18093	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	94
3127	897	Klon Val9	AJ131273	Nicht genauer klassifiziert	Valkea Kotinen	97
		Klon Rot26	Y18095	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	
3135	898	Klon VAL9	AJ131273	Nicht genauer klassifiziert	Valkea Kotinen	97
3141*	631	Klon VAL47	AJ131268	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	93
3145	896	Klon VAL1	AJ131263	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	98
		Klon Rot26	Y18095		Rotsee	
3148	849	Klon Rot26	Y18095	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	97
3152	897	Klon VAL9	AJ131273	Nicht genauer klassifiziert	Valkea Kotinen	97
3157	894	Klon Rot7	Y18085	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	98

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3162	896	Klon VAL47	AJ131268	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	98
3163	895	Klon Rot26	Y18095	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	97
3164	898	Klon ABS22	Y15397	Nicht genauer klassifiziert	Anaerober Reisfeldboden	98
3165	896	Klon ABS20 Klon Rot7	Y15395 Y18085	Nicht genauer klassifiziert Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	98
3169	899	Klon VAL9	AJ131273	Nicht genauer klassifiziert	Valkea Kotinen	97
3173*	577	Klon VAL9	AJ131273	Nicht genauer klassifiziert	Valkea Kotinen	89
3177	892	Klon Rot7	Y18085	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	97
3178	896	Klon Rot6	Y18084	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	98
3179	896	Klon Rot7	Y18085	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	97
3182	866	Unkultiviertes Archeon 'Soyang 1Af-1100Ar'	AF056360	Nicht genauer klassifiziert	Sediment, Süßwassersee, Südkorea	97
3186	897	Methanogenes Archaeon NOBI-1	AB162774	Nicht genauer klassifiziert	Anaerober Schlamm	93
3192	885	Klon Rot26	Y18095	Nicht genauer klassifiziert	Rotsee	97
3193	895	Klon VAL1	AJ131263	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	97

I.II *Thermoplasmales* und Verwandte

3139	899	Unkultiviertes Euryarchaeot VAL147	AJ131275	Unklassifiziert	Valkea Kotinen	94
------	-----	---------------------------------------	----------	-----------------	----------------	----

II Bacteria

II.I *Proteobacteria*

II.I.I α -*Proteobacteria*

II.I.I.I *Rhizobiales*

1106	671	<i>Rhizobium</i> sp. NK-4	AF511498	<i>Rhizobiaceae</i> ; <i>Rhizobium/Agrobacterium</i> Gruppe; <i>Rhizobium</i>	Keine Angabe	99
3207	739	<i>Hyphomicrobium zavarzinii</i> Stamm ZV-622	Y14305	<i>Hyphomicrobiaceae</i> ; <i>Hyphomicrobium</i>	Keine Angabe	93
3209	716	Unbenannter Organismus	AJ001345	<i>Brucellaceae</i>	Boden	98
3233	738	<i>Methylobacterium</i> <i>fujisawaense</i> Stamm DSM 5686	AJ250801	<i>Methylobacteriaceae</i> ; <i>Methylobacterium</i>	Boden	94
3247	595	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	D14500	<i>Rhizobiaceae</i> ; <i>Rhizobium/Agrobacterium</i> Gruppe; <i>Rhizobium</i>	Boden	100
3249	739	<i>Hyphomicrobium zavarzinii</i> Stamm ZV-622	Y14305	<i>Hyphomicrobiaceae</i> ; <i>Hyphomicrobium</i>	Keine Angabe	93
3257	736	<i>Pedomicrobium manganicum</i>	X97691	<i>Hyphomicrobiaceae</i> ; <i>Pedomicrobium</i>	Keine Angabe	94
3265	742	<i>Mesorhizobium tianshanense</i>	AF041447	<i>Phyllobacteriaceae</i> ; <i>Mesorhizobium</i>	Keine Angabe	97
3274	741	<i>Mesorhizobium mediterraneum</i> Stamm PECA20	AY195844	<i>Phyllobacteriaceae</i> ; <i>Mesorhizobium</i>	Boden	87
3294*	742	<i>Sinorhizobium meliloti</i> Stamm LMTR32	AY196963	<i>Rhizobiaceae</i> ; <i>Sinorhizobium/Ensifer</i> Gruppe; <i>Sinorhizobium</i>	Boden	97

II.I.I.II *Sphingomonadales*

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
1176	559	<i>Sphingomonas</i> sp. SaS2	AJ620194	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Satower See, Deutschland	96
3212	743	<i>Sphingomonas</i> sp. SA-3	AF327069	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Keine Angabe	92
3236	730	<i>Sphingomonas</i> sp. B18	AF410927	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Plussee, Deutschland	97
3237	689	Unidentifiziertes Bakterium	Z93995	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Novosphingobium</i>	Belebtschlamm	97
3238	741	<i>Sphingomonas asaccharolytica</i>	Y09639	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Keine Angabe	96
3248	744	<i>Novosphingobium</i> sp. TUT562	AB177883	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Novosphingobium</i>	Boden	95
3251	744	<i>Novosphingobium</i> sp. TUT562	AB177883	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Novosphingobium</i>	Keine Angabe	95
3258		<i>Sphingomonas</i> sp. B18	AF410927	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Plussee, Holstein	98
3268	740	<i>Novosphingobium</i> sp. K16	AJ000920	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Novosphingobium</i>	Grundwasser	93
3279	744	<i>Sphingomonas</i> sp. K101	AJ009706	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Grundwasser	95
3280	742	<i>Sphingomonas</i> sp. B18	AF410927	<i>Sphingomonadaceae</i> ; <i>Sphingomonas</i>	Plusee, Holstein	99

II.I.I.III *Caulobacterales*

3210	718	<i>Brevundimonas</i> sp. FWC04	AJ227793	<i>Caulobacteraceae</i> ; <i>Brevundimonas</i>	Keine Angabe	97
3262	718	<i>Brevundimonas</i> sp. Stamm FWC04	AJ227793	<i>Caulobacteraceae</i> ; <i>Brevundimonas</i>	Satower See, Deutschland	97

II.I.I.IV *Rhodobacterales*

3253	720	Unidentifiziertes Bakterium	AJ224988	Umweltprobe	Gossenkoellesee, Österreich	98
3275	722	<i>Rhodobacter</i> sp. TCRI 14	AB017799	<i>Rhodobacteraceae</i> ; <i>Rhodobacter</i>	Keine Angabe	94
3281	721	Unkultiviertes Schlamm Bakterium A26	AF234745	Unklassifiziert	Belebtschlamm	97

II.I.I.V Weitere α -Proteobacteria

1312	832	Alpha- Proteobakterium Shinshu-th1	AB121772	Nicht genauer klassifiziert	Boden	96
1317	1480	Klon LBS14 <i>Cytophaga</i> sp. arc18	AJ232817 CSU76098	Unklassifiziert <i>Cytophaga</i>	Keine Angabe	96 94

II.I.II *β-Proteobacteria*II.I.II.I *Rhodocyclales*II.I.II.I.I *Rhodocyclaceae*

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
1117	1499	Unidentifiziertes Belebtschlamm- Bakterium CL10	U45697	<i>Azoarcus</i>	Belebtschlamm	94
1128	647	<i>Thauera sp.</i> mz1t	AF110005	<i>Thaurea</i>	Belebtschlamm	97
1351	1487	Bakterium H15	AY345557	Unklassifiziert	Archipel (Hawaii)	97
		Zoogloea unkultiviertes Proteobakterium OCS7	AF001645	<i>Zoogloea</i>	Bakterioplankton	97
1345	1263	<i>Azoarcus toluclasticus</i> Stamm MF63	AF123077	<i>Azoarcus</i>	Keine Angabe	91
		<i>Azoarcus indigens</i> Stamm VB32 LMG 9092 (T)				93

II.I.II.II Weitere *β-Proteobacteria*

1143	768	Unidentifiziertes Beta- Proteobakterium	AJ231067	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	91
1288	1488	<i>Comamonadaceae</i> Bakterium MWH55	AJ556799	<i>Burkholderiales</i> ; <i>Comamonadaceae</i>	Lanker See, Deutschland	98
1289	1493	Unkultiviertes Beta- Proteobakterium, Klon JG36-GS-54.	AJ582038	Umweltprobe	Keine Angabe	95
1302	1493	<i>Methylophilus arc33</i>	U76100	<i>Methylophilales</i> ; <i>Methylophilaceae</i> ; <i>Methylophilus</i> ; Umweltprobe	Keine Angabe	94
1313	1493	Klon OPS92B	AF026986	Umweltprobe	Keine Angabe	95
1335	1495	Antarktisches Bakterium R- 7724	AJ440986	Unklassifiziert	Antarktischen Seen	97
1339	1498	Unkultiviertes Beta- Proteobakterium Klon Elb168	AJ421928	Nicht genauer klassifiziert	Elbe	97
1354	1491	Klon env_18	Z97856	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	97
1367a	1040	<i>Nitrosospira sp.</i> Nsp57	AY123791	<i>Nitrosomonadales</i> ; <i>Nitrosomonadaceae</i> ; <i>Nitrosospira</i>	Keine Angabe	99

II.I.III *γ-Proteobacteria*II.I.III.I *Xanthomodales*II.I.III.I.I *Xanthomonadaceae*

1108*	957	Unidentifiziertes Eubakterium Klon vadinHA77	U81732	Unklassifiziert	Anaerober Fermenter	96
1118	1482	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Stamm LMG 957	AJ131114	<i>Stenotrophomonas</i>	Keine Angabe	99
1174*	785	<i>Xanthomonas axonopodis</i> Stamm S53	AB101447	<i>Xanthomonas</i>	Belebtschlamm	94

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
1178	675	<i>Xanthomonas axonopodis</i> Stamm S54	AB101446	<i>Xanthomonas</i>	Belebtschlamm	94
1316	1503	Grasland- Boden- Klon sl3_616	AF07842	Unklassifiziert	Boden	97
1336*	1188	<i>Xanthomonas sp.</i>	U64004	<i>Xanthomonas</i>	Meer	96
1340	1504	Grasland- Boden Klon sl1_216	AF078353	Nicht genauer klassifiziert	Boden	94
1344	1503	Bakterium SG-3		Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	94
1380*	1211	Bakterium aus Anreicherungskultur LB-P	AF538773	Unklassifiziert	Bioreaktor der Abwassereinigung	95

II.I.III.II *Pseudomonadales*

1121		Bakterium aus dem Eis des artischen Meeres ARK10038	AF468388	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Arktischer Schmelzwassersee	95
1131*	882	Klon TBS23 <i>Pseudomonas sp.</i> AEBL3	AJ006009 AY247063	unklassifiziert <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Boden Keine Angabe	99
1165b *	463	<i>Cellvibrio fulvus</i> NCIMB 8634	AF448514	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Cellvibrio</i>	Keine Angabe	100
1364b *	750	<i>Cellvibrio vulgaris</i> NCIMB 8633	AF448513	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Cellvibrio</i>	Keine Angabe	99
1376	1497	Grasland- Boden- Klon sl3_611	AF078418	Nicht genauer klassifiziert	Boden	100
1377	1040	Unidentifiziertes Gamma- Proteobakterium, Isolat HTA527	AB002657	Unklassifizierte Umweltprobe	Tiefseesediment	98
1392*	1011	<i>Pseudomonas mandelii</i>	AF058286	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Mineralwasser	92
1393*	1091	<i>Pseudomonas putida</i> Stamm MM1	AY623928	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Bakterioplankton	99
3202		Stamm DhA-51 <i>Pseudomonas fluorescens</i> Stamm PC20	AJ011507 AY538264	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Resin-Säure Keine Angabe	99
3273	741	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Stamm PC17	AY538263	<i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>	Flusswasser	99

II.I.III.III Weitere γ -*Proteobacteria*

1124*	478	unidentifiziertes Gammaproteobakterium, Stamm BD5-16	AB015571	Umweltprobe	Tiefseesediment	92
1167*	653	Unkultiviertes Gamma- Proteobakterium Klon CRE- PA78	AF141546	Nicht genauer klassifiziert	“Columbia River”, USA	94
1187*	1149	unkultiviertes Eubakterium, Klon WD2124	AJ292676	Unklassifiziert	Boden	94
1293a *	616	Unkultiviertes Gamma- Proteobakterium Klon Nubeena46	AY499920	Umweltprobe	Meer	96
1337*	1002	<i>Shewanella</i> ML-S2 Stamm ML-S2	AF140016	Alteromonadales; Alteromonadaceae; <i>Shewanella</i>	Keine Angabe	99
1362	1515	Unkultiviertes Gamma- Proteobakterium Sva0318	AJ240989	Umweltprobe	Dauerkaltes marines Sediment	97

II.I.IV δ -Proteobacteria

II.I.IV.I Desulfomondales

Sequenzname: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
1263*	616	<i>Pelobacter propionicus</i>	X70954	<i>Pelobacteraceae; Pelobacter</i>	Keine Angabe	88
1361	1513	Unidentifiziertes Sulfat- reduzierendes Bakterium <i>Geobacter bremensis</i>	U49429 U96917	<i>Geobacteraceae; Geobacter</i>	Keine Angabe	96
1364a *	763	<i>Geobacter arculus</i> Stamm Dfr1 Unkultiviertes Bakterium Klon SJA-111	U96917 AJ009485	Umweltprobe	TCB	91

II.I.IV.II Weitere δ -Proteobacteria

1127	1504	Unkultiviertes Sulfat- reduzierendes Bakterium 141	AJ389624	Umweltprobe	Cadagno-See, Schweiz	97
1147	1503	<i>Desulfobacterium</i> <i>catecholicum</i> Stamm DSM 3882	AJ237602	<i>Desulfobacteriales;</i> <i>Desulfobacteraceae;</i> <i>Desulfobacterium</i>	„Delaware Bay”, Neuseeland	99
1177	883	Unkultiviertes Bakterium ODP8-U3	AF121085	Unklassifiziert	Marines Sediment	95
1283	462	<i>Syntrophobacter sp.</i>	AJ237605	<i>Syntrophobacteriales;</i> <i>Syntrophobacteraceae;</i> <i>Syntrophobacter</i>	Keine Angabe	88
1310	1517	Sulfat-reduzierendes Bakterium STP23	AJ006620	Unklassifiziert	Seesediment	96

II.II BCF-Gruppe

II.II.I Sphingobacteria

1152	1487	Unidentifiziertes Eubakterium	AF010082	Unklassifiziert	Boden	99
1158	1484	Unidentifiziertes Bakterium	AB011315	Unklassifiziert	Mesophile and thermophile Schlämme	91
1224	437	Rhizosphären Bodenbakterium Klon RSC-II-44	AJ252683	Unklassifiziert	Boden	97
1269	688	<i>Flexibacter sancti</i> Stamm IFO 15057	AB078066	<i>Sphingobacteria;</i> <i>Sphingobacteriales;</i> <i>Flexibacteraceae; Flexibacter</i>	Keine Angabe	93
1307	1484	Bakterium CS57	AY124340	<i>Bacteroidetes; Sphingobacteria;</i> <i>Sphingobacteriales</i>	Antarktische “Cryoconit”- Höhle	92
1309	1488	Bodenbakterium SC-I-12	AJ252615	Unklassifiziert	Boden	97
1347*	613	Unkultiviertes <i>Bacteroidetes</i> Klon Blhii16	AJ318142	<i>Bacteroidetes</i> ; unklassifizierte Umweltprobe	Industrieabgas-Biofilter	94
1348b *	613	Unkultiviertes <i>Bacteroidetes</i> Klon Blhii16	AJ318142	<i>Bacteroidetes</i> ; unklassifizierte Umweltprobe	Industrieabgas- Biofilter	94
1369*	1487	Unkultiviertes Bakterium FukuS59	AJ290042	<i>Bacteroidetes</i> ; Unklassifizierte Umweltprobe	Fuchskuhle-See, Deutschland	91
1390	1474	Unkultivierter Bakterien Klon TLM11/TLMdgge04	AF534435	Unklassifiziert	Arktischer See	98

II.II.II *Flavobacteria*

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
1126	1474	unkultiviertes Bakterium BAx3	AF087084	Umweltprobe	Belebtschlamm	97
1151	1490	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	M62798	<i>Flavobacteria; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium</i>	Keine Angabe	91
1305	1471	Klon BA9	AF087051	Nicht genauer klassifiziert	Belebtschlamm	97
1320	1474	Klon LBS24	AJ232834	Nicht genauer klassifiziert	Boden	96
1325/ 1326	1474	Klon BA9	AF087051	Nicht genauer klassifiziert	Belebtschlamm	97
1327	1530	<i>Flavobakterium sp.</i> Wuba46	AF336355	<i>Flavobacteria; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium</i>	Wasserrohrsystem	98
1331	1474	Klon LBS24	AJ232834	Nicht genauer klassifiziert	Boden	95
1350	1487	<i>Flavobacterium ferrugineum</i>	M62798	<i>Flavobacteria; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae; Flavobacterium</i>	Keine Angabe	93

II.II.III *Bacteroidetes*

1319	1472	Klon TRE23	AJ232807	Nicht genauer klassifiziert	Boden	94
1365	1472	Boden- Bakterium Klon SC-I-93	AJ252668	unklassifiziert	Boden	98
1378	1022	Klon B-AQ60	AY622255	Nicht genauer klassifiziert t	Marines Sediment	96
1389	1305	Unidentifiziertes Eubakterium Unidentifiziertes Eubakterium	AF010099 AF010099	Nicht genauer klassifiziert	Boden Boden	96

II.III *Planctomycetes*II.III.I *Planctomycetacia*II.III.I.I *Planctomycetales*

1379a	998	<i>Pirellula staleyi</i>	M34126	<i>Planctomycetaceae; Pirellula</i>	Keine Angabe	93
3206	745	<i>Planctomyces sp.</i> (Schlesner 269)	X81953	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	92
3211	745	Planctomycet Stamm 555	AJ231178	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	95
3214	743	<i>Pirellula staleyi</i>	M34126	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	95
3227	735	Planctomycet Stamm 555	AJ231178	<i>Planctomycetaceae</i>	Keine Angabe	93
3228	746	<i>Pirellula sp.</i> (Schlesner 302)	X81942	<i>Planctomycetaceae; Pirellula</i>	Keine Angabe	92
3239	750	<i>Gemmata obscuriglobus</i> (Schlesner 633)	X81957	<i>Planctomycetaceae; Gemmata</i>	Keine Angabe	86
3241	746	<i>Pirellula sp.</i> (Schlesner 302)	X81942	<i>Planctomycetaceae; Pirellula</i>	Keine Angabe	92
3242	748	<i>Planctomyces sp.</i> (Schlesner 642)	X81950	<i>Planctomycetaceae; Planctomyces</i>	Keine Angabe	94
3261	753	clone OM190	U70712	Umweltprobe	Marines Pikoplankton	88
3270	746	<i>Planctomyces sp.</i> (Schlesner 269)	X81953	<i>Planctomycetaceae; Planctomyces</i>	Keine Angabe	91
3283	744	<i>Planctomyces sp.</i> (Schlesner 658)	X81954	<i>Planctomycetaceae; Planctomyces</i>	Keine Angabe	95

Sequenzname: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3286	754	Unidentifizierter Planctomycet OM190	U70712	Umweltprobe	Marines Plankton	93
3289	744	<i>Pirellula</i> sp. (Schlesner 302)	X81942	<i>Planctomycetaceae</i> ; <i>Pirellula</i>	Keine Angabe	92
3292	747	<i>Planctomyces</i> sp. (Schlesner 269)	X81953	<i>Planctomycetaceae</i> ; <i>Planctomyces</i>	Keine Angabe	90

II.IV *Acidobacteria*

1109	1517	Klon RB30	Z95720	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	97
1164	726	clone ii3-7	Z95727	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	92
1171	1517	Unkultiviertes Holophaga/Acidobakterium Sva0515	AJ241004	Nicht genauer klassifiziert	Marines Sediment	86
1385*	1511	Klon ii3-36	Z95726	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	96
3217	739	Klon ii3-7	Z95727	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	95
3226	742	Klon ii3-36	Z95726	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	95
3263	748	Klon kb2426	Z95732	Nicht genauer klassifiziert	Keine Angabe	85

II.IV.I „*Nitrospina*“

1349	1481	Unidentifiziertes Eubakterium aus dem Amazonas	U68644	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Boden	94
1384	1479	Unbenannter Organismus	AF078204	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Boden	96
1149	1479	Grasland- Boden- Klon saf1_208	AF078204	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Keine Angabe	97
1352/ 1355	1493	Klon 2952	AF097775	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Belebtschlamm (Industrie- abwasserreinigung)	95
3222	744	Klon 29523	AF097779	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Belebtschlamm (Industrie- abwasserreinigung)	97
3267	741	Klon RB40	Z95721	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Keine Angabe	98
3269	734	Klon 11-25	Z95709	<i>Nitrospina</i> -Subdivision; Umwelt- Klon-Gruppe-S027	Keine Angabe	94

II.V *Chloroflexi*

1185	514	Unkultiviertes Bakterium, Klon SJA-101	AJ009480	Umweltprobe	TCB	85
3223	723	Unkultiviertes Bakterium SJA- 35	AJ009460	Umweltprobe	TCB	90
1330	1451	Unkultiviertes Bakterium SJA- 101	AJ009480	Umweltprobe	TCB	85
3232		Unkultiviertes Bakterium SJA- 101	AJ009480	Umweltprobe	TCB	87
3235	730	Unkultiviertes Bakterium SJA- 35	A009460	Umweltprobe	TCB	91
3246*	637	Unkultivierter Klon SHA-31	AJ306745	Unklassifiziert	DCP	90

Sequenzname: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3255	729	Unkultiviertes Bakterium SJA-101	AJ009480	Umweltprobe	TCB	87
3277*	609	Unkultiviertes Bakterium SJA-68	AJ009475	Umweltprobe	TCB	90
3296*	608	Unkultiviertes Bakterium Klon SHA-31	AJ306745	Unklassifiziert	DCP	91

II.VI *Nitrospirae*

II.VI.I *Nitrospirales*

1193	1253	Klon 1405-19	AJ007652	Unklassifiziert	Baikalsee, Sibirien	98
1342	1473	<i>Nitrospira marina</i>	X82559	<i>Nitrospiraceae; Nitrospira</i>	Keine Angabe	98
1367b *	454	Boden- Bakterium SC-I-12	AJ252615	Unklassifiziert	Boden	97
1395	552	<i>Nitrospira sp.</i> Klon b30	AJ224041	<i>Nitrospiraceae; Nitrospira</i>	Keine Angabe	96

II.VII *Firmicutes*

II.VII.I *Clostridia*

II.VII.I.I *Clostridiales*

1322	1470	<i>Clostridium sp.</i> 9B4	AY554416	<i>Clostridiaceae; Clostridium</i>	Keine Angabe	96
3205	740	<i>Anaerobacter polyendosporus</i>	AJ222546	<i>Clostridiaceae; Anaerobacter</i>	Arktischer See	94
3266	740	<i>Fusibacter paucivorans</i>	AF050099	<i>Peptostreptococcaceae; Fusibacter</i>	Ölloch	93

II.VIII *Chlorobi*

1165a *	850	Unkultiviertes Bakterium; Klon SJA-28.	AJ009458	<i>Chlorobi</i> ; Umweltprobe	TCB	84
		Unidentifiziertes Eubakterium	AF010023	unklassifiziert	Boden	87

II.IX Kandidat-Division TM7

1394	1434	Unkultivierter Klon der Kandidat-Division TM7 SM1G12	AF445701	Nicht genauer klassifiziert	Heiße Quelle, "Yellowstone National Park", USA	97
------	------	--	----------	-----------------------------	--	----

II.X *Verrucomicrobia*

3272	737	Unkultiviertes Bakterium FukuN18	AJ289992	Umweltprobe	Fuchskuhle-See, Deutschland	89
------	-----	-------------------------------------	----------	-------------	--------------------------------	----

II.XI Actinobacteria

II.XI.I Actinobacteridae

II.XI.I.I *Actinomycetales*

Se- quenz- name: slxxxx	Länge in bp	Ähnlichste Sequenz aus den Datenbanken von NCBI und RDP	Accession- Nummer der Datenbank- sequenz	Phylogenetische Klassifikation der Datenbanksequenz	Herkunft der Datenbanksequenz	Identität in %
3218	730	<i>Microbispora bispora</i>	U83910	<i>Pseudonocardineae</i> ; <i>Pseudonocardiaceae</i> ; <i>Thermobispora</i>	Keine Angabe	85

Die in den Abbildungen 8 und 10 bis 17 abgebildeten Stammbäume wurden mit dem Programm „TREEFINDER“ (JOBB, 2004) erstellt. Für die Berechnung der Stammbäume wurde von den Sequenzen zunächst mit dem Programm „Phylip“ eine „Distance Matrix“ berechnet, um feststellen zu können, wie viele Basenpositionen in jeder Sequenz für ein gemeinsames „Alignment“ zur Verfügung stehen. In dem Programm „Phylip“ selbst wird darauf verwiesen, dass die erforderlichen „Multi-Alignments“ für die Erstellung zuverlässiger Stammbäume mindestens 400 Basenpositionen enthalten sollten. Aufgrund unterschiedlicher in den PCR-Reaktionen amplifizierter Sequenzbereiche und aufgrund chimärer Sequenzen, deren Sequenzen gekürzt worden sind, mussten zum Erhalt der geforderten 400 Basenpositionen einige Sequenzen aus dem „Alignment“ entfernt werden. Damit enthalten die Stammbäume nicht alle in dieser Arbeit generierten Sequenzen. Die „Multi-Alignments“ wurden mit dem Programm „ClustalW“ erstellt und konnten anschließend mit dem Programm „TREEFINDER“ zu Stammbäumen verrechnet werden. Dabei verwendet das Programm „TREEFINDER“ die „Maximum Likelihood“-Methode. Die Wahrscheinlichkeit der Verzweigungen wurde mittels einer „Bootstrap“-Analyse mit 100-facher Wiederholung überprüft. Dabei wurden die Standard-Einstellungen des Programms verwendet. Nach der „Bootstrap“-Analyse wurden die Stammbäume einem „Rerooting“ unterzogen, bei dem als gemeinsamer entferntester Verwandter („outgroup“) bei den Stammbäumen mit bakteriellen Sequenzen entweder *Bacillus subtilis* oder *Thermotoga maritima* und bei dem Stammbaum mit den archaeellen Sequenzen die Sequenz sl3139 gewählt wurde. In letzterem Fall wurde eine eigene Sequenz gewählt, um diese überhaupt sinnvoll in den Stammbaum integrieren zu können, da sie sonst verwandtschaftlich zu weit entfernt ist.

3.3.1 Ergebnisse der Analyse der archaeellen 16S-rRNA-Gensequenzen

Alle gewonnenen archaeellen 16S rRNA-Gensequenzen zeigen die größte Ähnlichkeit zu Sequenzen von Euryarchaeota. Mit den speziell gegen Crenarchaeota gerichteten Oligonukleotiden A800F und A1530R konnten keine 16S rRNA-Gensequenzen von *Crenarchaeota*, sondern nur bakterielle Sequenzen, amplifiziert werden (s. Tabelle 9). Die größte Identität zu kultivierten Organismen weisen die Sequenzen sl3104, sl3151, sl3153, sl3155, sl3170, sl3174 und sl3176 mit 95 % zu *Methanothrix soehngenii* auf. Eine 98 %ige Identität besteht zwischen den Sequenzen des Klon sl3118 und *Methanosarcina* sp. Str. VeA23. Die meisten anderen Sequenzen zeigen allerdings die größte Identität zu nur durch 16S rRNA-Gensequenzen repräsentierten, unkultivierten Klonen, die ebenfalls aus Süßwasserhabitaten gewonnen wurden. Zu diesen gehören z. B. die 8 verschiedenen Sequenzen (Rot 6, 7, 11, 16, 18, 24, 25, 26) aus dem anaeroben Sediment des **Rotsees** (Schweiz; FALZ et al., 1999) und die 4 verschiedenen Sequenzen (Val 1, 9, 47, 147) aus dem Oberflächenwasser des finnischen Waldsees **Valkea Kotinen** (JURGENS et al., 2000). Dies entspricht ca. 65 bzw. 17 % aller archaeellen 16S rRNA-Gensequenzen dieser Arbeit. Ähnlichkeiten konnten aber auch zu 16S rRNA-Gensequenzen gefunden werden, die aus anaeroben Reisfeldeböden, aus mikrobiellen Mischkulturen, die Trichlorbenzen umsetzen bzw. 1,2-Dichlorpropan dechlorieren können, amplifiziert werden konnten. Sequenzen von unkultivierten Archaeen anderer Standorte sind weniger stark vertreten. 49 der 60 Sequenzen zeigen eine mindestens 95 %ige Identität zu einer Sequenz aus den verwendeten Datenbanken. Untereinander weisen viele Sequenzen dieser Arbeit ebenfalls große Identitäten auf. Allerdings sind nur die Klone sl3177 und sl3179 sowie die Klone sl3151 und sl3174 identisch.

Wie dem Stammbaum in Abbildung 8 und der Tabelle 9 entnommen werden kann, gehören alle Sequenzen der Leinesediment-16S rDNA-Klone dem Phylum der *Euryarchaeota* und der Klasse der *Methanomicrobia* an. Der Klon sl3139 hat die größte Identität zu Vertretern der Ordnung *Thermoplasmatales*. Eine genauere Klassifikation ist nicht möglich. Bei der taxonomischen Einteilungen der *Thermoplasmatales* unterschieden sich die Datenbanken von NCBI und RDP. Bei NCBI gehören sie in die Klasse der *Thermoplasmata*, bei RDP in die Klasse der *Methanomicrobia*. Die in dieser Arbeit durchgeführte „Bootstrap-Analyse“, bei der die Sequenz sl3139 als „outgroup“ gewählt wurde, zeigt, dass diese Sequenz und die nächst verwandte Datenbank-Sequenz

VAL147 nur eine sehr geringe Übereinstimmung zu den übrigen Sequenzen aufweisen. Die übrigen in dieser Arbeit gewonnenen Sequenzen teilen sich in 2 nahezu gleich große Gruppen auf: 35 Sequenzen (58,3 %) lassen sich der Ordnung der *Methanosarcinales* und 24 (40 %) der Ordnung *Methanomicrobiales* zuteilen.

Abbildung 7: Verteilung der archaeellen 16S rRNA-Gensequenzen

Alle Sequenzen, die in die Ordnung *Methanomicrobiales* eingeordnet werden können, bilden ein Cluster mit Sequenzen von 16S rRNA-Genen, die in der RDP-Datenbank einer Gruppe zugeordnet werden, die nach ihrem namengebenden Organismus *Methanococcus bourgensis* Stamm MS2 „MCU-Bourgense-Untergruppe“ genannt wird. Im NCBI-Taxonomy-Browser gibt es diese Gruppe nicht. Die Sequenzen dieses Clusters haben eine Ähnlichkeit von 90 - 98 %. Die Sequenzen, die den *Methanosarcinales* zugeteilt werden, können in 2 - 3 Familien gruppiert werden. Die meisten (50 %) dieser Sequenzen zeigen die größte Ähnlichkeit zu Sequenzen aus der Familie der *Methanosaetaceae*. Vermutlich gehören sie sogar alle dem Genus *Methanosaeta* an. Die Ähnlichkeiten liegen zwischen 91 und 98 %. Die übrigen 5 Klone, deren Sequenzen zu den *Methanosarcinales* gehören, zeigen die größte Ähnlichkeit zu Angehörigen der Familie *Methanosarcinaceae*, der Klon sl3118 kann vermutlich in den Genus *Methanosarcina* gruppiert werden. Die restlichen 5 Sequenzen (sl3106, sl3113, sl3114, sl3138 und sl3189) bilden ein eigenes Cluster. Sie zeigen nur eine recht geringe Ähnlichkeit von 83 - 88 % zu *Methanomethylovorans hollandica* Stämmen (sl3106, sl3113, und sl3189) bzw. zu dem Klon 2MT7 (sl3138; 90 %). Die Ähnlichkeit dieser Klone untereinander beträgt 93 - 98% und ist damit größer als die zum nächsten Verwandten aus den Datenbanken.

Abbildung 8: Phylogenetischer Stammbaum der archaeellen 16S rRNA-Gensequenzen

Mit der aus dem Leinesediment isolierten DNA (s. 2.6.1) wurde mit den Oligonukleotiden 23FPL und 927R eine PCR durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden durch eine Gelextraktion (s. 2.5.3.6) gereinigt und anschließend in den Vektor pCR2.1-TOPO kloniert. Der Ligationsansatz wurde in *E. coli* TOP10 mittels Hitzeschock transformiert (s. 2.11.1). Der Transfomationsansatz wurde auf LB-Medium mit Ampicillin, IPTG und X-Gal ausplattiert. Von 96 Klonen wurde, wie unter 2.6.3.5 beschrieben, eine robotgesteuerte Plasmidpräparation vorgenommen. Die Plasmide wurden in einer Sequenzreaktion (s. 2.12.1) mit den Oligonukleotiden rev und for eingesetzt. Die Sequenzierung fand mit dem „ABI DNA Sequencer 377“ statt. Die Sequenzen wurden mit dem Programm „Gap4“ bearbeitet. Das „Multialignment“ der resultierenden Sequenzen, das mit dem Programm „Phylip“ bei RDP erstellt wurde, enthielt 538 „Alignment“-Positionen. Das „Multialignment“, das der Berechnung des Stammbaumes zugrunde gelegt wurde, wurde mit dem Programm „ClustalW“ berechnet. Die „Bootstrap“-Analyse wurde mit dem Programm „Treefinder“ mit 100-facher Wiederholung mit Standardeinstellungen erstellt. Der Größenmaßstab gibt die Zahl der Substitutionen pro Base an. Nicht enthalten sind in diesem Stammbaum die Sequenzen sl3127 und sl3164.

3.3.2 Ergebnisse der Analyse der bakteriellen 16S-rRNA-Gensequenzen

Die bakteriellen 16S rRNA-Gensequenzen weisen eine größere Diversität auf als die archaeellen. Die Sequenzen können den in Tabelle 10 aufgeführten 14 phylogenetischen Gruppen zugeordnet werden. Sie zeigen in den meisten Fällen deutlich geringere Identitäten zu bereits bekannten Sequenzen als die archaeellen 16S rRNA-Gene (s. Tabelle 9). Auch bei den bakteriellen Sequenzen stammt die nächst verwandte Sequenz meist von unkultivierten Bakterien ab. Nur 80 der 147 Sequenzen sind zu mehr als 95 % identisch zu Datenbanksequenzen, davon zeigen 14 eine Identität von mindestens 99 %. 6 dieser Datenbanksequenzen gehören zu der Familie *Pseudomonadaceae* (sl1377, sl1393, sl3202, sl3273, sl1131, sl1165b und sl1364b), 5 weitere stammen aus anderen kultivierten Organismen. Die Sequenz sl1165b ist zu 100 % identisch mit der von *Cellvibrio fulvus* NCIMB 8634, die Sequenz 1376 zeigt 100 % Identität zu dem Grasland-Boden-Klon sl3_611. Häufig wurden die nächst verwandten Sequenzen aus den Datenbanken ebenfalls aus Süßwasserhabitaten gewonnen. In einigen Fällen aus dem Boden, dem Meer, Belebtschlamm oder anderen Lebensräumen. Die beiden verwendeten Oligonukleotidpaare 16S08/16S1504 und A800F/A1530R zeigten deutliche Unterschiede in ihrer Spezifität. Mit dem ersten Oligonukleotidpaar 16S08/16S1504 wurden beiden PCR-Reaktionen (PCR 1 und PCR 2) vor allem Sequenzen von γ -Proteobakterien amplifiziert. Dabei war der Anteil der Sequenzen mit einem Ursprung aus der *Bacteroides-Cytophaga-Flexibacter*-Gruppe (BCF) deutlich höher im PCR-Ansatz 2. Mit dem Oligonukleotidpaar A800F/A1530R wurden dagegen hauptsächlich Sequenzen der α -Proteobakterien und des Phylums *Planctomycetes* gewonnen. β -Proteobakterien und Angehörige der *Bacteroides-Cytophaga-Flexibacter*-Gruppe konnten mit diesem Oligonukleotidpaar gar nicht bzw.

nur wenig erfasst werden. Insgesamt konnten vor allem Sequenzen von α - und γ -Proteobakterien (18 % bzw. 17 %), von Angehörigen der *Bacteroides-Cytophaga-Flexibacter*-Gruppe (16 %) von *Acidobacteria* (11 %) und von *Planctomycetes* (10 %) amplifiziert werden. 72 % der Sequenzen gehen vermutlich auf Vertreter dieser 5 Gruppen zurück.

Abbildung 9: Verteilung der bakteriellen 16S rRNA-Gensequenzen

Tabelle 10: Zusammenfassung der Klassifizierung der nächst verwandten Sequenzen der bakteriellen 16S rRNA-Gene

PCR	Anzahl der 16S rRNA-Gene	α -Proteobacteria	β -Proteobacteria	γ -Proteobacteria	δ -Proteobacteria	BCF	Planctomycetes	Acidobacteria	Chloroflexi	Nitrospira	Firmicutes	Actinobacteria	Chlorobi	TM7	Verrunculaceae
1	35	2	5	11	5	6	0	0	1	1	0	0	1	0	0
2	55	2	8	12	3	17	1	5	1	3	1	0	0	1	0
3	57	23	0	2	0	0	14	6	7	0	2	1	0	0	1
Σ	147	27	13	25	8	23	15	16	9	4	3	1	1	1	1
%		18	9	17	5	16	10	11	6	3	2	1	1	1	1

In der Abbildung 10 ist der Stammbaum der **α -Proteobakterien** dargestellt. Es wurden Sequenzen aus den 4 Ordnungen *Sphingomonadales*, *Rhizobiales*, *Caulobacteriales* und *Rhodobacteriales* gewonnen. Außerdem zeigte die Sequenz sl1312 eine 96 %ige Identität zu der 16S rRNA-Gensequenz aus dem nicht genauer klassifizierten Klon

Shinshu-th1. Die in die Ordnung *Rhodobacterales* eingeteilten Sequenzen ähneln am stärksten unkultivierten Bakterien, während sie zu *Rhodobacter* sp. TCRI 14 deutlich weniger Ähnlichkeit zeigen. Die geringste Identität zu Datenbanksequenzen hat die Sequenz des Klon s13212 (92 % zu *Sphingomonas* sp. SA-3), die höchste weist die Sequenz s13247 (100 % zu *Agrobacterium tumefaciens*) auf.

Abbildung 10: Phylogenetischer Stammbaum der α -Proteobacteria des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 456 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen s11106, s11312, s13247 und s13274. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Die 16S rRNA-Gensequenzen der **β -Proteobakterien**, die aus dem Leinesediment generiert wurden, können in die Ordnungen *Rhodocyclales*, *Burkholderiales*, *Methylophilales* und *Nitrosomonadales* eingeteilt werden. Auch hier sind, wie aus dem Stammbaum in Abbildung 11 und der Tabelle 9 hervorgeht, die nächsten Verwandten in einigen Fällen Sequenzen von unkultivierten Bakterien, die nicht näher klassifiziert worden sind.

Abbildung 11: Phylogenetischer Stammbaum der β -Proteobacteria des Leinesedimentes

Dem "Multialignment" liegen 413 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1177, sl1128, sl1143, sl1283 und sl1364a, sl1367a, sl1345, und sl13234. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Bei den **δ -Proteobakterien** können in der Abbildung 12 3 Äste unterschieden werden, innerhalb derer aus dem Leinesediment gewonnene Sequenzen vertreten sind. Die Sequenzen sl1310, sl1147 und sl1127 gehören zu den *Desulfobacterales*, die Sequenzen

sl1361 und sl1364a zu den *Desulfomondales*. Die Sequenz sl1263 hat nur eine Identität von 88 % zu der Sequenz von *Pelobacter propionicus*, einem Vertreter der *Desulfomondales*. In dem Stammbaum in der Abbildung 12 bildet er mit der Sequenz des unklassifizierten und unkultivierten Bakteriums ODP8-U3 einen eigenen Ast. Auch die Sequenz sl1177 ist zu der Sequenz des Bakteriums ODP8-U3 zu 95 % identisch. Es scheint sich hier um ein eigenes Cluster mit Sequenzen zu handeln, die untereinander auch nur geringe Identitäten haben.

Abbildung 12: Phylogenetischer Stammbaum der δ -Proteobacteria des Leinesedimentes

Dem "Multialignment" liegen 413 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1177, sl1128, sl1143, sl1283 und sl1364a, sl1367a, sl1345, und sl3234. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Bei den über die 16S rRNA-Gensequenzen nachgewiesenen γ -Proteobakterien im Leinesediment dominieren vor allem die *Pseudomonadaceae* und die *Xanthomonadaceae*. Auffällig sind hier vor allem die schon erwähnten starken Identitäten zu *Pseudomonas*-Arten und ein eigenes Cluster von Leine-Sediment-Sequenzen innerhalb der *Xanthomonadaceae*, das lediglich den unklassifizierten Klon SG-3 enthält. Die „Bootstrap“-Analyse gibt für diese Verzweigung einen Wert von 100 an, so dass davon ausgegangen werden kann, dass sie richtig ist. Außerdem bilden in der Abbildung 13 die Sequenzen sl1293, sl1121 und sl1167 ein Cluster mit Sequenzen von unkultivierten nicht näher klassifizierten Organismen, die zu den *Pseudomonadaceae* gezählt werden.

Außer den Sequenzen sl3261 und sl3286 sowie der Sequenz des nur auf Phylum-Niveau klassifizierten Klons OMP190, die einen eigenen Ast in Abbildung 14 bilden, formen alle anderen zu den *Planctomycetes* gehörende Sequenzen aus dem Leinesediment Cluster mit Vertretern der Genera *Gemmata*, *Planctomyces* und *Pirellula*, die in die Familie der *Planctomycetaceae* gehören. Einige der Datenbanksequenzen sind, wie aus der Tabelle 9 hervorgeht, selbst nicht weiter klassifiziert. Insgesamt zeichnen sich die Sequenzen des Leinesedimentes, die in dieses Phylum eingeordnet werden können, durch verhältnismäßig geringe Ähnlichkeiten aus. Sie liegen zwischen 86 und 95 %.

Der Stammbaum der **CFB-Gruppe** in Abbildung 15 enthält die Angehörigen der 2 Klassen *Flavobacteria* und *Sphingobacteria*. Erstaunlich ist die Anordnung von *Flavobacterium ferrugineum* und der nächst verwandten Sequenzen aus dem Leinesediment sl1151 und sl1350 in dem Ast, der ansonsten Angehörige der Klasse *Sphingobacteria* enthält. Außerdem wirkt die Anordnung der Sequenzen sl1347 und sl1348b zweifelhaft, welche die größte Ähnlichkeit zu dem unkultivierten und unklassifizierten Klon Blhii 16 zeigen. Da der „Bootstrap“-Wert von 58 für die Verzweigung des Klons Blhii16 verhältnismäßig niedrig ist, bleibt unklar, wo diese 3 Sequenzen einzuordnen sind. Mit eindeutigen „Bootstrap“-Werten gruppieren sich die Sequenzen sl1360, sl1320 und sl1331 getrennt von den anderen Flavobakterien in einem eigenen Cluster.

Die Sequenzen des Leinesedimentes, die am stärksten verwandt zu Bakterien der *Acidobacteria* sind, bilden 2 Äste in dem Stammbaum in Abbildung 16. Der eine Ast enthält Leinesediment-Sequenzen wie sl1349, sl1352, sl3222 und sl3269, deren nächste Verwandte bei RDP und NCBI uneinheitlich klassifiziert wurden. Der nächste Verwandte bei NCBI wurde in das Phylum der *Acidobacteria* gruppiert, während der nächste Verwandte bei RDP der „Subdivision“ *Nitrospina*, genauer in die Umwelt-Klon-Gruppe S027, zugeordnet wurden. Bei allen Datenbanksequenzen handelt es sich um nicht genauer klassifizierte Umwelt-Sequenzen. Bei ihnen bleibt unklar, ob es sich um kultivierte Organismen handelt.

Abbildung 13: Phylogenetischer Stammbaum der γ -Proteobacteria des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 457 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1187, sl1323 und sl1337, sl1340, sl1362, sl1372 und sl3240. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Abbildung 14: Phylogenetischer Stammbaum der *Planctomyces* des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 605 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1364a, sl1379a, sl3241 und sl3242. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Bei den nächsten Verwandten der Leinesediment-Sequenzen, die in das Phylum der *Chloroflexi* eingeordnet werden können, handelt es sich ausschließlich um Umwelt-Sequenzen von Organismen, die nicht genauer klassifiziert wurden und nur durch 16S rRNA-Gensequenzen in Datenbanken repräsentiert sind. Im Stammbaum in Abbildung 17 zeichnet sich eine Zweiteilung der Sequenzen ab, bei der die Sequenzen sl3235, sl3223 und SJA-35 ein eigenes Cluster bilden. Die Ähnlichkeiten zu den Datenbanksequenzen betragen nur 85 bis 90 %.

Die übrigen Sequenzen des Leinesedimentes gehören ausschließlich an diesem Standort selten vertretenen Phyla an, weshalb hier auf eine genauere Betrachtung verzichtet werden soll.

Abbildung 15: Phylogenetischer Stammbaum der *CFB*-Gruppe des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 402 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1152, sl1224, sl1378 und sl1389. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Abbildung 16: Phylogenetischer Stammbaum der *Chlorobi*, *Acidobacteria*, *Nitrospira*, *Verrucomicrobia* und *Firmicutes* des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 501 Positionen zugrunde. Nicht enthalten sind die Sequenzen sl1149, sl1384, und sl1395. Für die Beschreibung des Vorgehens siehe Abbildungsbeschriftung unter Abbildung 17.

Abbildung 17: Phylogenetischer Stammbaum der *Chloroflexi*, *Actinobacteria* und der Kandidat-Division TM7 des Leinesedimentes

Dem „Multialignment“ liegen 387 Positionen zugrunde.

Mit der aus dem Leinesediment isolierten DNA (s. 2.6.1) wurden mit den Oligonukleotiden 16S08 und 16S1504 sowie A800F und A1530R 3 Polymerase-Kettenreaktionen durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden durch Gelextraktionen (s. 2.5.3.6) gereinigt und anschließend in den Vektor pCR2.1-TOPO kloniert. Die Ansätze wurden in *E. coli* TOP10 mittels Hitzeschock transformiert (s. 2.11.1). Die Transformationsansätze wurden auf LB-Medium mit Ampicillin, IPTG und X-Gal ausplattiert. Von jeweils 96 Klonen wurde, wie unter 2.6.3.5 beschrieben, eine robotgesteuerte Plasmidpräparation vorgenommen. Die Plasmide wurden in einer Sequenzreaktion (s. 2.12.1) mit den Oligonukleotiden rev und for eingesetzt. Die Sequenzierung fand mit dem „ABI DNA Sequencer 377“ statt. Die Sequenzen wurden mit dem Programm „Gap4“ bearbeitet. Mit dem Programm „Phylip“ bei RDP wurde jeweils ein „Multialignment“ der resultierenden Sequenzen erstellt, um die Anzahl der in allen Sequenzen enthaltenen „Alignment“-Positionen zu ermitteln. Die „Multialignments“, die der Berechnung der Stammbäume zugrunde gelegt wurden, wurden mit dem Programm „ClustalW“ berechnet. Die „Bootstrap“-Analyse wurde mit dem Programm „Treefinder“ mit 100-facher Wiederholung mit Standardeinstellungen erstellt. Der Größenmaßstab gibt die Zahl der Substitutionen pro Base an.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass einige 16S rRNA-Gensequenzen zwar sehr große Identitäten zu Datenbanksequenzen aufweisen, dass jedoch bei etwa die Hälfte der Sequenzen nur Übereinstimmungen von weniger als 95 % vorliegen. Die überwiegende Mehrheit der aus dem Leinesediment amplifizierten 16S rDNA-Sequenzen ähneln den Sequenzen von Mikroorganismen, die bislang nur durch ihre 16S rRNA-Gene in den Datenbanken repräsentiert sind.

3.4 Sequenzierung von Cosmiden aus der Leinesediment-Metagenom-Cosmid-Genbank

Die Sequenzierung zufällig ausgewählter Cosmide sollte einen Einblick in die Verteilung der Gene im Leinesediment und das physiologische Potential der dort lebenden Organismen gewähren. Außerdem standen die gewonnenen Sequenzen einem breiten sequenzbasierten Screening zur Verfügung. 14 der 400 Cosmide der Cosmid-Metagenombank der Leine wurden für eine vollständige Sequenzierung ausgewählt, nachdem durch einen Restriktionsverdau mit *EcoRI* bzw. *NotI* sichergestellt worden war, dass sich die Restriktionsmuster der Cosmide unterschieden. Für die Sequenzierung wurden sogenannte „Shotgun“-Genbanken aller Cosmide angelegt. Bei genomischen „Shotgun“-Genbanken wird versucht, durch mechanische Behandlung unterschiedlich große DNA-Fragmente zu erhalten und anschließend zu klonieren, so dass jedes Fragment statistisch gleich häufig in der resultierenden Genbank vertreten ist. Bei den Cosmiden wurde die Fragmentierung der DNA abweichend durch Restriktionsspaltung erreicht. Da Restriktionsenzyme aufgrund ihrer spezifischen Erkennungssequenzen nicht zufällig schneiden und damit auch keine statistische Verteilung der resultierende DNA-Fragmente erhalten wird, wurden, um eine ausgewogenere Verteilung der Fragmente zu bekommen, 2 verschiedene Restriktionsenzyme eingesetzt. Zum einen wurde wie bei der Erstellung der Plasmid-Leinesediment-Genbanken *Bsp143I* verwendet, zum anderen fand das blunt-end-schneidene Enzym *AluI* Verwendung. Ziel war die Klonierung 2 bis 4 kb großer DNA-Fragmente in den Klonierungsvektor pBluescript® II SK+ (Stratagene, San Diego, USA). Der partielle Restriktionsverdau wurde für die „Shotgun“-Genbanken enzymlimitiert durchgeführt. Das Ergebnis der Spaltung wurde in einem Agarosegel kontrolliert. Für die Klonierung wurde die Verdünnungsstufe ausgewählt, die die größte Konzentration an 2 bis 4 kb großen DNA-Fragmenten enthielt. Diese wurde dann auf ein präparatives Agarosegel aufgetragen und die Fragmente mit der gewünschten Größe aus dem Gel extrahiert (s. 2.5.3.6). Die Vorbereitung des Vektors, die Klonierung, die Transformation und die Kontrolle der Inserts erfolgte wie unter 3.2.2.1 beschrieben. Abweichend war nur die Spaltung von pBluescript® II SK+ mit *SmaI* für die Klonierung der mit *AluI* gespaltenen DNA. Enthielten mindestens 80 % der überprüften Klone ein

Insert mit der gewünschten Größe, wurden für die robotgesteuerte Plasmidpräparation meist je Enzym 2-96er „Flat-Bottom-Blöcke“ mit Zahnstochern beimpft. Die robotgesteuerte Plasmidpräparation und die anschließende Sequenzierung erfolgte wie unter 2.6.3.5 bzw. 2.12.1 und 2.12.2 beschrieben. Das „Basecalling“ der Rohdaten und die Prozessierung der Sequenzen wurden, wie unter 2.13 und 2.13.1 beschrieben, durchgeführt. Die Sequenzen wurden letztlich mit dem Programm „Gap4“ bearbeitet (s. 2.13.1.2), bestehende Sequenzlücken geschlossen bzw. Sequenzbereiche mit schlechter Qualität oder Abdeckung überarbeitet (s. 2.14). Auf den geschlossenen Cosmiden wurden dann mit dem Programm „Artemis“ potentielle offene Leserahmen festgelegt (s. 2.15.1) und diese anschließend annotiert (s. 2.15.2).

3.4.1 Ergebnisse der Sequenzierung

Bislang ist die Sequenzierung von 9 der 14 Cosmide abgeschlossen. 2 Cosmide, die Cosmide slc_1g und slc_1q, weisen jeweils nur eine Lücke auf, die sich aufgrund von Sekundärstrukturen nicht schließen ließen, obwohl lückenüberspannende PCR-Produkte erhalten werden konnten. Das Cosmid slc_1a besteht ebenfalls nur noch aus 2 Contigs, weist aber Sequenzbereiche mit schlechter Qualität auf. 2 Cosmide müssen noch stark bearbeitet werden. Sie umfassen noch mehr als 10 Contigs, von denen einzelne Größen bis 12 kb aufweisen. Sie wurden in dieser Arbeit nicht weiter berücksichtigt. Die Insert-Größen der Cosmide liegen zwischen 33740 bp und 44155 bp. Berücksichtigt man nur die in dieser Arbeit behandelten Cosmide, erhält man insgesamt ca. 456 kb sequenzierter Metagenom-DNA. Ein Cosmid, das Cosmid slc_1q, ist eukaryotischen Ursprungs, alle anderen enthalten klonierte bakterielle DNA. Aufgrund der Genorganisation bei Eukaryoten enthält das Cosmid slc_1q nur 8 Gene. Insgesamt wurden 382 ORFs festgelegt. Davon konnte bei 166 ORFs der übersetzten Aminosäuresequenz keine Funktion zugeordnet werden. Hatten die abgeleiteten Proteine signifikante Sequenzähnlichkeiten mit Datenbanksequenzen, wurden sie als „konservierte Proteine“ annotiert, konnte keine signifikante Ähnlichkeit festgestellt werden, wurde ihnen die Bezeichnung „hypothetisches Protein“ gegeben. Wie die nähere Beschreibung der einzelnen Cosmide noch zeigen wird, konnte bei einzelnen Cosmiden anhand der Sequenz nur sehr wenigen Proteinen eine Funktion zugeordnet werden. Bei anderen Cosmiden wie dem Cosmid slc_1x kodieren die ORFs fast ausschließlich für Proteine mit großer Ähnlichkeit zu Proteinen aus der NCBI-

Datenbank. Fast man die Funktionen der abgeleiteten Proteinsequenzen der ORFs zu funktionalen Gruppen zusammen, ergibt sich die in Abbildung 18 und Tabelle 11 dargestellte Verteilung. Den deutlich größten Teil (33 %) stellen die als „hypothetische Proteine“ annotierten abgeleiteten Sequenzen der ORFs dar, gefolgt von den abgeleiteten Sequenzen, die als „konservierte Proteine“ annotiert (9 %) wurden. Damit kann 42 % der auf den Cosmiden kodierten Proteinen keine Funktion zugeordnet werden. Viele Proteine scheinen eine Rolle im Kohlenhydrat-Transport und – Metabolismus (7 %) und im Aminosäure-Stoffwechsel (10 %) zu spielen. Weitere häufige Funktionen sind in der Zellhüll-Biosynthese und dem Lipid-Metabolismus sowie der Signal-Transduktion zu finden. Im Folgenden sollen nun die einzelnen Cosmide genauer betrachtet werden. Die Annotationen der auf den Cosmiden kodierten Proteine und die ähnlichsten Datenbanksequenzen sind in der Tabelle 12 wiedergegeben.

Tabelle 11: Charakterisierung der sequenzierten Cosmide

Cosmid	Insert-Größe	G+C-Gehalt	ORFs	Ohne bekannte Funktion	Mit bekannter Funktion
slc_1a	ca. 39620	65,4 %	36	7 (19,4 %)	29 (80,6 %)
slc_1f	37395	66,2 %	27	19 (70,0 %)	8 (30,0 %)
slc_1g	ca. 44530	64,4 %	43	19 (44,0 %)	24 (56,0 %)
slc_1h	37311	59,1 %	38	11 (28,9 %)	27 (71,1 %)
slc_1p	37601	63,0 %	35	18 (51,4 %)	17 (48,6 %)
slc_1q ^E	ca. 36250	38,8 %	8	2 (25 %)	6 (75 %)
slc_1s	34637	63,7 %	25	11 (44,0 %)	14 (55,6 %)
slc_1t	39084	60,2 %	42	19 (45,2 %)	23 (54,8 %)
slc_1u	33732	69,9 %	27	18 (66,7 %)	9 (33,3 %)
slc_1x	38011	64,6 %	39	4 (10,3 %)	35 (89,7 %)
slc_2g	39068	67,2 %	28	16 (57,1 %)	12 (42,9 %)
slc_2j	39483	66,1 %	34	22 (64,7 %)	12 (35,3 %)
Gesamt	456 kb		374*	164 (43,9 %)*	210 (56,1 %)*

^E = Cosmid mit Insert eukaryotischen Ursprungs

* = berechnet ohne die Werte für das Cosmid slc_1q

Tabelle 12: "BLAST"-Ergebnisse der ORFs aller Cosmide und Annotation

A) Cosmid slc_1a

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
101	396	Potentieller Kationen-Protonen-Antiporter	Hypothetisches Protein CC1500	<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	NP_420311.1	e-123	57	CDD10348, COG0475, KefB, Kef-Typ K+ Transport-System, Membran-Komponente (5e-16)	I-TM
102	1132	Potentielle β -Galaktosidase	β -Galaktosidase	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482	NP_810681.1	e-142	31	CDD25976, pfam02837, Glykosyl-Hydrolase-Familie 2, Zucker-Bidedomäne (5e-11)	KH-M
103	290	Potentielle β -Galaktosidase I	β -Galaktosidase I	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482	NP_813063.1	3e-37	37	CDD12835, COG3507, XynB, β -Xylosidase (5e-07)	KH-M
104	423	Potentielle N-acyl-D-glukosamin 2-Epimerase	Potentielle N-acyl-D-glukosamin 2-Epimerase	<i>Bacteroides fragilis</i> YCH46	YP_098134.1	5e-35	27	CDD17798, cd00249, AGE; N-Acyl-D-glukosamine 2-Epimerase-Domäne	KH-M
105	452	Potentieller α -L-Fucosidase-Vorläuferprotein	α -L-Fucosidase-Vorläuferprotein	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482	AAO78770.1	1e-96	40	CDD12992, COG3669, COG3669, α -L-Fucosidase (8e-57)	KH-M
106	71	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						
107	283	Potentieller Transkriptions-Terminations-Faktor NusB	Potentieller Transkriptions-Terminations-Faktor NusB	<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	ZP_229562.1	7e-15	43	CDD24170, CD00619, Terminator_NusB, Transkriptions-Terminations-Faktor NusB ("N protein-Utilization Substance B")	TS
108	236	Potentielle 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin-Synthase (EC 2.5.1.9) (DMRL-Synthase)	COG0054: Riboflavin-Synthase β -Untereinheit	<i>Rubrivivax gelatinosus</i> PM1	ZP_00244290.1	4e-17	37	CDD7812, pfam00885, DMRL_Synthase, 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin-Synthase (7e-23)	CE-M
109	349	Riboflavin-Biosynthese-Protein ribA [mit: GTP-Cyclohydrolase II (EC 3.5.4.25); 3,4-Dihydroxy-2-butanon-4-phosphate Synthase (DHBP-Synthase)]	COG0108: 3,4-Dihydroxy-2-butanon-4-phosphat-Synthase	<i>Moorella thermoacetica</i> ATCC 39073	ZP_00330557.1	e-110	59	CDD7832, pfam00925, GTP_cyclohydro2, GTP Cyclohydrolase II (2e-61)	CE-M
110	220	Eisenabhängiger Repressor, Metallbinde- und Dimerisationsdomäne und N-terminale DNA-Bindedomäne	COG1321: Mn-abhängiger Transkriptionsregulator	<i>Thermobifida fusca</i>	ZP_00294388.1	2e-39	41	CDD11037, COG1321, TroR, Mn-abhängiger Transkriptionsregulator (6e-37)	TS
111	246	Konserviert Protein	COG1566: "Multidrug"-Resistenz-Efflux-Pumpe	<i>Ralstonia metallidurans</i> CH34	ZP_00273404.1	2e-50	41	CDD11279, COG1566, EmrA, "Multidrug"-Resistenz-Efflux-Pumpe (2e-19)	A
112	434	"Outer membrane"-Efflux-Protein, potentieller "drug"-Efflux-Lipoprotein	COG1538: "Outer membrane"-Protein	<i>Ralstonia metallidurans</i> CH34	ZP_00273405.1	2e-60	34	CDD11252, COG1538, TolC, "Outer membrane"-Protein (8e-38)	ZH-B /ITS/A

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
113	323	Potentielle L-Asparaginase, periplasmisches Vorläuferprotein (EC 3.5.1.1)	Periplasmatische L-Asparaginase II	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> RIMD 2210633	NP_799884.1	4e-93	54	CDD17797, cd00411, Asparaginase (1e-91)	AS-M
114	86	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
115	203	Poteintielle Glyoxalase/Bleomycin-Resistenz-Protein/Dioxygenase-Superfamilie	COG3324:Vorausgesagtes Enzym; verwandt mit Laktoylglutathion-Lyase	<i>Rubrobacter xylanophilus</i> DSM 9941	ZP_0018732.2	2e-17	32		A
116	68	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
117	328	Cystein-Synthase (EC 4.2.99.8),	Potentielle Cystein-Synthase, Protein A	<i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000	NP_521837.1	e-119	66	CDD9907, COG0031, CysK, Cystein-Synthase (2e-94)	AS-M
118	228	COG1526: Uncharakterisiertes Protein, das für die Formiat-Dehydrogenase-Aktivität gebraucht wird	COG1526: Uncharakterisiertes Protein, das für die Formiat-Dehydrogenase-Aktivität gebraucht wird	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	ZP_0032819.1	3e-61	51	CDD3141, pfam02634, FdhD-NarQ, FdhD/NarQ-Familie. Nitrat-Assimilationsprotein (2e-41)	KH-M
119	203	Protein mit Ähnlichkeit zur γ -Untereinheit der Sarcosin-Oxidase	Protein mit Ähnlichkeit zur γ -Untereinheit der Sarcosin-Oxidase	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_107652.1	3e-21	34	CDD9827, pfam04268, SoxG, Sarcosin-Oxidase, γ -Untereinheit-Familie. (4e-25)	AS-M
120	632	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit (EC1.5.3.1)	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_107653.1	e-177	56	CDD10278, COG0404, GcvT, Glycin-Spaltungssystem Protein T (Aminomethyltransferase) (7e-93)	AS-M
121	376	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit (EC1.5.3.1)	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_107653.1	e-120	59	CDD10320, COG0446, HcaD, Uncharakterisierte NAD(FAD)-abhängige Dehydrogenase (7e-16)	AS-M
122	50	Sarcosin-Oxidase, δ -Untereinheit (EC1.5.3.1)	Potentielle Sarcosin-Oxidase, δ -Untereinheit	<i>Mesorhizobium loti</i>	CAD31287.1	2e-07	21	CDD9826, pfam04267, SoxD Sarcosin-Oxidase, δ -Untereinheit-Familie (7e-08)	AS-M
123	418	Sarcosin-Oxidase, β -Untereinheit (EC1.5.3.1)	Sarcosin-Oxidase, β -Untereinheit	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_106778.1	0.0	74	CDD10534, COG0665, DadA, Glycin/D-Aminosäure-Oxidase (deaminierend) (2e-51)	AS-M
124	466	Alkyldihydroxyacetonephosphat-Synthase (EC 2.5.1.26)	Hypothetisches Protein ECs3629	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	NP_311656.1	e-175	63	CDD10151, COG0277, GlcD, FAD/FMN-enthaltende Dehydrogenasen (3e-55)	E
125	465	Zucker-Kinase	Hypothetische Zucker-Kinase ygcE	<i>Escherichia coli</i> CFT073	NP_755212.1	e-115	46	CDD10793, COG1070, XylB, Zucker (Pentulose und Hexulose) Kinasen (2e-52)	KH-M
126	122	Potentielle 2-Deoxy-D-gluconat-3-Dehydrogenase (EC 1.1.1.125)	Potentielle Oxidoreduktase	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	NP_311657.2	1e-55	83	CDD25396, pfam00106, adh_short, Kurzketten-Dehydrogenase (3e-23)	KH-M
127	222	Potentielle 2-Deoxy-D-gluconat-3-Dehydrogenase (EC 1.1.1.125)	Hypothetische Oxidoreduktase ygcW	<i>Escherichia coli</i> CFT073	NP_755210.1	7e-31	51	CDD25396, pfam00106, adh_short, Kurzketten-Dehydrogenase (3e-23)	KH-M
128	618	Glycin- β -Bindeprotein und Permease (ABC-ransporter)	1. Teil Potentielles Glycin- β -Bindeprotein 2. Teil Potentielle ABC-Transporter Permease	<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021 <i>Photobacterium profundum</i> SS9	NP_436936.1 YP_133403.1	1e-91 1e-72	55 51	CDD11821, COG2113, ProX, ABC-Typ Prolin/Glycin-Betain-Transport-Systeme, periplasmatische Komponente (1e-77)	AS-M

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
129	400	Glycin-Betain/L-Prolin-Transport ATP-Bindeprotein proV	ABC-Transporter, ATP-Bindeprotein	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_104013.1	e-102	59	CDD13440, COG4175, ProV, ABC-Typ Prolin/Glycin-Betain-Transport-Systeme, ATPase-Komponente (5e-105)	AS-M
130	212	Potentieller TonB-abhängiger Rezeptor	COG1629: "Outer membrane" Rezeptor-Protein, meist Fe-Transport	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i> DSM 12444	ZP_00302046.1	9e-12	44		I-TM
131	555	Potentieller TonB-abhängiger Rezeptor	COG1629: "Outer membrane" Rezeptor-Protein, meist Fe-Transport	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i> DSM 12444	ZP_00302046.1	1e-49	33	CDD28191, cd01347, ligand_gated_channel, TonB abhängige/Ligand-"gated" Kanäle (2e-27)	I-TM
132	526	Hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein mll1230	<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	NP_102866.1	e-175	63	CDD25126, pfam06253, MTTB, Trimethylamin-Methyltransferase (MTTB) (EC:2.1.1.-) (2e-162)	HP
133	700	Potentielle Peptidase	Potentielle Peptidase	<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	NP_717820.1	2e-74	29	CDD11220, COG1506, DAP2, Dipeptidyl-Amino-peptidases/Acylaminoacyl-peptidases (2e-65)	AS-M
134	80	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
135	87	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
136	177	Konserviertes hypothetisches Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021	NP_386094.1	2e-51	58	CDD13207, COG3894, Uncharakterisierte Metall-bindende Proteine	KHP

B) Cosmid Slc_1f

201	165	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
202	261	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
203	209	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
204	921	Potentiell integrales Membranprotein (ComEC)	Potentiell Kompetenzprotein ComEC/Rec2	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_869100.1	6e-38	26	CDD12009, COG2333, ComEC, Vorausgesagte Hydrolase (Metallo-β-Laktamase-Superfamilie) (1e-23)	RKT
205	454	Vorausgesagte ATPase	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Coxiella burnetii</i> RSA 493	NP_820995.1	2e-48	37	CDD11089, COG1373, Vorausgesagte ATPase (AAA+ Superfamilie) (1e-39)	E
206	79	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
207	840	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
208	222	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
209	250	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
210	333	Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase (EC 2.4.99.-)	Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase	<i>Photorhabdus luminescens</i> subsp. <i>laumondii</i> TTO1	NP_927967.1	1e-29	31	CDD24591, pfam01790, LGT, Prolipoprotein Diacylglyceryl-Transferase. (6e-35)	ZH-B

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
211	186	Uncharakterisiertes konserviertes Protein (COG4276)	Konserviertes Protein	<i>Cytophaga hutchinsonii</i>	ZP_0011672.1	8e-23	40	CDD13523, COG4276, COG4276, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (4e-10)	KP
212	322	Vorausgesagte Dehydrogenase und verwandte Proteine (COG0673)	Hypothetisches Protein	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Mu50	NP_370741.1	2e-17	31	CDD10542, COG0673, MviM, vorausgesagte Dehydrogenasen und verwandte Proteine (4e-32)	E
213	997	Protein der Subtilase-Familie	COG1404: Subtilisin-ähnliche Serin-Protease	<i>Geobacter Metallireducens</i>	ZP_0008095.2	3e-19	30	pfam00082, Peptidase_S8, Subtilase-Familie (4e-24)	AS-M
214	653	Glukosamin-6-phosphat-Isomerase 2 (EC 3.5.99.6)	COG0363: 6-Phosphoglukonolaktomase/Glukosamin-6-phosphat-Isomerase/Deaminase	<i>Cytophaga hutchinsonii</i>	ZP_0011764.2	0.0	57	CDD25704, pfam01182, Glucosamin-iso, Glucosamin-6-phosphat isomerasen/6-phosphogluconolactonasen 6e-47	KH-M
215	545	Konserviertes hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein	<i>Methanosarcina mazei</i> Goel	NP_635222.1	4e-80	40	CDD23022, pfam00561, Abhydrolase_1, α/β Hydrolase_Faltung. This catalytic domain is found in a very wide range of enzymes. (2e-06)	KHP
216	277	Konserviertes Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> VPI-5482	NP_812740.1	3e-08	36	CDD21440, KOG3661, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (3e-06)	KP
217	740	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
218	856	Alkalische Phosphatase (EC 3.1.3.1)	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Brucella suis</i> 1330	NP_699800.1	e-128	39		DRR
219	157	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
220	141	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
221	243	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
222	1005	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
223	250	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
224	83	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
225	477	Konserviertes Protein	Vorausgesagte Isoflavin-Reduktase	<i>Bacillus cereus</i> ZK	VP_084357.1	6e-57	36	CDD10325, COG0451, WcaG, Nucleosid-diphosphat-Zucker-Epimerasen (8e-14)	KP
226	392	Konserviertes Protein	Hypothetisches Protein glr3508	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_926454.1	2e-17	57	CDD11391, COG1680, AmpC, β -Lactamase Klasse C und andere Penicillin-Bindeproteine (8e-08)	KP
227	497	Konserviertes Protein (hypothetisches Sensor-Protein)	sensor protein atoS	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_868275.1	3e-51	31	gnl CDD 13167, COG3852, NtrB, Signal-Transduktion: Histidin-Kinase, Stickstoff-spezifisch (6e-15)	ST

C) Cosmid Slc_1g

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
301	279	Potentielle L-sorbose-Dehydrogenase	Potentielle L-sorbose-Dehydrogenase	<i>Geobacter sulfurreducens</i>	NP_951254.1	9e-95	65	CDD11841, COG2133, Glukose/Sorbose-Dehydrogenases (1e-46)	KH-M
302	375	Potentielle Transposase	Transposase	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	S43117	6e-68	39	CDD17139, pfam02371, Transposase_20, Transposase IS116/IS110/IS902 Familie (6e-18)	RKT
303	121	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
304	316	Potentiell periplasmatisches ATP/GTP-Bindeprotein	Periplasmatisches ATP/GTP-Bindeprotein	<i>Mesorhizobium loti</i>	BAB51206	6e-37	36		RKT
305	238	Potentielle 6-Phosphoglukonolaktase (EC 3.1.1.31)	6-Phosphoglukonolaktase ähnliches Protein	<i>Rubrobacter xylanophilus</i> DS 9941	ZP_00600255	9e-23	40	CDD10237, COG0363, NagB, 6-Phosphoglukonolaktase/Glukosamin-6-phosphat-Isomerase/Deaminase (7e-33)	KH-M
306	465	Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.49)	COG0364: Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase	<i>Nostoc punctiforme</i>	ZP_00110439.1	1e-154	54	CDD10238, COG0364, Zwf, Glukose-6-phosphat 1-Dehydrogenase (1e-149)	KH-M
307	56	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
308	134	Hypothetisches Protein	Potentielle Acyltransferase	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	NP_625385.1	3e-12	33	CDD25558, pfam00583, Acetyltransf_1, Acetyltransferase (GNAT)-Familie. (2e-09)	HP
309	256	Pantoat-β-Alanin-Ligase (EC 6.3.2.1)	Pantoat-β-Alanin-Ligase	<i>Thermotoga maritima</i>	NP_228883.1	2e-69	50	CDD10288, COG0414, PanC, Panthothenat-Synthetase (3e-94)	CE-M
310	243	Potentielle 3-Methyl-2-oxobutanoat-Hydroxymethyl-Transferase	Potentielle 3-Methyl-2-oxobutanoat-Hydroxymethyl-Transferase	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_662228.1	3e-63	50	CDD10287, COG0413, PanB, Ketopantoat-Hydroxymethyltransferase (2e-79)	CE-M
311	349	Aldose-1-Epimerase (EC 5.1.3.3)	COG2017: Galactose-Mutarotase und verwandte Enzyme	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00067761.1	7e-91	51	CDD19392, KOG1604, KOG1604, KOG1604, Vorausgesagte Mutarotase (1e-89)	KH-M
312	222	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
313	136	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
314	426	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Unbekanntes Protein	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_924023.1	2e-13	33	CDD13469, COG4219, MccR1, "drug resistance" regulierender Antirepressor, vorausgesagte Signal-Transduktion, N-terminale Membran-Komponente (2e-15)	HP
315	129	Hypothetisches Protein	Potentieller β-Laktamase-Repressor	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_870928.1	4e-07	30	CDD13004, COG3682, COG3682, Vorausgesagter Transkriptionsregulator (6e-15)	TS
316	202	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
317	368	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
318	511	Konserviertes hypothetisches membranassoziiertes Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_866523.1	9e-23	29		HP
319	809	Potentielle Permease	Unbekanntes Protein	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_924147.1	1e-71	28	CDD25940, pfam02687, FtsX, Vorausgesagte Permease. (1e-16)	KP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
320	150	Hypothetisches Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Deinococcus radiodurans</i>	NP_296348.1	1e-10	45	CDD11406, COG1695, COG1695, Vorausgesagte Transkriptionsregulatoren (3e-14)	TS
321	809	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung Bester hit zu ORF 660 (2J):3.6e-22					CDD24254, smart00327, VWA, von Willebrand factor (vWF) type A domain; (8e-11)	HP
322	458	Potentiell Cytochrom P450 (EC 1.14.14.1)	Hypothetisches Protein	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	ZP_00019057.1	3e-69	38	CDD17954, KOG0157, Cytochrom P450 CYP4/CYP19/CYP26 Subfamilien (1e-54)	SM-BT, LM
323	302	Konserviertes Protein (Protein der Tetratricopeptidrepeat-Familie)	COG0457: FOG: TPR-Protein	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	ZP_00072018.1	1e-33	35	CDD22401, KOG4626, O-abhängige N-acetylglukosamin-Transferase OGT (6e-23)	KH-M, PPM und ST
324	119	Hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein	<i>Myxococcus xanthus</i>	AAO22884.1	1e-10	42	CDD15816, pfam04519, DUF583, Protein mit unbekannter Funktion, DUF583. (6e-13)	HP
325	513	Potentielle Histidin-Kinase	2-Komponenten-Hybrid Sensor und Regulator	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_923045.1	2e-77	36	CDD10512, COG0642, BaeS, Signal-Transduktion: Histidin-Kinase (4e-34)	ST
326	86	Potentieller "response-regulator receiver"-Domäne	"response-regulator receiver"	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	YP_009495	2e-11	42	CDD5334, cd00156, REC, "Signal receiver"-Domäne (5e-12)	ST
327	253	Konserviertes Protein (Protein der "Tetratricopeptide repeat"-Familie)	COG0457: FOG: "TPR repeat"	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	NP_840112.1	3e-18	35	CDD5390, cd00189, TPR, "Tetratricopeptide repeat"-Domäne (2e-09)	KP
328	200	Konserviertes Protein (Cytochrom P460-Vorläufer)	Cytochrom P460-Vorläufer	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718	NP_864013.1	4e-28	25		KP
329	380	Konserviertes membran-durchspannendes Protein	Vorausgesagte Permease	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_644604.1	7e-87	41	CDD10498, COG0628, PerM, Vorausgesagte Permease (8e-27)	KP
330	499	Potentielle Cardiolipin-Synthetase	Cardiolipin-Synthetase	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. citri str. 306				Phosphatidylserin/Phosphatidylglycerophosphat/Cardiolipin-Synthasen und verwandte Enzyme (2e-60)	LM
331	162	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
332	62	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
333	389	Konserviertes Protein (uncharakterisiertes Eisen-reguliertes Membranprotein)	Mögliche Oxidoreduktase	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	NP_253203.1	2e-24		CDD17408, pfam03929, DUF337, Uncharakterisiertes Eisen-reguliertes Protein (DUF337) (1e-35)	I-TM
334	226	Eisen-Aufnahme Faktor	COG3128: Uncharakterisiertes Eisen-reguliertes Protein	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00068411.1	2e-81		CDD12467, COG3128, PiuC, Uncharakterisiertes Eisen-reguliertes Protein (1e-84)	I-TM
335	850	TonB-abhängiger Rezeptor	COG4774: Rezeptor für momomere Catechole in der äußeren Membran	<i>Azotobacter vinelandii</i>	ZP_00088696.1	1e-102		CDD13912, COG4774, Fiu, "Outer membrane"-Rezeptor für monomere Catechole (5e-133)	I-TM
336	90	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
337	270	Potentielle Methyltransferase (EC 2.1.1.-)	Potentielle Methyltransferase	<i>Bordetella parapertussis</i>	NP_882473.1	1e-39	42	CDD21836, KOG4058, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (3e-17)	KH-M

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
338	398	Mögliche Aminomethyltransferase	Mögliche Aminomethyltransferase	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_436414.1	1e-72	39	CDD10278, COG0404, GcvT, Glycin-Spaltungssystem Protein T (Aminomethyltransferase) (2e-77)	AS-M
339	98	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
340	534	Potentielle Phytoen-Desaturase	Phytoen-Desaturase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_104734.1	1e-148	48	CDD22030, KOG4254, KOG4254, KOG4254, Phytoen-Desaturase (1e-80)	CE-M
341	519	Potentielle Phytoen-Desaturase	Phytoen-Desaturase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_104734.1	2e-80	36	CDD22030, KOG4254, KOG4254, KOG4254, Phytoen-Desaturase (2e-63)	CE-M
342	240	Potentieller "response-regulator"	„Response“-Regulatoren bestehend aus CheY-ähnlicher Receiver-Domäne und einer „winged“-Helix-DNA-bindenden Domäne	<i>Symbiobacterium thermophilum</i>	YP_0758361	6e-40	35	CDD10613, COG0745, OmpR, „Response“-Regulatoren bestehend aus CheY-ähnlicher Receiver-Domäne und einer „winged“-Helix-DNA-bindenden Domäne (7e-48)	ST
343	413	Potentiell "outer membrane" Protein	Bakterielles Oberflächen-Antigen	<i>Brucella suis</i> 1330	NP_698159.1	2e-19	29	CDD13913, COG4775, COG4775, "Outer membrane" Protein/schützendes Antigen OMA87 (2e-35)	ZH-B

D) Cosmid Slc_1h

401	315	Rhizobiozin-Sekretionsprotein RspE	COG0845: Membran-Fusionsprotein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005159.1	3e-80	57	CDD25537, pfam00529, Sekretionsprotein der HlyD-Familie. (3e-05)	SM-BT
402	577	Rhizobiozin-Sekretionsprotein RspD (ABC-Transporter)	ABC-Typ Protease/Lipase-Transportsystem; ATPase- und Permease-Komponenten	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005158.1	0.0	66	CDD13766, COG4618, ArpD, ABC-Typ Protease/Lipase-Transportsystem; ATPase- und Permease-Komponenten (5e-142)	SM-BT
403	259	VacJ, Oberflächen-Lipoprotein (COG2853)	COG2853: Oberflächen-Lipoprotein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005157.1	1e-73	58	CDD12206, COG2853, VacJ, Oberflächen-Lipoprotein (3e-48)	ZH-B
404	202	Potentiell Toluol-Toleranz Protein Ttg2 (pfam05494)	COG2854: ABC-Typ Transportsystem beteiligt an Resistenzen zu organischen Lösungsmitteln	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005156.1	9e-52	55	CDD23719, pfam05494, Toluol-Toleranz Protein Ttg2 (4e-13)	ZH-B
405	731	Membran Carboxypeptidase MrcB (Penicillin-Bindeprotein) (COG0744)	COG0744: Membran Carboxypeptidase MrcB (Penicillin-Bindeprotein)	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006009.1	0.0	65	CDD10612, COG0744, MrcB, Membran Carboxypeptidase (Penicillin-Bindeprotein) (8e-125)	ZH-B
406	112	Stickstoff-Regulationsprotein P-II, GlnK (COG0347)	COG0347: Stickstoff-Regulationsprotein P-II	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006008.1	1e-46	87	CDD10221, COG0347, GlnK, Stickstoff-Regulationsprotein P-II (8e-35)	AS-M
407	494	Ammonium-Transporter, AmtB	Ammonium-Transporter AmtB	<i>Azorhizobium caulinodans</i>	CAA12410.1	e-122	57	CDD9880, COG0004, AmtB, Ammonium-Permease (3e-96)	I-TM
408	393	Amino-Transferase für aromatische Aminosäuren (EC 2.6.1.57)	COG1448: Aspartat/Tyrosin/aromatische Aminosäuren Transferase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006006.1	e-149	65	CDD11162, COG1448, TyrB, Aspartat/Tyrosin/aromatische Aminosäuren Transferase (5e-128)	AS-M
409	286	Rhodanes-verwandte Schwefel-Transferase SseA, (COG2897)	COG2897: Rhodanes-verwandte Schwefel-Transferase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006005.1	e-128	82	CDD12247, COG2897, SseA, Rhodanes-verwandte Schwefel-Transferase (4e-78)	I-TM

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
410	94	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
411	160	tm-RNA-Bindeprotein, SmpB, (COG0691)	COG0691: tm-RNA-Bindeprotein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006004.1	1e-57	73	CDD10560, COG0691, SmpB, tm-RNA-Bindeprotein (2e-40)	PPM
412	98	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
413	291	Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase (EC 4.2.1.51)	COG0329: Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006003.1	e-142	86	CDD10203, COG0329, DapA, Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase (2e-87)	AS-M und ZH-B
414	651	Potentielle lösliche lytische Murein-Transglykosylase	COG0741: Lösliche lytische Murein-Transglykosylase und verwandte regulatorische Proteine	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006002.1	e-175	58	CDD10609, COG0741, MltE, Lösliche lytische Murein-Transglykosylase und verwandte regulatorische Proteine (einige enthalten LysM/Invasin-Domänen) (1e-20)	ZH-B
415	294	Konserviertes membran-durchspannendes Protein	COG0697: Permeasen der "drug"/Metabolit-Transporter (DMT) Superfamilie	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005999.1	5e-53	43		KP
416	226	Konserviertes Protein	COG4121: Uncharakterisiertes konserviertes Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006000.1	7e-65	61	CDD23656, pfam05430, DUF752, Protein mit unbekannter Funktion (DUF752).(3e-48).	KP
417	348	Potentielle Oxidoreduktase; möglicherweise D-Aminosäure-Oxidase-Protein	COG0665: Glycin-D-Aminosäure-Oxidase (deaminierendes Protein)	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006001.1	3e-83	49	CDD10534, COG0665, DadA, Glycin-D-Aminosäure-Oxidase (deaminierendes Protein) (2e-06)	AS-M
418	100	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
419	163	Potentielle Acetyltransferase (EC 2.3.1)	COG0454: Histone-Acetyl-Transferase HPA2 und verwandte Acetyltransferasen	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005998.1	2e-46	63	CDD25558, pfam00583, Acetyltransferase (GNAT)-Familie (4e-09)	DRR
420	1151	Chromosomen-Teilungs-Protein smc	Chromosomen-Teilungs-Protein smc	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	CAD66603.1	1e-97	89	CDD10914, COG1196, Smc, Chromosomen-Teilungs-ATPasen (1e-57)	ZT
421	389	membrangebundene lytische Murein-Transglykosylase B	Lytische Murein-Transglykosylase	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Stamm C58 (U. Washington)	NP_532796.1	e-117	55	CDD12298, COG2951, MltB, membrangebundene lytische Murein-Transglykosylase B (6e-75)	ZH-B
422	306	Cobalamin-Biosynthese Protein CobD/CbiB	Cobalamin-Biosynthese Protein CobD	<i>Pseudomonas sp.</i>	P21634 COB D PSEDE	2e-56	45	CDD10986, COG1270, CbiB, Cobalamin biosynthesis protein CobD/CbiB (1e-57)	CE-M
423	321	CobC-Protein	Cobalamin-Biosynthese Protein	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	NP_769898.1	2e-65	46	CDD9954, COG0079, HisC, Histidinolphosphat/aromatische Aminosäure-Aminotransferase und "cobyric acid" Decarboxylase (1e-34)	AS-M
424	126	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
425	116	Konserviertes Protein	Hypothetisches Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005991.1	2e-32	52		KP
426	156	Konserviertes uncharakterisiertes Protein (COG3034)	COG3034: Uncharakterisiertes, in Bakterien konserviertes Protein	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i>	ZP_00093588.1	3e-28	51	CDD12374, COG3034, COG3034, Uncharacterized protein conserved in bacteria (9e-19)	KP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
427	390	MalY, Bifunktionales PLP-Abhängiges Enzym mit β -Cystathionase und Maltose-Regulon-Repressor-Aktivität	COG1168: MalY, Bifunktionales PLP-Abhängiges Enzym mit β -Cystathionase und Maltose-Regulon-Repressor-Aktivität	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005992.1	e-161	66	CDD10887, COG1168, MalY, Bifunktionales PLP-Abhängiges Enzym mit β -Cystathionase und Maltose-Regulon-Repressor-Aktivität (1e-111)	AS-M
428	172	Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (COG0242)	COG0242: N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005993.1	1e-71	75	CDD10117, COG0242, Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (8e-58)	TLR
429	167	Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (COG0242)	COG0242: N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005995.1	8e-64	69	CDD10117, COG0242, Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (7e-37)	TLR
430	296	Methionyl-t-RNA-Formyltransferase (EC 2.1.2.9)	COG0223: Methionyl-t-RNA-Formyltransferase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005996.1	e-110	71	CDD10098, COG0223, Fmt, Methionyl-t-RNA-Formyltransferase (2e-99)	TLR
431	77	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
432	146	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
433	154	Ribonuklease HI (EC 3.1.26.4)	COG0328: Ribonuklease HI	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005988.1	2e-65	83	CDD10202, COG0328, RnhA, Ribonuklease HI (1e-43)	DRR
434	316	LytB, Penicillin-Toleranz-Protein	COG0761: Penicillin-Toleranz-Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005648.1	e-129	81	CDD10629, COG0761, LytB, Penicillin-Toleranz-Protein (6e-108)	ZH-B
435	190	Konserviertes Protein	COG1432: Uncharakterisiertes konserviertes Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005649.1	1e-88	88	CDD25850, pfam01936, DUF88, Protein mit unbekannter Funktion. (5e-43)	KP
436	190	FolK, 7,8-Dihydro-6-hydroxymethylpterin-Pyrophosphokinase	7,8-Dihydro-6-hydroxymethylpterin-Pyrophosphokinase	<i>Synechocystis sp. PCC 6803</i>	NP_440071.1	9e-16	32	CDD10669, COG0801, FolK, 7,8-Dihydro-6-hydroxymethylpterin-Pyrophosphokinase (1e-27)	CE-M
437	117	Hypothetische DNA-gerichtete RNA-Polymerase omega-Untereinheit (EC 2.7.7.6)	COG1758: DNA-gerichtete RNA-Polymerase omega-Untereinheit	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005650.1	2e-38	88	CDD11469, COG1758, RpoZ, DNA-gerichtete RNA-Polymerase omega-Untereinheit (1e-10)	TS
438	411	Protein der Familie der Guanosinphosphat-Pyrophosphohydrolasen/Synthetasen	COG0317: Protein der Familie der Guanosinphosphat-Pyrophosphohydrolasen/Synthetasen	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005651.1	0.0	88	CDD10191, COG0317, SpoT, Guanosinpolyphosphat-Pyrophosphohydrolasen/Synthetasen (1e-142)	ST

E) Cosmid Slc_1p

501	398	COG0205: 6-Phosphofruktokinase (EC 2.7.1.11)	COG0205: 6-Phosphofruktokinase	<i>Geobacter metallireducens</i>	ZP_00079476.1	7e-82	45	CDD10080, COG0205, PfkA, 6-Phosphofruktokinase (2e-76)	KH-M
502	151	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
503	433	Uncharakterisiertes Protein mit unbekannter Funktion (COG4198)	Konserviertes hypothetisches Protein, potentielle Phosphatase	<i>Pirellula sp.1</i>	NP_865025.1	e-124	50		KP
504	209	Konserviertes Protein mit unbekannter Funktion (DUF820)	Keine signifikante Übereinstimmung					CDD23909, pfam05685, DUF820, Protein mit unbekannter Funktion (DUF820). (9e-20)	KP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
505	437	Adenosylhomocysteinase 1 (EC 3.3.1.1)	S-Adenosylhomocystein-Hydrolase	<i>Danio rerio</i>	NP_954688.1	0.0	47	CDD10370, COG0499, SAM1, S-Adenosylhomocystein-Hydrolase (0.0)	CE-M
506	225	N-(5'phosphoribosyl)anthranilat-Isomerase (EC 5.3.1.24)	N-(5'phosphoribosyl)anthranilat-Isomerase (EC 5.3.1.24)	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> Stamm DC3000	NP_793590.1	3e-24	36	CDD10010, COG0135, TrpF, N-(5'phosphoribosyl)anthranilat-Isomerase (1e-38)	AS-M
507	501	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
508	484	Potentiell Protein A eines generellen Sekretionsweges	Potentiell Protein A eines generellen Sekretionsweges	<i>Pirellula sp.1</i>	NP_864633.1	3e-28	32	CDD12603, COG3267, ExeA, Type II Sekretionsweg, Komponente ExeA (vorausgesagte ATPase) (9e-23)	ITS
509	414	Potentiell ATP-Bindeprotein	Kettenlängen-bestimmendes Protein	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718	NP_842280.1	1e-10	25	CDD10360, COG0489, Mrp, ATPasen, die in die Chromosomenverteilung involviert sind (4e-12)	ZT
510	442	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Kettenlängen-bestimmendes Protein	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718	NP_842280.1	1e-10	25		HP
511	270	Dolicholphosphat-Mannosyltransferase (KOG2978)	Glykosyl-Transferase, Protein der Gruppe 2-Familie	<i>Geobacter sulfurreducens</i> PCA	NP_952839.1	1e-48	39	CDD20764, KOG2978, KOG2978, KOG2978, Dolicholphosphat-Mannosyltransferase (1e-42)	ZH-B
512	224	Potentielle Transposase	Transposase	<i>Nostoc sp.</i> PCC 7120	NP_478210.1	8e-58	56		RKT
513	193	Hypothetische Transposase	Transposase	<i>Nostoc sp.</i> PCC 7120	NP_478211.1	5e-21	34		RKT
514	243	Potentielle Acetylhydrolase (ähnlich zu "Platelet"-Aktivierungsfaktor-Acetylhydrolase IB γ -Untereinheit (EC 3.1.1.47))	COG1472: β -Glukosidase-verwandte Glukosidasen	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00064860.1	4e-56	48	CDD19177, KOG1388, KOG1388, KOG1388, Attractin und "Platelet"-Aktivierungsfaktor-Acetylhydrolase (6e-24)	KH-M
515	199	Uracil-DNA-Glykosylase (COG1573)	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	NP_626251.1	2e-50	50		DRR
516	568	Konserviertes membran-assoziiertes Protein,	Hypothetisches transmembranes Protein	<i>Pirellula sp. 1</i>	NP_864010.1	3e-57	40		KP
517	978	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
518	334	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
519	265	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
520	153	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
521	154	Hypothetisches Biopolymer-Transport-Protein exbD	Keine signifikante Übereinstimmung					CDD10714, COG0848, ExbD, Biopolymer-Transport-Protein (1e-06)	ITS

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
522	287	TolQ, Biopolymer-Transport-Protein (COG0811)	Potentiell TolQ-Protein	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_865808.1	4e-25	34	CDD10678, COG0811, TolQ, Biopolymer Transport-Protein (4e-18)	ITS
523	209	TolQ, Biopolymer Transport-Protein (COG0811)	Potentiell TolQ-Protein	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_869566.1	1e-50	45	CDD10678, COG0811, TolQ, Biopolymer Transport-Protein (2e-15)	ITS
524	162	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
525	206	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
526	365	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
527	215	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
528	235	Transkriptionsregulator KdpE des KDP-Operons	Transkriptionsregulator KdpE des KDP-Operons (CheY-ähnliche "receiver"-Domäne und HTH-Type DNA-Bindedomäne)	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	NP_350258.1	8e-51	45	CDD10613, COG0745, OmpR, "Response regulator" bestehend aus einer CheY-ähnlichen "Receiver"-Domäne und einer "winged-helix" DNA-Bindedomäne (2e-39)	ST; TS
529	432	Sensor-Histidin-Kinase KdpD eines 2-Komponenten-System (EC 2.7.3.-) (COG2205)	Sensor-Histidin-Kinase	<i>Vibrio cholerae</i> O1 biovar eltor Stamm 16961	NP_232922.1	9e-37	41	CDD11912, COG2205, KdpD, Osmosensitive K+-Kanal-Histidin-Kinase (2e-56)	ST
530	124	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
531	226	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
532	369	Insertions Element IS630 hypothetisches 39 kDa Protein (pfam00665, rve, Integrase Kern-Domäne)	Sensor-Histidin-Kinase	<i>Vibrio cholerae</i> O1 biovar eltor Stamm N16961	NP_232922.1	9e-37	41		RKT
533	622	Transposase	Hypothetisches Protein	<i>Magnetococcus sp.</i> MC-1	ZP_00044488.1	1e-41	27	CDD14505, COG5421, COG5421, Transposase (4e-20)	RKT
534	950	Serin/Threonin-Protein-Kinase (smart00220)	Potentielle Serin/Threonin-Protein-Kinase	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_869105.1	2e-69	45	CDD25296, smart00220, S_TKc, Serin/Threonin-Protein-Kinase, katalytische Domäne; Phosphotransferasen. Serin- oder Threonin-spezifische Kinase-Superfamilie (9e-58)	ST
535	141	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP

F) Cosmid Slc_1q

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
601	487	Serin/Threonin-Protein-Pphosphatase mit "EF-hands-1"-Motiv (EC 3.1.3.16)	Serin/Threonin-Protein-Pphosphatase mit "EF-hands-1"-Motiv (EC 3.1.3.16)	<i>Homo sapiens</i>	NP_689410.1	2e-52	32	CDD3753, smart00156, PP2Ac, Protein-Phosphatase 2A-Homologe, Serin/Threonin-Protein-Phosphatase, katalytische Domäne (1e-52)	ST
602	298	Mitochondrielles 28S ribosomales Protein S2	Mitochondrielles 28S ribosomales Protein S2	<i>Homo sapiens</i>	NP_057118.1	2e-46	40	CDD18625, KOG0832, Mitochondrial/chloroplast ribosomal protein S2 (2e-28)	TLR
603	1028	Kinesin-ähnliches Boursin	Kinesin-ähnliches Boursin	<i>Paracentrotus lividus</i>	CAC20783.1	1e-162	37	SDD27860, cd01364, KISc_BimC_Eg5, BimC/Eg5 Spindel-Pol-Proteine, Kinesin-Motor-Domäne, (2e-137)	ZT
604	708	ATP-Bindekassette, Sub-Familie D, Mitglied 2	Vorausgesagte ATP-Bindekassette, Sub-Familie D, (ALD) Mitglied 1 Adrenoleukodystrophy-Protein;	<i>Gallus gallus</i>	NP_000024.2	1e-163	46	CDD13443, COG4178, ABC-Typ-uncharakterisiertes Transportsystem, Permease und ATPase-Komponente (1e-56)	LM
605	104	Ras-verwandtes GTP-bindende B kurze Isoform B; GTP-Bindeprotein RagB	Rraga-Protein	<i>Homo sapiens</i>	CAA62131.1	5e-49	90	CDD21664, GTP-binding protein (2e-07)	ST
606	216	Konserviertes Protein	Proteinprodukt ohne Namen	<i>Tetraodon nigroviridis</i>		8e-48	42	CDD15976, pfam04670, Gtr1_RagA (2e-26)	HP
607	535	Quinon-Oxidoreduktase (NADPH:Quinon-Reduktase) (Zeta-crystallin)	GA11817-PA	<i>Drosophila pseudoobscura</i>	QOR_CAVP O	5e-45	46	CDD5398, cd00200, WD40-Domäne (1e-22)	E
608	176	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP

G) Cosmid slc_1s

701	76	Hypothetischer ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, Permease-Komponente	ABC-Transporter Permease	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	NP_772730.1	1e-07	39	CDD10470, COG0600, TauC, ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, Permease-Komponente (1e-10)	I-TM
702	527	Hypothetischer ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, periplasmatische Komponente	Unbekanntes Protein	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_923121.1	2e-11	26	CDD10584, COG0715, TauA, ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, periplasmatische Komponente (1e-11)	I-TM
703	253	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
704	254	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
705	352	Konserviertes Protein (hypothetische Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase)	Hypothetisches Protein RB7999	<i>Pirellula sp. 1</i>	NP_868135.1	e-104	59	CDD10203, COG0329, DapA, Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase (4e-08)	AS-M / ZH-B

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
706	328	Konserviertes Protein	Hypothetisches Protein RB7998	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_868134.1	4e-90	50	CDD10325, COG0451, WcaG, Nukleosid-diphosphat-Zucker-Epimerasen (9e-06)	ZH-B/KH-M
707	221	Konserviertes Protein	Hypothetisches Protein RB7926	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_868101.1	6e-29	38		KP
708	282	Hypothetische Serin/Threonin-Protein-Kinase (katalytische Domäne)	Serin/Threonin-Protein-Kinase	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_924042.1	1e-07	29	CDD25380, pfam00069, Protein-Kinase-Domäne (8e-10)	ST
709	973	Potentielle Serin/Threonin-Protein-Kinase (mit membran-durchspannender Domäne)	Potentielle Serin/Threonin-Protein-Kinase	<i>Myxococcus xanthus</i>	AAF87929.1	1e-34	42	CDD17776, cd00180, S_TKc, Potentielle Serin/Threonin-Protein-Kinase, katalytische Domäne (3e-44)	ST
710	314	Konserviertes Protein (potentielle Phospholipase/ Lecithinase/Hämolysin; COG3240)	Protein mit Ähnlichkeit zu Esterasen	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_923900.1	1e-25	35	CDD12577, COG3240, COG3240, Phospholipase/Lecithinase (2e-21)	LM
711	715	Potentiellies AslA (Arylsulfatase A und verwandte Enzyme)	Potentielle Sulfatase	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	NP_733737.1	2e-23	24	CDD12458, COG3119, AslA, Arylsulfatase A und verwandte Enzyme (4e-38)	I-TM
712	1135	Potentiellies OmpA-verwandtes Protein	OmpA-verwandtes Protein	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> Stamm ATCC 33913	NP_639471.1	1e-21	31		ZH-B
713	443	Hypothetische Imidazolen-Propionase oder verwandte Amidohydrolasen	COG1228: Hypothetische Imidazolen-Propionase oder verwandte Amidohydrolasen	<i>Azotobacter vinelandii</i>	ZP_00089471.1	4e-25	29	CDD10946, COG1228, HutI, Imidazolen-Propionase oder verwandte Amidohydrolasen (2e-09)	SM-BT
714	262	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
715	427	Alkohol-Dehydrogenase, Klasse IV	Eisen-enhaltende Alkohol-Dehydrogenase; Alkohol-Dehydrogenase 8	<i>Mus musculus</i>	NP_780445.1	e-125	57	CDD21636, KOG3857, Alkohol-Dehydrogenase, Klasse IV (3e-132)	E
716	600	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Hypothetisches Protein	<i>Nostoc unctiforme</i>	ZP_00110775.1	4e-10	20		HP
717	1123	OmpA-verwandtes Protein	OmpA-verwandtes Protein	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> Stamm ATCC 33913	NP_639471.1	8e-23	30	CDD25563, pfam00593, TonB abhängiger Rezeptor. (9e-08)	ZH-B
718	208	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
719	96	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
720	223	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
721	115	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
722	751	1,4- α -Glukan verzweigendes Enzym (EC 2.4.1.18)	COG0296: 1,4- α -Glukan verzweigendes Enzym	<i>Clostridium thermocellum</i> ATCC 27405	ZP_00061166.1	0.0	55	CDD10170, COG0296, GlgB, 1,4- α -Glukan verzweigendes Enzym (0.0)	KH-M
723	545	ATPase-Komponente eines ATP-Transporters mit verdoppelter ATPase-Domäne	ATPase-Komponente eines ATP-Transporters mit verdoppelter ATPase-Domäne	<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	NP_950064.1	e-172	56	CDD10359, COG0488, Uup, ATPase-Komponente eines ATP-Transporters mit verdoppelter ATPase-Domäne (1e-145)	KH-M

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
724	143	Uncharakterisiertes konserviertes Protein (COG2947)	Hypothetisches Protein	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	ZP_00019025.1	3e-30	50	CDD12295, COG2947, COG2947, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (6e-30)	KP
725	333	Serin/Threonin Protein-Kinase, katalytische Untereinheit	Serin/Threonin Protein-Kinase, katalytische Untereinheit	<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	NP_825515.1	5e-39	36		ST

H) Cosmid Slc_1t

801	215	Kalium-Aufnahme-Protein	AGR_C_1288p	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	NP_353736.1	1e-49	61	CDD12497, COG3158, Kup, K+ transporter (1e-579)	I-TM
802	462	Mit GGDEF-Motiv gekoppelte "response regulator receiver"-Domäne	AGR_C_2387p	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	NP_354305.1	2e-92	42	CDD13026, COG3706, PleD, "Response regulator" mit CheY-ähnlicher "receiver"-Domäne und einer GGDEF-Domäne (3e-84)	ST
803	92	Hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006137.1	7e-10	41		HP
804	136	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
805	232	Potentielle Halogensäuren Dehalogenase-artige Hydrolase	COG0546: Vorausgesagte Phosphatase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006136.1	6e-46	46	CDD10417, COG0546, Gph, Vorausgesagte Phosphatasen (3e-20)	AS-M/KH-M
806	519	Trimethylamin-Methyltransferase (MTTB)	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_102853.1	e-148	50	CDD25126, pfam06253, MTTB, Trimethylamin-Methyltransferase (MTTB). (3e-169)	AS-M
807	162	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
808	185	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
809	323	Kationen-Transport-Protein	COG0598: Mg ²⁺ und Co ²⁺ -Transporter	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00066346.1	7e-53	36	CDD10468, COG0598, CorA, Mg ²⁺ und Co ²⁺ -Transporter (4e-43)	I-TM
810	221	Konserviertes membran-assoziiertes Protein	Hypothetisches Protein	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005857.1	2e-43	44		KP
811	467	UDP-N-acetylmuramoylalanin-D-Glutamat-Ligase (EC 6.3.2.9)	COG0771: UDP-N-acetylmuramoylalanin-D-Glutamat-Ligase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00004578.1	e-151	60	CDD10639, COG0771, MurD, UDP-N-acetylmuramoylalanin-D-Glutamat-Ligase (4e-100)	ZH-B
812	70	Hypothetisches Protein	Lactoylglutathion-Lyase	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00067080.1	1e-14	52		HP
813	91	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
814	85	Uncharakterisierte Protein-Familie (UPF0156)	Hypothetisches Protein UPF0156.1	<i>Vibrio cholerae</i>	YV6A_VIBCH	1e-14	55	CDD5735, pfam03693, UPF0156, Uncharakterisierte Protein-Familie (UPF0156. mit konserviertem GRY-Motif. (2e-21)	KP
815	103	Hypothetical protein (COG3668, ParE (Plasmid-Stabilisierungssystem))	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_436603.1	5e-08	38	CDD12991, COG3668, ParE, Proteine eines Plasmid-Stabilisationssystems (5e-11)	HP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
816	448	MiaB, 2-Methylthioadenin-Synthetase (COG0621)	COG0621: MiaB, 2-Methylthioadenin-Synthetase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00006472.1	0.0	78	CDD10491, COG0621, MiaB, 2-Methylthioadenin-Synthetase (8e-113)	TLR
817	232	Konserviertes Protein (hypothetische Tyrosin/Serin-Phosphatase, COG2365)	Hypothetisches Protein	<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	NP_419125.1	2e-28	36	CDD12037, COG2365, COG2365, Protein-Tyrosin/Serin-Phosphatase (3e-09)	ST
818	556	SUL1, Sulfat-Permease und verwandte Transporter (MFS-Superfamilie) (COG0659)	Sulfat-Permease und verwandte Transporter (MFS-Superfamilie) (COG0659)	<i>Magnetococcus</i> sp. MC-1	ZP_00043430.1	e-159	58	CDD10529, COG0659, SUL1, Sulfat-Permease und verwandte Transporter (MFS-Superfamilie) (3e-98)	I-TM
819	665	N-MethylhydantoinaseA/ Aceton-Carboxylase, β -Untereinheit, HyuA (COG0145)	COG0145: N-MethylhydantoinaseA/ Aceton-Carboxylase, β -Untereinheit	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005265.1	e-157	55	CDD10020, COG0145, HyuA, N-MethylhydantoinaseA/ Aceton-Carboxylase, β -Untereinheit (3e-78)	AS-M / SM-BT
820	407	CsdB, Selenocystein-Lyase (COG0520)	COG0520: Selenocystein-Lyase	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00004282.1	e-173	70	CDD10391, COG0520, CsdB, Selenocystein-Lyase (4e-129)	AS-M
821	338	NodQ, bifunktionales Enzym (Nodulationsprotein) [beinhaltet: Sulfat-Adenylyl-Transferase Untereinheit 1 (Sulfat-Adenylyl-Transferase) (SAT) (ATP-Sulfurylase, große Untereinheit); Adenylylsulfat-Kinase (APS kinase) (ATP-adenosine-5'-phosphosulfate 3'-phosphotransferase)]	NodQ	<i>Azospirillum brasilense</i>	NP_638517.1	e-109	58	CDD10400, COG0529, CysC, Adenylylsulfat-Kinase und verwandte Kinasen (1e-82)	I-TM
822	69	Potentiell Kälteschock-Protein	AGR_C_161p	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	NP_353140.1	4e-21	66	CDD10994, COG1278, CspC, Kälteschock-Proteine (2e-21)	TS
823	247	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
824	357	4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase	4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC12472	NP_900639.1	e-127	65	CDD12523, COG3185, COG3185, 4-4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase und verwandte Hämolysine (2e-125)	AS-M
825	151	Konserviertes Protein (COG3791)	Hypothetisches Protein	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_386112.1	1e-38	48		KP
826	223	Maleylacetoacetat-Isomerase (EC 5.2.1.2)	Protein der Glutathion-S-Transferase-Familie	<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	NP_717282.1	2e-43	44	CDD18661, KOG0868, Glutathione-S-Transferase (1e-44)	PPM
827	380	Homogentisat 1,2-Dioxygenase (EC 1.13.11.5)	Homogentisat 1,2-Dioxygenase	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	NP_900640.1	e-122	56	CDD12836, COG3508, HmgA, Homogentisat-1,2-Dioxygenase (3e-67)	SM-BT
828	291	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
829	137	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
830	320	Protein der Fumarylacetoacetat-Hydrolase-Familie	Protein der Fumarylacetoacetat-Hydrolase-Familie	<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	NP_421334.1	e-126	70	CDD10054, COG0179, MhpD, 2-Keto-4-pentenoat-Hydratase/2-Oxohepta-3-en-1,7-diol-säure-Hydratase (Catechol-Weg) (3e-41)	SM-BT

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
831	179	Hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein Bcep02006917	<i>Burkholderia fugorum</i> LB400	ZP_00278350.1	9e-14	27		HP
832	233	Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit A, AtoD (EC 2.8.3.5)	COG1788: Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, α -Untereinheit	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005073.1	2e-95	75	CDD11499, COG1788, AtoD, Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, α -Untereinheit (7e-82)	LM
833	215	Potentiell Phospholipid-Bindeprotein (COG1881)	COG1881: Phospholipid-Bindeprotein	<i>Desulfitobacterium hafniense</i>	P_00100879.1	7e-20	44	CDD11590, COG1881, Phospholipid-Bindeprotein (2e-21)	LM
834	209	Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit B, AtoA (EC 2.8.3.5)	COG2057: Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit B	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	ZP_00005072.1	2e-80	76	CDD11765, COG2057, AtoA, Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit B (1e-78)	LM
835	143	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
836	88	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
837	476	Konserviertes Protein (COG5361)	COG5361: Uncharakterisiertes konserviertes Protein	<i>Ralstonia metallidurans</i>	ZP_00025826.1	1e-52	34	CDD14456, COG5361, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (6e-49)	KP
838	731	Peroxidase/Katalase (EC 1.11.1.6)	Peroxidase/Katalase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_107344.1	0.0	65	CDD10250, COG0376, KatG, Katalase (Peroxidase I) (0.0)	I-TM
839	191	Konserviertes Protein (DUF1080)	Potentielle sekretierte Glykosyl-Hydrolase	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_867662.1	2e-11	30	CDD26552, pfam06439, DUF1080, Domäne mit unbekannter Funktion (DUF1080). (2e-13)	KP
840	457	Cytochrom P450	AGR_C_2890p	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	NP_354568.1	1e-67	36	CDD17954, KOG0157, Cytochrome P450 CYP4/CYP19/CYP26 Subfamilien (9e-66)	E; LM
841	179	Hypothetisches Protein	COG1309: Transkriptionsregulator	<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	ZP_00010403.1	5e-10	28	CDD11025, COG1309, AcrR, Transkriptionsregulator (5e-06)	HP
842	216	Potentielle Kynureninase	Kynureninase	Unkultiviertes Bakterium 439	AAR37647.1	6e-51	39	CDD13160, COG3844, Kynureninase (3e-51)	AS-M

I) Cosmid Slc_1u

901	1007	Potentiell Typ I Restriktions-modifikationssystem, Restriktionsuntereinheit R und verwandte Helikasen (EC 3.1.21.3)	COG0610: Potentiell Typ I Restriktionsmodifikationssystem, Restriktionsuntereinheit R und verwandte Helikasen	<i>Methanosarcina barkeri</i>	ZP_00078962.1	0.0	39	CDD10480, COG0610, Typ I seitenspezifisches Restriktions-modifikationssystem, R (Restriktions-) Untereinheit und verwandte Helikasen (6e-62)	A
902	174	Konserviertes hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein	<i>Ralstonia solanacearum</i>	NP_521370.1	2e-21	32		KHP
903	383	Konserviertes hypothetisches Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_663126.1	9e-67	40	CDD12209, COG2856, Vorausgesagte Zn-Peptidase (1e-15)	KHP
904	477	Konserviertes Protein	MC29	<i>Micrococcus sp.</i> 28	NP_862407.1	7e-46	31	CDD10085, COG0210, UvrD, Superfamilie I DNA- und RNA-Helikasen (5e-12)	DRR

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
905	566	Konserviertes hypothetisches Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Ralstonia eutropha</i>	NP_942789.1	5e-47	28	CDD12918, COG3593, Vorasugesagte ATP-abhängige Endonuklease der OLD Familie (5e-08)	KHP
906	424	Potentiell Typ I Restriktions-modifikationssystem, Spezifitätsuntereinheit	COG0732: Restriktionsendonuklease Untereinheit S	<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	ZP_00071586.1	4e-54	30	CDD10601, COG0732, HsdS, Restriktionsendonuklease S-Untereinheit (4e-19)	A
907	390	Konserviertes Protein	COG0286: Typ I Restriktionsmodifikationssystem Methyltransferase-Untereinheit	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> G20	ZP_00129169.1	6e-20	50		KP
908	405	Potentielle Serin-Protease DO-like	Potentielle Trypsin-artige Serin-Protease	<i>Myxococcus xanthus</i>	AAF_87931.1	1e-49	36	CDD10140, COG0265, DegQ, Trypsin-ähnliche Serin-Protease, normal periplasmatisch, enthalten C-terminale PDZ-Domäne (2e-44)	PPM
909	720	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
910	324	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
911	421	Konserviertes Protein (Hypothetische Peptidase)	Protein mit Ähnlichkeit zu Polyhydroxyalkanoat-Depolymerase-Vorläufer	<i>Pirellula sp.</i> 1	NP_869281.1	8e-12	25	CDD13381, COG4099, COG4099, Vorasugesagte Peptidase (2e-15)	AS-M
912	410	Hypothetisches Lantibiotin modifizierendes Enzym	CinM-Protein	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>	CAD60521.1	1e-13	30	CDD13634, COG4403, LcnDR2, Lantibiotin-modifizierendes Enzym (6e-17)	A
913	957	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
914	230	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
915	199	Hypothetisches Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase (LGT)	Potentiell Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase	<i>Clostridium tetani</i> E88	NP_780960.1	8e-11	34	CDD24591, pfam01790, LGT, Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase (2e-18)	ZH-B
916	294	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
917	350	Konserviertes Protein (Vorausgesagte Glyceryl-Transferase)	Hypothetisches Protein glr1064	<i>Gloeobacter violaceus</i>	NP_924010.1	2e-32	39	CDD13814, COG4671, COG4671, Vorausgesagte Glyceryl-Transferase (6e-47)	KP
918	133	Konserviertes Protein (hypothetisches "death-on-curing" Protein)	Doc protein	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_661237.1	2e-24	47	CDD12977, COG3654, Doc, Prophagen-Erhaltungssystem-Killerprotein (3e-18)	HP
919	460	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
920	292	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
921	116	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
922	352	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
923	353	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
924	296	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
925	366	3-Isopropylmalat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.85)	COG0473: Isocitrat/Isopropylmalat-Dehydrogenase	<i>Desulfitobacterium hafnense</i>	ZP_00098282.1	9e-35	36	CDD16655, pfam00180, Isocitrat/Isopropylmalat-Dehydrogenase. (4e-38)	KH-M

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
926	573	Aldehyd-Dehydrogenase (thermostabil) (EC 1.2.1.3)	Protein mit Ähnlichkeit zu einer NAD ⁺ -abhängigen Aldehyd-Dehydrogenase	<i>Alkalilimnicola ehrlichei</i> MLHE-1	ZP_00865531.1	2e-119	42	CDD10741, COG1012, PutA, NAD-dependent aldehyde dehydrogenases (3e-81)	KH-M
927	128	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Procollagen-Lysin, 2-Oxoglutarat 5-Dioxygenase 3, Procollagen-Lysin, 2-Oxoglutarat 5-Dioxygenase 3	<i>Rattus norvegicus</i>	NP_835202.1	5e-12	40		HP

J) Cosmid Slc_1x

1001	261	4-Hydroxy-2-oxovalerat-Aldolase (EC 4.1.2.-)	4-Hydroxy-2-oxovalerat-Aldolase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_106094.1	4e-70	60	CDD13153, COG3836, HpcH, 2,4-Dihydroxyhept-2-en-1,7-diol-säure-Aldolase (4e-47)	KH-M
1002	409	Aminotransferase (EC 2.6.1.-)	Potentielle Aminotransferase	<i>Ralstonia solanacearum</i>	NP_522355.1	4e-75	40	CDD10310, COG0436, Aspartat/Tyrosin/aromatische Aminosäuren-Aminotransferase (1e-73)	AS-M
1003	265	Extrazelluläres Bindeprotein (Familie 3)	Unbekanntes Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_106092.1	2e-95	70	CDD25526, pfam00497, SBP_bac_3, Bakterielle extrazelluläre „Solute“-Bindepotein-Familie, family 3. (2e-46)	AS-M
1004	224	ABC-Transporter-Permease	ABC-Transporter-Permease	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_106091.1	3e-76	71	CDD10633, COG0765, HisM, ABC-Typ Aminosäure-Transport-System, Permease-Komponente (1e-39)	AS-M
1005	426	Potentielle Aminotransferase	Aminotransferase nifS	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_106090.1	0.0	83	CDD10391, COG0520, CsdB, Selenocystein-Lyase (3e-87)	AS-M
1006	475	Aldehyd-Dehydrogenase (EC 1.2.1.3)	Aldehyd Dehydrogenase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_107368.1	e-164	58	CDD10741, COG1012, PutA, NAD-abhängige Aldehyd-Dehydrogenase (4e-113)	E
1007	295	Potentielle Metall-abhängige Hydrolase (COG3618)	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103232.1	e-147	84	CDD12942, COG3618, COG3618, Vorausgesagte Metall-abhängige Hydrolase mit TIM-barrel-Struktur (3e-65)	E
1008	376	CoxE, Protein mit von Willebrand Faktor Typ A (COG3552)	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103231.1	e-109	67	CDD12879, COG3552, CoxE, Protein mit von Willebrand Faktor Typ A (vWA) Domäne (1e-64)	E
1009	292	CoxD (MoxR-ähnliche ATPase, COG0714)	Hypothetisches Protein mlr1705	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103230.1	e-113	76	CDD10583, COG0714, COG0714, MoxR-ähnliche ATPasen (1e-25)	E
1010	334	CoxL	Vorausgesagte Dehydrogenase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_254264.1	e-153	80	CDD11243, COG1529, CoxL, aerobe Kohlenmonoxid-Dehydrogenase, große Untereinheit CoxL/CutL Homologe (1e-51)	E
1011	456	CoxL	Vorausgesagte Dehydrogenase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_254264.1	0.0	80	CDD11243, COG1529, CoxL, aerobe Kohlenmonoxid-Dehydrogenase, große Untereinheit CoxL/CutL Homologe (4e-87)	E
1012	160	CoxS (COG2080)	Potentielle Dehydrogenase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103227.1	8e-69	85	CDD11788, COG2080, CoxS, aerobe Kohlenmonoxid-Dehydrogenase, große Untereinheit CoxS/CutS Homologe (5e-52)	E

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1013	265	CoxM (COG1319)	Potentielle Oxidoreduktase	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103226.1	2e-74	68	CDD11035, COG1319, CoxM, aerobe Kohlenmonoxid-Dehydrogenase, große Untereinheit CoxM/CutM Homologe (5e-33)	E
1014	147	Konserviertes Protein	Unbekanntes Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103225.1	2e-55	69	CDD23587, pfam05146, DUF704, Aha1-Domäne. (3e-05)	KP
1015	274	Potentieller Transkriptionsregulator, AraC-Familie	Potentieller Transkriptionsregulator	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103224.1	1e-49	74	CDD11914, COG2207, AraC, AraC-Typ DNA-Bindedomäne enthaltendes Protein (1e-18)	TS
1016	443	ABC-Transporter, periplasmatisches Substrat-bindendes Protein, UgpB (COG1653)	ABC-Transporter periplasmatisches Substrat-bindendes Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105991.1	0.0	81	CDD11364, COG1653, UgpB, ABC-Typ Zucker-Transport-System, periplasmatische Komponente (6e-30)	KH-M
1017	332	ABC-Transporter, Permease, UgpA (COG1175,)	ABC-Transporter, Permease	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105990.1	e-143	83	CDD10893, COG1175, UgpA, ABC-Typ Zucker-Transport-System, Permease-Komponente (2e-60)	KH-M
1018	315	ABC-Transporter, Permease, UgpE (COG0395)	ABC-Transporter, Permease	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105989.1	e-144	90	CDD10269, COG0395, UgpE, ABC-Typ Zucker-Transport-System, Permease-Komponente (4e-54)	KH-M
1019	68	Hypothetisches Protein	Unbekanntes Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105988.1	3e-17	73		HP
1020	369	ABC-Transporter, ATPase-Komponente, MalK (COG3839)	ABC-Transporter, ATP-Bindeprotein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105987.1	e-179	85	CDD13156, COG3839, MalK, ABC-Typ Zucker-Transport-System, ATPase-Komponente (9e-115)	KH-M
1021	338	ABC-Transporter, ATPase-Komponente, MalK (COG3839)	ABC-Transporter, ATP-Bindeprotein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105986.1	e-143	75	CDD13156, COG3839, MalK, ABC-Typ Zucker-Transport-System, ATPase-Komponente (8e-103)	KH-M
1022	200	Dak2	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105984.1	5e-52	65	CDD25948, pfam02734, Dak2, DAK2 Domäne (6e-29)	E
1023	129	EIIA-man, PTS	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105983.1	9e-41	87	CDD12743, COG3412, Uncharakterisiertes Protein, konserviert in Bakterien (4e-32)	E
1024	103	HPr-verwandtes Protein, PTS (COG1925)	Phosphocarrier-Protein HP	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105982.1	4e-21	64	CDD11633, COG1925, FruB, Phosphotransferase-System, HPr-verwandte Proteine (1e-10)	E
1025	533	EI, PTS (Phosphoenolpyruvat-Protein-Kinase)	Phosphoenolpyruvat-Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105981.1	e-145	61	CDD10803, COG1080, PtsA, Phosphoenolpyruvat-Protein-Kinase (PTS-System EI Komponente in Bakterien) (8e-114)	E
1026	144	Konserviertes Protein	Unbekanntes Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105980.1	1e-48	76		KP
1027	328	Dihydroxyacetonkinase, Dak1 (COG2376)	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_105979.1	e-127	73	CDD12048, COG2376, DAK1, Dihydroxyaceton-Kinase (1e-77)	E
1028	278	Potentiell universelles Stress-Protein UspA	Unbekanntes Protein	<i>Rhizobium etli</i>	NP_660023.1	2e-27	32	CDD10459, COG0589, UspA, universelles Stress-Protein UspA und verwandte Nukleotid-bindende Verwandte (5e-05)	ST
1029	527	Sensor-Protein FixL (EC 2.7.3.-)	FixL Sauerstoff-regulierte Histidin-Kinase	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_435916.1	e-136	65	CDD13451, COG4191, Signal-Transduktions-Histidin-Kinase regulierendes C4-Dicarboxylat-Transport-System (2e-40)	ST

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1030	207	Transkriptionsregulator FixJ	Transkriptionsaktivator FixJ	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_435915.1	1e-61	66	CDD13729, COG4566, TtrR, "Response regulator" (3e-59)	ST
1031	121	Hypothetisches Protein (potentieller Transkriptionsregulator FixT2)	FixT2 Transkriptionsregulator	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	NP_435653.1	2e-08	36	CDD13729, COG4566, TtrR, "Response regulator" (2e-05)	ST
1032	216	Regulationsprotein bei der Stickstofffixierung, FixK	Regulationsprotein bei der Stickstofffixierung, FixK	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_107057.1	2e-65	69	CDD10533, COG0664, Crp, cAMP-bindendes Protein – Katabolit-Genaktivator und regulatorische Untereinheit von cAMP-abhängigen Protein-Kinasen (7e-26)	ST
1033	445	Konserviertes Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Brucella suis</i> 1330	NP_699686.1	e-101	47	CDD13703, COG4529, COG4529, Uncharakterisiertes in Bakterien konserviertes Protein (3e-88)	KP
1034	295	Dienlacton-Hydrolase und verwandte Enzyme (COG0412)	Potentiell Enzym	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 EDL933	NP_289577.1	e-127	75	CDD10286, COG0412, Dienelacton-Hydrolase und verwandte Enzyme (4e-42)	SM-BT
1035	491	Uncharakterisiertes, in den Propionat-Katabolismus involviertes Protein (COG2079, PrpD)	COG2079: Uncharakterisiertes, in den Propionat-Katabolismus involviertes Protein	<i>Burkholderia fungorum</i>	ZP_00027834.1	2e-43	33	CDD11787, COG2079, PrpD, Uncharakterisiertes, in den Propionat-Katabolismus involviertes Protein (7e-41)	E
1036	373	COG1804, Vorausgesagte Acyl-CoA-Transferase/Carnitin-Dehydratase, CaiB	Blr 7246	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	NP_773886.1	1e-99	52	CDD11514, COG1804, CaiB, Vorausgesagte Acyl-CoA-Transferase/Carnitin-Dehydratase (2e-85)	LM
1037	392	Acyl-CoA-Dehydrogenase, CaiA (EC 1.3.99.3), (COG1960)	Protein der Acyl-CoA-Dehydrogenase-Familie	<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	NP_419926.1	e-163	74	CDD11668, COG1960, CaiA, Acyl-CoA-Dehydrogenasen (4e-70)	LM
1038	389	L-Alanin-DL-Glutamat-Epimerase und verwandte Enzyme der Enolase-Superfamilie (COG4948)	Protein der Familie der Mandelat-Racemasen/Muconat-laktonisierenden Enzyme	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> Stamm DC3000	NP_793824	7e-164	72	CDD14081, COG4948, L-Alanin-DL-Glutamat-Epimerase und verwandte Enzyme der Enolase-Superfamilie (5e-44)	ZH-B
1039	110	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP

K) Cosmid Slc_2g

1101	211	Potentielle Protease	N-Acyl-L-Aminosäure-Amidohydrolase	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. Citri Stamm 306	NP_644153.1	8e-31	45	CDD11187, COG1473, AbgB, Metall-unabhängige Amidase/Aminoacylase/Carboxypeptidase (2e-40)	AS-M
1102	120	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1103	738	Potentielle Protease <i>yuxL</i> (EC 3.4.21.-)	Peptidase S9, Prolyl-Oligopeptidase Familie	<i>Bacillus anthracis</i> A2012	NP_654107.1	1e-60	27	CDD11220, COG1506, DAP2, Dipeptidylaminopeptidasen/Acylaminoacyl-Peptidasen (9e-63)	AS-M
1104	1113	Konserviertes Protein	Hypothetische Amidohydrolase	<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	NP_715659.1	1e-138	30	CDD10690, COG0823, TolB, Periplasmatische Komponente des Tol Biopolymer-Transport-Systems (2e-13)	KP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1105	189	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1106	136	Konserviertes Protein	Hypothetisches Protein	<i>Mesorhizobium loti</i>	NP_103254.1	4e-18	48	CDD11497, COG1786, COG1786, Uncharakterisiertes konserviertes Protein (3e-20)	KP
1107	423	Konserviertes Protein (pfam04412)	COG1679: Uncharakterisiertes konserviertes Protein	<i>Burkholderia fungorum</i>	ZP_00027998.1	1e-101	49	CDD15710 pfam04412, DUF521, Protein mit unbekannter Funktion (DUF521). (3e-98)	KP
1108	260	Konserviertes membran-assoziiertes Protein	Potentielle Methyltransferase	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>	CAE79571.1	8e-14	27	CDD11934, COG2227, UbiG, 2-Polyprenyl-3-methyl-5-hydroxy-6-methoxy-1,4-benzoquinol-Methylase (6e-10)	KP
1109	346	Threonin-Dehydratase (EC 4.2.1.16)	COG1171: Threonin-Dehydratase	<i>Nostoc punctiformis</i>	ZP_00110132.1	2e-51	40	CDD10889, COG1171, IlvA, Threonin-Dehydratase (6e-76)	AS-M
1110	147	Potentiell osmotisch induzierbares Protein	COG1764: Vorausgesagtes Redoxprotein, Regulation von Disulfidbrückenbildung	<i>Cytophaga hutchinsonii</i>	ZP_00118058.1	8e-27	47	CDD11475, COG1764, OsmC, Vorausgesagtes Redoxprotein, Regulation von Disulfidbrückenbildung (7e-17)	PPM
1111	330	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Hypothetisches Protein	<i>Microbulbifer degradans</i> 2-40	ZP_00066117.1	2e-24	32		HP
1112	555	γ -Glutamyl-Transpeptidase	Potentielle Glutamyltransferase	<i>Bordetella bronchiseptica</i> RB50	NP_888143.1	6e-83	42	CDD24503, pfam01019, γ -Glutamyltranspeptidase (5e-126)	AS-M
1113	734	Glutamin-Synthetase	Gluthamin-Synthetase	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_662297.1	0.0	51	CDD13274, COG3968, COG3968, Uncharakterisiertes Protein mit Verwandtschaft zu Gluthamin-Synthetasen (0.0)	AS-M
1114	1075	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung Kommentar: Ähnlichkeit zu ORF 85 (2e-28)						HP
1115	836	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung Kommentar: Ähnlichkeit zu ORF 84 (2e-28)						HP
1116	325	Potentielle Threonin-Dehydratase (EC 4.2.1.16)	Threonin-Dehydratase-Familien-Protein	<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	NP_745335.1	2e-59	44	CDD10889, COG1171, IlvA, Threonin-Dehydratase (2e-66)	AS-M
1117	589	COG2989, Uncharakterisiertes in Bakterien konserviertes Protein	COG2989: Uncharakterisiertes in Bakterien konserviertes Protein	<i>Ralstonia metallidurans</i>	ZP_00025681.1	9e-51	31	CDD12333, COG2989, COG2989, Uncharakterisiertes in Bakterien konserviertes Protein (6e-64)	KP
1118	434	Glutamin-Synthetase	Gluthamin-Synthetase (Glutamat-Ammonium-Ligase)	<i>Clostridium saccharobutylicum</i>	GLNA_CLOSA	1e-147	57	CDD10049, COG0174, GlnA, Glutamin-Synthetase (2e-140)	AS-M
1119	321	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1120	282	Konserviertes Protein (COG2107)	Potentiell Protein	<i>Aquifex aeolicus</i>	NP_213214.1	4e-75	53	CDD3149, pfam02642, DUF191, Uncharakterisiertes Protein ACR, COG2107. (2e-71)	KP
1121	1051	Potentiell Sensor-Protein AtoS (EC 2.7.3.-)	Hypothetisches Protein	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	ZP_00017896.1	4e-43	42	CDD10512, COG0642, BaeS, Signal-Transductions Histidin-Kinase (2e-30)	ST

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1122	222	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1123	529	Potentielle Sensor-Hisidin-Kinase	Sensor-Box-Hisidin-Kinase	<i>Geobacter sulfurreducens</i> PCA	NP_952058.1	1e-26	33	CDD10512, COG0642, BaeS, Signal-Transductions Histidin-Kinase (8e-26)	ST
1124	118	Hypothetisches „response-regulator-receiver“ Protein	Kein Hit; Annotation beruht auf konservierter Domäne AtoC (e-value: 1e-10)						ST
1125	173	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1126	239	Potentielle Kurzketten-Dehydrogenase/Reduktase	Glukose-1-Dehydrogenase; YwfD	<i>Halobacterium sp.</i> NRC-1	NP_280345.1	2e-14	35	CDD18519, KOG0725, KOG0725, KOG0725, Reduktasen mit breitem Substratspektrum	KH-M
1127	297	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1128	55	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung; unvollständiger ORF						HP

L) Cosmid Slc_2j

1201	321	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1202	653	Potentielle Amino peptidase	Amino peptidase N	<i>Thermoanaerobacter tengcongensis</i>	NP_624209.1	6e-21	25	CDD10182, COG0308, PepN, Amino peptidase N (3e-19)	AS-M
1203	332	Konserviertes Protein (COG3804)	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Thermoanaerobacter tengcongensis</i>	NP_622857.1	2e-52	37	CDD13123, COG3804, COG3804, Uncharacterized conserved protein related to dihydrodipicolinate reductase (1e-34)	KP
1204	515	Uroporphyrinogen III-Synthase/Methyltransferase (EC 4.2.1.75)	COG0007: Uroporphyrinogen III-Methylase	<i>Geobacter metallireducens</i>	ZP_00082004.1	5e-83	38	CDD9883, COG0007, CysG, Uroporphyrinogen-III methylase (1e-52)	CE-M
1205	308	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1206	299	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1207	136	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1208	314	Konserviertes Protein (potentiell AtpB, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit A)	ATP-Synthase F0, Untereinheit A	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_660927.1	4e-23	34	CDD10230, COG0356, AtpB, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit A (5e-15)	E
1209	82	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1210	167	Konserviertes Protein (potentiell AtpB, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit B)	ATP-Synthase F0, Untereinheit B	<i>Chlorobium tepidum</i> TLS	NP_660925.1	2e-15	31	CDD10580, COG0711, AtpF, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit B (2e-12)	E
1211	307	Konserviertes hypothetisches Protein	Hypothetisches Protein	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	ZP_00019889.1	2e-27	36	CDD10566, COG0697, RhaT, Permease der "drug/metabolite"-Transporter (DMT)-Superfamilie (3e-07)	KHP

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1212	442	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1213	612	Potentielle membranständige GTPase (Stress-Antwort)	Potentielle membranständige GTPase (Stress-Antwort)	<i>Thermoanaerobacter tengcongensis</i>	NP_622534.1	0.0	56	CDD10935, COG1217, Typ AVorausgesagte Membran-GTPase, involviert in der Stress-Antwort (0.0)	ST
1214	167	Hypothetisches Protein (Hypothetisches Fe-S-Cluster)	COG0723: Rieske Fe-S Protein	<i>Desulfitobacterium hafniense</i>	ZP_00098654.1	1e-16	43	CDD10592, COG0723, QcrA, Rieske Fe-S Protein (1e-16)	E
1215	523	Menaquinol-c-Reduktase, Cytochrom B-Untereinheit	COG1290: Cytochrom B-Untereinheit des bc-Komplexes	<i>Geobacter metallireducens</i>	ZP_00081158.1	3e-46	32	CDD11006, COG1290, QcrB, Cytochrom b-Untereinheit des bc-Komplexes (9e-48)	E
1216	993	Konserviertes Protein (potentielle Dipeptidylaminopeptidase/Acylaminoacylpeptidase)	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Chromobacterium violaceum</i> ATCC 12472	NP_901973.1	1e-52	36	CDD11220, COG1506, DAP2, Dipeptidyl-Aminopeptidases/Acylaminoacyl-Peptidases (3e-29)	AS-M
1217	251	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1218	163	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1219	172	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1220	549	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1221	587	Hypothetisches membran-assoziiertes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1222	721	Dehydrogenase von verzweigten α -Ketonsäuren E1 (KOG0525)	(Pyruvat) Oxoisovalerat-Dehydrogenase Fusion der α - und β - Untereinheit	<i>Chlamydia trachomatis</i>	NP_219847.1	1e-128	41	CDD9898, COG0022, AcoB, Pyruvate/2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Komplex, Dehydrogenase (E1) Komponente, eukaryotischer Typ, β -Untereinheit (2e-118)	E
1223	136	Hypothetisches Protein	Konserviertes hypothetisches Protein	<i>Solibacter usitatus</i> Ellin6076	ZP_00521503	5e-11	36		HP
1224	256	Konserviertes membran-durchspannendes Protein (COG0705)	Protein der Rhomboid-Familie	<i>Leptospira interrogans</i> serovar lai Stamm 56601	NP_711400.1	1e-22	31	CDD10574, COG0705, GlpG, Uncharakterisiertes Membran-Protein (Homolog von <i>Drosophila</i> Rhomboid) (5e-17)	KP
1225	512	Virulenz-Faktor MviN	COG0728: Uncharakterisierter Membran-Protein; potentieller Virulenz-Faktor	<i>Geobacter metallireducens</i>	ZP_00079839.1	4e-46	27	CDD3517, pfam03023, MviN-ähnliches Protein (9e-61)	A
1226	149	Konserviertes hypothetisches Protein (COG1610)	Hypothetisches Protein	<i>Myxococcus xanthus</i>	S70830	3e-16	38		KHP
1227	380	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1228	327	Konserviertes Protein	WalW Protein	<i>Photorhabdus luminescens</i> subsp. <i>laumondii</i> TTO1	NP_932004.1	2e-30	27	CDD25772, pfam01522, Polysaccharid-Deacetylase (4e-05)	KP
1229	347	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1230	282	Hypothetisches Protein UbiE, Methylase involviert in Ubiquinon/Menaquinon-Biosynthese (COG2226)	Methyltransferase in Menaquinon/Biotin-Biosynthese	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> Stamm ATCC 33913	NP_638675.1	5e-14	40	CDD11933, COG2226, UbiE, Methylase involviert in Ubiquinon/Menaquinon-Biosynthese (2e-18)	CE-M

ORF-Name	Größe	Annotation	Ähnlichstes Protein bei NCBI	Organismus	Accession-Nummer	e-Value	I in %	Konservierte Domänen bei NCBI	Funktion
1231	313	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1232	174	Hypothetisches Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1233	527	Hypothetisches membran-durchspannendes Protein	Keine signifikante Übereinstimmung						HP
1234	254	Dolichol-phosphat-Mannosyltransferase (EC 2.4.1.83)	Dolichol-phosphat-Mannosyltransferase	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	NP_142068.1	2e-38	40	CDD20764, KOG2978, Dolichol-phosphate mannosyltransferase (5e-34)	KH-M

TS = Transkription

AS-M = Aminosäure-Transport und-Metabolismus

KH-M = Kohlenhydrat-Metabolismus

CE-M = Coenzym-Metabolismus

ZH-B = Zellhüllen-Biogenese

ST = Signaltransduktion

DRR = DNA-Replikation und Reparatur

TLR = Translation und Ribosomenstruktur und –biogenese

RKT = Rekombination und Transposons

ZT = Zellteilung

I-TM =Transport von anorganischen Ionen und Metabolismus

SM-BT = Sekundär-Metabolit Transport- und Biogenese

PPM = Posttranslationales Protein-Modifikation, Chaperone

LM = Lipid-Metabolismus

ITS = Intrazelluläres “Trafficking” und Sekretion

E = Energie-Produktion und –Umwandlung

A = Abwehrmechanismus oder Resistenz

HP = Hypothetisches Protein

KP = Konserviertes Protein

KHP = Konserviertes hypothetisches Protein

Abbildung 18: Verteilung der annotierten ORFs auf unterschiedliche Funktionsbereiche

3.4.1.1 Das Cosmid slc_1a

Wie bereits erwähnt, ist die Sequenzierung dieses Cosmides noch nicht abgeschlossen. Das Insert des Cosmids slc_1a besteht noch aus 2 Contigs, die zusammen eine Länge von 35875 bp haben. Die „ORF-Map“ des größeren der beiden Contigs (Contig 1) ist in der Abbildung 19 dargestellt. In der im Anhang hinterlegten Sequenz sind unsichere Basen zunächst als „N“ markiert, einfach abgedeckte Sequenzbereiche und Nukleotide mit einem kleineren Qualitätswert als 35 in dem Programm „Gap4“ sind rot geschrieben. 27 (77,1 %) der 36 ORFs konnten Funktionen zugeordnet werden. Dies ist der zweithöchste Wert aller Cosmide. Die ORFs 119 bis 123 bilden ein Cluster, dessen abgeleitete Aminosäuresequenzen die größte Ähnlichkeit zu Proteinen aus *Mesorhizobium loti* MAFF303099 zeigen (KANEKO et al., 2000), die für die Untereinheiten einer Sarcosin-Oxidase kodieren. Das ORF119-Protein ähnelt der γ -Untereinheit, das ORF122-Protein der δ - und das ORF123-Protein der β -Untereinheit der Sarcosin-Oxidase aus *M. loti*. In der α -Untereinheit befindet sich ein „frame-shift“, der wahrscheinlich auf die schlechte Sequenzqualität in diesem Bereich zurückgeführt

werden kann, deshalb ist sowohl das ORF120- als auch das ORF121-Protein als α -Untereinheit annotiert. Hier muss eine Verbesserung der Sequenzqualität zu genaueren Ergebnissen führen. Wie der Tabelle 12 A) entnommen werden kann, sind die Ähnlichkeiten zu den *M. loti*-Proteinen und den konservierten Domänen sehr unterschiedlich.

Abbildung 19: "ORF-Map" des Cosmids slc_1a (Contig 1)

ORFs sind in Blöcken dargestellt. Anhand der Lage der Blöcke in Bezug auf die Führungslinie kann die Richtung der Kodierung erkannt werden. Die Genprodukte der ORFs haben folgende Funktionen:

türkis	Aminosäure-Metabolismus
grün	Kohlenhydrat-Transport und -Metabolismus
blau	Coenzym-Metabolismus
gelb	verschiedene Funktionen
grau	Hypothetische Proteine

Die Identität der Aminosäuresequenz des ORF119 beträgt 56 %. Die Identität des ORF122 nur 21 %. Die Aminosäuresequenz des ORF128 zeigt im 1. Teil die größte Übereinstimmung mit einem potentiellen Glycin-Betain-Bindeprotein aus *Sinorhizobium meliloti* 1021 und im 2. Teil mit einer potentiellen ABC-Transporter-Permease aus *Photobacterium profundus* SS9 (55 % bzw. 51 % Identität). Das ORF129-Protein kodiert für ein ATP-Bindeprotein.

Auch die ORFs 102, 103, 104 und 105 bilden ein zusammenhängendes Cluster, dessen übersetzte Proteine im Kohlenhydrat-Stoffwechsel eine Rolle spielen. Die ORFs 102 und 103 kodieren für Beta-Galaktosidasen, der ORF104 für eine potentielle N-Acyl-D-glukosamin-2-Epimerase und der ORF105 für ein L-Fukosidase-Vorläufer-Protein. Die nächst verwandten Proteine stammen alle außer dem des ORF104, das aus *Bacteroides fragilis* stammt, aus dem Bakterium *Bacteroides thetaiotaomicron*. Die Identitäten liegen zwischen 27 und 40 % (s. Tabelle 12 A)).

Das ORF108-Protein ist als potentielle 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin-Synthase und das ORF109-Protein als Riboflavin-Biosynthese-Protein RibA annotiert. Beide Enzyme sind an der Biosynthese von Riboflavin beteiligt.

3.4.1.2 Das Cosmid slc_1f

Das Insert des Cosmides slc_1f ist 37400 bp groß. Der G + C-Gehalt beträgt 66,2 %. Dieses Cosmid zeichnet sich durch extrem geringe Übereinstimmungen in der Sequenz mit Datenbanksequenzen aus. 14 der 27 auf dem cosmidkodierten Proteine wurden als hypothetische Proteine, 5 weitere als konservierte Proteine annotiert. Damit zeigen nur 8 (30 %) der 27 ORFs auf Aminosäureebene so große Ähnlichkeit zu bekannten Proteinen, dass ihnen Funktionen zugeordnet werden konnten. Dies ist, wie aus der Tabelle 11 entnommen werden kann, der niedrigste Wert aller Cosmide. Die Proteine aus den Datenbanken, die die größten Ähnlichkeiten zeigen, stammen aus den unterschiedlichsten Bakterien-Phyla. Ein cosmidkodiertes Protein ist zu 40 % mit einem hypothetischen Protein aus dem Archaeon *Methanosarcina marzei* Gö1 identisch. Unter anderem wurden das von dem ORF212 kodierte Protein als ein Enzym mit einer vermutlichen Dehydrogenase-Aktivität und das von dem ORF213 kodierte Protein als ein Protein der Subtilase-Familie annotiert. Ausschlaggebend für die Annotation war in beiden Fällen die relativ deutliche Übereinstimmung mit den konservierten Domänen COG0673 bzw. pfam00082 mit „e-Values“ von $4e^{-32}$ bzw. $4e^{-24}$. Deutlichere Übereinstimmungen auf Aminosäureebene ergaben sich für die ORFs 214 und 218. Die übersetzte Aminosäuresequenz des ORF214 stimmt mit einem „e-Value“ von $5e^{-42}$ mit einer experimentell bestätigten Glukosamin-6-Phosphat-Isomerase aus *Giardia lamblia* (Accession-Nummer AAF03257.1) überein. Der ähnlichste experimentell bestätigte BLAST-Hit des von dem ORF218 kodierten Proteins ist eine alkalische Phosphatase aus *Synechococcus* sp. (Accession-Nummer AAA27331.1) mit einem „e-Value“ von $1e^{-16}$.

3.4.1.3 Das Cosmid slc_1g

Das Cosmid slc_1g besteht noch aus 2 Contigs. Es konnte mit an den Contig-Enden abgeleiteten Oligonukleotiden ein 450 bp großes PCR-Produkt amplifiziert werden. Alle Versuche, dieses PCR-Produkt kloniert oder unkloniert zu sequenzieren, sowie alle Versuche, Lücken überspannende Sequenzläufe mit dem Cosmid oder „Shotgun“-Plasmiden“ zu erhalten, scheiterten bislang. Unter Berücksichtigung des PCR-Produktes kann für das Insert insgesamt eine Größe von ca. 44530 bp angenommen werden. Damit enthält dieses Cosmid das größte Insert der in dieser Arbeit sequenzierten Cosmide. Der G+C-Gehalt beträgt 64,4 %. Dieses Cosmid weist viele ORFs auf, deren in Aminosäuren übersetzte Nukleotidsequenzen nur wenig oder keine Ähnlichkeiten zu bekannten Proteinen haben. Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, konnten von den 43 kodierten Proteinen nur 24 mit einer Funktion belegt werden. 5 Proteine wurden als konservierte Proteine und 15 als hypothetische Proteine annotiert. Damit sind auch bei diesem Cosmid 44 % der potentiellen Proteine ohne annotierte Funktion. Zu den Proteinen, denen eine potentielle Funktion zugewiesen wurde, gehören neben den ORF325- und ORF326-Proteinen, die ein 2-Komponenten-Regulationssystem darstellen, die ORF334- und ORF335-Proteine, die vermutlich eine Rolle bei der Eisenaufnahme spielen. Die von den ORFs 305 und 306 kodierten Proteine haben eine Funktion im Zuckerstoffwechsel. Der ORF305 kodiert vermutlich für ein Enzym mit einer 6-Phosphoglukonolaktase- oder Glukosamin-6-phosphat-Isomerase/Deaminase-Aktivität. Die größte Ähnlichkeit dieses Proteins besteht zu einem ORF von *Arabidopsis thaliana* mit einem „e-Value“ von $1e^{-19}$. Das ORF306-Protein hat mit einem „e-Value“ von $1e^{-154}$ eine deutlich höhere Übereinstimmung zu einem Protein aus *Nostoc punctiforme*. Außerdem weist es eine deutliche Übereinstimmung mit der konservierten Domäne COG0364 von Glukose-6-phosphat-1-Dehydrogenasen auf und wurde deshalb als Glukose-6-phosphat-1-Dehydrogenase annotiert. Die ORFs 340 und 341 sind auf Aminosäureebene zu 40 % identisch und kodieren vermutlich für eine Phytoen-Desaturase.

3.4.1.4 Das Cosmid slc_1h

Das Cosmid slc_1h trägt ein Insert mit einer Größe von 37311 bp. Die DNA des Inserts hat einen G+C-Gehalt von 59,1 %. 38 ORFs wurden festgelegt. 6 der von ihnen kodierten Proteine wurden als hypothetische Proteine und 4 als konservierte Proteine annotiert. Damit konnten 74 % der cosmidkodierten Proteine mit Funktionen belegt

werden. Dieser Wert wird nur, wie aus der Tabelle 11 hervorgeht, von den Cosmiden *slc_1a* und *slc_1x* übertroffen. Mit Ausnahme von 4 Proteinen ähneln alle anderen am stärksten Proteinen von *Rhodobacter sphaeroides* mit Identitäten bis zu 88 %. In Abbildung 20 ist eine „ORF-Map“ des Cosmids *slc_1h* abgebildet.

Abbildung 20: "ORF-Map" des Cosmids *slc_1h*

ORFs sind in Blöcken dargestellt. Anhand der Lage der Blöcke in Bezug auf die Führungslinie kann die Richtung der Kodierung erkannt werden. Die Genprodukte der ORFs haben folgende Funktionen:

türkis	Aminosäure-Metabolismus
grün	Sekundärmetabolit-Biosynthese und -Transport
blau	Translation, Ribosomenstruktur- und -biogenese
braun	Zellhüllen-Biogenese
gelb	verschiedene Funktionen
schwarz	konservierte Proteine
grau	hypothetische Proteine

Besonders viele auf dem Cosmid kodierte Proteine könnten eine Rolle in der Zellhüllen-Biogenese spielen wie z. B. das ORF413-Protein, das für eine „Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase“ kodiert. Außerdem sind vermutlich 2 verschiedene lytische Murein-Transglykosylasen auf dem Cosmid kodiert. Der ORF414 kodiert vermutlich für eine lösliche und der ORF421 für eine membrangebundene

Form. Die Identitäten für die Übereinstimmung der Aminosäuresequenzen dieser ORFs mit denen der ORFs aus *Rhodobacter sphaeroides* betragen 86 bzw. 55 %. Außerdem kodieren die ORFs 405 und 434 sowohl für ein Penicillin-Bindeprotein als auch für ein Penicillin-Toleranzprotein (65 bzw. 81 % Identität). Für ein Toluol-Toleranz vermittelndes Protein kodiert der ORF404. Außerdem sind auf diesem Cosmid vermutlich ein Teil eines Rhizobiocin-Transportsystems (ORF401 und ORF402), das Stickstoff-Regulationsprotein GlnK neben dem Ammonium-Transportprotein AmtB (ORF406 und ORF407) und 2 Proteine, die in der Cobalamin-Biosynthese eine Rolle spielen, kodiert (s. Tabelle 12 D).

3.4.1.5 Das Cosmid slc_1p

Das Insert des Cosmides slc_1p ist 37601 bp groß. Der durchschnittliche G+C-Gehalt beträgt 63 %. Es wurden 35 ORFs festgelegt. 15 der von ihnen kodierten Proteine wurden als hypothetische Proteine und 3 als konservierte Proteine annotiert. Auch die übrigen von den ORFs abgeleiteten Aminosäuresequenzen lassen kaum zusammenhängende Funktionen erkennen. Lediglich die Gene für ein 2-Komponenten-Regulationssystem vermutlich, des KDP-Operons (ORF528 und ORF529), und Gene für Proteine, die am Biopolymer-Transport (ORF521 bis ORF523) beteiligt sind, bilden aufeinander folgende funktionelle Einheiten. Als Ursprungsorganismus der nächst verwandten Proteine tritt das Bakterium *Pirellula sp.* 1 in 6 von 20 Fällen auf. Die von dem ORF505 kodierte Adenosylhomocysteinase 1 ähnelt am meisten der des Frosches *Danio rerio* mit einem „e-Value“ von 0.0 und einer Identität von 47 %. .

3.4.1.6 Das Cosmid slc_1q

Das Cosmid slc_1q trägt als einziges der im Rahmen dieser Arbeit sequenzierten Cosmide eukaryotische DNA. Die Sequenz ist noch nicht vollständig geschlossen. Momentan liegen noch 2 Contigs vor, zwischen denen PCR-Produkte mit Größen von 800 bp erzeugt werden konnten. Vermutlich beträgt die Insertgröße ca. 37050 bp. Der G+C-Gehalt liegt mit 38,8 % deutlich unter dem der übrigen Cosmide. Die annotierten Funktionen der Gene können der Tabelle 12 F) entnommen werden.

3.4.1.7 Das Cosmid slc_1s

Auch bei diesem Cosmid konnten kaum ORFs festgelegt werden, deren in Aminosäuren übersetzten Sequenzen Funktionen zugeordnet werden konnten. 44 % der Proteine sind nur hypothetisch oder konserviert. 5 der auf dem 34084 bp großen Insert kodierten Proteine zeigen allerdings deutliche Übereinstimmungen mit Datenbank-Sequenzen. Bei dem ORF722-Protein scheint es sich recht wahrscheinlich um ein 1,4-alpha-Glukan-verzweigendes Enzym zu handeln. Bei diesem Protein ist auch die Übereinstimmung mit der konservierten Domäne solcher Enzyme COG0296 mit einem „e-Value“ von 0.0 sehr groß. Wie aus der Tabelle 12 G) hervorgeht, sind auch die Übereinstimmungen der von den ORFs 705, 706 und 723 abgeleiteten Aminosäuresequenzen mit den nächst ähnlichen Datenbank-Sequenzen mit 59, 50 bzw. 56 % sehr hoch. Diese kodieren für 2 hypothetische Proteine und für eine ATPase-Komponente eines ATP-Transporters mit verdoppelter ATPase-Domäne aus *Pirellula* sp. 1. Besonders interessant ist das ORF715-Protein, das zu 57 % mit der Alkohol-Dehydrogenase Klasse IV aus der Maus (*Mus musculus*) übereinstimmt.

3.4.1.8 Das Cosmid slc_1t

Das Cosmid slc-1t kodiert für einige Proteine mit großen Übereinstimmungen mit Datenbank-Sequenzen. Auf dem 39084 bp großen Insert sind 42 Proteine kodiert. 23 von ihnen konnte eine Funktion zugeordnet werden. 2 funktional unterschiedliche Cluster lassen sich erkennen. Das erste umfasst die ORFs 824 bis 830, die für Proteine kodieren, die an dem Abbau von Phenylalanin und Tyrosin beteiligt sind. Das erste von dem ORF824 kodierte Enzym ist eine 4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase. Die Identität zu dem gleich annotierten Protein aus *Chromobacterium violaceum* ATCC12472 beträgt 65 %. Die Aminosäuresequenz des ORF824 beinhaltet die konservierte Domäne COG3185. Für diese Übereinstimmung wird ein „e-Value“ von $2e^{-125}$ angegeben. Diese konservierte Domäne wird bei 4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenasen und verwandten Enzymen gefunden. Der ORF826 kodiert vermutlich für eine Maleylacetoacetat-Isomerase und der ORF827 für eine Homogentisat-1,2-Dioxygenase. Die Übereinstimmung zu dem gleich annotierten Protein aus *Chromobacterium violacum* ATCC12472 hat einen „e-Value“ von $1e^{-122}$. Die

konservierte Domäne COG3508 der Homogentisat-1,2-Dioxygenasen kann in dem von dem ORF827 kodierten Protein mit einem „e-Value“ von $3e^{-67}$ gefunden werden. Das

Abbildung 21: "ORF-Map" des Cosmids slc_1t

ORFs sind in Blöcken dargestellt. Anhand der Lage der Blöcke in Bezug auf die Führungslinie kann die Richtung der Kodierung erkannt werden. Grau unterlegt ist der Sequenzbereich, dessen ORFs vermutlich für Enzyme kodieren, die an dem Abbau von Tyrosin beteiligt sind. Die Genprodukte der ORFs haben folgende Funktionen:

grün	Transport und Metabolismus anorganischer Ionen
türkis	Aminosäure-Metabolismus
blau	Lipid-Metabolismus
grau	hypothetische Proteine
schwarz	konservierte Proteine
gelb	verschiedene Funktionen

ORF830-Protein zeigt eine 70%ige Identität mit einem Protein aus *Caulobacter crescentus* CB15. Die ORFs 832 bis 834 kodieren vermutlich für Enzyme, die den Abbau von kurzkettigen Fettsäuren katalysieren (s. Abbildung 21). Der ORF832 kodiert für das Protein AtoD, die Untereinheit A der Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, der ORF833 für ein Phospholipid-Bindeprotein und der ORF834 für das Protein AtoA, die Untereinheit B der Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase. Wie aus der Tabelle 12 H) entnommen werden kann, bestehen sowohl große Ähnlichkeiten zu den nächst verwandten Proteinen (44 – 46 % Identität) als auch zu der

jeweils konservierten Domäne mit „e-Values“ von $2e^{-21}$ bis $7e^{-82}$. Eine Identität von 58 % weist das ORF821-Protein zu dem Protein NodQ aus *Azospirillum brasilense* auf. Dieses bifunktionale Enzym hat sowohl eine Sulfat-Adenylyl-Transferase-Untereinheit als auch eine Adenylylsulfat-Kinase-Untereinheit. Der ORF818 kodiert für eine Sulfat-Permease mit großer Identität (58 %) zu einem Enzym aus *Magnetococcus sp.* MC-1. Der „e-Value“ für die konservierte Domäne COG0659 beträgt $3e^{-98}$. Diese ist typisch für Sulfat-Permeasen und verwandte Transporter.

3.4.1.9 Das Cosmid slc_1u

Von 66,7 % der von den 27 ORFs des Cosmids slc_1u kodierten Proteinen ist die Funktion unbekannt. Es ist mit 33732 bp das Cosmid mit dem kleinsten Insert. Der ORF925 kodiert vermutlich für eine 3-Isopropylmalat-Dehydrogenase, der ORF926 für eine hitzestabile Aldehyd-Dehydrogenase. Die Übereinstimmungen zu den gleich annotierten Datenbank-Sequenzen aus *Desulfitobacterium hafniense* bzw. *Nostoc sp.* PCC7120 betragen 36 bzw. 32 %. Der „e-Value“ für die in dem ORF926 enthaltene konservierte Domäne COG1012, die typisch für NAD^+ -abhängige Aldehyd-Dehydrogenasen ist, beträgt $3e^{-81}$. Die von den ORFs 901 und 906 und 907 kodierten Proteine sind vermutlich Bestandteile eines TypI Restriktionsmodifikationssystems. Die ähnlichsten Proteine aus der NCBI-Datenbank stammen, wie der Tabelle 12 entnommen werden kann, aus 3 verschiedenen Organismen, dem Archaeon *Methanosarcina barkeri*, den Bakterien *Trichodesmium erythracum* und dem Bakterium *Desulfovibrio desulfuricans* G20. Unterbrochen sind diese Gene von den ORFs 902, 903, 904 und 905, die signifikante Ähnlichkeiten zu konservierten hypothetischen Protein aus *Ralstonia solanacearum*, *Chlorobium tempidum* TLS, *Micrococcus sp.* 28 bzw. *Ralstonia eutropha* zeigen.

3.4.1.10 Das Cosmid slc_1x

Das Cosmid slc_1x ist das Cosmid, von dem die meisten auf ihm kodierten Proteine Ähnlichkeit zu Datenbank-Sequenzen mit bekannten Funktionen zeigen (79,5 %). Die sie kodierenden ORFs bilden funktionelle Cluster, die in den meisten Fällen in ähnlicher Anordnung auch an unterschiedlichen Stellen im Genom von *Mesorhizobium loti* gefunden werden können. Die entsprechenden ähnlichen Bereiche im *M. loti*-Genom sind in Tabelle 13 wiedergegeben.

Tabelle 13: Zu den ORFs des Cosmids slc_1x ähnliche Bereiche im *M. loti*-Genom

ORFs des Cosmids slc_1x	Sequenzbereich bei <i>M. loti</i>	Vermutete Funktion
ORF1001 bis ORF1005	4339674 bis 4341729	Aminosäure-Metabolismus und -Transport
ORF1006	5728474 bis 5729964	Aldehyd-Dehydrogenase
ORF1007 bis ORF1015	1427455 bis 1420821	CO-Dehydrogenase
ORF1016 bis ORF1027	4218375 bis 4230201	ABC-Transporter PTS-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase
ORF1028-1032:		Signaltransduktion (evt. für die Stickstofffixierung):
ORF1028	5381975 bis 5382487	potentielles universelles Stress-Protein UspA
ORF1029	5409341 bis 5410939	FixL
ORF1030	240094 bis 240708	FixJ
ORF1031	kein signifikant ähnliches Protein in <i>M. loti</i>	FixT2?
ORF1032	219852 bis 220499	FixK

Das erste Cluster wird von den ORFs 1002 bis 1005 gebildet. Wie aus der Tabelle 12 J) hervorgeht, scheinen die hier kodierten Proteine Funktionen im Aminosäure-Metabolismus und -Transport zu haben. Die entsprechende Region im *M. loti*-Genom umfasst den Bereich von Nukleotid 4339674 bis 4341729. Die Anordnung der ORFs entspricht in etwa der Anordnung im *M. loti*-Genom: Der ORF1002 ist bei *M. loti* nicht vorhanden, zudem unterscheidet sich die Leserichtung des ORF1004 von der des ähnlichen ORFs aus *M. loti*.

Nach diesem Cluster dreht sich die Leserichtung um. Es folgt ein Cluster, das Gene enthält, die sehr wahrscheinlich für eine Kohlenstoffmonoxid-Dehydrogenase (CO-Dehydrogenase) kodieren. CO-Dehydrogenasen sind die Schlüsselenzyme für die CO-Oxidation in carboxydotrophen Bakterien, die auf CO als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen (KIM und HEGEMAN, 1983; MEYER et al., 1993). Diese ORFs tragen die Namen *coxMSLLDE* und sind in der Abbildung 22 mit roten Blöcken dargestellt. Alle ORFs beginnen mit einem ATG-Start-Codon. Nur der ORF1014 beginnt mit dem alternativen Start-Codon GTG. Die CO-Dehydrogenasen carboxydotropher Bakterien bestehen aus 3 nicht-identischen Untereinheiten (CoxS, CoxM und CoxL). Dabei steht S („small“) für kleine Untereinheit, M („medium“) für

mittlere und L („large“) für große Untereinheit. Sie enthalten FAD- und Molybdopterin-Cytosin-Dinukleotid-Cofaktoren und 2 verschiedene [2Fe-2S]-Cluster (KANG und KIM, 1999). Die CoxL-Untereinheit der auf dem Cosmid *slc-1x* kodierten CO-Dehydrogenase besteht aus 2 Teilen, die im gleichen Leserahmen liegen und durch 3 Basen getrennt sind. Beide besitzen potentielle Ribosomen-Bindestellen. Die Ribosomen-Bindestelle des ORF1010 liegt 3 Basen aufwärts des ATG-Startcodons und lautet GGAG. Die Ribosomen-Bindestelle des ORF1011 umfasst die Basen GGAGGAA im Bereich -9 bis -16.

Abbildung 22: "ORF-Map" des Cosmids *slc_1x*

ORFs sind in Blöcken dargestellt. Anhand der Lage der Blöcke in Bezug auf die Führungslinie kann die Richtung der Kodierung erkannt werden. Die Genprodukte der ORFs haben folgende Funktionen:

rot	Energiegewinnung und -konservierung
hell-grün	Regulation
dunkel-grün	Kohlenhydrat-Metabolismus, <i>ugp</i> -Cluster
lila	Kohlenhydrat-Metabolismus, Dihydroxyaceton-Kinase-PTS-Cluster
türkis	Aminosäure-Metabolismus
blau	Lipid-Metabolismus
grau	hypothetische Proteine
schwarz	konservierte Proteine
gelb	verschiedene Funktionen, nur einfach auf dem Cosmid kodiert

Bei der *M. loti* Sequenz ist bei NCBI ein „frameshift“ vermerkt, allerdings ohne Angabe der Position. Fügt man die Aminosäure-Sequenzen direkt hintereinander, entsteht mit der Consensus-Sequenz für CoxL-Domänen (COG1529) ein Alignment über die gesamte Länge mit einem „e-Value“ von $5e^{-145}$. Das potentielle *coxL*-Gen von *M. loti* stimmt mit einem „e-Value“ von $4e^{-149}$ mit der Sequenz der COG1529 überein. Die zusammengesetzte CoxL-Sequenz hat eine 80 %ige Identität mit der von *M. loti*. Das Alignment der 3 Sequenzen ist in Abbildung 23 dargestellt. An der Unterbrechungsstelle, die pink unterlegt ist, hat die COG1529-Sequenz im Vergleich zu der *M. loti*-Sequenz 3 Aminosäuren, die CoxL-Untereinheit des Cosmides *slc_1x* eine Aminosäure weniger.

Die Aldehyd-Oxidoreduktase von *Drosophila gigas* ist homolog zu CO-Dehydrogenasen. Sie besteht nur aus der großen und der kleinen Untereinheit. Durch Röntgen-Strukturanalyse konnten in der großen Untereinheit 5 Regionen in der Aldehyd-Oxidoreduktase von *Drosophila gigas* nachgewiesen werden, die an der Bindung des Molybdopterin-Cofaktors beteiligt sind (ROMAO et al., 1995). Diese Regionen sind auch in den Sequenzen der ORFs 1010 und 1011 konserviert. Die Aminosäuren G₂₆₂ und G₇₅₀ sind in allen CoxL-Untereinheiten von CO-Dehydrogenasen konserviert (KANG und KIM, 1999). Sie entsprechen den Aminosäuren G₈₀₀ und G₁₂₆₆ in der Xanthin-Dehydrogenase von *Drosophila melanogaster*, deren Austausch durch Glutamat bzw. Aspartat bekannt für *rosy*-Mutationen ist (HUGHES et al., 1992). Das Gen *rosy* kodiert in *Drosophila melanogaster* für die Xanthin-Dehydrogenase, die für die Synthese bestimmter Pigmente benötigt wird. *rosy*-Mutanten haben hellere Augen als Wildtyp-Fliegen.

CoxL	:	16	DDLKELGQGLQRS	DVPGHVTGKTTYFADRHFP	PGMLYLKMVRSPHH	HARIRKIDTSEAEKH	75
<i>M. loti</i>	:	15	DDLHEIGQPRPRSD	SPGHVTGKTAF	ADRSFPGMLHLKMVRSPHH	ARISIDTSEAEKH	74
COG1529	:	1	ADAEIIGRSVLRAD	GLGKVTGKGRYADDIVAP	GMLYAAFVRSPYAHARIV	SIDVSEAQGL	60
CoxL	:	76	PGVARVITHKDVPH	NVYITILILIQVPEDE	QVLAEDKVRWKGEAV	VAVLADSQR	AAEEAA 135
<i>M. loti</i>	:	75	PGVVKVLTAKDVPH	NVYITILILIQVPEDE	TVLADGKVRWKGEAV	VAVLAE	TERAAQEAA 134
COG1529	:	61	PGVLAVITAEELPA	---WSPVRVELAPADE	-VLARGKVRYTGEP	VAAVVAEDEYQ	ARAAA 116
CoxL	:	136	AKVKVDYEVLP	PAVDMEEALKPGAP	LVNEYHGQNHMYDSG	ASRKVRFGDVEK	GFAEADH 195
<i>M. loti</i>	:	135	AKVKIDYEVLP	PAVDMEEALKPGAP	LVNEYHGQNYLYDSG	ECRKVRFGDVEA	GAFAGADH 194
COG1529	:	117	ELVLVEYEALPP	VDPPEEALAE	DAPVIHDELNI-----	ARDATFGDDDA	-FAAAAV 166
CoxL	:	196	ILEQTYFSSPIEQ	APTETTGCI	VPDGNDRFTCYTNTQ	AMFFTLDN	TSIILQMPGHKLHM 255
<i>M. loti</i>	:	195	ILEQSYQSSPIEH	APTETTGCV	VAPPEGNDRFTCYTNTQ	AMFFTLDN	TSIILQMPGSKLHF 254
COG1529	:	167	VVEAPYKTPRK	DPNPMEPHGV	VAVPDDGDKLTV	WASTQIPHRLRG	MLAAVLGIPPSKVRV 226
CoxL	:	256	VGGTVGGGFGGK	VDVTVEPI-A	ILAAKLTRPV	SFIYSRHEEMQ	ISSPRAAEKIVLKDGV 314
<i>M. loti</i>	:	255	VGGTVGGGFGGK	VDVIVEPI-A	ILGAKLTRPV	CFIYSREEMQ	ISSPRAAEKVVIKDGV 313
COG1529	:	227	ISPDVGGGFGSK	GVVYVEE	ILAAALAAV	AGRPVKWIETREEL	FVATGHRRLATLIDVKLGA 286

CoxL	:	315	MKDGRLLIARQVTGYTDAGAYSRHSPYGAQKGAHYPGPYTPNVSVDTYCVYTNRTPSSA	374
<i>M. loti</i>	:	314	MKDGRIVARKVTGYTDAGAYSRHSPYGAQKGAHYPGPYTIPNVWIDTYCVYTNRTPSSA	373
COG1529	:	287	DKDGRLLAIKGTVAADTGAYN--GPTVPAAGLARGPYKIEAVYIEPYLVHTNMPPNGA	344
CoxL	:	375	MRGFGVTIADFALEVQMDKLARVIGMDPLEFRFINAYRDGDMKAHRQPTTGAALIECMQE	434
<i>M. loti</i>	:	374	MRGFGVTIGDFALEVQMDKLARLIGMDPLEFRFINAYRDGDMKAHRQPTTEGAALIECMQE	433
COG1529	:	345	YRGAGRPEGTFALERAVDELAEEELGIDPVEIRLRNLIRGGPFG-LGRRYDSGDYLEELDE	403
*				
CoxL	:	435	ASRLANWPVAEKYLKMSSY-KEA-MAIRRGVAAINYPGTGMNLGGDPSQALVHSTPTGN	494
<i>M. loti</i>	:	434	ASRAANWPVAEKYMAMSSYRKADMAIRRGVAAINYPGTGMNLGGDPTQALVHSTPTGN	493
COG1529	:	404	AAKRFGWS--ERPVKPIWTREG-D--LRRGVGRAMYTEPSGAGPGE---GARVRLEADGT	457
CoxL	:	495	FMVTLSSVDLGQGLKQVMAQICAETIGVKTEQVTIDTADTDGPHCMGTTFASRGTHRIGN	554
<i>M. loti</i>	:	494	FMVTLSSVDLGQGMKQIMAQICAETIGVPTDRVVDTADTDGPHCMGTTFASRGTHRAGN	553
COG1529	:	458	VTVRTGATDIGQGTDTVLAQIAAEELGIPDDVEVVHGDTPVPVGGWGSVGSRGTAVAGS	517
CoxL	:	555	AVIQAAQEARQVMLEVAEEALEVNADLDTGEGNIHVKGAPQKSSISIFDTALMAHFKLK	614
<i>M. loti</i>	:	554	AVIQAAAREARQVMLEVAEELEVNADLDTGQGNILVKAPQKSSISIFDVALSAHFKRG	613
COG1529	:	518	AVIDAAKLAEKDPVAAARMLGADAEDVLEDGAFKVGGDRRSAVSLKEVAGK-----	570
CoxL	:	615	RSISGRGMFLVPRSYPEVETGAMKPATCYAHACTVAEVDVDDTGEVTVSVKNVFEIGR	674
<i>M. loti</i>	:	614	RSISGRGMFLIPRSYPEKETGAMKPTCYAHACTVAEVEVDDETGEVTVLTKNVFEIGR	673
COG1529	:	571	-----LAPGLAVAASFGSDNTYPYGAHIAEVEVDPETGEVRVLRVVAVDCCGR	620
CoxL	:	675	ALNPKMVEQQLVGGSWMGISHALYETTEPYYPARDHGGTDFNEYLMPGPGDLADTEIVVL	734
<i>M. loti</i>	:	674	ALNPKMVEQQLVGGSWMGISHALYETTEPYPNRDHGGTDFNQYLMPGPGDLAQTEIIVL	733
COG1529	:	621	VVNPKLAEGQVEGGILMGIGMALYEEA-IYDEDGQLLNSNLADYGIPRAADAPEVEVEFV	679
CoxL	:	735	ERPAADGPYGAKEGEMCANPQIPAVANAVFDAVGVRIDMMPITPERILRALKE	786
<i>M. loti</i>	:	734	ERPSADGPYGAKEGEMCANPQIPAVANAVFDAVGVRIDTLPITPERILRALKA	787
COG1529	:	680	ESPSFPGPLGAKGEGGIIGIAPAIAANAVFATGKRIRDLPTITPERILALRS	731

Abbildung 23: Alignment der COG1529 mit CoxL des Cosmides slc_1x und der Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_254264)

CoxL steht für die zusammengesetzte Aminosäuresequenz der ORFs 1010 und 1011 des Cosmides slc_1x. *M. loti* steht für die Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_254264), COG1529 für die Consensus-Sequenz von CoxL (große Untereinheit der CO-Dehydrogenase). Das Multialignment wurde mit dem Programm „ClustalW“ berechnet..

* Erste Aminosäure des ORF1010

Bindestellen für den Molybdopterin-Cytosin-Dinukleotid-Cofaktor

- Molybdopterin-Co-Faktor-Bindestelle, von KING (2003) zur Klassifizierung der CO-Dehydrogenasen herangezogen
- Den G₈₀₀ und G₁₂₆₆ aus der Xanthin-Dehydrogenase von *Drosophila melanogaster* entsprechende Aminosäuren, die in der *rosy*-Mutante ausgetauscht wurden (HUGHES et al., 1992)
-

In der mittleren Untereinheit der Xanthin-Dehydrogenase von *D. melanogaster* führt der Austausch der Aminosäuren G₃₄₈ und G₃₅₃ durch Gluthamat bzw. Aspartat zu *rosy*-Mutanten. Diese beiden Aminosäuren liegen in der hoch konservierten K3-Region, die für die FAD-Bindung verantwortlich ist (HUGHES et al., 1992). Die FAD-Bindung dieser Region ist deshalb sehr wahrscheinlich. Die K5- und N-Region binden NAD (KANG und KIM, 1999; HUGHES et al., 1992). In der CoxM-Sequenz des Cosmides slc_1x ist nur die K3-Region enthalten. In dem Alignment in Abbildung 24 sind außerdem die K3-Region von *D. melanogaster* und die Consensus-Sequenz verschiedener FAD-enthaltener mittlerer Untereinheiten wiedergegeben: Die mittleren Untereinheiten der CO-Dehydrogenasen von *H. pseudoflava*,

P. thermocarboxydovorans bzw. *O. carboxydovorans* (CutM, CutB und CoxM), der Nikotin-Dehydrogenase von *A. nicotinovorans* und der Quinolin-2-Oxidoreduktase von *P. putida* (KANG und KIM, 1999). Diese Enzyme enthalten ebenfalls nur die K3-Region. Die Region besteht aus in allen Sequenzen konservierten identischen Aminosäuren G₃₄₇ und G₃₄₈ und einigen anderen ähnlichen, die in der Consensus-Sequenz durch Sterne markiert sind.

CoxM:	22	GARYLGGGTLVVRAANEGDLSLSTFVRSTDPA-LTAIEVEGGRATLGASVTMSAIARHP-	80
M. loti:	22	GTRYLGGGTLVVRAANEGDVSVFALVRSTDPT-LRGIADVADGKARIGASVTMAAIARH--	79
COG4630:	224	GATIVAGSTDVGLWVTKQMRDLNPVIFVGHLELRRIEVSTGGLEIGAGVITYTQAYRALA	283

K3-Region

R *GT*GC* A*****

Consensus:		339	QIRNVACLCGNIMTGSPI	SDM			
CoxM:	81	G-LTAIAKAAKA---VGGPAIRNMA	TVG	GNLF	APYGDFAVALLALDATVHTTAGQ---	133	
M. loti:	80	---PELGALAKAARAVGGPAIRNMA	TIG	GNLF	APYGDFAVALLALDATV---GTEDG	131	
COG4630:	284	GRYPALGELWDR---FGGEQVRNMC	TLG	ENIAN	SGSPI	IGDTPPALIALGATLTLRSGDGRR	342

CoxM:	134	-MAI-DDFLADDR-----GKVVA	AVSF	AVP-DARKFRFLKVSRIKPKGVSVLSIA	AAVIDT	185
M. loti:	132	ELPIEI-FLARRDGSRSIVTSVSFTLP	-KADGFRFLKVS	RVKPKGVSVLSIA	AAVLER	176
COG4630:	343	TLPLEDYFIAYGKQDRQPGEFVE	AVRVPLPAPSERFAAYKISKRR	DEDISAVCGAFALDL		401

CoxM:	186	DA-GKVK	SARIALGCMADRPVRAKAAER	ALIGATLDEAGVASAVA	AVGEGTEPITDAIAS	243
M. loti:	177	AADGT	VSSARIALGCMADRPVRAKAAEK	ALEGKKLDQNGIAAALAA	ATEGIAPITDPIAS	235
COG4630:	402	DG-GRV	ADARIAFGGMAATPKRASEVEA	ALLGKPWTEATVEAAAAA	LAGDFTPLTDMRAS	459

CoxM:	244	AWYRGEVLPVHFRLLLGQAGG	265	
M. loti:	237	AWYRAEVL	PVHLGRLLLT	264
COG4630:	460	AEYRAL	TAKNLLRRFFLETQGE	481

Abbildung 24: Alignment der COG4630 mit CoxM des Cosmides slc_1x und der Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_103226)

CoxM steht für die Aminosäuresequenz des ORF1013 des Cosmides slc_1x. *M. loti* steht für die Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_103226), COG4036 für die konservierte Domäne COG4036 von CoxM (mittlere Untereinheit der CO-Dehydrogenase), *D. mela* K3 für die Sequenz der K3-Region aus *Drosophila melanogaster*, Consensus für die Consensus-Sequenz im Bereich der K3-Region der mittleren Untereinheiten der Enzyme: CO-Dehydrogenasen von *H. pseudoflava*, *P. thermocarboxydovorans* bzw. *O. carboxydovorans*, der Nikotin-Dehydrogenase von *A. nicotinovorans* und der Quinolin-2-Oxidoreduktase von *P. putida* (KANG und KIM, 1999). Sterne in der Consensus-Sequenz stehen für ähnliche Aminosäuren dieser Enzyme. Das Multialignment wurde mit dem Programm „ClustalW“ berechnet.

K3-Region

■ Den G₃₄₇ und G₃₄₈ aus der Xanthin-Dehydrogenase von *Drosophila melanogaster* entsprechende Aminosäuren, die in der *rosy*-Mutante ausgetauscht wurden (HUGHES et al., 1992)

Die kleine Untereinheit enthält in allen molybdänbindenden Hydroxylasen 2 verschiedene [2Fe-2S]-Cluster, die von 8 konservierten Cysteinen koordiniert werden. Auch die CoxS-Sequenz des Cosmides slc_1x enthält diese Cysteine (s. Abbildung 25). Die erste Region beinhaltet die Cysteine in den Positionen 42, 47, 50 und 62. Diese Positionen stimmen mit denen der kleinen Untereinheit der CO-Dehydrogenase CutS aus *H. pseudoflava* überein und entsprechen dem typischen Sequenzmotiv C-X₄-C-X₂-

C-X_n-C, das in bakteriellen und pflanzlichen Ferredoxinen gefunden werden kann (KANG und KIM, 1999). Die zweite Region ist in Molybdän enthaltenden Hydroxylasen stärker konserviert und beinhaltet das Sequenzmotiv C-X₂-C-X_n-C-X-C entsprechend den Aminosäuren C₁₀₁, C₁₀₄, C₁₃₆ und C₁₃₈. Bei dieser Untereinheit führen die Austausche G₄₂ → E und E₈₉ → K zu *rosy*-Mutanten bei *D. melanogaster*. Diese Aminosäuren sind auch in der von dem ORF1012 kodierten Sequenz an den Positionen 41 und 71 konserviert. Das Vorhandensein dieser konservierten Aminosäuren und der 8 konservierten Cysteine weist auf 2 [2Fe-2S]-Cluster auch in der CoxS-Untereinheit hin.

CoxS:	3	KVPVQFTLN	GEEKAEFVDSGATLLKVL	RD	KL	GD	TS	PK	G	C	S	Q	G	T	G	A	C	S	V	L	I	D	G	E	L	T	L	S	C	62																									
<i>M. loti</i> :	3	KVPVQFILN	GSEKAEFIDSGTTLLNAL	RD	K	I	GD	TS	PK	G	C	H	Q	G	T	G	A	C	S	V	I	D	G	E	L	R	L	S	C	62																									
COG2080:	1	KMPITLTVN	GEPVELDVPDPTPLLD	V	L	R	D	E	L	G	L	T	G	T	K	G	C	H	G	Q	G	A	C	T	V	L	D	G	E	A	V	N	S	C	60																				
CoxS:	63	LTLAETC	E	G	A	N	I	L	T	T	G	G	L	A	-	T	D	G	V	L	H	P	L	Q	R	A	F	V	D	E	F	A	A	Q	C	G	F	C	T	P	G	M	I	A	A	K	A	L	L	D	R	T	P	N	121
<i>M. loti</i> :	63	LTLAETC	D	G	A	A	I	T	T	S	G	L	A	E	-	G	G	V	L	H	P	L	Q	R	A	F	L	D	T	F	A	T	Q	C	G	F	C	T	P	G	M	I	A	A	K	V	L	L	D	Q	T	P	N	121	
COG2080:	61	LTLAVQA	E	G	A	E	I	T	T	I	E	G	L	A	K	D	G	L	H	P	V	Q	Q	A	F	L	E	H	D	A	F	Q	C	G	Y	C	T	P	G	Q	I	M	S	A	T	A	L	L	D	R	N	P	A	120	
CoxS:	122	PSRDDV	E	E	A	L	S	G	N	I	C	R	C	T	G	Y	E	P	I	I	R	A	V	L	T	A	A	R	153																										
<i>M. loti</i> :	122	PSRDEV	E	E	A	L	S	G	N	I	C	R	C	T	G	Y	E	P	I	I	Q	A	V	L	T	A	A	R	153																										
COG2080:	121	PTDEE	I	E	R	E	A	L	S	G	N	L	C	R	C	T	G	Y	Q	N	I	V	A	A	I	L	D	A	E	152																									

Abbildung 25: Alignment der COG4630 mit CoxS des Cosmides slc_1x und der Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *M. loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_103226)

CoxS steht für die Aminosäuresequenz des ORF1012 des Cosmides slc_1x. *M. loti* steht für die Aminosäuresequenz des ORFs mlr1703m von *Mesorhizobium loti* MAFF303099 (Accession-Nummer NP_103227), COG2080 für die Sequenz der konservierten Domäne COG2080 von CoxS (kleine Untereinheit der CO-Dehydrogenase). Die türkis unterlegten Sequenzen markieren die konservierten Cysteine der [2Fe-2S]-Cluster. Das Multialignment wurde mit dem Programm „ClustalW“ berechnet.

Konservierten Cysteine der [2Fe-2S]-Cluster

Den G₄₂ und E₈₉ aus der Xanthin-Dehydrogenase von *Drosophila melanogaster* entsprechende Aminosäuren, die in der *rosy*-Mutante ausgetauscht wurden (HUGHES et al., 1992)

Die Aktivität der auf dem Cosmid slc_1x kodierten Kohlenmonoxid-Dehydrogenase wurde mit dem unter 2.18.4 beschriebenen Testsystem überprüft. Die bislang erhaltenen Ergebnisse lassen nicht erkennen, ob eine Aktivität vorliegt. Diese Untersuchung muss Gegenstand zukünftiger Forschung bleiben.

Nach diesem Cluster dreht sich die Leserichtung für die nächsten 13 ORFs erneut um. Wie aus der Tabelle 14 J) hervorgeht, bestehen große Ähnlichkeiten der Genprodukte der ORFs 1016 (*ugpB*) bis 921 (*malK*) zu den konservierten Domänen der Komponenten des Ugp-Transport-Systems („uptake of glycerol phosphate“), das *sn*-Glycerin-3-Phosphat ATP-abhängig in die Zelle transportiert. Zu allen Komponenten dieses ABC-Transport-Systems können entsprechende Proteine in der cosmidkodierten Sequenz gefunden werden, die die größte Ähnlichkeit zu Proteinen aus *M. loti* zeigen: Das ORF1016-Protein hat eine Identität von 83 % zu einem periplasmatischen

Bindeprotein eines ABC-Transporters (Accession-Nummer: NP_105991.1). Die ORF1017- und ORF1018-Proteine stimmen zu 79 % bzw. 90 % mit 2 verschiedenen Permease-Komponenten (Accession-Nummer: NP_105990.1 bzw. NP_105989.1) überein. Die ORF1020- und ORF1021-Proteine zeichnen sich durch eine 86%ige bzw. 75%ige Identität zu ATP-Bindeproteinen (NP_105987.1 bzw. NP_105986.1) aus. Die Größe und Anordnung der cosmidkodierten ORFs entsprechen denen der ORFs aus *M. loti*. Der ORF1019 umfasst nur 68 Aminosäuren, ist aber ebenfalls bei *M. loti* vorhanden (NP_105988.1). Da keine signifikanten Übereinstimmungen zu funktionell untersuchten ORFs vorhanden sind, kann keine Aussage über die Funktion gemacht werden. In *E. coli* gehört dieses System zum *pho*-Regulon. Die Gene des *pho*-Regulons werden in Abhängigkeit von der Phosphatkonzentration im Medium positiv durch den Transkriptions-Aktivator PhoB reguliert, der an sogenannte *pho*-Boxen bindet (MAKINO et al., 1988). In der *slc_1x*-Cosmidsequenz konnten jedoch vor keinem der oben genannten ORFs den *pho*-Boxen aus *E. coli* entsprechende Sequenzmotive identifiziert werden.

In der gleichen Leserichtung liegt ein Cluster (Abbildung 26), das von den ORFs 1022 und 1027 eingerahmt wird. Diese kodieren vermutlich für die 2 Komponenten Dak2 (ORF1022) und Dak1 (ORF1027) einer Dihydroxyaceton-Kinase. Der Vergleich der Aminosäuresequenz mit den konservierten Domänen der Komponenten von Dihydroxyaceton-Kinasen pfam02734 und COG2376 liefert „e-Values“ von $6e^{-29}$ bzw. $1e^{-77}$. Zu den experimentell bestätigten *E. coli* Untereinheiten der Dihydroxyaceton-Kinase DhaL (Accession-Nummer NP_415717.1) und DhaK (Accession-Nummer NP_415716.1) waren die Genprodukte der ORFs 1022 und 1027 zu 49 % bzw. 37 % identisch. Auch bei diesem Cluster stammen die ähnlichsten Proteine zu den auf dem Cosmid kodierten Genprodukten aus *M. loti*. Die Identität der Genprodukte der ORFs 1022 und 1027 betragen zu den entsprechenden Proteinen von *M. loti* 65 % bzw. 73 %. Beide Proteine sind als hypothetische Proteine (Accession-Nummer NP_105984.1 bzw. NP_105979.1) annotiert. Die Anordnung der ORFs 1021 bis 1028 sowie die genetische Organisation des *dha*-Operons aus *E. coli* sind in Abbildung 26 dargestellt. In der Abbildung ist außerdem der Bereich des *M. loti*-Genoms enthalten, in dem die Gene lokalisiert sind, deren Genprodukte zu denen der ORFs 1021 bis 1027 die größten Übereinstimmungen haben.

Abbildung 26: Genetische Organisation der Dihydroxyaceton-Kinase-Gene und der für das Phosphotransferase-System kodierenden Gene

Berücksichtigt sind die Gene *dhaR* (Accession-Nummer NP_415719.1), *dhaK* (Accession-Nummer NP_415716.1), *dhaL* (Accession-Nummer NP_415717.1) und *dhaM* (Accession-Nummer NP_415716.1) von *E. coli* und die ORFs von *M. loti*, zu deren Genprodukten die von den ORFs 1021 bis 1028 vom Cosmid *slc_1x* kodierten Proteine die größte Ähnlichkeit zeigen. Die Gene aus *M. loti* sind in der Abbildung mit ihrer Accession-Nummer benannt.

Potentielle Funktion der ORFs:

Dak2/DhaL		Dak1/DhaK		Regulator
EIIA		HPr		EI
Konserviertes Protein				Ugpc

Die Aminosäuresequenz von Dak1 (ORF1027-Genprodukt) beinhaltet die Glycinreichen konservierten Motive SGGSGHEP (AS 50 – 58) und GIHGEPG (AS 212 – 218) und das dritte invariante Sequenzmotiv KNYEGD (AS 104 - 109), die in ATP- und PEP-abhängigen Dihydroxyaceton-Kinasen gefunden werden können. Ein Alignment dieser Motive des ORF1027-Genproduktes, des hypothetischen Proteins von *M. loti* (Accession-Nummer NP_105979.1) und der Dihydroxyaceton-Kinasen von *E. coli* (Accession-Nummer NP_415716.1) und *Citrobacter freundii* (Accession-Nummer P45510) ist in Abbildung 27 dargestellt. Die 3 Sequenzmotive befinden sich im aktiven Zentrum des DhaK-Proteins von *E. coli*. SIEBOLD et al. (2003) konnten für das *E. coli*-Enzym mittels Röntgen-Strukturanalyse zeigen, dass das Dihydroxyaceton kovalent über das H₂₃₀ an das Enzym gebunden wird. Dieses Histidin entspricht dem H₂₁₄ im ORF1027-Genprodukt. Wasserstoffbrückenbindungen tragen zur Fixierung des Substrates in dieser Position bei. In *E. coli* bildet das Histidin-66 eine Wasserstoffbrückenbindung zur Hydroxylgruppe des C-2-Atoms des Dihydroxyacetons

aus (SIEBOLD et al., 2003). Diesem Histidin entspricht das H₅₆ des ORF1027-Proteins. Die Hydroxylgruppen des C-1- und C-3-Atoms des Dihydroxyacetons werden von der Carboxylgruppe des D₁₁₉ des DhaK von *E. coli* koordiniert (SIEBOLD et al., 2003). Auch diese Aminosäure ist in der abgeleiteten Aminosäuresequenz des ORF1027 an der Position 109 vorhanden. Im Vergleich zu der Sequenz von DhaK von *E. coli* ist im dritten Sequenzmotiv ein Tyrosin gegen ein Glutamat ausgetauscht (GUTKNECHT et al., 2001).

		*		*
<i>E. coli</i>	53-AGKVALLSGGGSGHEP	MHC-71	112-IIKNYTGDILNFE	-125
<i>C. freundii</i>	48-KNNVAVISGGGSGHEP	AHV-66	107-IVKNYTGDRLNFG	-120
<i>M. loti</i>	43-PGKVALISGGGSGHEP	LHA-61	102-IVKNYEGDVMNFD	-115
<i>slc_1x</i>	43-PGKVALISGGGSGHEP	LHG-61	102-IVKNYEGDVMNFD	-115
		*		
<i>E. coli</i>	222-EMFEGVGIHGEP	GI-236		
<i>C. freundii</i>	214-HAELGMGIHGEP	GA-228		
<i>M. loti</i>	205-EMFEGVGIHGEP	GR-219		
<i>slc_1x</i>	205-EMFEGVGIHGEP	GR-219		

Abbildung 27: Alignment von Sequenzbereichen im aktiven Zentrum von ATP- und PEP-abhängigen Dihydroxyaceton-Kinasen

In dem Alignment wurden die Sequenzen der ATP-abhängigen Dihydroxyaceton-Kinase von *C. freundii* (Accession-Nummer P45510), von DhaK von *E. coli* (Accession-Nummer NP_415716.1), des hypothetischen Proteins aus *M. loti* (Accession-Nummer NP_105979.1) und der Aminosäuresequenz des ORF1027 verglichen. Mit einem Stern (*) sind die Aminosäuren H₆₆, D₁₁₉ und H₂₃₀ markiert, die für die kovalente Bindung des Dihydroxyacetons bzw. die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen in DhaK von *E. coli* verantwortlich sind.

Bei *E. coli* liegen die ORFs, die für die beiden Untereinheiten DhaK und DhaL der Dihydroxyaceton-Kinase kodieren, direkt hintereinander. Vor ihnen ist das Transkriptionsregulator-Protein DhaR (Accession-Nummer NP_415719.1) und hinter ihnen das Multiphosphorylprotein des Kohlenhydrat:Phosphotransferase-Systems (PTS) DhaM (Accession-Nummer NP_415716.1) kodiert. Dieses Protein hat Sequenzähnlichkeiten zu der EIIA-Domäne des PTS-Mannose-Transporters, zum Phosphoryl-Carrier-Protein HPr und zur N-terminalen Domäne des Enzyms I (GUTKNECHT et al., 2001). Auch bei *M. loti* liegen 2 ORFs hintereinander, deren Genprodukte Sequenzähnlichkeiten zu DhaK und DhaL haben. Jedoch ist nur das Genprodukt des ersten als Dihydroxyaceton-Kinase annotiert (Accession-Nummer NP_105985). Dieses entspricht der DhaK-Domäne der Dihydroxyaceton-Kinase aus *E. coli*. Dieser ORF ist auf dem Cosmid *slc_1x* nicht vorhanden. Dort schließt sich direkt an das *ugp*-Gencluster der ORF 1022 an, der, wie oben beschrieben, vermutlich für die DhaL-Domäne der Dihydroxyaceton-Kinase kodiert. Auch in *M. loti* ist ein

entsprechender ORF vorhanden. Er ist, wie oben erwähnt, als hypothetisches Protein annotiert. Von diesem ORF an entsprechen sich, wie der Abbildung 26 entnommen werden kann, die genetischen Organisationen des Cosmides und von *M. loti*. Es folgen nun die ORFs 1023 bis 1025, deren abgeleitete Aminosäuresequenzen signifikante Ähnlichkeiten mit den konservierten Domänen der Proteine EIIA, HPr und EI des Phosphoenolpyruvat-Phosphotransferase-Systems (PTS) von Mannose haben. Die Identitäten der Genprodukte dieser ORFs zu den entsprechenden Proteinen aus *M. loti* liegen zwischen 64 und 87 %. Die Anordnung der für die PTS-Komponenten kodierenden ORFs entspricht der Reihenfolge, in der auch die Domänen in dem *dhaM*-Gen von *E. coli* kodiert sind (s. Abbildung 26). Allerdings ist sowohl bei *M. loti* als auch auf dem Cosmid slc_1x der für das EI-Protein kodierende ORF deutlich größer als der für die EI-Domäne kodierende Genbereich des *dhaM*-Gens bei *E. coli*. Die „e-Values“ für die Übereinstimmungen der cosmidkodierten ORFs mit den entsprechenden konservierten Domänen sind jedoch sehr unterschiedlich. Die potentielle HPr-Komponente (ORF1024-Protein) hat nur einen „e-Value“ von $1e^{-10}$, die EI-Komponente (ORF1025-Protein) dagegen einen „e-Value“ von $8e^{-114}$. Der ORF1023 stimmt mit einem „e-Value“ von $4e^{-32}$ mit der konservierten Proteindomäne COG3412 überein, deren Funktion noch nicht bekannt ist. Eine geringere Ähnlichkeit besteht zu der konservierten Proteindomäne pfam03610, die in der EIIA-Komponente des PTS für Mannose gefunden werden kann. SIEBOLD et al. (2003) konnte durch strukturelle Untersuchung zeigen, dass die EIIA-Komponente von *E. coli* am His₁₀ phosphoryliert wird. Das Asp₆₇ stabilisiert und/oder aktiviert das Histidin durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zum Nδ1. Im EIIA (Genprodukt des ORFs1023) des Cosmides nimmt ein Histidin die Position 11 und ein Aspartat die Position 69 ein. Die Aminosäuresequenz des auf dem Cosmid kodierten HPr-Proteins (Genprodukt des ORF1024) weist abweichend von der *E. coli*-DhaM-Sequenz das Sequenzmotiv GLHARP statt GLHVPR an der Phosphorylierungsstelle und 30 statt 31 Aminosäuren später das konservierte Serin auf. Auch das SHS-Motiv der EI-Phosphorylierungsstelle ist im ORF1025-Protein leicht abgewandelt in SHV. Im Gegensatz zu der DhaM-EI-Domäne aus *E. coli* fehlt dem EI-Protein des Cosmides die C-terminale Domäne nicht. Das ORF1026-Protein musste aufgrund fehlender Ähnlichkeiten zu funktionell untersuchten Proteinen als konserviertes Protein annotiert werden.

Für einen ORF, den ORF1028, dreht sich nun wieder die Leserichtung um. Dieser kodiert vermutlich für ein Regulatorprotein, das Ähnlichkeit zu der konservierten

Domäne COG0589 des universellen Stress-Proteins UspA hat. An diesen ORF schließt sich ein Cluster an (ORFs 1029 bis ORF1032), das die Information für 4 regulatorische Proteine enthält, deren größte Übereinstimmungen zu den Proteinen FixL, FixJ, FixT2 und FixK aus *M. loti* bzw. aus *S. meliloti* bestehen (s. Abbildung 22). Die Identitäten betragen 36 % bis 69 %.

Zu den restlichen auf dem Cosmid slc_1x kodierten Proteinen gibt es in *M. loti* ebenfalls Proteine mit signifikanter Ähnlichkeit. Die z. T. wesentlich größeren Übereinstimmungen gibt es aber zu Proteinen anderer Organismen. Es sollen hier nur noch die ORFs 1036 und 1037 erwähnt werden, die für die Proteine CaiB und CaiA kodieren. Die Ähnlichkeit von CaiB zur konservierten Domäne COG1804, die in Acyl-CoA-Transferasen/Carnitin-Dehydrogenasen enthalten ist, hat einen „e-Value“ von $9e^{-86}$. Der „e-Value“ für die Ähnlichkeit zwischen CaiA und der konservierten Domäne COG1960, einer Domäne, die in Acyl-CoA-Dehydrogenasen gefunden wird, beträgt $4e^{-70}$. Die nächst verwandten Enzyme, die der Tabelle 12 J) entnommen werden können, stimmen mit noch größeren „e-Values“ $1e^{-99}$ bzw. $1e^{-163}$ mit den Genprodukten der ORFs 1036 und 1037 überein, es handelt sich bei ihnen aber um keine experimentell bestätigten Proteine.

3.4.1.10.1 Experimentelle Untersuchung der Dihydroxyaceton-Kinase

Das Cosmid slc_1x wurde sowohl auf die Kohlenmonoxid-Dehydrogenase- als auch auf die Dihydroxyaceton-Kinase-Aktivität hin untersucht. Hierfür wurde das Cosmid in die Glycerin-negative *E. coli*-Mutante ECL707 transformiert (s. 2.11.1). Eine Kolonie wurde dann in einem 5 ml-Röhrchen *Citrobacter*-Mineralmedium mit 10 mM Dihydroxyaceton und 30 mM Pyruvat angezogen und für 2 Tage bei 30 °C geschüttelt. Mit dieser Vorkultur wurde dann eine 250 ml-Hauptkultur im gleichen Medium angeimpft und ebenfalls für 2 Tage inkubiert. Die Zellen wurden dann zentrifugiert und mit der French Press (s. 2.16.1) aufgeschlossen. Die Zelltrümmer wurden abzentrifugiert und der Rohextrakt sofort im Enzym-Aktivitätstest eingesetzt. Als Negativ-Kontrolle wurde ein Rohextrakt von einer *E. coli* ECL707-Kultur mit dem insertlosen Vektor unter gleichen Bedingungen hergestellt. Für die Überprüfung der Dihydroxyacetonphosphat-Kinase-Aktivität kamen zwei verschiedene Testansätze zum Einsatz. Beiden ist gemein, dass sie 2 enzymatische Reaktionen koppeln. Zunächst erfolgt, falls eine Dihydroxyaceton-Kinase im Rohextrakt vorhanden ist, der Umsatz des Dihydroxyacetons zu Dihydroxyaceton-Phosphat. Diese Reaktion kann ATP- oder

PEP-abhängig erfolgen. Der unter 2.18.3.2 beschriebene Enzymtest eignet sich zum Messen einer ATP-abhängigen, der unter 2.18.3.1 beschriebene zum Messen einer PEP-abhängigen Reaktion. Da die Messungen mit einem Rohextrakt von *E. coli* durchgeführt wurden, musste die *E. coli*-eigene Glycerin-Kinase durch Zugabe von α,α -Dipyridyl bzw. 100 mM Glycerin inhibiert werden. Trotzdem war die NADH-Oxidation bereits vor dem Start der Reaktion durch die Zugabe der Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase und des ATP bzw. PEP sehr stark. Aus diesem Grund war die Auswertung des erhaltenen Testergebnisses stark erschwert. Eine quantitative Auswertung ergab eine spezifische Aktivität von $8,33 \cdot 10^{-3}$ U/mg Enzym. Eine ATP-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase-Aktivität konnte nicht detektiert werden.

3.4.1.11 Das Cosmid slc_2g

Die Sequenzierung des Cosmides slc_2g ergab eine Insert-Länge von 39069 bp. Der G+C-Gehalt des Inserts beträgt 67,2 %. 28 ORFs wurden festgelegt. Von den 12 kodierten Proteinen, denen Funktionen zugeordnet werden konnten, sind 7 in den Aminosäure-Metabolismus integriert. Das entspricht 25 % aller auf dem Cosmid kodierten Proteine. Ein Cluster bilden die ORFs 1112 bis 1118, wobei die ORFs 1114 und 1115 aufgrund fehlender Ähnlichkeiten zu Sequenzen aus Datenbanken als hypothetische membrandurchspannenden Proteine annotiert werden mussten.

Der ORF1112 kodiert für eine γ -Glutamyl-Transpeptidase, der ORF1113 für eine Glutamin-Synthetase, der ORF1116 für eine potentielle Threonin-Dehydratase und der ORF1118 für eine weitere Glutamin-Synthetase. Zusätzlich wurde der ORF1109 als Threonin-Dehydratase annotiert. Die Identitäten zu den ähnlichsten Proteinen aus der NCBI-Datenbank betragen 31 bis 57 %. Bei den ORF1101- und ORF1103-Genprodukten handelt es sich vermutlich um Proteasen.

3.4.1.12 Das Cosmid slc_2j

Auf diesem Cosmid sind vermutlich 34 Proteine kodiert, von denen 64,7 % nur als hypothetische oder konservierte Proteine annotiert werden konnten. Einige Proteine könnten in die Energieumwandlung und -gewinnung integriert sein: Die Genprodukte der ORFs 1208 und 1210 könnten die Untereinheiten einer F₀F₁-Typ-ATPase darstellen. Das ORF1215-Protein könnte die Cytochrom B-Untereinheit einer Menaquinol-C-Reduktase, das ORF1213-Protein eine membranständige GTPase sein. Die übrigen Annotationen lassen keine funktionellen Cluster erkennen.

3.5 Sequenzabhängige und auf Aktivität basierende Durchmusterung von Metagenombanken

Neben der Charakterisierung von Standorten ist ein weiteres Ziel der Metagenomforschung die Nutzbarmachung von Umwelt-DNA als Quelle für bioaktive Agenzien und biotechnologisch interessante Enzyme (RONDON et al., 2000). Dabei können die erstellten Genbanken sowohl für sequenzabhängige als auch für auf Aktivität basierende Durchmusterungsmethoden genutzt werden. Deshalb wurden in dieser Arbeit zum einen die Annotationen der sequenzierten Cosmide auf das Vorhandensein von biotechnologisch interessanten Enzymen untersucht. Zum anderen wurde ein rekombinanter *E. coli*-Klon näher charakterisiert, der bei Vorarbeiten bei der Durchmusterung von Umwelt-DNA-Genbanken auf Gene gefunden worden war, die die Fähigkeit verleihen, mit Erythrit als einziger Kohlenstoff- und Energie-Quelle zu wachsen.

3.5.1 Sequenzabhängige Durchmusterung von Genbanken

Zur sequenzabhängigen Durchmusterung von Genbanken stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung: Wie z. B. die Amplifikation von Genen oder Genfragmenten in PCR-Reaktionen mit Oligonukleotiden, die aus konservierten Bereichen abgeleitet wurden oder die Detektion von Genen mit DNA-Sonden in Hybridisierungsexperimenten. In dieser Arbeit wurden die vorhandenen Sequenzen der Leinesediment-Cosmide auf ORFs hin überprüft, deren Annotationen ihnen bioaktive Funktionen oder biotechnologisch relevante Enzymaktivitäten zuwiesen. ORFs, denen entweder Oxidoreduktase- oder Protease-Aktivitäten zugeschrieben wurden, wurden in Plattentests auf die Aktivität hin untersucht.

Der Nachweis der Oxidoreduktasen erfolgte durch Transformation aller sequenzierten Cosmide oder parallel, falls vorhanden, durch zusätzliche Transformation von Shot-Gun-Plasmiden, die entsprechende ORFs enthielten, in die Glycerin-negative *E. coli*-Mutante ECL707. Damit wurde verhindert, dass die *E. coli* eigene Glycerin-Dehydrogenase-Aktivität bei dem Nachweis störte (SPRENGER et al., 1989). Als Testsubstrate wurden 1,2-Ethandiol und ein Gemisch aus Propandiol und Glycerin in einer Konzentration von 1 % eingesetzt. Die Platten wurden unter Lichtausschluss bei

30 °C inkubiert und konnten bis etwa eine Woche nach dem Ausplattieren ausgewertet werden. Als Positiv-Kontrolle wurde das Plasmid pAK204 (KNIETSCH et al., 2003) parallel in den selben Stamm transformiert. Das Cosmid pAK204 trägt einen ORF, der die eingesetzten Testsubstrate oxidieren kann (KNIETSCH et al., 2003). Bei keinem der überprüften *E. coli*-Transformanten zeigte sich mit den eingesetzten Testsubstraten eine rote Hofbildung.

Alle Cosmide wurden außerdem auf eine Protease-Aktivität hin untersucht. Damit sollten Annotationen von ORFs als „Protease“ oder „Peptidase“ überprüft werden. Als Testsystem dienten LB-Agar-Platten mit 2 % Skim-Milk. Die Skim-Milk führt zu einer Trübung des Mediums. Werden Proteasen von Bakterien produziert und gelangen diese aus den Zellen, wird die Skim-Milk abgebaut, was zu einer Aufklärung des Agars um die Kolonien führt. Es konnte allerdings keine cosmidvermittelte Protease-Aktivität festgestellt werden (persönliche Mitteilung Tanja Waschkowitz).

3.6 Isolierung und Charakterisierung einer Erythrit-Oxidoreduktase

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Charakterisierung eines Klons, der bei der Durchmusterung einer Boden-Metagenombank die Fähigkeit aufwies, mit Erythrit als einziger Kohlenstoff- und Energie-Quelle zu wachsen. Das für das Wachstum verantwortliche Gen sollte identifiziert und das korrespondierende Genprodukt charakterisiert werden. Enzyme, die ein Wachstum mit Erythrit als einziger Kohlenstoff- und Energie-Quelle ermöglichen, sind z. B. Erythrit-Oxidoreduktasen. Diese katalysieren sowohl die Oxidation des Erythrits als auch die Reduktion des entstehenden Produktes. Mögliche Produkte der Oxidation von Erythrit sind D-Erythrose wie z. B. bei *Schizophyllum commune* (BRAUN et al., 1969) oder L-Erythrulose wie z. B. bei *Enterobacter aerogenes* (GRIFFIN, 1992). Auch eine primäre Phosphorylierung zu D-Erythrit-1-Phosphat und eine anschließende Oxidation zu D-Erythrulose-1-Phosphat wie bei *Brucella abortus* (SPERRY und ROBERTSON, 1974) ist denkbar. Bekannte Enzyme nutzen für die Oxidation unterschiedliche Coenzyme, wie z. B. NADP, NAD und PQQ (LEE et al., 2003; MOONMANGEE et al., 2002).

3.6.1 Stand der Vorarbeiten

Der in dieser Arbeit näher untersuchte *E. coli*-Klon JM109/pEry1 geht aus einer Durchmusterung von Genbanken auf Gene hervor, die ein Wachstum mit Erythrit als einziger C- und Energiequelle ermöglichen. Bei dem Screening wurden *Citrobacter*-Mineralmedium-Platten mit Ampicillin (s. 2.2.4) eingesetzt, die Spuren von Hefeextrakt enthielten. Der Hefeextrakt sollte allen rekombinanten *E. coli*-Klonen ein minimales Anwachsen erlauben, ein deutliches Wachstum sollte aber nur beim Vorhandensein der Fähigkeit der Erythritverwertung möglich sein. Das aus diesem Klon isolierte Plasmid pEry1 wurde vollständig sequenziert.

3.6.2 Sequenzierung und Annotation des pEry1-Inserts

Die Annotation des vollständig sequenzierten pEry1-Inserts ergab eine Insertgröße von 5176 bp und einen G+C-Gehalt des Inserts von 69,4 %. Es wurden 5 ORFs in dem Programm Artemis (s. 2.15.1) festgelegt und ihren Genprodukten die in Tabelle 14 aufgeführten Funktionen zugeordnet. Die genetische Organisation ist in Abbildung 28 dargestellt. Wie in Tabelle 14 zu sehen ist, kann nur dem Genprodukt des ORF2 eine Funktion zugewiesen werden. Dieser ist auf Aminosäureebene zu 42 % identisch zu einer Phosphoglycerat-Dehydrogenase aus *Burkholderia cepacia* R18194. Da zusätzlich zu diesem Blast-Hit auch eine gute Übereinstimmung mit einem „e-Value“ von $3e^{-71}$ zu der konservierten Domäne COG0111 der Phosphoglycerat-Dehydrogenasen gefunden wurde, ist es sehr wahrscheinlich, dass der ORF2 tatsächlich zumindest für eine Dehydrogenase kodiert.

Abbildung 28: Genetische Organisation des Inserts von pEry1

Pfeile und Pfeilspitzen repräsentieren die Länge, Position und Orientierung von möglichen Genen. Der partielle ORF1 ist durch einen abgebrochenen Pfeil gekennzeichnet. Schwarze Pfeile bilden offene Leserahmen (ORF; „open reading frame“) ab, die als hypothetische Proteine annotiert wurden. Dem roten ORF 2 wurde als einzigem eine Funktion zugewiesen. Er wurde als Dehydrogenase mit konservierter Domäne COG0111 annotiert.

Tabelle 14: ORFs des Plasmids pEry1 mit ihrer zugeordneten Annotation

In dem Programm Artemis wurde die Sequenz des Inserts des Plasmids pEry1 auf mögliche ORFs untersucht. Dabei wurde, wie unter 2.15.1 beschrieben, vorgegangen. Festgelegte ORFs wurden der NCBI-Datenbank verglichen, wobei auch das Vorhandensein konservierter Domänen überprüft wurde. Ähnlichkeiten mit einem „e-Value“ von mehr als $1e^{-10}$ wurden als nicht signifikant eingestuft und bei der Annotation nicht weiter berücksichtigt.

ORF	Größe in AS	Lese- rahmen	Ähnlichstes Protein aus der NCBI- Datenbank mit „Accession-Nr.“	Identität/ „e-Value“	Konservierte Bereiche	Annotation
1	317	-2	OprF (AAR015891)	39 / $3e^{-07}$	pfam00691, OmpA, $2e^{-05}$	Hypothetisches Protein
2	329	+2	COG0111: Phosphoglycerat- Dehydrogenase und verwandte Dehydrogenasen (ZP_00214657.1)	42 / $3e^{-71}$	COG0111, SerA, Phosphoglycerat- Dehydrogenase und verwandte Dehydrogenasen, $1e^{-49}$	Dehydrogenase mit konservierter Domäne COG0111
3	551	+2	Kein Hit			Hypothetisches Protein
4	217	+3	RNA-Polymerase Sigma-Faktor-54 (ZP_00235003)	34 / 0.002		Hypothetisches Protein
5	87	+2	Kein Hit			Hypothetisches Protein

Die anderen auf dem Plasmid kodierten Proteine zeigen keine oder nur sehr geringe Ähnlichkeiten zu anderen Proteinen, so dass keinem eine Funktion zugewiesen werden konnte. Bei einer genaueren Betrachtung der Proteinsequenz des ORF2 konnten drei Signaturen ausgemacht werden, die sonst bei fast allen D-Isomer spezifischen 2-Hydroxysäure-Dehydrogenasen gefunden werden und auch fast ausschließlich bei diesen vorkommen. Die Signaturen sind in der Abbildung 29 dargestellt. Die gelb unterlegten Aminosäuren entsprechen denen, die in der Sequenz des ORF2 des Plasmids pEry1 auftreten. Rot geschrieben sind Aminosäuren die abweichend von den Signaturen in der ORF2-Sequenz enthalten sind.

Signatur 1: [LIVMA]-[AG]-[VT]-[LIVMFY]-[AG]-x-G-[NHKRQGSAC]-[LIV]-G-x(13,14)-
[LIVMFT]-x(2)-[FYwCTH]-[DNSTKG]

Signatur 2: [LIVMFYWA]-[LIVFYWC]-x(2)-[SAC]-[DNQHR]-[IVFA]-[LIVF]-x-[LIVF]-[HNI]-
x-P-x(4)-[STN]-x(2)-[LIVMF]-x-[GSDNT]

Signatur 3: [LMFATC]-[KPQ]-x-[GSTDN]-x-[LIVMFYWR]-[LIVMFYW](2)-N-x-[STAGC]-R-
[GPA]-x-[LIVH]-[LIVMC]-[DNVE]

Abbildung 29: PROSITE: PDOC00063 D-Isomer-spezifische 2-Hydroxysäure-Dehydrogenase-Signaturen

Das erste Sequenz-Motiv umfasst die Aminosäuren 149 bis 176. Abweichend von der Signatur 1 ist die letzte Aminosäure im ORF2 ein Glycin. Dieses tritt auch in den im Alignment (Abbildung 30) enthaltenen anderen Sequenzen auf. Auch die letzte Aminosäure in der Signatur 2 weicht im ORF2 ab. In dieser Sequenz wie auch in den Sequenzen der potentiellen D-3-Phosphoglycerat-Oxidoreduktase von *Ralstonia solanacearum* GMI1000 (NP_518137.1) und der D-3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase von *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Stamm ATCC 33913 (NP_635415.1) befindet sich dort ein Threonin. Die ORF2-Sequenz weicht im Vergleich mit der dritten Signatur um 2 Aminosäuren ab.

Das Alanin an der fünft letzten Stelle ist in allen anderen Sequenzen vorhanden. Das Glutamat an der letzten Stelle ist dagegen nur in der ORF2-Sequenz vorhanden. Aufgrund der Sequenzähnlichkeit zu D-Isomer spezifischen 2-Hydroxysäure-Dehydrogenasen schien es am wahrscheinlichsten, dass der ORF2 für die Umsetzung von Erythrit verantwortlich sein könnte. Deshalb wurde er für weitere Untersuchungen ausgewählt.

```

B.mallei          -----MKIAILDDYQDAVRKLNCFEMLAD--HEVKIFNNTVRGLGQLASRLAEV 47
R.solanacearum    MLRTIVRSEMSMKIAVLDDYQDAVRKLCFSLQD--HEVKVFNNTVKGVGQLAARVADV 58
X.campestris      -----MRILVPDDYQGAVRALPCLQRLQ--GHEVQVLGALATDPNEWAERLVEA 47
A.vinelandii      -----MHIVIPDDYQDVIRSLDCFARLRDSGHSVELFHDAESDPQRLAERFASA 49
ORF2              -----MKIAVIHDYADVFRTRRAYQRLRG--HEVVVHTDAYTEPARVVEQVAGC 47
                  *: * : . ** . . * . * * . * : . . : . .

B.mallei          EALVLIRERTHITSQLLGKPLPHLRMISQTGRVS---THIDLEACTERGIAVLEGTGSP- 102
R.solanacearum    EAIVLIRERTRVTRQLLDRLPKLKIISQTGRVSRDAGGHIDLEACTDKGVVVLEGGKSP- 117
X.campestris      DALVLIRERTRVDATLLRRLPRLKLISQTGRIG---PHVDVAACTEFGVAVTEGVGSP- 102
A.vinelandii      DALVLTRETRTRIDEALLARLPRLKLISQTGKIA---AHLDDLACTRRGVAVAEGRGSP- 104
ORF2              EAVLLTQQRVPVTREIVARLPDLRFISQTSANV---YHIDVAACTEHGVVVSAGRGGAR 103
                  *: *: * : *: : : : ** *: ***** . *: : * * * *: * * . .

```

Consensus		LGI	
<i>B.mallei</i>	---TAPAEITWALIMAAQRRIPQYVANLKQGAQQSGLKTSAMPPNFGLGQVLRGQTLGI	159	
<i>R.solanacearum</i>	---VAPAEITWALVMAAQRRIPQYVASLKHGAQQSGLKSTTMPPNFGIGRVLRGQTLGI	174	
<i>X.campestris</i>	---VAPAEITWALILSASRRRLTEYQRALHQGRWQALGDSA-----LGRTLHGRTLGI	151	
<i>A.vinelandii</i>	---IAPAEIATWTLILNARRRLLPAIAAFREGRWQTN-----IGERLAGLTLGI	149	
ORF2	TAFSTTAEITWGLIIASLRHLPFEEVERLKQGFHWST-----VGTRLEGQTLGI	151	
	:.**** * : : * : : : . * * : : * * * ****		
Consensus	WGxGKIG VxxW? Xx xPx		
<i>B.mallei</i>	WGYGKVGRLVAGYGKAFGMNVLIWGREHSLEAARADGFEEAESREAFFEQADVLSLHLRL	219	
<i>R.solanacearum</i>	FGYKIGQLVAGYGRAFGMNVLVWGRENSKERARADGFAVAESKDALFEQSDVLSVHLRL	234	
<i>X.campestris</i>	WSYGRIGQ RVAAFGRAFGMHVLVWGGEVSCAQAARDGYAIADSREALFERSDVLSLHRL	211	
<i>A.vinelandii</i>	WGYGKIGQLARYAQAFEMPVLVWSEASRQAQVAHGHRAAASREAFFEADVLTNLRL	209	
ORF2	YAFGHIGAAVARVGRAFGMKVSVWREGSTARARAEGFEVAPSREAFFEGADVLSLHLPG	211	
	:.**** * : . : * * * : * * * * * . * . * * : : : * : : : : *		
Consensus	xxxTxIx? MKxTxLLVNxSR?xII?		
<i>B.mallei</i>	HDDTRGIVKLDDLLRMKPTSLVNTSRAELLEENALVSALAHNRPGMVAIDVYESEPILQ	279	
<i>R.solanacearum</i>	NDETRGIVTVADLTRMKPTALFVNTSRAELVEENGMTALNRGPGMAAIDVFETEPILQ	294	
<i>X.campestris</i>	SAQTRHDVTTADLLMRPDALLVNTSRAELIAPGALIAALDAGRPGHAAVDVFEREPVL	271	
<i>A.vinelandii</i>	SPSTRHIVGFDDLARMKPDALLVNTSRAELIAPGALLRALDAGRPGFAALDVFEQEPIL	269	
ORF2	GTETRGIVTADDLARMKPTALLVNTSRAPIIIEGALVAALGKGRPGFAAVDVFEPEPVG	271	
	. ** * * * * : : : * * * : : . : : * * . * * . : : * * * : :		
<i>B.mallei</i>	G-YSLLRMENVICTPHIGYVERESYELYFSAAFRNILAFDAGDLSSVANPDALTQGRVRR	338	
<i>R.solanacearum</i>	G-HTLLRMENCICTPHIGYVERESYEMYFGIAFQNILDILQGNVDSVANPTALAPALIRA	353	
<i>X.campestris</i>	ARDPLLQHPRLATPHLGYVERDSYAAAYFEAAFNDVLAFAAGTPRNVLNPEALLVAR---	328	
<i>A.vinelandii</i>	PAHPLPNHPRVLCTPHLGYVEKHGYELYFGDAFDNLLAFFAGQPLNLANPQVLAER----	325	
ORF2	AAHPLLKMPNALCTPHLGYGEREGYEGIYAGGVERLLAWVAGTPIDVINPEALERQKR--	329	
	. * . . : . **** * : : . * : : . . . : * . : : * * . *		

Abbildung 30: Alignment der Aminosäuresequenz des ORF2 von pEry1 mit ähnlichen Sequenzen aus den Datenbanken

Das Alignment wurde mit dem Programm "ClustalW" erstellt. Die Abkürzungen entsprechen: *B.mallei*, Glyoxylat-Reduktase von *Burkholderia mallei* ATCC 23344 (YP_101977.1); *R.solanacearum*, potentielle D-3-Phosphoglycerat-Oxidoreduktase von *Ralstonia solanacearum* GMI1000 (NP_518137.1); *X.campestris*, D-3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase von *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Stamm ATCC 33913 (NP_635415.1); *A.vinelandii*, COG0111: Phosphoglycerat-Dehydrogenase und verwandte Dehydrogenasen von *Azotobacter vinelandii* (ZP_00342599.1). In Klammern ist die jeweilige Accession-Nummer angegeben. „*“ steht für identische Aminosäuren in allen Sequenzen, „:“ für konservierte und „.“ für semi-konservierte Substitutionen. In der Consensus-Sequenz sind die den D-Isomer-spezifischen 2-Hydroxysäure-Dehydrogenase-Signaturen entsprechenden Aminosäuren angegeben.

3.6.3 Wachstumskurve des Klons *E. coli* JM109/pEry1

Zur Charakterisierung des Klons *E. coli* JM109/pEry1 sollte zunächst eine Wachstumskurve erstellt werden. Da das Wachstum des Klons in *Citrobacter*-Mineralmedium-Flüssigkulturen mit Erythrit als einziger C- und Energiequelle sehr langsam war, wurde der Klon zunächst in 5 ml Flüssigkulturen (*Citrobacter*-Mineralmedium) mit 30 mM Glukose angezogen. Von dieser Kultur wurde dann mit 100 µl in eine neue 5 ml Flüssigkultur mit 50 mM Erythrit und 10 mM Glukose und schließlich aus dieser in eine Flüssigkultur mit 50 mM Erythrit überimpft. Auch mit diesen Adaptations-Schritten benötigte der Klon zum Anwachsen mit Erythrit als einzigem Substrat ca. 4 Wochen. Nach erneutem Überimpfen war das Wachstum wesentlich schneller, so dass eine Wachstumskurve des Klons *E. coli* JM109/pEry1 in 5 ml flüssigem *Citrobacter*-Mineralmedium mit Ampicillin und 50 mM Erythrit erstellt

werden konnte (s. Abbildung 31). Dazu wurden 5 ml flüssiges *Citrobacter*-Mineralmedium mit Ampicillin und 50 mM Erythrit mit 100 µl einer Vorkultur angeimpft. In Abbildung 31 sind 3 Wachstumskurven zu erkennen, deren Werte durch Mittelwertbildung aus je 3 Parallelansätzen gewonnen wurden.

Abbildung 31: Wachstumskurve des Klons *E. coli* JM109/pEry1 in *Citrobacter*-Mineralmedium-Flüssigmedium mit Ampicillin und 50 mM Erythrit

5 ml flüssiges *Citrobacter*-Mineralmedium (s. 2.2.4) mit Ampicillin und 50 mM Erythrit als einziger C- und Energiequelle wurden mit 100 µl einer Vorkultur des Klons *E. coli* JM109/pEry1 beimpft und bei 30 °C geschüttelt. Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die optische Dichte bei 600 nm direkt in den Röhrchen mit Hilfe eines Photometers der Fa. Milton Roy (Spectronic 21, Rochester, New York, USA) bestimmt. Ab einer optischen Dichte von 2 wurden die Kulturen verdünnt und die optische Dichte in Plastikkuvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm in einem Spektralphotometer (UV-VIS Spektrophotometer V-550, Fa. Jasco, Jena) gemessen. Die drei Wachstumskurven zeigen je die gemittelten Werte von drei parallel beimpften Röhrchen.

Es zeigt sich, dass das Wachstum von *E. coli* JM109 mit dem Plasmid pEry1 sehr langsam ist. Es konnte eine maximale Verdopplungszeit von 8,5 h berechnet werden. Die größte optische Dichte bei 600 nm wurde nach etwa 63 Stunden mit 4,6 erreicht. Auch die Fähigkeit von *E. coli* JM109 mit D-Erythrose oder L-Erythrulose, möglichen Produkten der Erythrit-Umsetzung, wachsen zu können, wurde mit *Citrobacter*-

Mineralmedium mit Ampicillin und jeweils einer der Substanzen (50 mM) getestet. *E. coli* JM109 konnte mit beiden Substraten wachsen.

Außerdem sollte überprüft werden, ob der Klon *E. coli* JM109/pEry1 auch anaerob mit Erythrit als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen konnte. Dafür wurde ebenfalls das *Citrobacter*-Mineralmedium mit Ampicillin in Hungate-Röhrchen verwendet, die mit dem Medium vor dem Autoklavieren für 20 Minuten mit Stickstoff begast wurden. Auch hier wurde aus Vorkulturen mit 30 mM Glukose in Vorkulturen mit 10 mM Glukose und 50 mM Erythrit überimpft. Aus diesen wurde dann die Hauptkultur mit 50 mM Erythrit angeimpft. Das Inoculum betrug anaerob jeweils 250 µl. Selbst nach 8-10 Wochen konnte kein Wachstum festgestellt werden.

3.6.4 Bestimmung der Größe des nativen Proteins über native Gradienten-PAGE und Aktivitätsfärbung

Die Molekularmasse des nativen Enzyms, das für die Erythrit-Verwertung verantwortlich ist, sollte über ein natives Polyacrylamid-Gradientengel ermittelt werden, mit dem eine Aktivitätsfärbung, wie unter 2.21.2 beschrieben, durchgeführt wurde. Das Testsystem beruhte darauf, dass das bei der Oxidation von Erythrit gebildete NADH NBT direkt oder über den Elektronenüberträger Phenazinmethosulfat (PMS) irreversibel zum Diformazan reduzieren kann. Mit dieser Reduktion ist ein Farbwechsel von gelb zu blau verbunden, der ein aktives Enzym als distinkte Bande im Gel sichtbar werden lässt. Für den Nachweis wurde *E. coli* JM109/pEry1 in *Citrobacter*-Mineralmedium mit 50 mM Erythrit für 3 – 4 Tage bei 30 °C geschüttelt. Die Zellen wurden zentrifugiert, mit der French Press aufgeschlossen, die Zelltrümmer abzentrifugiert und der Rohextrakt in der nativen Gradienten-PAGE (s. 2.20.2) eingesetzt. Nach der Aktivitätsfärbung erschien eine deutliche Bande, der eine Molekularmasse von ca. 94 kDa zugeordnet werden konnte. Das Gel ist in Abbildung 32 dargestellt. Man erkennt auch in dem mit Coomassie-gefärbten Teil ein Protein mit dieser Molekularmasse.

Abbildung 32: Nachweis einer Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität in der nativen Gradienten-PAGE mit den Rohextrakten von *E. coli* JM109/pEry1, und *E. coli* BL21 StarTM mit den Plasmiden pETery20, pErystop und pErylong

500 ml *Citrobacter*-Mineralmedium-Kulturen (s. 2.2.4) wurden mit 50 mM Erythrit (*E. coli* JM109/pEry1) bzw. 30 mM Glukose und 0,2 mM IPTG (*E. coli* BL21 StarTM mit den Plasmiden pETery20, pErystop und pErylong) für 3 – 4 Tage bzw. über Nacht bei 30 °C geschüttelt, abzentrifugiert und mit der French Press aufgeschlossen. Zelltrümmer wurden abzentrifugiert (s. 2.16.1) und der Rohextrakt auf ein natives 12,5 %iges Polyacrylamid-Gel aufgetragen. Die Auftrennung der Proteine erfolgte für 18 Stunden bei 4 °C und 100 V. Die Spur mit dem Marker sowie ein Stück der zweiten Spur wurden mit Coomassie gefärbt (s. 2.21.1). Mit dem restlichen Gel wurde eine Aktivitätsfärbung, wie unter 2.21.2 beschrieben, durchgeführt.

3.6.5 Photometrische Messung der Enzymaktivität, Pufferbedingungen sowie Coenzym-Spezifität

Oxidoreduktasen unterschieden sich in den für eine Aktivität erforderlichen Pufferverhältnissen. Deshalb wurden 3 verschiedene Puffer, die von anderen Oxidoreduktasen bekannt waren, bei den Enzymaktivitätsmessungen ausprobiert: Der K₂CO₃-Puffer wurde erfolgreich bei Aktivitätsmessungen mit Alkohol-Dehydrogenasen (KNIETSCH et al., 2003) und der Phosphat-Puffer z. B. mit der Alkohol-Dehydrogenase der Bäckerhefe eingesetzt. Außerdem wurde mit allen Puffersystemen getestet, ob mit NAD⁺ oder/und NADP⁺ eine Aktivität messbar ist, da, wie bereits oben erwähnt, für Erythrit-Oxidoreduktasen unterschiedliche Cofaktor-Spezifitäten bekannt sind.

Für die Aktivitätsmessungen wurde *E. coli* JM109/pEry1 in *Citrobacter*-Mineralmedium mit Ampicillin und 50 mM Erythrit in 500 ml-Kulturen angezogen und nach 3-4 Tagen geerntet. Die Zellen wurden in dem Puffer, in dem die

Aktivitätsmessung durchgeführt werden sollte, aufgenommen, mit der French Press (s. 2.16.1) aufgeschlossen und die Zelltrümmer bei 4 °C für 30 min abzentrifugiert. Der Überstand wurde dann in den Aktivitätsmessungen, wie unter 2.18.1 beschrieben, eingesetzt. Aktivität konnte nur mit NAD^+ als Co-Faktor sowohl in dem K_2CO_3 -Puffer als auch mit dem HEPES- NH_4OH -Puffer gemessen werden. Mit NADP^+ war mit keinem Puffer und mit Puffer 2 auch mit NAD^+ keine Aktivität messbar. Mit NAD^+ als Cofaktor und dem K_2CO_3 -Puffer wurde eine spezifische Aktivität von 0,049 U/mg Enzym gemessen. Außerdem wurde, wie unter 2.18.1 beschrieben, untersucht, ob der Rohextrakt eine Rückreaktion mit Erythrose oder mit Erythrulose als Substrat zeigte. Wegen der *E. coli* eigenen NADH-Dehydrogenase wurden die Plastik-Küvetten mit dem Testpuffer und allen Komponenten außer den Substraten mit Stickstoff begast. Es konnte keine NADH-Oxidation gemessen werden. Da eine Phosphorylierung des Erythrits oder des Oxidationsproduktes wahrscheinlich ist, wurde außerdem mit Erythrit, Erythrose und Erythrulose ein Kinasetest (s. 2.18.2) durchgeführt. Auch hier konnte keine Aktivität bestimmt werden.

3.6.6 Klonierung des ORF2 in den pET101/D-TOPO-Vektor

Für die Produktion von Proteinen, ihre anschließende Aufreinigung und ihren spezifischen Nachweis wurde das pET101/D-TOPO-Vektorsystem verwendet (s. 2.3.4.1). Durch die gerichtete Klonierung in diesen Vektor werden Proteine mit einem C-terminalen His_6 -Tag und V5-Epitop versehen. Über den His_6 -Tag ist eine Aufreinigung über Metall-Chelat-Affinitätschromatographie (s. 2.19.1) möglich. Außerdem kann das Protein über den His_6 -Tag im Western-Blot (s. 2.20) nachgewiesen werden.

Für die gerichtete Klonierung des ORF2 in den pET101/D-TOPO-Vektor wurden anhand der bekannten Sequenz die Oligonukleotide eryrev und eryfor abgeleitet und in einer Polymerasekettenreaktion mit der *Pfu*-DNA-Polymerase eingesetzt (s. 2.10.1). Es konnte ein DNA-Fragment amplifiziert werden, welches der erwarteten Größe von 990 bp entsprach. Dieses Fragment wurde aus dem Agarosegel extrahiert (s. 2.5.3.6) und in den pET101/D-TOPO-Vektor, wie unter 2.8.3.2 beschrieben, inseriert. Der Ansatz wurde in *E. coli* TOP10-Zellen transformiert und auf LB-Ampicillin-Agar-Platten ausplattiert. 50 Kolonien wurden in 5 ml-LB-Röhrchen mit Ampicillin angezogen und die Plasmide präpariert. Die Orientierung der Inserts in den Plasmiden

konnte durch einen *Xba*I und *Aat*II-Doppelverdau analysiert werden. *Xba*I schneidet einmal im Vektor und *Aat*II einmal im Insert. Alle Konstrukte, die den ORF2 enthielten, sind in Abbildung 33 dargestellt. Dabei sind auch mögliche Größen von Fragmenten nach dem Restriktionsverdau mit *Xba*I und *Aat*II angegeben.

In zwei Plasmiden war das Insert so orientiert, dass bei der Synthese des Proteins der His₆-Tag und das V5-Epitop C-terminalen angehängt werden konnten. Sie wurden anschließend sequenziert. In beiden Fällen waren keine Abweichungen von der Originalsequenz von pEry1 vorhanden. Die Plasmide werden im Folgenden als pETery20 und pETery47 bezeichnet.

3.6.7 Expression des ORF2-Gens sowie Reinigung und Nachweis des von ORF2 kodierten Proteins

Nachdem sichergestellt war, dass die Plasmide pETery20 und pETery47 keine Mutationen enthielten, wurden mit beiden Plasmiden Pilot-Expressionen durchgeführt. Dafür wurden beide Plasmide in *E. coli* BL21 StarTM transformiert, mit dem gesamten Transformationsansatz 10 ml-LB-Übernachtskulturen angeimpft und 500 µl dieser Kultur zum Animpfen von 10 ml-LB-Kulturen für die Expression genutzt. Diese wurden beim Erreichen einer optischen Dichte (600 nm) von 0,5 bis 1 auf zwei 5 ml Kulturen aufgeteilt, von der jeweils eine mit 0,5 mM IPTG induziert wurde. Die Kontrolle der Genexpression fand durch stündliche Probennahmen nach 0 - 4 Stunden statt. Dazu wurden den Kulturen 500 µl entnommen, die Zellen zentrifugiert und bis zur Analyse durch eine SDS-PAGE (s. 2.20.1) eingefroren. Abbildung 34 zeigt eine SDS-PAGE-Analyse des Expressionsversuches mit dem pETery20-Genprodukt. Der ORF2 sollte mit dem angehängten His₆-Tag eine Molekularmasse von ca. 38 kDa haben. Zu keinem Zeitpunkt ist nach IPTG-Zugabe eine verstärkte Produktion eines Proteins mit der Masse von 38 kDa erkennbar. Ferner war keine Reinigung des Proteins durch Ni²⁺-Affinitätschromatographie möglich.

Abbildung 33: In dieser Arbeit konstruierte Vektoren und die korrespondierenden Genprodukte

Abbildung 34: Pilot-Überexpression des ORF2 mit dem Plasmid pETery20 in *E. coli* BL21 Star™

Eine 10 ml LB-Kultur von *E. coli* BL21 Star™ mit dem Plasmid pETery20 wurde bei einer OD_{600} von 0,5 bis 1 aufgeteilt, von denen eine Kultur mit 0,5 mM IPTG induziert wurde. Nun wurden sofort und dann im Abstand von jeweils einer Stunde den beiden Kulturen 500 μ l-Proben entnommen, abzentrifugiert und eingefroren. Die Proben wurden nach beendeter Überexpression aufgetaut, mit 80 μ l Lysis-Puffer versetzt, 5 min bei 95 °C gekocht und schließlich 5 μ l auf ein SDS-Gel (s. 2.20.1) aufgetragen. Die SDS-Page fand bei 100 V statt. Abweichend von allen anderen SDS-Pages wurde hier der Standard „Prestained SDS-PAGE Standard Low Range“ in der ersten Spur eingesetzt. Das Molekulargewicht der Banden ist am linken Rand vermerkt. Es ist jeweils zunächst die induzierte Probe (+I) und dann die nicht-induzierte Probe (-I) zu den Zeitpunkten 0 bis 4 Stunden (0h – 4h) aufgetragen.

Aus diesem Grund wurde zum Nachweis des Proteins ein Western-Blot, wie unter 2.22 beschrieben, durchgeführt und sowohl das V5-Epitop mit einem Anti-V5-Alkalischen-Phosphatase-Konjugat als auch der His₆-Tag mit einem Antikörper-System, dessen primärer Antikörper gegen den His₆-Tag gerichtet war, nachgewiesen (s. 2.21.1.1.1 und 2.21.1.1.2, s. Abbildung 34). Ein Signal eines Proteins mit der erwarteten Masse konnte mit dem gegen den His₆-Tag gerichteten Antikörper-System nachgewiesen werden.

Abbildung 35: Western-Blot mit dem ORF2+His₆-Tag mit einem Anti-His-Antikörper

Eine 5 ml LB-Kultur von *E. coli* BL21 Star™ mit dem Plasmid pETery20 wurde bei einer OD_{600} von 0,5 bis 1 aufgeteilt und mit 0,5 mM IPTG induziert. Nach 4 Stunden wurde eine 500 μ l-Probe entnommen, abzentrifugiert und mit 80 μ l Lysis-Puffer versetzt, 5 min bei 95 °C gekocht und schließlich 5 μ l auf ein SDS-Gel (s. 2.20.1) aufgetragen. Die SDS-Page fand bei 100 V statt. Der Proteintransfer und der Nachweis des His₆-Tags erfolgte wie unter 2.22 beschrieben. In Spur S ist der „Prestained-Marker“ „peqGold Protein Marker IV (Prestained)“ (Fa. PeqLab Biotechnologie GmbH) und in der Spur RE der Rohextrakt aufgetragen.

3.6.8 Enzymtest mit dem Rohextrakt von *E. coli* BL21 StarTM/pETery20

Weil die Aufreinigungen des Enzyms fehl schlugen, wurden Enzymaktivitätstests mit Rohextrakten von *E. coli* BL21 StarTM mit den in Abbildung 33 dargestellten Vektor-Konstrukten pETery20 und pETerystop durchgeführt. Mit dem pETerystop-Konstrukt konnte das Enzym ohne His₆-Tag produziert werden. Die Produktion des Enzyms erfolgte unter verschiedenen Anzucht- und Induktionsbedingungen. Mit keinem der Rohextrakte war eine Aktivität messbar.

Aufgrund der Molekularmasse von 94 kDa des aktiven Proteins, die in einem Aktivitätsgel bestimmt worden war (s. 2.21.2), war bislang davon ausgegangen worden, dass es sich bei dem Protein mindestens um ein Homodimer handeln musste. Eine andere Erklärung wäre natürlich auch die, dass das Protein ein Monomer und größer als erwartet war. Daraufhin wurde das Insert des Plasmids pEry1 noch einmal genauer betrachtet, wobei auffiel, dass der ORF unmittelbar nach dem ORF2 im gleichen Leserahmen lag und mit einem TGA-Codon endete, welches sowohl für ein Stopp-Signal als auch für die „21.“-Aminosäure Selenocystein kodieren kann. Daraufhin wurde ein weiteres pET101/D-TOPO-Vektor-Konstrukt hergestellt, das die beiden hintereinander liegenden ORFs als Insert enthielt. Für die Amplifikation dieses Inserts wurde das Oligonukleotid erylong aus der pEry1-Sequenz abgeleitet. Da die Polymerasekettenreaktion mit der *Pfu*-DNA-Polymerase nicht gelang, wurde hier die KOD Hifi DNA Polymerase eingesetzt (s. 2.10.2). Das pET101/D-TOPO-Vektor-Konstrukt mit diesem Insert wurde pErylong genannt. Auch bei diesem Konstrukt wurde die Orientierung des Inserts durch einen *Xba*I und *Aat*II-Verdau überprüft. Eine Pilot-Expression ließ keine stärker werdende Proteinbande im der SDS-Page erkennen. Auch mit diesem Konstrukt wurden Rohextrakte sowohl aus einer LB-Überexpressionskultur (Induktion mit 0,5 mM IPTG für 4 Stunden) als auch aus einer *Citrobacter*-Mineralmedium-Kultur mit 30 mM Glukose und 0,02 mM IPTG hergestellt. Beide Rohextrakte wurden im Enzymtest eingesetzt. Außerdem wurde ein Aktivitätsgel (s. 2.21.2) mit den Rohextrakten aller bislang beschriebenen Konstrukte angefertigt, die in der Abbildung 33 zusammengefasst sind. Die Rohextrakte der pErylong-Kulturen zeigten in keinem der Puffer Aktivität. Auch im nativen Gel, das für die Reaktion von NAD⁺ zu NADH sensitiver ist, wurde bei keinem Rohextrakt der Kulturen mit den pET101/D-TOPO-Vektor-Konstrukten eine Bande sichtbar

(Abbildung 32). Nur in der ersten Spur, die teilweise mit Coomassie angefärbt wurde, ist bei ca. 94 kDa eine deutliche Bande zu erkennen

3.6.9 Mutation des ORF2 durch Restriktionsverdau mit *Bc*III

Ein indirekter Nachweis der Funktion des ORF2 sollte dadurch erfolgen, dass aus diesem ORF ein Stück rausgeschnitten und der Rest des Vektors religiert werden sollte. Beim Verlust der Fähigkeit der Erythrit-Verwertung von Klonen, die mit diesem Vektor transformiert werden, kann indirekt darauf geschlossen werden, dass der ORF tatsächlich für ein Enzym kodiert, das die Umsetzung des Erythrits katalysiert. Ein geeignetes Enzym muss 2 mal im ORF2 und darf nicht im übrigen Insert oder im Vektor selbst schneiden. Diese Anforderungen wurden von dem Enzym *Bc*III erfüllt. Dieses Enzym schneidet ein 630 bp Fragment aus dem 990 bp großen ORF2. Der das Plasmids pEry1 wurde mit *Bc*III, wie unter 2.8.1 beschrieben, angesetzt und anschließend religiert (s. 2.8.3.1). Der Ligationsansatz wurde in *E. coli* JM109-Zellen transformiert. Aus 20 rekombinanten *E. coli*-Stämmen wurden die Plasmide isoliert (s. 2.6.3.1) und mit einer Restriktion mit *Sac*I der Verdau überprüft. *Sac*I schneidet in dem ORF2 in dem Bereich, der durch den *Bc*III-Verdau rausgeschnitten sein sollte, und einmal in pSKII⁺. Bei einem erfolgreichen Verdau sollte *Sac*I damit nur noch im pSKII⁺ schneiden. Nach dieser Kontrolle wurde ein Plasmid ausgewählt. Da die Sequenzierung nicht erfolgreich war, wurde vorerst die Sequenz zusätzlich mit einer PCR mit den Oligonukleotiden eryfor und eryrev überprüft. Es wurde ein Insert erhalten, das der erwarteten Größe von 330 bp entsprach. Das entsprechende Plasmid wurde in *E. coli* JM109 transformiert (s. 2.11.1). Nach 5 Wochen Inkubation der auf *Citrobacter*-Mineralmediumplatten ohne Hefeextrakt ausplattierten Transformationsansätze, konnte nur bei der Positiv-Kontrolle Wachstum festgestellt werden. Demnach war der ORF2 für die Erythrit-Verwertung essentiell.

4 DISKUSSION

Die Entwicklung von Methoden, die die direkte Klonierung von DNA aus der Umweltprobe ermöglichen und der große Fortschritt der Sequenzierungstechnik in den letzten Jahren ermöglichen die Sequenzierung großer Teile von Metagenomen (AMANN et al., 1995; GIOVANNONI und RAPPE 2000; GIOVANNONI et al., 1990; KELLENBERGER, 2001). VENTER et al. (2004) sequenzierten beispielsweise einen großen Teil des Metagenoms aus Wasserproben der Sargasso Sea. Andere Metagenome wie das eines für die „acid mine drainage“ verantwortlichen Biofilms und das eines Trinkwasserleitungsbiofilms wurden untersucht (SCHMEISSER et al., 2003; TYSON et al., 2004). Auch in dieser Arbeit sollten über die Sequenzierung von aus dem Leinesediment isolierter DNA, Informationen über die phylogenetische und physiologische Diversität der dort vorkommenden Mikroorganismen gewonnen werden.

4.1 Phylogenetische Analyse des Leinesedimentes

Die Untersuchung der phylogenetischen Diversität mikrobieller Habitate hat sich im letzten Jahrzehnt stark gewandelt. Durch die Etablierung molekularbiologischer Methoden wie der Sequenzanalyse (z. B. der 16S rRNA-Gene) konnten auch hier die Grenzen konventioneller Kultivierungstechniken überwunden werden. Die molekularbiologische Analyse der phylogenetischen Diversität bedient sich des Vergleiches der Nukleinsäuresequenz von Markermolekülen, die aufgrund ihrer zentralen Rolle im Metabolismus („housekeeping“) der Organismen ubiquitär verbreitet sind und sich im Verlauf der Evolution nur wenig verändert haben. Sie müssen homolog sein und ihre Funktionalität von ihrer Sequenz abhängen, wodurch der Evolutionsdruck sich direkt auf die Sequenz auswirkt. Außerdem sollte die Primärsequenz eines solchen Markermoleküls unabhängig evolvierende Domänen besitzen, die es erlauben, die Relevanz lokaler Identitäten oder Differenzen zu testen (DOOLITTLE, 1999). Beispiele solcher Marker sind das Chaperon-60 (HILL et al., 2002) oder das Hitzeschock-Protein HSP70 (GRIFFITHS und GUPTA, 2001) und vor allem Proteine, die in so wichtige zelluläre Prozesse wie die Translation integriert sind wie z. B. die β -Untereinheit der RNA-Polymerase (DAHLLOF et al., 2000). Der bedeutendste phylogenetische Marker

ist allerdings die 16S rRNA. Dieses Molekül besitzt fast alle erforderlichen Eigenschaften. Es ist essentiell und ubiquitär, es hat konservierte, weniger konservierte und variable Regionen und weist eine universell konservierte Struktur auf. Die konservierten Bereiche erlauben die Konstruktion universeller Oligonukleotide, die zur Amplifikation des vollständigen Gens oder kurzer DNA-Abschnitte eingesetzt werden können (WOESE, 1987). Ein Nachteil dieses Gens ist aber, dass sich die *rrn*-Operons in ihrer Anzahl zwischen 1 und 15 Kopien von Organismus zu Organismus unterscheiden (KLAPPENBACH et al., 2000). Wenn die Anzahl dieser Operons mit der Wachstumsrate positiv korreliert ist, dann muss davon ausgegangen werden, dass unkultivierbare, langsam wachsende Bakterien nur wenig in durch PCR generierten 16S rRNA-Genbanken und auch in Genbanken mit klonierter Umwelt-DNA vertreten sind (KLAPPENBACH et al., 2000). Umgekehrt reicht eine einzige Kopie eines 16S rRNA-Gens für die Zuordnung von Metagenomsequenzen. VENTER et al. (2004) sequenzierten mit 2 Mio. Sequenzläufen 1,6 Billionen bp klonierter Umwelt-DNA aus Proben der Sargasso Sea. Sie untersuchten die sequenzierte DNA auf vorhandene 16S rRNA-Gene, aber auch auf das Vorkommen anderer molekularer Marker wie z. B. der Gene für das RecA-Protein, den Elongationsfaktor EF-Tu, das HSP70 und die β -Untereinheit der RNA-Polymerase. Dabei stellten sie fest, dass im Vergleich zu den anderen Markern phylogenetische Gruppen besonders häufig oder eher selten durch 16S rRNA-Gene vertreten waren. Dies erklärten auch sie durch die unterschiedliche Kopienzahl der 16S rRNA-Gene in verschiedenen Organismengruppen.

Analysen mikrobieller Gemeinschaften mittels der Sequenzierung der 16S rRNA-Gene wurden für viele unterschiedliche Habitate beschrieben: z. B. für Ozeane (GIOVANNONI et al., 1990; LIM et al., 1993), Seen (FALZ et al., 1999; HIORNS et al., 1997), Böden (LIESACK und STACKEBRANDT, 1992), heiße Quellen (HUGENHOLTZ et al., 1998), Grundwasser (PEDERSEN et al., 1996) und Flüsse (BÖCKELMANN et al., 2000; CRUMP et al., 1999). Mitte der 70er Jahre begann WOESE mit seinen Mitarbeitern 16S rRNA-Gensequenzen zu sammeln. Am 1. April 2004 umfasst allein die „Genbank“-Datenbank 21466 16S rRNA-Gensequenzen von kultivierten und 54655 von unkultivierten Organismen. Solche Zahlen lassen das Ausmaß der unbekannten Sequenzen erahnen.

Die aus den Studien der letzten Jahre gewonnenen 16S rRNA-Gensequenzen haben eine große mikrobielle Diversität erkennen lassen, die sich mit traditionellen Standardtechniken nicht detektieren ließ (LIESACK und STACKEBRANDT, 1992;

PACE et al., 1986). Die Sequenzen lassen sich inzwischen nicht nur in 12 (WOESE, 1987), sondern in mindestens 52 große Phyla einteilen (RAPPE und GIOVANNONI, 2003). 26 von ihnen enthalten keine, 22 nur wenige kultivierte Organismen. Nur aus 4 Phyla konnten viele Organismen kultiviert werden. Die Phyla ohne kultivierte Vertreter werden als „candidate divisions“ bezeichnet. Phyla (oder Divisionen) unterscheiden sich in ihrer 16S rRNA-Gensequenz um ca. 20 bis 25 % (HUGENHOLTZ et al., 1998). Mit Zunahme der verfügbaren 16S rRNA-Gensequenzen wird immer deutlicher, dass einzelne dieser „candidate divisions“ wie z. B. OP11 eine wichtige Rolle in verschiedenen Habitaten spielen (HARRIS et al., 2003). Sowohl kulturabhängige als auch kulturunabhängige Studien belegen, dass einige Phyla ubiquitär, andere nur auf bestimmte Standorte beschränkt vorkommen. 90 % der kultivierten Bakterien, die durch 16S rRNA-Gensequenzen charakterisiert sind, gehören entweder der Gruppe der *Proteobacteria*, der *Cytophagales* (*Bacteroides*-*Cytophaga*-*Flexibacter*-Gruppe), den Gram-positiven *Actinobacteria* oder den Gram-positiven *Firmicutes* an (HUGENHOLTZ et al., 1998). 76 % der in „Genbank“-Datenbank enthaltenen Sequenzen kultivierter Bakterien und auch 70 % der Umweltsequenzen lassen sich diesen vier Gruppen zuteilen (HUGENHOLTZ, 1998; HUGENHOLTZ et al., 2002). Dies entspricht auch in etwa dem Ergebnis dieser Arbeit (66 %). Eine wichtige Rolle in Umweltprozessen scheinen aber auch die *Acidobacteria*, die *Chloroflexi* und die *Planctomycetes* zu spielen. Auch 27 % der Leinesediment-16S rRNA-Gensequenzen gehen vermutlich auf Angehörige dieser Bakteriengruppen zurück. Diese z. T. ubiquitär verbreiteten Phyla weisen bislang kaum oder gar keine kultivierten Vertreter auf. Dementsprechend ist wenig über ihre physiologischen und morphologischen Eigenschaften bekannt. Ihr ubiquitäres Vorkommen lässt aber auf ihre Bedeutung in mikrobiellen Gemeinschaften schließen (HUGENHOLTZ et al., 1998; RIESENFELD et al., 2004; WARD et al., 1995).

Ein direkter quantitativer Vergleich der in dieser Arbeit gewonnenen Sequenzen mit anderen Süßwasserhabitaten ist allerdings schwierig. Die mikrobielle Diversität in Süßwasserhabitaten, speziell die von Flusssedimenten, ist in der Vergangenheit weniger intensiv untersucht worden als andere wie etwa die von Böden und Ozeanen (HUGENHOLTZ et al., 1998; O’SULLIVAN et al., 2002). Verschiedene Studien zeigen, dass große Unterschiede der mikrobiellen Zusammensetzung zwischen den unterschiedlichen ökologischen Nischen von Süßwasserhabitaten bestehen und sich die Zusammensetzung häufig stark mit den Umwelteinflüssen, z. B. den Jahreszeiten,

ändert (BÖCKELMANN et al., 2000). So stellen Sedimente, das freie Wasser, Schwebeteilchen und Biofilme, z. B. auf Steinen, unterschiedliche ökologische Nischen dar (CRUMP et al., 1999; O’SULLIVAN et al., 2002). Außerdem konnten Unterschiede im Vorkommen von Mikroorganismen im Verlauf des Changjiang-Flusses festgestellt werden (SEKIGUSHI et al., 2002). Die Zusammensetzung variierte ebenfalls stark zwischen mündungsnahen Bereichen und Standorten mitten im Flussverlauf des Columbia Rivers (CRUMP et al., 1999).

In dieser Arbeit wurde die DNA aus der oberen Sedimentschicht (0 bis 15 cm) der Leine isoliert. Der Ort, an dem die Probe entnommen wurde, liegt im oberen Flussverlauf (s. 3.1). Bei der Probennahme wurde nicht ausgeschlossen, dass auch Flusswasser mit in die Probe gelangte. Da die Zellzahl frei lebender Bakterien eher gering ist, kann aber doch davon ausgegangen werden, dass die Zusammensetzung am ehesten der eines Flusssedimentes entspricht. Ein quantitativer Vergleich mit anderen Standorten ist nicht möglich, weil das Verhältnis der Klone in der 16S rRNA-Genbank gewöhnlich nicht der natürlichen Verteilung der Organismen eines Habitates entspricht. Eine bevorzugte Amplifikation und/oder Klonierung einzelner rDNA-Moleküle kann zu einer Überrepräsentation in den angelegten Genbanken führen. Die Ursachen für eine bevorzugte PCR-Amplifikation können vielfältig sein. Neben der Genomgröße und der Anzahl der *rrn*-Genkopien (KLAPPENBACH et al., 2000) sind der G+C-Gehalt der rDNA (REYSENBACH et al., 1994), die Konzentration der Template-DNA (CHANDLER et al., 1997) und die Wahl der für die Amplifikation verwendeten Oligonukleotide (SUZUKI und GIOVANNONI, 1996; WEISBURG et al., 1991) als mögliche Ursachen beschrieben. Auch in dieser Arbeit führte der Einsatz von unterschiedlichen Oligonukleotiden zu unterschiedlichen Ergebnissen. Wie unter 3.3.2 beschrieben, konnten mit dem Oligonukleotid-Paar 4 (A800F+A1530R) keine β -Proteobakterien amplifiziert werden. Dafür übertraf die Anzahl der gewonnenen α -Proteobakterien-Sequenzen deutlich die der anderen PCR-Ansätze mit dem Oligonukleotidpaar 16S08/16S1504. Aber auch mit dem gleichen Primerpaar waren die Ergebnisse in unabhängigen PCR-Ansätzen nicht identisch (s. PCR 1 und 2). Fasst man die Ergebnisse der einzelnen PCR-Ansätze zusammen und geht man davon aus, durch die Amplifikation mit zwei verschiedenen Oligonukleotid-Paaren ein weniger verzerrtes Bild der mikrobiellen Gemeinschaft erhalten zu haben, so kann festgestellt werden, dass vor allem α - und γ -Proteobakterien und die *BCF*- Gruppe im Leinesediment vertreten sind. Insgesamt ist die Zusammensetzung sehr divers (s. Abbildung 36). Auch die β -

und δ -Proteobakterien, die *Planctomycetes*, die *Acidobacteria* und die *Chloroflexi* stellen jeweils mindestens 5 % der Sequenzen. 11 Phyla sind mindestens mit einer Sequenz vertreten, mit der Sequenz sl1394 auch ein Vertreter der „candidate Division“ TM7. Damit ist die Diversität größer als in anderen Studien.

Abbildung 36: Nachgewiesene Organismengruppen im Leinesediment

Eingerahmt sind die Organismengruppen, aus denen mindestens eine Sequenz im Leinesediment nachgewiesen werden konnte. Bakterielle Gruppen sind türkis, archaeelle violett angefarbt.

Auffällig ist außerdem, dass keine Cyanobakterien und nur wenig Gram-positive Bakterien nachgewiesen werden konnten, die in anderen Süßwasserhabitaten stärker vertreten waren (CRUMP et al., 1999; GLÖCKNER et al., 2000 O’SULLIVAN et al., 2002; SEKIGUCHI et al., 2002). Im Epilithon des Flusses Taff bei Cardiff wurden ebenfalls am meisten Sequenzen mit Ähnlichkeit zur *CFB*-Gruppe und α - und γ -Proteobakterien gefunden. Dort waren die β -Proteobakterien wie auch in dieser Arbeit weniger stark vertreten (O’SULLIVAN et al., 2002). Im Sediment des „Rainbow Bays“,

einer von mehreren natürlich vorkommenden, schmalen, eliptischen Mulden im Savannah-Fluss-Gebiet, die ihr Wasser hauptsächlich vom Regen und dem Grundwasser beziehen, wurden keine γ -Proteobakterien, sondern nur α -, β - und δ -Proteobakterien nachgewiesen, außerdem *Firmicutes*, *Verrucomicrobia*, *Acidobacteria* und *Chloroflexi* (WISE et al., 1997). In anderen Süßwasserhabitaten waren die γ -Proteobakterien ebenfalls seltener, dafür die β -Proteobakterien wesentlich häufiger wie z. B. im Flussverlauf des Chanjiang (s. SEKIGUSHI et al., 2002) und in den Seen Fuchskuhle, Baikal-See und Gossenkölle-See (GLÖCKNER et al., 2000). Eine noch stärker abweichende Zusammensetzung zeigte der „Fluss-Schnee“ der Elbe. Bei diesem handelt es sich um Aggregate, die sich aus organischem Detritus, lebenden photosynthetischen und heterotrophen Microorganismen und anorganischen Partikeln zusammensetzen. Dort waren die β -Proteobakterien die am stärksten vorkommende Gruppe. Das Vorkommen von α - und γ -Proteobakterien variierte in dem „Fluss-Schnee“ der Elbe stark mit der Jahreszeit. *CFB*-Bakterien stellten je nach Jahreszeit 5 - 10 % der Bakterien und waren damit seltener als an anderen Standorten (BÖCKELMANN et al., 2000). Diese Zahlen wurden allerdings abweichend von den anderen erwähnten Untersuchungen mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung gewonnen. Die Zusammensetzung der Bakterien der in dieser Arbeit untersuchten Leinesedimentprobe beinhaltet abgesehen von Cyanobakterien alle häufig in Süßwasserhabitaten vertretenen Bakterien-Phyla und ähnelt am ehesten der aus dem Epilithon des Flusses Taff. Zusätzlich sind andere Phyla vertreten, die in anderen Süßwasserhabitaten seltener oder gar nicht erfasst wurden wie etwa die *Chloroflexi*, die weder in der Elbe noch in den drei von GLÖCKNER et al. (2000) untersuchten Seen noch im Chanjiang-Fluss oder im Epilithon des Flusses Taff vorkamen.

Interessant war der Nachweis der Sequenz sl1394, die in die „candidate division“ TM7 eingruppiert werden muss. Die Sequenz stimmt zu 97 % mit der des unkultivierten Klons SM1G12 überein, die aus einer Quelle aus dem Yellowstone Nationalpark gewonnen wurde (AF445701). Der „candidate division“ TM7 gehören bislang 50 unkultivierte Bakterien an, deren Sequenzen aus verschiedenen Standorten isoliert wurden: aus metallkontaminiertem Boden, Schlämmen aus der Abwasserreinigung, einem Termitendarm, dem Meer, „Sequencing batch reactor“ und dem menschlichen Mund. Außerdem wird vermutet, dass Angehörige dieser „candidate division“ an Entzündungen unterhalb des Zahnfleischsaumes beteiligt sind (Accession-Nummer AY134895). Neben der Sequenz aus der Quelle des Yellowstone Nationalparks sind

bislang nur 2 weitere Sequenzen, Grundwasser-Klon JN18e (Z69283) und ein Klon aus einem alpinen See, Klon LCK-60 (AF109142), aus natürlichen Süßwasserhabitaten gewonnen worden. Bislang wird die „candidate division“ TM7 in 3 Unterdivisionen unterteilt (HUGENHOLTZ et al., 2001). Das erneute Auffinden einer solchen Sequenz mit einer hohen Identität mit einer bereits bekannten bestätigt erneut die Existenz dieser Division und ihre ubiquitäre Verbreitung.

Im Gegensatz zu GLÖCKNER et al. (2000), die aus den drei von ihnen untersuchten Seen nur Sequenzen gewannen, die zu anderen aus Süßwasser oder Boden isolierten Sequenzen die größte Ähnlichkeit hatten, sind in dieser Arbeit auch Sequenzen vorhanden, die z. B. den 16S rRNA-Genen von marinen Bakterien ähneln. Allerdings sind auch in dieser Arbeit Sequenzen mit nächsten Nachbarn aus dem Boden oder dem Süßwasser am häufigsten vertreten. Dass bei Süßwasserhabitaten verstärkt auch typische Bodenorganismen gefunden werden, kann wohl damit erklärt werden, dass es immer einen Abtrag des Bodens in Seen und Flüsse gibt.

Ebenso wie für marine Habitate, für die die SAR-Cluster als habitatspezifische Gruppe bekannt sind, konnte ZWART et al. (1998) auch für das Süßwasser spezifische Gruppen, Cluster A, B und C, identifizieren. Cluster A beinhaltet α -Proteobakterien, die Cluster B und C β -Proteobakterien. Alle sind ausschließlich aus 16S rRNA-Gensequenzen, die aus Süßwasserhabitaten isoliert wurden, zusammen-gesetzt. Keine der Leinesediment-16S rDNA-Sequenzen kann in eines dieser Cluster eingeordnet werden. In dieser Arbeit treten aber andere Cluster von 16S rRNA-Gensequenzen auf, die nur eigene Klone und andere Umweltklone enthalten. Bei den Sequenzen, die zu den γ -Proteobakterien gezählt werden, fällt ein Cluster auf, das die Leinesediment-Sequenzen sl1108, sl1174, sl1178, sl1340, sl1344, sl1380 und den Klon SG-3 enthält (s. Abbildung 11). Dieses Cluster zweigt so früh von den verschiedenen zum Genus *Xanthomonas* gehörenden Sequenzen ab, dass es sich hier um eine neue Gattung innerhalb der Familie *Xanthomonadaceae* handeln könnte. Bei der BCF-Gruppe bilden die Sequenzen sl1360, sl1320 und sl1331 ein eigenes Cluster innerhalb der *Flavobacteria*. Auch hier handelt es sich vermutlich um eine neue Gattung. Die Sequenzen sl3235, sl3223 und SJA-35 innerhalb der *Chloroflexi* unterscheiden sich von den anderen Sequenzen eventuell schon auf Familienniveau. Alle Leinesediment-Sequenzen mit Ähnlichkeit zu den *Chloroflexi* ähneln am stärksten Sequenzen von unkultivierten Mikroorganismen. Insgesamt betragen die Ähnlichkeiten nur 85 bis 91 %. Dies lässt erkennen, wie wenig über dieses Phylum bislang bekannt ist. Die

großen Unterschiede innerhalb der *Planctomycetes* sind nicht ungewöhnlich. Die von WARD et al. (1995) untersuchten *Planctomycetes* waren untereinander häufig ebenfalls nur zu 80 % identisch. Hier bilden die Sequenzen sl3261, sl3286 und OM190 einen eigenen Ast, der sich deutlich von den Gattungen *Gemmata*, *Planctomyces* und *Pirellula* abgrenzt. Insgesamt sind weitere Einzelsequenzen nur entfernt (unter 90 % Identität) mit bekannten 16S rRNA-Gensequenzen verwandt. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse bestätigen, dass trotz der vielen phylogenetischen Studien der letzten Jahre und der zahlreichen 16S rRNA-Gensequenzen in den öffentlichen Datenbanken noch vieles unbekannt ist und bleibt. Einzelne Sequenzen mit nur geringen Identitäten zu Datenbank-Sequenzen bedürfen weiteren ähnlichen Sequenzen, um klassifiziert werden zu können.

In dieser Arbeit wurde auch, wie unter 3.3.1 beschrieben, die Diversität der Archaea im Leinesediment untersucht. Lange wurde davon ausgegangen, dass Archaea auf extreme Standorte beschränkt wären. Inzwischen konnten sie an verschiedenen anderen Standorten mit moderaten Bedingungen wie dem Meer und Süßwasserhabitaten nachgewiesen werden (FUHRMAN et al., 1992; DeLONG et al., 1992; SCHLEPER et al., 1997). Auffällig war die große Identität zu verschiedenen Sequenzen unkultivierter Organismen aus dem **Rotsee** in der Schweiz (FALZ et al., 1999) und dem finnischen Waldsee **Valkea Kotinen** (JURGENS et al., 2000). In der Studie des Rotsees wurde eine Probe aus dem anoxischen Sediment untersucht. Dabei war eine klare Verteilung der Sequenzen auf 2 verschiedene Cluster erkennbar. 6 der untersuchten 17 archaeellen Sequenzen waren nah verwandt mit *Methanosaeta concilii* mit einer Homologie von mehr als 97 %. Mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) konnten FALZ et al. (1999) zeigen, dass die Organismen dieses Clusters 91 % der Archaeen in diesem Habitat ausmachten. Das zweite Cluster bildeten Sequenzen mit der größten Identität zu dem methanogenen Endosymbionten des anaeroben Ciliaten *Plagiopyla nasuta*. 2 Sequenzen konnten in das Reis-Cluster IV gruppiert werden. Damit entsprach die Zusammensetzung des Sedimentes etwa der eines Reisfeldbodens, in dem allerdings zusätzlich auch Vertreter der Arten *Methanosarcina* und *Methanobacterium* gefunden wurden (GROSSKOPF et al., 1997). Im Bakterioplankton des **Valkea Kotinen** konnten dagegen weder Angehörige der Familie *Methanosaetaceae* noch der Familie *Methanosarcinaceae* nachgewiesen werden. Von den 28 sequenzierten 16S rRNA-Genen ähnelten 12 Sequenzen denen von unkultivierten *Crenarchaeota*. Die 16 Sequenzen euryarchaeotischen Ursprungs gliederten sich in 4 Cluster: 2, **ValII** und

ValIII, die nur Vertreter aus dem See **Valkea** Kotinen beinhalten, eines mit größter Verwandtschaft zu den *Thermoplasmatales* und eines, bestehend aus Sequenzen aus Süßwasserhabitaten und Torfmoor in der Ordnung *Methanomicrobiales*. Die Sequenzen des letzten Clusters werden in der RDP-Datenbank ebenso wie die zu dem Endosymbionten *Plagiopyla nasuta* verwandten Sequenzen aus dem **Rotsee** in die MCU-Bourgense-Untergruppe klassifiziert. Die Zusammensetzung des Leinesediments entspricht damit am ehesten der des Rotsees. Auch im Leinesediment sind die am stärksten vertretenen Organismengruppen Angehörige der Familie *Methanosaetaceae* und der MCU-Bourgense-Untergruppe der Ordnung *Methanomicrobiales*. Zusätzlich konnten hier aber auch Angehörige der Familie *Methanosarcinaceae* und ein Verwandter der *Thermoplasmatales* nachgewiesen werden. Außerdem scheinen die Sequenzen sl3106, sl3113, sl3114, sl3138 und sl3189 ein eigenes Cluster zu bilden, das in die Ordnung *Methanosarcinales* zwischen die Familien *Methanosarcinaceae* und *Methanosaetaceae* eingeordnet werden muss. Dass in dieser Arbeit auch seltenere Organismengruppen gefunden wurden, kann an der größeren Anzahl der untersuchten Sequenzen liegen. Da hauptsächlich sehr nah verwandte Sequenzen nachgewiesen wurden, würde eine Sequenzierung weiterer Klone der Genbank hauptsächlich zu einer Anhäufung dieser Sequenztypen führen. Es ist davon auszugehen, dass die wesentlichen Vertreter der archaeellen mikrobiologischen Gemeinschaft erfasst wurden. Dass keine DNA von *Crenarchaeota* amplifiziert werden konnte, kann zum einen bedeuten, dass tatsächlich in diesem Habitat keine Vertreter dieser Organismengruppe vorkommen, zum anderen ist es aber auch denkbar, dass sich die DNA von *Crenarchaeota* mit den eingesetzten Oligonukleotiden nicht amplifizieren lässt. Um dies weitestgehend ausschließen zu können, müssten weitere Oligonukleotide ausgetestet werden.

Interessant wäre die Frage, wie der tatsächliche Anteil der Organismengruppen in diesem Habitat ist. Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH), bei der ganze fixierte Zellen identifiziert werden können, erlaubt die Quantifizierung bestimmter Organismengruppen. Dafür werden spezifische Oligonukleotid-Sonden mittels PCR amplifiziert und Fluoreszenz-markiert, die homolog zu Bereichen der 16S rRNA-Gene der zu quantifizierenden Organismen sind. Die damit fluoreszenz-mikroskopisch sichtbaren Signale können dann ins Verhältnis zur absoluten Zellzahl gesetzt werden, die über DAPI-Färbung (4', 6-Diamidino-2-phenylindol) ermittelt werden kann (AMANN et al., 1995). Diese Technik war lange begrenzt auf stark expremierte Gene, was bereits zu einer schlechten Detektion von Bakterien führte, die nur ein 16S rRNA-

Gen besitzen (RIESENFELD et al., 2004). Eine Verbesserung der Methode durch eine höhere Sensitivität der Detektion konnte von ZWIRGLMAIER et al. (2004) mit der sogenannten „RING-FISH“ („recognition of individual genes-FISH“) erreicht werden.

4.1.1 Versuch einer Rekonstruktion des Kohlenstoff- und Energieflusses in der mikrobiellen Gemeinschaft

Eine phylogenetische Ähnlichkeit zweier Organismen zieht nicht zwangsläufig eine Übereinstimmung ihrer Physiologie nach sich, so dass selbst große Ähnlichkeiten zu kultivierten Organismen nicht immer Schlüsse auf den Stoffwechsel zulassen (AMANN, 2000; RODRIGUEZ-VALERA, 2002). Bei der Sequenzierung von Umwelt-DNA ist in vielen Fällen der nächste Verwandte ebenfalls ein unkultivierter Organismus, daher ist eine Vorhersage von Stoffwechselvorgängen zusätzlich erschwert. Dennoch soll hier auch unter Zuhilfenahme der Sequenzdaten der Cosmid-Sequenzierungen versucht werden, ein Bild zu entwerfen, das, wenn auch nur unvollständig, die möglichen physiologischen Vorgänge im Leinesediment wiedergibt.

Photosynthetisch-aktive Organismen sind in der Lage Lichtenergie in chemische Energie umzuwandeln. Es kann eine oxygene und eine anoxygene Photosynthese unterschieden werden. Bei beiden Prozessen wird ein elektrochemischer Protonengradient über die photosynthetische Membran aufgebaut, der zur ATP-Synthese und für andere energieverbrauchende Prozesse genutzt werden kann. Bei der **oxygenen Photosynthese**, die in den Chloroplasten der Eukaryoten, bei Cyanobakterien und den *Prochlorophyta* stattfindet, werden zudem Reduktionsäquivalente für die CO₂-Fixierung gebildet (STANIER und COHEN-BAZIRE, 1977). In der Probe des Leinesedimentes konnten keine Cyanobakterien nachgewiesen werden. Da die Absorptionsmaxima des Chlorophyll A der Cyanobakterien im Bereich kürzerer Wellenlängen liegen als die der Bakteriochlorophylle a, b, c, d, e und g, den Pigmenten der anoxygenen Photosynthese, kommen Cyanobakterien verstärkt in den oberen Wasserschichten vor (PFENNING, 1978). Dass keine Cyanobakterien im Sediment der Leine nachgewiesen werden konnten, war daher nicht überraschend. Auch im Sediment des „Rainbow Bays“ wurden keine Cyanobakterien nachgewiesen (WISE et al., 1997). Die **anoxygene Photosynthese** wird z. B. von Vertretern der Gattungen *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas* und *Rhodospirillum* der α -Proteobakterien, der Gattung *Rhodocyclus* der β -Proteobakterien sowie den Grünen-Schwefel-Bakterien

(*Chlorobium*) und den Grünen-nicht-Schwefel-Bakterien (*Chloroflexi*) durchgeführt (RAYMOND et al., 2002). Die Photosynthese dieser Bakterien unterscheidet sich unter anderem in dem Bakteriochlorophyll, der Art ihres Photosystems (I oder II) und den Elektronendonatoren. *Chlorobi* nutzen ausschließlich Schwefel oder Schwefelwasserstoff als Elektronendonator für die Atmungskette. Die anderen hier aufgezählten Gruppen können auch andere Elektronendonatoren nutzen. Die horizontale Anordnung der Bakteriengruppen innerhalb des Sedimentes ist von der Lichtintensität und der Sulfidkonzentration abhängig. Aus diesen Gründen kommen die Proteobakterien in höheren Schichten vor als die *Chlorobiaceae*, die eine größere Schwefelwasserstofftoleranz aufweisen (XIONG et al., 2000). Die Sequenz sl3275 hatte die größte Ähnlichkeit (94 %) mit *Rhodobacter* sp. TCRI 14. In die Gattung *Rhodocyclus* können 4 Sequenzen gruppiert werden. Die Sequenz sl1165a zeigt eine geringe Ähnlichkeit von 84 % zu einem Klon, der der Gruppe der *Chlorobi* zugeteilt wurde. In diesem Fall ist eine Voraussage der physiologischen Fähigkeiten des Ursprungsorganismus jedoch sehr unsicher, obwohl bislang nur photosynthetisch-aktive Vertreter der *Chlorobi* bekannt sind. Zu den *Chloroflexi* gehören anaerobe und fakultativ anaerobe Organismen, die sowohl phototroph als auch obligat chemotroph sein können (PFENNING und TRÜPER, 1998). 6 Sequenzen aus dem Leinesediment zeigen die größten Identitäten zu Vertretern dieses Phylums. Aufgrund der auch hier geringen Identität können keine sicheren Aussagen darüber getroffen werden, ob es sich um Sequenzen handelt, die auf photosynthetisch aktive Organismen zurückgehen. Im Leinesediment wurden 10 Sequenzen aus dem Phylum der Planctomycetes nachgewiesen. Auch in diesem Phylum gibt es photosynthetisch aktive Organismen (HELLINGWERF et al., 1994).

Bei der Sequenzierung des Cosmides slc_1g wurden 2 ORFs gefunden (ORF340 und ORF341), die als Phytoen-Desaturase annotiert wurden und damit für die Photosynthese von Bedeutung sein könnten. Phytoen-Desaturasen spielen eine Rolle in der Carotinoid-Biosynthese von Pflanzen, Pilzen und Bakterien. Carotinoide sind Pigmente, die sowohl in photosynthetisch aktiven als auch in nicht-photosynthetisch aktiven Bakterien synthetisiert werden. In photosynthetisch aktiven Bakterien sind sie essentielle Komponenten des Photosynthese-Apparates. Außerdem spielen sie eine wichtige Rolle beim Schutz vor oxidativen Schäden (GOODWIN, 1980; HIRSCHBERG und CHAMOVITZ, 1994). Die Carotinoid-Synthese erfolgt in mehreren Schritten. Dabei

katalysiert die Phytoen-Desaturase die Umwandlung von Phytoen über Phytofluoren zu ζ -Caroten (HABLE et al., 1998).

Die meisten phototrophen Organismen können CO_2 fixieren. Die photosynthetischen Proteobakterien fixieren CO_2 über den Calvin-Zyklus, die *Chlorobi* über den reduktiven Tricarbonsäure-Zyklus, die *Chloroflexi* über den 3-Hydroxypropionat-Weg. Der von den photoautotrophen Organismen gebundene Kohlenstoff wird zum Aufbau organischen Materials verwendet und gelangt in die Nahrungskette. Auch die meisten chemolithotrophen Bakterien, also Bakterien, die anorganische Verbindungen als Elektronendonatoren für die Atmungskette nutzen, können wie die photosynthetischen Bakterien CO_2 über den Calvin-Zyklus fixieren und sind damit ebenfalls für den Aufbau organischen Materials verantwortlich (PERETO et al., 1999). Auf den Cosmiden konnten keine Gene identifiziert werden, die für Proteine kodieren, die eine Rolle bei der CO_2 -Fixierung spielen.

Im Zuge des Abbaus organischen Materials wird der gebundene Kohlenstoff letztlich zu Methan und CO_2 umgewandelt. Zunächst werden **Polymere** wie Cellulose oder Stärke von heterotrophen Organismen wie z. B. *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Planctomycetes*, *Bacteroides*, *Flavobacteria*, *Actinomycetes* und *Clostridia*, die auch im Leinesediment nachgewiesen wurden, zu Monomeren und schließlich zu primären Fermentationsprodukten wie z. B. kurzkettigen Fettsäuren abgebaut (RATLEDGE, 1993, BERKENHEGER und FISCHER, 2004; WILSON, 1992, GRANT et al., 2004). Der nächste Verwandte der Sequenz sl1322 (96 %), das *Clostridium* sp. 9B4, ist als cellulolytisches Bakterium beschrieben. Bei der Sequenzierung der Cosmide konnten ORFs identifiziert werden, die vermutlich Funktionen beim Abbau von Polymeren erfüllen. Zu nennen wären da der ORF105 des Cosmides slc_1a und die ORFs 522 bis 523 des Cosmides slc_1p. Letztere sind vermutlich Komponenten eines Biopolymertransportsystems. Der ORF105 kodiert für eine α -L-Fucosidase. α -L-Fucosidasen sind am N-Glukan-Abbau beteiligt. Sie katalysieren die Hydrolyse der O-glykosidischen Bindung von α -L-Fucosiden, wobei L-Fucose abgespalten wird.

Nach dem Abbau der Polymere, der als „primäre Fermentation“ bezeichnet wird, werden die daraus resultierenden Zwischenprodukte weiterverwertet. Dies kann aerob, aber auch anaerob geschehen. Sauerstoff kann als terminaler Elektronenakzeptor in der Atmungskette oder als Co-Substrat zum Abbau komplizierterer Substrate wie Aromaten dienen. Auf dem Cosmid slc_2j sind ORFs lokalisiert, die vermutlich für Komponenten der Atmungskette kodieren. Bei den Genprodukten der ORFs 1208 und 1210 könnte es

sich um die Untereinheiten A bzw. B einer F₀F₁-Typ-ATP-Synthase und bei dem ORF1215 um die Cytochrom B Untereinheit einer Menachinon-C-Reduktase handeln. Zu der „sekundären Fermentation“ sind fast alle heterotrophen Bakterien in der Lage. Ein Beispiel eines solchen Abbaus stellt der Abbau von Aminosäuren dar. Auf dem Cosmid slc_1t befindet sich ein Cluster von Genen (ORF824 bis ORF830), die für Enzyme kodieren, die vermutlich für den mehrstufigen Abbau von Tyrosin verantwortlich sind (s. 3.4.1.8). Ein anderes Beispiel ist die auf dem Cosmid slc_1a von den ORFs 118 bis 122 kodierte Sarcosin-Oxidase, die die oxidative Demethylierung von Sarcosin katalysiert, wobei Glycin, H₂O₂ und 5,10-CH₂-Tetrahydrofolat entsteht.

Die theoretische Energieausbeute der sekundären Fermentation hängt von der Differenz der Redoxpotentiale des Elektronendonors und –akzeptors ab. Da fast alle Elektronenakzeptoren niedrigere Redoxpotentiale als Sauerstoff haben, ist der anaerobe Elektronentransport in der Atmungskette weniger effizient als der aerobe. Deshalb wird Sauerstoff von fakultativen Organismen zuerst verbraucht. Da die Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule von oben nach unten abnimmt und sich diese Tendenz auch im Sediment fortsetzt, kann in Sedimenten eine Schichtung der Organismen beobachtet werden, die sich nach dem Redoxpotential des von den Organismen nutzbaren terminalen Elektronenakzeptors richtet. Die Produkte der sekundären Fermentation sind H₂, CO₂, Acetat und Formiat.

Nitrat ist im Vergleich zu Sauerstoff als terminaler Elektronenakzeptor ebenfalls sehr effizient. Die Reduktion von Nitrat zu Nitrit ist der erste Schritt der mehrstufigen Reduktion von Nitrat zu molekularem Stickstoff, die als Denitrifikation bezeichnet wird. Auch die anderen Teilreaktionen sind ebenfalls energieliefernd (ZUMFT, 1997). Die Denitrifikation ist unter 4.1.2 näher beschrieben.

Fe³⁺-Ionen stellen einen weiteren terminalen Elektronenakzeptor für die anaerobe Atmung dar. Dissimilatorisch Fe³⁺-reduzierende Bakterien oxidieren ebenfalls die typischen Abbau-Produkte organischen Materials wie Acetat und molekularen Wasserstoff. Im Gegenzug reduzieren sie Fe³⁺ zu Fe²⁺ (LOVLEY, 1991). Nach theoretischen thermodynamischen Berechnungen ist die Nutzung von Fe³⁺-Ionen als terminalem Elektronenakzeptor mit einer größeren Energieausbeute verbunden als die Nutzung von weniger stark oxidierten Verbindungen wie CO₂ und SO₄²⁻. Es ist bekannt, dass Fe³⁺-reduzierende Bakterien sich gegenüber Sulfat-reduzierenden Organismen und Methanogenen im Konkurrenzkampf um limitierende Elektronendonatoren wie H₂ durchsetzen können (CHAPELLE et al., 1992; LOVLEY et al., 1991). Jedoch sind die

Löslichkeitsprodukte der verschiedenen in der Natur vorkommenden Fe^{3+} -Verbindungen bei neutralem pH meist so gering, dass die Nutzung dieses terminalen Elektronenakzeptors nicht immer begünstigt ist (COEY et al., 1974). Die Fe^{3+} -Ionenkonzentration im Wasser der Leine betrug 0,1 mg/l. In der zu den δ -Proteobakterien gehörenden Familie *Geobacteraceae*, in der anaerobe dissimilatorische Metallreduzierer zusammengefasst sind, ist die Fähigkeit, Fe^{3+} zu reduzieren, weit verbreitet (CUMMINGS et al., 2000; LOVLEY et al., 1993). Die Sequenzen sl1361, sl1364a und sl3245 stimmen zu 96, 95 bzw. 86 % mit isolierten *Geobacter*-Stämmen überein. Es ist deshalb denkbar, dass die Nutzung von Fe^{3+} -Ionen oder anderer Metallionen wie z. B. Mn^{4+} als terminale Elektronenakzeptoren auch in der Leine stattfindet.

Sulfatreduzenten kommen in 4 verschiedenen bakteriellen und einem archaeellen Phylum vor. Dabei sind nah verwandte Organismen bekannt, die nicht in der Lage sind, Sulfat zur Energiegewinnung anaerob zu reduzieren (LOY et al., 2002). Die Klone sl1127 und sl1147 sind zu 97 bzw. sogar zu 99 % identisch mit Sulfatreduzenten der δ -Proteobakterien. In diesen Fällen ist es wahrscheinlich, dass diese Sequenzen tatsächlich auf Sulfatreduzenten zurückgeführt werden können. Bei den Sequenzen sl1177, sl1283, sl1263 und sl3234 mit 87 - 94 % Identität zu Sulfatreduzenten kann nicht sicher davon ausgegangen werden. Sulfatreduzenten können Sulfat als terminalen Elektronenakzeptor in der Atmungskette nutzen. Dabei können H_2 oder verschiedene organische Verbindungen als Elektronendonatoren genutzt werden (STACKEBRANDT et al., 1995). Bei der Reduktion des Sulfates mit H_2 entstehen Schwefelwasserstoff und Wasser.

Die unterste Schicht ist die der Methanogenen. Neben Reisfeldern, dem Rumen von Wiederkäuern, den anaeroben Fermentern der technischen Abwasserreinigung sind Süßwassersedimente die wichtigsten Orte der **Methanogenese**. Der nächsten kultivierte Verwandte fast aller archaeellen Leinesedimentsequenzen ist ein methanogenes Archaeon. Die Methanogenese ist der finale Schritt der Verwertung organischer Materie. H_2 - CO_2 , Formiat und Acetat sind mögliche Substrate, die zu Methan umgesetzt werden. Die nachgewiesenen Archaeen-Gruppen unterscheiden sich bezüglich ihrer Substrat-Spezifitäten. Alle Vertreter der *Methanosaetaceae* verwerten ausnahmslos Acetat als Substrat (BOONE et al., 1993). Dagegen nutzen sowohl *Methanoculleus* als auch die endosymbiontischen Angehörigen der MCU-Bourgense-Untergruppe der *Methanomicrobiales* H_2 - CO_2 zur Methanbildung (FENCHEL et al., 1991). *Methanosarcina* kann mit H_2 - CO_2 , Formiat und Acetat wachsen, benötigt allerdings

eine deutlich höhere Acetat-Konzentration als *Methanosaeta*, um es nutzen zu können (GROSSKOPF et al., 1998). Die Produktivität methanogener Gemeinschaften in Süßwassersedimenten hängt von der Temperatur und der Verfügbarkeit der Substrate ab (CAPONE et al., 1988; CONRAD, 1993). Bei höheren Temperaturen ist die Methanbildung gesteigert und erfolgt verstärkt durch die hydrogenotrophe Methanogenese und weniger stark durch die Acetat verbrauchende. Bei niedrigeren Temperaturen findet vornehmlich die acetoclastische Methanogenese statt (SCHULZ und CONRAD, 1996). Zum Zeitpunkt der Probennahme betrug die Temperatur der Leine 13 °C. Bei einer solchen Temperatur ist ein Gleichgewicht beider Prozesse denkbar, so dass eine numerische Verteilung der Methanogenen entsprechend der generierten 16S rRNA-Gene möglich ist. Dies ist allerdings reine Spekulation und müsste über FISH, wie oben erwähnt, überprüft werden. FISH könnte mit geeigneten Sonden ebenfalls zur Klärung der Frage eingesetzt werden, ob es sich bei den Vertretern der MCU-Bourgense-Untergruppe, deren nächste kultivierte Verwandte Endosymbionten anaerober Ciliaten sind, ebenfalls um Endosymbionten oder um freilebende Mikroorganismen handelt. In solchen Symbiosen erhalten die Endosymbionten von den Hydrogenosomen des Wirtes den bei dem Abbau von Pyruvat entstehenden H_2 . Dies ist besonders in Habitaten von Vorteil, in denen die Methanogenen mit Sulfatreduzenten um den H_2 konkurrieren. Die Verringerung der H_2 -Konzentration ermöglicht es dem Wirt vermutlich komplexes organisches Material unter optimaler ATP-Ausbeute vollständig zu Acetat und CO_2 abzubauen (FINLAY und FENCHEL, 1992). Da im Leinesediment tatsächlich Sulfatreduzenten (z. B. sl1126 und sl1147) nachgewiesen wurden, stehen die methanogenen Archaea mit ihnen in Konkurrenz. Da Sulfatreduzenten ein breiteres Substratspektrum als die methanogenen Archaea haben und bei der Sulfat-Reduktion mehr Energie frei wird als bei der Methanogenese, setzen sich die Sulfatreduzenten an sulfatreichen Standorten wie dem Meerwasser mit einem Sulfatgehalt von ca. 28 mM gegen die methanogenen Archaeen durch (BARTON, 1995). Im Wasser der Leine wurde eine Sulfatkonzentration von ca. 2 mM gemessen. Bei dieser Sulfatkonzentration scheinen beide Organismengruppen im Leinesediment nebeneinander existieren zu können. Eine Koexistenz beider Organismengruppen ist bereits z. B. für anaerobe Biofilme beschrieben worden (RASKIN et al., 1996).

Im Leinesediment scheinen zumindest an einigen Stellen anaerobe Verhältnisse bestanden zu haben, da strikt anaerobe Organismen wie Clostridien nachgewiesen

wurden. Andere Organismen wie z. B. *Geobacter* sind bekannt dafür, dass sie zur Energiegewinnung unter anaeroben Bedingungen in ihrer Atmungsketten alternative Elektronenakzeptoren wie Metallionen nutzen. Die bei der anaeroben Atmung entstandenen Endprodukte wie z. B. **H₂S**, **Mn**, **Fe²⁺** und **CH₄** können durch aerobe Organismen re-oxidiert werden:

Methyilotrophe Bakterien sind Gram-negativ und nutzen Methan als ihre einzige C- und Energie-Quelle. Der initiale Schritt beinhaltet die Umwandlung von Methan in Methanol durch eine Methan-Monooxygenase. Bei dieser Reaktion wird ein Reduktionsäquivalent NADH verbraucht und Wasser entsteht. Methanol wird anschließend zu Formaldehyd weiteroxidiert, das entweder für den Aufbau von Biomasse genutzt oder zu CO₂ oxidiert wird (SEMRAU et al., 1995). Zu den methyilotrophen Bakterien gehören z. B. die Gattungen *Methylobacterium* der β -Proteobakterien (94 %ige Identität zu sl3233), *Methylophilus* der α -Proteobakterien (94 %ige Identität zu sl1302) und *Methylomicrobium* der γ -Proteobakterien (91 %ige Identität zu sl1124).

H₂S kann z. B. von *Chlorobium* und den photosynthetisch aktiven Proteobakterien oxidiert werden. Die Oxidation von **Fe²⁺** durch das unklassifizierte Proteobakterium Stamm SW2 ist ebenfalls bereits in dem Abschnitt der anaeroben Photosynthese erwähnt worden. Das α -Proteobakterium *Pedomicrobium manganicum*, zu dessen 16S rRNA-Gen der Klon sl3257 eine 94 %ige Identität hat, **oxidiert Mangan**. Dabei ist die Ähnlichkeit auffällig gering für *Pedomicrobium*-Arten, die sonst sehr eng verwandt sind und untereinander eine Ähnlichkeit von 96,2 bis 99,9 % aufweisen (COX und SLY, 1997).

Carboxidotrophe Organismen können Kohlenstoffmonoxid (CO) als einzige Energie- und Kohlenstoffquelle nutzen. Die carboxytrophen Bakterien bilden eine diverse Gruppe von aeroben Bakterien, zu denen vor allem α -Proteobakterien und *Firmicutes* gehören (MOERSDORF et al., 1992). KING (2003) konnte nachweisen, dass auch Genera, von denen bislang angenommen wurde, dass sie nicht in der Lage wären, CO zu oxidieren, Kohlenstoffmonoxid-Dehydrogenasen besitzen und diese auch nutzen. Zu diesen Genera gehören z. B. *Stenotrophomonas* und *Mesorhizobium*, die auch in dieser Arbeit nachgewiesen werden konnten. Allerdings blieb dabei unklar, ob die Fähigkeit in diesen Genera weit verbreitet ist oder sich nur auf wenige Stämme beschränkt. Die 16S rRNA des von KING isolierten *Stenotrophomonas*-Stammes *Stenotrophomonas* sp. Stamm LUP war wie die Sequenz sl1118 zu 99 % identisch mit der von

Stenotrophomonas maltophilia Stamm LMG957. Das Cosmid slc_1x weist, wie unter 2.4.1.10 beschrieben, ein Cluster mit 6 *cox*-Genen (*E*, *D*, *L*, *L*, *S* und *M*) auf, die für die verschiedenen Untereinheiten einer CO-Dehydrogenase kodieren. Die Gene sind den entsprechenden Genen aus *Mesorhizobium loti* am ähnlichsten.

4.1.2 Versuch einer Rekonstruktion des Stickstoffkreislaufes in der mikrobiellen Gemeinschaft

Die **Denitrifikation** ist eine Möglichkeit der anaeroben Atmung, bei der Nitrat über 4 Schritte über Nitrit, Stickstoffmonoxid und Distickstoffoxid letztlich zu molekularem Stickstoff umgewandelt wird. Die Fähigkeit der Denitrifikation ist auf 40 Genera der Bakterien verteilt. Viele Gram-negative Bakterien wie *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Hyphomikrobium* und *Thauera* können Nitrat als terminalen Elektronenakzeptor nutzen. Dabei wird ein geeignetes organisches Substrat zu CO₂ und Wasser umgesetzt und das Nitrat, wie oben beschrieben, stufenweise zu molekularem Stickstoff reduziert (ZUMFT, 1997). Im Wasser der Leine betrug die Nitrat-Konzentration 7 mg/l und die Nitrit-Konzentration 0,09 mg/l (s. 3.1). Gerade Sequenzen von Pseudomonaden konnten mehrfach und mit hohen Identitäten von bis zu 100 % mit kultivierten *Pseudomonas*-Stämmen in dem Leinesediment nachgewiesen werden. Die Sequenzen sl3207 und sl3249 sind zu 93 % identisch mit *Hyphomikrobium zavarzinii*. Damit ist das Ablaufen der Denitrifikation im Leinesediment sehr wahrscheinlich. Die **Nitrifikation**, die Oxidation von Ammonium zu Nitrat, wird in 2 Schritten von unterschiedlichen Organismen durchgeführt. Zunächst wird aus dem Ammonium z. B. durch *Nitrosomonas* oder *Nitrospira* Nitrit gebildet (CÉBRON et al., 2003). Die Sequenz sl1367a ist zu 99 % mit der 16S rRNA-Gensequenz des β -Proteobakteriums *Nitrospira* sp. Nsp.57 identisch. Bei diesen beiden Organismen handelt es sich vermutlich um Bakterien der gleichen Art. Die Sequenz sl1339 stellt mit einer Ähnlichkeit von 97 % zu *Gallionella ferruginea* Stamm Johan, einem Vertreter der Gattung *Nitrosomonas*, sicherlich auch eine zu dieser Gattung gehörende Art dar. Der zweite Schritt der Nitrifikation, die Oxidation von Nitrit zu Nitrat, erfolgt durch Organismen wie *Nitrospina*, *Nitrobacter* und *Nitrospira*. Zu dem Phylum *Nitrospira* gehören obligat chemoautotrophe Bakterien, die CO₂ als einzige Kohlenstoffquelle nutzen (HOLT et al., 1994; CÉBRON et al., 2003). Die Sequenzen sl1193, sl1342, sl1367b und sl1395 zeigten große Ähnlichkeiten mit *Nitrospira*-Datenbank-Sequenzen.

Aus dem Leinesediment konnten außerdem 16S rRNA-Gene von Stickstofffixierern wie die Gattung *Rhizobium* (sl1106), *Sinorhizobium* (sl3294) amplifiziert werden. Die Fähigkeit der Stickstofffixierung ist auf Bakterien beschränkt, unter diesen aber weit verbreitet. Symbiosen mit höheren Pflanzen gehen allerdings nur wenige ein. Rhizobien können als frei lebende Bodenbakterien oder als Symbionten mit Pflanzen der Familie *Leguminosae* auftreten (FISHER und LONG, 1992). In der Symbiose bildet die Pflanze nach dem Austausch bestimmter Botenstoffe mit den Bakterien Wurzelknöllchen aus, deren zentrales Gewebe von den Bakterien infiziert wird. Dort differenzieren sich die Bakterien im Cytoplasma der Pflanzenzellen zu Stickstofffixierenden Bakteroiden. Diese reduzieren den molekularen Stickstoff aus der Atmosphäre zu Ammonium. In der Symbiose beziehen die Bakterien Nährstoffe und die Pflanze den gebundenen Stickstoff in Form des Ammoniums (FISHER und LONG, 1992). Der ORF 821 des Cosmids slc_1t kodiert vermutlich für das Protein NodQ, das an der Bildung eines Nodulationsfaktors beteiligt ist, der als Botenstoff vom Bakterium ausgesendet wird. Diese Faktoren bestehen aus Oligomeren aus N-Acetylglukosamin, die am nicht-reduzierenden Ende mit einer N-Acyl-Gruppe und am C-6 des reduzierenden Endes mit einer Sulfat-Gruppe substituiert sind. NodQ ist für die Bildung einer aktivierten Sulfat-Gruppe verantwortlich, die vom Protein NodH auf das N-Acetylglukosamin übertragen wird.

Das aktive Zentrum der für die Stickstofffixierung verantwortlichen Nitrogenase ist stark reduzierend und deshalb sehr empfindlich gegenüber Sauerstoff. Aus diesem Grund wird in den Wurzelknöllchen eine mikro-oxische Atmosphäre geschaffen. Die Stickstofffixierung wird in Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration reguliert (KAMINSKI et al., 1998; OKE und LONG, 1999). Auf dem Cosmid slc_1x wurden Gene gefunden, deren Genprodukte den Proteinen FixL und FixJ von *Sinorhizobium meliloti*, einem 2-Komponentensystem, ähnelten. Das Sensor-Protein FixL, ein Hämprotein, misst die Sauerstoffkonzentration. Entspricht diese mikro-oxischen Bedingungen, unterliegt das Protein einer Autophosphorylierung und gibt dann den Phosphatrest an den „Response regulator“ NifJ weiter. Dieses Protein ist ein Transkriptionsaktivator und reguliert die Expression der Gene *fixK* und *nifA*, indem es an spezifische Promotorsequenzen, sogenannte „anaeroboxes“, bindet (OKE und LONG, 1999). Auf dem Cosmid slc_1x ist ebenfalls ein zu *fixK* von *M. loti* bzw. zu *fixK1* von *Sinorhizobium loti* homologes Gen vorhanden. FixK bzw. FixK1 wiederum sind Fnr/Crp-artige Transkriptionsfaktoren, die die Expression der Gene *fixNOQP*

kontrollieren. Diese kodieren in *Bradyrhizobium japonicum* für eine terminale Oxidase mit hoher Affinität für Sauerstoff, die für die Atmung unter sauerstoffarmen Bedingungen und die Stickstofffixierung wichtig ist (BARNETT et al., 2001). Das Gen eines weiteren Transkriptionsregulators, fixT2 wird auf dem Cosmid Slc_1x von den Genen *fixJ* und *fixK* eingerahmt. Dieser Transkriptionsregulator interagiert mit FixL, wodurch er die Aktivität des 2-Komponentensystems FixL/FixJ aufhebt (GALIBERT et al., 2001). Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass selbst bei großen Ähnlichkeiten zwischen 2 2-Komponentensystemen unterschiedliche Funktionen vorliegen können. Da aber mit FixK und FixT2 weitere Komponenten der Regulationskaskade der Stickstofffixierung vorhanden sind, scheint eine solche Interpretation der Sequenzdaten wahrscheinlich.

Auch auf dem Cosmid slc-1h konnten Gene gefunden werden, die in die Regulation der Stickstofffixierung integriert sind. Der ORF 406 und 407 kodieren für das Regulationsprotein GlnK bzw. den (Methyl-) Ammoniumtransporter AmtB. Diese beiden Proteine werden in vielen Organismen kotranskribiert. Die größte Ähnlichkeit besteht zu *Rhodobacter sphaeroides*. Dieses Bakterium bildet keine Symbiosen aus. In dem verwandten Bakterium *Rhodobacter capsulatus* werden die Synthese und die Aktivität der beiden vorhandenen Nitrogenase-Systeme streng kontrolliert. Dabei werden zum einen Stickstoffmangelbedingungen und zum anderen die Ammonium-Konzentration festgestellt. Außerdem wird über eine dritte Kontrollebene die Aktivität beider Nitrogenasen in Abhängigkeit von der Ammonium-Konzentration und der Dunkelheit reguliert. AmtB wirkt dabei als Ammonium-Sensor. GlnK scheint die Aktivität des Transkriptionsaktivators NifA beider Nitrogenase-Systeme in Abhängigkeit von der Ammonium-Konzentration zu kontrollieren (DREPPER et al., 2003).

Geht man davon aus, dass die hier erwähnten 16S rRNA-Gene auf Organismen mit den besprochenen Fähigkeiten zurückgeführt werden können, kann der Stickstoffkreislauf im Leinesediment geschlossen werden. Die zentrale Bedeutung dieser Stoffwechselwege wird auch durch das verhältnismäßig starke Vorkommen von Genen, die an diesem Kreislauf direkt oder indirekt beteiligt sind, im Zuge der Sequenzierung der Cosmide des Leinesedimentes deutlich. MÜLLER et al. (1997) quantifizierten das Vorkommen von Schlüsselenzymen der Sulfatreduktion, der Denitrifikation und Stickstofffixierung in Süßwassersedimenten mittels PCR. Dabei konnten die Gene für die Sulfit-Reduktase (*dsrAB*), der Nitrit-Reduktase (*nirS*) und der Nitrogenase (*nifD*) in

Konzentrationen von 10^8 - 10^9 , 10^6 - 10^9 bzw. 10^9 - 10^{10} pro Gramm Sediment (Nassgewicht) bestimmt werden. Auch diese Ergebnisse belegen die Wichtigkeit dieser Stoffwechselwege in Süßwassersedimenten.

4.1.3 Kritische Betrachtung der Methode der 16S rRNA-Genanalyse

Aufgrund der verschiedenen unter 4.1 beschriebenen Probleme und der Grenzen der Aussagekraft der 16S rRNA-Genanalyse erscheint diese Methode vermehrt in einem anderen Licht. Eine Schwierigkeit liegt in der Beurteilung der Ergebnisse. Die Entscheidung, wie groß die verwandtschaftliche Beziehung zwischen Mikroorganismen ist, lässt sich nicht mit absoluten Zahlen festlegen. Die Sequenzheterogenität der verschiedenen 16S rRNA-Gene eines Organismus kann sehr groß sein. Bei den extremen Fällen des Archaeons *Haloarcua marismortui* und des Bakteriums *Thermobispora bispora* unterscheiden sich die Gene um 5 bzw. um 6 % (MYLVANAGAM und DENNIS, 1992; WANG et al., 1997). VENTER et al. (2004) dagegen gehen bei der phylogenetischen Einordnung der gewonnenen 16S rRNA-Gensequenzen der Umwelt-Genom-„Shotgun“-Genbank der Sargasso Sea davon aus, dass die Identität innerhalb einer Art mehr als 97 % beträgt. Außerdem ist die Einordnung von Sequenzen durch Fragmente in den öffentlichen Datenbanken erschwert, die weniger als 500 bp umfassen. HUGENHOLTZ et al. (1998) hält 500 bp für die Einordnung unbekannter Sequenzen (< 85 %) für unzureichend. RODRIGUEZ-VALERA (2002) hält sogar eine Einordnung bei 95 % Identität unabhängig von der Länge des amplifizierten rDNA-Fragmentes für unsicher. Wie bereits unter 4.1.1 erwähnt, lässt sich schon bei großen Identitäten von Umweltsequenzen zu kultivierten Organismen häufig keine sichere Aussage mehr über den Stoffwechsel oder z. B. die Morphologie machen. Außerdem können aufgrund der 16S rRNA-Genanalyse keine quantitativen Aussagen zum Vorkommen von Mikroorganismen gemacht werden. Letztlich bleibt die Frage, ob die Verwendung von 16S rRNA-Gensequenzen als alleiniges Mittel zur Einordnung von Bakterien ausreicht. DOOLITTLE (1999) führt dagegen an, dass die Nukleotid-Bausteine, die in intramolekulare Wechselwirkungen integriert sind, langsamer evolvieren als die, die für intermolekulare Wechselwirkungen von Bedeutung sind. Auch wenn meist von der Untransferierbarkeit von Bestandteilen der Transkriptions- bzw. Translationsmaschinerie ausgegangen wird, gibt es auch bei dem 16S rRNA-Gen Nachweise für die Möglichkeit des lateralen Gentransfers: So

konnte die 16S rRNA von *E. coli* vollständig durch die von *Proteus vulgaris* ersetzt werden, ohne das Wachstum um mehr als 10 bis 30 % zu beeinflussen. Unter Nicht-Wachstumsbedingungen wie unter Antibiotikadruck ist es sogar vorstellbar, dass ein lateraler Gentransfer Selektionsvorteile bringt wie bei Amino-acyl-t-RNA-Synthetase-Genen. Auf diese Weise könnte auch die große Heterogenität der 16S rRNA-Gene innerhalb von *Streptomyces*-Stämmen erklärt werden. Laut DOOLITTLE kann mit der 16S rDNA-Analyse lediglich die Evolution dieses Gens, nicht aber des gesamten Organismus untersucht werden. Der Organismus selbst könne aufgrund der verschiedenen Evolutionen seiner Markermoleküle zu verschiedenen Phyla gehören – nicht wie bislang angenommen- nur zu einem. Da aber in dieser Arbeit nicht die evolutive Herkunft der Organismen ergründet, sondern lediglich ein Einblick gewonnen werden sollte, welche Organismen im Leinesediment vorkommen, hat das Ergebnis ungeachtet der Kritik eine Aussagekraft.

4.1.4 Fazit der phylogenetischen Untersuchungen

Die Ergebnisse der Sequenzierung der archaeellen 16S rRNA-Gene bezüglich der Zusammensetzung der Archaeen in der mikrobiellen Gemeinschaft ähneln den Ergebnissen von Arbeiten zu anderen Süßwasserstandorten. Die Archaeen im Rotsee und im Leinesediment waren ähnlichen Umwelteinflüssen ausgesetzt. Es handelt sich in beiden Fällen um Sedimente aus Süßwasserstandorten. Das Vorkommen ähnlicher Archaeen, kann auf eine an diese Verhältnisse angepasste Physiologie der Ursprungsorganismen verstanden werden. Dass sehr ähnliche Organismen auch im finnischen Waldsee **Valkea Kotinen** gefunden wurden, bestätigt die generelle Anpassung dieser Organismen an den Standort Süßwasser.

Die Ergebnisse der bakteriellen 16S rRNA-Genanalyse zeigen dagegen, dass sich die bislang untersuchten Süßwasserstandorte in ihrer bakteriellen Zusammensetzung zwar ähneln, dass aber auch deutliche Unterschiede bestehen. Wie oben bereits geschrieben, kann dies leicht durch die Unterschiede der Standorte an sich erklärt werden. Zusammenfassend kann also festgestellt werden, dass es typische standortspezifische Organismengruppen gibt, dass aber die mikrobielle Zusammensetzung dennoch einer gewissen Variation unterliegt.

Zudem wurden im Leinesediment Cluster von Bakterien identifiziert, die neue Gattungen bekannter Familien darstellen. Einzelne Klone zeigten so wenig Identität,

dass sie nur sehr grob in das Klassifikationssystem eingeordnet werden konnten. Dies und die Tatsache, dass die meisten Klone die größte Identität zu unkultivierten Prokaryoten zeigten, verdeutlichen, dass auch im Leinesediment viele bislang unbekannte und uncharakterisierte Mikroorganismen leben. Durch den Nachweis der Sequenz sl1394 mit größter Ähnlichkeit zu einer Sequenz, die in die „candidate division“ TM7 eingeordnet ist, konnte verdeutlicht werden, dass nicht nur vieles innerhalb schon lange bekannter Phyla noch unbekannt ist, sondern dass mit Untersuchungen wie dieser ganz wesentliche Erkenntnisse auf Phylum-Niveau erhalten werden können. Die Sequenz sl1394 war, wie oben beschrieben, erst die 51. Sequenz der „candidate division“ TM7, die bislang aus Umweltproben gewonnen werden konnte. Der Nachweis solcher Bakterien im Leinesediment lässt ein ubiquitäres Vorkommen dieser Bakterien vermuten. Bislang konnte noch kein TM7-Bakterium kultiviert werden, so dass über die physiologische Fähigkeiten bislang noch nichts bekannt ist.

Es wurde außerdem der Versuch unternommen, den Kohlenstoff- und Energieflux und den Stickstoffkreislauf im Leinesediment nachzuzeichnen. Dabei muss beachtet werden, dass neben der Unsicherheit solcher Aussage anhand von Verwandtschaftsbeziehungen nur grundlegende Stoffwechselfähigkeiten bekannter Organismen wie z. B. die Nutzung alternativer Elektronenakzeptoren in der Atmungskette oder die Fähigkeit, Stickstoff zu fixieren, berücksichtigt werden können. Organismengruppen mit wenigen oder keinen kultivierten Vertretern wie z. B. die *Acidobacteria* oder *Chloroflexi* oder Organismengruppen mit sehr unterschiedlichen Stoffwechselaktivitäten können in solch eine Betrachtung kaum eingehen. Damit ist die Aussagekraft von phylogenetischen Untersuchungen, die auf der Sequenzierung von Markermolekülen basieren, sehr begrenzt.

Auch wenn die Zahl der Phyla innerhalb der Bacteria nicht mehr in dem Ausmaß zuzunehmen scheint wie zwischen 1987 und heute, so gibt es innerhalb der Phyla noch vieles zu entdecken. Um die nackten Sequenzdaten mit Leben zu erfüllen, müssen aber auch verstärkt Kultivierungen und anschließende physiologische Charakterisierungen der Bakterien folgen. Eine weitere Möglichkeit die Zusammenhänge zwischen Struktur (phylogenetische Zusammensetzung) und Funktion (physiologische Aktivität) an einem Standort besser zu verstehen, bietet die Sequenzierung von größeren Teilen des Metagenoms.

4.2 Metagenom-Sequenzierung

Die Klärung der Zusammenhänge von Struktur und Funktion in einer Umweltprobe kann im Rahmen der Sequenzierung von Umwelt-DNA durch drei verschiedene Vorgehensweisen erfolgen. Zum einen kann die klonierte Umwelt-DNA zunächst nach phylogenetischen Markern durchsucht werden. In einem zweiten Schritt steht dann die flankierende DNA zur weiteren Sequenzierung zur Verfügung. Diese Methode wurde von QUAISER et. al. (2002) genutzt, die ein Fosmid aus einer Genbank mit klonierter Boden-DNA sequenzierten, das ein 16S rRNA-Gen eines bislang unkultivierten Crenarchaeoten enthielt. Ebenfalls aus einer Genbank mit klonierter Boden-DNA stammte ein „bacterial artificial chromosome“ (BAC) mit einem 16S rRNA-Gen eines Acidobakteriums eines bislang unkultivierten Zweiges. Die Sequenzierung dieses BACs (LILES et al., 2003) wie auch die des Fosmids erlaubten erste Einblicke in die Genome dieser unkultivierten Organismen. BEJA et al. (2001) nutzten dieses Vorgehen und identifizierten auf einem BAC mit mariner DNA ein 16S rRNA-Gen eines Bakteriums, das zu der bislang unkultivierten SAR86-Gruppe der γ -Proteobakterien gehört. Außerdem war auf diesem BAC eine lichtbetriebene Protonenpumpe kodiert, die Ähnlichkeiten zu Rhodopsin zeigte. Durch Expression in *E. coli* konnte die Funktionalität bewiesen werden. Zuvor war davon ausgegangen worden, dass das Vorkommen von Rhodopsinen auf *Archaea* beschränkt wäre. Mit dieser Entdeckung konnte zum einen ein wesentlicher Beitrag zur Einordnung des Stoffwechsels der bislang unkultivierten SAR86-Gruppe gewonnen und zum anderen ein falsches Dogma verworfen werden. Letztlich wurde die grundlegende Erkenntnis gewonnen, dass die Kopplung des Kohlenstoffflusses in den Ozeanen mit der Licht-Energie-Sammlung zum Teil ohne Chlorophyllbeteiligung möglich ist.

Eine andere Methode der Verbindung der Struktur mit der Funktion bedient sich des umgekehrten Weges. Zunächst wird nach bestimmten Zielgenen gesucht. Im zweiten Schritt wird hier versucht, auf dem restlichen DNA-Fragment phylogenetische Marker ausfindig zu machen. Dabei werden alle phylogenetischen Markermoleküle berücksichtigt, um die Wahrscheinlichkeit einer Zuordnung zu erhöhen (RIESENFELD et al., 2004). Die wesentliche Grenze dieser beiden Methoden ist die nötige Anordnung von interessanten Genen in der Nachbarschaft von Genen phylogenetischer Marker.

Die dritte Möglichkeit der Verknüpfung von Phylogenie und Physiologie ist die Rekonstruktion von Metagenomen. Dafür wurden bislang meist ähnlich wie in

Genomsequenzierungsprojekten „Shotgun“-Genbanken mit kleinen Inserts von ca. 3 kb erstellt und sequenziert. RIESENFELD et al. (2004) listen bislang erfolgte Metagenom-Studien, die auf einer Sequenzierung von zufällig ausgewählter DNA beruhen auf (Tabelle 15):

Tabelle 15: Metagenomstudien basierend auf der Sequenzierung zufällig ausgewählter DNA nach RIESENFELD et al. (2004), modifiziert und mit Ergebnissen dieser Arbeit ergänzt

Herkunft der Umweltprobe	Insert-Größe in kb	Sequenz-läufe	Sequenz-information in bp	Ziel	Herkunft
Menschlicher Kot	LASL*	532	~37000	Zufällige Virenklon-Sequenzierung	BREITBART et al., 2003
Meer	LASL*	1061	~740000	Zufällige Virenklon-Sequenzierung	BREITBART et al., 2002
Biofilm einer Trinkwasserleitung	Plasmide und Cosmide	2496	$2 \cdot 10^6$	Zufällige Klonsequenzierung	SCHMEISSER et al., 2003
AMD*	3,2	103462	$76,2 \cdot 10^6$	Rekonstruktion von Genomen einer mikrobiellen Gemeinschaft	TYSON et al., 2004
Meer	2,6	$2 \cdot 10^6$	$1,63 \cdot 10^9$	„Pilot-Studie“: Sequenzierung einer gesamten mikrobiellen Gemeinschaft in großem Umfang	VENTER et al., 2004
Leinesediment	Cosmide	4765	456000	Zufällige Klonsequenzierung	

* = „Linker amplified shotgun library“

** = “acid mine drainage”

In der Tabelle 15 sticht besonders der Umfang der Untersuchungen von TYSON et al. (2004) und VENTER et al. (2004) hervor. TYSON et al. (2004) untersuchte die mikrobielle Gemeinschaft eines Biofilms, der an der „acid mine drainage“ in einem Bergwerk verantwortlich war. Dabei konnten sie die Genome eines Bakteriums der *Leptospirillum* Gruppe II und eines Archaeons, das zu den *Ferroplasma* Typ II gehört, fast vollständig zusammensetzen. 3 weitere Genome von einem Bakterium der *Leptospirillum* Gruppe III, von *Sulfolbacillus* und einem weiteren Archaeon des *Ferroplasma* TypII konnten teilweise rekonstruiert werden. Dafür war ein Sequenzierungsaufwand von 103462 Sequenzläufen, die zusammen eine DNA-Länge von 76,2 Mbp umfassten, nötig. Eine Rekonstruktion der Genome war trotz des großen

Aufwandes nur deshalb möglich, weil dieser isolierte Standort nur eine sehr begrenzte Anzahl unterschiedlicher Organismen, im Wesentlichen die 5 sequenzierten Mikroorganismen, enthielt und sich die DNA in verschiedene Sequenzgruppen einteilen ließ. Als Unterscheidungskriterien wurden hier der GC-Gehalt und die Abdeckung der DNA-Fragmente benutzt. Die erhaltenen partiellen Genome erlaubten wesentliche Rückschlüsse auf die Stoffwechselfähigkeiten der Organismen. Aufgrund der vielen Aminosäure- und Zuckertransporter in den Genomen von *Ferroplasma* Typ I und Typ III wurde auf einen heterotrophen Lebensstil dieser Archaeen geschlossen. Für die Stickstofffixierung in dem Biofilm scheint das Bakterium der *Leptospirillum* Gruppe III verantwortlich zu sein. Nur in diesem Genom konnte ein Operon mit Stickstofffixierungsgenen entdeckt werden. Zur CO₂-Fixierung über den reduktiven Acetyl-CoA-Weg waren alle Organismen in der Lage. Weitere für diesen Standort erforderliche physiologische Eigenschaften konnten mit entsprechenden Genen belegt werden wie etwa die Säure- und Metalltoleranz.

Einen Standort mit wesentlich größerer Artenvielfalt untersuchten VENTER et al. (2004). Sie nahmen Proben aus der Sargasso Sea. Bei diesem Abschnitt des Atlantischen Ozeans mit nährstoff- und phosphatarmem Wasser in der Nähe der Bermuda-Inseln handelt es sich um einen intensiv untersuchten Bereich des Atlantischen Ozeans. Aus den 2 Millionen Sequenzläufen, die 1,6 Billionen bp umfassten, ließen sich sogenannte „Scaffolds“ rekonstruieren, bei denen es sich um zusammenhängende genetische Regionen handelt, die Lücken bestimmter Größe enthalten dürfen. Unter anderem ließen sich größere „Scaffolds“ zusammensetzen, die auf Sequenzbereiche von 10 Megaplasmiden und von verschiedenen Genomen wie z. B. dem eines unkultivierten Archaeons und dem eines SAR86-Klons zurückgeführt werden konnten. Insgesamt wurden ca. 1,2 Mio. Gene annotiert, von denen 794061 ohne bekannte Funktion sind. Ein wesentliches Erkenntnis dieser Studie war das häufige Vorkommen von Genen, die vermutlich für Rhodopsine kodieren. Es konnten anhand der Ergebnisse verschiedene Klassen von Rhodopsinen eingeteilt werden. Die Kopplung mit phylogenetischen Markern lässt auf eine wesentlich weitere Verbreitung der Rhodopsine schließen, als bislang angenommen wurde. Entgegen der bisherigen Annahme, dass ausschließlich Bakterien für die Nitrifikation im Meer verantwortlich sind, konnte außerdem auf einem zu einem Archaeon gehörigen „Scaffold“ ein Gen für eine Ammonium-Monooxygenase gefunden werden. Die Ergebnisse des Sequenzierungsprojektes lassen auf eine errechnete Artenvielfalt von 1800 Arten in den

gesammelten Proben schließen. Die Autoren gehen davon aus, dass mit einer 12-fachen Erhöhung des Sequenzieraufwandes eine 95 %ige Abdeckung der gesamten Sequenzen aus den Proben möglich wäre. Dabei ist jedoch zum einen zu beachten, dass die Proben selbst nur einen kleinen Ausschnitt der wirklichen Diversität darstellen, da das Meerwasser filtriert wurde. Zum anderen werden Organismen, die sehr selten sind, auch bei einer solchen Erhöhung des Sequenzieraufwandes nicht alle erfasst. Die Studien von TYSON et al. (2004) und VENTER et al. (2004) verdeutlichen die Möglichkeiten des Erkenntnisgewinns durch Sequenzierung von metagenomischer DNA. Durch die physiologischen Eigenschaften von unkultivierten Organismen, die anhand der Metagenomsequenzierung erkannt werden können, kann eine spätere Kultivierung erleichtert werden.

Bei der zufälligen Sequenzierung von DNA aus Phagenpartikeln, die aus menschlichem Kot und einer marinen Probe gewonnenen wurden, sollte ein genereller Einblick in die virale Population gewonnen werden (BREITENBART et al., 2002; BREITENBART et al., 2003). Einen Einblick in die mikrobielle Gemeinschaft und deren physiologisches Potential sollte die „snapshot“-Genomsequenzanalyse eines Trinkwasserbiofilms gewähren. Die Sequenzierung von 2 Mbp Plasmid-DNA und 144 kb Cosmid-DNA und der anschließende Datenbankabgleich der erhaltenen Sequenzdaten ließ erkennen, dass die Biofilm-Gemeinschaft ein breites Spektrum komplexer Substanzen verwerten kann (SCHMEISSER et al., 2003).

Abgesehen von den 4 Cosmiden mit Trinkwasserbiofilm-DNA wurden in den vorgestellten Sequenzierungsprojekten aus der Tabelle 15 Inserts von Plasmiden mit Größen von unter 5 kb sequenziert. Sequenzbereiche wurden nur zufällig mehrfach abgedeckt, wobei es sehr unwahrscheinlich ist, dass erneut das gleiche DNA-Fragment sequenziert wurde. Nukleotidheterogenitäten aufgrund der Abdeckung von Sequenzbereichen mit Sequenzen unterschiedlichen Ursprungs wurden bewusst in Kauf genommen. Da selbst ähnliche Genome durch horizontalen Gentransfer, Insertionen, Deletionen und Rekombinationen voneinander abweichen können, besteht dabei die Gefahr der Bildung von „Scaffolds“ mit chimärer DNA. Diese Gefahr ist umso größer, je heterogener eine mikrobielle Gemeinschaft ist. In dieser Arbeit wurde eine andere Strategie verfolgt. Statt der Plasmide wurden Cosmide als Träger der Umwelt-DNA verwendet. Die Sequenzen der Inserts sollten qualitativ hochwertig sein. Deshalb wurde die Sequenzierung an das Vorgehen bei Genomsequenzierungsprojekten angelehnt. Es wurde eine Sequenzabdeckung von 4,5- bis 9,8-fach erreicht. Eine vollständige

Rekonstruktion des Metagenoms des Leinesedimentes war damit nicht möglich und auch kein Ziel. Mit diesem Konzept ist es im Gegensatz zu den anderen Arbeiten möglich, Gene für komplexe Stoffwechselwege aus einem Organismus oder für Enzyme mit mehreren Untereinheiten zu identifizieren, detailliert zu betrachten und ihre Funktionalität zu überprüfen. Im Folgenden sollen Beispiele solcher Gen-Cluster, die auf den Leinesediment-Cosmiden identifiziert werden konnten, vorgestellt werden.

4.2.1 Das Cosmid slc_1x

Die aus den auf dem Cosmid lokalisierten Genen abgeleiteten Proteine zeigten große Ähnlichkeiten zu Proteinen, die in Clustern organisiert auch an unterschiedlichen Stellen in dem Genom von *M. loti* vorkommen. Im Rahmen der 16S rRNA-Genanalyse hatte keine Sequenz die größte Ähnlichkeit zu *M. loti* selbst. Die Sequenz sl3265 war allerdings zu 97 % mit der von *M. tianshanense* identisch. Dies ließ vermuten, dass es sich bei dem Insert dieses Cosmides tatsächlich um klonierte DNA eines Verwandten von *M. loti* handelt. Ebenfalls ist natürlich auch ein horizontaler Gentransfer denkbar. Allerdings erscheint dieser unwahrscheinlicher, da es sich nicht um einen zusammenhängenden Abschnitt des Genoms handelt. Die ORFs auf diesem Cosmid sind in Clustern mit unterschiedlichen Funktionen angeordnet. Aufgrund von Abweichungen von bekannten Genorganisationen bzw. neuer, bislang wenig untersuchter Stoffwechselwege, erschien eine genauere Untersuchung dieser Cluster bzw. der durch sie kodierten Proteine interessant.

4.2.1.1 Das CO - Dehydrogenase-Gencluster

CO-Dehydrogenasen kommen in aeroben und anaeroben Bakterien und in Archaeen vor. Sie katalysieren formal die reversible Reaktion (MOERSDORF et al., 1992):

Es gibt 2 strukturell unterschiedliche Formen. Die CO-Dehydrogenasen von anaeroben Bakterien und Archaeen enthalten Nickel und bestehen aus 2 identischen Untereinheiten. Aerobe, carboxydotrophe Bakterien besitzen CO-Dehydrogenasen, die aus 3 nicht-identischen Untereinheiten (CoxS, CoxM und CoxL) aufgebaut sind. Dabei steht S („small“) für die kleine Untereinheit, M („medium“) für die mittlere und L

(„large“) für die große Untereinheit. Sie enthalten FAD- und Molybdopterin-Cytosin-Dinukleotid-Cofaktoren und 2 verschiedene [2Fe-2S]-Cluster (KANG und KIM, 1999). Die Sequenzen zeigen große Ähnlichkeiten mit verschiedenen eukaryotischen Xanthin-Dehydrogenasen wie z. B. zu der von *Drosophila melanogaster*. Auch andere aus 3 Untereinheiten bestehende Molybdän-beinhaltenden Hydroxylasen wie z. B. die Nicotin-Dehydrogenase von *Arthrobacter nicotinovorans*, die Quinolin-2-Oxidoreduktase von *Pseudomonas putida* und die 4-Hydroxybenzoyl-CoenzymA-Reduktase von *Rhodopseudomonas palustris* zeigen große Sequenzübereinstimmungen (KANG und KIM, 1999). Wie unter 3.4.1.10 gezeigt werden konnte, ist auf dem Cosmid slc_1x vermutlich eine CO-Dehydrogenase kodiert, die alle an der Bindung der CO-Faktoren beteiligten, konservierten Sequenzmotive besitzt. Die großen Übereinstimmungen der Aminosäuresequenz der mittleren Untereinheit mit der K3-Region und das Fehlen der K5- und der N-Region lässt vermuten, dass die CoxM-Untereinheit FAD aber kein NAD bindet (s. 3.4.1.10).

Durch Anreicherungen und Isolierung von CO-Oxidierern und durch Kultur-basierende Untersuchungen von Taxa, von denen angenommen wurde, dass sie CoxL-Gene enthielten, konnte nachgewiesen werden, dass die Verbreitung der Fähigkeit CO zu oxidieren unter aeroben Bakterien weiter verbreitet zu sein scheint als lange angenommen wurde. Auch Genom-Sequenzierungen geben Hinweise darauf, dass weitere Bakteriengruppen CO oxidieren können (KING, 2003). Zu den Organismen, bei denen von KING (2003) ausgehend von der Genomsequenz überprüft wurde, ob die CO-Dehydratase auch *in vivo* aktiv ist, gehört auch *M. loti*. Die Bildung des Enzyms wird meist von CO induziert und von organischen Komponenten reprimiert. Es bestehen große Unterschiede bezüglich der CO-Toleranz. Viele carboxydotrophe Bakterien werden durch CO-Konzentrationen über 1 % im Wachstum gehemmt (KING, 2003). Die CO-Dehydrogenasen von *Hydrogenophaga pseudoflaga* und *Acinetobacter* sp. Strain JC1 werden konstitutiv expremiert (KANG und KIM, 1999).

KING (2003) unterscheidet 2 verschiedene Gruppen von CO-Dehydrogenasen, die sich in der strukturellen Organisation der Gene der Untereinheiten und in der Aminosäuresequenz der zweiten Molybdopterin-Bindestelle der CoxL-Untereinheit unterscheiden. Die eine Gruppe (OMP) enthält CO-Dehydrogenasen, deren strukturelle CO-Dehydrogenase-Gene *coxL*, *coxM* und *coxS* die Reihenfolge MSL aufweisen und durch weitere accessoirische Gene eingerahmt werden. Zu dieser Gruppe gehört z. B. die CO-Dehydrogenase von *Oligotropha carboxydovorans*, deren 14,5 kb-langes *cox*-

Gencluster die Gene *coxBCMSLDEFGHIK* umfasst (SANTIAGO et al., 1999). Die zweite Molybdopterin-Bindestelle der CoxL-Untereinheit dieser Gruppe trägt das Sequenzmotiv AYRCSFR (s. Abbildung 23). Die strukturellen Gene der anderen Gruppe (BMS) sind in der Reihenfolge MLS angeordnet. Das aktive Zentrum der CoxL-Untereinheit beinhaltet hier das Sequenz-Motiv AYRGAGR. Ein Beispiel für diese Gruppe ist die CO-Dehydrogenase von *R. eutropha* (Accession-Nummern ZP_00169403, ZP_00169404 und ZP_00169405).

Abbildung 37: Genetische Organisation des CO-Dehydrogenase-Clusters bei *M. loti*, *R. eutropha* und dem Cosmid *slc_1x*

Berücksichtigt sind die ORFs von *M. loti*, zu deren Genprodukten die von den ORFs 1006 bis 1015 vom Cosmid *slc_1x* kodierten Proteine die größte Ähnlichkeit zeigen. Die Gene aus *M. loti* sind in der Abbildung mit ihrer Accession-Nummer benannt. Der ORF mit der Accession-Nummer NP_107368 ist an einer anderen Stelle im Genom lokalisiert. Außerdem sind die für eine aerobe CO-Dehydrogenase kodierenden Gene von *Ralstonia eutropha* dargestellt. Auch die Benennung der ORFs von *R. eutropha* erfolgte nach den entsprechenden Accession-Nummern.

Funktion der ORF-Genprodukte:

	CoxL		CoxE		Alkohol-Dehydrogenase		Keine Ähnlichkeit zu den
	CoxS		CoxD		Transkriptionsregulator		Proteinen aus <i>M. loti</i> und dem
	CoxM		Hydrolase		Konserviertes Protein		Cosmid <i>slc_1x</i>

Von KING (2003) wird die CO-Dehydrogenase von *M. loti* in die zweite Gruppe eingeteilt. Ausgehend von der Genomsequenz von *M. loti* geht er davon aus, dass *M. loti* nur eine CO-Dehydrogenase besitzt. Die Proteine von *M. loti*, die Ähnlichkeit zu den von den *cox*-Genen des Cosmids kodierten Proteinen haben, sind trotz der relativ hohen Übereinstimmungen für die konservierten Domänen von CoxMSLDE nicht als Untereinheiten einer CO-Dehydrogenase annotiert, sondern als „predicted dehydrogenase“, „hypothetical protein“ bzw. „probable oxidoreductase“ (KANEKO et

al, 2000; s. Tabelle 14). Die typische Reihenfolge der *coxMSLDE*-Gene (entsprechend der ORFs 1008 bis 1013) legt, abgesehen von der Unterbrechung des für die CoxL-Untereinheit kodierenden Genes (ORF1010 und ORF1011) auf dem Cosmid, eine Annotation als strukturelle Gene einer CO-Dehydrogenase aber nicht nur für diesen Sequenzbereich von *M. loti* sondern auch für den des Cosmides *slc_1x* nahe (s. Abbildung 37). *M. loti* scheint also 2 CO-Dehydrogenasen zu besitzen. Die zweite Molybdopterin-Bindestelle der auf dem Cosmid kodierten CoxL-Untereinheit lautet **AMRGFGV** und ist auf dem ORF1011 kodiert. Damit ähnelt es eher dem der BMS-Gruppe (zu der auch die CO-Dehydrogenase von *Ralstonia eutropha* gehört, s. Abbildung 37), während die Anordnung der Gene der Untereinheiten auch durch die Erweiterung mit den Genen *coxD* und *coxE* der Anordnung der OMP-Gruppe entspricht. Eine eindeutige Zuordnung ist deshalb nicht möglich. Eine Zweiteilung der CoxL-Untereinheit ist ungewöhnlich. Sie wurde beim Sequenzabgleich nur noch einmal bei der Sequenz von *Moorella thermoacetica* ATCC 39073 (Accession-Nummern ZP_00329963.1 und ZP_00329964.1), einem Angehörigen der Clostridien, gefunden, deren vorderer und hinterer Teil zu 34 % zu dem jeweils entsprechenden Teil der cosmidkodierten CO-Dehydrogenase identisch sind (ORF1010 und ORF1011). Die Unterbrechung der Aminosäuresequenz liegt in beiden Fällen an der gleichen Stelle. Hieraus kann man schließen, dass es sich bei dem Genprodukt der ORFs 1010 bis 1013 tatsächlich um ein funktionales Protein handelt, da das Vorkommen eines auf gleiche Weise defekten, aber gleichzeitig stark konservierten Proteins in zwei verwandtschaftlich weit entfernten Bakterien unwahrscheinlich ist.

4.2.1.2 Das *ugp* - Gencluster

Das Ugp-System („*uptake of glycerol phosphate*“) ist ein typisches Periplasmatisches-Bindeprotein-abhängiges Mehrkomponenten-Transportsystem, das spezifisch für die Aufnahme von *sn*-Glycerin-3-Phosphat und Glycerylphosphorylphosphodiester, die Diacylierungsprodukte von Phospholipiden, ist (ARGAST et al., 1978; SCHWEIZER et al., 1982). In *E. coli* ist das *ugp*-Operon bei Minute 76 der Chromosomkarte lokalisiert und umfasst die Gene *ugpB*, *ugpA*, *ugpE*, *ugpC* und *ugpQ* (OVERDUIN et al., 1988). Das *ugpQ*-Gen kodiert für ein Protein, das Glycerinphosphoryldiester hydrolysiert, die anderen ORFs für das Transportsystem selbst (KASAHARA et al., 1989; OVERDUIN et al., 1988). Dabei ist das *ugpB*-Genprodukt das periplasmatische Bindeprotein. UgpA und UgpE stellen die membranständigen Komponenten dar. UgpC liefert durch die

Abbildung 38: Rekonstruktion der durch das *ugp*- und das *dha*-PTS-Cluster kodierten Prozesse

Die Abbildung zeigt die möglichen Reaktionen und Anordnungen der auf dem Cosmid *slc_1x* durch die ORFs 1016 bis 1027 kodierten Proteine. In grün sind die Genprodukte der ORFs 1016 bis 1021 und in lila die Genprodukte der ORFs 1022 bis 1027 dargestellt. Alle durch farbige Kästen dargestellten Proteine sind auch auf dem Cosmid *slc_1x* kodiert.

Hydrolyse von ATP die für den Transport nötige Energie (OVERDUIN et al., 1988). Die Anordnung der Komponenten des Ugp-Systems ist in Abbildung 38 schematisch dargestellt. Zu allen Komponenten dieses ABC-Transport-Systems sind, wie unter 3.4.1.10 beschrieben, ähnliche Proteine auf dem Cosmid kodiert (ORFs 1016 bis 1021). Ob es sich bei den von den ORFs 1019 und 1020 um Homologe des MalK-Proteins des Maltose-Transporters oder um UgpC handelt ist aufgrund der großen Ähnlichkeit dieser

Proteine und der Ersetzbarkeit des UgpC-Proteins durch MalK in *E. coli* nicht endgültig zu beantworten (HEKSTRA et al., 1993). Beide Proteine und auch die auf dem Cosmid kodierten ORFs tragen ATP-Bindestellen und das typische Sequenz-Motiv von ATPasen. Auf dem Cosmid ist kein Gen vorhanden, das Ähnlichkeit zu *ugpQ* zeigt. Das Ugp-System gehört in *E. coli* zum *pho*-Regulon, das durch Phosphatmangel induziert wird. Die Gene des *pho*-Regulons werden positiv durch den Transkriptions-Aktivator PhoB reguliert, der an sogenannte *pho*-Boxen bindet (MAKINO et al., 1988). Die Phosphat-Konzentration im Medium wird durch das Phosphatbindeprotein PstS bestimmt und das Signal über die vom *pst*-Operon kodierten Gene zu PhoR übertragen. Unter Phosphat-limitierenden Bedingungen aktiviert PhoR PhoB, indem es PhoB phosphoryliert (MAKINO et al., 1989). Bei hohen Phosphatkonzentrationen im Medium ist PhoB inaktiv und die Aufnahme von *sn*-Glycerin-3-Phosphat reprimiert. SCHWEIZER et al. (1982) konnten zeigen, dass *E. coli*, wenn *sn*-Glycerin-3-Phosphat ausschließlich mit dem Ugp-System transportiert wird, das *sn*-Glycerin-3-Phosphat als einzige Phosphat-Quelle nicht aber als einzige C-Quelle nutzen kann. Dies kann laut XAVIER et al. (1995) dadurch begründet werden, dass sich bei dem Transport von *sn*-Glycerin-3-Phosphat mit dem Ugp-System das Phosphat durch den Umsatz des *sn*-Glycerin-3-Phosphats in der Zelle anreichert. Wird eine Grenzkonzentration von 13 mM überschritten, wird Phosphat ins Medium sekretiert. Dadurch steigt die Phosphatkonzentration im Medium an, was letztlich zu einer Repression des *pho*-Regulons führt. *E. coli* besitzt neben dem Ugp-System noch zwei weitere *sn*-Glycerin-3-Phosphat-Aufnahmesysteme: Das GlpT- und das Uhp-System, das spezifisch für Hexose-Phosphate ist und nur in der Anwesenheit von Glukose-6-Phosphat induziert wird (LIN, 1987; KARDNER et al., 1993). Wird ausschließlich das GlpT-System zur *sn*-Glycerin-3-Phosphat-Aufnahme verwendet, kann *sn*-Glycerin-3-Phosphat sowohl als alleinige C- als auch -Phosphatquelle dienen. Bei dem *sn*-Glycerin-3-Phosphat-Transport mit dem GlpT-System wird im Gegenzug entweder anorganisches Phosphat aus der Zelle oder Protonen in die Zelle transportiert (AMBUDKAR et al., 1986; ELVIN et al., 1985). Dies verhindert einen Anstieg der Phosphatkonzentration in der Zelle. Ist die Konzentration aufgrund der Aktivität des Ugp-Systems hoch, kann die Aufnahme von *sn*-Glycerin-3-Phosphat aufgrund des Antiport-Mechanismus durch das GlpT-System sogar stimuliert werden. Das Ugp-System muss in *E. coli* insgesamt also vor allem als Phosphat-Transport-System bei Phosphat-limitierenden Bedingungen betrachtet werden, während das GlpT-System dann aktiv ist, wenn *sn*-Glycerin-3-

Phosphat als C-Quelle genutzt werden soll (XAVIER et al., 1995). Glycerin-3-Phosphat kann z. B. von *Klebsiella pneumoniae* aerob und anaerob zu Dihydroxyacetonphosphat oxidiert werden (JOHNSON et al., 1984).

4.2.1.3 Das Dihydroxyaceton-Kinase-Cluster

Dihydroxyaceton-Kinasen wandeln freies Dihydroxyaceton in Dihydroxyaceton-Phosphat um, das in die Glykolyse eingeschleust werden kann. In Bakterien entsteht Dihydroxyaceton bei der Aldol-Spaltung von Fruktose-6-Phosphat oder bei der Oxidation von Glycerin (NONOMURA et al., 1992; SCHURMANN und SPRENGER, 2001). Dihydroxyaceton-Kinasen nutzen unterschiedliche Phosphoryl-Donatoren. In Eukaryoten, die kein PTS besitzen, sind alle Dihydroxyaceton-Kinasen ATP-abhängig. In Bakterien sind die meisten dagegen PEP-abhängig. Eine der wenigen Ausnahmen stellt die Dihydroxyaceton-Kinase von *Citrobacter freundii* dar (SIEBOLD et al., 2003; DANIEL et al., 1995). *Klebsiella pneumoniae* besitzt beide Arten. Aufgrund der stark konservierten Aminosäure-Sequenz aller Dihydroxyaceton-Kinasen, kann angenommen werden, dass sie auf ein gemeinsames Vorläufer-Protein zurückgehen (SIEBOLD et al., 2003). Die auf dem Cosmid kodierten Untereinheiten Dak1 (ORF1027) und Dak2 (ORF1022) zeigen neben den Ähnlichkeiten zu DhaK und DhaL von *E. coli* auch Identitäten auf Aminosäure-Ebene von 33 % bzw. 30 % zu den entsprechenden Bereichen der Dihydroxyaceton-Kinase DhaK von *C. freundii*. In allen 3 Enzymen sind 3 Sequenzmotive, die an der Dihydroxyacetonbindung beteiligt sind, konserviert (s. 3.4.1.10). Die stärkere Ähnlichkeit zu dem Enzym aus *E. coli* ließ darauf schließen, dass auch die cosmidkodierte Dihydroxyaceton-Kinase PEP-abhängig ist. Auch die Organisation der Gene stimmt mit der von *E. coli* überein. Tatsächlich konnte eine PEP-abhängige, nicht aber eine ATP-abhängige Aktivität im Rohextrakt von *E. coli* ECL707 mit dem Cosmid slc_1x nachgewiesen werden (s. 3.4.1.10.1). Durch das Einrahmen der PTS-Gene durch die Gene *dak1* und *dak2* ist eine gemeinsame Transkription der beiden Untereinheiten der Dihydroxyaceton-Kinase und damit verbunden auch eine Co-Transkription der PTS-Gene vorstellbar.

Die PEP-abhängigen Dihydroxyaceton-Kinasen nutzen Komponenten des Phosphoenolpyruvat-Zucker-Phosphotransferasesystems (PTS) zur Übertragung des Phosphatrestes vom PEP auf das Dihydroxyaceton. Das PTS wird in Zellen meist dazu genutzt, die Zuckerkonzentration durch Phosphorylierung klein zu halten. Der Phosphotransfer vom Phosphoenolpyruvat (PEP) auf die Zucker erfolgt über eine

Kaskade von 4 Proteinen, die an Histidin- oder Cystein-Resten phosphoryliert werden. Am Ende dieser Kaskade vom PEP ausgehend steht meistens ein Zucker-spezifischer Transportmechanismus, der für eine Transport-gekoppelte Phosphorylierung der Zucker sorgt. Das erste Enzym der Kaskade ist das aus 2 Domänen bestehende lösliche Protein EI (LICALSI et al., 1991). EI katalysiert den Phosphoryl-Transfer vom PEP auf das kleine HPr-Protein, das ebenfalls löslich ist. HPr selbst dient als Phosphoryl-Donor für die unterschiedlichen PTS-Transporter, die als Enzym II (EII) bezeichnet werden und aus 3 bis 4 Untereinheiten oder aus diesen entsprechenden Domänen eines Proteins bestehen (EIIA, EIIB, EIIC und EIID). Die Untereinheit EIIA empfängt den Phosphat-Rest vom HPr und gibt ihn an EIIB weiter. Dieses phosphoryliert schließlich den Zucker. EIIC und EIID sind membrandurchspannende Komponenten, die die Translokation des Zuckers durch die Membran ermöglichen (LENGELER et al., 1994; ROBILLIARD und BROOS, 1999; SAIER und REIZER, 1992). Die PEP-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase von *E. coli* besteht aus 3 löslichen Proteinen: den Proteinen YcgT und YcgS (oder DhaK und DhaL), die den C- und N- terminalen Hälften der Dihydroxyaceton-Kinase von *C. freundii* ähneln, und YcgC oder DhaM, das ein Multiphosphoryl-Transfer-Protein ist (DANIEL et al., 1995; GUTKNECHT et al., 2001). DhaM besteht aus 3 Domänen. Die erste zeigt vor allem strukturelle Ähnlichkeit zu der EIIA-Komponente des Mannose-Transporters. Die zweite und dritte Domäne stellen die HPr- und EI-Komponente mit 29 %iger bzw. 33 %iger Sequenzidentität zu dem multiphosphoryl-Transfer-Protein MTP von *Rhodobacter capsulatus* dar (GUTKNECHT et al., 2001). Auch die PEP-abhängigen Dihydroxyaceton-Kinasen aus *K. pneumoniae* und *Clostridium butyricum* bestehen aus 3 Proteinen. Auf dem Cosmid slc_1x sind dagegen abweichend die PTS - Komponenten durch einzelne ORFs (ORFS 1023, 1024 und 1025) kodiert. Wie unter 3.4.1.10 beschrieben, fehlt der EI-Komponente im Gegensatz zu DhaM von *E. coli* auch die C-terminale Domäne nicht, die für den Phosphoryltransfer zwischen PEP und dem Histidin der SHS-Gruppe des HPr verantwortlich ist. Es sind alle wichtigen Sequenzmotive vorhanden (s. 3.4.1.10). Das auf dem Cosmid und auch bei *E. coli* kodierte Dihydroxyaceton-spezifische Phosphotransferase-System weicht von dem Standardtyp des PTS durch das Fehlen des Transportmechanismus ab. Außerdem erfolgt die Phosphorylierung des Substrates Dihydroxyaceton nicht über die EIIB-Komponente, sondern über DhaK (SIEBOLD et al., 2003) bzw. voraussichtlich über Dak1. Beide Enzyme zeigen keine Ähnlichkeiten zu den membranständigen Komponenten von PTS-Systemen. Erstaunlich ist außerdem

die geringe Ähnlichkeit des HPr zu der konservierten Domäne COG1925 dieser Enzymklasse, da es sonst, wie oben beschrieben, für den Phosphoryltransfer bei verschiedenen PTS-Systeme verantwortlich ist. Aufgrund der erforderlichen Wechselwirkung zu unterschiedlichen EII-Protein wäre eine stärkere Konservierung der Sequenz zu erwarten gewesen. Die geringe Ähnlichkeit zu anderen HPr-Proteinen kann ein Anhaltspunkt dafür sein, dass das HPr-Protein in diesem Cluster spezifisch für den Phosphoryltransfer der Kaskade zwischen dem PEP und dem Dihydroxyaceton ist. Das Enzym EIIA zeigt eine signifikante Ähnlichkeit zu der konservierten Proteindomäne COG3412, der bislang noch keine Funktion zugeordnet werden konnte, und außerdem eine geringere zu der für EIIA typischen Domäne pfam03610. Eine geringere Identität zu bekannten EIIA-Komponenten ist aufgrund der Wechselwirkungen mit den anderen Komponenten der Kaskade zu erwarten, da der Phosphoryltransfer auf das EIIA durch das recht stark vom Standard-Typ abweichende HPr erfolgt und der Phosphat-Rest nicht auf EIIB, sondern auf Dak1 übertragen wird.

Ob es sich bei dem *ugp*-Gen-Cluster und dem Dihydroxyaceton-Kinase-Cluster um ein Operon handelt, kann aufgrund des Fehlens von Promotorinformationen nicht entschieden werden. Die ORFs beider Cluster sind ausschließlich in eine Leserichtung kodiert. Es ist auch keine größere Unterbrechung in der Kodierung vorhanden. Über einen Sinn einer Co-Transkription lassen sich Vermutungen anstellen. Die Produkte beider Prozesse sind sehr ähnlich. Dihydroxyaceton-Phosphat kann auf verschiedenen Wegen entstehen. Zum einen ist die Bildung des Dihydroxyaceton-Phosphates durch NAD-abhängige Oxidation von Glycerin und eine anschließende Phosphorylierung durch eine ATP-abhängige Kinase möglich. Zum anderen kann auch Glycerin-3-Phosphat FAD-abhängig oxidiert werden. *M. loti* besitzt laut der Annotation der Genomsequenz 2 solcher Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenasen (KANEKO et al., 2000). Eine dritte Möglichkeit stellt die oben diskutierte Phosphorylierung von Dihydroxyaceton über ein PTS-System dar (JOHNSON et al., 1984). Es wird deutlich, dass die beiden benachbarten Gencluster Produkte liefern, die durch eine einzige Enzymreaktion in einander umgewandelt werden können. Dihydroxyaceton-Phosphat wird vermutlich in die Glykolyse eingeschleust und kann damit als C- und Energie-Quelle dienen. An dieser Stelle muss allerdings beachtet werden, dass das *ugp*-System eigentlich nicht zum Nutzen von Glycerin-3-Phosphat als C-Quelle Verwendung findet (s. oben). Da auf der Insertsequenz des Cosmides keine DNA-Motive gefunden wurden, die auf eine Regulation des Clusters hinweisen, kann über eine Regulation keine

Aussage getroffen werden. Es bleibt unklar, ob dieses Cluster zu einem Äquivalent des Pho-Regulons gehört. Ebenso ist natürlich eine zufällige Anordnung der Cluster oder eine alternative Substrat-Nutzung möglich. Gerade die unterschiedlich großen Ähnlichkeiten der einzelnen Komponenten zu bereits bekannten kann ein Anzeichen dafür sein.

Häufig liegen in der unmittelbaren Nachbarschaft des katalytischen *dak(dha)*-Operons regulatorische Elemente. *C. freundii* und *K. pneumoniae* haben das Regulatorprotein DhaR (DANIEL et al., 1995; SUN et al., 2003). Ebenso sind DhaK-ähnliche Proteine als potentielle Transkriptionsregulatoren bekannt (SIEBOLD et al., 2003). Auf dem Cosmid *slc_1x* ist weder ein DhaK-Paralog noch DhaR kodiert, die eine regulatorische Funktion übernehmen könnten. In *C. perfringens* und *C. butyricum* sind 2-Komponenten-Signal-Transduktionssysteme vorhanden, deren „Response-regulator“-Proteine am C-Terminus ein AraC-Helix-Turn-Helix-Motiv aufweisen (SIEBOLD et al., 2003). Der vor dem *ugp*-Gencluster lokalisierte ORF1015 kodiert für ein Protein, das eine Helix-Turn-Helix-Struktur aufweist, die mit einem e-Value von $1e^{-18}$ mit der in AraC-Typ DNA-bindenden Proteinen übereinstimmt. Es handelt sich recht wahrscheinlich um einen Transkriptionsregulator. Falls er eine regulatorische Funktion hat, muss diese nicht zwangsläufig mit dem *ugp*- bzw. Dihydroxyaceton-Kinase-Gencluster verknüpft sein. Dem davor liegenden ORF1014 konnte keine Funktion zugewiesen werden. Dass es sich bei diesem ORF um ein Sensorprotein handelt ist aufgrund der Konserviertheit dieser Proteine sehr fraglich. Die Leserichtung beider ORFs ist im Verhältnis zu dem *ugp*-Cluster entgegengesetzt.

Eine weitere Regulation ist auch zwischen dem EIIA und dem MalK vorstellbar. MalK dient als Target für EIIA^{Glc} im Zuge der „inducer exclusion“ (HEKSTRA und TOMMASSEN, 1993). Unphosphoryliertes EIIA bindet an MalK und inhibiert damit den Bindeprotein-abhängigen Transport. In Anwesenheit von Dihydroxyaceton liegen die Komponenten des PTS eher unphosphoryliert vor, da das Phosphat letztlich auf das Dihydroxyaceton übertragen wird. Das Dihydroxyaceton-Phosphat wird in die Glykolyse eingeschleust. Eine energieverbrauchende Aufnahme von Glycerin-3-Phosphat über das *ugp*-System ist zur Energiegewinnung für die Zelle bei diesen Bedingungen nicht nötig. Das Aufnahmesystem wird durch Interaktion von EIIA und MalK inhibiert.

4.2.2 Aminosäurestoffwechsel

9 % der annotierten ORFs hatten eine Funktion im Aminosäure-Transport und -Metabolismus. Zu ihnen wurden auch die ORFs gezählt, bei denen es sich vermutlich um Proteasen oder Peptidasen handelte. Wie unter 3.5.1.2 beschrieben, konnte jedoch mit Skim-Milk-Agar keine Protease-Aktivität festgestellt werden. Bei diesem Plattentest wird auf sekretierte Proteasen, die die in der Trockenmilch enthaltenden Peptide umsetzen können, getestet. Das bedeutet, dass Proteasen, die generell nicht sekretiert werden oder aber nicht von dem Wirt sekretiert werden können, ebenso wie Proteasen, die Skim-Milk nicht als Substrat verwerten können, nicht detektiert werden. Andere Beispiele für ORFs, die eine Rolle im Aminosäure-Metabolismus haben, sind z. B. die auf dem Cosmid slc_2g kodierten 2 Threonin-Dehydratasen (ORF1109 und ORF1116) und die 2 Glutamin-Synthetasen (ORF1113 und ORF1118).

Die ORFs 128 und 129 des Cosmids slc_1a stellen vermutlich einen ABC-Transporter für Glycin-Betain dar. Im Zuge des Abbaus der nicht-proteinogenen Aminosäure Betain entsteht Sarcosin. Durch die oxidative Demethylierung von Sarcosin in Anwesenheit von Sauerstoff und Tetrahydrofolat durch Sarcosin-Oxidasen entstehen Glycerin, Wasserstoffperoxid und 5,10-CH₂-Tetrahydrofolat. Sarcosin-Oxidasen können in 2 Gruppen unterteilt werden. Bei der einen handelt es sich um monomere Enzyme, bei den anderen um Enzyme, die aus 4 verschiedenen Untereinheiten bestehen (CHLUMSKY et al., 1995). Die ORFs 119 bis 123 des Cosmids slc_1a kodieren vermutlich für eine Sarcosin-Oxidase der zweiten Gruppe. In der α -Untereinheit befindet sich vermutlich aufgrund der schlechten Sequenzqualität in diesem Bereich ein „frame-shift“. Sowohl das Genprodukt des ORF 120 als auch das des ORF 121 sind deshalb als α -Untereinheit annotiert. Eine erneute Sequenzierung muss hier folgen. Die ORFs 119, 122 und 123 kodieren für die β -, γ - und δ -Untereinheiten der Sarcosin-Oxidase.

Ein weiteres Cluster, das in den Aminosäure-Stoffwechsel integriert ist, stellen die ORFs 824 bis 830 des Cosmids slc_1t dar. Diese ORFs kodieren für Enzyme, die am Abbau von Tyrosin über den Homogentisat-Weg letztlich zu Fumarat und Acetoacetat beteiligt sind. Der Abbau erfolgt in den in Abbildung 39 dargestellten Schritten. In der gleichen Leserichtung folgen die ORFs 832 bis 834, die für Enzyme kodieren, die den Abbau kurzkettiger Fettsäuren katalysieren (s. Abbildung 19). Der ersten Schritt des Tyrosin-Abbaus, beinhaltet die Deaminierung von L-Tyrosin zu 4-

Hydroxyphenylpyruvat. Auf dem Cosmid konnte kein ORF gefunden werden, der für eine solche Aktivität kodieren könnte. Allerdings sind in dem Cluster auch ORFs enthalten wie der ORF 823, die nur als hypothetische ORFs annotiert werden konnten. Aufgrund der Anordnung in diesem Cluster ist es wahrscheinlich, dass auch diese ORFs eine Funktion beim Tyrosinabbau erfüllen. Der zweite Schritt, die Decarboxylierung des 4-Hydroxyphenylpyruvats zu Homogentisat, wird durch die 4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase (ORF824) katalysiert. Das Homogentisat wird durch eine Homogentisat-1,2-Dioxygenase (ORF827) zu 4-Maleylacetoacetat oxidiert, das durch eine Maleylacetoacetat-Isomerase (ORF826) in 4-Fumarylacetoacetat überführt werden kann. Den letzten Schritt des Tyrosin-Abbaus im engeren Sinn stellt die Hydrolyse des 4-Fumarylacetoacetats in Acetoacetat und Fumarat durch eine Fumarylacetoacetase (ORF830) dar. Das in diesem Schritt entstandene Acetoacetat kann zu Acetyl-CoA abgebaut werden, das dann in den Citrat-Zyklus eingeschleust werden kann. Bei *E. coli* wird die erste Reaktion, die Übertragung des CoA-Restes von Acetyl-CoA auf Acetoacetat, von der Acetoacetyl-CoA-Transferase, katalysiert.

Abbildung 39: Aerober Tyrosin-Abbau über den Homogentisat-Weg

Dieses Enzym ist ein Tetramer und besteht aus je zwei Untereinheiten aus AtoA und AtoD (JENKINS und NUNN, 1987). Zu diesen Proteinen aus *Rhodobacter sphaeroides* zeigen die ORFs 832 und 834 große Identitäten (s. 3.4.1.8). Der anschließende Schritt, die Spaltung des Acetoacetyl-CoA zu Acetyl-CoA, wird bei *E. coli* von der Thiolase II,

dem AtoB-Protein, katalysiert. Dieses ist ein Homotetramer (JENKINS und NUNN, 1987). Zu AtoB konnte auf dem Cosmid kein ORF gefunden werden, der für ein dazu ähnliches Protein kodiert.

Bei *R. sphaeroides* liegen die beiden Gene für AtoA und AtoD direkt hintereinander. In *E. coli* weicht die genetische Organisation etwas ab. Die Gene *atoA*, *atoB* und *atoD* sind in einem Operon organisiert und liegen in der Reihenfolge *atoDAB* vor. Vor diesem Operon liegt das Gen des Aktivators *atoC*. Auf dem Cosmid *slc_1t* werden die ORFs 832 und 834 durch den ORF333 getrennt. Dieser wurde als ein Phospholipid-Bindeprotein annotiert. Möglicherweise erfüllt er auch eine Funktion in diesem Weg. Die bislang untersuchten Gencluster wie das für die CO-Dehydrogenase, die auf dem Cosmid *slc_1x* kodiert ist, enthielten überwiegend Gene mit größter Ähnlichkeit zu denen aus einem einzigen Organismus (bei der CO-Dehydrogenase zu *M. loti*). Im Gegensatz dazu ist das hier behandelte Cluster aus Genen zusammengesetzt, die zu 6 verschiedenen Organismen die größte Ähnlichkeit zeigten (s. Tabelle 14).

4.3 Annotation und Funktionalität

Ein wesentlicher Aspekt der Metagenomforschung muss neben der Sequenzierung auch die funktionale Überprüfung der Annotationen sein. Im letzten Kapitel wurde gezeigt, dass auf großen Fragmenten metagenomischer DNA größere funktional zusammenhängende Gencluster identifiziert werden können. Die Größen und die Anzahl der jeweils beteiligten Gene der hier vorgestellten Cluster sind in Tabelle 16 zusammengefasst. Außerdem konnte bei dem Dihydroxyaceton-Kinase-PTS-Gencluster gezeigt werden, dass auch durch heterologe Genexpression in *E. coli* Aktivitäten der von solchen Genclustern kodierten Enzyme nachgewiesen werden können. Damit wird zumindest ein erster Anhaltspunkt der Funktionalität gewonnen, wenngleich ein direkter Nachweis der Aktivität der einzelnen Proteine noch erfolgen muss. In anderen Fällen wie bei der CO-Dehydrogenase und auch bei den Tests auf Protease- und Oxidoreduktase-Aktivität wurde deutlich, dass häufiger eine Diskrepanz zwischen der Annotation und dem überprüften Phänotyp rekombinanter *E. coli*-Klone besteht. Dies kann zum einen dadurch erklärt werden, dass die Gene in *E. coli* nicht expremiert werden. Zum anderen können die verwendeten Testsysteme ungeeignet oder die Annotationen falsch sein. Gerade bei dem Test auf Oxidoreduktase- und Protease-Aktivität war vermutlich das Testsystem begrenzend. Die betroffenen ORFs waren z. T

sehr generell annotiert, so dass die geringe Auswahl der in den Plattentests eingesetzten Substrate die Möglichkeit des Nachweises einer Aktivität stark einschränkte. Hier müssten weitere Substrate getestet werden. Bei dem Protease-Test war zusätzlich begrenzend, dass auf extrazelluläre Enzyme getestet wurde. Die Enzyme können allerdings nur aus der Zelle gelangen, wenn *E. coli* einen Transportmechanismus für sie besitzt und die Sekretionssignale erkennt oder wenn die Zellen lysieren. Hier kann es ein Nachteil sein, dass Cosmide in geringerer Kopienzahl in der Zelle vorkommen als Plasmide, da der Anteil des durch Lyse der Zellen freigesetzten Proteins zu gering für einen Nachweis sein könnte.

Tabelle 16: Cosmidkodierte größere Gencluster

Cosmid	Durch die ORFs des Clusters kodierte Funktion	Sequenzlänge in bp	ORFs in dem Bereich	ORFs mit Annotation passend zur Cluster-Funktion
slc_1a	Sarcosin-Oxidase	4000	5	5
	Aufnahme von Glycin-Betain	3000		
slc_1t	Tyrosin-Abbau	7000	8	4
	Abbau von kurzkettigen Fettsäuren	2000	3	2
	Acetoacetat			
slc_1x	CO-Dehydrogenase	6000	6	6
	Aufnahme von Glycerin-Phosphat (<i>ugp</i>)	5500	6	5
	Dihydroxyaceton-Kinase	4500	6	5
	N ₂ -Fixierungsregulation	3500	5	5

Ganz offensichtlich lag bei dem Enzymtest zur Messung der CO-Dehydrogenase-Aktivität ein experimentelles Problem vor. Für *E. coli* ist bislang keine CO-Dehydrogenase beschrieben, so dass ein höherer Wert bei der Negativ-Kontrolle als bei dem Testansatz nicht erklärt werden kann. Zwei weitere grundsätzliche Probleme der heterologen Genexpression in *E. coli* werden am Beispiel der CO-Dehydrogenase deutlich. Um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass die *cox*-Gene expremiert werden, kann eine erhöhte CO-Konzentration in der Gasphase eingesetzt werden. Diese kann allerdings für *E. coli* toxisch sein. D. h., *E. coli* ist als Wirt nicht für die Expression jedes Gens geeignet. Ebenso können die Stoffwechselprodukte für *E. coli* toxisch sein

(DANIEL, 2004). Dieses auch bei anderen Durchmusterungssystemen relevante Problem kann durch die Wahl eines alternativen Wirtes oder durch den Einsatz von Vektoren, deren Kopienzahl regulierbar ist, umgangen werden (DANIEL, 2004; RIESENFELD et al., 2004). Das zweite grundsätzliche Problem bei der Wahl von *E. coli* als Wirt für eine heterologe Genexpression ist die Expression selbst. Aufgrund eines alternativen Promotor- und Codon-Gebrauchs auf der Umwelt-DNA kann eine Expression der Gene unterbleiben. Selbst bei einer erfolgten Expression ist eine Enzymaktivität keinesfalls garantiert. Es ist möglich, dass *E. coli* wichtige Cofaktoren für die zu messende Enzymaktivität fehlen. Auch hier ist der Einsatz alternativer Wirte wie *Streptomyces* möglich. Außerdem sind Vektoren, die z. B. alternative tRNAs zur Verfügung stellen oder „Shuttle“-Vektoren, die eine Expression in beiden Wirten ermöglichen, erhältlich (DANIEL et al., 2004). Die hier vorgestellten Limitationen gelten bei auf Aktivität basierenden Durchmusterungsverfahren generell. Durch ein Sequenz-basiertes „Screening“ können zumindest im ersten Schritt auch die nicht expremierten Gene erfasst werden. Der wesentliche Nachteil ist allerdings, dass keine Enzyme mit neuartigen Sequenzen gefunden werden können (DANIEL, 2004). Auf die Möglichkeiten der Durchmusterung von Metagenom-Genbanken soll im Kapitel 4.3 näher eingegangen werden.

Die Erkenntnismöglichkeit durch breitangelegte Sequenzierprojekte von metagenomischer DNA wird begrenzt durch die Tatsache, dass einem Großteil der erhaltenen Sequenzdaten aufgrund fehlender Ähnlichkeit zu bekannten Sequenzen keine Funktionen zugeordnet werden kann. Im Fall des Sargasso Sea-Projektes waren dies immerhin fast 70 % der erhaltenen ORFs (VENTER et al., 2004), in dieser Arbeit 44 %. 24 % der ORFs der aus dem Trinkwasserbiofilm isolierten DNA hatten ebenfalls keine Proteine mit signifikanter Ähnlichkeit in den Datenbanken (SCHMEISSER et al., 2003). Allerdings wurde hier mit einem „e-Value“ von $1e^{-4}$ ein Grenzwert für signifikante Übereinstimmungen gewählt, der deutlich unter dem in dieser Arbeit gewählten mit $1e^{-10}$ liegt. Die Angaben sind also nur bedingt vergleichbar. Auch für den Trinkwasserbiofilm müssen im Vergleich deutlich höhere Werte angenommen werden. In Bezug auf spätere Expressionsversuche von ORFs aus unkultivierten Phyla, liefern aber auch hypothetische Proteine mit ihrem G+C-Gehalt, der „Codon-usage“, Promotorsequenzen und anderen Charakteristika wichtige Erkenntnisse (RIESENFELD et al., 2004). Die Anordnung von Genen mit unbekannter Funktion in funktionell zusammenhängenden Genclustern kann Anhaltspunkte auf eine mögliche Funktion

geben wie beim ORF833, der zwischen den strukturellen Genen der zwei Untereinheiten der Acetoacetyl-CoA-Transferase lokalisiert ist. Diese Möglichkeit bietet vor allem die Sequenzierung größerer DNA-Fragmente wie in dieser Arbeit. Auch wenn Genbanken mit kleinen Inserts für die Identifikation einzelner Gene und für die experimentelle Überprüfung der von ihnen kodierten Proteine ausreichend sein können, so kann die Funktion von Enzymen mit mehreren Untereinheiten nur dann überprüft werden, wenn alle nötigen Untereinheiten vorhanden sind oder vom Wirt komplementiert werden können. Gleiches gilt für Enzyme, die in komplexe Stoffwechselwege integriert sind. Ein Vorteil bei der Erstellung von Metagenom-Genbanken mit kleinen Inserts ist allerdings die Möglichkeit der Anwendung weniger schonender Methoden beim Zellaufschluss, die die DNA für die Klonierung in Cosmide, Fosmide oder BACs zu sehr beschädigen würden. Durch Methoden wie „Bead-beating“ kann auch die DNA weniger leicht aufschließbarer Zellen erhalten werden. Damit wird das Spektrum der klonierbaren metagenomischen DNA bei der Verwendung kleiner Inserts gegenüber der Verwendung großer Inserts deutlich erhöht (RIESENFELD et al., 2004). Allerdings wurde in den in Tabelle 15 aufgeführten Studien diese Möglichkeit nicht genutzt. Ein letzter Aspekt sei hier noch betrachtet: Selbst wenn es durch Verbesserungen der DNA-Isolierung, Klonierung und Expression möglich ist, die Funktionalität von Genen nachzuweisen, so kann trotzdem keine Aussage darüber gemacht werden, ob die Gene in einem Bakterium unter den spezifischen Umweltbedingungen an einem Standort überhaupt expremiert werden. Über die tatsächlich ablaufenden biochemischen Vorgänge an einem Standort kann die Sequenzierung allein nichts aussagen. Eine Möglichkeit auch hier Einblicke zu gewinnen, ist die Methode des „stable isotope probing“. Bei dieser Methode werden ^{13}C -Isotopen-markierte Substrate eingesetzt. Setzen die Mikroorganismen diese um, wird das ^{13}C in die DNA eingebaut. Die DNA der „aktiven“ Organismen ist dann schwerer als die der anderen und kann durch Dichtegradienten-Zentrifugation von ihr getrennt werden. Die markierte DNA kann dann nach funktionalen und taxonomischen Markern durchsucht werden (WELLINGTON et al., 2003). Statt der DNA können auch RNA oder Phospholipid-Fettsäuren genutzt werden. Allerdings ist die Möglichkeit der phylogenetischen Analyse eingeschränkter. Starke Limitationen sind hier die großen Kosten und die notwendige Voraussetzung, dass die Organismen nur das markierte Substrat als Kohlenstoffquelle nutzen, da die Markierung sonst nicht ausreichend für die Auftrennung der DNA im Dichtegradienten ist. Längere Wachstumsphasen können

durch Nutzung markierter Abbauprodukte durch andere Organismen führen zur Verfälschung des Ergebnisses. Aufgrund des schnelleren Umsatzes scheint die Untersuchung von rRNA geeigneter zu sein (WELLINGTON et al., 2003).

Wie aus den Ausführungen deutlich geworden ist, kann ein möglichst umfangreiches Verständnis dessen, welche Prozesse in einer mikrobiellen Gemeinschaft ablaufen, welche Wechselwirkungen bestehen und aus welchen Mikroorganismen die Gemeinschaft zusammengesetzt ist, nur durch die Kombination vieler Methoden erhalten werden. Dabei liefert die Sequenzierung von metagenomischer DNA wichtige Erkenntnisse. Der Einsatz großer DNA-Fragmente erlaubte es größere zusammenhängende Gencluster zu identifizieren, deren Genprodukte auch in *E. coli* produziert wurden und in Enzymtests aktiv waren. Dies zeigt das hohe Potential, auch Gene für biotechnologisch einsetzbare Enzyme und Stoffwechselwege auf metagenomischer DNA zu finden, die auch in *E. coli* aktiv sind. Damit bietet die Metagenomik sowohl die Möglichkeit einer detaillierten Grundlagenforschung bakterieller Ökologie als auch die Chance der Entdeckung kommerziell produzierbarer Naturstoffe.

4.4 Durchmusterung von Metagenom-Genbanken

Die meisten Enzyme sind stark chemo-, regio- und enantiospezifisch. Aufgrund dieser Eigenschaften werden Enzyme z. B. in der pharmazeutischen Industrie zur Produktion chiraler Substanzen eingesetzt. Sie finden aber auch Verwendung in anderen Herstellungsverfahren, in denen die chemische Synthese nicht möglich oder zu kostspielig ist (GRAY et al., 2003). Neben den Enzymen sind auch andere Biomoleküle wie z. B. Antibiotika für die Industrie von großem Interesse. In der Vergangenheit stammten die Naturprodukte meist aus kultivierten Mikroorganismen. Da nur ein kleiner Teil der Organismen mit Standardkultivierungstechniken erfasst werden kann, führte die Suche nach biotechnologisch interessanten Enzymen auf diesem Weg in den letzten Jahren verstärkt zur wiederholten Entdeckung derselben Substanzen (DANIEL, 2004). Metagenom-Genbanken erschließen das vollständige genetische Potential eines Standortes. So werden auch unkultivierbare Mikroorganismen für eine wirtschaftliche Nutzung zugänglich (STREIT et al., 2004). Sie können, wie zuvor erwähnt, sowohl sequenzbasierend als auch aktivitätsbasierend durchmustert werden. Bei der sequenzabhängigen Durchmusterung ist es möglich, Oligonukleotide von konservierte

Bereiche abzuleiten und diese in Polymerasekettenreaktionen mit der Umwelt-DNA einzusetzen. Dadurch konnten bereits ganze Gene oder Genfragmente amplifiziert werden, die funktional sind (KNIETSCH et al., 2003b; ROSADO et al., 1998; SEOW et al., 1997). Eine andere Anwendung ist die phylogenetische Untersuchung von Standorten durch die Amplifikation von 16S rRNA-Genen (HUGENHOLTZ et al., 1998). Diese Methode fand auch in dieser Arbeit Anwendung (s. 3.3). Außerdem ist es möglich, durch die PCR-Amplifikation von konservierten Bereichen bekannter Gene Sonden zu generieren, die in Hybridisierungsexperimenten mit Umwelt-DNA zum Nachweis neuer Gene bekannter Enzymklassen verwendet werden können. KNIETSCH et al. (2003b) konnten mit dieser Methode Gene für Glycerin- und Diol-Dehydratasen identifizieren. In dieser Arbeit wurden die vorhandenen Sequenzen nach Genen für biotechnologisch interessante Enzyme durchsucht. Anschließend wurden die Genprodukte, die als Dehydrogenasen oder Proteasen annotiert worden waren, auf Aktivität getestet (s. 3.5.1).

Durch solche sequenzabhängigen Durchmusterungsmethoden ist allerdings nur die Identifizierung solcher Gene möglich, die eine ausreichend große Ähnlichkeit zu bereits bekannten Genen aufweisen. Neuartige Enzymklassen mit derselben Funktion können mit einem solchen Vorgehen nicht gefunden werden (DANIEL, 2004). Diese Möglichkeit bietet das auf Aktivität basierende Screening. Voraussetzung sind hier nicht Kenntnisse über Sequenzen, sondern die Entwicklung geeigneter Screeningsysteme. Diese können sehr unterschiedlich sein. Der Nachweis der Aktivität kann durch die Komplementation von Negativmutanten, durch die Entstehung farbiger oder anfärbarer Reaktionsprodukte (z. B. Nachweis von entstandenen Carbonylverbindungen s. 2.11.5) oder Wachstumsversuche mit Substraten, die vom Wirt nicht verwertet werden können, erfolgen (KNIETSCH et al., 2003a; KNIETSCH et al., 2003b; MAJERNIK et al., 2001). Da in den meisten Fällen sehr viele Klone durchmustert werden müssen, um einige wenige Enzyme mit der gewünschten Eigenschaft nachzuweisen, ist die Entwicklung von Hochdurchsatz-Systemen häufig unumgänglich (STREIT et al., 2004). Mit der auf Aktivität basierenden Durchmusterung konnten neuartige Enzyme verschiedener Enzymklassen, wie z. B. 4-Hydroxybutyrat-Dehydrogenasen (HENNE et al., 1999) und Alkohol-Dehydrogenasen (KNIETSCH et al., 2003a), gefunden werden. Aber auch Lipasen, Amylasen und Antibiotika gehören in die Gruppe der Naturstoffe, nach denen mit Hilfe von Metagenombanken intensiv gesucht wurde. Auch hier konnten funktionale Enzyme

isoliert werden (BRADY et al., 2001; GILLESPIE et al., 2002; HENNE et al., 2000; RICHARDSON et al., 2002). Da für den industriellen Einsatz ganz bestimmte Eigenschaften wie z. B. Hitzestabilität, pH-Toleranz und natürlich eine hohe Aktivität gefordert werden, muss der Identifikation der Gene eine Charakterisierung der Genprodukte folgen. Scheint ein Einsatz lohnenswert, schließt sich an die Charakterisierung häufig noch eine Phase der Optimierung des Enzyms und/oder des Wirtstammes an (CHOTANI et al., 2000).

Für die kommerzielle Produktion wird meist *E. coli* als Wirtsorganismus verwendet. Dies hat verschiedene Nachteile (s. 4.2.3), aber auch den Vorteil, dass viele verschiedene genetische Werkzeuge vorhanden sind und die Fermentation auch im großen Maßstab erprobt ist. Damit kann viel Zeit für die Entwicklung geeigneter Produktionsverfahren gespart werden (DANIEL, 2004). Dies ist entscheidend, da meist die Entwicklungszeit für biotechnologische Verfahren deutlich länger als die chemischen Syntheseverfahren ist (GRAY et al., 2003).

Ein Beispiel für ein biotechnologisches Herstellungsverfahren ist die Synthese von Erythrit mit einer Mutante von *Aureobasidium* (ISHIZUKA et al., 1989). Auch eine chemische Synthese von Erythrit aus Dialdehyd-Stärke bei hohen Temperaturen in Anwesenheit von Nickel als Katalysator ist möglich, findet allerdings aufgrund der geringen Effizienz keine Verwendung (LEE et al., 2003; PFEIFER et al., 1960). Auch einige Bakterien und osmophile Hefen können Erythrit produzieren (RYU et al., 2000; VEIGA-DA-CUNHA et al., 1992). Meso-Erythrit oder D-erythro-Tetritol ist ein in der Natur weit verbreitetes Polyol. Es wird als Metabolit oder Speicherstoff in Seetang, Pilzen und Früchten gefunden. Erythrit kann als nicht-karyogener und kalorienarmer Süßstoff eingesetzt werden, der auch für Diabetiker geeignet ist (MUNRO et al., 1998).

Abbildung 40: Strukturformel von meso-Erythrit

Ein Oxidationsprodukt von Erythrit, L-Erythrulose, wird in der kosmetischen Industrie z. B. als Zusatz in Selbstbräunungsprodukten eingesetzt. In dieser Arbeit wurde

versucht, ein Gen (ORF2) auf dem Plasmid (pEry1) zu identifizieren, welches *E. coli* die Fähigkeit zu Wachstum mit Erythrit als einziger C- und Energie-Quelle vermittelte. Dieses Plasmid war aus einer Durchmusterung von Genbanken auf eine solche Fähigkeit hin hervorgegangen.

Aufgrund bestehender Übereinstimmung von Sequenzbereichen mit Signaturen von 2-Hydroxysäure-Dehydrogenasen wurde angenommen, dass das Genprodukt des ORF2 des Plasmides pEry1 eine Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität vermittelt. Eine wichtige Rolle dieses Gens für die Erythritverwertung des *E. coli*-Klons war angezeigt, da *E. coli* nach einer Deletion eines DNA-Fragmentes aus diesem ORF nicht mehr in der Lage war, Erythrit zu verwerten. Der direkte Nachweis, welches plasmidkodierte Genprodukt für die Oxidation des Erythrits verantwortlich ist, konnte jedoch nicht erbracht werden, da das durch eine Klonierung in einen Überexpressions-Vektor produzierte Protein unter den hier gewählten Testbedingungen keine Aktivität zeigte (s. 3.6.6). Die Deletion könnte auch eine negative Beeinflussung der Transkription der stromabwärts liegenden Gene hervorrufen. Falls eines dieser Gene für die Erythrit-Dehydrogenase kodieren sollte, wäre dann auch in diesem Fall kein Wachstum auf Erythrit zu beobachten. Auch die These, dass die ORFs 2 und 3 nicht durch das TGA-Codon unterbrochen sind, sondern dass dieses für Selenocystein kodiert, kann aufgrund der Ergebnisse nicht verworfen werden. Um einen Anhaltspunkt für die Größe des kodierenden ORFs zu bekommen, wurde die Molekularmasse des nativen Proteins in einer nativen Gardienten-PAGE bestimmt. Die dadurch ermittelte Molekularmasse von 94 kDa lässt darauf schließen, dass es sich um ein Homotrimer des ORF2-Genproduktes handeln könnte oder um ein Monomer des gemeinsamen Genproduktes von den ORFs 2 und 3. Oxidoreduktasen bestehen häufig aus einer geraden Anzahl von identischen Untereinheiten. Bei der Erythrose-Reduktase von *Candida magnoliae* und der NAD-abhängigen meso-Erythritol-Dehydrogenase von *Gluconobacter frateurii* CHM43 handelt es sich um Homodimere (LEE et al., 2003; MOONMANGMEE et al., 2002). Deshalb wäre das Vorliegen eines Homotrimeres ungewöhnlich. Allerdings ließ auch die genauere Untersuchung der auf das TGA-Codon folgenden Sequenz und der Vergleich mit der typischen Signalsequenz für den Einbau von Selenocystein in die Formiat-Dehydrogenase von *E. coli* (LIU et al., 1998), keine eindeutigen Schlüsse zu. Die Ausbildung von Sekundärstrukturen scheint möglich, allerdings fehlen wichtige Eigenschaften der *E. coli*-Selenocystein-Insertionssequenz (Daten nicht gezeigt). Da aber nicht bekannt ist, aus welchem Organismus die DNA des Inserts des Plasmides

pEry1 stammt, ist auch nichts über Selenocystein-Insertionssequenzen aus diesem Organismus bekannt. Hier müssen für den direkten Nachweis, welches Genprodukt bzw. welche Genprodukte für die Verwertung des Erythrits verantwortlich sind, weitere Experimente folgen.

Neben der Molekularmasse konnten auch die Co-Faktor-Bedürfnisse des Enzyms zumindest mit dem Rohextrakt von *E. coli* JM109/pEry1 untersucht werden. Für Erythrit-Dehydrogenasen sind unterschiedliche Coenzym-Abhängigkeiten bekannt. So benötigt die Erythrose-Reduktase von *Torula corallina* NADP(H) für die Reduktion von Erythrose bzw. die Oxidation von Erythrit (LEE et al., 2003); *Gluconobacter frateurii* CHM43 wandelt Erythrit sowohl irreversibel durch eine membrangebundene PQQ- und Ca^{2+} -abhängige Erythrit-Oxidase als auch durch eine reversible cytoplasmatische NAD(H)-abhängige meso-Erythrit-Dehydrogenase zu L-Erythrulose um (MOONMANGEE et al., 2002). Die Erythrose-Reduktase von *Candida magnoliae* zeigt sogar eine ungewöhnliche duale Coenzym-Spezifität für NAD(H) und NADP(H) (LEE et al., 2003). Die auf dem Plasmid pEry1 kodierte Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität war mit NAD, nicht aber mit NADP nachweisbar (s. 3.6.5). Weitere Messungen zur biochemischen Charakterisierung müssen mit der gereinigten Erythrit-Dehydrogenase folgen. Dazu gehört auch die Identifikation des Reaktionsproduktes. Mögliche Produkte der Oxidation von Erythrit sind D-Erythrose wie z. B. bei *Schizophyllum commune* (BRAUN et al., 1969) oder L-Erythrulose wie z. B. bei *Enterobacter aerogenes* (GRIFFIN, 1992). Auch eine primäre Phosphorylierung zu D-Erythrit-1-Phosphat und eine anschließende Oxidation zu D-Erythrulose-1-Phosphat wie bei *Brucella abortus* (SPERRY und ROBERTSON, 1974) ist denkbar. Da ein Wachstum auf Erythrit die Fähigkeit von *E. coli* JM109 voraussetzt, das bei der Erythritumwandlung entstehende Reaktionsprodukt weiterverwerten zu können, wurde getestet, ob *E. coli* JM109 mit D-Erythrose oder L-Erythrulose wachsen kann. Dabei konnte mit beiden Substraten ein Wachstum beobachtet werden.

Bislang konnte mit *E. coli* JM109/pEry1-Rohextrakten mit den hier gewählten Testbedingungen eine Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität gemessen werden. Ebenfalls im Rohextrakt wurde ein Enzym mit einer Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität mit einer Molekularmasse von 94 kDa nachgewiesen. Ob dieses Protein aus mehreren Untereinheiten besteht und wie es kodiert wird, konnte bislang nicht ermittelt werden.

4.5 Ausblick

In dieser Arbeit konnte ein Einblick in die mikrobielle Zusammensetzung des Leinesedimentes gewonnen werden. Dabei zeigte sich, dass die bakterielle Diversität groß war. Es wurden nur sehr selten 16S rRNA-Gensequenzen doppelt erhalten. Somit muss davon ausgegangen werden, dass eine weitere Sequenzierung zu Sequenzen führen würde, die bislang noch nicht im Datensatz enthalten sind. Für eine fortgesetzte Sequenzierung sollte die 16S cDNA-Genbank erweitert werden. Dabei wäre es sinnvoll, andere Oligonukleotide zur Amplifikation der 16S rRNA-Gene heranzuziehen, da die bislang verwendeten eindeutig gezeigt haben, dass eine Spezifität für bestimmte Organismengruppen auch bei sogenannten „universellen“ 16S rRNA-Gen-Oligonukleotiden vorhanden ist.

Die archaeele Diversität war deutlich geringer als die bakterielle. Mit den eingesetzten Oligonukleotiden wurden fast ausschließlich sehr ähnliche Sequenzen aus hauptsächlich 2 Ordnungen amplifiziert. Auch hier könnte durch den Einsatz anderer Oligonukleotide getestet werden, ob weitere Archaeen-Gruppen nachgewiesen werden können. Vor allem sollten weitere gegen 16S rRNA-Gene von Crenarchaeoten gerichtete Oligonukleotide verwendet werden, da diese nicht im Leinesediment, wohl aber in anderen Süßwassersedimenten nachgewiesen werden konnten (MacGREGOR et al., 1997; SCHLEPER et al., 1996). Interessant wäre auch der Einsatz der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH), um die über die 16S rRNA-Genanalyse gewonnenen qualitativen Ergebnisse zu quantifizieren.

Die im Rahmen der Cosmid-Sequenzierung gewonnenen Ergebnisse lassen zwar erste Einblicke in die Physiologie der mikrobiellen Gemeinschaft zu, der Umfang der in dieser Arbeit generierten Sequenzdaten kann aber nur als ein erster kleiner Schritt bei der Erfassung des gesamten Potentials des Metagenoms der Leine angesehen werden. Um einen detaillierteren Einblick zu erhalten, müsste die Sequenzierung im großen Maßstab fortgesetzt werden. Hierbei wäre über einen Wechsel der Sequenzierungsstrategie nachzudenken. Um möglichst viele Informationen zu erhalten, sollten dann statt der Cosmid-Genbanken Genbanken mit kleinen Inserts wie bei der Sequenzierung des Metagenoms der Sargasso Sea verwendet werden (VENTER et al., 2004). Allerdings ist eine solche Strategie sehr kostspielig. Für die Suche nach weiteren Genclustern bietet sich allerdings eine weitere Sequenzierung von Cosmiden an.

Insgesamt ist über den Einsatz anderer Methoden wie z. B. des „Stable isotope probings“ oder der FISH mit radioaktiv-markierten Substraten nachzudenken, wenn ein authentischer Einblick in die physiologischen Vorgänge im Leinesediment gewonnen werden soll. Nur so ist es möglich, detaillierte Erkenntnisse bezüglich der Interaktionen in der mikrobiellen Gemeinschaft und der dort stattfindenden Stoffwechselprozesse zu gewinnen.

In dieser Arbeit wurde begonnen, die erfolgten Annotationen der auf den Cosmiden kodierten Genprodukte experimentell zu bestätigen. Dies müsste weiter fortgesetzt werden. Besonders im Hinblick auf die als Oxidoreduktasen und Proteasen annotierten Proteine, die von biotechnologischem Interesse sein könnten, wäre das Austesten weiterer Substrate und Testbedingungen sinnvoll. Dies gilt auch für die potentielle CO-Dehydrogenase, deren Untereinheiten von den ORFs 1010 bis 1013 des Cosmides slc_1x kodiert werden, da hier ein initialer Test ebenfalls kein Ergebnis brachte. Für den Nachweis von Funktionen der auf den Cosmiden kodierten Genprodukte könnten Subklonierungen der Gene oder Klonierungen in Expressionsvektoren hilfreich sein.

Die Experimente mit dem Plasmid pEry1 befinden sich erst in der Anfangsphase. Da kein direkter Nachweis erbracht werden konnte, welcher ORF für die Erythrit-Dehydrogenase kodiert oder ob mehrere Genprodukte für die Aktivität verantwortlich sind, müssen weitere Klonierungen oder Subklonierungen des ORF2, aber eventuell auch der anderen ORFs erfolgen. Über den Einsatz alternativer Expressionsvektoren, die eine weniger starke Expression gewähren, muss nachgedacht werden. Auch die Testbedingungen im Enzymtest sind weiter zu prüfen. Ein weiterer Ansatzpunkt wäre der Verdau des aktiven Enzyms. Dieses könnte aus einer nativen Gradienten-PAGE gewonnen werden, da hier eine distinkte Bande über eine Dehydrogenase-Aktivitätsfärbung erhalten wurde. Über die Größe der über den Verdau erhaltenen Fragmente könnte durch den Vergleich mit den bestehenden Sequenzdaten der Nachweis erbracht werden, welches Genprodukt für die Aktivität verantwortlich ist. Das Protein muss gereinigt werden und es müssen Experimente zur biochemischen Charakterisierung folgen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

1. Zur Herstellung von Metagenombanken wurde eine Probe vom Leinesediment entnommen (Stockhausen, Niedersachsen). Die DNA wurde aus dieser Probe mit der Methode der direkten Lyse isoliert, gereinigt und partiell verdaut. Die dabei erhaltenen DNA-Fragmente wurden entweder in den Plasmidvektor pBluescript®II SK+ oder in den Cosmidvektor SuperCos1 ligiert. Es wurden insgesamt 31800 verschiedene rekombinante Plasmide gewonnen. Die durchschnittliche Insertgröße der partiellen Genbanken reichte von 3,3 kb bis 6,1 kb. Damit konnten insgesamt 124 Mbp Umwelt-DNA kloniert werden. Die resultierende Cosmid-Genbank enthielt 400 Klone, deren Insertgrößen zwischen 34 kb und 45 kb betrug. Dies entspricht ca. 15,2 Mbp klonierter DNA.

2. Zur phylogenetischen Analyse der mikrobiellen Gemeinschaft des Leinesedimentes wurde die isolierte DNA in PCR-Reaktionen mit Oligonukleotiden eingesetzt, die gegen archaeelle bzw. bakterielle 16S rRNA-Gene gerichtet waren. Die erhaltenen PCR-Produkte wurden kloniert und sequenziert. Es konnten 60 archaeelle und 147 bakterielle 16S rRNA-Gensequenzen generiert und anschließend in phylogenetische Stammbäume integriert werden.

3. Ein Vergleich der erhaltenen archaeellen 16S rRNA-Gensequenzen mit den Sequenzen der Datenbanken ergab, dass nur Sequenzen aus dem Phylum der *Euryarchaeota* gewonnen wurden. Fast alle Sequenzen haben die größte Identität zu Archaeen, die nur durch ihre 16S rRNA-Gene in den Datenbanken repräsentiert sind. Fast alle 16S rRNA-Gensequenzen konnten in die Ordnungen *Methanosarcinales* und *Methanomicrobiales* aus der Klasse der *Methanomicrobia* eingeordnet werden. Nur eine Sequenz zeigt die größte Ähnlichkeit zu einer Umweltsequenz, die in die Ordnung der *Thermoplasmatales* (Klasse *Thermoplasmata*) gruppiert wurde. Die meisten 16S rRNA-Gensequenzen mit Ähnlichkeit zu den *Methanosarcinales* gehören vermutlich zu den *Methanosaetaceae*. 5 Leinesediment-Sequenzen (sl3106, sl3113, sl3114, sl3138, sl3189) scheinen ein eigenes Cluster auf Familienniveau zu bilden, das nur Sequenzen aus dem Leinesediment enthält. Nur eine Sequenz gehört zu den *Methanosarcinaceae*.

Die Sequenzen aus der Ordnung *Methanomicrobales* gehören alle in die *MCU-Bourgesse*-Untergruppe.

4. Die bakteriellen 16S rRNA-Gensequenzen konnten 11 verschiedenen Phyla zugeordnet werden. Auch hier zeigen die meisten Sequenzen die größten Übereinstimmungen zu 16S rRNA-Genen aus unkultivierten Organismen. Es dominieren vor allem Sequenzen, deren nächst verwandte Sequenzen zu der Gruppe der Proteobakterien (49 %), zu der *BCF*-Gruppe (16 %), zu den *Planctomycetes* (10 %) oder zu den *Acidobacteria* (11 %) gezählt werden. Bei den 16S rRNA-Gensequenzen aus dem Leinesediment mit Ähnlichkeit zu Sequenzen der Proteobakterien dominieren vor allem die α - und die γ -Proteobakterien (18 % bzw. 17 % aller 16S rRNA-Gensequenzen). Andere Phyla sind z. T. nur mit einer Sequenz vertreten. Es konnten verschiedene Cluster entdeckt werden, die nur Umweltsequenzen und Sequenzen aus dem Leinesediment enthielten. Eine Sequenz (sl1394) zeigt eine 97 %ige Identität zu der 16S rRNA-Gensequenz des unkultivierten Klons SM1G12, der in die Kandidat-Division TM7 gruppiert ist.

5. Um einen Einblick in die genetische und physiologische Diversität des Leinesedimentes zu erhalten, wurden von 14 Cosmiden „Shotgun“-Genbanken erstellt. Die Sequenzierung von 9 Cosmiden ist abgeschlossen. 3 weitere weisen jeweils eine Sequenzlücke auf. 2 Cosmide bestehen noch aus mehr als 10 Contigs. Mit den Sequenzen der vollständig bzw. fast vollständig sequenzierten Cosmide wurde ein „ORF-Finding“ durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass das Cosmid slc_1q eukaryotische DNA enthält. Auf den übrigen Cosmid-Inserts wurden 374 ORFs festgelegt. Diese wurden mit der NCBI-Datenbank verglichen. Dabei konnte 164 (ca. 44 %) Genprodukten der auf den Cosmiden kodierten ORFs aufgrund fehlender signifikanter Ähnlichkeiten keine Funktion zugewiesen werden. Sie wurden als hypothetische oder konservierte Proteine annotiert. Bei den abgeleiteten Aminosäuresequenzen der übrigen ORFs war eine Zuweisung einer Funktion möglich. Besonders häufig wurden den Genprodukten Funktionen im Kohlenhydrat- oder Aminosäuremetabolismus und -Transport zugewiesen (9 % bzw. 10 %).

6. Einige Cosmide (slc_1f, slc_1p, slc_1s, slc_1u, slc_2j) zeichneten sich durch sehr geringe Sequenzübereinstimmungen ihrer ORFs auf Aminosäureebene mit bekannten Proteinsequenzen aus. Andere trugen Cluster von Genen, die vermutlich für die verschiedenen Enzyme ganzer Stoffwechselwege oder die verschiedenen Untereinheiten eines Enzyms kodieren. Auf dem Cosmid slc_1t konnten ORFs identifiziert werden, die vermutlich für den Abbau von 3-Hydroxyphenylpyruvat bis zu Acetyl-CoA (ORFs 824 bis 834) kodieren. Das Cosmid slc_1a beinhaltet 5 ORFs, die vermutlich für die 4 Untereinheiten einer Sarcosin-Oxidase (ORFs 119 bis 123), und 2 ORFs, die für einen Glycin-Betain-Transporter (ORF128 und ORF129) kodieren.

7. Auf dem Insert des Cosmides slc_1x waren verschiedene Gencluster lokalisiert. Ähnliche Cluster wurden ebenfalls in der Genomsequenz von *M. loti* entdeckt. Ein solches Cluster stellen die ORFs 1010 bis 1013, die vermutlich für eine Kohlenmonoxid-Dehydrogenase kodieren, dar. Die abgeleiteten Aminosäuresequenzen dieser ORFs zeigten alle typischen Sequenzmotive von Kohlenmonoxid-Dehydrogenasen von carboxidotrophen Bakterien. Erste Versuche, eine CO-Dehydrogenase-Aktivität nachzuweisen, waren nicht erfolgreich. Des Weiteren kodieren die ORFs 1016 bis 1021 vermutlich für einen Glycerin-3-Phosphat-transportierenden ABC-Transporter. Diese ORFs liegen in der gleichen Leserichtung wie die ORFs 1022 bis 1027, deren Genprodukte große Ähnlichkeit zu den 2 Untereinheiten Dak1 und Dak2 von Dihydroxyaceton-Kinasen bzw. zu Komponenten des PTS-Systems zeigen. Mit einem photometrischen Enzymtest konnte eine PEP-abhängige Dihydroxyaceton-Kinase-Aktivität im Rohextrakt von *E. coli* ECL707 mit dem Cosmid slc_1x nachgewiesen werden.

8. Aus einer Durchmusterung von Boden-Metagenombanken nach Genen, die *E. coli* die Fähigkeit vermittelten, auf Erythrit als einziger C- und Energiequelle zu wachsen, ging ein Klon hervor, auf dessen Plasmid (pEry1) das Gen oder die Gene identifiziert werden sollten, die für die Ausprägung des Phänotyps verantwortlich waren. Zunächst wurde eine Wachstumskurve mit *E. coli* JM109/pEry1 in Mineralmedium mit Erythrit als einziger C- und Energiequelle erstellt. Die Verdopplungszeit betrug 8,5 h. Im Rohextrakt von *E. coli* JM109 mit pEry1 konnte mit NAD eine spezifische Aktivität von 0,049 U/mg Enzym gemessen werden. Mit NADP

war das Enzym nicht aktiv. Nach einer nativen Gradienten-PAGE konnte ein aktives Enzym mit einer Molekülmasse von ca. 94 kDa über eine Erythrit-Dehydrogenase-Aktivitätsfärbung nachgewiesen werden.

9. Die Analyse des vollständig sequenzierten Inserts des Plasmides pEry1 ergab für das von ORF2 kodierte Protein eine Identität von 42 % zu einer Phosphoglycerat-Dehydrogenase aus *Burkholderia cepacia* R18194. Es konnten außerdem 3 typische Sequenz-Signaturen von 2-Hydroxysäure-Dehydrogenasen mit nur minimalen Abweichungen identifiziert werden. Alle anderen Genprodukte der 5 auf dem Plasmid festgelegten ORFs zeigten keine signifikanten Ähnlichkeiten zu bekannten Proteinsequenzen. Die Funktion von ORF2 in der Erythritverwertung von *E. coli*/pEry1 war angezeigt, da nach Deletion dieses ORFs keine Erythritverwertung mehr nachgewiesen werden konnte.

10. Der ORF2 wurde in den pET101/D-TOPO-Vektor kloniert. Der His₆-Tag konnte in einem Western-Blot nachgewiesen werden, jedoch hatte das Enzym unter den getesteten Bedingungen keine Erythrit-Dehydrogenase-Aktivität. Auch die Genprodukte anderer pET101/D-TOPO-Vektorkonstrukte, die eine Produktion des ORF2-Proteins ohne His₆-Tag bzw. mit dem Genprodukt des ORF3 zusammen erlaubten, zeigten keine solche Aktivität.

6 LITERATURVERZEICHNIS

ABREU, C., JURGENS, G., DE MARCO, P., SAANO, A. , BORDALO, A. A. (2001). Crenarchaeota and Euryarchaeota in temperate estuarine sediments. *Journal of Applied Microbiology* **90**: 713-718.

AMANN, R. (2000): Who is out there? Microbial aspects of biodiversity. *Systematic and applied Microbiology* **23**: 1-8.

AMANN, R. I. (2000). Methoden zur Bestimmung der *in situ*-Funktion von Mikroorganismen. *Biospektrum* 4/2002: 274-277.

AMANN, R.I., LUDWIG, W., SCHLEIFER, K.-H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **59**: 143-169.

AMBUDKAR, S. V., LARSON, T. J., MALONEY, P. C. (1986). Reconstitution of sugar phosphate transport systems of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **261** (20):9083-6.

ANDERSON, L. O., BORG, H., MIKAELSON, M. (1972). Molecular weight estimation of proteins by electrophoresis in polyacrylamide gel of graded porosity. *FEBS Lett.* **20**: 199-202.

AOKI, M. A. Y., PASTORE, G. M., PARK, K. (1993). Microbial transformation of sucrose and glucose to erythritol. *Biotechnol. Lett.* **15**: 383-388.

ARGAST, M. LUDTKE, D., SILHAVY, T. J., BOOS, W. (1978). A second transport system for sn-glycerol-3-phosphate in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **136**: 1070-1083.

AVERHOFF B. (1988). Optimierung der Succinat- und Trimethylenglycol-Produktion durch Variation von Wachstumsparametern und Zugabe externer H-Donatoren. Dissertation, Göttingen.

BARNETT, M. J., FISHER, R. F., JONES, T., KOMP, C., ABOLA, A. P., BARLOY-HUBLER, F., BOWSER, L., CAPELA, D., GALIBERT, F., GOUZY, J., GURJAL, M., HONG, A., HUIZAR, L., HYMAN, R.W., KAHN, D., KAHN, M. L., KALMAN, S., KEATING, D. H., PALM, C., PECK, M. C., SURZYCKI, R., WELLS, D. H., YEH, K.-C., DAVIS, R. W., FEDERSPIEL, N. A., LONG, S. R. (2001). Nucleotide sequence and predicted functions of the entire *Sinorhizobium meliloti* pSymA megaplasmid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98** (17): 9883–9888.

BARTON, L. L., TOMEI, F. A. (1995). Characteristics and activities of sulfate-reducing bacteria. In: L. L. Barton (Hrsg.). *Sulfate-reducing bacteria*, S. 1-32. Plenum Press, New York, N.Y.

- BEJA, O., KOONIN, E. V., ARAVIND, L., TAYLOR, L. T., SEITZ, H., STEIN, J. L., BENSEN, D. C., FELDMAN, R. A., SWANSON, R. C., DELONG, E. F.** (2002). Comparative genomic analysis of archeal genotypic variants in a single population and in two different oceanic provinces. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 335-345.
- BEJA, O., SPUDICH, E. N., SPUDICH, J. L., LECLERC, M., DeLONG, E. F.** (2001). Proteorhodopsin phototrophy in the ocean. *Nature* **411** (6839): 786-9.
- BEJA, O., SUZUKI, M. T., KOONIN, E. V., ARAVIND, L., HADD, A., NGUYEN, L. P., VILLACORTA, R., AMJADI, M., GARRIGUES, C., JOVANOVIĆ, S.B., FELDMAN, R.A., DELONG, E.F.** (2000). Construction and analysis of bacterial artificial chromosome libraries from a marine microbial assemblage. *Environ. Microbiol.* **2**: 516-529.
- BERKENHEGER, I., FISCHER, U.** (2004). Competition for polymers among heterotrophic bacteria, isolated from particles of the Equatorial Atlantic. *International Microbiology* **7**: 13-18.
- BILLAUX, M. S., FLOURIE, B., JACQUEMIM, C., MESSING, B.** (1991). Sugar alcohols.. In: S. MARIE und F. R. POGOLT (Hrsg.), *Handbook of sweeteners*, S. 72. Blackie Academic & Professional, Glasgow, United Kingdom.
- BOONE, D. R. WHITMAN, W. B., ROUVIERE, P.** (1993). Diversity and taxonomy of methanogens. In: **J. G. FERRY** (Hrsg.). *Methanogenesis: ecology, physiology, biochemistry and genetics*, S. 35-80. Chapman and Hall, New-York, N.-Y..
- BONFIELD, J. K., STADEN, R.** (1996): Experiment files and their application during large-scale sequencing projects. *DNA Sequence* **6**: 109-117.
- BONFIELD, J. K., SMITH, K., STADEN, R.** (1995): A new DNA sequence assembly program. *Nucleic Acids Res.* **24**: 4992-4999.
- BÖCKELMANN, U., MANZ, W., NEU, T. R., SZEWZYK, U.** (2000). Characterization of the microbial community of lotic organic aggregates ('river snow') in the Elbe River of Germany by cultivation and molecular methods. *FEMS Microbiology Ecology* **33**: 157-170.
- 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.
- BRADY, S. F., CHAO, C. J., HANDELSMAN, J., CLARDY, J.** (2001). Cloning and heterologous expression of a natural product biosynthetic gene cluster from eDNA. *Org. Lett.* **3**: 1981-1984.
- BRAUN, M. L. & NIEDERPRUEM, D. J.** (1969). Erythritol Metabolism in Wild-Type and Mutant Strains of *Schizopyllum commune*. *J. Bacteriol.* **100**: 625-634.

BREITENBART, M., HEWSON, I., FELTS, B., MAHAFFY, J. M., NULTON, J. (2003). Metagenomic analysis of an uncultured viral community from human feces. *J. Bacteriol.* **185**: 6220-23.

BREITENBART, M., SALAMON, P., ANDRESEN, B., MAHAFFY, J. M., SEGALL, A. M. (2002). Genomic analysis of uncultured marine viral communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**: 14250-55.

CAPONE, D. G., KIENE, R. P. (1988). Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: contrasts in anaerobic carbon metabolism. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 725-749.

CÈBRON, A., BERTHE, T., GARNIER, J. (2003). Nitrification and nitrifying bacteria in the Lower Seine River and Estuary (France). *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 7091-7100.

CHANDLER, D. P., FREDRICKSON, J. K., BROCKMAN, F. J. (1997) Effect of PCR template concentration on the composition and distribution of total community 16S rDNA clone libraries. *Mol. Ecol.* **6** (5): 475-82.

CHAPELLE, F. H. und LOVLEY, D. R. (1992). Competitive exclusion of sulfate reduction by Fe(III) reducing bacteria: a mechanism for producing discrete zones of high iron ground waters. *Ground Water* **30**: 29-36.

CHASSY, B. M., MERCENIER, A., FLICKINGER, J. (1988). Transformation of bacteria by electroporation. *TIBTECH* **6**: 303-309.

CHOTANI, G., DODGE, T., HSU, A., KUMAR, M., LADUCA, R., TRIMBUR, D., WEYLER, W. SAFORD, K. (2000). The commercial production of chemicals using pathway engineering. *Biochim. Biophys. Acta* **1543**: 434-455.

CHLUMSKI, L. J., ZHANG, L., SCHUMAN-JORNS, M. (1995). Sequence analysis of sarcosine oxidase and nearby genes reveals homologies with key enzymes of folate one-carbon metabolism. *J. Biol. Chem.* **270** (31): 18252-9.

COEY, J. M. D., SCHINDLER, D. W., WEBER, F. (1974). Iron compounds in lake sediments. *Can. J. Earth Sci.* **11**:1489-1493.

CONRAD, R. (1993). Anaerobic hydrogen metabolism in aquatic sediments. In: **ADAMS, D. D., SEITZINGER, S. P., CCRILL, P. M.** (Hrsg.). *Cycling of reduced gases in the hydrosphere*, S. 15-24. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Deutschland.

CONWAY, T., SEWELL, G. W., OSMAN, Y. A., INGRAM, L. O. (1987). Cloning and sequencing of the alcohol dehydrogenase II gene from *Zymomonas mobilis*. *J. Bacteriol.* **169**: 2591-2597.

COTTRELL, M. T., MOORE, J. A., KIRCHMAN, D. L. (1999). Chitinases from uncultured marine microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** (6): 2553-7.

COX, T. L., SLY, L. I. (1997). Phylogenetic relationships and uncertain taxonomy of *Pedomicrobium* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47** (2): 377-80.

COSTILOW R. N. (1981). Biophysical factors in growth. In: **GERHARDT P., MURRAY G. E., COSTILOW N., NESTER E. W., WOOD W. A., KRIEG R., PHILIPS G. B.** (Hrsg.). *Manual of methods for general bacteriology*, S. 66-78. American Society for Microbiology, Washington D.C., USA.

CRUMP, B. C., ARMBRUST, E. V., BAROSS, J. A. (1999). Phylogenetic analysis of particle-attached and free-living bacterial communities in the Columbia river, its estuary, and the adjacent coastal ocean. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** (7): 3192-204.

CUMMINGS, D. E., MARCH, A. W., BOSTICK, B., SPING, S., CACCAVO, F., FENDORF, S., ROSENZWEIG, F. (2000). Evidence for microbial Fe(III) reduction in anoxic, mining-impacted lake sediments (Lake Coeur d'Alene, Idaho). *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 154-162.

CURTIS, T. P., SLOAN, W. T., SCANNELL, J. W. (2002). Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **99** (16): 10494-9.

DAHLLOF, I., BAILLIE, H., KJELLEBERG, S. (2000). *rpoB*-based microbial community analysis avoids limitations inherent in 16S rRNA gene intraspecies heterogeneity. *Appl. Environ. Microbiol.* **66** (8): 3376-80.

DANIEL, R. (2004). The soil metagenome – a rich resource for the discovery of novel natural products. *Current Opinion In Biotechnology* **15**: 199-204.

DANIEL, R., STUERTZ, K., GOTTSCHALK, G. (1995). Biochemical and molecular characterization of the oxidative branch of glycerol utilization by *Citrobacter freundii*. *J. Bacteriol.* **177**: 4392-4401.

DEES, P. M., GHIORSE, W. C. (2001). Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. *FEMS Microbiol. Ecol.* **35**: 207-216.

DELONG, E.F. (1992). Archaea in coastal marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**: 5685-5689.

DeLONG, E. F., PRESTON, C. M., FELDMAN, R. A., WU, K. Y., SWANSON, R. V. (1998). Genomic analysis reveals chromosomal variation in natural populations in the uncultured psychrophilic archaeon *Cenarchaeum symbiosum*. *J. Bacteriol.* **180**: 5003-5009.

DOOLITTLE, W. F. (1999). Phylogenetic classification and the universal tree. *Science* **284** (5423): 2124-9.

DOWER, W. J., MILLER, J. F., RAGSDALE, C. W. (1988). High efficiency transformation of *E. coli* by high voltage electroporation. *Nucl. Acids Res.* **16**: 6127-6145.

- DREPPER, T., GROSS, S., YAKUNIN, A. F., HALLENBECK, P.C., MASEPOHL, B., KLIPP, W.** (2003). Role of GlnB and GlnK in ammonium control of both nitrogenase systems in the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus*. *Microbiology* **149** (8): 2203-12.
- ELVIN, C. M., HARDY, C. M., ROSENBERG, H.** (1985). P_i exchange mediated by the GlpT-dependent *sn*-glycerol-3-phosphate transport system in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **161**: 1054-1058.
- EVANS, G. A., LEWIS, K., ROTHENBERG, B. E.** (1989). High efficiency vectors for cosmid microcloning and genomic analysis. *Gene* **79** (1): 9-20.
- EWING, B., HILLIER, L., WENDL, M. C., GREEN, P.** (1998): Base-calling automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res.* **8**: 175-185.
- FALZ, Z. K., HOLLIGER, C., GROSSKOPF, R., LIESACK, W., NOZHEVNIKOVA, A. N., MULLER, B., WEHRLI, B., HAHN, D.** (1999). Vertical distribution of methanogens in the anoxic sediment of Rotsee (Switzerland). *Appl. Environ. Microbiol.* **65** (6): 2402-8.
- FENCHEL, T., FINLAY, B. J.** (1991). Endosymbiotic methanogenic Bacteria in anaerobic *ciliates*: Significance for the growth efficiency of the host. *J. Protozool.* **38**: 18-22.
- FENCHEL, T., FINLAY, B. J.** (1992). Production of methane and hydrogen by anaerobic ciliates containing symbiotic methanogens. *Arch. Microbiol.* **157**: 475-480.
- FERIS, K. P., RAMSEY, P. W., FRAZAR, C., RILLIG, M. C., GANNON, J. E., HOLBEN, W. E.** (2003). Structure and seasonal dynamics of hyporheic zone microbial communities in free-stone rivers of the western United States. *Microb. Ecol.* **46** (2): 200-15.
- FISHER, R. F., LONG, S. R.** (1992). Rhizobium--plant signal exchange. *Nature* **357** (6380): 655-60.
- FULLER, R. C.** (1978). Photosynthetic Carbon metabolism in green and purple bacteria. IN: CLAYTON, R. K., SISTROM, W. R. (Hrsg.), *The Photosynthetic Bacteria*. Editors Plenum Press, New-York and London.
- FUHRMAN, J. A., MCCALLUM, K., DAVIS, A. A.** (1992). Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature* **356** (6365): 148-9.
- GABRIEL, O.** (1971). Analytical disc gel electrophoresis. *Methods Enzymol.* **22**: 565-578.
- GALIBERT, F., FINAN, T. M., LONG, S. R., PUHLER, A., ABOLA, P., AMPE, F., BARLOY-HUBLER, F., BARNETT, M. J., BECKER, A., BOISTARD, P., BOTHE, G., BOUTRY, M., BOWSER, L., BUHRMESTER, J., CADIEU, E., CAPELA, D., CHAIN, P., COWIE, A., DAVIS, R. W., DREANO, S., Federspiel, N.**

A., FISHER, R. F., GLOUX, S., GODRIE, T., GOFFEAU, A., GOLDING, B., GOUZY, J., GURJAL, M., HERNANDEZ-LUCAS, I., HONG, A., HUIZAR, L., HYMAN, R. W., JONES, T., KAHN, D., KAHN, M. L., KALMAN, S., KEATING, D. H., KISS, E., KOMP, C., LEAURE, V., MASUY, D., PALM, C., PECK, M.C., POHL, T. M., PORTELLE, D., PURNELLE, B., RAMSPERGER, U., SURZYCKI, R., THEBAULT, P., VANDELBOL, M., VORHOLTER, F. J., WEIDNER, S., WELLS, D. H., WONG, K., YEH, K. C., BATUT, J. (2001). The composite genome of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. *Science* **293** (5530): 668-672.

GILLESPIE, D. E., BRADY, S. F., BETTERMANN, A. D., CIANCIOOTTO, N. P., LILES, M. R., RONDON, M. R., CLARDY, J., GOODMAN, R. M., HANDELSMAN, J. (2002). Isolation of antibiotics turbomycin A and B from metagenomic library of soil microbial DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 4301-4306.

GRAY, K. A., RICHARDSON, T. H., ROBERTSON, D. E., SWANSON, P. E., SUBRAMANIAN, M. V. (2003). Soil-based gene discovery: a new technology to accelerate and broaden biocatalytic applications. *Adv. Appl. Microbiol.* **52**: 1-27.

GIOVANNONI, S. J., RAPPE, M. (2000). Evolution, diversity, and molecular ecology of marine prokaryotes.. *In: D. L. KIRCHMAN* (Hrsg.), *Microbial ecology of the oceans*, S. 47-84. Wiley-Liss, Inc., New-York, N.Y.

GIOVANNONI, S. J., BRITSCHGI, T. B., MOYER, C. L., FIELD, K. G. (1990). Genetic diversity in Saragosso Sea bacterioplankton. *Nature* **345**: 60-63.

GLÖCKNER, F. O., ZAICHIKOV, E., BELKOVA, N., DENISSOVA, L., PERNTHALER, J., AMANN, R. (2000): Comparative 16S analysis of lake bacterioplankton reveals globally distributed phylogenetic clusters including an abundant group of actinobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 5053-5365.

GOODWIN, T. W. (1980). The biochemistry of carotenoids, vol. 1. Chapman & Hall, New York, N.Y.

GRANT, S., SOROKIN, D. Y., GRANT, W. D., JONES, B. E., HEAPHY, S. (2004). A phylogenetic analysis of Wadi el Natrun soda lake cellulase enrichment cultures and identification of cellulase genes from these cultures. *Extremophiles*. In Druck.

GRIFFIN, B. W. 1992. Functional and structural relationships among aldose reductase, l-hexonate dehydrogenase (aldehyde reductase), and recently identified homologous proteins. *Enzyme Microb. Technol.* **14**: 690-695.

GRIFFITHS, E., GUPTA, R. S. (2001). The use of signature sequences in different proteins to determine the relative branching order of bacterial divisions: evidence that *Fibrobacter* diverged at a similar time to *Chlamydia* and the *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* division. *Microbiology* **147** (9): 2611-22.

GROSSKOPF, R., JANSSEN, P. H., LIESACK, W. (1998). Diversity and structure of the methanogenic community in anoxic rice paddy soil microcosms as Examined by cultivation and direct 16S rRNA gene sequence retrieval. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 960-969.

GUTKNECHT, R., BEUTLER, R., GARCIA-ALLES, L. F., BAUMANN, U., ERNI, B. (2001). The dihydroxyacetone kinase of *Escherichia coli* utilizes a phosphoprotein instead of ATP as phosphoryl donor. *EMBO J.* **20** (10): 2480-6.

HABLE, W. E., OISHI, K. K., SCHUMAKER, K. S. (1998). Viviparous-5 encodes phytoene desaturase, an enzyme essential for abscisic acid (ABA) accumulation and seed development in maize. *Mol. Gen. Genet.* **257** (2): 167-76.

HANAHAN, D. (1983). Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmid. *J. Mol. Biol.* **166**: 557-580.

HANDELSMANN, J., RONDON, M. R., BRADY, S. F., CLARDY, J., GOODMAN, R. M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem. & Biol.* **5**: 245-249.

HANDELSMAN, J., WACKETT, L. P. (2002). Ecology and industrial microbiology: Microbial diversity - sustaining the Earth and industry. *Curr. Opin. Microbiol.* **5** (3): 237-9.

HEALY, F. G., RAY, R. M., ALDICH, A. C., WILKIE, L. O., INGRAM, L. O., SHANMUGAM, K. T. (1995). Direct isolation of functional genes encoding cellulases from the microbial consortia in thermophilic, anaerobic digester maintained on lignocellulose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**: 667-674.

HEKSTRA, D., TOMMASSEN, J. (1993). Functional exchangeability of the ABC proteins of the periplasmic binding protein-dependent transport systems Ugp and Mal of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **175** (20): 6546-6552.

HILL, J. E., SEIPP, R. P., BETTS, M., HAWKINS, L., VAN KESSEL, A. G., CROSBY, W. L., HEMMINGSEN, S. M. (2002). Extensive profiling of a complex microbial community by high-throughput sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* **68** (6): 3055-66.

HIRSCHBERG, J., CHAMOVITZ, D. (1994) **Carotenoids in Cyanobacteria.** In: **BRYANT, D.** (Hrsg.), *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, 55ff. *Advances in Photosynthesis*, 1. Auflage.

KIM, Y. M., HEGEMAN, G. D. (1983). Oxidation of carbon monoxide by bacteria. *Int. Rev. Cytol.* **81**: 1-32.

HARRIS, J. K., KELLEY, S. T., PACE, N. R. (2003). New perspective on uncultured bacterial phylogenetic division OP11. *Appl. Environ. Microbiol.* **70** (2): 845-9.

HEKSTRA, D., TOMMASSEN, J. (1993). Functional exchangeability of the ABC proteins of the periplasmic binding protein-dependent transport systems Ugp and Mal of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **175** (20): 6546-52.

HELLINGWERF, K. J., CRIELAARD, W., HOFF, W. D., MATTHIJS, H. C. P., MUR, L. R., van ROTTERDAM, B. J. (1994). Photobiology of Bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek.* **65**: 331-349.

- HENNE, A., DANIEL, R., SCHMITZ, R.A., GOTTSCHALK, G.** (1999). Construction of environmental DNA libraries in *Escherichia coli* and screening for the presence of genes conferring utilization of 4-hydroxybutyrate. *Appl. Environm. Microbiol.* **65**: 3901-3907.
- HENNE, A., SCHMITZ, R.A., BÖMEKE, M., GOTTSCHALK, G., DANIEL, R.** (2000). Screening of environmental DNA libraries for the presence of genes conferring lipolytic activity on *Escherichia coli*. *Appl. Environm. Microbiol.* **66**: 3113-3116.
- HIORNS, W. D., METHE, B. A., NIERZWICKI-BAUER, S. A., ZEHR, J. P.** (1997). Bacterial diversity in Adirondack mountain lakes as revealed by 16S rRNA gene sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** (7): 2957-60.
- HIRSCHBERG, J., D. CHAMOVITZ.** (1994). Carotenoids in cyanobacteria. *In*: D. A. Bryant (Hrsg.), *The molecular biology of cyanobacteria*, S. 559-579. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- HOCHULI, E., BANNWARTH, W., DOBELI, H., GENTZ, R., STÜBER, D.** (1988). Genetic approach to facilitate purification of recombinant proteins with a novel metal chelate adsorbent. *Bio. Technology* **6**: 1321-1325.
- HOLMES, D.S., QUIGLEY, M.** (1981). A rapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Anal. Biochem.* **114**: 193-197.
- HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. T., WILLIAMS, S. T.** (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9. Auflage Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- HUGENHOLTZ, P., TYSON, G. W., WEBB, R. I., WAGNER, A. M., BLACKALL, L. L.** (2001). Investigation of candidate division TM7, a recently recognized major lineage of the domain *Bacteria* with no known pure-culture representatives. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 411-419.
- HUGENHOLTZ, P.** (2002). Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biol.* 2002;**3**(2):REVIEWS0003.
- HUGENHOLTZ, P. und HUBER, T.** (2003). Chimeric 16S rDNA sequences of diverse origin are accumulating in the public databases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **53**: 289-293.
- HUGENHOLTZ, P., GOEBEL, B. M., PACE, N. R.** (1998). Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Bacteriol.* **180**: 4765-4774.
- HUGHES, R. K., DOYLE, W. A., CHOVNICK, A., WHITTLE, J. R., BURKE, J. F., BRAY, R. C.** (1992). Use of rosy mutant strains of *Drosophila melanogaster* to probe the structure and function of xanthine dehydrogenase. *Biochem. J.* **285** (2): 507-13.

HUMMEL, W. (1997). New alcohol dehydrogenases for the synthesis of chiral compounds. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **58**: 145-184.

HUMMEL, W. (1999). Large-scale applications of NAD(P)-dependent oxidoreduktases: recent developments. *TIBTECH* **17**: 487-492.

INOUE, H., NOJIMA, H., OKAYAMA, H. (1990). High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene* **96**: 23-28.

ISHIZUKA, H., WAKO, H., KASUMI, T. SASAKI, T. (1989). Breeding of a mutant of *Aureobasidium* sp. with high erythritol production. *J. Ferment. Bioeng.* **68**: 310

ITOH, T., SUZUKI, K.-I., SANCHEZ, P. C., NAKASE, T. (2003). *Caldisaera lagunensis* gen. Nov., sp. nov., anovel thermoacidophilic renarchaeote isolated from a hot spring at Mt. Maquiling, Philippines. *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53** (4): 1149-54.

JENKINS, L.S., NUNN, W.D. (1989). Genetic and molecular characterization of the genes involved in short-chain fatty acid degradation in *Escherichia coli*: the *ato* system. *J. Bacteriol.* **169** (1): 42-52.

JOB, G., VON HAESELER, A., STRIMMER, K. (2004). TREEFINDER: A powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics. *BMC Evolutionary Biology*.

JOHNSON, E.A., BURKE, S.K., FORAGE, R.G., LIN, E.C.C. (1984). Purification and properties of dihydroxyacetone kinase from *Klebsiella pneumoniae*. *J. Bacteriol.* **160**: 55-60.

LEE, J.-K., KIM, S.-Y., RYU, Y.-W., SEO, J.-H., KIM, J.-H. (2003). Purification and Characterization of a Novel Erythrose Reductase from *Candida magnoliae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **69** (7): 3710–3718.

JURGENS, G., GLÖCKNER, F., AMANN, R., SAANO, A., MONTONEN, L., LIKOLAMMI, M., MUNSTER, U. (2000). Identification of novel Archaea in bacterioplankton of a boreal forest lake by phylogenetic analysis and fluorescent in situ hybridization(1). *FEMS Microbiol. Ecol.* **34** (1): 45-56.

KAMINSKI, P. A., BATUT, J., BOISTARD, P. A. (1998). Survey of nitrogen fixation by rhizobia. In: **PAINK, H. P., KONDOROSI, A., HOOYKAAS, P. J. J.** (Hrsg.), *The Rhizobiaceae*, 431-460. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

KANEKO, T., NAKAMURA, Y., SATO, S., ASAMIZU, E., KATO, T., SASAMOTO, S., WATANABE, A., IDESAWA, K., ISHIKAWA, A., KAWASHIMA, K., KIMURA, T., KISHIDA, Y., KIYOKAWA, C., KOHARA, M., MATSUMOTO, M., MATSUNO, A., MOCHIZUKI, Y., NAKAYAMA, S., NAKAZAKI, N., SHIMPO, S., SUGIMOTO, M., TAKEUCHI, C., YAMADA, M., TABATA, S. (2000). Complete genome structure of the nitrogen-fixing symbiotic bacterium *Mesorhizobium loti*. *DNA Res.* **7** (6): 331-338.

- KANG, B. S., KIM, Y. M.** (1999). Cloning and molecular characterization of the genes for carbon monoxide dehydrogenase and localization of molybdopterin, flavin adenine dinucleotide, and iron-sulfur centers in the enzyme of *Hydrogenophaga pseudoflava*. *J. Bacteriol.* **181** (18): 5581-90.
- KARDNER, R. J., WEBBER, C. A., ISLAND, M. D.** (1993). The family of organophosphate transport proteins includes a transmembrane regulatory protein. *J. Bioenerg. Bioembr.* **25**: 637-645.
- KASAHARA, M., MAKINO, K., AMEMURA, M., NAKATA, A.** (1989) Nucleotide sequence of the *ugpQ* gene encoding glycerophosphoryl diester phosphodiesterase of *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acids Res.* **17**: 2854.
- KELLENBERGER, E.** (2001). Exploring the unknown: the silent revolution of microbiology. *EMBO Rep.* **2**: 5-7.
- KIESSLING, M. MEYER, O.** (1982). Profitable oxidation of carbon monoxide and hydrogen during heterotrophic growth of *Pseudomonas carboxydoflava*. *FEMS Microbiol. Lett.* **13**: 333-338.
- KIM, Y. M., HEGEMAN, G. D.** (1983). Oxidation of carbon monoxide by bacteria. *Int. Rev. Cytol.* **81**: 1-32.
- KING, G. M.** (2003). Molecular and culture-based analysis of aerobic carbon monoxide oxidizer diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 7257-7265.
- KLAPPENBACH, J. A., DUNBAR, J. M., SCHMIDT, T. M.** (2000). rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **66** (4): 1328-33.
- KNIETSCH, A., WASCHKOWITZ, T., BOWIEN, S., HENNE, A., DANIEL, R.** (2003b). Identification and characterization of coenzyme B₁₂-dependent glycerol dehydratase- and diol dehydratase-encoding genes from metagenomic DNA libraries derived from enrichment cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 3048-3060.
- KNIETSCH, A., BOWIEN, S., WHITED, G., GOTTSCHALK, G., DANIEL, R.** (2003a). Construction and screening of metagenomic libraries derived from enrichment cultures: Generation of a gene bank for genes conferring alcohol oxidoreductase activity on *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 1408-1416.
- KOLBEL-BOELKE, J., ANDERS, E.-M., NEHRKORN, A.** (1998). Microbial communities in the saturated groundwater environment. II. Diversity of bacterial communities in a Pleistocene sand aquifer and their in vitro activities. *Microb. Ecol.* **16**: 31-48.
- KOLGANOVA, T. V., KUZNETSOV, B. B., TOUROVA, T. T.** (2002). Designing and testing oligonucleotide primers for amplification and sequencing of archaeal 16S rRNA genes. *Microbiology* **71**: 243-246.
- KOH, E. – S., LEE, T. – H., LEE, D. – Y., KIM, H. – J., RYU, Y. – W., SEO, J. – H.** (2003). Scale-up of erythritol production by an osmophilic mutant of *Candida*

magnoliae. Biotechnology Letters **25**: 2103 - 2105.

KRAUT, M., HUGENDIECK, I., HERWIG, S., MEYER, O. (1989). Homology and distribution of CO dehydrogenase structural genes in carboxydotrophic bacteria. Arch. Microbiol. **152** (4): 335-41.

LARSEN, N., OLSEN, G. J., MAIDAK, B. L., McCAUGHEY, M. J., OVERBEEK, R., MACKE, T. J., MARSH, T. L., WOESE, C. R. (1993). The ribosomal database project. Nucleic Acids Res. **21** (13): 3021-3.

LIU, Z., RECHES, M., GROISMAN, I., ENGELBERG-KULKA, H. (1998). The nature of the minimal 'selenocysteine insertion sequence' (SECIS) in *Escherichia coli*. Nucleic Acids Res. **26** (4): 896-902.

LEE, J. – K., KIM, S. – Y., RYU, Y. – W., SEO, J. – H., KIM, H. – J. (2003). Purification and Characterization of a Novel Erythrose Reductase from *Candida magnoliae*. Applied and Environmental Microbiology **69**: 3710-3718.

LEE, J. – K., HONG, K. – W., KIM, S. – Y. (2003). Purification and Properties of a NADPH-Dependent Erythrose Reductase from the Newly Isolated *Torula corallina*. Biotechnol. Prog. **19**: 495-500.

LENGELER, JW., JAHREIS, K., WEHMEIER, UF.. (1994). The nature of the minimal 'selenocysteine insertion sequence' (SECIS) in *Escherichia coli*. Nucleic Acids Res. **26** (4): 896-902.

LICALSI, C., CROCENZI, T. S., FREIRE, E., ROSEMAN, S. (1991). Sugar transport by the bacterial phosphotransferase system. Structural and thermodynamic domains of enzyme I of *Salmonella typhimurium*. J. Biol. Chem. **266**: 19519-19527.

LIESACK, W., BAK, F., KREFT, J. U., STACKEBRANDT, E. (1991). *Holophaga foetida* gen. nov., sp. nov., a new, homoacetogenic bacterium degrading methoxylated aromatic compounds. J. Bacteriol. **174** (15): 5072-8.

LILES, M. R., MANSKE, B. F., BINTRIM, S. B., HANDELSMAN, J., GOODMAN, R. M. (2003). A census of rRNA genes and linked genomic sequences within a soil metagenomic library. Appl. Environ. Microbiol. **69** (5): 2684-91.

LIM, E. L., AMARAL, L. A., CARON, D. A., DeLONG, E. F. (1993). Application of rRNA-based probes for observing marine nanoplanktonic protists. Appl. Environ. Microbiol. **59** (5): 1647-55.

LIN, E. C. C. (1987). Dissimilatory pathways for sugar, polyols, and carboxylates. In Neidhardt, F. C., INGRAHAM, J. L., LOW, K. B., MAGASANIK, E., SCHAECHTER, M., UMBARGER, H. E. (Hrsg.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and molecular biology, S. 244-284. American Society for Microbiology, Washington, D. C..

LORENZ, M. G., WACKERNAGEL, W. (1987). Adsorption of sand and variable degradation rates of adsorbed DNA. Appl. Environ. Microbiol. **53**: 2948-2952.

- LOVLEY, D. R., GIOVANNONI, S. J., WHITE, D. C., CHSMPINE, J. E., PHILLIPS, E. J. P., GORBY, Y. A., GOODWIN, S.** (1993). *Geobacter metallireducens* gen. nov. sp. nov., a microorganism capable of coupling the complete oxidation of organic compounds to the reduction of iron and other metals. Arch. Microbiol. **159**: 336–344.
- LOVLEY, D. R.** (1991). Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction . Microbiol. Rev. **55**: 259-287.
- LOVLEY, D. R., PHILLIPS, E. J. P.** (1986). Competative mechanisms for inhibition of sulfate reduction and methane production in the zone of ferric iron reduction in sediments. Appl. Environ. Microbiol. **51**: 2636-2641.
- LOY, A., LEHNER, A., LEE, N., ADAMCZYK, J., MEIER, H., ERNST, J., SCHLEIFER, K.-H., WAGNER, M.** (2002). Oligonukleotid microarray for 16 S rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing procaryotes in the environment. Appl. Environ. Microbiol. **68**: 5064-5081.
- MAJERNIK, A., GOTTSCHALK, G., DANIEL, R.** (2001). Screening of environmental DNA libraries for the presence of genes conferring Na⁺(Li⁺)/H⁺ antiporter activity on *Escherichia coli*: characterization of the recovered genes and the corresponding gene products. J. Bacteriol. **183**: 6645-6653.
- MAKINO, K., SHINAGAVA, H., AMEMURA, M., KAWAMOTO, M., YAMADA, M., NAKATA, A.** (1989). Signal transduction in the phosphate regulon of *Escherichia coli* involves phosphotransfer between PhoR and PhoB proteins. J. Mol. Biol. **210**: 551-559.
- MAKINO, K., SHINAGAVA, H., AMEMURA, M., KIMURA, S., NAKATA, A., ISHIHAMA, A.** (1988). Regulation of the phosphate regulon of *Escherichia coli*: activation of *pstS* transcription by PhoB protein in vitro. J. Mol. Biol. **203**: 85-95.
- MARGOLIS, J., KENRICK, K.G.** (1967). Polyacrylamide gel electrophoresis across a molecular sieve gradient. Nature **214**: 1334-1336.
- MacGREGOR, B., MOSER, D. P., ALM, E. W., NIELSON, K. H., STAHL, D. A.** (1997). Crenarchaeota in Lake Michigan Sediment. Appl. Environm. Micobiol. **63**: 1178-1181.
- MEYER, O., FRUNZKE, K., MÖRSDORF, G.** (1993). Biochemistry of the aerobic utilization of carbon monoxide. In: **MURELL, J. C., KELLY, D. P.** (Hrsg.): Microbial growth on C₁ compounds, 433-459. Intercept Limited, Andover, Mass.
- MEYERHANS, A., VARTANIAN, J. P., WAIN-HOBSON, S.** (1990). DNA recombination during PCR. Nucleic Acids Res. **18** (7): 1687–1691.
- MÖRSDORF, G., KRAUT, M., SCHÜBEL, U., MEYER, O.** (1992) Genetic aspects of carboxidotrophy. Bioengineering, **2** (92): 75.

- MOONMANGMEE, D., ADACHI, O., SHINAGAWA, E., TOYAMA, H., THEERAGOOL, G., LOTONG, N., MATSUSHITA, K.** (2002) L-erythrulose production by oxidative fermentation is catalyzed by PQQ-containing membrane-bound dehydrogenase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66** (2): 307-18.
- MOERSDORF, G., FRUNZKE, D., GADKARI, K., AND MEYER, O.** (1992). Microbial growth on carbon monoxide. *Biodegradation* **3**: 61
- MÜLLER, B., WEHRLI, B., POWER, M., VAN DER MEER, J. R.** (1997). Structure and activity in microbial communities in sediments. *Chimia.* **51**: 878-883.
- MÜLLER, B., WEHRLI, B.** (1998). Anwendung von chemischen Sensoren in Sediment-Porenwasser. In: VAAM (Hrsg.): Mikrobiologische Charakterisierung aquatischer Sedimente –Methodensammlung-, 1. Auflage. Oldenbourg Verlag, München.
- MUNRO, I. C., BERNDT, W. O., BORZELLECA, J. F., FLAMM, G., LYNCH, B. S., KENNEPOHL, E., BAR, E. A., MODDERMAN, J., BERNT, W. O.** (1998). Erythritol: an interpretive summary of biochemical, metabolic, toxicological and clinical data. *Food Chem. Toxicol.* **36** (12): 1139-74.
- MYLVAGANAM, S., DENNIS, P. P.** (1992). Sequence heterogeneity between the two genes encoding 16S rRNA from the halophilic archaeobacterium *Haloarcula marismortui*. *Genetics* **130** (3): 399-410.
- MUYZER, G., DE WAAL, E.C., UITTERLINDEN, A.G.** (1992). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 695-700.
- NAKATA, A., AMEMURA, M., MAKINO, K., SHINAGAWA, H.** (1987). Genetic and biochemical analysis of the phosphate-specific transport system in *Escherichia coli*. In TORRIANI-GORINI, A., ROTHMAN, F. G., SILVER, S., WRIGHT, A., YAGIL, E. (Hrsg.), *Phosphate metabolism and cellular regulation in microorganisms*, S. 150-155. American Society for microbiology, Washington, D. C..
- NISHIZAWA, H., KITA, N., OKIMURA, S., TAKAO, E., ABE, Y.** (1988). Determination of molecular weight of native proteins by polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Electrophoresis* **9**: 803-806.
- NONOMURA, A. M., BENSON, A. A.** (1992). The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **89** (20): 9794-8.
- OKE, V., LONG, S. R.** (1999): Bacterial genes induced within the nodule during the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Mol. Microbiol.* **32**: 837-849.
- OSBURN, M. S., GROSSMANN, T. H., AUGUST, P. R., MACNEIL, I.** (2000). Tapping into microbial diversity for natural products drug discovery. *ASM News* **66**: 411-417.

O'SULLIVAN, L., WEIGHTMAN, A. J., FRY, J. C. (2002): New degenerate Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides-specific 16S ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probes reveal high bacterial diversity in river taff epilithon. *Appl. Environ. Microbiol.* **68** : 201-210.

OVERDUIN, P., BOOS, W., TOMMASSEN, J. (1988). Nucleotide sequence of the *ugp* genes of *Escherichia coli* K12: homology to the maltose system. *Mol. Microbiol.* **2**: 767-775.

PÅÅBO, S., IRWIN, D. M., WILSON, A. C. (1990). DNA damage promotes jumping between templates during enzymatic amplification. *J. Biol. Chem.* **265** (8): 4718-21.

PACE, N. R., STAHL, D. A., LANE, D. J., OLSEN, G. J. (1986). The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *Adv. Microbiol. Ecol.* **9**: 1-55.

PALMGREN, M. G., LARSSON, C., SOMMARIN, M. (1990). Proteolytic activation of the plant plasma membrane H(+)-ATPase by removal of a terminal segment. *J. Biol. Chem.* **265** (23): 13423-6.

PERETO, J. G., VELASCO, A. M., BECERRA, A., LAZCANO, A. (1999). Biochemistry of CO₂ fixation and the evolution of autotrophy. *Int. Microbiol.* **2** (1): 3-10. Comparative

PEARSON, W. R., LIPMANN, D. J. (1988). Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**: 2444-2448.

PEDERSEN, K., ARLINGER, J., HALLBECK, L., PETTERSSON, C. (1996). Diversity and distribution of subterranean bacteria in groundwater at Oklo in Gabon, Africa, as determined by 16S rRNA gene sequencing. *Mol. Ecol.* **5** (3): 427-36.

PFEIFER, V. F., SOHNS, V. E., CONWAY, H. E., LANCASTER, E. B., DABIC, S., JR., AND GRIFFIN, E. L. (1960). Two -stage process for dialdehyde starch using electrolytic regeneration of periodic acid. *Ind. Eng. Chem.* **52**: 201-205.

PFENNIG, N., LIPPERT, K. D. (1966). Über das Vitamin B₁₂-Bedürfnis phototropher Schwefelbakterien. *Arch. Microbiol.* **55**: 245-256

PFENNING, N. (1978). General Physiology and Ecology of Photosynthetic Bacteria. IN: The Photosynthetic Bacteria. Editors Clayton, R. K., SISTROM, W. R. Plenum Press, New-York and London.

PFENNIG, N., TRÜPER, H. G. (1989) Anoxygenic phototrophic bacteria. In: **STALEY, J. T., BRYANT, M. P., PFENNIG, N., HOLT, J. G.** (Hsrg.): Bergey's manual of systematic bacteriology, S. 1635–1709. 3. Auflage, Williams and Wilkins, Baltimore.

QUAISER A, OCHSENREITER T, KLENK HP, KLETZIN A, TREUSCH AH, MEURER G, ECK J, SENSEN CW, SCHLEPER C. (2002). First insight into the genome of an uncultivated crenarchaeote from soil. *Environ. Microbiol.* **4** (10): 603-11.

RAPPE MS, GIOVANNONI SJ. (2003). The uncultured microbial majority. *Annu. Rev. Microbiol.* **57**: 369-94.

RASKIN, L., RITTMAN, B. E., STAHL, D. A. (1996). Competition and coexistence of sulfate-reducing and methanogenic Populations in anaerobic biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 3847-3857.

RATLEDGE, C. (1993). Biochemistry of microbial degradation. Kluwer, Dordrecht.

RAYMOND, J., ZHAXYBAYEVA, O., GOGARTEN, J. P., GERDES, S. Y., BLANKENSHIP, R. E. (2002). Whole-genome analysis of photosynthetic prokaryotes. *Science* **298** (5598): 1616-20.

REANNEY, D. C., GOWLAND, P. C., SLATER, J. H. (1983). Genetic interactions among microbial communities. In: SLATER, J. H., WHITTENBURY, R., WIMPENNY, J. W. T. (Hrsg.), *Microbes in their natural environment*, S. 379-421. Cambridge University Press, Cambridge.

REID, M. F., FEWSON, C. A. (1994). Molecular characterization of microbial alcohol dehydrogenases. *Crit. Rev. Mikrobiol.* **20**: 13-56.

REYSENBACH, A. L., WICKHAM, G. S., PACE, N. R. (1994). Phylogenetic analysis of the hyperthermophilic pink filament community in Octopus Spring, Yellowstone National Park. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** (6): 2113-9.

RICHARDSON, T. H, TAN, X., FREY, G., CALLEN, W., CABELL, M., LAM, D., MACOMBER, J., SHORT, J. M., ROBERTSON, D. E., MILLER, C. (2002). A novel, high performance enzyme for starch liquefaction. Discovery and optimization of a low pH, thermostable alpha-amylase. *J. Biol. Chem.* **277** (29): 26501-7.

RIESENFELD, C. S., SCHLOSS, P. D., HANDELSMAN, J. (2004). METAGENOMICS: Genomic Analysis of Microbial Communities. *Annu. Rev. Genet.* **38**: 525-52.

ROBILLARD, G. T., Broos, J. (1999). Structure/function studies on the bacterial carbohydrate transporters, enzymes II, of the phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase system. *Biochim. Biophys. Acta.* **1422** (2): 73-104.

RODRIGUEZ-VALERA, F. (2002). Approaches to prokaryotic biodiversity: a population genetics perspective. *Environ. Microbiol.* **4** (11): 628-33.

ROMAO, M.J., ARCHER, M., MOURA, I., MOURA, J.J., LEGALL, J., ENGH, R., SCHNEIDER, M., HUBER, R. (1995). Crystal structure of a xanthine oxidase-related aldehyde-oxidoreductase from *Desulfovibrio gigas*. *Science* **270**: 1170-1176.

RONDON, M.R., AUGUST, P.R., BETTERMANN, A.D., BRADY, S.F., GROSSMAN, T.H., LILES, M.R., LOIACONO, K.A., LYNCH, B.A., MACNEIL, I.A., MINOR, C., TIONG, C.L., GILMAN, M., OSBURNE, M.S., CLARDY, J. HANDELSMAN, J. GOODMAN, R.M. (2000). Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 2541-2547.

- RONDON, M. R., GOODMAN, R. M., HANDELSMAN, J.** (1999). The earth's bounty: assessing and accessing soil microbial diversity. *TIBTECH* **17**: 403-409.
- ROSADO, A. S., DUARTE, G. F., SELDIN, L., VAN ELSAS, J. D.** (1998). Genetic diversity of *nifH* Gene sequences in *Paenibacillus azotofixans* strains and soil samples analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 2770-2779.
- ROSENBERG, A. H., LADE, B. N., CHUI, D.-S., LIN, S.-W., DUNN, J. J., STUDIER, F. W.** (1987): Vectors for selective expression of cloned DNAs by T7 RNA Polymerase. *Gene* **56**: 125-135.
- RUCH, F. E., LENGELER, J., LIN, E. C. C.** (1974). Regulation of glycerol catabolism in *Klebsiella aerogenes*. *J. Bacteriol.* **119**: 50-56.
- ROTHFUSS, F., REMDE, A.** (1998). Methanogenese. In: VAAM (Hrsg.): Mikrobiologische Charakterisierung aquatischer Sedimente –Methodensammlung-, 1. Auflage. Oldenbourg Verlag, München.
- RYU, Y. W., PARK, C. Y., PARK, J. B., KIM, S. Y., SEO, J. H.** (2000). Optimization of erythritol production by *Candida magnoliae* in fedbatch culture
- SAIER, M. H., REIZER, J.** (1992). Proposed Uniform Nomenclature for the Proteins and Protein Domains of the Bacterial Phosphoenolpyruvate: Sugar Phosphotransferase System. *J. Bacteriol.* (**174**): 1433-1438.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E., MANIATIS, T.** (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (2.Aufl.). Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, USA
- SANGER, F., NICKELLEN, S., COULSON, A. R.** (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**: 5463-5467.
- SANTIAGO, B., SCHUBEL, U., EGELSEER, C., MEYER, O.** (1999). Sequence analysis, characterization and CO-specific transcription of the *cox* gene cluster on the megaplasmid pHCG3 of *Oligotropha carboxidovorans*. *Gene* **236** (1): 115-24.
- SCHAGGER, H., VON JAGOW, G.** (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal. Biochem.* **166** (2): 368-79.
- SCHLEPER, C., HOLBEN, W., KLENK, H.-P.** (1997). Recovery of crenarchaeotal ribosomal DNA sequences from freshwater-lake sediments. *Appl. Environm. Micobiol.* **63**: 321-323..
- SCHLEPER, C., SWANSON, R. V., MATHUR, E. J., DELONG, E. F.** (1997). Characterization of a DNA from the uncultivated psychrophilic archeon *Cenarchaeum symbiosum*. *J. Bacteriol.* **179**: 7803-7811.

SCHMEISSER, C., STÖCKIGT, C., RAASCH, C., WINGENDER, J., TIMMIS, K. N., WENDEROTH, D. F., FLEMMING, H. C., LIESEGANG, H., SCHMITZ R. A., JAEGER, K. E., STREIT, W. R. (2003). Metagenome survey of biofilms in drinking-water networks. *Appl. Environ. Microbiol.* **69** (12): 7298-309.

SCHULZ, S., CONRAD, C. (1996). Influence of temperature on pathways to methane production in the permanently cold profundal sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* **20**: 1-14.

SCHURMANN, M., SPRENGER, G. A. (2001). Fructose-6-phosphate aldolase is a novel class I aldolase from *Escherichia coli* and is related to a novel group of bacterial transaldolases. *J. Biol. Chem.* **276** (14): 11055-61.

SCHWEIZER, H., ARGAST, M., BOOS, W. (1982). Characteristics of a binding protein-depending transport system for sn-glycerol-3-phosphate in *Escherichia coli* that is part of the *pho* regulon. *J. Bacteriol.* **150**: 1154-1163.

SEKIGUCHI, H., WATANABE, M., NAKAHARA, T., XU, B. (2002): Succession of bacterial community structure along the Changjiang River determined by denaturing gradient gel electrophoresis and clone library analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* **68** : 5142 - 5150.

SEMRAU, J. D., CHISTOSERDOV, A., LEBRON, J., COSTELLO, A., DAVAGNINO, J., KENNA, E., HOLMES, A. J., FINCH, R., MURRELL, J. C., LIDSTROM, M. E. (1995). Particulate methane monooxygenase genes in methanotrophs. *J. Bacteriol.* **177** (11): 3071-9.

SEOW, K.-T., MEURER, G., GERLITZ, M., WENDT-PIENKOWSKY, E., HUTCHINSON, C. R., DAVIES, J. (1997). A study of iterative type II polyketide synthases, using bacterial genes cloned from soil DNA: a means to access and use genes from uncultured microorganisms. *J. Bacteriol.* **179**: 7360-7368.

SHUMAN, S. (1991). Site-specific interaction of vaccinia virus DNA topoisomerase I with duplex DNA: minimal DNA substrate for strand cleavage *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **266**: 11372–11379.

SHUMAN, S. 1994. Novel approach to molecular cloning and polynucleotide synthesis using vaccinia DNA topoisomerase. *J. Biol. Chem.* **265** (51): 32678–32684.

SIEBOLD, C., GARCIA-ALLES, L. F., ERNI, B., BAUMANN, U. A.) (2003). Mechanism of covalent substrate binding in the x-ray structure of subunit K of the *Escherichia coli* dihydroxyacetone kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **100** (14): 8188-92..

SPERRY, J. F., ROBERTSON, D. C. (1974). Erythritol Catabolism by *Brucella abortus*. *J. Bacteriol.* **121**: 619-630.

SPRENGER, G. A., HAMMER, B. A., JOHNSON, E. A., LIN, E. C. C. (1989). Anaerobic growth of *Escherichia coli* on glycerol by importing genes of the *dha* regulon from *Klebsiella pneumoniae*. *J. Gen. Microbiol.* **135**: 1255-1262.

- STACKEBRANDT, E., STAHL, D. A., DEVEREUX, R.** (1995). Taxonomic relationships. In L.L. Barton (Hrsg.), *Sulfate-reducing bacteria*, S. 49-87. Plenum Press, New-York, N. Y..
- STADEN, R., BEAL, K. F., BONFIELD, J. K.** (2000): The Staden package, 1998. *Methods Mol. Biol.* **132**: 115-130.
- STANIER, R. Y., COHEN-BAZIRE, G.** (1977). *Phototrophic prokaryotes*. The cyanobacteria. *Annual Reviews of Microbiology* **31**: 225–274
- STREIT, W. R., DANIEL, R., JAEGER, K. E.** (2004). Prospecting for biocatalysts and drugs in the genomes of non-cultured microorganisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* **15** (4): 285-90.
- STUDIER, F.W., MOFFAT, B. A.** (1986). Use of bacteriophage T/ RNA polymerase to selective high-level expression of cloned genes. *J. Mol. Biol.* **189**: 113-130.
- STUDIER, F. W., ROSENBERG, A. H., DUNN, J. J., DUBENDORFF, J. W.** (1990). Use of T7 RNA polymerase to direct expression of cloned genes. *Meth. Enzymol.* **185**: 60-89.
- SUN, J., VAN DEN HEUVEL, J., SOUCAILLE, P., QU, Y., ZENG, A. P.** (2003). Comparative genomic analysis of *dha* regulon and related genes for anaerobic glycerol metabolism in bacteria. *Biotechnol. Progr.* **19** (2):263–272.
- SUZUKI, M. T., GIOVANNONI, S. J.** (1996). Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **62** (2): 625-30.
- TEBBE, C. C., VAHJEN, W.** (1993). Interference of Humic Acids and DNA Extracted Directly from Soil in Detection and Transformation of Recombinant DNA from Bacteria and Yeast. *Appl. Environm. Micorbiol.* **59**: 2657-2665.
- TYSON, G. W., CHAPMAN, J., HUGENHOLTZ, P., ALLEN, E. E., RAM, R. J., RICHARDSON, P. M., SOLOVYEV, V. V., RUBIN, E. M., ROKHSAR, D. S., BANFIELD, J. F.** (2004). Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature* **428**: 37-43.
- VANDAMME, P. , POT, B., GILLIS, M., DE VOS, P., KERSTERS, K., SWINGS, J.** (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews* **60** (2): 407–438.
- VEIGA-DA-CUNHA, M., FIRME, P., SAN ROMÃO, M. V., SANTOS, H.** (1992). Application of ¹³C nuclear magnetic resonance to elucidate the unexpected biosynthesis of erythritol by *Leuconostoc oenos*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 2271-2279.
- VEIGA-da CUNHA, M., SANTOS, H., VAN SCHAFTINGEN, E.** (1993). Pathway and regulation of erythritol formation in *Leuconostoc oenos*. *J Bacteriol.* **175** (13): 3941-8.

- VENTER, J. C., REMINGTON, K., HEIDELBERG, J. F., HALPERN, A. L., RUSCH, D., EISEN, J.A., WU, D., PAULSEN, I., NELSON, K. E., NELSON, W., FOUTS, D. E., LEVY, S., KNAP, A. H., LOMAS, M. W., NEALSON, K., WHITE, O., PETERSON, J., HOFFMANN, J., PARSON, R., BADEN-TILLSON, H., PFANNKUCH, C., ROGERS, Y.-H., SMITH, H. O.** (2004). Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* **304**: 66-74.
- VIEIRA, J., MESSING, J.** (1982). The pUC plasmids, a M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene* **19**: 259-268.
- WARD, D. M., WELLER, R., BATESON, M. M.** (1990). 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* **345**: 63-65.
- WANG, G. C., WANG, Y.** (1996). The frequency of chimeric molecules as a consequence of PCR co- amplification of 16S rRNA genes from different bacterial species. *Microbiology* (**142**): 1107-1114.
- WANG, Y., ZHANG, Z., RAMANAN, N.** (1997). The actinomycete *Thermobispora bispora* contains two distinct types of transcriptionally active 16S rRNA genes. *J. Bacteriol.* **179** (10): 3270-6.
- WARD, N., RAINEY, F. A., STACKEBRANDT, E., SCHLESNER, H.** (1995). Unraveling the extent of diversity within the order Planctomycetales. *Appl Environ Microbiol.* **61** (6): 2270-5.
- WATERMAN, M. S.** (1984): Efficient sequence alignment algorithms. *J. Theor. Biol.* **108**: 333-337.
- WEISBURG, W. G., BARNS, S. M., PELLETIER, D. A., LANE, D. J.** (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* **173** (2): 697-703.
- WELLINGTON, E. M. H. BERRY, A., KRSEK, M.** (2003). Resolving functional diversity in relation to microbial community structure in soil.. *Curr. Opin. Microbiol.* **6**: 295-301.
- WENZEL, R. HERRMANN, R.,** (1996): Cosmid cloning with small genomes. In BIRREN, B., LAI, E. (Hrsg.). *Nonmammalian genomic analysis: a practical guide.* Academic Press Inc.
- WHITE, D. C., SUTTON, S. D., RINGELBERG, D. B.** (1996). The genus *Sphingomonas*: physiology and ecology. *Curr. Opin. Biotechnol.* **7** (3): 301-6.
- WILSON, E. O.** (1992). In: *The diversity of life*, S. 131-162: W.W. Norton & Co. New York, USA.

- WINTZINGERODE v., F., GÖBEL, U. B., STACKEBRANDT, E.** (1997). Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol. Let.* **21**: 213-229.
- WISE, M. G., MCARTHUR, J. V., SHIMKETS, L. J.** (1997). Bacterial diversity of a Carolina Bay as determined by 16S rRNA gene analysis: confirmation of novel taxa. *Appl. Environm. Microbiol.* **63**: 1505-1514.
- WOESE, C.R.** (1987). Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* **51**: 221-271.
- WOLIN, E. A., WOLFE, R. S., WOLIN, M. J.** (1964). Virologen dye inhibition of methane formation by *Methanobacterium omelanskii*. *J. Bacteriol.* **87**: 993-998.
- XAVIER, K. B., KOSSMANN, M., SANTOS, H., BOOS, W.** (1995). Kinetic analysis by in vivo ³¹P nuclear magnetic resonance of internal P_i during the uptake of *sn*-glycerol-3-phosphate by the *pho* regulon dependent Ugp system and *glp* regulon-dependent GlpT system. *J. Bacteriol.* **177**: 699-704.
- XIONG, J., FISCHER, W. M., INOUE, K., NAKAHARA, M., BAUER, C. E.** (2000). Molecular evidence for the early evolution of photosynthesis. *Science* **289**:1724-1730.
- YANG, S. - W., PARK, J. - B., HAN, N. M., RYU, Y. – W., SEO, J. – H.** (1999). Production of erythritol from glucose by an osmophilic mutant of *Candida magnoliae*. *Biotechnology Letters* **21**: 887-890.
- YIP, T.-T., NAKAGAWA, Y., PORTATH, J.** (1989). Evaluation of the interaction of peptides with Cu(II), Ni(II), and Zi(II) by high-performance immobilized metal ion affinity chromatography. *Anal. Biochem.* **183**: 159-171.
- ZHOU, J., BURNS, M. A., TIEDJE, J. M.** (1996). DNA Recovery from soils of diverse composition. *Appl. Environm. Microbiol.* **62**: 316-322.
- ZUNFT, W. G.** (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **61** (4): 533-616.
- ZWART, G., HIORNS, W. D., METHE, B. A., VAN AGTERVELD, M. P., HUISMANS, R., NOLD, S. C., ZEHR, J. P., LAANBROEK, H. J.** (1998). Nearly identical 16S rRNA sequences recovered from lakes in North America and Europe indicate the existence of clades of globally distributed freshwater bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* **21** (4): 546-56.
- ZWIRGLMAIER, K., LUDWIG, W., SCHLEIFER, K. -H.** (2004). Recognition of individual genes in a single bacterial cell by fluorescence in situ hybridization – RING-FISH. *Mol. Microbiol.* **51** (1): 89-96.

7 Anhang

7.1 Das Cosmid slc_1a

7.1.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
101	Potentieller Kationen-Protonen-Antiporter	39	1229	+
102	Potentielle β -Galaktosidase	1260	4658	+
103	Potentielle β -Galaktosidase I	4877	5749	+
104	Potentielle N-acyl-D-glukosamin 2-Epimerase	5861	7132	+
105	Potentielles α -L-Fucosidase-Vorläuferprotein	7508	8866	+
106	Hypothetisches Protein	8856	9071	-
107	Potentielles Transkriptions-Terminations-Faktor NusB	9106	9957	-
108	Potentielle 6,7-Dimethyl-8-ribityllumazin-Synthase (EC 2.5.1.9) (DMRL-Synthase)	9989	10699	-
109	Riboflavin-Biosynthese-Protein ribA [mit: GTP-Cyclohydrolase II (EC 3.5.4.25); 3,4-Dihydroxy-2-butanon-4-phosphate Synthase (DHBP-Synthase)]	10700	11749	-
110	Eisenabhängiger Repressor, Metallbinde- und Dimerisationsdomäne und N-terminale DNA-Bindedomäne	11980	12642	-
111	Konserviert Protein	13028	13768	+
112	“Outer membrane“-Efflux-Protein, potientiell “drug“-Efflux-Lipoprotein	13884	15188	+
113	Potentielle L-Asparaginase, periplasmisches Vorläuferprotein (EC 3.5.1.1)	15288	16259	+
114	Hypothetisches Protein	16338	16598	-
115	Poteintielle Glyoxalase/Bleomycin-Resistenz-Protein/Dioxygenase-Superfamilie	16683	17294	-
116	Hypothetisches Protein	17457	17666	+
117	Cystein-Synthase (EC 4.2.99.8),	17667	18653	-
118	COG1526: Uncharakterisiertes Protein, das für die Formiat-Dehydrogenase-Aktivität gebraucht wird	18666	19352	-
119	Protein mit Ähnlichkeit zur γ -Untereinheit der Sarcosin-Oxidase	19560	20171	-
120	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit (EC1.5.3.1)	20164	22062	-
121	Sarcosin-Oxidase, α -Untereinheit (EC1.5.3.1)	22008	23138	-
122	Sarcosin-Oxidase, δ -Untereinheit (EC1.5.3.1)	23135	23287	-
123	Sarcosin-Oxidase, β -Untereinheit (EC1.5.3.1)	23420	24676	-
124	Alkyldihydroxyacetonephosphat-Synthase (EC 2.5.1.26)	24681	26081	-
125	Zucker-Kinase	26205	27602	-
126	Potentielle 2-Deoxy-D-gluconat-3-Dehydrogenase (EC 1.1.1.125)	27609	27977	-
127	Potentielle 2-Deoxy-D-gluconat-3-Dehydrogenase (EC 1.1.1.125)	27712	28380	-
128	Glycin- β in-Bindeprotein und Permease (ABC-ransporter)	28588	30444	+
129	Glycin-Betain/L-Prolin-Transport ATP-Bindeprotein proV	30441	31643	+

GCACGATTAACCCCTCACTAAAGGGATCGGCCAACCGCAGGTGGTTCGCGCAGATGATCGCCGGGGTCTGCTGGGCCCTCTCTGTTGGG
GGCCCTCTGGCGCCGAATCGGCGAATCTCATCTTCACCCAGGAATCGCGCGGCATCTCTACACCGGCTCCCAACTCGGGGTGGGGCTC
TACATGTTCTGCTGCTCGGCTCGAATTCAAACCCGCGCACTTCGCTCGCGCGCCGAGCGCGGCTGCTCTGATCGCGGCATGG
CCGTGCCCTTCTGCTCTGGCGCCATCTCTGTTTGGCTTCCAACACGTCGCGGCATCTTCAGCCCGAGTGCCTACTTTCGAGG
CGCGTGTTCCTCGGCGCGGCCATCGCGATCACCGCTTTCCCATGCTCGCCCGGATCATTTCCGAACGCGGACTCTCCGGCACTCCG
CTTGGCACCCTTTCGCTTGGCAGCCGCGCGATCGACGACGCGCCGCTGTGTGCTGCTCGCCGTGTGCTGGCCACCTTCGCGCGCT
CCCCAACCGGTGGAGATCGCCGGCATGTTTTCGCGCGCATGGCCGAGCGCCGTGGCGAGGTCTCCCCAACCTGTGATGCGGTGGTGTCTC
GCTTGTCTTGCCTCGCCGCTGGTATCACCGACATATCGCGCTGATCGCTGTTTCGGCGGGTACCTCTCGGCATGCCATGCCG
GAGGGGTCTTCGCCGAGGACATCCGGCGGAAAATCGAACCCCTTCGCCATCGTCTTCTGCTGCCGATGTTCTTACCTTCTCCGGCCT
CAACACCAAACTCGACGTGCTGGTGAGCCCGGGTGTATGCTCGCGGGTGTGTCTACTCTTGGCAGCTTCTCTGCTAGGCAAGGGCGT
GCTTGTGGCGCCGACGACATCAACGGCGAGGACAACGCCACCTTCCATGGCCGTTCGGCAGCTGTGAACGCGCGCGGCTGATGG
AACTACATCATCAACATCGGCTCTCAGCGCGGCATCATCGCGAGGCCTTGTTTTGATCCTCTGTCATCATGGCCATCGTACAC
CCTGATGGCCACGCCGATTTTCGAGTGGGTCTATGGCCGCAAGGCCCGCGCGGCCGGCACGCTCGGCGAAGGACACATCGATGGCTGA
CAGGACCCGATCTCCCCATAAACCCGAGCCGTGCGCGAGTTCCGAATCATCGCCGCCCGCTCTGTTTGGTCTCTCCGCAACGACAG
TGCCCTTCCGCGCGGTGTGCAATACGCCGGTGAATTCGCCCATTCGCCCATTTGGTTGGCGAGAGCGAGCGTCCGTTCCGCGACGC
CGTCCCGCTGAATGGCTCTGCGAGTTTCCAGCCCGAGCGCTTCCGCGAGGTATCGCCCGGACAGGGCAGCGCGCGGATGAAC
CCGCGCAGCCGCGCGCATGGGAGAGAACTCCAATCAAGATCCCATCACCGTGGAAAGTGAACCTGGGGTTCGGGACGCCACACCG
GTGAGGACACCGCCAAGCCGATTGGCCGGATCGGCTCTTCTCCCGAGTATCCGGAATCTCTGGGACGATGTGAAGATGGGCTGGTT
GCGGCGCAGCTTCTGCTGCTCCCGCATCATGGCAGGCGCCGCGCATCATCTCCACTTCGAGGCGGTTCGCCGGGATGGCATGTGTG
GTCAATGGACGGGCGCGGCACCCATTTCGACAAATACCTGCCCTTCGATCTCGATGTACCGCACTCTGCTCGCCGGGCAATGACC
ACGAACCTCTGGTTCGGCTGCGCTCGCAGAGTTGTTCAACAAGCGCAGCACCACTTCCCGAAGATGGTCGCACCCATATCCATGCGG
CTCGACCACTCCCACTCGCGGAATCTGGCAGGAGCTCAGCATCCGGGCACTGCCGCCGCGACATCGCGAGGTGTTCTGTCAA
CCACAGGTCAAGGCGGACACGCTCGGCATCGAGTGGTTGTAGAAACGACGATCCGCAACCCCGACTCTGGGCTCTCGCGCCATGG
TCGCCCTCGGTCAACCGCGCGGTTTCGATCCGCGCACGCGCCGGTCCCGCGGGCGGATACGCGGCCACGGTGTGCGGATTC
GGCGGTGGATCTCACGGTCGCGCGCGGTCAATTCGCGCGGATCGGGCTAACGGTCCCGTGAATGGCGCGCTCAAGACCTGGGCGCC
GGCGCACCGAACCCTCATTGGCGTCGATGTCTGCTTGAACCTCGCGCGGACGACGCTCGACGCTTCCACCACCCGCTTCGGTTGGCGG
AGTTTCGAGATCCGGGGCAGGACCTGCTTCAACCGCAACAAGATCCAGTCCACCGGCACTGCTGTCATCCGTTAGCCCGCTCAT
CATGTCCCGCGCGCATGCTGGGATGGTACAAGCTCATCAGGACTTCGCGCGGAAACGCGCGGACCCCATGCCAGATCCATCCC
GCCCATACCTCGATCTCGCGCATGAAATGGACATCTGTTGTCTCGATGAAACCGGCATCTTCGCGACGCTCAATCGCCCTCAAACTCG
AGGAACGAGCGCCTGGGCACGCTTTGAAGATCACTTCGACGECCTGTGCTGCGGGATCGCAACCACCCAGCGTGTCTGCTTGGAG
CTTCGCGAATGAACCTGTTTCGCGATCTTCGACCTCAACAACGTGCCCGCGACAGGCGCGCGCGTGTGATCGCAGGCTGACCGAACTC
GGGCTCGGTGCCCGCGGCTCGATCCACCCGCGAGTGGATCTCTCGCAGCGCGCAGGAGATCTCGCGCGACGCTGCCGCTGTGGA
GCAAACTCTCGGCACCGGCCGACGCAAGCGCGCTGCCGCTCTCGACAAGCGCTCATGTTGCGGAGTTCGGGCGGAACCTACTA
TGCCCGCCGCTCCAGTTGGCGGAGTTCAACGGCCGCGCGCCTACGAAGACTACCACGGCCGACGAGGCGCTCGCCATCGACGCC
TACGACAACATCTGTAATATGGCAGCCCGCACTCGCCTACTTCTCCGCGACGAAACCGCTGTTTCGGCGTCGAGCACTCAATT
TCGNTACCGGATTTTCCCGGCTCGGACATGCGCGAGCGGCTCCACTTACC CGCCCTGNCGGGAGGGTGACACCCGNNTGCN
GATCGAACGATNCCCCCTACGTGGACACCTCAATCCGGCTGGGATCGCAGCTTCACTCTATCAGCAATGGCGATGTTGAG
GCGGTGAAGCGCTCTAGCGATTCTGCTCCCGCGTGTGCCGTGGAGCAGCGGGCCACCCCGCGGATCCGACGCCCGCGCGG
TCGAAGCCACCACTACCTCCATCGCTCTCGTGGCGACGGGCGGGCGGCTCGCCCGCGCGCTCTTGACATCGGCTGCCCGTCCG
CGGGGGCTCCACTATTCTCCATCATGACCACAGAGTGGCCGCTCCCGCGGATCGGACGCGGCTGACCGCTCAATCTCTC
GGCGCGTGGCCATGCTCATGCTCGCGAGGGTGACCAGCGCGGTCTCCCGCGGTTCTCGTCTAACAGATCGCCCGGCCACCGCG
TCGTCCCGACCCCGGCCACCCGTGGACCTCGGCATTCCGCTGCCCGACCTCTACTTCGCCGAGGACGGCCGCTGCGTTTCATCAT
CGCTTTCGGCATGTTGGCGGTGATCTTCCCGGATTCCAAAGTCTCTCTCCGCGCAGCGACCAAGATGTTGCTGCTCTTCAACGATGT
CCGGAATTTCGCAATGTCGCGCGCTGTGCTCCATGAGAAGATGAAGAACCCGCGGAGCCCGCTCATCGAAATTCCTGGGGCA
GGGATCCCTGGTCTGCTCAGCCTCGACTATCATCGGTTCTCCACCGCCGATGCGATGTGGCGCACCTCTTCCACCGCGCGG
CATCAAGCTGGAACCTCGCCGGGACACCGGACCCCGCATTCGACGCGCCAGGGTGTCTCTGTCATGCCCTTGGCGCGGACGTTT
GCCCGCCCGATCTGCAAAACCGCATTCGACACCGATCGACCGGTGAAGCGCGGCTCGCCCGGATTCGGAAGCGCGCGGACGGA
TCGTCTGGAACCTGACACGAGCCCGCGCGACCGGTTCCAGTTGGACGCGCTTGGATGGCCCGCAGACCGCGCTTCCGCTCGC
CACTGTTTCACTTCTGATCAGGAGCCCGCGCATTTGACGACATCTTAACCGCGGACCGGACCGCCACGCTTACCATGCGC
TGCTACATCTCGGATGACTGCCGGTGTTCCTCAACGGCAATCCGGTGGCGGCGCGCGGACCGAGGACGCGGATTACCGCAAGCTCA
TCACCTTCGACCCGCTGCTGCTGACAGAAAGTTGGAACCGGTTCTCTGATCAAGGTGTCGCGGCGCATCTGCTGCGCGGTGAACAAACCGG
CACCTTCGCGCGTGGCATCTCTCTCAACCGNCCGAATTCCTGCGCAGTTGGACTCCGCGACCGAAGGATGCCAGTGGCAGTACCC
CGGCCCGGGGAAATCCCGNGCTCGAAAGTATGCANANCNCCGCGACGTTTTCACGCTCAGAAACGACGACNCCNGGACCTAA

CATACNAACAGCCATGATCCACCGNCTCCTGCCCGCCGCGCTGATCGGCNCCGNCTGCCCCGCCACGTTTCGCCCGCCGACGGGAACACC
ACCGTCTGTCTGTCNCTTCCGCGGCAACGGGGAGGCGCGCGTGTCTCTCGCCGCCAGCGACGACGGGCACAAGTTCCGCGCCCTCAACG
ACGACAACGCGCGTCTTCGCCCCCGCGAAGTGGCCCCGATCAGTGCCTGAAATCCCGCGACCCCGTGCATCCTCTTTACACGACGGCACCTTCCA
CATGGTCTGGACCAAGTAATGGAAGGGCGGGGTCTTCGGCTACGCCCCACTCGCCCGACCTGGTTCGATTGGTCCGAGCCGGTGATGTC
GAGCCGTTCCTCGCATGTCGTGCCCGGGGAGGACCAACCGCTCAACGTCTGGGCCTCGGAAATCCACCGCGACCCGCTGCACAATGATT
TCTCTATCCTGTTCTCGGCGACCAACCCGCGGGAACTCGACGACGGCGACAGCAAGATCGCCACCGGCTCGACCAACCGCACCTATGT
CGTCCGACGCCCCGATGCGAGGTGCTTTTCCCCCGCCAGGCTGTCTTTGATCCGGGCTTCAGCTGATCGACCCGGTGCTCCAGCCG
GACCCCGGCAACAAACGCTGGGTGATGGTGCTCAAACATGAACCTCGATCCCGCAGACGGCGGCAAGAACCTGCGGCTGGCATTTCGCAC
CGCCGACCTTGAGCAGGATTTTCTCCCAAGTTCACCAAGCTCTCCGGGCCGATCCTCGGCCCGGCTCACCGCTCCGCCCGCAGCA
CGAGGTGCAAGGCCCCAGCCTGTTCCGCCCGCAGCGCCGCTGGTTCTCTACTGCGATGCGTTTACCAGCCACCTTACACCCCTCATC
ACCTCCGCGCGACCTAACCAACCTGGCAGGACGAAACCGGACCAACCTGCAACATGCGCGGCGGGCTCCGCCACGGCACCGTCTCACCGCC
CGCGCGACAAGGTGCGGCTGGCTCAAGAAGTGACACTGTTCTTGCCACCCGCCACCCGCCATTTCGCTACTCACCGTGATGTTACGTT
CCCCCTCTCCGTGCTGCCGACGTGCTGCCATCGCCTGCTGTCTCGCCCTGCCCATGACCCGATGCCCTGCGCACATTCCGCGGAG
CTGGCCGACCGAGCCCGCCCTGCCGGAATCTCGTCGCCGCAAGTCTCTCCCTTACTGGTACGACACCCATCGACCGCAACACG
GCGCTAACCTGCTGCTGCGACGACGCGGTGAAAGGCGCTCTCCGCGCTGACGAAAAGCAACTTGTCTACAGGCGGAATCTCCGCGG
CTTCTCGCTGGCCACCGCAAGGATTGACGACGCGGAAACGCAACTACCTCGACGCGCGCGCCACCGCGCGCTTCTCGCGGAG
CGGATGACGACCCGCAACACGCGGGTATTTCTGGAGCGTCGGGATCGACGGCAACTGCGCGACCCGCAACAGCGCCTTACGCGG
AGGCAATTCGTATCTACGCACTGGTCGAGTTCCACCGGGCGGGCGGGGACGCGAGCCTCTCGACGACGCCCTGACGCTCCACCGCA
GATCCCAACGACACCCACGACGCGCAACACGCGGCTGCTCCGCGCTGACCTCTTCAAACACCTCGACACACCTGCTCCGCGGACCTT
AACGGCCTGGTCGAGGTGCGCGGATACAAGAGCGCAACACCCACCTGCACCTGATGGAGGCGCTCACCGAACTCCACTCCGAGACCA
GGGACCCCGCGCTCAAGGAATCGCTGTTGGAGGCACTGGAACCTAACCGCAGGTACTTCTACCCCGCGACCCGCTCAAGTCCGCGCT
CCATTTCTGCGCGACTGGTCGCCCTGACCGACCCACGAGCGCGGCTGAGCTACGGGCACAATATCGAGTTTCGCTGGCTGGTGATG
ATCCGCTACCTGCTGCTCGGCTGCCCGCTGCTGCGCTGCTCTTCAAACACCTCGACACACCTGCTCCGCGGACCTGCTCCGCGGACCG
ACCAGCGCGGGCGCATCTACGAACGGGGTGCCGCAACGATCCCGCGCAGCAGACCGCAAGGTCTGGTGGGTGACGGCCGAGGGGCT
TGCGGCCCTAACCGATGCGCTGTGCCGCTCGCCGCTCAAGGACCTGGCCGGCGAGGCCGCGCAGCAAGGCCCGCGCCCCCTACCTGCTA
GCCCTGCGCGAGTTGCTCACCTTACCGACACCCACATGAGCGACCCGAAGACCGGCGTGTGGATCGACACCGCTGACTGCGCAGCGCA
CCCCAACGGGCGCGGCTCGCCCACTCATGGAAGGCACTACCCAGCACTGCGCGCCTTCTGAACTCATGAGGCTTTCGCGCA
GGAGTGATCCCCCGCGGGCTCCAGGTCAAAAATCGCCATGCTATGGTCAACTTTGGCCATTACGCGCGCGTGGCGACCGGCCATGA
TCAACAACGCTGCGGACGTTGACCCGATCCGGCACCAGCGCGCAACCCGCTCTCCGCCGCGATCACCGCATCCCGGTACCCAGA
TCTATCATGAAATCAAGCCCCGACCCGCCATCGCCGCCACGCTTCTCATCGTGGCCGCCACCAACCTGTCCGCCGCCGAAACCCGCCA
GCTCGCCATCGCCGACGGGCGTTCAAGCGGACGACGAATCGTTCAAGCAATACCAAGTACCCGACTGGTTCCGTGACCGCAAGTT
GGCATCTGGTCGCACTGGGGCGCGAGGCCGTGCCGCGCAGGGCGACTGGTATGCCCGCAACTCTACGAACACGACGGCATCGACC
GCAAGACCGGCAAGCCAAAGCGGGCAGAACCCCGCAACAAACACCACTCGAACACTACGGCCACCCGCTCAAGTTTCGGCTACAAGGA
CATCATCCCGCTGTGGAAGGCGGAACGGTGGGATCCCGATCAGCTCATGTCGCCGCTACAAGAAGCGCGCGCAAAATACCTTCGTGAGC
ATGGGACCCACCATGACAACCTTCTCTCTGGGACTGGAAGTCAACCCGCTGGAACGCGGTGAAATGGGGCTTAACACGACGTCG
TCGGGCTGTGGCAGAAAGCGCGCCGCAAGGAGGGGTGCGCTTTCGGGGTCTCGAGCACCTCGCGCGCAGCTACACATGGTTCCAGAC
CAGCCACCGCGCGACACCAACCGGGCGATGGCCGGCGTCCCCTACGACGGCAACGACCCGAGTTTCGAGGACCTTATACGGCAAG
GCGCGCGCGGACGCAACCGGTGGCTGACCAACAACCCCGTGTGGCAACGCGAGTGGTTTCGATTCCATCAAGGAGCTGATCGACGCCCT
ATCAGCCGCTCTCTCTACTTCGACAGCCCGTCCCTTTCGGGACGCTCGGCCGACCATTCGAGGCTTCTACAACAGGACAT
TGCCCGCAATGGCGGCAAGCTCGAGGCGGTTTACAACCTGCAAGCAGGAATCCCGGGCAATGGGTGCGCGACATCGAACCGCGCGTG
GCGGAGGGCATCAGCCCCGAGCATGGCAGACCGACACCTCGATCGCGGACTGGTATTACCGCACCGGGCAGAAATACAAGAGTGGCG
GGGAGATCGTCCAGATGCTGGCGGACATCGTCAGCAAGAAATGGCAACCTGCTCATCAACATCGTGCAGACCCCGGAGGGGACCTGGA
GAGCAGATGCTCAAAACCTGGACGAGATCGCGCCTGGATCGCCATCAACGGCGAGGGGATCTACAGCACCCGCCCTGGCGGCAAG
TAGCGGATGGGCGCCAGCACCCGACAGGAAGAGGGCGCTTTCGGTGGCTTGAAGGATGTCCCGACAGGGGATACACCCAGCAAG
ACTTCCGCTTACCACTTCAAGGACGGCAAGACGCTCTACGCGGTGATGCTCGGCTGGCCGGCGGACCCCGGTGACGATCAAGTC
GCTCGCCGACGGTGAAGAGCCCGCGCGGATCGGATCGGTGACCATGTTAGGATGCCCGCAAGATCGAGTGGACCCGCGACGACAGAC
GGCCTCAAGCTGACGCCCGCCGGAAGAAACCGTGCGATCACGCTTCTGTTTCAAGATCACGAGTACGGCGCCCGCGGGGGGGCG
GATCTCCAGGATGGCGAGGCGCAGGATCGAGCATCGACCGGTGATGCGCTGCAATCTTTGCACTTTCGGGGGAGAGCTTGAATCCGACGCG
GGTTGCAAGCATCCCCGAGGGCTGGGAATGATCCAGCAGTCCGAGAGCGCGCTGCGCGCGCGCAATGATGCGAGCTTTCGCTGCC
ACAGCACCATTCGTTGGCTGCGCAATCCCCAAAGGCATTGTGTTACGCGGGGATCTTGGGCGAGGTGGTTCGAGGATGCGGTTGACGA
AGCGGGCGGAATCCTCGTGCCCATGCGCTGGCGATTTCCACGGCCTCGTTGATGGCGACGGCTTGGGGACCTCCGGGTCTTCGAG
GATCTCCAGGATGGCGAGGCGCAGGATCGAGCATCGACCGGTGATGCGCTCGGCGAGTAGTTGTCGATGGTGAGGCGAGCGCGG
GCGTCGATCGAATCGAGGACGGCGTGACCTTGGCGACGTAATGTTCCGCGCCCTCGCGCAGTCCGGTTAGATCGTTGCGCGCCTTGT
GCAGGGCTCGAACTCGGGCGCTTCGGGAAGTGCTGGCGGGGTGATGCGCGAGGCGCTGGTTGGCGCGGGCGAGCCGCGGAG
CGGGCGGAACACCGGTTGAGTGCCGGGCGAGGGCGGGGTGCTTTCGGCGCCTCGATCAGCCGCGCTGCGCGCATTTCAACTCG
CGGCTGGTGCCACAGTTGTTGTCGAGGGCGGATGTCGCGGTGATGGCTGCTGCGGCTGGTTCGTCGCGCGGCTGCGCGCGCTGAGCA
CCCTGACGGCGGTGGAGAGGCGGGATTTCGAGCGCGGCCACCGAATCGAGGGCGCGGACGAGCTTGGTGGCGTGGGGTGGCGCGGAC
CTGGGCGCGGGCGACGGGAAGCGCGCGGTCCATTCGGCGAGCGGTTCTTCGCGCCCTGGCCGAGGTGGCGGGCGGTGCGCAGGGAG
ATGGTCAGCAGGCTGCGGCGGGCGGACTCGCTGACGAGTTGCCAGAACCCTTCCCGCTCGCCGCTGCTGGGTTCCGCCACCCGAAACGT
GCAACCATGATAGCATCTGGACCGCGCTTCCGCGGCTGTGTCGGCGGCTAGCCATTCGCGCGCGGATTGCGGGTCGGGATCGCTCGA
GTTTCGCTGAACACCTCGAGCATGCCGCGCGCGCGCGGGCGGCTTTCGCGCCCGCGGTTGAGGTTGGCGCGGATGACGCGGGCGTAGGC
TTGCTTTTCGTATCGACACGACACCTCATGATCACCGCGCGCGGTGGTTCGATGGCGATCTGCATCAGGCCGTTCGTTGACCGCC
TTTGCTGATCAGTTCGGCTGGCGGTGGCGCGCGGATGACAGGCCGAGGGCGATCACGAGCTCGGGGCTCCCGCTTCGAGCTATGG
TTTCGAGGTCGACCGGGATCTCGAACACCGCGGCGACGCGGATCAGGTGATGCGGGCATTGGGCACCACTCACCGAGTCTTCGAT
CGCGTTTTTCGACCAAGGCATCGGTGAACCTGCTCGTTGTATTTTCGAGGCGACGATGCTGATGCGGATCTTCTGGCCGACGATGCGGGGT
TTGGGTGCGAGGGCCGAGGACATGCGCGGGGTATGGAGGGGTGGGGGAGAAATGAAGAATGAAAATGAGAAAATGAAAATGCGCG
ACGGGGGCGAGGACGCTTTTCCGAAGCGTCCGGCTGGGTGATGGGTGGTGGGAGGAGTTAAGTGGCGCTTTGAGGTTCGGTCCAGA
TGAGTTGGGGTGGGTGCGCGAGCAGCAGCGGCTTCCGAAACCGGCTTCCGCTTATAGCGTATGCGCCATCCGGGAGCGGCTTGGTT
TCGAGGTAGCGTTTCGTTGTGGGGTTGGCCGGCAGCCGACGCGGATCTGTTTCGACAGTTTCGATCTGATAGCCTTCGAGGCGGACCA
TCTTCTTCGGGTGTTGTTGTCAGAGCGCAGGCGCGCAGCCGAGGTCTGGAGGATCTGGGCGCCCATGCCGTAGTCGCGCAGATC
GGACGGGAAGCCGAGCTTCTGTTGGCCTCGACGGGTGTCGAGGCCCTCTCTGACGCTTGTAGGCGTGGATCTTGTAGCCAGCCCG
ATCCCGCGGCTTCTTGGCGCAGATAGAGCAGCAGCGCCCTCGCGCGGATCTGCTCAGCGCGGATCTGCTGAGCGCGCTGGAAGTGGCGCGCAGT
CGCAACGCTTGGATTGGAACACGTCGCCGGTCAGGCACTCGAGTGGACCGGACACAGGTTCGGCTTTCGCGGGTTCGATCTCGCCGCG
GACCAGGGCGAGGTGGTGGGAGTCTGTCGATGATGATAGAGGTGGCAGCGGAAGTTGCCGAACCTCGGTGGGCGAGGTGATGACC
TCCCTGAGGAAGACATGTTTTTCCGAGCGGCGCGGTATTCGATCAGTTGGGAGATGGTGACGGCCATCAGGCCGTGGCGTTGTTGGA
AGGACCCAGGTGCGCGCAGCGGGCATGTTTTCGCTCTCTGATCCTACCTCGCAGATCAGCGGCGCTCGGGCAGCGCGGAGCGG
GGCGAGATCGACGGCGGTTTCGGTGTGGCCGGCGCGCGCAGCAGCGCGCGGGCATCGCGCGCAGCGGGAACAGTGGCCCGGTTGG

ACGAAGGCCTCGGGGCCGGCGCCGGGTTTCGGCGAGCAGGCGGATGGTGTGGGCGCGGTCGGCGGCGGAGATTCCGGTGGTCACGCCGG
TGGCGGCATCGACGGTGACGGTGAACGCGGTGCGCTGGACTTCGCGGTTCTGCGGGCCATCTGGGGCAGGTGACGCGCCTCGGCCCG
TTCGCGGTGAGCGGGGCCGAGATCAGCCGCGGCATGCACCGCATGAAGTTGATCATCTCCGGCTGGGATGGCAGGCGCGCCCG
ATCAGGTCGCTTCGTTTCCCGGCCGGATCGTCGGCAGCGATGATCAGGCGGGCGGCGAGCATCTCGGCGATGATTTCTCGATCG
GGCTGAATGAAAGAGCTTCCACGATGAATTGCAGATGGGTGGGGCAGTAGTCGGCGCGCGGGCAACGAGGTCAAGCCCCGAGGCGG
CGGGTGGATCGCGTCAACCCGCCGGCTTGACGAGCAATCGCTGGGCGCGGTTGGTGCCGAATTGGAGATTCTCGTGGCGGCCGTCGA
TCAGGATTCCAGCAGCCCGGCCGGCGGTCGTGTTCAATCAGGCGCAGCGGGTGCCGGGTCTGAGTTTGGTGGCGCCAGCCAGTC
GAGGAACGTGGTGTGCTACCCCGCCACCCGACGACGACGGTAATGGCCGGGCGCAGTCGGCAAGGGGGACGCCCTCCGGCTCCGGC
AGGTGGCGTTCGGCATCCGGAATCGGGTCGCCATGGGGTTCGCGGGTCGGTGGCCGAGCATCTCATCGATGCGATCCAGCAGGCCGT
CGGAAATCACGTGTTGAGCACCTCGGCCCTTTGGTGGACCTTGGTCCAGTCGATCTGCATCACCTCGACCAGGAACAACCTCGATCAA
CCGGTCGCGCGCAGCACCCGCGATCGCCGCTCGCGCCCTTGGGACGCAAGGGCAACCCCTGCCGTGAGGTGATGTCAGTCCG
TTGCGGCCAGATGCTTCATCATGGTGGTCACGGTCCCCTGTGACCTCCATTTCGGTGGCAATCCGGCCGACGGCGACCGGTCCC
GGTTCGGCCCGTTTCGAGCCGCGAGATGGTCTTGAGGTAGTTCTCGACGGTCTGGTGGCATCGCTGTCAATCCATACCATGGGTGA
TTGATTGAGCGATCAAAAAGAAAAAATTCNTGATACATATGGGATTTGATCCATCTNCGCAGTCGGTTTCCATGATTCAATTGTGATG
AATCAAAATTTGATTTGATTGCTGCTGACCTGATGAGCTGAGATGAGACTCGGCAAGGCGATGAGTCCGATGATGGTGA
GGATGCGTTGAAGCATCTGCTCGACTGCGAGCAGGCTGGTGGGGTGGCGACGGTGGACAGTGTGGCGGGGGCTTGGGGTGGCATCGG
GGCGGGGCGACGAGGTGATGGGGTATTGAGGGCGCGTGGATTGGCGAATCCGAGGGGGACGGGTGGAGATTGAGCAGGATGGGC
GGCAGTATGCGGTGCAGATCGCGGATTGCCCTCACGCGAGCTCGCGTGAAGCAGAATCGAGAGCTGGCAGCCACCGAGCCGGCAACC
GGTTCGATCTCGACGAGCGCGAGACCGACCTGCGTGACCTGAGCAGCGCCATGAGCAGCGCCATGCGCGGCTACGCTCCGCG
CCAGCTGACAGCCACCGTCGGTGGTGATATCGCTTCGGTTCGCCAAGATCAAGGCCGAGCTGGCCAAAGCAGAATGGGAGCTCGAGCAG
ACCACCGTCGCTTCGCCCTGCGAGTGCTACGTATCAACCTGCGCTGCGGCCCTGGCGCTTTGTGCGCGGCATGCCCTTCAATCCGG
TGATGACGCTGGTCGAGGCCGATGGCCAGGTGCTGCGCTGTTCAACAGAAAGAGTTGACACAGGTGCGCGCTGGCAATTACGCCGA
GTTTTCGCTCGACGAAATCCCGCGGTATCTCGCGCGCAAGTGCATTTCGGTATCTGGGCGCAGGCTCGCGCGGCTACGCTCCGCG
AGCGGGACGATCCCGATGACAGCGGTGCTGGCGGCGCGCCCAATCGCTTCGCGGTCAAGTTCGACATCGAGGACGCCGACAAGGGTC
TGCTCGTTGCGGCGGGTGGCGAGGCCAAGCAGCGATTTACACGAGCAGCGCAAGATGATCCACATATTTCGGATGGTCACTCTCGC
CGTGGGCGCGTACACGACTACCTGGTCTGAAGTTGATCTGACGCCATGAGCACTCGCTACACATCTGTGGCGCTGGCGATGTTTCG
CATCTCTTCGCTGCTGCGCTGGAGCCCGCAGCGCATGCTGCGACCGAGGCGACGTACCGTGGCGAGGCGCTCGCGCGGCTCGGGTCA
TGGTTCGCGGAAGGTGCGGCGCGGAGTGGTTCGCCGCTCATGGCTCGGGACTTTCGGTGATCCACGGNTCGACGCGCTGGTGACCG
AAGCGATGGCAACAANCTCGACCTGAGGGTTCGCCGNTGCCGGGTGACGGTCNNCTCCGAGTACTTGAAGCTCGCGACTCGACACT
CTGGCCGCGAGTCAACCTGCTGGCCCGCGGTGGTGGCGAGATGGGGGTGACTCGAGCGGGCTCAACGGCGTAGGGCTCTACCGGAAC
TGGAGCTCGACCTGTTGGGGCCGGGTGCGATCGGCACGTGCTGCGACCGAGGCGACGTACGGTTCGCCCGTTCGCGGATGACAGATG
CGCGGACGTGGTTCGCGCGCTGGTGGCCAAGGCCATTTTTCGCGAGTCGAGGCGACGCTGCAACTGCGGCTGGCGCAGGAGTGGT
CGCAACGTGCGCAGCAACTGGTTGATTAGCCGAACAACGTGACGCGATCGGCAAGGGCGACGGCTACGACTCTGATTGGCGCGCGGC
AATGTGAGACGTACCGCGACTCGGTTCGAGAAGTTGGCGTGTGTCAGGTGACAGCGCTGCGTGGCTCGAGGTGCTGGTGGTGGT
ATCCGCGCGCGGATGTCGAGGTTGCCACGCAACTGGCGCGCGGCGCGGCGCGGCTGCCGCGCGCTGCCGTGCGAGTTGCTGGAGCG
GCTTCGCGACGTGCTGCGAGCCGACAGACGTGTCGCCGCGCGCTTCTACGGTGTCCAGGAAGCCAGGCAGCCCGCTGCCGAGCATT
TCACTGACGGCATCGGTGACGACATTTTCGAGCGACTTGTTCCTTAAACAGCGATAACCCGATCTGGAGTGGGGGCGCGAGCC
TGCTGCAACCGGTGTTCAACGACAGGGGCCCTGACGACGAGGTCCGATTTTCGCAAGCGCGAGCAGAAACAGTCGATCGCGGATCAGCG
TCAGATCACTGCGTGCATTCGCGGAGGTGCAAGACGTTTGTGCGCGAGTTTGCAGCGAGGCGGCGGAGGCTCTGCTGCTGCG
GCCGTGCGCGAGAACAAGACGCGCTGGAGTTCGGGCGACCAACGCTTCAAGGTGCGCTCCGGCGATATGCGGGCGCTCTACAGCAGC
AACTCGCGGTGTTGCGCACCCAGTCGGCGCTGCTGCGTGTGCGAGAGCAGCGGCTGCTCCAGCGCGTCAACCTCTACCTGGCCCTTGG
CGGAGGATTCGATGCGGTGCCGCGAGCGACCGCGGTGCGGCAAGCGAAGAGATAATCATCTACAGCCGATCGGTGCTCTGAGCATC
GCAACAGTTGTGCCACGGCGGCTCTCCGCGAGCTCGAGGCTCGAGCTGCCAACATCCAGTCTGCCACGGCGCGCAACGA
TCGCGGGCGCGAGCGCGGCGGACTACGCTACAGCTCGCGCGCTACGACGTGAATTCGCTGATGACGCGGTCGCGGCTCGGCAACCT
CGGCAAGCTGGCGGTGATACGGGCGAGCAGGTGCGGAATATCGGCAGCAGGACATGAACGACGAGGTCTGGCTCAAGCTCGCCAAG
CGCGTCAATGCGGTGCTGCGCGAGCCGACACCGATGTTGCTTCGATACGCGACGCGACGGACAGCTCGAGGAGACGAGTTACTTCC
TGTCGTGGTCAACAGGAGCGACAAGCCGGTGGTGTGTTGGTTCGATGCGACCCGCAACGGCCATCAGTGCCGACGGCCCGGCA
TGTACAAACGGGCTTGGCGTATTCGCGACCCCGCGCGCAAGGGCAAGGCGACGCTGGTCAGCTGAACCGCATTTCACTACGCG
CGCAATGTGACGAAGACCGTCACGACGAGCGTGCAGACCTTCCAGAGCTGAATCGTGGGCCAGCCGGCTGCTGCACACCGGCAAGG
TCGAGTGGTTCGAGCCGATGGAACAAGAAGCAGCGCAAGGCCACTGAGTTCTCGGTGGACGGGCTCGACCACTGCCACGGGTGGAGCT
GATCTACGCGCAGCGGAATATGAGCGCGGACCTCATCGAGGCTGCAATCAAGAAGCGCGCAAGGGCATCTGATCGCGCGCTGGGT
GACCGGATCGCGACTCGCGCGCTCGAGGTGCTCACCAAGGCGCGAAGGCAAGGCGACCGCTTGTGTCGAGACGCGGCTTCTT
CGGGTCTCGTCTTCGCAACAACGAAGTCAACGATGACGAGAAAGGATTATCGCTCCGGCGAGCTGAATCTGCGAAGTTCGCGCT
GCTGTTGAGCTGGCGTTGACGAGGACCAACGACCCGATCCGGATCCAGAAGATGTTCTACGAGTATTGAGCCCGATCGAAACCTC
ACCGTTCGGCGCGCATCGGTGCGGTGCGGGCCGGTTCGAGGTCGCGCTGGTGGGCGGCTCAGTTTCGAGGGTCCGCGAGGCGCAT
CGCGCGACCTTGGTGGAGGGCGGATGACCTCGCTGCGCAATGTCGCTGGCTTGTTCGCGACGCGCTTACCGCACCGCCGATGCCA
GGCCGGTCCGGCGGACGACGACACCGCGGATATCCACCCGGGTAGTAGCCCGGTAATAGCCACCGCCGTAATAGCCCGCTAGC
CGTAGCCGACGCTGACGCTGGTGGAGACACCGCGTAGCTGGAGTCGCCGCGCTCACTGGCACATCCGCGGAGCATTTGCAACCGCGT
CACTACCGCCACAGCCGTGGCCAGCCGACGTTGAATCTGACATTGCGCTGGCTCATGGCTGCGCTCCGGGTTCGGCACCTGCACAA
TGCCGACGGGGGCTCCGGTTCGGTTCGGCGATGATCGCAACCGTCTGTCGAGTCACTGCGCGAGCGGTTTCGAGCAACACTTTGCCACCGGC
AGCCCTGGCGGCTCCGCGAGCAGCTTGGCGTTCGGCGACGCGAATGTATGGCAGCCAGGTTCGGCGACGCTTGTGCTTTGCTTCTG
ATGATGCCGCGCGCGCAAGCCCGCATACAGCGCAGCCCGTTCGCGGACCATCGTTCGGTAATCGGCACCGCTCTCGAAGCCTA
CGACCGTTCGATAGAAAGCCCGGCTTTCTGACGTTCGCGGTCAGAGATCGACCCAGAACCCTGTTGACGTCCTTCGCTGATTA
GAGCGGATCGCGCTTCTTCGACTTCAGCACCCGAAGCAGCGCTTCCGGGTCTTGAACACGCGCGCTTCGCGCGGCTCACAGGAGC
ATGACCGGTGATAGACGACCTTTCGCCCACTCGCGGTACGGCCGCGAGTCTGCTTTCAGCTCGGCAACCGAGATCAGCCGACCC
AACGTGCCGAAGGGGTCTTGCCTTCATGGCTGCTGTTGCAAAACCATGCCGCGATCGGCAATCCGTTCGGCGAGGGCGAGCGTGA
GGTGTGCTGGTCTGCTGCTCCCGCGGTACGTTTCGAACGTCCAGCCAAAGACCTTTCGCATAAACTCGCGCGCGCTGCAACGTCCGAC
GTCACCAAGTTCAGCGCAAGTTCGACCCGCGGATGCTGCGCGGCGGAGGATGGCGGATGCGGCGGCTGCGCTGCGCTGCGT
GGGCGCGGACGCCAGCATCGAGGCCAGCATGCCGAGCCACAGCGACCGCTTTCGCGGACGTTGTACGGGAGACGAGTGAAGCATGTC
TGCTGGCCCCCGGACAAATGGTCTTGAATATTCGTCGACTATAGCGCGACCGACGAGACCGGTAATATCCCGTGTGTTGACG
AGACCTTGGATTTCGAGCACTCGCGGTTGTAGAACCGTGACAGGTACTTGTGTCGCCATCACAGAGAACGGTGACGATCGTGTGGC
CGGACAGAGTCACTGCGACGCGGAATGGCGCGCGGACGCTTCCGACCGGCTGGTGTGCTGCGGAGGACAGGCTTCTTCGCGCAGCAG
CTGGTAGGTGTCGCGGACGATCTCCGGATCATCTACCTGACCGCGCTGCTGATCGCGAGTTCGCGGAGTTGGCCGTGACGCGGCGC
ATGCCGATGCTTTCGGTACAGCACTCGAACGACGACTTCAGTGCAGCATGCTTACCCAGTATGCAACGCACTCCCCATTGGAT
CGGCCAGCAGATGCGCACGGCCGGCTTCTGTTCTTTCGAGGTAAACGGGACACGCCACCGAGCGTGCCCGGCTTCCCGTTCGCGCAGGT
GAACCGTTCGATGCTGCTCCCTGCGTGTGCGCGCAGATCTCGGGTCCCGTTCGCGTGTGCTGCGGATGTCGCGGATTTGTGCGAAC
TGGTTGCCAATGGCCGCGCGGAGTTCTTCGCGCACCTTCGCGCGCAGCTTCTGGTAGTGATTGGGATCGGAGTAGGGCACCGCTCTTTA

CGACGCGAACTTCGGCGCCAGCGTGCAGCAGCGCCGCTTTTCCGGTGACTGGTTGTCCGGCATCACGATCACGCACTTGTAGCC
GCGCGCGTTGACAGAGTGGGCGAAGCCGATGCCGGTATTGCCAGCCGTACCTTCGACGAATGTGCCACCACGCGCGATCAAGCCCCGG
CGCTCGCGCTCGTCCAGGATGCCGCGAGCGGCTCGGTCCTTGACCGGAGCGCCCGGGTTGAGAACTCGGCTTCGCCAGGATTTTCG
AGCCCGTGGCCTCGCTGGCGCGGCGCAGGCGGATCAGCGGCGTATTGCCGATCGTGGCAGAAAAGCCGTCGCGTACTTCTTGGCGCAT
GGAGGTGCCCATTCAGTCGTGGACCAGGCGCTCGCCGCCGCGTAGACGTTGAAGCGCTGGCCGCGAAGCAAGCAAGCAGCGTGACG
CCGAACTCGCGCGCGGCATCGACGGCGAGACTGGAAGGCGCACCCACCGCACAGACGACCGGATCCCGGCCATCACGGCTTTCTGCA
GCAGTCAAGCTCGCGCGGCGCTCAGGAACAGGATCGTGTGCATCGGCTGGCAACGTGCCGGCAAGTGAAGCCGCTCCGATCAGCTT
GTCGAGCGCATTGTGGCGACCGACGTCTTCGCGCAGGCGGAGCAACTCGCCGGTGGCGGAGAACAGGGCGGAGGCGTGCAGGCCGCG
GTCGAGCGGAACACGTGTGTGCTGCTCGAGGCGCTCGGGCAGCTCGTCGATCAGATGCGCGTCGATGTTGAAGCCCGCGCGCGCG
CGACCGCGCGTGGCCCGGTTCGCGACGCGCTTCGATCGAGGTTTGGCCACACAGCCGCAACTCGACGTCGTATAAAAAATTGCGCTCCAG
CCGCTTCATGTCCGACATCGACGTCGCCAACTAGATCGACGGCGAAGGTGTTGGTCGCGCCCTTGCCCTTGCCCGCAGTGTGGATTTCG
TGGACCTGCGCGCTCGATTGCAGGATGCCCTTCGTAANAGGAATCCTGCGGNNNGTTTCGAAATCGTCGCGCGCGTGCATCGTGA
TCGAAATCGNNNNATGACGAAGCTTGCCATTCTCGACCCGGCGAGGCGGATCTCGAGCGGCTCCTCGACGGCGAGGCGCTCGTCCTC
TGTTGACGTGGGTGCGCCCCGACTCATATCGTGGATCGCAGCCTGGCTGGCTTCGGGTGCGGCGGTTCAGCGACGGTTTCGAGCCTGGC
GGTGGCAAGTTCGCGTCCGCTGCGATCAGGTCAGGTCAGTGCAGTGCAGCAACGGTGCAGGAACGCTATGCGACCTGATGCGAGCGG
AGACGGCGAGCCAGCGCCAGAGGCTATCGAAGTACGTGCGCACGACAGCAGCAGATAGACCGGTTTCGTCGGTAACCTTGCCAGAGGTG
CACGGCGAGATGCGACGCGTGTGACCGCCACGTGCGCCGTCTTGAAGCGCGCGGATCAGGTCGATCGACACGCCCTTGGCGAGC
ACGTGCGCACGTGGGTTCGCGCAGTTCGAGCAGGACGCGGCTGCGGCTCTGATCGAAGACGAGGCGTGCATCCGAACATGGCGC
TGAAGCTGTCGCGACGCGGCTCCGTCGCCATTCGAGTTCGCGGAGAACGCTGCTGTCGCGCCGAGGACGCTTCCGACT
GCTCGTGATTGCTGGCGAGGAAGGCGAGCTCGTGCCGAAGCCTGCAACGCGGCGCTGCGAGGCGCGGCTTGATTGCGGCGGGCA
ATGACGCTGGCCAGTGAAACTGCGTGTACTCTGCGACGACGAGGCCAGGTGCTCCTTCGTAGCGACCGAAGCGACCCGGGCGGTAGT
CCAAGCGCAATTCGTGACCCAGGAGGCGCACTCCTTCGGGATCGATGAACACTGGCGCGCAGACCTCGACGAGAGTCTCGGCCCCG
GCAACGGGTTCGACGAGCATGATTGCTGCCACTGCGCTCCGAGCTTCGCGGAGTTCGCTGAGCAGGCGCCAGCTTCCATCGGCTCCCGCG
CGAGTAACACAGGACGTGACGTAGCCCTGATCGTGTGCTCGATGCTGCGTTTCGCGTGTGCGGAATGAAGTGCATGCCGCGGCGCAGC
TTCGCGTTCCGATCCACGCTCTTGATGCCACAGCGCGGGACGCGCAGGATCGACAGGTTTCGCGCGGCGAGCCAGCAGCACACCGA
TGAAGTCTCTTTCGCGTCGAGAGCATGCGGCTGAATCCAAGATCGTACGCGGTGCTGTCGCCATGAGTTGAGTTCGCGCAGCAGCTGGCC
TTTTCGAGCGCGACATGTTGAGTGCCCTGAGGCGCTGAGGCAACCGAAGTCTGTCGCGGCTGATGAGTACGCGAATCAAT
GCATCGCCTCGGTGGCGGGCACGGCGATCTCGTAGGCCAGCTCGCCGAGAACGAGATGCGGAAGAGTCGCGTGGTTTCGCCGTGC
GCAGCGTGACTTCAACGGCGCGCATGAACGGAACGCGCGGTTCGCAAGGTGCGACCGGGGTTCGAGCAGCGGTTTCGACAGTTTACG
CGAGCGTGGACCGCCACGGCGAACTGTGCCACTGATCGGTACTGATACGAACGTGACGTGAGTTTCGGCCACAGCGTCTGATGG
CACAGTGCATGTGCTGTACACCTGCAGTGCCTGCGCAGCTGGTGGTTCGTCGATCAGGTAGCGATTTCGGGGCCAGGCGTGCGGCGGTG
CGTGTGTCGAGCATGAAGCCGTCTTCGCGCGACATGATGCCGTAGCGGGCGCGGCCAACGCGAGGGTTCGGAAGTTGTTGGCGTACAG
GCGTTCGATGAACGTGACGGCGTCCGACCCCTGCACGTGATCTTGGCCGAGGTTGGAGAGCTCGCACAGGCGGACGGCCGAGCGCACG
GCTTTCACCTTCGCGGCAAGTGGGCTCGAACCCAGTCCGTTTCGCGGCTCGGGGGAACCACTGCGCGCGCAGCCACGGTCCGCTCTCGG
TGAACAGCGCGCAACTCGCTCGCCAGCTGTCGACGCGGCAATACGGGTTCGGGCGGAATCATTTCGCGGTGGTTCGCGGCT
CGCACCCATGGCGATCGGCGTGTAGGGTGGACGGAACGTGGTAGTGCCTGTCGCGATCGAGCGGCCACGGTGTGTGCAAGCAAG
GCAATACCGGTGACGTTTGAAGTCTTGCCCTGGTCAGTTGCCATGCCAGCGCTCGTGTAAACGCTTGGCGTGTCTCGACGAGCGGAAGC
CCTCGCGTTCCGCGCATCTCGATGTGCTCGCCGTCGACGTCATTTCGGAATTCGACGAAACACTTGCTCGCGCCCGCTTGACCCGCCA
GAGCGGACCCGCGTGTGGATTCTTCAGGAATCCGCGGACGCGGAGATCGAGCCCGCATGACACAGGAGACGCGCCGCGGAGG
CTGCGCGGTATCCCGTGAAGCAGGCTTCGCGGAGCGCCAGGTTGCCATTGGCCGCGCCAGCAGCGCATGCCACAGGCGAGCTTGT
CCGCGACGNAAGTNNCGNCGGNTTCNGTCCAGCGCGNNNNNNCCCTTNGTGCNACGTAGGTGCCAAGCTTGGGAGAAANNNNCC
GCCNGACATGNCACAGATCGCANTAGATNCGCGCGAACTTCCCGTATGGCTGGTAACCTTTTACCGACTCGACGCGTTGNCACCA
CTNNNATCAATTAACCTCGCCGCAATGGCCTCGAAATTCGATAACGACGCGCGAGTGGCGCAACGACGAAGGGCCACGNGAGTC
CAGACCGCGCGGACGCTGNNNCTGCCCGCAAGAGTTCGTCGCGGTCGCGGTCAGCCATCGTCGTTGTGTCGATACACGCGCCAGC
TCGCGCGCAGTACGGCGTAGCGATTGACGTATGTGCGCACCGCACCGCGCAGCATCACGCCCGCAAGTGGTTGTTACGGAACACGA
GCGGACGTTTCGATCGAGCCGGAAGCCAGTACCGACTGCTTTGCGATGATGCGCCATACGCGTGGCGCGGTTTCGAACGCGCGCGGAAC
GGCAGGTGATCACTGACGCGCTCGACGGCGCCATAGATGCCGTGATCGTAAACGCCGAAGACCGTCTGTCGCGGAAGCAACCGCACT
TCAGGTTGAATTCAGTTCCGCAACAGCCCTTGTGACCAATCGGCGCGCGCATGCGCTGATGTCGCTTCGCGCGGAGGACGAGC
GTCCGCCAGCGGAAATCCTCATCGGCAACGATGACGCGCGCACACAGCGCGCGGCACTCAACGCGCGGCGCAGGCGCGGAGGCCC
GGCGCAATCACAGTACGTGCGAATGCGCCAGCTTTTCTCGTAGTGGTTCGGGTTCGGGCTCGAGTGCAGCGGACCGAGACCCGCG
GCCGCGGATCAGCGGCTCGTACACTTTTCCAGAAATGAAGCAGGCGACATGAAGTCTTGTAAATAGAAACCGGCGCACGACGCT
TCGAGAACAGGCTTGTGATCGCGTGGACGTGCTAGTGCAGGCGGCGGCGGTTCTGGCTGCTGGCTTCGAGGCGCTCATAGAGTTT
GATCAGGTTGCGCGCTATTGGGCTCGCGCGGGCGCGCTGCGCAGCTCGACAGCGGTTGGGTTCTTCGGGACCGCGCTCAGC
AGCCCGCTGGCGGCTGATACTTGAACGAGCGGCGCAACAGGCGCACCTGTTGGAAGCAAGCGGAGCGAGCGAATCTCCGACGCG
AACCGCGTAGGTTTTCGCGTGAAGGTGAAGCGCAATTTCTGCTGCGGATCGATCACTCCGCCATGGGCGAGGCGGAACTCACTGG
GCGTCTCCGCGCGCAAGGCTGTGCGAGCGGCGGACGGCTGCTGATGTCGATGTCGCGTGTGCGGCTGCGGCGACGACCATGCTGT
GGCAGCGCCCTGGTGAACAGAGTTACGGTGCAGGCGCAACGATTGTTGCGCACGTAGACATAGTCGTAGAAAGCGGACTCGGC
GTCGGGACCCGTTGCTGACGGGCGCGCACGGTGGCGTGCCTGATACGTGAATTCGTGTCGTGTCGCGGCGCGCAGTAGAGGGCAG
GGGATGCGCATGGTTAGTGCCGTTGGGGTGGAGCGCGGAGCGGTTCTCGTCGATCAGCTTGCCTAGGCAACCGGTCAGTTCGAT
ACGCCATTGCGACCTCATGGGGTGGTCCGTGGCGAGCGGTGGGCGAAGCACCAACCGAGGCGCGGCTGGCCTTGAAGCGCGCATA
GCACCAGCGGCGATTGAGGTAGAGGCGTCCACCGCGGTGCGGTGATGATCGGTGAGCGTCCATCGACATGTCCATGATGCCGCCC
CACGAACGCGAGCGCGCACCCGCGTCAAGCACGGGAACAGCGCCACGCGCTTCTCGACAGCTTCTCCAGATGGGCGAGTTGCTC
GTTGCGGTACGAGTTGTACAGGTGATGCTGCCGCGGAATACAGGCGCGCTTGTGCGATTGGCTGATGTAGAAATGACCTGCGCC
GAAGGTAATCAGCAGCGCACGATCGGCTTGAGGCCCTCGGAGCAAGTGCCTGACGAGTGGCTTCGATGCGGCGCGGCGGAGCGA
TTCCTGAGCAGGCCAAAAATCGAGTATCGGTTAGTCACGGCGTCAGTCCGGGAGGATGACGCCCTTGTTCATGACGCGCTTCGGGTC
GAACGCGCGCTTCAACCGCTCGAGTATGTAGTACGACGAGTCTGACTCTCCCGTATCCAGGCGGTGCGGGCGCTTGCCCATGCGGTG
TGATGACGACCGGAACCGCGAGCTTCAGCGTTTCTCACAGATACCGGGTTGATCTCGGTGCGGTTATTTCTCCACTTCTGCTCGG
CGGGCAGTTTCAAGTTGTAGTAATAGATGAAGTACATGTTGGTTCGATGAGTGTGCGAGCTGTGCGCGGCGGCGGAGCGGTTAT
GTCCGCGACATCGACCTTGAGACGCGCGAGCGGTTCTCGTAGATGTGCGAGATCGTGTCCAGTGGCGAGACCTCCGTGGTGGC

[illegible]

GGCATCGCCGTCA**CGGCAC**TCGGCGGTGAA**CAGNTCA**CCAA**ACCTGAACATCAACATGGCGA**CGGACATCACGCG**CGCCGTG**CCAGCT
TGAAGATGA**ATGNNTACTCGTCA**TACAAGTGGT**GTTC**AA**ACAT**CCGGGGCGTGTGCGAGAACGACTAT**GNCGAC**CCAGNNNNNNNNNN
GGTTCGCCGTGTTAC**CGGACGACAGCT**ACGCGAGCTCGATCAACGTGCGGAGCTTCCCGTCTTCGACCTGGCCCGGTGTCGAAGTGC
TGCGCGGACCGCAGGGCACCTGTTCGGCCGCAATGCGACCGGCGGCGCGATCCAGTTCGTGTCCCGCAAGCCGACCAAGGACTTCGA
GGGCTATGCCACGGCCACCGCGGGCAGCTACGGCCAGTTCATCATCGAGGGTGCCTGTGAGGTCCGCTCGCGGACAAC**TTCC**AGGCG
CGCATCGCCGCGATCAGCAACACCGACGACGGGTACATGGAATCGATCGTGCATGGCGTGCCGGATCGCGGCGGCAACGATCACTACG
CGTTCGCCGGGCAACTCGCTGGCAACCTTCCGAGACGACGACCTTCAACCTCAATCGTTTCGTATGAGGCGGACGAAGGAGACGCA
GGCCGGCATCTATTTCGAGGAGCGCGGTGCCGAACGACAGTTCAGGGCGAGTTCACGCGGCCGACCAAGTTCGTGCGGCTTCTGG
GGACCGGGCCGGGTGAAGGCGGACGGGATACCGCAACGACGCCATCACCCCGAGCCGCGGGGCGATCCGTGGAAGACCGCCGAAA
CGCAGCGCTCCTACGTGATCGTGAAATCACGGGCGGACGCTGCATTCGACTGGGACATCGGTGAGCTGCACCTGGTCTCGATCAC
GACTGCGCGGACGCGACCAAGTCTTACCTCGAAGGCGGACGCGTGCCTCGCCGTCGACCGGTGTGCTGTTTACCAAGGCGAGCACTC
GAGCAGTATTTCGAGGAATTCGCTGTTCGGGCGAGGCGGCGAGCCACACATGGGTGGCGCGGTGTACGGCATGAAGGTGGACGGTG
ATTACATCGGCAAGTTCGCCACGCGCTTCTATGGTTACGACCCGACCATCGAGATGTGCGAGAAGACGACGTCTGACGCGCTCTTCGC
CGAGGACGAGTGGCAGTTCGCCGACGCTTGAAGTTGATCGTTCGGCGCGCTACTGGAACGACGAGCGGCAAGGCACTTACTTCGGC
ACGACCCCGGAGTCCCGGTCTTCTGCGCGGTACAGCTTACAGTTCAGCTTCAACCAACAGGAAGTATCCCTGGCGGCGAGCAAGCACTC
CGGGCGATGCCAAGAAGAGCTTCGATGGCGTACCGGCCGAGTCCAGCTCGACTGGCAGCAATGGAGGACCTGCTGCTTACGCCAG
CTTCAACCGCGGAGCAAGAGCGCGGTACACGTTCTCGACCGGACGCGGTACGATCCCGATGGCAGCTGACCATTCGCGCGACG
TTCTCTGAAGGCATGCCGTTTCGACGAGGAGACGCTTGACGCTTACGAATCGGGCTCAAGTCCACCCCTCTGGGACACGACGACGCTCA
AGCTGCGCGTCTTATTACGACTTATTCGATTACCGATTACCGATTACCGCTTCGCGCCGCTGCGGCGCGGTGACGCTGCTGTA
GACTACCGGCTCGAAGCCGAACCTTACGTTCGGGCCCCCTCGATGGGCTGACGCTGCAACTGGGAGCGTCTTCTCGACACCAAGGTC
AAGGACGTCCCGTTCGCCGACGCGGTACGGTTCGAGGATCACGACTGCGCGAGGACCCGACGTTTCGCTCAACGCGCTGGCAGGT
ATGAGATCGACCTGGCCGGCGCGTCTGTCGGCATCCAGGGCGAGTGCAGTACTCGAGCGAATTCGCTTACGGTGTCTGCGCGCC
GGTTCGAGGACGCGACGCTTATACCGTGGCCAAAGTCTGAGTTCGAGAGTGGTAGCGGCGGTGCGGCGGTGACGCGCTTCGCTC
GACAACGTGTTTCGAAGAGAAATACCGCGTGTATGCCCTTCGACAGCTCGTTGTTTCGAGGTGTAGTGGCGGCGCTATGCCAGGCGC
GCTGGTACGGCTGAGCGCCACCTACCGGTTTCGGGTCACTTCGAGCCGAGGCGAGGCTCCTGCGCATCACTTCTGGTGGCGCGCGGG
CGAAGTCTGTTGTCGCAATGATCAGTTCGCCCGTGGCGGGGCGACCATACTGGCTCCTCGCAGCCGGGACGGATCCACCATGTCC
AGCATGGAAGAACAGCAGCCCGCGCGAAAGGCGCCCTTCGCGCCAGCGGTGTCGACGCAAGCGGTGCGGCGCGTGCAGCCCGC
CCGGCGCTCGATCCCTTACATCACGCGCTCGATCCCGTATTTCGAGGTCTGACCGACGAGGGCTGTGCTCATCGAGCAGAACGC
CGAGACGATCCTCGCCGAGTACGGCATCGAATTCGCGGAGGACGCCGAAGCCCTGGCCCTTCGGCGAGCGGCGGCGCGGACGTCCAG
GGTTCGCTGGTGAATTTCCGCGGGGCGATGTGCCGCGAGCTGGTACAGAAGAATGCGCCGCGGCAATTCGTGACGTACGCGCGCAATC
CGCGCGCAACGTTCCGATCGGCGGCAACTCGACTGTATTTCGCCCGCGCTATGGTTTCGCGCTTATCCTGAATGCGGACGAGGTTCG
TCGGTACGCGCGCATCGACGATTTCGCGAATTCGTCAAGCTCGCTACATGGCGAATTCGCTGACCACTCGGGTGGCAGCATGTC
GAGCCGGTGGACCTGCGCGTGAACAAGCGCCATCTCGACATGGTGTACAGCCACGTCAAGTACAGCGACAGGCGTTTCATGGGTTTCG
TTACCGCGCCGAGCGCGCACGACAGCGTCAACTTCGGAAGCTCGCCTTCGGTTCGGTATGCGGTGCTGCTGCGACCGGCAAAAC
GTCACGATGCTGATCAGCTGATCAAGTGAATTCGCGGTGAGTTCACGACGCGACCATGCTCGGCGCGGTGACGCTTACGGTTTACGCTC
GCGAACCAGGCGACGATCATCACCGCTTCATCTGTTCGGGCGCGATGTGCGCCGTACCGGTAGCGGCGAGGCTGCACAGACACTTG
CCGAGGCGCTCGCGCGCATGGCTTCGCGCGAGCTCGTCAATCCGGGCGCGCGGTGGTGTTCGGCAGCTTTGCTCTGTCGATTTCAT
CGAGTTCGGTTCGCGCGACTTTTCGGTACGCTGAGCCGCGCTGGTGTCTACACGATGGCGGCACTTCGCGCGGCTTCGCGGTGCGC
TTCCGCTGGGCGCGGACGCTGTGCGCTCGAAGGTGCGGCGGCTTCGAGTTCGCGCGGCGGCTTCGCGCGGCTTCGCGCGGCTTCG
TGCCCGCGTTAACTTCGTGCTGCACACGCGGGCTGGCTCGAAGGCGGCTCGCGATGGGTTACGAGAATTCATGATGGACGTGGA
CCAGGCGGGGATGATGCACACGCTGCTTTCGGGCGTGGACCTCACGCCGAACGGCCAGGCGATGGATGCCATCAAGGAAGTTCGGTCCC
GGCAATCATTTCTTCGGGTGCGCGCACACGCGAGGCCAATTTTCGAGAGTGGCTTACCGCTTCGCGCTGGCCGCAACAACAGCTTCG
AACAGTGGCAGCGGAAGGTTCGCTCGACATGGCGCAGCGCCCAATCGCTGTGGAAGCGTCACTCAACGAATACGTGCGCGCGCC
GCTCGATCCCGCGGTGGACGACGCGTTGCTCGATTACATCGGTTCGCGGAGGCGTGCAGCGCGGACTCAACCATCTGAGTCTTTTCAC
CTCTCCCGCTCTTTGATAGAGATCGCTGCAGGCGGCTGAGGGTACGTCTCATGGCCGCTGGACGGGCTGCGGTGTTCTCTGCG
CTCCGGGTCTCGCGCGCATCGCAAAGTAATC

Contig 2

TGCGATGCGCGGAGACCCCGGAGCGCAGAGGAAGACTGGAACCCGTTTCAGCGGGCTTAGTTCGGCCACCGACAGATGAGGACAGGTT
CCGATAAATGCGCGCGCGCGGTATGGCCGCGCGCGCACCGAATCATCGCTAGCGAGTCCAACTCTGATGCGTCATTTTCATCGTC
CGCGCTGCACGCTGCTGCTGGCCCTGTCCCTGGTTGCAAGTCTCGCACAGGGCGCCACCGAACCGGCCGAGGGCCATCACCCACG
AGGACGTCTGGCTGATGCAGCGCCTGGCGCGTGGCGGCGAGCCGCGAGCGCGTTGGTTCTGTCGCTCGGTGGCGCGCGCTCCTA
CGACGAGGAGCAGCGCGCAGCGACCTTGGATCATGCCAGCGACGCGAGCAGTCCACCGCGCGGACTTACCTCGAGCCCGCTCA
GAGGCGACCCGAGCTGGAGCTGGAGCTTCCACCCGAGCTTTCTCGCGCAAGCGCGAAGCGGAGCGCGGACAGATCGAGTGC
TGGACCTTCGCGGCGGCGAGGCGCAGCGGTGACCAGCTGGCCGGGGGCGCCAAGTTCGCGCGCTTACGCCCCGACGCGGGTTCGAT
CCTCTTCGTAGGGCCACGCACCCGGGCGCGTCACTTCGAGGACAACCGCAAGGCGCGTTCGCGACCGCAAGGCGCGCAAGTACAA
GCCGCGCTACGACTCTTTCCCCATTTCGCCACTGGGACCGCTGGCTGGACGAGCTGCGCCGTCGCTGATGGTCCAGCCACTCGACG
GCGCTTCGCTGCGCGGACTTGTCTCGCAGGCAAGTGCCTGCTGAAGAGCGGGATTCGTTGGTTCAGCTCGGCGCAACGAGGCGAATC
TATCGATGCCGCTGGACGCGCGATGGCAGCGCGTGGTGTTCGCCGAACCAACCGGCGACGAGGGCGCTCGCGCCAGGTATTC
ATGTCGCTTCGCGACGTGAAGCTGGACGCGCGGAGCCAGGCGCTGACCGCGGACGAGGGGACTACTCTACCGCGAGTTCAGCG
CCGACGGTGAACGCTGCTTCCAAAGGTGCAACCCGCTTCGAAGCGTGGGTGTATTTCGACTGACCGCTGGTTCGATGTCGTTGGCC
GTCACTTCGTTGAGCGCAAGGCGATCACGAGGGCGTTCGCGAGTTCGTTGGTTCAGTACGTACCGCGCGGACAGTTCGACGCGTGTTC
TTCAATTGCGGAGCAGGCTGGACACGACAGCTGTTCCAGGTGTGCTTCGCGGCGGGTTCGCTGTACGGGTTCGCGAGCTCAGCGCGC
GCACTTACACGCGCTTTACGGTTCGGTGGAGCGGCGCGCGCGCTAGTTCGCGCGATCTGGTTCGAGCAGTACGCGCGCAGAGGT
GGGACGCGTGGACCTCGCCACGGGCGCTGGTTCGGCGCTCACGTCGTTCAACACAGCGCGCGTTCGCGCGATCGACTGGGACCGGCG
GAGCGCTTCGTTTACCTCGAAGCGCGCAAGCGCATCTCAGCAGCTTCGTTGAGGAGCGCGCTTCGAGCCGCGCTTCGAGCCAGGCT
CCCTGTTTCGTGGTATCCACGGCGGCGCGACGCTTGTGGAAGGACGACTTCGTGCTTCGCTGGAATATCACTGCTCGCGAGCCC
GGGTACGTAGTGTGCTACCAACTACAGTGGTTCGACGGGTTTCGGCGAGGACTTCGCGCGCAGCATCCAGGGAGACCACTGGCC
GGGCGGCGCAACGAAATCAACGAGGCG**GGCAGA**CCAGGCCATCGACGCTTACCGGTTTCATCGAGCGCAAGCGGACGCGCGGCGGCG
GACGCTTCGGCGGACACTTGGCAACTGGCTTCGACGACGCTTACCGGCTTCGTTACCGGCTTCGCTGAGCGCGGCTTCAGCTT
GCGCAGCCAAATGGACACGAGCGACATGGTCTACAACCGCAACGCAACATCGGTGGCCCGGCTGGGACCCGATCCCGTTGTGGCGG
GAGCAGAGCCGTTCTATCGCTCGGAAAAGCTGCGCACACCCATCTGCTCACCTACGGCGAGAAGGACTTCGCGGTGCGCGCTCAACA
ACGGCTTGAGTTCTGGGCGGTGCTGCAGCGGACGAGGTGCGGAGCGGCTCGCTGTTCCCGACGAAAATCACTGGGTGCTGAA
GGCGGAGAACACCGGTATTTCTTCAGGAGTCCAGGCTGGCTGGCGAAGTACCTGTAGCGCTGTTGCTGTCAGTGAAGCATTTGA
GCGCAGGACAGTGGTTGCGCATGGCCCGCTGCACGGTCCCGGTTTTCCTGCGCTCCGGGTCTCGCGCATCGTGAATCCGCG

GAGGAACCGCACGATTCACGGCGAACCTTGCTCGAGCGAGAGCGAAGCGATGGTGGCAGCGCAACAGCGGCACGACGACGGTGCCGCT
 TCGCTCTTTACGCTCGAGCTGCGGCGCTCGACACGGAGCGCAAAGGAAGACCGGGACCCGTACCGGCGAGCCTGTAATAGTCGCGCTT
 CACTGAGACCACGCGGAACCTTCCGTGGCAGCGAGGCGGGAGCCCGCGGTGCAGCATTCACTTGGTCACGCCACCTCGTTTCAGCTT
 GACCGACCGTGAGCCGAGGCAACGCGCGGCTTCCAGCACGCTGAATGGGTTCGGTCTTCTCGGCACTCCGTGTGAGCGCCGCGAGC
 TCGAACGCAGGTGCGAGGCGGCTTCGTATTTCCGACCAGACGCTGGCACCATCGCCGAGCACCCGTTTCGAGCAAGGTTTCGCCGTGAA
 TCGTGCGGTTCCCTCCGCGCATTCACGATACGCGCGAGACCCCGGAGTGCCGAGGAAGACCGGAACTCGTGCGGCGGGCAACCACCGT
 CCTGCTTCCCTCGGCTTTCGGGTGCGGTCTACGCGGGTGGGCTGGGCGTTCGATTCGGCTGCCACGCGACTCGCCGCCCGCTGTGC
 CGCCGTCTTGAGTGGCGGCAATCCACGACCTTGCGCAGGTTGGGGTATTCGGCCGTCTTGTGTGGAATGGCCATGGCTTCGACGAAG
 TGCTCCTGGAACCGCGGTTTCGATGGCGGTCTCGATCTTCTCGACCTTGCCACCAGCGTTTCGATCGTCTCGCGGAACGTCGAGTCGA
 GCAAGGCGATGCGTGCGCCCGTGCTGCCGCGTTACCGGCCGAGGTCACCTTCGAAAGGTCGAGTCGCGGAATCATGCCGAGCACAGT
 CGCGTACATGACGTCGATGTGCGCACCGAAGGCGCCAGCCGAGCGGATGCGATCGAGCTTGTTCGACGCGGAGCCGCTCCATCAACAGG
 CGGATGCCGCGCCATCAGCGCGGCTTGGCGAGCTGGATGCGCGCACGTGCTTCGCGCGATGCAGAGCGTCTGGGCGCCTTCGTGCA
 GCACGTAGGAGTACGTGCGCCCGGCTGCCACTAC

7.2 Das Cosmid slc_1f

7.2.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
201	Hypothetisches Protein	38	535	-
202	Hypothetisches Protein	633	1418	-
203	Hypothetisches Protein	1736	2365	-
204	Potentiell integrales Membranprotein (ComEC)	2425	5190	+
205	Vorausgesagte ATPase	5246	6610	-
206	Hypothetisches Protein	6634	6873	+
207	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	7043	9565	+
208	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	9645	10313	+
209	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	10338	11090	+
210	Prolipoprotein-Diacylglycerol-Transferase (EC 2.4.99.-)	11122	12123	+
211	Uncharakterisiertes konserviertes Protein (COG4276)	12130	12690	-
212	Vorausgesagte Dehydrogenase und verwandte Proteine (COG0673)	12723	13691	-
213	Protein der Subtilase-Familie	13945	16938	+
214	Glukosamin-6-phosphat-Isomerase 2 (EC 3.5.99.6)	17159	19120	+
215	Konserviertes hypothetisches Protein	19144	20781	+
216	Konserviertes Protein	20787	21620	-
217	Hypothetisches Protein	21772	23994	+
218	Alkalische Phosphatase (EC 3.1.3.1)	24130	26700	-
219	Hypothetisches Protein	26697	27170	-
220	Hypothetisches Protein	27188	27613	+
221	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	27722	28453	-
222	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	28629	31646	-
223	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	32024	32776	-
224	Hypothetisches Protein	32914	33165	-
225	Konserviertes Protein	33228	34661	-
226	Konserviertes Protein	34720	35898	+
227	Konserviertes Protein (hypothetisches Sensor-Protein)	35991	37482	+

GAGCAGCTGCCTGAGGAAGCAGGTCTTTCCCGCTCGCCGCATGCCAATGACGGCGTGCGCCTTGCCCGGCACCGCGGGGAGCAAGGCG
TCCCTCCGCGTGAGCGAGCTGGATGGCAACGGAAGGAGGGCGTCGTTGAGCTTCTCCCGAAGCGCGTCGAGCAGCGGCATGCCGGAAG
GGTAAACCAATCTGCTCTCCCGAAGGACAGATGTGCGATAAACTGGCCGCTTTGAGAAGGCCAGGAGGGTTGACGGGGAGTTACGTT
TGGGGCCACGGCGCACGGCGCCGCCGACCTTTGCACTCGAGCGTCTGAACGCCGCGCGTGACAGTCTGTCGAGCGTGATGGACATCG
TGCCCGGACCGGGCGGGGAAGCGACTCCGTGTCTCAAGGGTCCCGCGGTCTCGGCTCTCTGCTCGGATTGTGAAATCTCGCGCCGCCAC
TCACAATGACCCGCGCAGCGGGGGACCGGGCGCCCTTCTGGGGGCGCGTCGACCATCGGCTGATCTCTGATGCGGGCTTGTCCCGTCG
GTTGCACTGGCGGGTCCCGCGGCCGCGCCGAAGCTGGTCCGGAGGACGCCATCGCCGCCCGGCCATGCCCGCCGGAAGCTGTCCAG
CAATGACCGAAGCCCTCCCATCTTCAACACCTCCAGACGCTGCACCGACTCGGCGAGGGCGGATGCGGCACGGTCTGGTGTACCCG
AAATCTGTGACCAACGAGCTGGTCCGCTCAAGATCCCGAGAGCGGACTTCCGCTCGGCTGACGCACTCGCCCGCTTCGAGGACGAG
TGCGACCTGCTGCTGCGGCTTCTCGCCACGAAAACGTCGTGAAGGTGATGCGCTGCTCGGCGGCAATCGAGGGCGCTTGGCATCCT
CCGGGAACCGGAGCATTCTGGCCCTCGATGATGCTGCGAGCACCTCAGACGCGCGCGCGCCATCCGACCGAGCACCAAGCGCTGCCAG
CGAGACGCCCGCGTGATCGGACGGAACCGGGAGTCGGCGAGGTCCGCGTTCCGGCTCTCGAGATGGAATACATCGAGAAGGCCCGC
ACCATCCTCGAGTATGCCGATCGTCGGAAGCTCACGACGCGGATCGGGTGGCGCTACTCGCCGAGGCGTCCCGCGCGCTCGCCACC
TTCATCTTACGGGGTGGTGCATCTCGACCTCAAGCCCTCGAACATCTCTGTCGACGATGTGGAAGGGCGCCCGGTTCGACCTCGGGT
CAGCTGAGCTCGGCGGCTCCCGAGGTGCGCTTACCGAGATCTGCGGATCCGCTTACTCCATCGGCTTACCGGAGCGGCTGCCAG
ACGACCCGCTCGCCGAAACCTGACCCAGGCCAGCGACGTCTATTGCTGGGCAAGCTGCTCGCGGCGTGGTTCGCGGGGACGGCCT
CGATTGCCCTGCCAACACCGAATCACGGGACGAACAATCAAGGCTGCGCTCGACTGGCGGGCGACGCGGGTCCGCGACTTCTTCC
CGACATCGATCCCGATCTTACGACATCATCGCCCGCGCCACCGACCCCGAGCCCGGGAGCGGGCCATTATACGAGAGCGCCAGC
GACCTGAGCCGAGCATTCTCGCGAGTGGCTGCTACCGGAGTCTTTCGAGATTCTTCGAGATTCTTCGAGATTCTTCGAGATTCTTCGAG
GCTCCCTCTGGCGGCTGGTTCGCGTGGCTGTGCGGCGCTCTCGCCACCGGAATGTGATGGCGTGGCTACGGGAGCGTGGCGCT
CGCGGGGATCGCGCGATGTACCTGCCCGTCAGAGCACCGGACTTTCGAACAGCTCGTCTCTTTCAGATCCGCGCGAGCGATACG
CCGGAACAATAAGGCGGTAGCCGAGTCACTGGGCGCAAGGGAGTGACCTGACGAGCAAGGCAAGCGTTTCGAGCGTTTACGCAA
AGTCTCTCCGATTTGTCGATGCCGGTGTCTGAGCTTGGCTGCGACATCCGGTATCCGGAACCGGATCCGAGCGGCTGCGGCT
GATCGAGTTCTTGAACGAATCGTCGCGGCAACGGCACAAAGGCTGTACGTTGCTGGTACAGGATGTGTGGGCCAACCGGCT
CCTGCGTCTCAACTCGATCCTCGGCTTGAAGCGGTGGTGCATCCGGGAATGGGAGTTCCACTTGGAGGAGGGGGAGTCCGCGGGCG
TGTTGATCTGGAGTGTGCGGATCTCGGAGCGTCAAGGGGAGTCCGCTTCTTTCGACGCGAGCATCGAGGCGTGTCTGGCGGCT
CCGCGAGGCGCGTCTTACGTCGATCAGTACGTCGCCCTGCTGCGTTCGCTGCGTTCGCTGCGCGGATGAGATTCTCTGCTGCTCATC
GAAACGAAGGCGGAGTTCGATCAGCGGATCAAGGACCGGAGGAGCCCGCAGCGACAGATGCTTCGGGCTCGGCTCCAGGCAACCT
CCGCGCCTCTGCAACCGCGCAGCAGCAGCTCTGCGCCCTGATTGATTTGGATTGCGCGATCGAGCGGCCCTCGAAGCGGCCACCAT
CCCGCTGCTCGACTGGCTCCAGCTTGACGAACGCGAAGCAGCGCGCTCGCATCCGCGGCAAGTTGGTGTGCTCTCAACACCTCGAC
GGCGAGGACGCTCGAAGTGAAGGACCCCAAGCTGCCAGCGTGGCTCACGGGGCGCGCGCTTGGGTTCATGCTGTGCAATCGAGT
TGATGCTCCAGGAGGCGACACGAGAGCAGCCCGCGCGCTCGACACCTCATGGAACGTGTTTCGGGCGAATGTTTCAGGCTGCGTTT
CTGCTGCGGGACATTTCTGGGTGGCTCTGAAGTGGTCTGCTCTCGCGAGCGCGACGGTCCGCCCGCGCGCGGGCGGATCGAACAGG
GGGCGCGGAGTGCCTTGGCGTGGACGGCGCGCATCGTCTGATCTTACCGCTTGGACCGGCGTGAATCTTCGCTTCCGATTCGCTTTC
CATTCGTGCGCAGCAGATCGTGTCTCGGGGATCTTTGGGCGGTGATCGGGATCACCGGGGAGTCTGGGCGGCGTACATCGCGCG
CGAGTGGGAAACACTTCTGCTGCTCGAAGTTCGCGGAGGTGCTCGTGTCCAATCGTCTTGAATTCATCCGGGATTCGTTCTGCTGCG
CGCTTTCGCGGCTGCGCGCGCTGTGCAATCAGCTGCGGGACGCTCGAAGTGGCAGAGACGAGGAGTCTACTACGACATCAAC
GCCTCGTGCAGATTTGACCGGAACGGTCTTTCGACTTCGCGAGCGAGTTCGTTGGTTCGCGGATGTCAAGACCGCTGGAAGACGAAT
GCACCAACCGGCTGCTACCGGTACGTGTACGCGGATGTTCCGAGCGCGGCTCCGCGAGCTCAACGCGGACCATCAA
TCTGCTCTCGGGCACCGTCTACGTACCTCCAGGTTTCGAGCGCGATCTTTCGCTGACCGGGCGTGTCTTGGGCTGGACAGACTCC
GCCACTCCCGAGGTTCGGGTCGAAAGCATGAGCCTCTGTTGGTACCCGATCGTCTGATGAGACGATTACGGCGGGTTCGATGGAA
CGCACTTCATCGTCGAGGCGCGCAAGGATGTGACCGGTTCGCCATCACCCGCGTCTATCTGACGCGCCGGTTCGGAGCAGCCGAGT
CCACGTCCGCGACGACACTACGCGCTGACCGTCTCAAGGGCGCGAGCGCTACGCGGAGTTCTCCACGCGCAATCCGCTCCCGGTG
CCGAATCCCGGCAAGTTTCGCGACGTTCCCGAGCGGAAGATTTCGCGATCGTGACGATGGGCGCGGCGCAAGTATGTTGCTGCGGAG
CTGACGACGGAACGTGAACCCGACGTCGATTTCCGAGGTGCATGATGCAACTGAACCGCATTGGACTGATTCTGCTTCGCAAGCGTTGC
AGTGGTTCGCTTCTGTCGATTGTGGCGATGCGACGCCATCCCCCGCGATCAACCCGCGGAGCCGCTTTCGCTGGCGTCCCGCGCC
GGGCGGAAGTCTCTTCTGTCCTCAACACGGCCTTCAAGCCCGGTGCGAGTTCGTTCTTTCGGGACATCGACACCGCTGGAAGGTCG
ATCCGATGCGCGCGCAAGTGGTGTGATACATCTACAGCGCGCGTTCCTGCGCGGATGCGGAGATGAAGTCCCGTGACGATCGACCGT
CGAAGTGTGGCGGATCGGTCTACATCTGTCGCGCTCGAGAGCGATCCGCCGACGTCGGCGGAGTCTGGTCTCCGGTGGTTCGGA
CCCGCGGCGGTGGCGCGGTGGTGGTATCCAATCGTGGTCCGAGGCGCGGTTTCAGGACGAGCGGATGGCAGCATTTTCATGTCGAGG
CTGTTTCGCAACCGCTCCGATCAGCCGTCAGATGACGCGGCTGTTCTCATCGAGCCTACCGTTCGCGAGCAAGCTGTACAGCAG
GACGATCGCGCACGAGCGCAGTGTGCCCTGAACACTCTCACGGGTGAGGAGCTGTGCTGCGATATCCGAGCATCCGCAAGCGAAGCGTGTG
GTGGCGCCCGTCCCGTTCGGACGGTTGACACCTCAATCAGGTCTGACGGCCTCGGAGGAGCGGGCCAGGCGCTGGCGACTGCGGT
AGCACTCCAGCGAGGTTGCTCTATCTCTGCTCGCTGCTGCTGATTGCGGAAAGTACCTTCATCGCTCGACCGCTTCTGCTGCGCT
TCACTGAGGACTTCGGCATCCGCTGGTACGGGCTCGGCTACCTGACGGGCTTCTCTGTTGGGCTGGTATCTTGGCTGGATGTGCGC
GACTGGTTCGCGCGCGCTCTCGGTGTCGAGCTTGAAGGCTGCTTCGCGGATGATCCTCGCGGTGCTGCTGGGGGAGCGGCTGGG
CATGTGCTCTTCTACGAGCCGACCTCTCTACAGTTACCTCGTCGCCGCCCTGGTGGGAAGTGTGCGCGTGCATCGCGCGGCA
TGTGAGTACGCGCGAATTTCTCGGGGTGGTCTGCGCGCGGTGTTGTTGCTGCGACGTCATCGGATCGATGCGCTCCATCTCTCGA
CCTCATGGCCCTCGCTGCCGATCGGACTCGGCTGGGGCGCGTCGCCAATTCATCAACGGCGAGCTGTGGGACGAGCGCTTCCC
GAGCGATGCGGGCGCGCCACCTTGGTGGAGCATCAAGTACCCGAGGAAGTGTCTCTCGACTGTTTCGATCCATCGACGCTCGGCC
CGATTGCGTTGCTCTGTCGATCCGACGCGGCCCTCGCGAGGCGGTCCACTCCGCCGTCGTCGATCGGGCGCGAGGATGTGATTGCGAA
GCTCACCCCGCTCTGACCGCGCACTACCCCTCGCAGCTCATGACGCGGCCACCGACGCGCTCATCTGATGCTGGTTCTGGCCCTG
GTGTGGTGAAGCCGCGGAAGCCGGGAGCAATCGGCGGTGTCATCTCTCATCCTACGAGTGTGCGATTACACAGAGCAGTTC
GCGAGCCGAGCAAGGAGTGTGCTGCGGATCGATTGGCTCACTCTGCGGATGCGGCTGAGCAGCGGATGATCGTGGCGGGAGCCCTCTA
CATCTTCTTGAACCAATCGGCGCGAGTGTCCCGCCCTCGGCGGTTTGTGGAGACGAGCGGGCGCGTAGCGCTGCTCAGCAACGGCCGAG
CAGTCTGCTGACGGGCTTACGTCGATATGCAAGATCCCTCGAGCTCGCGGTCCACGATCAGTCGATGGGCGATCCGCGCACACGGC
GCCGATAGTGCACCTCGATCGACATCAGCGTGAAGCGGCGTCAAGCTCGAAGGTGTGTTCTGTTGCGCAGAGGCGATATGGGCCG
GACGCTGCTGCTGCGAGCAAGCGAGGAGGCTCCACGCTGTGATACGCGGTGCGCCAGCGGATGCGGCTGCGGCTGCGGAGGAGCG
ATAGTCGATGAGCGTGCCAACGCCATGGCGATCGGTGCGGGGTGAGGACCGTGAAGCGAAGCCAGGAGGGGTGATCGCTTCAAGA
TTGTGGGCGTTCGCGCAAGAGGGGAGACCTCGTCAGGTGTACCCGGGAGTTCGTTGGTGGCTGATACAGGGTGGCACATCGAAACC
GGGGGTCCGACTCGGCGGGATGCCGCGGCGCGCGTACGGACGCACTGTCGATCTCGGACATGGGCGAGGTTCCGCCCCGTCCC
GAGTTTCGATTCTCCACGCAATCTCCGGAAGGTACCGCGCGCGCTGAGCCATCAGACTCGCCGCTCCGCTCGAGGAGCG
GGGTGACGGTACAGGCTCTCAAGGGTGGGAGCCCGTTCGATTGCCGAGGCGATTGCGGTACCCGCGCGCGACTTCCGCGTC
GTATCCGCCAATCGTCGGAAGCTCGACCGGCTCGCTGCGATACCCACGATGGAGCGTGGTCTGCGCGTGGGAGAGATCGAACTCG
CGGTTGCGCTCTCGAAGCAGACCAGATACTGATGCGGAATCCGCGGCTTGGCGAGAGACTCCAGGCTCCCTCCGACTGACGTGGG
AGGGGCGTGTCTGTCGAGGAGCGTGGTCAAGTGGTTCGAGCTTCCGTTGGTGTGACGCTGTCGAGAGGTCGGAAGCACAGGT
GACGAAGTCGACATCGTGGATGTGAAGATCGAAGAGGGCTCCGCCGCTGCGAGCTTCATCCGCTAGAAGCCGCTCCACGAGGGTGCC

GAGCCCAGCCGTCGAAAGGAGGCGCTGCGCACCCGGTCCGAACCTCGCCGGTCTCGATCCGGCTCTTGAGCCAGGTCCACCCCGGCCAGA
AGCGCATGCACATCGCCGGCATGCACAACCGATCGGTGGCCCGCGCCCTGCAGGAGTCTGTTACAGCTCGGCGCTGCGCACGGCAAC
CGGCTTCTCGACACGACGTGCTTCCCGCGCGCAAGCGCGCGCATGGCCAGGTGCGACGTGGGTGCGAGTTCAGGTGCGAGATGTGGAGC
AGGTGACGACGAGGAATCGGCGAAGAGCTCCGCCGGGGTGAGATGTCGCGCACCCAGGTTGGATCGAAGAGAGGCTCGTCCCCGAAG
GAATGTTGCCGGTCTTGTGCGCGCTGTGGGGGACTCCGCCGCGGAGTCTCGGATCACCGTCCGAGACCGCCACAGACGGCAGGG
AAGCCCGGCGTGCAGCGCCGCCGAATCGCCCGATGTGAAGCCGCCCATGAAGCCAGTCCGAGGACCCGACCCCAATTGGGCA
CGTGAAGAGCCGTGTGAAGCCATAGCGGAGGAGCGTAGCGACGGCGCTTGAGTTTACCCGGCGCTGCGCGCGCCGTTACCGCTTC
GTTTCATGGACGGGTACACGCTGTGACGCTGGTGCCTGCTGACTATTCTCGACCCGACAACCTCGACCCGACAACCTGGGCTCCC
AGCGCATGGTTGCGCTCCGGGCCCTCGGAGGACTCACTCATGACGCTTCAATTAGGCACCCCAATTAGGCACCTCGATTATC
GGGGCGGCTTGCTGCGCGCTCGATTACTTCTGCTTCTCGGCACAACGGCACTCGGCCAAGCGGCGCGCGCGCTCCCGCGGCG
TGCTGCGCAACCGCTTCTCGAGCACGGAACCGCTACCCGACGCTACTTCAAGGAGACCGAGACGCTCCGCTCGACTCGACTCGGCT
GGCTGTGATCGCCCGGACGACAACGCGCCGCGCTTTCAGGAGCGCTCGCCGACCTCGGACTCGGCACCGACTCGGCGACGGCC
TTACCCATGGCGACGTCCATCTCGTCAACTGCGGAGGAGTTCGCACTGCTGACGGGTGCGCACGCGCTCGAAACCTTCCGG
GCGATCCGCGACTTGCTTTCGTCAACCCGGTGATGCTCGATCAGCATGGTGGGCGATCATCCGCTTCCCGAGATCTTCTGCGGGT
CGAAGCGGCTGCGCTCGCCAGGCGACCATCGCTGCGCGGCTCGGCTGCGGCGAAATCGGCTGCGGCGAAATCGGCTGCGGCT
AACATCCATCTGGTCACGCGGAAGGCCGCTGATGGCGTCTCGGCCATTGCGCGCGAGCGGCCCTCTCGATGCACCCGCTGGTCCGCT
TCGCCGAGTGCAGACGAGATCTCCGCGCTACGGGGAGTTCGAACCGAAGCATCTGGCTTCGACGACTGCTGGTACCATTCAACGA
CGGTGCGGACTGGTGGGTGCGGACATGGAGCTGAACAGCCCGAAGCGTGGGACGTGAGACCGGAACCTCGTTCGATCATCTGGCG
ATCTGCGCAACCGCTTCTCGAGCACGGAACCTCCGACATCTGCGCTGCTGCGCGCGGCAACGCGCGGCAACGCGCGGCGGCGG
GGACCGGTGATCCGATCTTCAATACGACAATCACGGCACGCGCGCTGCGCGGACTCGTCTCGGCGATCATGAACACCGGCTCGGATC
GGTGGGAGTCTGCCGAGCTGCCGCTCCATCTCGATCAAGATCGCTACGACGACGACGCGCGGTGGGTTGGACGACCCAGGGAAGC
TGGGTGCGGACGGCCCTTTCGAAGCGATCAGTCGAATGCGGACATCACAATTCGAGCTTATCATCGGAAGCTCGGCCACGCTGA
CCAACTGCGTACGCGGACATCTCCGTGCTGCTGCTTTCGCGCGCGGCAACGCGCGGCGGCAACGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CGACTATCCCTCGAGCTTCTCGAGCGTGCAGGCGGTGCGGCTCTCGATCAGGACGGAACGCTGACCAGCTTACGAACTGGGGCACC
GGTCTCGATTTGCGGCGCGCGGCGACGGGCTGTACACGACCGATCGGACTGGCACTGATGGCTACGCCAGCGGCAACTACACCTACT
TTGGCGGCACTTCGGGCGCGTTCGCCGATTGCGCGAGGCGTGGCGGGACTGATCTGGTCCGCCAACACTTCGACAGCCCGCTCAGGT
TGTGGCCGCACTTGAAGAACTTCGCCAAGAACTTCGGCGCGCGCGGCGGACTGACACACCACTACGGCTCGGGGATCCCGCGCGGACG
GCGGTGCTCGAGGTGCGCTTTCGGCGACGAGTGCAGCGCGCGCGGCAACTGCTACGACGCTACGACACCGGAGGCTGTTCAAACACGG
AGTGTGCTTACGATCTGCGCCAGGATGCCTACTGCTGCAACACAGTGGGACGGAATCTGCGTGAACGATGCCATCACCCCTCTG
CACCACCTGCGGCGAGGCTCGGCGGGAAGCTGCTTCTCGACCGGCAACGCTTCTGTCGACGATCTGACCTGCTGCGCGACGCTGCG
GAGTCTGACAGCTTCTGCTGCAACAACTCGTGGGACGGCTCTGCGTGAGCCGCGCTTGGGACATGTGCTTCCCGAAGACGACACT
GCTCGAAGCGCTCACGCTGACACCGGCGTGCCTTCTTCTCTGACGGTCAACGCCACAGCAGCGGTCCCGATCATGACGACTG
CCTGTATTTTCGGAACGACTCGATCAACACGACATCTGGTTCAACTGGACGGGACCTGCAACGCTGGATGACCGTGAACACCTGC
GGCAGCGGTGCGACTTCGACAGCAAGATCGCAATCTACGGGCGGGGACATCTCGGTTGCTGCTGCGCGGCGCGACGCTTCTGCGGCGCC
AGCTTCTGGGATGTGCGGACGACACCGAGTTCGACGCGCAACACCGAAGTCTCGGTCGCGGTTACTCTCGGCGACGATGCTGCG
GATCCGGGTGCGTGGCTACAACACCGCGGATGGCGAAGGACGATCTCTGCTACCTGCGGCATCCCCAACGACACTGACGACGCGG
ATGAGATCTTCGACGCGCTGACCAACTTCTCGACGGTGGCGCGCGCAGCGAAGGACTCAACGTACCGACTGCGACGAGCGCGGA
GCTCGACCATCAACCGGACATCTGGTTCTGCTACGAGGCGACCTGCGAGCGGACGCTGACCGCTCAGCAACGACGCGGACTA
CGACAGCAAGATCCCGGTGATGAGCCCACTTCTCAGCGGACTTCCAGTCTGCTGCGGAGTGTGTTGCGCGGATCTCTCGTGGG
TGCAACGATGACAGCGCTTCTGCAACGACAACGCTGCATCTCGAAGTCTCGGTGACCGCTGCGAAGTCTTACCGCATCCGCGTGC
GGGCTACAGCAACTTCTCGGTCACGGCACACTCTGTGTGAGTCTGCTGCGGTGCGCGGGAATCTCAATGGAGACGGGTTGGT
CGATGGCGCGATCTCGGCCAGCTTCTCACGAGTGGGAGGCGAGCGGAGCGCGACTTCGACAACAACAATCTGTCGATGGCGCC
GACCTTGGTGTCTGCTGAGCAACTGGGGCGGTGCGACTGAGTTGAGTGGCGACCGGGTTCGCCGACGCGATCGCTGCTGCTCTCT
CCACGTGGGACGACGCGCGCTTTCGAGCGCGCGGGCTTTCGGAACCGCGCGGTGCTTTCGCTTTCGCGGAGAGCTTCTCTGTA
GCCGCGCCGATCTTCTGCGGGAATGACGCGCTCCGCTCTTCGACAAGTCTATCGGACAGCGATCGATTCCGGAACCCCGATTGT
GGTACGCGCCGAAGCGATCTCCCGAGCGCTTCCGGTGGCGGTTACGCGGACAGCGCGCGCGGCGAGCGCGCGGCGAGGAG
ATCGCCGCTCATCCGCGAGCGCGCGCCCAAGGTGCGCGGCTGCTCTGCGCTGGCAACCGGATCGACGCCACAGGCGCTGACG
AGGCGCTGCTCGGCTGATCGCAAGAGTCTCTCTTCCGGAACGTCGACAGCTTCAATCTCGAGGATCGGCGGATCTCGGCG
TGATGCCCTCCAGACTACCGCGCTTTCATGACGAGCATCTCTTCGATCTCTGTCGACATCGACCCCGCGAGACGATGTGCCGAT
GGCTTGGTCCCGCGGAGTTCGGTTCGACGATCGGTGGCGGCTTACGACGCGGCAATCGCCGACGCGGCGGATCGACATCCAGCTTC
TCGGCATCGGCGCACCGGTTCATGTTCGGTTCAACGAACCCGGATCTCGCGAGAAAGCCGAGACGCGATCATCAGCTCGATCGCT
GACCCGATGGATGCGCGCGAGCGACTTCTTCGGCGAGCGACGTCGCTCGACAGGCGATACCATGGGTGTCGGCACCATCTCTCGAA
GCCGCGCAGATCTGCTGCTGGCATTTCGAGAACACAAGCGCGGCTGTCGAGACGGCGGTCGAAGGCGAGGTGACGCCACTCTGTCG
CCGCGAGCTTCTGCGAAGCATCTCTCGGCGAAGTCTGCTCGACCGGCGCTCCGCGCGGAGCTACTCGGTTCAAGACGCGGTG
GCTTCTCGGCGCAATCGGCCAGTTCGGTCTGACTGGAACGAGTTACGACGCGCGCGCGCTCATCTGGCTGGCGACCATGGTGAAG
AAGCGCATTTGAAGCTCACCGACGAGGACTACAACGAGCACCACTCCAGGAGTGGTTCGCGGCGCGCGGCGGCGGCGGCGGAGATCA
ATCTTGAGGTGTTCCGCGCCCTTACGCGGACCATCACTGGCTGGCCAGGTGGCCGGGACCCGCTGCGGCGCGGACAGCAACCGCGA
CCGAACGCTTCGCGGCGCGCGGCGATCCGTTCCCAAGCGGATCGTCTCTCAGTCTCACCCGACGATGAGTGTCTCGATG
GGTGGCACACTCATCCGCTCTGCGAACAGGGCCATGAGGTGACGCTCGCATACAGACGAGCGGAACATCGCGGTGTGGGACGAGA
CCGCGCTCGGCGCGCTGACTTCTGTCAGGAGTTTCGCGACGATTTCCGCAACTCGGGAGCGAGTTTGGCGAGCATCTCGAAGACAC
CATCGAGCACTTCTGTCGCGGAAAGTTCGCGAGGCGAGTTCGACGCCCCGAGCTCCAGCGGGTGAAGACCTTGATCCGCGCACCGAG
GCCGCGGCGCGCGCGCTACTCGGCGCTCGACCTCGAGCGAATCCATTCTCTCGATCTGCCCTTTTACGAGACCGGCGGGTTCGCA
AGAAGCCCATCGGTCCCGACGAGTCCGATCATCCGAGCTCTCTGAAACAGGTGCGCCGCGAGCAGATCTATGCCGCGGCGATCT
CTCCGACCCGACGCGCACCGCGTCTGCTGCGAGGCTTCGCGGAGCATCTTCGAGGCGATCGCGGAGTTCGCGCGGCTCCGCGGAGGAGTGG
ATCCGGCACTGCACGCTCTGGCTCTATCGAGGGGATGGCAGGAGTGGGACCCGAGGAGATCGAGATGGCCGTGCGGTTGTGCGCTG
ACGAAGTGGCCCGCAAGCGCTCGGCGATCTTCAAGCATGAGAGCCGAGGAAGACACGGCGCTTTCGCGGAGCCAGCGACGCCCGGA
TTCTTGGCAGCGGGCGGAGGATCGCAATCGTGCCACCGCCCGCTTACGACGCGCTCGGTTTGGCCGAGTACGAGGCGCATCGAAGGA
TTGCTGCGCTCGGCGCGGTTGAACTGAAACACCGAAGGAACTTTCATGACTGCTTACGACGCTTACCCGCTACCTGGCTGCGCT
CACCATCTGGCGACGGCTGCGGTTTCATACCTGACCTCGGCTCTCAGCATGCGCGGCGCCACCGGTGCGTGGCGACGCGCGGCG
GCCGTTGCGCGGACCGCGGCTCCCCGACCGATCCCGCGCAACGCGCGCACGCGGATCAAACGGTTCTGTCGCGACGTGGAGCGCGGAGA
TCCGCGTGCCCGACAGGGGCTGGCGTCTCGATCAGCATCGAGGCGGCGCGGCGGACCTCGGGGACCGACCGGCGCTGCGCGGCAC
CATGCGCATCCCGTGGCGCGGTGCGGGCGCGCCGCTCGACGCTGACTTGAAGTTCGAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCG
ATGCTGATCAAGGAGTTCGCGGCAACCCACGTTTCGCGGCTTACTCCGAGATGGTGTGCGGAGCGGCGGAGCTCGAGGCAATCG
AAGGACAGTTTCGAGCAGAGCGCTATCGACTGCCCTTCTGCTGACCGCGGAGCCCTCGCACGGAAGGTGCGCCCGCAGGATCCGCT
CGCCCGGCTGCGCTACACCGAGTTGAATCAACGGCGACCCACGGCGAAGGAGACGGCGGTGCTGCTGCTCTCGGCACACTGACTGTT
CCGCGCGGAGCGGCTCCCTTCCCTGCGGCACTTCTGCTAGCGGAAGTGGCGAGCAGAAACCGCGAGGAGCTTCTGATCATCGAC
CCTTCTGGTGATTGCGGACCATCTACCCGTGCTGGCGTTGACGTGCTCCGCTACGACGACCGCGGGTTTGAAGTTCGACCGGAC

GC GCGGGACCCATCGACCCGTCCCGCCTCCGGGCGTATGTGAATCGAACAGCCGAGGGGGCGAACGTACGGTCCGCCGCGACGGGA
CGGGTCCGGGCTTCGCCAAGGTTTGACGAAGATCGCGCGAAGGGCAAGGTGATCGCGGATCGATGCGATCCCGTCGCCACGATCCGCG
ATGTCAACCGAGTCTCTAGTGCCGCATGCTCACTCGAGTCCGCCCTTGGGCGGAGCCCGATCGACCGAGTGGTGAACCCGCGTGAAGG
ACTCGCCCGCGTGAGCCCGGCATGGCACTCGAGCGGGTTTCCGATGCCGCGAAAGCTCGTTAGGCTTGCCACCCAAAGGCGTGATCACT
CTGCGACGCCACTCTCTGCGGCGTCTCCACGCCCTCTTGACGTAGCCGCTCATACCTCTGACCCAACTTTGGAGAGAACCCCTCATGCG
CACGCTCACCTCGCCGCGCCCTGATGATCGCCCCGCTCGCCCTTCCGATTGGGATGACTGGTTGTGAATCGACGTCCAGCGTCGGG
TCACTGGCACAACCTGAATCCCTCCGAACCTCATGTGCGGCTACACCTCGAAGCTCGGCGACCTTGGTGGCTGCTTCCGCGGTGAAGG
ACTCGCAGAGCGCCGCAACTGCTCTCCCCAAGGCGAAGGACCTCGTCAACAACCTCGGCTCGTACGCGGAGAAGATCAACGCCCTTCC
GCCGGGACAGGTGCGACTCGTTGATGACGCGTACGGCGGCGAGTCCGATCCGGCGATGGCCAAGGTGCGACGAGCAGATCGCCCGTCTC
GCGAATCAGCCGACGTACGGCTCGGCGTTGAGTTGCGGCGTGAAGTTCGATCCCGAAGCTCGGCGCGTGAGTGTCCGTGCGCGAGCTGT
TTCGGCATCTGGATCGAGTTGAACACGACAGGCCCGCCGCGGAGAACCTCGGCGGAGCTGTTACGTGAAGTGCACGCTCTCGCGGTGCG
ATCAGGTCCAGTTGCTCAGCAGAAATCCAAAGATCCGCTCCATCGACCTGCAGGTGCGAGTTGAGATCCCGGAGGCACTCCACGTTTGG
TGCAAGCACAGCCCCAATTGGCCAGCAGGGCGCCGAGATCGGCTCCATCGACGATGCCGTGCTGTCGAGGTCCCTGGATAGTTG
CCGCTGAACATCATAGAGATCGATGAGCGTCAGCGGACCGATCGGGTCCGCCACCGACGGCGCTGATGGTCTGCCGGGGTGTGGCTC
GAACCGCTCGGTTGACGAGTTGAACACGACAGGCCCGCCGCGGAGAGATGAAAGCTCGGCCACCAAGGATCGGCAATGTCAG
GAGCGGCTGGTTGACTCTGCTGCCATGTCCAACCTCGCCCGGCGGCCCGCGGATTTGAATGATCGGAAGCCCGAACGGCGCTGCGGTG
TAGTTCCCGGTGAGATACGCCACCTTGCGGCTGTCGAATTCGATGAAGGCTGGAATCCGGCCGCGGAGTGCCGAAGGGGATGTCCG
ACATCTCGACGAGCACTCGGAAGACATCACCTGGGGCGAGGCGAGCATTCCATCGGGGAACGCCAGCTCGAGTGTGGTCCCGCCGCC
GAGCGCATCTGGTTGACGACGACGCGCCGCTGATGATCGGCGGAGCTGGGACGACGATCACTACGAGCGGCGCGCGCGCGCG
GGACGTTGAACCTTCTGAAGTGAACCGCATGAATCGAATCCTCTTCTCGATGTGGTGAACCTTCGCACACGACGCGCGCGCGCGCG
CTCATGATCCAACGAATCCAGCTGACCCAACCTCGTACCCAGCAACGCTCCGGCGCGAGCTTTCGCCCGCGCGCGAGCAAGGAGACCC
TGGAACGCGAATCTCACAACGTGGACGCTACTGACCACTGATGAACAGGGCGACATCGGTGGAGTTCGACCCATCCATCCGAATTCAG
ATCAGCGCTCGGATTGGGATATCCAGCGGACGACGCTCGGACCGATCGGACCCGATCGCGCGCTGCGGCGCGCGCGCGCGCGCG
AGCGGGAGCGGACGACATCCGGAGGCGTCGAACCTCGAAGAACGACACCTGGATGAACGAGAAGTCGAGCAGCTCGACATCTGCGTCGC
CATTGAAGTCGACGTTGAACCCGACGTGACCGCAGAGCGTGTGCGCACCAAGGCGAGGTGTGTACTGACCGACATACGACCCGAAGTC
GAGAATGTGATGAAGGTGTCGCCGTTGGCGTTTCCACCGATCAGGCGATCGCCCGGATCGCTGATGCTGACCTTCAGGAACGACGCT
TCGTACCGCTCGCGACCCACGAGACGAGGTCGAGGTCGAGCAGCTGTGTTTCGATACGAGCGCTGACACAGTGTGAGGTAACCGCAGCG
CCGAGCAGGGCACCTCGATCGTGCCGACTCCGATGCCGCTGTTGAACCTCCAGCTCGGCGGTGACGATCGTGCCGCGAGTCGAGATCAAA
CTCGATGACGCGGTGAAGGGACCCGGATCGATCCCGCCGAAGAGCTCTACTTCAACGTGAGGAGCGTGAAGGCGAGAATCTCGACG
GCTGATCGAGGCTCGTCTCGTTGCCGCACTCGTCGGTGGCGGTCCAGGTGATGATCGTCTCGCCGCGCGGGTAGGGATCATTACGGG
CCATCGCGCTCGTCACGACGCGCCGACGATGGTCGGCGCGGATCGAGTTGCTGCTGGCATTCGGGTCCTGTCATCGTCGTTGAATTTGTC
CCAGTGGATGTCTAGGTGACACCCGCGAGCTTGTGTGACCTGGAGGATGGTGTGCGGATCTGGACCGATCCGTTGGCATCGATC
GACACCGACAGATCGCCGACGGTGTAGACGACATCGGTGCCGACGATGGCGATCTCGAGGTGTACCACGCGTCTGAGACGAACCCGG
TTGGAAGCCCGAGATCGATCCAGACGCGCTTGTGTGATCGCAGCGAAGCGGGGAAGTCCGGTGCCCTCGGCATTGCTCGAGAATCCAT
GATCGGGTAGAGGAGATCGCGTTCCCGATATCGAACCGCGTGCAGGACCCGCGCATCGCCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCG
GGCACATAAAGGTCGATCGACATCGACGCGGAGCGGGAGTGTGCAACTTCCGCCCTGGGTGTTGTAGAAGGCGCGCTTGAATCCGC
CTGGTCGGCAGGGTCGCGAGTCGGCGGCGTTGATCGAGTGCCTGAGTCGATCGTACCATCGAAGAAGGCAATTGTTGAACCCGAACGG
CGGAATCGGTCCGTGTACAGGTGCCCTGGAGCCTGGAGCGCGCCGATGACACCGGATCGGTGAACCTCCTCGGTCTCGAGCCGTAG
ATGTGACGACCGCGAGCACTCGCCCGGTGCGAGTAGACGCTGATGTCGCGCGGAATCGGTGACGAGCGATCGTGAGGTCGATCCGAGA
CCGTGATGATCTGGTCGCCAGTGCCCTCGTTGCCGAGATCTCGTCTGCCGTCACGTTCCGGGTGATCATGTACGACGCGTTCGACGCG
GCCGGGCGTGATCAGTCTGTCGATGATGTCCGAGCGCCGTGCGAGGTGTCAGGGGCGGTGCGCGTTCCGGTGTGGCGGGAAGC
GTGGAATCGTCGCACTCGATCGAATCGTCTGCCGGGACAGCCAGCGCGGGGCGTCGGAGTCGAACGTGACCGTGGCGAGATCGGTGA
GGTCGGGATGATCGCCGTCGAGAATCATCGGTACCGTGCTGCGGACGAAGGGCGCCACGCTGAAGGAGACGCGCTCAGCGATGCT
GCAGGCGTGTGTCGTCGATCACCTCGAACGTGATGACGGCATGTGTGGCATCGCCGTCGTCGCCGATCGGCGACGCTCGGCCCAT
GCATACTGGAGCAGCCCGGCACCTGGAACCTCGAAGATCTCCAGCGGGAACGGGGCGCCGATCGACGAGTCCGGCGTCCGCTGACGA
ATTGGAGAACGTTATCGTCGTAATCCAGGAAGAACTGGCCGCGGACGATCTCGTCGGAGCGGTTGCCGGTGAGTTGACGCGTCACTTC
GACCACTCGCCCATCGCCCGCGTGTAGCAGGACTGATCGGCGAGGATTCGAAGGGCTGAAGCGGGAAGTCTCGAGGTTGACCGTG
GCCACCGAGGCTCCATGAGCTCGATGCGGATCGGTCGATCGGTCCTCGGAAGCGGTTGCCCGACCCCGTCGCGAGGCGGATTTGA
AGAACGAGATCTCTGACCTCCGATTGGCGCGTAGGCGCCGTTTCAAGTTCATGCCGAATGGGATAGGTGAGGAGTTGGAAGGCGTC
GAGGAAGGGATCGGTGTAGCCGCGGAAGTAGTTGGGCGTGCCCGTGAGTTCGTAGAAGCGCAGCGGTTGTCTCCACCCGATCGCTC
ACCCATCTGTTCCACGTTGTCGAGGGCGGTTGAGACTGCTGAGAAGTACGGCTCGGAGTTGATCCGGTGCCGCTACACGCTCGCC
CGCTGGGATCACCCAGTAGTTGTGCGTATGAACCTGGAAGTCAACAGTGCACGAGTCTTCAAGGCGAGCTTCTTCAAGGAGTCTTCTGCAAGTACGCT
GACGCTCGCGAGCTCGGAGACGAGGATGTGTTTTGTCGTCGAAGAGGACCATCGGATCGAGGATGATGCTGGTGAAGAGCGCGGACCA
GTCACGTTGCGCTGCCACGCGCCAGTGCCGTAGCCGACGCGGAGTCCGGCGAGACGCCGAGCGCAAGTCCCTGAAGCCCCGGGT
AGTTGGGTAGTAGGTGAGATTGGTGGTCTGCGCCCGCTCAGAGGGGAGCGCAGAGCGGAGCGGACCGCGCGCGCGCGCAAGAA
CGGCTACTACGATCGAGTCACTGACGTGAATCGTGCTTCCATCAAGGCTCATCGACTGTCTCTTGGATTAAAGCTCGGACCGCGG
ATCCTCGATTCCGCACGATCGCCGGATGACTCCTCGCGCGCACGGCACAAACCGCGGACGATGGAGGGCGTACCAGTACCGGTC
GAATCGAGCTCCCTTGCCCACTGAACAGCTGCGCGCGCGGACGCTTTGACCGACTGCGCTCCGACCCGTCAAGGCGCCCAATTTCA
GGCGTCCCGAATGGCTTGATGCCCGCGCGGCTTGCACTCCCTCCGATCTATCCGACGCGGATGTGCGGAACGGCAGATCGTGTTT
TGTTGCCCAAAACCGCAACTACGCCGAAACCAACCGCAACCGCTTCGAGACGAACTCCGCGCAACCGATTCACCTCAACCCCA
GGCGTGTAGCAGCAGGCCCAGGTGCGCGCGTCCACGACGCCACTTTCATCAAGATCCGCGTCTCGTCCGCGGAACCCACGCGCG
AGCAGAAGCCCGAGGTCTGCCCGCTGACCGCACCGTCAAGTTCGAGGTGCGCGAACACTCCCGAGCAGTTGACTTCAACGACACACC
CGAGCAGGCGCGCGGTGATCACCAGTCCGGGACGACGCGCTGAAATCACTTTGGTCTGCCACCGGAATCGACCGGCTCGACCACCG
GACTCGTCCCGGCGCGACCCCTTGAATCGCAGCGTGGTCAGCAGGTTCCACTCGAGCTGGCAACCGTCTGACGCGCGAGCTGTGCG
AGCGCGAGGTAGTCCCGTACCATCTGCGGCGGGATCACCTCGTTGTGACCGGTGCGGTGCTTCGAGGAAAATGGATGCCAGCA
GCCGAATCGCGCAACATTTGGTCAGCCCCCTGAGCTTTACAACAAGCGGTTCCATTGGAAGACGATCTGGGCGAGCGGAGAGGCCAC
GAGTTCGCGGTGCGTGAAGAGGTAGACCCCGACCGACGCAATCTCTCCGACCTCAACCGACTGCATTGCCGGGAGGAAGTGGATGCCA
ACGGCGGAATTCGCGAGGTGCAACCGGACCGGCGGAGGACGAGAGCGGAGAGCGGAGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGCGCGCGCGG
GAGTGGCATTTGTTGAGATTTGCGGTGTCCCTCGACCATCCGACCCCCCGTCCGCGACTTCACTGGTTCGCGACGCGGAGAAGCTAC
CAATGCTCTCGGGAGTGGCAAGCGCGGCTTGTTCAGATTGAGCTTCCCTTTGGGTGAGTACCCAGCGGCACTGCGGTGAGCTCGTCA
CTCAGCGCGCCAGCGTCGATTGATTGCACACTTCAAGCGGCGCACTCTCGTGTGCTTCCGGGACCCGACGTCGAGAGGCGCAACACTC
CGGAGCTTGGCACCCAGGACAAGCATGGTGAGCAATCGATCCGTTGAGCGGCACTCGAGAACGTCGCTACGAAATGGCCCGGTTGGG
ACTCGAACCACACGTCGATGAAGGACCGGATTTTAAAGTCCGCTGCGTCTGCCGATTTGCCACGGGGCGCACGACAGCGTCCG
CTCGCGGTGCGACGACGTCAACTGTGGCCACGAAGGCGCGCGCGCTGTTACCCCGCGCGCGGTGCTTCCAGCGCTTGAAGCAT
TCGGTTTCGCGCTCACGAGTCATACCCGAGGGCGAAGACGGGCTTCTCGTGGGCTTGGTCCGTCGATCCAGGTGTAGATGCCGCG
GAATGGTCGATCAAGAGAACGGAACCGAAGTCCCGCGGATTCGCTTATCGAGCTTCACGTATGAAGGCGCGCGCTGCGCTG
CGGCGGATCCAGATGGGCGATCACCGCCCGCGGAGCTCCGAGGCTTGGAGGAAATCGGCCGCGCACCCAGTCACGGTCTGTGCG

ACCAGCTTGCTCTCGCTCGAACCAGAACCAGCGGTCTCCTTCGCGACGCGGATGCTCTCGTTGATCACCTGTCCAATCGTGCCCGGCG
 GCTTGGGACCGGTGGCGCTGAAGAGCCCCGACCACCTTCTCTCGGCGCAGAGCACGATCCACTCGGCGAGATCGCGCACGTCGATCCA
 CTGCACCGGATCTCGGGAGTACCGGGGCCAAGCATCTCGCCACCGAGACGGGACGAGCGGCGCAGTAGCTGAATCGCCCGGTCGAG
 TCGCCGGGGCCGACGATGAAGCCCGGTGGATGTTGGCAACGCGACAGGCATCGCCGCTCGGCGGCTGCTCGCAGAGAGCCTTCA
 GGCTCCGTAGTTCTTGAAGCCATCACCCATGGTCTCGACCGCCGGATCATCGAGCGTCTCGACGGGGAAGCTCTCGTTCGGAATTGCG
 CGGCGCGCTTCTTGAAGGCGCTGATGCTCGAGATGTAGATGTACTGACCGACCTTGCCCGGAGCAGTTCGGCAGAGGCCTTACG
 TGCCGCGGTAGTAGCCGCTGTTGTCGACGACGACGCTCCACTCGCGCCCTTCGAGCGACTGAGTCCCTCGTCTGTTTGGGTGAC
 GATCGCCACGACGCTTCTCGAGGTGCGGGAAGAGCTCGGGACGAGTCTTGCCGCGATTGAAGAGCGTGACGGTATGTCCGCGGCTTG
 GGCGCTTCAACGACCTCCGGGCGGAGGAAGGCCGTGCCGCCGAGGATGAGAAAGCGCAGCGGCTTCGCCGCTTTCACGCGCGGCC
 GGAGCGCTTGCGGCGCGGGTTTGACCTTCGCGCCGTCTGCGCCCCGAGGGCGCGGTGACCGAGGGCGAGTCCGGCGCGCGCGGAG
 TCGCGAGGCGACGAATTACGCGGATGAAGGGGCGCTGAGGAGGTGTGACATGAAAGGATGTCTCGTGGCAAGCGGGGGGGGGA
 AGGACGATCTCGCATTGCGAGCGACGCGTGTCTGGCCGTGACCGTACCCCGGAGCGGGATCGGCGGAGTCTTTCGTACGTCCTCATG
 CTGGAGAGGTTGCGGCGAGAGATCGCACCCCGGGCCGTTGCCGTGGGAACGTCCCGTCTGGTGGCGGTCGGAACACGATCGGAGATC
 CCGGCGGCGAGCCCGGATTCGAACAGTCTCCGAGGATACTGCCCCATGATCGCTATCGCCACACGAATTGCTCCCCACTGGCCGT
 GCTCGACCGCTCGCCTCATTCGCTGTGCGGGGCGCTCTCTGCGGGGACGCTCAGCACCGGATCGACCGCGGTCGAGGTCCGAGGT
 GCGGCGACCGCGCAGCAGCGGCTCGTTCTACCGCCGTCGACGAGGCGCGGAACCTCACCGCGATGGAGCGTTCCCAATTGGAAC
 ATCGGCGACGCTACTCGGAGAGTCACAACGGCCCTCAGCTCCTCGTGATGCGCGATGGCATTGTGATCTACGAGCGCTACGCGAAGG
 CGTTCGCGCCGAACAGTCTACGCGCTGGCCAGCGGAACCAAGAGCTTCGCGGGCGCAATGGCCATCGCCCGGTCGAGGATGGACTG
 CTGCGACCTGAGTCTCGTTCGCGGACGATCACCGGATCGCGGTCGCGTCTCGAGTCTGACCGAGTCCGCGGTCGAGGTCCGAGGT
 CCTGACACGCGGCTTCCCGGGGACCATCGGTGCGGCGCGGCTTACGCGCGGCTTGGGACCGCGGCAAGGCCGAGCCCGG
 TGCGAAGTTCCAGTACGCGCCCGCGCGCTTTCAGATCTTCGCGGAAGTCATGCGTTCGCAAGTGGCGGCGCAAGGCGACGAGCTCGGCT
 GCGCCGAGAGTGTGAGGGCTATCTACGCGACGAGTCTTCGCGCCATCGGTCTCGAAGTGGGGCGTGGCGGAAGATCGCGATG
 GAAACCTCACTCGCCTCATTCGCGGAGCGTCTGAGCGCGCTCGGAGTGGGCAAGTTTCGAGAGTTCGAGAGTTCGAGAGTTCGAGG
 CGGCACACAGATACTCCGTGCGGACCTGGTCGCGGAGTCTTGGCGCTTCGCTCGCGAATCCTCGGTACGGGTGACCTTCTGGCTC
 AACACCGCGACGACGCGGGGCTCGATCCGGAAGAGATGCTCTCGCCCGCGTCCGCGGACCGAGAGTCCGCCGACTCGGGACCCG
 CCCCCGACGCGACGCGCTCGCTCCCGATCTGTTTCATGGCGCCGAGTTCGGAAGCAGCGCTGCTACGTGATTCCCGCGCGCAATCT
 CGTGGTCTGAGACAGGGAACACTCGACCGCGCAGCTCGTTCAAGGACGACGCTTCTTCTCGCGGAGGCGAGCAGGTGGGTGCAAG
 AGAGTCAGGCGCATCGCATCGATCCCGCCACTACCATCGCCCCATGACGTCCTCCGCGTCTCGCTGGCCGAATCAGGGCGTGT
 GATCCGGCTTCCGCGGATGAACCGCAGCTCATCGGTCTTCACGCGAGGCCCTGCCGATCAGCGACACTGCGGTGAGCCGAGACAT
 GCCGAATCACCCCCGACCGCGGCGCGTGGTTCGTGCGGATCTCGACAGCGCGAACGGAACGTTTGTGAACGGGATCGCCATCGTCT
 CGCGGACTCGGCTCGTCCCGGCGACGAACTGCGCGTGGGATCGACGACCTTCTTCTTCGCGGAGGCGAGCAGGTGGGTGCAAG
 CCGGATCAAGCTCATCGATCGTGACGAGGGCGACGAGTTCGAAAGCACCATCGCCGCGCGCATCCCCGCGGACAGCCAATCGGCGCC
 GCCGAGACGATCCACCGACGACGCGATGCGTCTCGCCGCGGAGCATCTTCGGGTGATCTACGCCCTCACCGAGATCACCGCGTCGG
 CCTCACCAAGGAAGAGTGTGACGCGGGCGCTCGACCTGGTCTTCCACGAGTTCAATCCGGAGCGGGGCTTCATCTCTCTCCAGCC
 CGAGGGTTTCGACGCGCTGATCCCGGCGCGTTCGCGCCGCGCAGCGCGCCCGCACAGTTCGACGAAGGACACATTCGCGTCAGCCG
 ACGATCATTCAGCAGTGTCTACCCGCGCGATGGAATACTCGCGACCAACGCCATGAGCGACGAACGCTTCCGAAGCGGCGACTCGG
 TGCGCGAGTACGGAATCCGTACCGCAATTCGCGTCCGCTACGAGCGGTGCGATCGTGTGGGGGCCCTTACATCGACAGTTTCACT
 CGCGAATTCAGTGGGGCGACGCGAGCTTCGCTGGCAAACACGTCGCGCCAGCACCTCGGCGTGGCCCTCGAGGGGGTTCGAATG
 GTCCGTGGAATGATGATGCGGAACGGCTCGCGCGATGGGGGAGACCGTGGCGAACCTCAGCCACTCCATCAAGAATCCTCCAGG
 GACTTCGCGGGGCGCGGACGCGGTGGAATCGCGCTCGAGCGAGACGCTCGCGGGGCCGCGAGGGATGGCCAATCGTCTCCCG
 AAACCTCGGGAGGATCCTCTCGCTCACCTCAACATGCTGCGTGGAGCAAGCCGGAACACTCGACCTCGAATCAGTCACTCAGTCCCT
 CCCTCTTCGAGGAGATTCAAGTCTGGTGAGGCCGAGTGTGACCGTTCGCGGATCCGCTGACCTCGACGTCGACGAGTCCATGC
 CCCCCGTTCCGATGGAGTCAACGCGGTGCATCAGGCGCTCACAACCTGGTCACCAACGCCATCGACGCGGTGACCGATCGCCGCG
 CGCAATCGTGTTCGCGGCCGCTTCGACGCGCGCGGAGTTCGCGGAACTCAGCGTTCGCGGACAAACGCTTCGCGGGTTCGCGGGG
 ATCCGCGAGGAGATCTTCAACCTTCGTGACGACGAAGGACGCGCGGACCGGACTCGGTCTCGCCGTGACCCGACAGA

7.3 Das Cosmid slc_1g

7.3.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
301	Potentielle L-sorbose-Dehydrogenase	3	842	+
302	Potentielle Transposase	985	2112	+
303	Hypothetisches Protein	2195	2560	+
304	Potentielles periplasmatisches ATP/GTP-Bindeprotein	2851	3801	-
305	Potentielle 6-Phosphoglukonolaktone (EC 3.1.1.31)	3811	4527	-
306	Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.49)	4599	5996	-

307	Hypothetisches Protein	5983	6153	+
308	Hypothetisches Protein	6291	6695	-
309	Pantoat- β -Alanin-Ligase (EC 6.3.2.1)	6796	7566	-
310	Potentielle 3-Methyl-2-oxobutanoat-Hydroxymethyl-Transferase	7640	8371	-
311	Aldose-1-Epimerase (EC 5.1.3.3)	8432	9481	-
312	Hypothetisches Protein	9649	10317	+
313	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	10354	10764	-
314	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	10767	12047	-
315	Hypothetisches Protein	12031	12420	-
316	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	12595	13425	+
317	Hypothetisches Protein	13485	14591	+
318	Konserviertes hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	14588	16123	+
319	Potentielle Permease	16202	18631	-
320	Hypothetisches Protein	18883	19335	-
321	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	19439	20350	+
322	Potentielles Cytochrom P450 (EC 1.14.14.1)	20433	21809	-
323	Konserviertes Protein (Protein der Tetratricopeptidrepeat-Familie)	21818	22726	-
324	Hypothetisches Protein	22754	23113	+
325	Potentielle Histidin-Kinase	23110	24651	-
326	Potentieller "response-regulator receiver"-Domäne	24779	25039	-
327	Konserviertes Protein (Protein der "Tetratricopeptide repeat"-Familie)	25273	26034	-
328	Konserviertes Protein (Cytochrom P460-Vorläufer)	26064	26666	-
329	Konserviertes Membran-durchspannendes Protein	26715	27857	-
330	Potentielle Cardiolipin-Synthetase	27913	29412	+
331	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	29501	29989	-
332	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	29973	30161	-
333	Konserviertes Protein (uncharakterisiertes Eisen-reguliertes Membranprotein)	30430	31599	-
334	Eisen-Aufnahme Faktor	31607	32287	-
335	TonB-abhängiger Rezeptor	32301	34853	-
336	Hypothetisches Protein	34811	35083	+
337	Potentielle Methyltransferase (EC 2.1.1.-)	35266	36078	+
338	Mögliche Aminomethyltransferase	36114	37310	-
339	Hypothetisches Protein	37524	37820	-
340	Potentielle Phytoen-Desaturase	38395	39999	+
341	Potentielle Phytoen-Desaturase	39996	41555	+
342	Potentieller "response-regulator"	41694	42416	+
343	Potentielles "outer membrane" Protein	42518	43759	+

7.3.2 Sequenz des Comides slc_1g

Contig 1

ACATGAGAAATTCGCGGCCGCATAATACGACTCACTATAGGGATCAACCGCATCCTTCGCTTCGACAACATCGAGTCGAAGCTCGAATC
GGCCGGGAGTCCCGCAGTCGTACCGACAAGTTTCCGAGCGATCGGCATCACGGCTGGAAGTTCATCCGGTTCGGGCCCGACGGCCTG
CTCTACGTGCCCCGTCGGCGCGCCCTGCAACATCTGCGATCGCGGCGAACCGTACAACACGATCTGGCGTATGAAGGCCGACGGCACGG
GCATGGAGATCTTCGCGCGCGAGTACGGAACACCGTCGGCTTCGACTGGCATCCGACCACCCGCGAGCTGTGGTTTACCGACAACGG
GCGCGATAATCTGTGGAACGACACCCCGGCCGACGAGCTGAACCGCGCGCCGAAGGCGGGCATGCACCTTCGGCTATCCCTATTGCCAC
GAAGGCAGGATTCCCGATCCCGAATTCGCGGCCAAGCGCAGCTGCACGGAGTTTCGAGCCGCCGCGCAGCGACTGCAGCCTCATGCGG

GCGCGATCGGGATGCGCTTCTACACCGGAACGCGAGTTTCCGCGAGCAGTATCGCAATCAGATTTTCATCGCCGAGCACGGATCGTGGAA
CCGCGAGCCCCGGCAGCCATTACCGGAAATCGCGTATCGCTCGTGCCTTGCAGGACAACAAGTCTGTCGCTACGAGCCGTTTCGCC
GAAGGATCGGTGGTGGAGCCGACAATCGCCAGCGGTGGGGTCTGCCGCCGATCTCGAAGTGCCTCCCGCAGCGATCGATCGCTCT
CGGACGATATGGCGGGGTGATTTACCGGATTAGTTACGCGGAAAGTAAAAAACAACAGGAGACAGTATGGAATGACCGGCCCGC
TATCGTAACGTCTAGTGCAGTGCACCTCGACAAGGTGGTCTGAGCCACCGATATCGCGGGTTAACGCCTCGCGCGTTCAGAGCCGCA
CAGATAGGAGCCGTCATGAAACAGGTTACTACGTACGTGCTATCGATGCGCATAAGCAGGATCTGTTCTGTCGCGATGGTGGATTGGG
GATCAGTCGGTACCGTACGTGCGCAATTGGCCAACGAGCCGACGCGGCTGCGCCGCTGCGCCGCTGGTCCGGAAGCTCGAGCCGACGCTCCGG
GAGCGGTGCGTGTGTGTACGAAGCCGGGCGGTGCGGGTATGCGCTGCAACGTGATGAGCACGAGCGGGTTCGCGTCCAGGTGGT
GGCGCCGGGCTGATTCCCGGAAGCCTGGCGAGCGGGTCAAGACGAATCGCCGCGATGCGCGCAAAATTGGTGGAGTTGCTCCGGGCG
GGCTTGCTGACGGAGGTCCGGCCGCCACCCCGGAAGAGGAAGCCGTCCGCGATCTTGGCCGAGCGGTGATGATGCTCGCGAAGATC
TGACGCGATGTTGCCATCGGTTGGCAAAATTGTTGTTACGCGCGGCTGCACTTCAGCGGGCGCAATTGGACGAGCGCATCGCCG
GTGGATCGAGACGTGTATGGACGCATATTTCCGAGCGTGTGTTGGTTCGACGATTATCTGCTGGCGATCGATCATCTCGAGGCGCGG
CTGATTGAGCTCGACGCGCGCCTGACCGACCTGGCACAGACAGACCCGTACCGCGAACCCGTCGGGTGGTTCGCTGCTTCCGTGGCA
TCGACACCTTGACAGCGATCTTACTGCTGGCCGAGCTCCACGACTTTCGCCGATTCCACTCGCCGCGTGCCTGATGGCGTATGTCGG
CTTGCGCGTGTTCGCTCGGTTGGCAAAATTGTTGTTACGCGCGGCTGCACTTCAGCGGGCGCAATTGGACGAGCGCATCGCCG
GTGGAGATGGCCTGGCATTACCAACATCGACCGGGGATCGGCGTTCGCGCTCACGCGTCGACGCCACGGCCAACCGCGCGGTGATTG
CGATTGCGGACAAGGCGCAGCAACGACTGTGTCGCTTCCGACGCTTCGCTGACCACCAAGCCCGCGCCGAGATCGCGGTGCG
CATCGCGCGCAATTGGTGGGCTTCTTGTGGGCGGCGTGAACCCGCGATGACGATGCGGGAGCCGCGCGGAACGGCCGCGCGTGA
TGGTCGCGTGTTCGCTCGGTAACGACCGCGCAAGACGCGATCGAGGACGATGCGAGGACGATGCGAGGACGATGCGAGGACGATGCGA
TACGGACCGATGTCCCAACTCGCGACCGGAGACTGCACGTCTCTCGACGAAGCACCGTCTGTGTGCTGTCGCGCGGATCCCCGTGG
TAACCACCGTATATCAGTGTGACTCGTCTCGAAGCGCCTCGATCGTCTGTGCTTTCGCGGCCGCGCGCCGAGACGAAGCACGTGG
CGCACACGGCGTCCAGGGCTTCGACCCCGGGGGTGGCGCTTGGGCGCCCTGGACCCCGCGCGCGCCACGTGCTTCGAAGCTGCT
GATGCGCGCAAGCTGATGCTTGGCGCGCGTACCAAGCGCCTTGCATACCGGGCTTGACAGAGGATTCATTCATATCGAGCTTAATG
GAGACTAGGAGATTAGGAGGGTTCGTTTCGATCTGCTGACCCCTTCGATCGCGCTCAACGCGTCCGACCTGGACAACAGCGCAGGCGC
TTAGAAAACCTTCAGAAAACCGAAGAAAGAGCTGGCAAAAGCCGGGCGTGAATTTGAAGGCATGGCGACTCCAGACGTTCGAT
GCGAACAGAGACGCTACCGGCTTTGAAAAGCTTCTCTGCTTCTAATCTTCCGTTCTTCTGTAATCGTAAATGTCTATGGTTTCGG
TTTGAAGCACTTCCAGCGTCTCTGCTGCTCCGCTTATTCATCTCGAGCGCGATCTCGTACGCGCGAGTCTGCTCTGCTCTGCTCG
CGAACGATGAGCACATCGCCCTGCGCGTACAGAAACGTGTGATCGGCAAGGCCCTGCTTGAACGTGCGCACGACGTGGGAAGAGCCG
TCGGGCGCCACCTGGATCACCTTTCGCCGCGCAGAAAATCGGTACAGGAAATCCGCCGCGCGCTTCTGCTCGACCCCGTCGATATTGC
CGAGCGGCTGCTTGGTGTGAGCGTCTTCTGCTTTCGATCGAGCATGTAGAGACGCGCCGGGACCTTGGTGTGAAGTCGCGC
CTCGGGCTTGCAGCCGCGCCGACGACGAGACGCTCGCGCTCCAGAACAGGCCGTTTCGATACCTCGAGCTGCTCGCTTCGCGCAAG
ATCGTCGCTTTCGCTCTTGACGGCGTAAATGCGGTTTCCCATCATGTCCGACACATACAGTGCCTGCGCGCGCGTTCGCCACGT
CGTTGAGGAACGCGCGCATCGAGCTTGTGCGCGCGTCTTTCGCGGTTCGCGATGTGATACCCACGACTTCGTTCGAGGTTCGCG
GACCCACAGCAGCGCCGCTAACCTCCGAAGACCTTTCGCGCGCTTACGGGCGTAAACAGTTCGCGCGTTCAGCCGAGCGCTCGAGC
CCGATCTTCAAAATGCGCCCTTTCATCTTCTGATTCGCTGCGCTCAATCTGCGACACGAGATAGCCGAGTCCGTTCGTCGA
GATACGCGCTTTCGCGGTGCGCATGTCCGTGACAGTCCAGCCGCTTTCGACGGCGCGCGCGGGGACGGTGGCGCGCGCTGACCGC
GGGCGCAGGCTGTTGTGCGGGTTCAGTGTCTCGCGGGTTCGCGCGATCCGCCGACGACGCGAGCGTTCAGCGCAAAATGTGAGCGTC
AAAAGAAATTTGATACGCGCTTATATTAATGCGAGGAGGGGCGATCGAGCAGCACCAGGGGCGAACGCGCTTGGCGCAGAAGCTCGC
CGAGGGGCTGATGCTCGGCTTCGCGATGCAACGCGATCGTAATCTTCGCTTCGACACGCGGAATCCGCGAGTACGCGACGACG
GGCGCGCGAGCGCTGGCAGCGTATGGTGAGCGTTCGCGCGGAGGTTTGGGAGCGTCTGATGGAATACCGGGGACGGGTGA
AGCCTTGCCTACCGGAAGCCCTGCGCTACCGTGAAGATTGAGCCACGTGTGCGTCTTCTCAACGCGCAGCATGACAAGATCCA
ACTGCGGCGGATCGCCGGCCACCGCTTCAACTCGTTCGCGCGGAGACGCGCGCGTTCGCGATCGCGGAGCTTCGCCGCGCATCCG
ATGCGCCCCCGCGCGCGGACCGCGCGCTGCAGCCACAACGCCACGCCAGCCGCTAGTTGGATCGGGATGATCCGGCGAAGC
GCGCGCTCGATCGATCCAGAGATGTCCACGCGGACCAATCGACCGGCAACCCCGAGTACGGGAAGACGTCGCGCAGACGAGC
CCCCGGGACCGCGACACGAATCTTCCGCGGGCGCGACCGCGCGCGCGCTGCGCTCGTAAACTCGTCCGCGAACATCCGCTGAAG
AGCGGGCATCTCGTCCACGACAACGGCCGGAACAATCATCAATCCCCAATACCAATCGCAATCAATCTGCCAATCCCGCAATCTGC
GAATCTCGCAATTTCCAGCCGCTACGCCCATCCGCCACCGACGCTGACGGGACTCGGCCGCGCCGAAGCTCCGCGACTCGTAAT
TAACACCGGATTGGGTGATCGAGCACCGGATCGAGTGGCCACGCGCGCTTCCACGGCGTCTTCGCGCGAAGAGCTCGGATCT
CCTTCCATCGCGTTCGCGATGAGCCGCTCGTATGCGTTCGAGCCGCGCGCTCCATCTGGCGTCTGCCGTTTCGACCAGGAAAGCTCGA
TCGGCTCGCGAACATGCTTCGCGGGGCGCTTCGCGCGCGCACCGAGGGCGATGCTCACCTGGGGAGAAAGCGTGAACCGCACGTG
TTGGCCACCATGAAGCCCGGCTCGGCAAAACGACGCGCGGCGCGGCTTCACTTCAGGACGCTCGGTACGCGTCAAGTTGAGA
CACTTTCGCGGCTGATGTGGAACGCGACGCGCATACCTTCGCCACGACAAACAGGTGACGCGCGCATAGGTTCGCGCATGCTTCG
AGCTCTTGCTCACGCCGGGCTCATCCGATACCCACGGAACCTGGCCGAGCACAACTTCGCGGGGCGATAGCGGACGACCGTTCGCG
CACTTTGGCCTGCTCGTTCGCGGAGCGCTTCGCGCGAGGACGAGCAAGGAGGCTCCATGGCCAGGTAGCCACGATCTGACGAGAGTGG
TTCTGACCAACGTCGCGGATGACGCGGTCTCTTCGTAGAAACCGCGCGTCCCTCGACGCCGACGATCGGCGATTGATGATGCA
CGCTCTCGAGCTCGCGGTTCCAGATGGGCTCGAGGAGGCGTTCGCAAAACCGGAAGTACAGATGTTCTCGACGGGTTCTTCCG
GAGATAGTATCGATGCGGAAGATCGCCTCTCGGAAAACGCTGATGACAGTGGCGTTCAACGCGGGGCGGACTCGAGATCGCGC
CCGAAGGGCTTTTCGATGACGACGCGTTCGCGCGTGGTTCGAGCGGCTTCGACAGGTGCTCGACGATTTCGCGGAACGCGCTCGGG
GGATGGCGAGATAGAAGATCGGATGCGCGCCTCTCCGAGCGCTGCTGATTTTCGTGAAGGTCTTCAGATCGCCGATGTCGCCCGA
TACATATTGCGAGGACGCGCAGCGCGGAGAACGCTCTCTCGTTCGATCGCGCCGCGCTTCGCGCAGCTCGTGGCGACGCGCTCGATG
AGCTGCTCGCGTTCCATCGGCGTCCGCCGACGCGGACGATCGGCACCTTCAGCTGCGCGCGCTTCACGAGCGACTGCAGTGCGGGGA
AAATCTTCTGTACGCGAGATCGCCGTCACGCCGAAGACGACGAGCGCATCAGAAAACAGGAGCGGATGGTGTGTCGGGTGTGGTCAT
GCCCCCGACACTATATATGCGGCGAGGCGCTCCGTCGAGTACCCCTTCGTGCGAGACCCGCGCGATCGTTTCGAGCGGATGCGAGT
GACGCGTCCCTCTCCCGCATTTTCGAAAGCGCACACCCGCTTCGCGACGAGATATTCGCCAGGCGTCGCGAGACGCTCGATAGACTCTC
CCTCGGGTAGTAGCGCAAGGACATGCCGTCCACGGTGCCTTTGGTTCGTGGGTGATCCGAACCTCTACTCTTGTAGAGCAGCA
AAGGTTCTGCCAGAAAATGACGCTCTGTAAGTGTGCTGATTTCAGTCACTGAGCGGTTTCGTCATGACGATGAAGTGGCAGGGACGG
CTGGCGCGCTCGGGCGCGAAAACGGGAGCGTCCCGCGCTCGACGTATCCGAACCGGCGATAGTAGGACGAGCTTCTTCGCGCAGGT
TGACGCGGTGATGTCATGAAGCGGACGCGCGCTTCGCGCGGAGCTTCACAGCCCTCGATGACGATGAAGTGGCAGGGACGG
CTGCCTGGACGGGTGATTGAGAGCATCCCGAAATACCCCGGTCCCGCGGCGAGCGCAGATACACGACGCGAGCCATCTTCCATCG
TCGGCGTCGCGCAGAGAACTCGCCGCCCTCGTCCATCAACTCGACGAGCTCGTGGCGCTGGTGCATGCGCGATCTTGAAGAACG
CTTCCACGATGAACGCGTCTGTGATGATCCGCGCATCGCAGGGGACCTCGCGGGGCTGGCGGTGCGGAGCACAGGACAGTATAGGT
TCGGGGGTTTCGGGGGTTTCGTACGGCCAATACGTTATCGATAAGCCGGGTGTTTCCACCCACATGACACCTGCGGCGCAGCGCC
GGTGACTTCGCGCAGCGGTGCTGATCGTTGCGGGATCGACAATCTCGAAGTACTCGAGCCTTACGTCCACATTTTTCGGAATGTGACG
GTCGCTACGTGGCGAATGGCGCTCGCGTTCGCGCTCTCTCCCGCGATCTGCTTTTGGCTTCGCGCAGCGCGCGCTACAGAGATGTG
CACGCTCTCGCTCGCGGCACTCAAGTGGCGGTTGCGCGAGCTCATCGCGAGGCCATCGGGCTCGCGCACCGTGGGACTTCGACGAT
GTGCGATCGAGATGAAGTTCGCGCCACGAGCGCTGATGATGCGGAGCTGCTGCGCGTCTTCTCGCCGAAATAGGCGGAGTGGG
TGCGCCATCTGAAAGAGCTTCAGCACCACTGTGCGCACTGCGTGAAGTGGCGGGCGGGAATTTTCACAGAGATGATCGCGGAGGC

GGCCAACCTCGACGCGGCACTCGGGCGGCTGGGGATACACTTCGGCGGCCGATGGGGCAAACACGATGTCGACGCGGAGATCGCCACA
GAGCGCCAGGTTCGGCCTCGAGCGTACGCGGATAACGCGCGAGATCGTCTGATTGTTGAAGTGCAGCGGGTTGACGAAGATCGACACG
ACACACACACCGCTCTCGCGTCGCGCCTGCCTGATGAGTCTGGGATGTCGCGCGTGCAGGGCGCCATCGCTGGCACGAGGTTTCAGCG
TGACAGTTCGGCGGGTCTTGAGGGACAAGACCCGCCCTACGCCGAGGCGCTCGCGCAAGCCGGCAACGGTTTCAATCAGTTCGGGCAC
GTGAGGGAGATGACGCTCGGACGCTTTCGACGAACGCGCGTGCAGCCTTCGTGATGACGTCGGCAAGATCGGCGTATTTCCGGGGCAA
CGGCGGAATCCTGTCGTGCAGGCCAGGACATCCGAGCTGACGAGCACCTGGCCGTTCGAGTTCGGGACCGGCGCGATGCCGATCGTC
GGATGTCGAGTGCCTGGTACGCGGGCCGCCAGATCGTCTGGAGACCGACTCGAGCACGACGCGCAATGCCCCGCGCCTCGAGCG
CCAGCGCGTCTGTAAGATGATCTCGGCGTCGCGGGGATTGCCGCCGCGTGCAGATAGCCGCTCTGCTGGTTACGGACTGCGGCGT
CAGCCCCAGATGCGCCATCACCGAATGCCAACGTCGACGAGCCGCGCCACCACGTCGGTACCCGAACGCGCCTTCCACCTTCACA
GCTGCCGACCCGCATCTTTCAATAGGCGTCCGGCGTTCGCGACCGCTTCGACGGCGTCACCTGATAGGTGAGAAACGGCATGTCGG
CGATGACGCGCTCGCTCCGTGCGCGCACGACGGCGCGGTGATCGAATCATACGTCGAGCTGACCGGACGCTGGTGTGCTGTA
GCCGAGGACCGCGTGGCAACCGAATCGCCGACGAGCAGCACGTC AACGCCCGCCGCTCGAGGAGCCGCGCATGGTGGCGTCTGTAC
GCCGTGACGACGCGCAACTTTTCCCGCCGCTCTTTGCGATCTTTGAGATGGGATACGCGAATGCGCATGTTTTAGCTACTGAAAGTGT
ATCGCGTCAGCGACCGGTAAACGCTGCCCCGCGCCGAAGAGGGTTGACGGAAACGCTGATGGTTGGGCGAGTCTGGATAGTGTCTGGG
CGATGACGCGCTCGCTCCGTGCGCGCACGACGGCGCGGTGATCGAATCATACGTCGAGCTGACCGGAAATGCGGAACTGCGCTGCGTA
GCCGAGGACCGCGTGGCAACCGAATCGCCGACGAGCAGCACGTC AACGCCCGCCGCTCGAGGAGCCGCGCATGGTGGCGTCTGTAC
GCCGTGACGACGCGCAACTTTTCCCGCCGCTCTTTGCGATCTTTGAGATGGGATACGCGAATGCGCATGTTTTAGCTACTGAAAGTGT
ATCGCGTCAGCGACCGGTAAACGCTGCCCCGCGCCGAAGAGGGTTGACGGAAACGCTGATGGTTGGGCGAGTCTGGATAGTGTCTGGG
CTCGAGGCTGTCGTCGCGCGCGCAAGACGCGCGCATGGCAGCCGGTGCAGCCGAAGTCGAACGGCGTGTTCGCGACGGGCGCGAGCTC
TCCGGTCCGAATCAACTGCTCGTCCACTGGCAGATATGCGCTCGCATCGATCGTGAGACGATGCGCCAGCACATCGCCGCGCCAGCG
AGATTGAAGTAGGAATGCTCCGTGCGCGCACGACGGCGCGGTGATCGAATCATACGCGCTTCGACGGCTTCGCGAATGCGGAACTGCGCTGCG
CGAGTGAATACGTCACGTCACGTCGAGCGTGCCCGGGTAGCCTTCTTACCATCGACGCTTCTCCGGCGAAACACCACCGCGTTGGT
CCTCGTCGCGGTGTCGCGCTCCACACGTCGTTGTGCAATCCCTCGAAGCGCCATGACAGTGGTTTCGGGGCTCGTTTCGCGGAAATC
ACGTGACGCGCGCGTCGATCGAAAGCGCGCGTTTCGCGATCCGATCGCATAGCGCCACGAGCGCGCGGAAGTACGGCGAAGATT
CGAGTACGCGCTCGACCGGTCTGAACCCAGACGACGAGTTCTCGACGCGCGCGCGTTCGCGCGTTCGCGGACGAGCGAGCGGTA
GCCGTAGCTGATGACGCCGAGCTCGACGCGCGCGGGTTCGCGAGCGTAATGAGCTCGATCGCTGTGCCATCGTGCAGCGTGCCGAAC
GTGCGCGCTTCAACGTCGCGGACATTCGTGCTTTATTGAGACAACGCGTGTGAGAACTGCACAATCAGCATATCCTCAATTGGGTG
AGGAGATTGGGAAGGCTGCAAGAGGCCACTGTGGTCAAAAACGGTAATCAACGGGGATCGGCGCGCCGATAGCGGATTCCTCAAGTCA
TTCTCCAGGCTGAGTTACTGATCAGCCCCGCGCGGTGCTGCTACCGCGTGCAGGAGCGGTCTACACGCGTTCACAGCGCCCA
ATTGCGCGAGTCTGCGTTCTGTCATCGCCGCTCTGCTCACGCGCGCGCCTTCGCGACGGCTCGAGCACGATCCGACGATCACGGTG
TTCGCGCAATCCGAGTCTGCTCGACGCGTTGCGGCTGATTCTCCAGAATCCGCGCCAAAGTCTGCGCTCGACTCGGCTATCGTCAAGA
CGGCTCGCGCGCGCTGATCGTTCGCGCGTTTGAAGAGCACAAAGGTTGTGGATGTCGGGCTCTGTGCGAGGACGAAGGCCACCTTCC
GCTGCTCCTCTCGCAGCAGGACATCGCGCTGACGCGCGCATCGACGCCCTTCGACGGGTGCGGCGACGCGCGCGCCAAACGGTTCTG
ATGAAAGCCGATATGGTCTGTGGTGGTTGACGGCGAGCGGAGCGCTCTGGTGAACCTGTGATTACGGGGCGCAACTCGTGTGCGCG
CTCGCGTCAACCCCGTCAGAGCGTACTGCTGACGCTGCTTGACGACACCGCGCAAAAGGATTCCGCGCCTCTGTGGCCTGGTCCAC
GGTCGAGCTCGCGCAGTCGATGGTGAAGTACCGCGCGCGCGTCAAGTTTCGTCGATCCCGACCCCAAGGCCATCGAAGCGTTCGTCAT
CGGAACGCTGAGCGGGTAGCGCAGGCTTTAGCCTTGCCTTGCCTTCCCTTACCACCTCAACTTGACGGCAACCCCTTTG
GGCGCGCGTCTTTTGACTTCAACGCATCAACAGGGCACCGATTCCACACCTCCGGCAATCGACGGCAGGCGCATGGCCACGCGCA
CGATCGTGGCGCATTCGTTGTCGTCGACCGCGAGAAGGCGGTGGCGCACCAACAGGCCCGCGACCGCGCGCGATGCCGCGCGCGAT
GAGCATCGCGTTGACGAGCGAATCGCGCTGACGAGTCTGCTTTGAAACAGGACGGCGGGTCTGTTAGCGGTTCGCGAGCGCTTATCGTC
GCTGCGAGGCTGAGCGCGCTTGACGCGCGCGTGTCTGCTCCGCGCATCGACGCCCTTCGACGGGTGCGGCGACGCGCGCGCCAAACAGG
CGAGTCTGAACGACACGCGATATCGCATACTTATTTCAGAGTGAACGCCATTGCGATCGTCACCTTACCGCAACGGGCTTTCCGCGA
CGGTCGCCCGCTCGAACTCCACAACTGGCCGTCATCGAGCGCGCGCTGATCCAGTTCGGGATCAAGCGAGCGGACGATCGTGAAGT
CGCGCGTTTTCGCGTGGTTCCGACGACGCTTCCATGAGAACCTCGCCTTCGATCTTGCCCTTCTTCGCCCGCTCGCTGTAGTGGG
CTTACCTCTTTGAGGAGCTCGGCGACTGGAGCTCTCTCCGCGTACCTCGACCTCGACGGGTGATCATCTCGCGCGCGGGATG
GCCGCGCGCGCGCGCGCGTTCGAGCGCGCGCACCAACAGAGCGCAACCACTCGCGCGACGACGACGATCTTCTTCCGCGCGCA
GCGGTAGGCCCTGCTCGTTTCGATGATGCGGCGAGATTCTTTCTTTCAGGTGCGCGCGGTGACGCCAGGAACATTACGAGCGTCGA
CGTGATGCACATCTCGCAGGTCTCGAGGATGCCGCGCGCATAGGACGAAGGGCTCTGGCCGAGCGCCAGTACCTGCTCGTCGACGCG
CGTTCGCGCTCGTCGATCATGCGCGCCCAATCCACCATACCTCGGTTGAAACAGCAGGCGCGCTCACCAGCATCTGATACGACGC
CCAGAACGCTGTGCGCGCGCTTACGTCGAGCGATCTCGTGGCGAGGATGCCCTTCGATGTGCATCTCGCGTTCGCGGTGAGGTG
AAGCGGCCAGATCAACACGGGCTTCGCCACGCGCAAGACGCGCGCTCGAGGTGACGCGCGGAGCACACGATCCTGGTGGGCGTCCGT
ATGCCAGCGCGCGCTCGACCCGCGGAGCAGGTGTCGACCGGCGCGTCCGTGATTGGCTCGGCGCGCGAGCGATCGCGCCACGCG
CGCTCATTTCCACGACCACTTCGCCAGCAGCATGACGTCCTCGGAGGACCAACACCGCATCGCGCGGAAACCGTTTCGCGCGC
CGACAGATTTCAGGTGAATTGAACACGAGCTCACC CGCGCAATGGCGCTGCTTCCGAGCATCGCGCGCGCGCAACGAGCGCG
CTCCCCATGGCGCTGAGGGCGGCAACCGCATCAGGAATTCATCGACGCGCGCAACAGACCCAGTAACGCACTGAGGCTGGTTGT
GTCTGAGCATCAGCGCGAGCGCGCAGCAAGTCCGCGCCACCAACGTCGACTGCCAGATGTGATTACGATTGCGTCCATCTTTCTCT
CCAGTCTCTCGAGAAGTTGTTTCGCGCTCTTTGACGTCTTCGAGCGTGAGGCGTCCGGTCTCGATGAGCCGGGCCATGACCGCTGCGA
CTTGGCGCGGAAAAATCCGAGGAAGTCGTGATCCTGAGCTGCGCGCGCGTTCGCGGTAATGCGCAGCTCGAAGATGTCGCGCTTG
CCAATCTTCTGACGCGCGGAGGGCTTTCTTGGCTTCGAGGCGGTAGACCAGCGTCTGGACGGTCTGTAGGCCGGGCGGTCTTTTT
CGGGAACGACTCTGGATCTCGGAACGAGCGCGCGCGCTCGACCACAACGCTTCCATGACCTGCATCTCCAGCTTCGTGAGTCT
CGGTACGCCCATTGATCTCCTATGTCCGTCTCAGATCTACTACATCTGTAGTTTATCGGTCAAGCGACAACCTCCGGGTCCGCAAA
ATCGTCAAAAAGGGTTCCGGATCCTTTTTTCTCTTTTTCGCAACCTGGAGGCGGTGAGGCCGTAATACCGCAGAGCGGATTTCT
GGAGGTTCTCATGACGAGTGCGGCGGGTTTCTGTTCTTTCGATGTGCCTCATCGGACTACTGGCTGCGTCAGTGTGATATCTCG
GCACAGAGCGAGCGCGCGCGGGGGCGTTCGAGCGCACCTGACGGTCAACGGTCCGGTTGACCTCAGCGTTTCGGACCGGATCGGGCG
ACATTGATCCGACAGGCGAGCGGACCGCGTCCAGGTGATTGGGCGCATCAGCGCCAGCCATTCTTGAACACTTCGGAAGTCC
CGCGCAAGCTTCGCGCACAGCCGCGGACGCGCATCCGCGCGCGCAGTACGAGCGGCAACGTCATCGGCGAGCGCGGGTGACGAC
ACCTACAACAACGTCAGCATCAGTACGAGCTCGTCTGCCGCGCAACACGCAAGTGAACGCGAGCACCGGGTTCGGGCGACGACCA
TCGGCAGCTTCGACGCGCGCGTGCAGCGCGCACCGGGTTCGGGCGACATTGCGATCGAGCGGACCGGCGCGCGCTCAACGCCAGAC
CGGACGCGGCGAGCATCCGCGTTGATCGGTTCGGGGCGAGGTTTCGCGCGCAGAGCGGCGAGCGTGCAGGTGACGCGAGATCGGG
CGTGGCAGCTGACGGTCCATACCGGTTCGGGCGATGTCAGCTGCGTGTGCTTCCAAATGCGCGCGTTCGCGGATGCGCGCGGCG
GCTCGGGTTCGATCAACACCGCGCAACCCATCAGATGACAGGCGCGCTCCGCGGAATCATATCGAGGGGACGGTGCAGCGTGGGG
CAATTCCGTGCGCGTGAGAACGGGTTTCGGGATCGATCGACATTCCGTGAATCGCGCTCTCTGAGCCGGATAACCAACGGTCTGCGCAT
TCCTTGCTGGAGTCGAACCGTGCACCTACGCGCAGCGCGCTCGTACTTGGCTGCTCGCAACGGGTCAAACACTCGATGTGGCAT
CGCGCAAGCTTCGCGCACAGCCGCGGACGCGCATCCGCGCGCGCAGTTCGAGCGCGAGGACTGGAATACGGCTACAACCTCGATCAC
GATGACGCCCTTTCGGCATTCGACGCGCGGATTGCGGCGCACCGCGCGATCTTCCGCTATCGCTGGCAGCGCGACCGTCTGGA
CGCGAATTGTGTTTCGAGCAGGGCGCCATTACCGCAGAGGATTATCTCGGCCAGGCAAAAGCCCGCATCGCGCAGCGCTCCACGACC
CGAGCTCGCCACGAAATTTCAACGTCATACGACAGGCGCTCGCGCTCGGCGAAGAGCGCTTCGGAATCATCCGCGCGAGGCGAGAC
GCCTACTTTTCAGTAGGAGCGCGCTTCGCTGCTCGTGTACACGCGCAACGCTGAGGGCGAGTGCAGACGCTCGCTCGCG
CTCGCGCGCTTACAAAGCGCACGAACGCGTGTGGCGTCTGATCCACGCGCAAGGACGCGCGCTCATCTGCGCATGACACGCCA

[illegible]

ACCCGACATCAGCGGCTGTCGCATCGCGGCTGACAGTATCCCCGCAACTCGTCGCGCATATCGCGCTCGACTTCGGATGGGCGG
CCACGAGGGCGAGCGTCCAGCTGAGCGCGCTCGTGATCGTGTCTGGCCGGCGACCACTATCGTGAGCAGGTCTGTCGAGACGCTGCTC
CGACGCGGTCGCGAGGCTGAAGCCCTGCGCTACCGCGCGGTGGACGCCCTGCGCTACCGGTGCTTGGTCAGCTGTCGGGCTTCAAG
AGGGCGAGCAGGCTGCCCTCGGTGCGCTCCTCCGTTGCGCGAGACGCGAGTTTCGGCAACCACCGTCCGAGGCGGCTTTGCGCCCGC
GCACGCGCGCAGCGCGCAACAGCGAGACGCGGATCGAGCGAGGCAATCGCTCCGAAACAGCCTGCTGCACCTGCCGGAACCTC
CGCATCGACGAGGCCCGGATGATCGTTTCGCCGACGATGCCGAACGTGAGTCCCGATCGCGTCGGCAACGTCAACGACTTCGCCG
GCGCCCAATCGTTCACATCGCGTGCAGCGCGCGCACGACGACGCGCGCATTCATCCAGACGCTTGCAGCGCAACCGCGCTGGA
TCAGTTTTCGCCGCTCGGCATGCACCTCGCCGTGCGCAGTGAGCAGGCGGTTGCCGAGAAGACGTTTCGACCGCAGATTGGCGCTGCC
CTTGTGGAATTTCCGCCCTCTCCCATGAGCAGCTGGAGACGTAGTCCGCGCGATTTCAGCAGCAGCGCGCGCGCGCGCAGCATG
AACGGCACAAGTCTCCGCGCGCGGCGAGGGCGTCGAGAAAACCCAGGGGACGATGACAGCCTGTCCCGAGCGAAGTCGGGGGATCTG
ACCCGCGCGCGGTGGGCGCGGATGCTCCATAGTTTCTGCGCGGATAGTGGGGAGATACAAATTTGTCACGCTGCGCATTCATTC
GGAGCTTTCAGGCGCGCGCGCCAGTTCCCTGGATACCGTGGGCGCATCGCCGTTGCCACGTCCATATCTTCGTTACCGCTTCTTG
TGTACCCATCGTACGCTTGACGATTCCCGCGCGTAGAGCGCGCTGCGGGAGCTCGGGTTAATCGTCAGCGCGCGCGCGAAGTCTTC
GAGCGCGCTCGCATAGTCGCGCGCACGAAAGTGAGTCCGCGCACGCGCTCGAAGCCTTCGACCGACCGCGGATCGAGCTCGACGTGC
CTCGGCAAAATCGTTCAGCCAGACCTGCGCGCGCGCTGAGGACACACTGCTCTATCCAGCTGCGCATTCGCTGATTCAGT
TCAGCTCGATGACGCGGTTGAAATCGGCGATGGCTTCGCGCATCGTGACGTGCGGCGCAATGTGAGCGCGCGGTTGAGCAGGGCCTC
TTGAACTCTGGATTTCAGGCGAATCGCCTCGTCTAGTCGCGAATGGCTGTGCTGATTGCCCGTTTCAGCGGATACATGCTGCGCGG
TCGGCGAAGGCGTTGACGAGCGCGGTTGGCGCTTCAGGACCTGCGTGAAGTCTGTCGATCGCTTTGTCGAAATCTGCTTCGCGCGCT
ACCCGCGCGCGGTGGGCGAGGCGCCGAGATCGATCGCGCGCACGCGCTCGTCAAACTCGTCAAGCGCGCTCGTCAAACTCGTCAAGCG
GAGCAGCGTGACATAGGCGATGCCCGCTCGGTATGCGCTCCGCCAGGTGCGCGCGCTGAGGCGCGCGGACTGGATGAGGCGCGAA
CAGACGCTGATGGAATTCGGGATCCGATGCGCGCAACGCGGTTGGGCGCTCACGCTGGAGGCGCAACAGAGCGGATAGAAAGTACGA
GCGGATTCAGTTTTCGCGCAACGATTGTCTCGTTTCAGGAGTCATGACATGGCGAATGGCACAGATGTAAGACCGCGCGAGTCCGGA
GAGCTGCGCATGCGTGGATCGGCAAGGCGTTCAGGAGTGAAGTCAAGTCAATTTGTTGGTGAAGACCTTACCATCGCTGCGCGACG
TGAAGGCTCGATCGAGCTTGGCGGCCACAGCCTGACCATCGGGCAGGAAGCGAAGATCAAGGCGACCTGCTCGCCAAGACCGTGTG
GATCAGCGCGCACGCTCCAGGGCAACGTCAAAGGGGTCGAAAAGTTCGACCTCAGCCGACGCGCCACCGTCCAGGGCGACATTACGCG
CCTCGTTTCAGCATGGCCGACGCGCGCAGGTCAGCGCAAGATCCAGGCGAGGCTAGGCGTTTCGCGAGGCGGACGATGAAACGTGCGCC
CCTTCCCTCGCGGCTCAACCGCGGACGACGCTGCGCTGAGTCTTGTGACGTGGCGGACATCGCTGAGCGAGCTGAGCGAGCTGAGCG
GCCGTGTGCCGCGCTGCTCCGCGCGTCCGCTGCGGAAGCGCTCGAAGACGTGCGGAAGAACTCGGGCGAGATGCCGATGCCGCTG
TCGCGACTACGAGCTCCACGCGAGGACTCGGTACCGCGCAGCGCACGCGGAGCGACCCGCGTTCGACGTGAACCTTACGCGCTTCG
AGACGAGTTCCAGACAACCTGCTGAAGCGCGCGAGGTCGCGGATGATGATCGCGGATCGTCTGCTCAGCTCGAGCGTCACGTGGAT
GCTTTTCGCGCGGATCGGCGCGGATCAATTCGACGCGCGCTTCGACCAACCGCGCGGAGCGGAGGGTTCTTTCACGCGGAGT
TCGCCGCGATGATCTTTGACACGTCGAGAATGTCTTCACGATCGTCTGCTGTAGCTTTGCGTTGCGCTCGATTGTCTCGAGCGCAT
GCGCGCGCGCGCTCGTCCATGGCGTGTGCGAAGCAGCGATGTCATCCAAAGCAGCGATTGAGCGCGCTCCGCGAGCTCGTGCGA
GACGGTCGCGAGAAATTCGTTTCAACTGGTTTCGCGATCTCGGCGGATCGCGCGCTTTGTCACCGCGCTCGAAGACCGCGCGATTG
TCGATCGCAATCGCGCGCTGAGCGCGAGTCCCGTGAATGACCTTCGCGCGCTTCGCGCGCTTCGCGCGCTTCGCGCGCTTCGCGCGCT
AGAGCGCGCGAGCACCTCGCGCGATCGTGCCTCGTGACCGGGATCGCGAGATAGCTCCGACCATCAGTTGGCGCGCGGATGTC
TTGATGCGGCTCGTTGTGTCCGTAGCGGGGATCTTCGTGACATCCCACTCCGATGATGCCCTCGCCACGGAACGTTCGGGCGGAGC
AGCGACGTGGCAGCGCGCTCGGAAGCGCTCGAAATGACGCGGTCGACACCGGACAGCGTGTAGAGCATGTACGACCGCGCGCTC
CGTCGAGCATGTTGTAGAAGACGATCCGAACCGCGCGCTCAGCTGCGCGCTCGGTGAGCGAGCTTCGCGAGCTTCGCGAGCT
ATCGAGCTTCGCGGAAAGCAGCGCGCGCACTCGTTGATGCGCTCGCAACGCGCTCGGCTTTTCGCGAAGCTGCTGGCGGTCGCGGTC
TGCTCGGTGATGCTTGCAGCATGCCGAGCATCCCAATACCACGCGTTTTCGCTGTAAGCGGATGTCCGCGCGCGGCAACCCAGC
GCTCGCGGATTCTCGTCCGGATGCGGTACTCGATGTCTGATGTCGCGCGCGCGAGATGGTGTCTTCACGCGGACACGCGCGCGCTC
TGTTGTCGCGGATGCAATCTTCGCGATCTCGCTCAGGTCATGACCGGCGCGGAGGATGTCGAAATCTCCGCGCGCGGTGGA
GAGAGCGTCACCGATCGTCTGTCATCCAGGCGGATCGCCAGCGCGTGCAGCGTCGAGCGCGAGAGCTTCGCGCTCGG
AAAACGAGGCGGAAAGCGGAGAAAGGAGTCGATGCGGGGATTGTATCAGTCAGACAGAACCTGACGCGCGGAGTTCGGAAGGGCGC
GCTCGAGGCGCTGCTGCAACATCTCGCGGCAATGGGCTTCGACGAGTGTGACCGCGCGCTGCTGCGCGCATCTTCACGACCGTGT
CATCTCTGAGCGCGCTGACCGCCCAATCAGGTTTCGCGGAGCGCTCCGGAATCTGCTTCGCGAGCATACCCCGCTCATAGACC
GGCATGTCGCGGAGAGACGATCTGCGCGCGCTTCGCGCTTCGCGCTTCCTCGACGCGCGCTCGGCGCTGTCGAGCGCTGTAACCT
CGTGCCCCACTGCGTAAGCGGCTTGTGAGGATGTCCGGAATCGGAGCTTCGTCGTCAACCACGAGAATGCGCGCATGTGCACAGA
ATTTTCGCGAAGCAGCACTTTTATCTATAGGGGTTTCGCTACGCGGGAATGCTTACCGGGGAGGTTTCGCGGGAGATAGCA
AGGACAACCGCGATTCTACTTCACGCGCGCGCTCCATTTTCGCGCGGATGTTTCGACAGGTGATGTCGGAAGCGCGAGCTCCG
ACCACACCCCGGAGATCGCGCTTCTTCATCCGATGATGCCCCGCGCTAGAGTGCAGCGCGCATTCGCGGATTCGCGGATTCGCGGAT
TCTTCGTAATCGCGGAGCGCTTGTCCAGCTGATTATGCGGAAGTAGATGGTGCAGCGCGCTTCGTACCGGAACCTCGCGCGCGGCT
CGATTTTCGATCGCGCGGTAATGTCTTCGATGCGGAGCTCGTCGAGCGCGATCATCTCGTAACACAGCCCGGTTGTAGTACGCGTA
GCGGAGCTTCGGGTACGCATCGACGACGCGGAGTAATCGGAATCGCATCGCGGTACCGGCGAAGGATCGTCAGCGCTAATTCGCGA
TCACGCTGCGGATGAGGTGCGGTTTCGTTAATCGCGGCTTCGATCCTCGAGCGCGCGCGGAGAGCTCTTCGCGAT
ACGCGATCCCCGCGCATAGTACGCGCTCGCAAGCTCCTCTGTTGCTTCTTCCCTGCGTCGATGAGGCTGTACAGGCTGAAAGCG
CGCATCGCGCTCGTGCGCGGACCGCTTCAGGCTTCGTCGTGCTTCGCGCCAGGCGAAGGTCACACAGAGAGCACAGAGG
ACACAGAGAACCATTCTCTCCGAAAGAAAAGACTCCTCTGTGCGCTTCGCTTCTGTGTTGAAACATCACTTCATGCCGCGCT
TCCGAACGTGCGCGGTGAGTGCCGCGCGCGGCTTTGCGAAGCAGCGCGGAGGAGGTCGCCGCTTCTGTGCCACCTCGACGAGCGTT
GGATAGAAGTGGACGAAGGTGTTGTCACGCGCGGCTTCTCGGAGTGACATGCATAGCAGCGCTCGGTGGGTGGCAGCGCTGGACCT
GCGGCTTCATGTCTCGCCGGAAGTCGAAGTACGCCCAATTGCGAGGGAATCGCGCTCATCTTTACCGAGCGCTCGATCACCACAG
ATTGACGTGAAGTGGCCGCTCTGTTGATCGACCTTCGCTGATGACGCGGAATCTCGAGGATGAACATCGTCTTGTGCGGCCAC
TGCCCCGTCGCGATGTACGCGGATACGACGAAGGATTCAGTGACGCTGGTGAAGTTGGGAGGACGCGGTGTCGCGCTGTTGCG
CCGACGCTGGTTGTAGGTTCATGCCGAGGCGGAGGTGACGAACATCCATTGCGGAAATCGCGGGGCGAATCAGCTCGCGCGCGC
GGTGTAAAGGGGCTGGTCAGACGCTGCTGTGCCGAGACGCGCAGAGCCGGAAGGACGCGCGCACCGCCCGCAAGGAGATGCTTC
ATGCGGGAATCTACCAGGTTCGGCTAAAGCGGACACTACGTCGCGTGTACTCGCGGAGGAACCGTCCGATGGGCTTCAGATCCT
CGAGCTGGTCGCGAGAACTTTTATCGACATCATCTCGGACGAGCGAGGCGCCAGAGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCG
GAGGCGCACGAAGACCGCACCGGTTTCATCGACGCGACCTTGCCCATCAGCGTGGCGGTGAGCAGCGAGCCTTCGAGCGATGTGATC
GCGAGGGAAGTCCCCGCGACGGTCAGCATCATGTAGAGCGTGCCGAATTGGAGGAACGCGCACGAGCGAGAGGCGACCGCTCACAATCA
CGGGGCCATAATACGGAATCGAATTGAAGACGCCCGCAGCAGACCCACAGCGCGGCTTGTCTCGAGGCCATGTACGCGAGGACGGC
CCACGTCGCGACGCGGACGACGAGCTCGTGAAGATTCGACAGGAGAAAGCGCGGATCTGCGACGCGCGCGGCGGATCTGCGATGATTTCG
ATCGTCACCTTTTTCTTCGAGAGCGTGGGCGCGGAGCTCGACGAACCTTCGCTGTACAACTTGTGCGACAGGAGGACGAAGTAGG
TCAGAAAGAGAATCATGATCAGTTGATTACGCGCGCTGACCGCGCCATCAGGCGCGACACAGCAAGCGGTTGCGGTGATGCGCGG
CTTCTCGACCTGCACGCGGACGACGCCAGGCGCGGCTTCGCGCATCGGTCTTGGCGAGCGCGCGCGCGCGCTGTTGCACTTTGTCG
AGCGGCGCGGAGCGATCGGGGCGCGCTTCGACGAGCGCGCAATCCGACGCGCGCGGCGGAGGAGCTGGTTGATGACGGTAGGCG
CCTCGTCTGTAGCGGTACGCGCACCCAGAATCGTCCCAACGTACGCGGAGCGCGAGCGCTGCGCAATCCATCGCGCGACGCG

AATCCGTTCCATCGCATCGACGGCTGGATCGAGCGCATAAAAGAGGAGCATTCCGATTGCGAGGGGTGCGAACAGCGCCTGCATGTAT
TGAAGGAGGAACACGCAGACGCCGAAGGCGATGATGACCAGCGGACCGCTACGGGCATCCAGACCGTCGAACGGCGACACATCGGCTG
ACGGTTCCGCGACGCGCGTGAGAAATTCGACAGTTTGTGTAGCGAGGTCATACAAAGTCCCTGCACATGCTGGTAGAAGAGCAATACAC
TGCTTTGGAACTTTGTGTTGACCCCGCCCGGATCGTGACAAGCGAAACGATGGCACACAGGCTTCCCGCGCGCGTCCGACGCTACGG
ATTCCCGGACACCTTCGCGCGCGCGTTCCCGCGCGCTGGCGTGCCGCGCTGCATCAGCATCCAAAGGTTCCGCGCGCAAATCGGGGTGC
GAACTGTCTGGGCCAAGGTGCGCCAGATTTTCTTCGCTTGGTGGGTCTGGGGCATCGTCGCGATTCTCGCCCTCATCAACGACAACCTG
GGCTGGCGCATCGTCACCGGCTCATGGCTGCGTTCCGCGTTCTCATCTGGCCGCGCGAAGTGCCGCGCGCGCTCGGACCTGGATCAC
GAGTTCTCGGTGGACGACGACGAGTTTCTGGCGACGATCGCGGGCTCCACCGGAATCCCGTTTTTTCGAAGGCAACAGAATCGAGATTCT
TGAACAAAGGCGACGCGTTCTACCCGCGCATGCTGAAAGCCATCGGACAGGCGCACAACTCCGTACCATCGAAGCCTACATCTACTG
GGCAGGACGATCGGGCGCGGTTTGCCGAGGCGCTGGCCGAGCGCGCAAAGGCTGGCGTATGCGTGAAGATCTGCTCGACGCTGTG
GGCTCGTCGACCATCGGCGACGAGATTCTGGAGATCCTTGAGAAGGCGGGTGCCAGCTCGCATGGTAGAACCCCTGCTCGCCCGTACA
GCATCGGCCGATTCAATCACCGCACCCACCGCAAGTCTCATCATCGACGGCCGATTGCGTTTACCGGTGGCGCGCGCATCGCCGA
TCACTGGATGGGCAACGCGCAGGACGACGACGACTGGCGCGACATTCAGATTGGATGGAAGGCCGCGCGGTGCGACCGCTGCGAGACC
GGCTTCGCGCAGAACTGGATGCAATCGACCGGCGAGGTCCTCACCGGGTTGAGTTCTATCCCGCCATCGACGAACCGGCGCGCAAGC
TCGCGCGCTCCTTCGCGCACAGAGATTCTGGAGATCCTTGAGAGGCGGCGTGCACCCGCGGACGTTCTACTACTTTCGATCGCGCGCGG
CAGGATATTTATTGCCAACCCGTACTTCTGCTCCCGGACAGGGGGCGATCGATCTGCTCGTCGCGCGGAAAGCCCGTGGCGTGGACGTG
CGAATCATGGTCGCGGGCATCCACAACGCAAACTGGATGGCGCGCGAGAACAGCGTGCGCTCTACGGCCCGTTGCTGAAGGCGGGCA
TCGACATCTTCGAGTACAACCACCATGCTCCACCAGAAGACGATGGTCTGTCGACGGTCTGTGGGCGACCGTGGCGACGACCACTT
CGACAGCGCTCCTTCGCGCACAAAGAGAAATAACGTCGCTGACCGCGGACATCTTGCGAGCCCATCTTGCGAGCGCCATCTTACCT
GCCGACATCAAAGGCTGCGAGCGGGTGACGCTGGAGAAGTGGCAGAAGCGGGCATGCTCGCGAAGTCTGCAAGGCGTGGTGTCTGT
TGTTCAGGAACAGTCTAGGGGCTGCGCACCATTCGAAGAATCGCAGATTGGGAGATTGGGAGATTGATTTTCAATCTACCAATCT
ACGAATCCCGCAATAGTGCCTGAGTTGTTTTCGTAACGGTGATAGTGAGAGCCGTCGCCGATCGTAACCGCTGTCTGTCACGCTCGAGGT
TGAGCTCGCTCTGCGCGGATAGTTTCAGCGCTGCTCGCGGACGCGACG
GACCGCGCGCGCGCGCACAGCACCGCGCGCGCTCCGTCGCCACCGCGCGATGACGGCGCGGAGGATTGCGCGGACCGCGCGCGCGCG
CCACGTTGCGGGCGGTTTCTTGTTCGCGCGCCAGGCGCGTGTCTCGAAGCTCGACGCCGCGCGGTGCCACGCGATTTCGCGTTCGCGT
CGATGCCGTAGCGCGCGTCCGTTGATCGTCACCGAATCGAGGTCGAGCGACGAGCTCATCGTCGCTCGCGCGCGCGAAGCAGCAGCTGCG
CGTGCGCGCGCGGAAATCGCAGCGCGCGCTCGCATACCGCATATTTTCAACGGGTGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCG
CCGTGTGTCGATAGCCTCTGTCTTCTCACCTGAATCGAAGTCTCTGCGGGGATCGGATCGACGAACGCTCCACGACTGGGCGCGCGCG
GCCGACGGAACACAGAGCATCGCCGCGCGCGCGATGCCATCACGTACGAACTACTTCTGTCATGACACCTCCAAATGCACGACATG
GTGCAATCAGGAGGCCAAGGCACGAGACTTGCAGGCGGAACACGTCGAGGAGGCTGTATGGTCTTCACTGCAGCGAGTCTGAGTCCCG
TTCTGGCAATCGTCTTTGGAGTCTTGATCTTTGTTTCCCAAGCTGCTCAACTATCTCGTCGCGACCTACCTCTGCTGACGGGGT
AATCGGCTGGGCGTCTGTCACGCTCAACGTGTAGCGTGGCTGGACAATCCGCGGAGCGCTAGATCGAATCAGGCGCGGTTCTGTGTAC
GTGGCGCGCGCGCGCTTCCGAGACGACGAGAAGTGTGGAAGCGCGCAACGCAATGCCGTCCACACAAGGACCGTCTGCTCCAGCGGTGA
CGAGCGCGCGCAGCGGTCTGCCCCGCGATCCCCGTAACCTCGCCCGTATGCGCAAAGCGCAGCCAGTGCAGCGCACGCGCTCCCGCGGA
CAGGCTCGAATCGAGCTCCGATCGCTCCACTTCGCCGTCGCGCGGATTGACCGTCAAGCTGAGCGTCTGCGGTTGTCTCGCGCGCG
CCGGCGTTCGAGCGTGAGAACGACTCGGGGCGCGTTTCCCGGTGGCAGGGCGATGCTGATGGTCTTCCACTCGGGGATCCGCGCGCGCG
CTGCCGCAACCATCGCGTCGAGGCGCGCGTCAAGGCTTCTTCTCAATCGCGGTGCGACGGGCGCGAGGGCGGTTGCCGCGCGCGCGCTG
AGCATTTGCCCGCACAGGCGGTTGCTCTCCGTACGCGCGGTACACAGGCGTGTGCGCCACGGATACGAGATCACACGCGCGCGCGCG
ACGATAATCCGCGAGGAATCGCCGACGAGAAGCGCATGCTGTTTCCAGTTGAAAGTCCGCGCGCTTCCGCGTGGCGCTTCCCGGA
ACCCACGATGCTCTTACCGCGCGCCACGTCACGTCGCGCGCGCACCATAGGAAAAGACCGCTCACGACGATGAACAGAAACATCAG
ATTGGACGCGCGCGGTGATGGCGCGACAGTGGGACGGCGCTCGCCCGCATCGCGACGTACCGATGCCACTCGACCATGCGGCGGAAA
AAATTCGCGACGCCCTGCCGTTGCCCTTCTCCAGCACCGCGCGGTGTATGGGTTGACGAACACTGGCGTGGCGCGCGCGCGCGCGA
CGATGTCGCGCGCGCGCGGATCGGAGCGAAGGACGATGCTGTGTCGCGCGGAGTCCGGGTGTGCGCTCTTGACCTTCCGCGACGAGCTC
GTCTGCGCTGAGTCTCGCGGAGCCCGGAGTGTTCGCTCGGTACCCGCGCATGTCGCGCCACGCGGTGATCTGCGCTGATAGTGC
AGCAGCACCCCCGTACGACATGATGAGAATCACCGCGCGCGCGACGACACCGCAGGCAAGATGGAGCCAGAACAGAAGGATCTCA
GCTTCACGATCGCCTCATCTCCGCCCACTGGCGGAGCAGGTTGTGATAGACGCCAGTCACTGAACCACTGACGGATGCGCGCGCA
CGTCCCGCGAGAGCTGTTGAATGGATACGTCGAGATCGAAGGACGCGCTCCGCGTCCGTCGTCGGAATCATGCTTTGAATCCAGAA
GAACGACGAGCCTGTTGTCGCGCGCGCGCGTCCCGCGTCAAGCTGTCGAGGTCGACGACGCGGTAGACACCATGTGCGCGCGCGCGAGC
TTACCTTGTGTCACGCGTAGGTGTCTTCAACGGTCAGTTCCCCCGCGTCTACTGTCGCGTTTCGCGGAGGAACAGCGTTCGCGGAAA
GGTCCGTGCGAATGCGGTGTCGCGTCAAGCCAATCTGGCGAATCGCGTTGTCCAGTGGTTGCCAAACGCGTGTCCGCCCTGGTAACG
GTTGAACAGGGGAGGAAGACGCGAAGCGGGAGCGCGCGGACGACGAAACGCGTTCCGTCGACGCGCGGTGAGGATCATGTCGCGCA
ACCGACTCTGCGCGCGCAGAGCCCTCGGCCACCTGCTGTTGTTCTTCAAGTGGCGCGGACTGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCG
TCCATTTCGCGCTGTCGAGGAGCGAGCGCGCGGACTTCACTGCTGCTGCTCAGAAGATCGGGAATTGCCAGAAGCATCTCGATCTC
CCGTTTGAACCGCACGCTGACGTCAGCGTCGCGCGCGCGGGCGTCCCGGATTGAAGCGCGCGCGGTTGTTGTTGACGTTCTCTGAT
GTAGACCTTGTCCGTGATGTTCTGTCAGTTGAGGCGCAGCAGGTCGCGGTTGAGGTCTGACTCGACCATCGCATCGGCAAGCGCG
TAACCGGATGTCGCGCGCGAATCGTTTCGCGCGTTCACGAACACATCGTCCATGTACCGCACCGCCCGCGCGCGCGCGCGCGCGG
AGTCGTAGGTGCTCCACAGACTGCCGAGAGCTTGGGTGTGAGCGTCAACCGGTTGCCGTTGTTGATCGGGTCTGGGTGATCTGCC
GGTATCGAGGTAGCCGAGGCTCGCGAGCACCTGCCATCGCGCGGTGATCGCGCGGAGCGAGCGGATCGTAAGCGGTTCACTGCTGC
CGGTCTCTGGTTGAACACCGGGGGGATGGCCGCGCATCGACCGTGAAGATGACGTTCTGTTGTCGGTCTTGAAGCGCGCAGGC
TCAACGACAGCCTGTTGTCGTACAGCCGATTTTGCCGCGGACTTCGTAGTTCTCTGACTCTGCGGCTTACGCTGCGGTTGTTCTG
ATTGTTGGGCTGGGCGCTGAGCGTGAAATTCGCGGTGCCGGGGGCGTACCGGTGGAGCGGTACGAGAGATAGACGTTTCGCGCGATCC
GTCAGGCGATAGAGCACGCCCGCTTGCCGCTGAAGAGACCATATTCTGTCGTGAGATCGGTGGTCAGGCGCGCGGTGATCGCGAG
CCTTGAAGGCGCGCTGATGCTCCCATCGACCCCTCACTCAGCTGCCACCGTGGCCGAGCTCGACCGTGTGCAACGCGATACAC
CGCGACGCTGTTCTGCTCCGTCGCGCGGTTGAGGCGAGGCTCCGTCGCGCGCATAGGCGGTGACGCGTGAACCGGATCGCGGTGAG
ATACTGACCAGATTCCGCGCGGTGCCACCCCGTGAGCGTCGGGGCGAAGTGTCTCTGCTCGAAATCTCGATGCCGCGGTTTCGCGG
AATGGCGGAGAGCGCCAGTCGCGAAGCGCGCGGACAGGCTGGTCTGATTGACAGAATGTGCTTCTCGCGCTGTTGCCCTGGCGCGC
GATGGTCAACGCTGCGGTGTCGGAACGAAGCTGGCGGCGCATGCGCGCGTGGAATGACGGCGGTGCGATGCGCTGTTGTTGAGCGC
GTCTGGTTCTGAGGAGAGATTCTGATATCGTGTGTCGACGCGCGCGGTGAGCTTCTGCTGACCTTCTGCGCTGCGCTGAGTGC
CGACGCTGCCGTAGAAGTTCTCCGTGTCTACCTCATCGCGCGCCACGACCGTCTGCGCGCGAGCGGATAGTCCCGCCACGCGGATCC
CGAAGCGCGTAGTCCGCGACGTTGTCTGCCGCGTGTCTGACGCGCTCCGTTAACGCGCGTGTGATGTTTCATCCCGAGCGCAATC
GAGGGCGGACCGACTGTTTCTGCGCGTGACACATCACGTCCCGGAACACCGCGCTTCTCCACAGGGCGTTGACACGATCGCGG
TGCTCGAAGCGAGGTGCCGCTCTCGCCAAAGAGGAGCTCGTATTCGACGCGCGCGGTGATTCAGATTCTGCTGCGCGCTGCCATACGC
ATAGCTCACGGCGTAGGCGCGGCTTCTGTCGCGCGTCTTGGTCTGATGTTACATAGCCGCGCGGCTTGCCACGGCCACGTCGGAC
CCGTCGCGGCCATGAACACTTCAACCTGCTCGAGATTGAACAGCTCAGCGACATCAGCCCGTCTCTCAGCGCATGACAAACA
GGCTGTTGTTGGCGCTGAACCCGCGCAGGTTGAACATGTCGCGCGGACGTTGGAGCGCCCGCGCTTACCAGCTGGAGGCTGAT
TCCAGGATGTTGCGCAGCGCGTGTGTCAGCGCTGTCGACGCGTTCGCTTTCATGATTTCGCGGGAAGGACTTCGACCGTTCGCGG
ACATCGATGAGCGGCTGCGCGTATTTTCGCGCACGAGGACGCGGCTGCGCGCGGACGCGGCTGACCTCCACGGCCTCGGTGCGGAGAC

Contig 2

[illegible]

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
401	Rhizobiozin-Sekretionsprotein RspE	1	947	-
402	Rhizobiozin-Sekretionsprotein RspD (ABC-Transporter)	944	2677	-
403	VacJ, Oberflächen-Lipoprotein (COG2853)	2854	3633	+
404	Potentiell Toluen-Toleranz Protein Ttg2 (pfam05494)	3623	4231	+
405	Membran Carboxypeptidase MrcB (Penicillin-Bindeprotein) (COG0744)	4326	6521	-
406	Stickstoff-Regulationsprotein P-II, GlnK (COG0347)	6783	7121	+
407	Ammonium-Transporter, AmtB	7149	8633	+
408	Amino-Transferase für aromatische Aminosäuren (EC 2.6.1.57)	8760	9941	-
409	Rhodanes-verwandte Schwefel-Transferase SseA, (COG2897)	9945	10805	-
410	Hypothetisches Protein	10911	11195	-
411	tm-RNA-Bindeprotein, SmpB, (COG0691)	11338	11820	-
412	Hypothetisches Protein	11860	12156	+
413	Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase (EC 4.2.1.51)	12288	13163	-

414	Potentielle lösliche lytische Murein-Transglykosylase	13322	15277	+
415	Konserviertes Membran-durchspannendes Protein	15475	16359	-
416	Konserviertes Protein	16356	17036	-
417	Potentielle Oxidoreduktase; möglicherweise D-Aminosäure-Oxidase-Protein	17109	18155	+
418	Hypothetisches Protein	18206	18508	+
419	Potentielle Acetyltransferase (EC 2.3.1)	18696	19187	-
420	Chromosomen-Teilungs-Protein smc	19353	22808	+
421	Membran-gebundene lytische Murein-Transglykosylase B	23309	24478	-
422	Cobalamin-Biosynthese Protein CobD/CbiB	24508	25428	-
423	CobC-Protein	25425	26390	-
424	Hypothetisches Protein	26380	26760	-
425	Konserviertes Protein	27410	27760	+
426	Konserviertes uncharakterisiertes Protein (COG3034)	27762	28295	-
427	MalY, Bifunktionales PLP-Abhängiges Enzym mit β -Cystathionase und Maltose-Regulon-Repressor-Aktivität	28292	29464	-
428	Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (COG0242)	29678	30196	+
429	Def, N-Formyl-methionyl-tRNA-Deformylase (COG0242)	30196	30699	+
430	Methionyl-t-RNA-Formyltransferase (EC 2.1.2.9)	30696	31586	+
431	Hypothetisches Protein	31583	31816	+
432	Hypothetisches Protein	32079	32519	-
433	Ribonuklease HI (EC 3.1.26.4)	32693	33157	-
434	LytB, Penicillin-Toleranz-Protein	33214	34164	-
435	Konserviertes Protein	34309	34881	-
436	FolK, 7,8-Dihydro-6-hydroxymethylpterin-Pyrophosphokinase	35029	35601	+
437	Hypothetische DNA-gerichtete RNA-Polymerase omega-Untereinheit (EC 2.7.7.6)	35695	36048	+
438	Protein der Familie der Guanosinphosphat-Pyrophosphohydrolasen/Synthetasen	36079	37312	+

7.4.2 Sequenz des Cosmides slc_1h

ATCAGGTATAGAACCGGGTCGGCAGGCCGCGAGAACCAGCGCGCGCGTCGTCACCGTCAGCCCCAGCACGATGCCCGACACCGGCGCGCG
GCACATCCAGCCGTTTCGATGCGTTTCGGCAAGCGCACGGCGACGTTCCGCCAGTTCAGTTCTCGGCACCGCTGTGCGCGAGCTGAGT
ATTGCGCTCTTCGCGCCGATCCGACGCAAGGCGCAGCACTTCGATTTCAATTTCCGGTGATCCGGCCCAAGGCTTGCAGCGCGGTGGCG
GCCAGTTCGCCCCAATTGGCCGCTTAACCGGGCCGCTTCGCGTTGCGAGTCCAAGAACCAGGCTGGCTTCGGCAAGGCCCTTTTCAAGCA
ATCCCTGCTGATCCGTCAGTTCCTTCTGCAACAGCTCCAGTTGCGTCTTTAACGCCAGACCTTGCATCGATGCCGATAACCTGCTG
ATCAATCTGCTCGCGCTGCTTGGTAACTGCTCGATCTGACTGGTCATCGCTATCGCGCTCGCGCTCGAACAACCGCGCTTGAACCTTCC
ACCTTTTCGGCAATCTCGCGCGCGCCGATGCCGATCCAACAGGTCACCATCAAAGCTCAGCGTATCAAGATCATCGCGTTCCGCT
CCAGCCGCCCGCGCGCGCCAGCGATTCCAACAGCTGGCCTTCGACAATCGCCAATTAGATCGTATCGACGCGCCATCCAGACTTAG
CAGCAGATCACCGCCGCAACCGTATCGCCTTCGGCCACGTTGATCGTGCCACAACACCGCGCTCAGGATGCTGCACGACTTGCCGG
TTTGCTCCACCTCGATCTGGCCAGAGGTCACGATGGCCCGCGATATTGTGGTGGCCACGCTCCACCCGCAAGGCCAATACCATG
CCGCCACAGTCAGAAGGCCATAAATCACCGGGCGCGGGTCGACCAGATTTGCGCTGATTTGGTCATGACACGCTCCGACCGCGGTG
GGTTTGGTAATCTCGCGCGGGTTTTCACCATTTACGCGAGCACTTGGTCGCGCGGGCCAAAGGCGCGCGCATCCCGTCTTCAGCA
CCAACAGCAGATCGCATTCCTGAATCGCGCAGGCTGTGCGCATGATCAGCACTGCGCGGCCATCTGCCTTCATCTCGCAATGGC
AAGTTTCAGCGCAAGTGACCCATCATTATCAAGGTTTCAATTCGGCTCATCCAGCACAAAATTACCGGCTCGCGTACAGCGCGCGG
GCAAGGCCGATGCGCTGTATCTGCCACACAGACAGCCGCCACCAAGCGTTGAAACGCGGGTGTATAGCCATCGGGCAGTTTACGA
TCATCTCATGCGCGCTGCCTTTTGGCGCCTCAACCACTTTTGGCCCATCGGGCGCGTCTTGAGGCGGGCGATGTTCTGCGCGAT
CGTGCCATCAAACAGCGTGATGCGCTGTGGCAGATAGCCAAAATAGTGGCCAGCACATCAGGATCATACTGATCAAGCGTTGCGCCA
TCCAACCGCACCTTGGCCGCCGCTGGCCGCCAAACACCAATCAAGGCGCGCGCCAGTGACGATTGCGCAGAACCGGACCGGTCCGATAA
TGCCCAAGGCTTGGCCGCTCCAGCCGAAAGCTGACTGATCGCAGCACGGGCTGGCTGTACCCGCGCGCACACGCTCAGGTTCTG
CGCTTCCATATTGCTTTCGGGCGCGGAATGCTGTGCGCGCGGGTCAACCGGGTGGCGGTACGAGATCGGCCAAACGCGCGTGG
CCCTCGCGCGCCGCTGACAGCGGCCAACCAACGGCCTGCTCAATCGCGGCCAAGGCCCGGCCATCAGAATTGATCCGGCAA
TCATCGCGCCGGAATCAGCTCACCGCGCAGCAAGGACGCGCCCTAGTCCAGCATCGCCGATTGCAAAAACATGCGGAACACTTT
GGACACCGATCCAACACCCCCGTCACATCCGACGCGGCAATGCTTTGACCCAGCGCCAGACTGCGCGCTTTTGGCAACGATCAAAC
CCGCCCCCTGCCATGCCAGCGCTGCACCGCCTCGGCTTCGAGTTTTCAGGTTTCTGCGATCCGCTCGGCTTGATCCCGGCTGCGT
TGGCGCGGATCAGCGATTGTTTCAAGTCTTGGTTTTCAGCAGCGCCACCACAACAGCAATCAGTCCACCCGCAATCGCCAACAGGCC
CAGCCAAGTATGGAACACAAAGATTGCGCAATGAACAATGGCGTCCACGGAATATCAAACAGTGCCAGCAGCAGCGGCGGATGCCAC
AACCGCTGCACCGCTCAAGATCGCGTTGCGCGGCCAAAGCGCGGGTACCGGGGTTAGCGTCAGACGATGCACTGCCCGCGAAA
ACACGCGCGATCAAGCCGATCTGCAGCGCGCCCCAATGCGCGCCATGATCCGAGCGCGGCGATGATCCAGAATGCCCATCGCCAA

AAACAAAAACGCCACCAGAACCGACAGGGCGACAAGCGTTTCAACCGATCTGCTGCCAGCACACGGTTCATAGACCTGCAACATGTAA
AGTGGGGCCGTCAGCATCAGCAGGTTTCAAAACACGCTGAACAGGAACACCGCAACCATCGCCATCCCGGATTCCTCGCGCAGCAG
CGAGTTCCGGCAAAACCTCGGATTGTTTTTCATCAACACGCGTCCCGTTTCGTCGGGATGCTCGTCACCTTGCCCGCGCTTGGGGTCCGCG
GAAAACAACAGTATTGCTCATTTGCCACGCTTGAATGTTGTCATCCGCCAACAGGCAGCATAAGCCTTGTGCTCCTGCGTGACAGC
TTGTGTTATGGCTTCTTATGGGCGGGAACCTAGGAAGATGAACCTTACTAATCCATTGCTTTCTTTCGAACACGCAAGAAATTGCCGC
AGCCGGGCACTGTTAGCCACAGTTATCGCAGCAAGTCTCGCAGGTTGTGCGAACAAATACCGCGCCGCAAGGCATCACCGACCCGAATG
AGCGGCAAAATCGCAAGTTCACGCGTTCAATCGCGCGTGTGATAAGGTGTTGGTGCGCCACAGCTCGGGCGCTTACGGGTCTATCCT
GCCGGAACCTGTGAAGCGTGGCGTGTGCAACTTTGCCAGCAATCTGGATGCGCCCGCGATGTGGCGAACAAATCTGTTGCAAGGCGCGC
ATTGGCAATGCCGGGCAAAACACCTGCGTTTTGTCAGTGAACACCATTTTCGGCATCGCGCGCTGTTTGATACGGCCACCGCCATCG
GCCTGCTGGCAAGCCACCGATTTCGGCGAAACACTGCATGCTGCGGTGCGGGCGAGGGCAACTATGTCGAGCTGCCGTTTGTGTTG
CCCTCAACCGCAGCGATCTGGTCGGCATCATGTTGATGTCGCGCTTAATCCCGTGCCTTGGCTGCCACCTGCCAACCAGCATCC
TATGCGACCGTTCGCAAAATTTGGGTCAAAACTTGGTGATCGGGATCGCTATTCCGATCTCGTCGATGAAGTCTTATATGAATCCGCAG
ACAGTTATGCGCAGTTCGCGCTTGTCTTATTTGCGAGAACCAGCGCTTTGCGCTTGCCAGACTGCTGGCGATGACACCTTTGTAGACCC
GTATGAGGATCCCTATGCGCAATGAACCTCAAGCTAAACACGCGCGGCTTTGGTGCGGTATTTCGCTGCTGGCGCAGTGACGCTGGCAAT
GCCAGGTTTCGGCTCGGCTTAACGCTTGAAGATGCCCGCGCTTGGTCTGTCGCTGTCGCTTGAACAGGATCTGTTCTCAACCTGCCAACCAGCATCC
GGCAAAATCCGAATCCGCGATGTTGCGTGACTTTGAAAAGATGTTGCGCCGCTTTGCCGATGTGCCCGTTATCGCGCGGTTCGGCCTTGG
GTGTGGCAGCAAAATCTGCCAGCAAGGCGCAGCTGTCCGCGCTTTACAAAGCGTTTCAAGGCTACATCAGCCGCAAAATACGGCCGCGC
CTTCCGCGAATTCTCGCGCGCCGGATCGAGGTTACCGACGCAAAACCGCTGAAAAGCTATTATGAAGTCGTCTCGATTGCCTACCTG
CAGGCGCAGGCACCGCATCTGGTCGGCATCATGTTGCGATGTGCTTGAAGTATGTCGCTGCGGTGCGAGCTTCGCTGCCAGCTGCCAGCTCA
ACATGCTGGCGTCTGAACGTGCCGAAATCGGGGCACTATTGGACAGACGCAAGGTAATATCGATCAGCTGATCGAAGACCTTAAATC
GATTTAAAGCGCATTCGAAAAGTGTGAACCGGTTTTTGGATAAAATGCGCGACAAGACAAAAGGCTAAAGCGGGGGTTTTGATTGTTG
TCAAAACCCCGCTTTAATTGCCGCTCTGAATCCCCAGCAAGTGTGCGCAGAACTCGCTCCACCGGATCAATATCATCTCGGTTGCCG
AAAGCGTTCGATCGACACATCGGGCTCGCGCTGCTGATTTCTGCTGCGGTGCGGTGCGAGCTTCGCTGCCAGCTCCATCGCAGCAG
GGCGTTGCGGGCAGGCCGCTCTTCGACCCGCACCATCACCTCATGCCATATTTTCGGCAGGCAACCCGCGCGCCGTCACACCTGCAACG
GCGTGTGTCATCATAGCCCATCCAGACGCGCCGACATAATCAGCAGTAAAGCCGATGAACCAGCGATCGCGGCCCGCGCTCGTCGT
GCCGTTTTGCGCCGCGCTTCCCGGTCCGGCAACGCGCACGGCTGCGGTTGCCGATGCCACCACCTCGCAGCATCATGTAGGTGAGAT
TACCGGTTTCGATTCGCGAAATCACCCGCTCGCCAAATCGCCGCTTACGCGCTTGCCTATCCGCTTACCGCTTACCCGCGAT
CAAGTATCCCGTAAGGCGTCACCGATGATCCGCCATTCAAATGCGCTGCATAAGCCCGGTCATTTCCAGCAAAGTCGATTCCGACGC
CCCAAGCGCCAGCGCCGCGCCCGCGCAAGATCGCTTTAATGCCAAAATCACTGGCCACTTGCAGCAGCAGATCAGCCGCCACCGCT
TCGGATATCCGCACCGCGGGTATATTGCGGCTTTCCATCAGGGCTTGGGTGACGCGTATCATGCCCTTGAATTCATGATCATAATTG
AAGGTGACCATTTGCGCTGAACCCGGAATGCTTAGGGTCAGCGGTATCTCCTCAACATAATCCGACGCGGTGATAGCCAGATCCATCG
TGCGGCATAGACAAACGGCTTGAACGCAGATCCGGTCTGACGGCGGGCTTGGCTGGCCCGGTTGAAAGACCCGGCAACTTCGGTCTTC
CGGCCACCAACCATGGCGCGAACCAGCCCATCGGCAGACATCACAACAATCGCCGCTTGGCGGTGGAGCCATCCTTAACCTTGTCT
CAAAGATATACGTCAGCGCCTCTTCAGCAGCTTCTGTAAATCTCGATCCAGCGTAGACTTGATCACCACATCTTCGGTCTGTCTGA
CGTCAGAAATCGCGCGCTGTCTCATCCATCCAAATCGGCAAGAACCCGCGAGATTGAGTTTCCGCGCGCTGCAACAGCCGCGGGA
TTGGCGCGCCTCATCCGCTCATCCTTGGTCAAATAGCCCTGCTCTTCCATCAAGCCGACAATAACCGACCCGCGATCCTGTGCCC
GTTGCGAGTTGTTGGTTGGTGCATACCGTGACGCTGCTTCAACAAACCCGCGCAGCATAGCCGCTCTGCGCGGCCACCTCGTTGGC
AGACTTGCCGAAATACCGTTGCGCGCTGCTCGAACCAGCGCGCACCGGACCCAGATAGGCGCGGTTGAAATAGATTGTCAGAAAT
TCCTGCTTTGAATCTTGCTTCCATCGCCATCGCATGCTTAACTTAACTTTCGCGCACCGCGCTTGGCGACAAATCGGCTT
CGTACTCGGTTTCGGATTTCACAGTGTGCGGTTGTATTCCACACCAAGGCACAACTTTGCCACCTGCTGGGTGATGTCGACCC
GCCGTTGCCACTTAGCGGCGCGCGCTTCTGACAAGTTGATGCGCACTGCCGATGCAATTCTCGCGGGCTAATTCCGAAATGCCGG
AAAAAGCGCTTGTCTCAGTCGCCACAACCGCGTTTCATCAGATAGGGCGATACAGTATCCGCGGTGATCTGCCCGCAACCGTCTCGC
CAGCCAGGCGAAAACCTTATCGTTGCGATCCAGCATGGTGACAGACCCGCGTATCGCCCATCCAGCAATTCGGCTATCTGGTGCGAG
TTGCACATAGAAAAAGCAGCCGCCCCGCCAGGATATCCCGAACACAAATCCAGCGCCAGCAATCCCCAAAGAAATGCGCGAG
ATCAGCCGCACAAAGCCACCAGCAATGCCATGATCGGGTTGCGACGCGCGCTTGGGCTGGCGCGCGTGCAGTTTGGCGGGCC
GACGGCCACCGTTGCCACCGCCTGCGCACCACTGCGCTGCGTTGCATACCGCCGCTGACGCTTAAAGCGGACCATTTCCCGTGACGTGT
ACCACTCATCGCTGTTCGCGGTTCTGCCGCGGACTGTTTTCGCGCACTGTAGCGCGACCCGTCAGGAATGTGGAGCGGTCCGAT
GATGATTTCGCGTTTCAAGCCGCAATAAAACAGGCGAAGCTGCTACGAATGTGCAAAACTTGTGCGTTTTCATGCCAGTGGGCGAGA
TTTGCGCGCGGATTTCTTGTGCTGCACCTGCGAAAGCCGCTTGTGTCATCGGGACAGTCAGCAACCCAGCCAAAGAGATAGGGG
AGCGATGTGAACCTCATCATAGCAGCAATCAAACCGTTCAAGCTTGAAGAGGTCCGCGAAGCGCTGACCGCATCGGCGTGCAGGCA
TGATGGTAAACAGAGATCAAGGGCTTTGGATCCAGTCCGGCCATACGAAATTTATCGCGGCGAGAATATCGCGTGAATCTCGTGCC
AAAAGTTCGCTTGAATTTGTTGTACGACGACGCGCTGCGCGCTGAGTTCAGTTCGAGACAATTTGTTAGAACAGCCGCAAGCCGCAAAAT
GGTGACGGCAAGGTTTTCGTGCTGGATGTGACGATGCATTGCGCGTGCACACCGGCGAAACAAACGACGAAGCGCTGTAACGCGCAC
GGGAAGGGGATCCAAAGATTATGAAGAACTCGATGAAATTTACTGGCTTGGCCAGCTTGCAGCGTTCGCTATTGCGAGCTGCCGCT
CTGGGCAAGAGGCCCCGGTGGCCTATGAATATGTCAAAGGCTGACGCAAGGCGATGTCGCTGGATGTCCATTTCGACGGCTGCTG
GTGCTGTTGATGACAGTGCCCGGCTTGGCTGTTTACGCGCGCTTGGTGCGTTCAGTTCGAGACAATTTGTTAGAACAGCCGCAAGCCGCAAAAT
TCGCAATCGCGCTGTAGTCGCAATTATCTGGGTGACCTACGGTTACTCCTTGGCGTTTTCCTATGGCGGTGGCTGGGATGCTTACGT
TGGCGGCTTCTCAAGGCGTTTTTGGCGCGTGTGATGTAACACACTGGTGCCACCTTCAACACGGGGTCTGGCTGCCGAGTTTC
ACCTTCGTGCGCTTCCAGATGACCTTCGCGATGATCACCCGCGCTGATAGTCGGTGCTTTGCCGAACGCATCAAGTTTTCGTGCG
TGATGGTCTTTGTTATCTTTGGGTACCTTCACTACTTCCGATCGGCGCATATGGTCTGGTGGGTGGCGCGGATTTCTGGC
TGAACAGCAAAACCTGAACTGATCGCGAAGCCGAGCGGATACTGCCGGGCGAGGTCGCAAGTGCCAATCTGGCCGCAATGGC
CTGCTATGGAACGGGGTGCTTGGATTTGCTGGCGGACCGTGGTGACATCAACGCCGGGATCGCGGGTCTTGTGCGTTGCTGTA
TGCTGGGCAACGCTGTGGGCTATGGCAAGGAATCCATGGCGCGCATCTCGCTGACCATGACGATGATCGGTGCTGCTTGTATGGGT
CGGCTGGTTTCGGCTTCAACGCGGGTCCAACCTCGAGTCGAGCTGATCACCTCGCTGGTTCATCGTCAACACCTTCACTGCAACCGCG
GGTCTGGCGTGGCGTGGATGTTTCGCCGAATGGCTGATGAAGGGAACCCGTCGCTTCTGGGCTTGGTTTCCGGTGTGTTTACCGGTC
TGTTGGCCATCACCCGCGCTGCGGCTTTGCTGGCCGATGGGATCGCTGGTCTTGGGCTTGGTCTGCTGGCGTCTGCTGCTTCTGTT
TGTGGTTTACATAAAGAATGTTCAATCTGGAGCAGAGCTTGTGCTTTCGGTATCCACGGCTTCGGCGCATCATCGCGCTCTT
GCCACGGCTTATCTGTTAAACCAAGCCCTCGGTGGCGCAGGCTATCCAGCTACATCAGCAACGCGCGGCGAGTTCAGGTGGCCGAAT
ACGTGTTTCGCCACCGCTTTCATGGCACAGCTAAAAGCGGTGCTGTTTACCATTGCTTTCGTGCGTATCGGATCGCGCATCTGTACAA
ACTGGTTCATCTGCTCGGCGCGGACCACTCCCGGCGGACACCCCGCAGATGCGCCCAAGGCGCTCCCCCCCCAAAGCGCACACG
AAGCGGCTTGCAGCATGCTCCCGCGCAGGTGTTTTAATTATTTGGCTAACCGATAACGCTGGCAATCGCGCGCGGCGAGTATAGGCA
CTGTCCGCGCATTCAGCCCGGCAATGTTGATCCGGCTATCGCCACCATGTAATCCCATGCTCAACCCGCAACCGTTCAACCTGATC
AACCCTGACCCGATGCGGGAACCATGCGCGATGCTGGGCGACAAAGCCAACTGGTCTGATCCCGTCAATCGCGCAAGCATCC
GCCAAAGCTTCCGCAACGACAGCATGCTAAGGCGCACTTCTCCAGTTCCGCTGCCAATCGGCGAGTCAGCCCGCGCTCTGCAAAA
TAGTCGTACAATCCGCGCGCATGATCGGGGGAACGAAAGTTTACCCGCTTACAGTGCAGTTCGCTGACCGCTGACCGCTGACCG
CTGACCGGCTGCACACAGCACAATCAAAATCCCCGTCCGTTGCGGTTAGATGCCAAAGTTTTTCGAACAGGACGCGCAATCAACACT

TGCGGAAACCGCGCCGCTATCATTCGGGTGGCTTCGGCGTCGTCTTCCAGCCCGTCGCCAAATCCCTGATACGCCAGATCAATGAATG
GTATGGCCCCGCGCCACCAGCAAATCCGCCACCTGCGCCCATTCGACAGCGTTTCAGATTTGCCCCGGTCGGGTTATGGCAACAGCC
ATGCAACAGCAGCATATCGCCCGGCTTACCGCGCTCAGGTTCGGCGATCAGCCCGGCAAAATCGATGCCCGCGTTTCGGCATCAAG
TACCAGATACGTGCGCGATGGAATGCCAGATAGCTGATGATCGACAAATGGTTCGGCCACGTTCGGGTCCGATACCCAGATCGTCGCCCT
TCGGGTTTCGCCGCGCGGATCAGTTCCATCCCCTGCCGAATCGCCCCGGTGCCCCGACCGACGCGCTGATGCCACCCGGTCCAAAGCG
CACGTTATCGCCAAAGGATCATCCGTGTTATTGCGCGGTTGAACGCGGCTTCCCCGGCAAGGGCCGTATAGGTCTTGCTAACTTCACTG
TCCAAAAGCTCGCGTTCGCACTTTTGACCGCGCCGATATTCGGCGCTCAAAACCCGTCTCATCTTATAAAACCCCAACCCCAAGATCAA
TCTTGGTGGTGCGCGGATCGTCTTTATACAACCTGCATCAGCCGAAGGATCGAATCGGCAGGCTGCGGCGCCAGATTCTCAAGCATTAT
CTAACCCCTTCGCGACCTGCGAGTGTGCATACATGCCCATTCGCGCCATGATCCATCATAAAGTGCCTGTTGCGGTGCCCAATCCGT
TCAAGCGCCAGACTTAGGATCGCCGCTGTAATGCCGGACCCGCAAGTGGTGATTGCCGGCTTCGATAAATCAGCACCCGGCATCGGCAA
ACACCGTACCCAGATCCTTCGGTGCCTTCATCGTGCCATCCGCTTTCAGCAGCGCGGACGACGACATTTCTGACCCCGGGATATG
CCCTGATCGCAGCCCCGGCGAGGCTCCGCGCCTCGCCCTTGAACCGCGCCGAGACCGCGCATCCAGAATTTCCGCCTCGCCAGC
TTCGATGAATGCGCCACTTGCCTCACATCCTTACCAGCCCGGCTCGCGTTGCACAGTTCATATGCCGGTCCCGAGCACTGGTGGCA
TGCTTTCAACAGCGCGCCCTTCGGCTGCCATTTTCGAAATCCACCGTCCAGCACGCGCCACATCCGTCTTGCCCATCAACCGGAACGT
CCACGAGCTCGGCGCGAGACAGCAGCAGCCATCAAAACCCGTGATGACCATCGCCACCGCTGATGACCATCGCCACCGGATATG
CTGATGAATTTCTCAGTTGGCGGTGCCATGTGCGGCAGCGGCAACGCTGATCGGAAATCTCGTCAATATCGAAAAACCGCGCACCGG
GAATGTGCGCGCACTATATTCCGCCCGCGCATCGCGACCACTATCCGGGATGTACCAAGACGCATCCAGCACCCGCAAAATCCGGGT
CGCCAAATGCGCGGCCAGCCAGGTGGTCGAAACAGCGCTTTCGGGTTCATCCATTGGCGAGGGGGTCATTTTACGCTCCGTGCGGCTC
ATGTTCGGGATTAGTCCGACATCGGCATCGAAGCAAGGCTTCCCTTAACTCTGTTTCGGTTCCTCGGATTTGCGGATTCGCGGATCTTT
ACTTCGCCATCATGCTTTTCAGCGCGCCGACGATAGCAAGCAAGACACCCCGCCAAACGCCACCCGAGGCGATGGAAGAGATGATCGA
GCCAATGTCCAAGCCACCTGCGCGCGAGCTGGATCAACGGGCGCACCCATCATCCCAAGAGGTAGGTGCCAATGCCACCGCCAAAGA
AGGCCGACAATCGAATGCAAGCGTCCCGAGGCTGAAGTTTTCATAATTGCGCCCCGCGCGTTACCGCCAGTGCGCCTGCAATCA
GCTGATGATTCGACATCGGCATCGGATTCCTTCCCTTAACTCTGTTTCGGTTCCTCGGATTTGCGGATTTGCGGATTCGCGGATCTTT
CACACCGAAAGGTGCTGGCCCGGTGGACAAAGTGTGCGAGACTGTGCCAATCGGGCAACTGAGATTGAATTTTGAAGAACTTAGT
GCTTTGCGCAACAGCCGACCCCTTTTCGGGTCCAGTCTTTTTTGGCTCTGACGCGCTTGTGCGGCGAGCTTCTTGCTTTGGCG
ATGCCGATCTTCAGCTTCACGATGCCACGGTCTGTAAGTACATCTTCATCGGCACAATGGTTCATGCTTCGCGTGCAGTGGGCTTC
ACAGCGCGACATCTCTTTCTTATGACCAAGCTTTCGCGCGCGCGCTCTTCGTGGCCCATCTTCGCTGCGGATTCGCGGATTCGCGG
GATGTAACCGTTGATCAGCCACAACCTCGCCGCTTCAACCGACGCATAGCTTTCGGCAATGTTGATCCGCCCTTGCGAAGTGACTTC
ACTTCAGACCCAAGCAGCATGATCCAGCTTCGATATCGGCTTCGATATGATAGTGAACCGCGCGCGCTATTTTCGGCAATCAGCT
TGGAATTTGGGATCAGATTTTCGACCATGATCCGCCGAGATAGCGGATAGGGGCGAGCCAAAGTCCAGATGCGGCGCTCGCCAAATCTG
GCATCAGATCGGTATGACAGGGGGGTGTACAGGGGTGACAGCAGGTTGACGTGCCAAAAAGCGCGCTTTTGCCCGGACCAACAC
CGTAATCGACACCCGCTGCGGATCAAAGCGAACACCGACCTGTTATAGCGGAGCGCGCAACCATCGATTTCATCCCCCATCCGCAC
GCCGCGGTACGCGCACAATAAGCGCCCATCAGTCAAAAACCGCCGAATGGCATTCTGGCGGGTCAGACTCGCGGGGCGAAAAACCG
ATCTCCGCGTAGCTTGGTCAGGATGGCAAATGCCACAATTCACCCCGAGTCAAAACATCATCAGAAGCTGCCCGCGCGGCAAACTGCG
GGCGCAAAATTCGAAACATATCTCGACATCAAAGCAGCATCTGTTTGGCTTAGTTTATCAACCGGATTCGCGGATTCGCGGATTCG
ATCGATCCGCGCTTGGTGCCATCGGTACGGCCAAACCAAGCGCACGTGCGGGTGCAGAGATTGAGCTTTGACAGGCCATAT
TTCGCCCTGCAAGACCCGGCTCGATGAAATCGCTCATGACGCGCATAAAGTGGTCTGATATTGACGCGCTTTGCGTAATCCC
CACTCAGCGTCGCGGCTGAAATTCGCGCGCAAAGCGCGCGCCACATTCGCGCTCACCGAGATACATCCGACCCACCATGGGCATT
AAATCCCAGCGCATCTCTTCGCGGACAAATTTGGATGAGTTCGCGCGCGAGCTTAAGCGCTTGGCTGACCCCTTCAATCCTG
CCAGTAGCTCTTTGACACCAATGATCCGCGGAGTTTGGCCGAATACCCATGGTTTCGGGGTCATATCAACACCGCATGACCCG
GAATATTGTAGATGATGATCGGCAGATCGCAGCAATTATGACGGGAGTGAATGCGCGATCAACCCAGCTGCGTAGGCTTGTGTA
ATAGGGGCTCACCAATGCGCGATCCGCCCAACCTTGGCGCGTGGCGGATCAGCCGATCCCTCGACCGTGTGTTGGACCCA
GCCCGCGCAATACCCGCGACCCGGCTCCGCGAGCTTTCACAAACCATCGATCACCCTTCATGTTCTGCTGGTGAAGCTCGGG
TTTACACAGTGGTTCTTACAGGCAACCAACCGGTCGATCTTCGCGCAATGCCAAATCGACCAAGGATTGAGCGTATCAAGATCAAT
GGCACCGTCTTGAACGGCGTCACCAAGGCTGGAATGGACCTGTGATCATGGCGGTCTCTTATCTTTGGCGCGGATTGCTTAGA
CTCGCCGTTGCAACGCGCCCTTCTTAGCGCGCTGCGGCCATTTGCCAAGCGCGCTGACGCCGCTGCTGGCGATGATGTGAGTTG
CACCCAGCCACCTCTAAGGCACCACTGCGGGTATGATCCGATTGCTCCCTGCTCCGCCACGCCATCGCCCTCACTTGCTTGGAT
TTCTGATGCTTTTGGCTTACCGCGCGTGTGACGAAGTGTGACGCCCTACGCGCGGCCCTGACCGTGCCTGCTGCAAGATTG
GGCTGGCGCGAGGTCACTGCGGATGGGCGCTTGGCCAGGACATTGTTGAATGGCTGCGCTTTCGGTTCAGGGGATGGCAAGCTTGGC
GAATACGAGGCACTTTCTTGGCGCTGCGACCGATTGGCCCGGTTTGGCTTGTGCGGAAAGGGTGAAGAGGCGCTTGGCGGTCTG
CCGACCCGACCGGTGTGCTGGCTTACTTTCGCGATGCCAAGCCAGAGTGCAGTGGGGTTCGTTGGCACCTGTGTAAGGCTATCTGG
CCTTTGGTGGCGCGGATGTCGGAACCAAGCTTTCGCGGTGTCGCGGTGTCGCGGAGAAATTTACCGACCCGAAAGACGCTCTTAG
GCCCTGATGCTGACGCCCTTTCGGTGGCCATGAAGTGCCTTTCGCGGTTTGTGGGCGGATCGCGCCCCAGAAGCGCGCCGCA
TGTTGCCCGCGCTTGGCAATGATTGGCGCAAGCTGGCAGAGGCGGATTTGGCGTGCAGCGCGCAGACCAATGGGGCCAGCGGCTGGT
TGATGCGGTGCCAAAAGCGGTGGCGCGGACGCTGGTTCGCGTTTTCGCGGTTTGTGGCGGATGAAGAAAGACCGCACCGGAC
GCGACAGCTGTGATGATGAGCGGTAGCAGAGACTGCGGAGCTTGGCGGAGCTTTCGCGGATGAAAGACCGGAGAGCTCTTAG
GCGCATGATGCGGGCGGGGCGAGCGCGGACGCTTACCGTATTGACGACGCAACCGGTTGGCCAAAGGCAAGACTACGCCGATCT
CGAATTTCTGGCAGGTTTATCGCGCTGCGGAAGCTGGGTGATGCGGATGCTGCTAAAGCATTTCTGCAATCTGAAAGCGCGGTG
GAAACGCCGATTTCGCTGTACGCGCGATGATTGGCAGGGCTGCTGATTGGAAGCAAGGGCGATGCGGCGCGGCCAAGACCGCCT
ATACAGATGCTGCAAGAAATCAAACGGCATATTACGGGCTGCTGGCTGCGAGAACGGCTGGAACCTGACCTGGATGCTGGACTGCTG
TGACACCCGCCCATCAGATTGGCGCAAGTCCAGCTTTGCGGGATCGTCAGTCTTTCAGGCGCGCGCTTTTGGTGGCGGCGGGGAT
CGCGGCTTGGAAAACGCTTTGTTCTGCACCTCGCAGAAGGATTGTCGCGGGCGAGTTGGACCAACTCGCCGACTATGCACTGGAAG
CCGACGAGCGGCACATCGCTGTGCTGATTGCCAAGCAGGCGCGAGAACGCGGCAATTATCTGCCCGCGCCTATTTCCAGTGACCGA
TATGGTACCGGATGATCTGCCCGTACGCCGCGCCTTTCGCTGTCAATCGCAAGACGCGAAAGTGAATTTGATGCGCGCGGATGACG
CCTGCCGTTGCGCGGGGCTTGTGTCAGGTGATGCCGGGAACGGCAAGCAATCGCCCCAAGGCGAGTTCGCCGTACAACCCCGGTC
GGCTAACCTCCGATCCTGCTTATAACATTTCTTGGGCTTCTACTACTTACGTAGTGGTTGATGAATTTGACCGCGGATGCTGCT
TGTCGCGTCAAGCTACAATGCCGGCCCCGGCAGGCCCCGGCGCTGGATTGCGGAGTTTGGCGATCCTAGACTTGATAGTGTGATGTT
TGTCAGTGGTTTGGCGCGGTTTTCAGAGGCGGAACAGACCGGCTGCGCAACAACCTCCGATGATCAGGGGATGTTGATTTACCGCGCAAT
TGAAAGGAGCGCTCGGCCAGTGCCTGTTATAGCGGAATTGACGGGAATTGACGGCAGTGTCTGGCGTCTGTCTGTGCCGCTACA
CGGCTGCGCGCGGACGATTGCTGCAAGAACCGGTAGCGGAAATCTCAACACCGTTCGCGGTTATATTGCCCGCGCAGATGCTGCAC
TAAGCCGTCTTCAATGGCGGAAACCAAGATCGCGCAATCATCAGCCCAATGCCAAGGTGCGTGTCTGATCGGTCACTGTGGTAGGC
CAAGCTTCGGTTTTTGGCGCGGTTTTCAGCAGGGCGAAGCAGACCGGCTGCGCAACAACCTCCGATGATCAGGGGATGCGGAC
CACCTCGCCATAAACCGCGATGCCGATCAGGCTGACAGTACGATTTCAGGTTAGGCGAATGGCTGCACTGAACCTGCTCGGCAACT
TCGTAGCAGCGGATCAGCAGCAGTTGCCAGCAATGCAAGTAGCGGTACAGCGTCATCCAGAGCCAATCTTCGCGAGTTCATCGGTT
CCCAATTCGGCAAGCGGATTGCACTGACCAAGACGGCGCAATGATGCCGGACGAGAACAAGGCCACAACCGCAGGTTTCATCCCGGT
CGTCAGGCGGTCAGCAGGCTGTAGACCGCGAATCAAGACGGCGAGTGTGAGCGGATGGAAGAGACCGCCGATCCCG
GGCTGCAAAATGATCAGCAGCGCGCAAGACCGGCCCGGATGGCAGCCACCGTTGCCATGGAATACGCTACCCAGTAGCGGACCG

CCAACCCCGCTACCAAAAGGGGGCAGACGGCAAAGATGGCATGGCTGTTGATCAGCCCGATCAGGGTATAGCCCTGCACAATGGCGCA
AACCTCGGCGATCAGCAGGCTGGCGCGCAGTAGGTGCAGCCAGGGGTGTGCGGTGTGAATAACGGCGCGAAACCCCTTGGCGTTGGCGC
AGGGCCAAGGCCCATCAAAATCCGCGAAGAACAATAGCGGATCATGATCACCATGAAGGTGTTGTAGGTTTCCGCGAGATGACCGC
AAAAGCCGTCCTGCGCCGCAAAGACAGTAACGGCGGCTATCATCAGCCAGATGCGCGCTTGGCGTCTTTGTGCGTATGCTTGAAGT
ACCCCGGTAGACATGTGGCGTTTTGTGCGGTAGCCGACGCGACGTTCAACTGCAAAGCCGCGGCGGTAGTGCCCTGCGCACATGGC
CTGCGGCAGTGAAAGTGGCGAACGTGCCGCCCGTCTGGTATGGTCGGCGACGCTGTGCAGCAGATCGTCCGCCATAGATCGGGGT
CTTGGCAGGTGAGAAGCCATCCAGATACCAGGCATCAGAGGAGCAGGATTCCATGCGGGTAGTGTACGGTTGCGTCACCGATGGTGAATG
GTTGCTTTAGGTGCGGCAAGGCAATCTCGGTCTGTCCAGCGCCCATTTGTTCAAGGATCGGGCCAGCCAACTCACCGCTTGGGGGA
ATGCTGCAAGAGCGCAGCCATATCGGGCCGCGCATCGGATATGCCTCAAACGAGGTGTATCGAGTACGCTGACCCGCCCGCGC
CCGCGAGCGCATCAGCGTGGCAAGCATGTTCAACCCCGTGCCAAATCCTAGTTCGCCACATGAAAGCCGGGGCAAAGCGGGCGGGC
AGGTCAATTGCCCGCAAGAACACGTGTCTGAGTTTCTGCCAAACCGCCGCAAGCAGAGAAATAGGGGTATCAAACCGGGTGGACACCG
GGATAACATCGTCTCGCCAGTTTCAGTGTGGCAGTCTGGCGGGGGGAAGTCATATGCCGTAAACCCCTTGATCGCGGGCAGGGATACCA
CGACGGTCGGTCGAACAATGGGCAAGGACGCGACGAATGGCAAGACCGGATCTGACCGTTATGGCGCTGGGATCTTTGGCTTGTCCA
TCGCTTGGGCGGCAACCCCTTCTGTGGCGCGAAAGTACGGGTGATTGAGGCGGGCGCGTAGGAGCAGGGTCCAGCGCGCGCCCGTCTGG
ATCGCGCAGGAGCGCAAGAACACGTGTCTGAGTTTCTGCCAAACCGCCGCAAGCAGAGATTGTCTGGGCGCGGATTCATCAACCGGGTGGACACCG
GGATAACATCGTCTCGCCAGTTTCAGTGTGGCAGTCTGGCGGGGGGAAGTCATATGCCGTAAACCCCTTGATCGCGGGCAGGGATACCA
CGACGGTCGGTCGAACAATGGGCAAGGACGCGACGAATGGCAAGACCGGATCTGACCGTTATGGCGCTGGGATCTTTGGCTTGTCCA
TCGCTTGGGCGGCAACCCCTTCTGTGGCGCGAAAGTACGGGTGATTGAGGCGGGCGCGTAGGAGCAGGGTCCAGCGCGCGCCCGTCTGG
TGCGCTTGGGCGGCAACCCCTTCTGTGGCGCGAAAGTACGGGTGATTGAGGCGGGCGCGTAGGAGCAGGGTCCAGCGCGCGCCCGTCTGG
ATCGCGCAGGAGCGAGATTATCATCGGTAACGCTGCGGTCGTGGGATTCAGCTTGTAGATCGCTGTGAGGTTTCAACCGGGTGGACACCG
GCAGTATCCGAAACCTCCGGTCTGCCGAATGGCTATGGCCGACCGGGCGGTGCAACCGTTGGCCGACGAGCGCGCATAGACATCG
CGCGGGCCGTCACGCGAGGCGCAGGTCTGTGGCGAGGCTTGGCTGCTGGCAAGTTGTGCAAGTCGCGCGGTGCCGCTGGCAGCC
GCATAGTCCGACAAGTTGGCTGGTGCATGATACCTTAAGTGCAAGGGTGAACCCGACGCGAGGCTTTGGCGGCTTTGGCGACGGCGATC
ATCGCGCAGGAGCGAGATTATCATCGGTAACGCTGCGGTCGTGGGATTCAGCTTGTAGGTCGCGGATTCATCAACCGGGTGGACACCG
TGTGCGGTGATCTGGCGCAGCCCGTAGGCAACGGCGTCAAAGGTGAGGCGCTGCTTTTGGCGCATGATGCGCGTGATTTGCCGCACT
GTTTGTGTTAGTGCTGCATCGTGCCTCATGCGGATGGGACGCTGGCTGTTGGGTCCACTCGGAAACCGAGTGGCAAGACCCCAAC
TCCACAGATGGTCGGCTTGATGCTTACTCCGAAAGCCATTGCCGCTTGGCCGCTTTCGCCGACGCCCCGGTATATCGCGCTGGG
CTGGCTGATCGCAACGTCGGAAGTACGCGCGCGGTGTGGGATTCAGCTTGTAGGTCGCGGCGGAGAGAAGTTTCAACCGGGTGGTTT
CAAGATCGGCTTGGCATGGCCCCGAAAGTGGCCGAGGTGATGATTGATTGTTGGTCTTGGAGGCGCGCATACCATACCACGCGAGTTT
CGGTTTGGCGGTAGCCTGACCCGCTAGGCTATCGCATTTGTTTGGCACGAGGGACTGCATCAGTTCCGGTCAGACCTTGACCGTAAC
AGGATCAAGCAAGCGCCCGTTCTGATCAAATGCCTTCCGCGACGAAGCAACCATAACTCTGGCCCTGCCAACAGCTTTGGTGCAGAAC
GCCACCATTCGCAACCGCAATGCAAACTGCGCCCTGCGCGCACCGCGACCATCCGCCCGCATACAATCCGCGCGCATGAC
GCCAAGCGGACCCCGGCACACGGCTAACCCAGTCCAACGCGTCTTTCAGCACGCGGACAGGGATTGTTGTATTCCGGGGTCGAGAT
AACCCTGTCATCGCGCTTCCGAATTTGATCGGCAAGCCGCTGAACCTCGGGTGAATGCCGACGCGATCTTCCAGATCATTTGTCATAA
AGCGGCGAGTCGAGATTGGCATCTACCACGTTTGGCCGACCAAGGCAACGAGCCTCTGCCAGCAGCAGCCGATTTGTGTCATCCGG
CGCGCAAGGACCGCGAGATGGTCAGCAGGTCAGGTGAGTCATGATCGTCTTTGGGTGCGGCGGTTTGTGTAGAGTTTGGTGAAG
ACAAGCGTGGTCGACGATCAAAGCCAGCATGGGTACTGCTGGCGGTTTGCACAAAGCCCAAGGCTTGAATGTGGCGTGGTTTCCA
CAAGTTCAATGCGGGTCGACAGTTCTAATGCTGGCAAGCCAGCTGCGGGCGCGGTCTTCTGCCATGGCAATCAGCGCAGCAGCCATA
GCCCTTGGCGTGGTGGCGCGGATCCACCGCCAGTTTTCAGATACAGCGCATGCGGCGAGGGTCTGTAGAAACAGCAGCGCAACCGCG
GGTGTGCCAATCGCCAAACCTCGCTTCAATGGCTGTTTGGCAATATCAGCGCGGTCAAATGATCAGCGATGACGCGCGGTCAA
TGCGCCCTCCATCCCGGCAAAGGCAACGTCAGATCGCGCAGGGCTGCCAGTCTAGGGATCAACCGCGCGAAACGGGGTGGT
CATGGCAGTCTCTTTCGCGCATTTGGCTTTTCGCGCGCCAAACAGTCAAGACAGCAATATATTGGGGATAACCCGCCGATATGCTCT
ATATAGGGTGGCGTAGCGGTTGACAGCCCGCGCCTTCCGCGACGATAGGCGACTGTGGAATCACCCTGGGTACTCGGTTGCGCTT
TTCTGCGCTTTCGCTTTAACCGCTTCAAAGCTTTGTGCGACCCGAGCATGCTGATCCATCAGGTTCTTACCGGGTGGTGGGCA
AATGGCTTGGCAAAATCAAACCTGCTTGAAGGCTCTGCGTTGGGTGATGGGCGAAACCGCCCTACCGCGATGCGCGCGCGAGATGG
AAGATGTGATCTTTGCTGTGGCGCCACGCGCCCGCCGCAACTTTGCCGAAGTGGCGCTGGTGTGACAAATGCCGAACGATTGGC
GCCATCGGGGTTCAACGAGGCGGATCAGATCGAAATCGTCCGCCGCAATTACGCGGGATGCGGGGTGGCCCTACAAGGCCAATACCAAA
GACGTGCGCGCGCGGATATCCAGATGCTGTTTGGCATGCTCCACCGGGTGCATTCGCCGCTTGGTGGCGGAGGGCAGATT
CGGAAGTGCATCAACGCCAAGCCAAAGCGCAGCGCATCTTGGAGGAAGCCGCTGGCATATCGGGTCTTATCAGCTCGGCGCAGCA
GGCTGAGCTGCGCCTTACTGCCACGGAACCAATCTGGCGCGCCTTGTGATGTGCTAGAGGCGCTTGGCACGCGAGCTGGCGACCCCTA
GCGCGCCAGCCCGCAAGCCGCCCGGTACCGCGAAATAGGCGAGGAATTGGCGCGTGGCGAGGCGATGCTGCTGTACCGTCTGTTGGC
GCGAAGCAGATGCGGCGCGGCTGGAGGCGGATGCCAATTTGCGGTGACAGGGTGTGTTGCCGAGGCAAGGCCGAACAGGCGCGGCGG
GGCCACCGGACGCGCTGCGCGGATGAAGCGCTGCCGAGCGTGGCGAAGCGGAGGAAGAAGCAATTCGACGCGCGGTTCTGCAAGCTGT
TCCGTGCGCGCGATACGCTGGCTGATCAAGAAGCCCGCGCGCAAGCCTTGATCGAAACTCTGCGCGCGCGGTCCGATCAACTGGGCC
ATGATATAGAACGCGAGGCTGGCTTAATCGTGTGCGGTTGAACCATCAGCGGCTGGAGTGGGAATTTGATCAAGTTGCCCGCGC
CCAGGAAGGCCATGAAGATCGGCTAGCTGACGCGGTAGAGGCGCGCGCTTGGCGCAACCGCCCTGACAGACCATGAACCTGTGAC
TCGCAAGCCAGGAAGATGCGGCGCGGCTTGGAGCGGTCACCAATCCGACAACCGGTTGCTATTGGATACCCGAACCGGTTGAGC
GGACCGAAGCCGAAGCGCGCAGTGAACGCGCTGTTGGCGCTGCGGAGGCTGCCCTTGGCACTGCTGCTACCGCATTCGAGATGGC
CGAAGAAGCTACTTGTGCGCGCGTGCATTTGGCGAAGCGCGGATGAGGCTTTGGCGACGACCGAAGTCGCCCGCGCGCATGTTGAG
GGACGCGAAGCCGAGGCGCGTGGCGCAAGGTCCAGTGGCGAAGCGGAGCGGAACGCGCTGCGTGGCGAAGTGGCGCGCTTGGCGGCTT
TGGTGGAGCGTGAAGCCTTGGCGGATGCGAGATCATGAGTCTGTTGAGGAGTACACCGGTTGCTATTGGATACCCGAACCGGTTGAGC
GGCCGACGATTTGCGCGCACCTGAAGTGACCAAGGATCGCGGCTGCTGGTGGGCCCTTTTAGCCGACTACGCGATCGCCGACGCGCCTT
CCGACGCTGCGCAGCCATTTGTCAGTATGGTCAAGGCGCTGCGGTTCTTGGCGTGGCTTGGCGAAACCGGCTTGTGTGCGCGC
CTGACGGCCAGCGTTTGAAGCCGACCTGTGCGCGGGGCGAGCGGTTGGTCAGCTCGAAGGCGACCTTTGGCGGTGGGATGGGCTGCG
CGCGCGCGCGAAGACGCGCGCTCCGCTGCTGCGCTGCGACTGCAACAGCTGAACCGCTTGGTCTGTCTAAAGCGTGATGTGGAAGAA
GTGGCGGCGCGAGCCGAAGGCGCGCGCCAGGCCCATGACGATTTGCATCAGCGCTTGGCGATCTGGCCCGCGCGCATCAGCTTGGCC
GTGATGCCGCTGCTGCGCGGACGACAGGCTGACCGAAGCCAGCGAACCCTGACAGGCGGAGGCGGACAGATCCATCGCTGGTGG
CAAATAGAGGCGCTCGCCTTGGCGTAAGTGGTTCGAAGACGAAGCGATGGCGCGCGCAGCGCGCTGCGCGAGGCGGAAACGGCG
GTACTTGGCTGCGCGATCTTGTGCTGCGCGCGCGCTGGCGAAGCGCGCAAAATTCGCGGTGAGGCGCGCGCATTAACCATGCTGA
CGCGCGGTTTCAAGCCATGATGAATTCGCGCGCGAAGGCGAGGCGCGCAACAGCGTCGGCAAGACGCCACCAAGGAATGTCAGGCTG
GCGGCACCGGCTTGAAGCGGCGAGAAAGCGGTCCAGCGAATTTGCTGATCGCAAAGCCACACCGGAGGACGCGCTGGCCGAAGCAGTT
GCCGCGCGGAAGACATCGCGCCATGCGCGAAGATCTGAACGATGCGATGGACGCGCGGAGGCGCGCGCTGCGCACCGCTGCGCGATG
CATTTGGCCACGAGCGCTGCGCGGACGACATCTTTTGGCGCATTTTGGCGCGACGCGGAGCGGAGCGCGGAGCGGCTGCTGATGCTG
CGCCCGTGGCGAAGCCCGCGCGGAGGCTGCACAGGAACCGGTTGTTCTGACCGAGGCGCGGATCGCGGAGGAACCGAAGCAACGCCA
ACTGACCTGCTGAAAGCTTGGCTTCTGACCCCGAGACCATGCCTGATGCTGAAACCTTGGAAACCGATGTAACCGCGCTGAAACGGC
AGCGCGAGGCGTTGGGTGCCGTGAACCTGCGCGCGGAAGAAGATGCGAAATCGGTGCGAGGAAGAATGACACTTTGCTGACGGAAGAA
GACCGACTTGAAGAGGCGGTGAAAAGCTTCTGCTCGGCGCATTTTGGCGCGAAGCCGCGAAGCGCGGAGCGGCTGCTGATGCTGATTT
GAACAAGTGAACGCCAATTTTGGCACGCTGTTTACCATCTTTTGGCGGAGGCGAGGCGCGCTTGGTGTGTTGGAAAGCGATGATC
CGCTTGAAGCAGGCTGGAGATCATGTGCAACCGCGCGGCAAAAACTGGCAACCATGTCGCTGCTATCGGGGGTGAGCAACGCT
GACCGCCCTTGCCTGATCTTTCGCGGTGTTCTGGCAAAACCGCGCCCGATCTGTGCTTGGAGGCTGATGCGCGCGCTTGGATG
GCCAACGTCACAGGCTTCTGCGATCTGCTGGATGAATGACCCGCGCGGATACGCGTTTCTGATCATCACTACACGCGCGCTCA
CGATGGCACGGATGACCGGCTGTTTGGTGTGACGATGGCGGAGCAGGGGTGAGTGTGTTGTTGAGTGTGAGACTTGAAGAAGCGCA

GGCGTTGGTGGCTTGAGTGGCGGCGTTTCTGTATAAAATTACCCACTCAGATATCGCATTTCGTAAACCAGCACAGCCTACCCCTGTCC
CTGCTGCGACCCCTTCGCACTGGCAGGAGGTGAGGAACTGAATGAAGTGAAGTATCGGAAATGGATGGTGGTTATCGGGGCGCAAGT
CTTCTGATTTCGGCATCATTCGCCCTTTGGATCGGGATCTGATCCCGAATAAAAAAGGTGACCCGGCAGAGTGAAGTCTGTGGTCCATCGT
TTATTGATGAGAAAGCTGAAAGTTGAACTACCGATACTCAGTATCGTAGAGATATCTTAAGCCTTCGTAAAGCGTGGCGTGGCCCTAT
GGTTAAACGCCGACCATATATCCGGTCCGTCGCCCTGACCTCGCGCTCCTGCTCAATCGAACACTTCACCGCAATAGGCGCATCGATTT
TGGTTGCTGCCAGCACATGTGGCATGCCATGGCCATCGTCATCTGCAGCGGCGCGCGGTACTTTTCGGGCCAGTCACTCTAAAGCCTATC
CAACAGCTCCGCGCTCGGCCAGGCATCGGCAGGCAACCCGAAGACGCGCTTGTTCCTTTTTCGCGGCGCATCGCGGTTGTGGTCCCAAGA
ATGCCGTCGATCTTGGCGACCTCATGCCCCATGGCGGCCAGCTTTTGTGCAACACCATCATTTGGTCCAACGACAGGGCCGGGTCCG
GATCGCCAGAAACATAGACATCGGCACCTTGCAGCCGCTGGCGAAATAGGCGGCGGTGGTTACGTAGACGAAGCTTTTGTCCACTC
AAACAGCACCCCTAAAATTTGGATAGGCCAGAAACGCGGGTCCGTTACGACCTTCGCGCAACAAGACCGACCGCTTATTCGACCCCTGT
GGCTTTCATCGCCACGCGCTGCCACGCCCATCGCCGCCAATCGGCCACGCGGAAAGCTGCGTCTCCAGCCCGTTTGGCGCAACAA
GATCCTCTGGCAAGGTTACCTCTTGAACACCGGCTCGCCGGAACGCCAGCCCAATGATTGCAGCATGTTAGCCGTGACAACAAGGC
ATCTGGCGCAGACGTTTTTCAGGCTGATCAGCCGCTCACCATCGCCGTCAACGCCAGCTTCAGAAATATCTTTTGGCAACATTTGCACC
ATGCCAATTTCCGCCGCCCATGCGCCGATGGTGTGGCGGGGTGCAACATGCCTCGGCCCGTCAGATCAATCGCTGCGAAGATTTGCG
TGCTTTCATCGCCACGCGCTGCCACGCCCATCGCCGCCAATCGGCCACGCGGTGCGCGTGTGTAAGCTTTCGCGTGTGCGCAACAA
CGTCTCGAACGCGCCAGAACGCCAGCAATATACCGCGCGGCACACCAACTCGGCCCGCGCTCTGTTGAACACGCTGTCCCATTTTTGC
GCCAAGCTGCACCGTTGCTGATCGGGCTTTGGCTGATCAGCGCTTTTGAAACTCAAGGAAAGCTTTCGCGAAGACCCCTTGCATC
GGTCTGCTTTTCAAGACTTCGCATCCACCGCAGCCCCGTCAAAAAACGCGTCAATGTCCGGTTCTGCCAGCCCCCTTCGCCAAAGCTTC
GGCTTTCATCGCCACGAGTACGAAGTCGGAATAATCAGCAATCAGCAGCAGCGACGCGGCGAGGCGAGCAACACAGCAACAC
AAACCTAATCGCATTAACGTTTTCTTCAGCTGTCTTAGGACAATCAGATCAGACTAGTCAGGGCGATCACTGCGGTGCCAATAAAAAAT
CACAACCCAGCTCGGCCAAAGTGCTTTACGCTGGCATCTACGTATCGGCCCTGCGTGCAGCGCGGCTTCGGGATAGACAAACGAA
AATCCGTCATCAGCCGTTGTAGCTCCGCGGGCAGACAGCGAGGTTTACGACGACGCGGCATCGCTGCCTCTGGCCAGCCGGCAT
TGCGGACCTCGCTCGGCCGCGATCGCGGAGGATGGGCTTCGCTTCCACCGCCCATGGGCGAGGCGAGCAACACAGCAGCTCAG
CCGCGCGGGCACCCAGTTTCAAGGTCGTCTAATCGGGCGGCGGCCAGCCGAATGTTTATAGCGCGCGTACGATGGCCAATCATG
CTGTGCGCGGTATTTGGTGTATCTTGTACAGCATCAGCCCCGGCAAGCCGCGCATCAGAAACAGAACGCGAGGCGCAATCACCCGTCGG
ACAGGTTTTTCGAGGCGCTTTTCATCGCTGCGCGGGCAACCCGCGCTCATCCATCGCGTCCGTTATCGCGGCCAAGCATCATCGCCAC
GGCCCGCTTCCATCGCCCAAAGATATCCGACGCGCATCGCGCAGGCTTGTACATGCTGCACATCTGCGCCAGCTTCGCCAACAACATC
GCGGCGCGCATCACTTCCAGCGCCCCGAAATCCGGCACCCAGATGGATCAGCCAACCCAGCAGCACCGCCACGATGGCAAGACCAACCA
TCGCCACCAAGCCCTTTAGCTTTCTTTGCGCTCCGCTATTCAAGCGCTCGTTCGCGCAATGCGACTGACCGCCCCATCAGAACCGCTGG
ATGCGGCGAGGCGGACCATAGCCATTTTCGGCTCGCCAGCGCGGCATCCATGGCCAGCGCGGGCAACAGCAACATGGCACTCATCGCC
CTGTCTCAGATGCTCAAGCGGTTGGCAAGCCGCGCCAGCTCGTTGGCTGATTCAGGCGAGGCCAAGCCGCAACAGCCTTTGGATGA
TGGGAAAAATCCGCGTCCATATTTGATGACGTGCCAGACTATCTGCCACCGCGCAGCATCTTCAGTATAGTATATACTGAAACAGGTTG
GTGCCGCTTACAAGTTTCCGCCCAACTGACGTGACCAACCGCTCCAGCCGCCCTGCGTGCAGCTGCAGCGCTCCTCGGGTTGCGTCCG
CCGACCCCGTATCAGTCAAAGCGGTACCCCCAATCCTTAGGGCCGGGCGAGACAGAGCCACGAGCCAGCATCTGTGCAATCGCGC
AATCAACGCGCATCGCCGATTGCAAGGCAAGCCGAAGCGCTTCGAGACCCAGAACTTTCGCAAGGCTTTTTCAGCAGCATCACACCG
GGCGGGGTGCGCGAGAAATCAGGCTTTGGCCGGGCATCACATCGCAAAAGCTTTTCATCGATGACGCATAGGTGCGCCGTTACATCAG
AGTCCGCCAGACCCGCCATCAGGATTGTTCCGGGTGCACAGCACCGCTGCGTTGCCAATTTGGTTTGGTGCACATCCCATCCCGC
CGCCGAAATGCGCGGTATGCTCGTTATAAGTCGGATCCGGTATCCGCACTCTTCCGGGGTTCTGTAGAGCGGAATGCGGGCAATC
AAGCAGATGACACCGGGGCGGCAAGCACTGCGGCACCATGCGGCAGGCTGCGCAAAACTGCGCGCGCTGTATCAGGGCATCTTGGC
CTACGGCTCGGGCAGGTTGCACCAATCCTTGGGCGAAAGCTCCGGCACCCGATAGGCAACCCGATGATCCCGGTGCGATAGATCAAC
CCAAGCATCGCTGTACCGCCGTACAGCCGCACTGCCGATCAACTCCACCGCGCTGATCAGGTGCTCAGCTTCCACGATTTGCCCT
CGTTTCCGGAATCGGAAGGGACGATTTCGCGATCCAGCCATTAGTTCTTTCAGCGTGAAAAATATTTCTGGTGTGTTTCTGCGTCCCA
ATGGCTGCGCAGCTCCGTTCAAACGCACTTCGTTGTTGTTGTTATTCGACCGTTCGCTGCGGTGCGCATCATCGCCCAAAAGGCG
GCTCGGATGTGCGCGTTTCTCGCAAGAAATACCTGCGGTTCCACAGCAGCATAGGGACATCTGCCATTGGACATCAACCTTAC
CATATCTTTGGAAGGGATGTTTGGACGCATAAGCGGTTGCCGAGCCAAATTGCCGGCATTTGCAGCGGGGGGCTGTTGGGCAAA
TGGGTATCAATTCGCGCGCTCCGTTTGGCGATCAAAGACCCATTCTTTCGCGTTAGCGCAACCAAACTGGCGCTACACTGCGGACG
TTTTTGGCCGACACCGCGCATGTTTCGCTGTACATCGCGCAATCTGTCGCCCAACGTTTCAAGCCCAACAAATCACCAGTATG
TAGTGGATTATCTTCAATTTTGATATCAACGCCCTGACCGGTGCTGCGTGCCCAACCTCAGCCGATTCATCGCAATCAGCGCT
CGCAGCCACGCAAGGTAAGTATGCGCTAACCAAGCAAAACGATGTCCCAACGAGGGAGCAGATACTGCAACAGCAGACACCGTTC
GCAATGCCTCTCAACCCAAATTAGCTGCCTTGCCTAAGACGCGCGAGCGATCAAACCAAGTGGGAGGAATGTGCTTTTGTATGGC
AGCGAGCTAGAGGCGGCAAACTCTGGCCTTACGACATGCCGCGAGAGCGGCAATCTGCCGGCGCAGAGCCCGATCAAAATACAG
ATCTTTTTCGAGGGCCCCAACGCGCGCCAGCTTTTTTCGCGCAGCATCAGCTGTTTCAAAACAGGTTTATCTCTCTCCCTGAT
TTTTAACCATTTGCGGTTTACACTTCGGATCAGGAGACTGCCATGTTGGAATTTTTCTCGAAGGAACTGCGTGAAGGGTTTGAAGCGGC
GCCAAGCGGCAAGACGCCAAAAATCTCGTTTTCGCGGTGCAAAATTTGGTCCGAGGTTTATCCTATTCTGCGCATCTGGGATGATGT
TTGGCGTGCAGCGGACCATATCTCGCACCTGCGCGGTTTGGTTCGACGCTTACGATGGCGCGCGGCATCTTTCGCAATGTCTGTATCG
TGCGCTCAGCTGCGAATAATGGCCAACTGATTTGTGATTTAGCATCAGCATCAACGCTGGTTCAGATGCGCTCCGCTAGATTCTGCGC
TGACGAAAAACGCGCTGTGCGGTATCTGCCAGCAGCTGACCTATGGCCGCACATCCACCCTGCGCCACTAGCGGTAGCGGCAAAAA
TCTCCCGTATCTCGACATTTGAACGCGCATGTCATCCAGCCGTCAGTCCGCCCTCAAAATCATGTCTGCGCAGCGCTTGGGCTG
GCCATGGATGAAGATATCCCCGCCCGGATCATAGCCGCCCGGAAGCAGCTGCGCGTCACTGCTTGGCGATAATCAAGCCCAAGT
GACAGATGATAGCTGCTTTGCGCATTTCAACCTGTGACGCGGAAAGCGCCCTCCGCGCTTGGCATCGCTTGGCGCATCTTCGCC
CCTTGGGTGAAAAACCCCAAGGCAATGCGGTATTTACGCGAGCGCTTTTCCGTCGCGGTAAACCACCATGCGCCGGGCGGATTTTTCAAC
CAGATCCGGTCAATAGGCCCGACCAATGGCGGCAAAACCGCGCTAGGCGCGGTATCTGGACGCTGCAACAACAGCGCGCACCCGCC
CCGATCAGAGCAAAAGATATCAGCTTTTCGGCGCAGCCATCGGATCATTCAGATCGGCAAAATGCCGCTTGCATCCGCGCCACGCGCAT
AATGACGTTGGCCCGTGTGCTGCGCATGTTGAAGCGCGAAGGATATCACCAGCCCGCCCCGAGCCTCGGCGGTGTTGGTCCGAATT
CCAGCAGTCTTTTCGACCCGAGCGATGAATTCATGTGCGCTCATTCAGCACCGGCAAAATCGACCCATGCCAGATAGGTGCGATCCA
GCGTCATCGACCGCAGCCCCGGAATGGCATTTGATCCCGCATCGAAATCTGCCGTTGGTTTTCAGATAGCCCATTAACCCGCTCCAG
CATTCTGCGCTTTCGGCGAATAGGCGGCGGTACCATGTGCTTTCCGAACGAATTCGGCGAAAGGCCAAGAGCATCTACTCTTGGC
GCCAAGCTTGCAGAGTTAGCTTCCGCGATAATCAGTTGCGGATGCGGATGCGAGCCGCAATGTTGAAGGTTTGTGCGCTGCGCTCA
TCATACCAATCTATCAGATATGCCCGGCGGACATTGCCATGACGTAATGTTTTTGGCGGGGAACACCAGATCATGGTGTATCTC
GTCCGACACCAAGATCAGATCATGGCGTGGCAGAAATCTGCGACACCTGCAATTCGCGTTTCGCTCAGACGCGCGCCCGCGGATTA
TGCGGCGAGCAGACAACAGCATCTTTTACGCCCCGTTTATCTGGCGTCCCAAGTTGCAAAATCCATCTCATACCGACCGCGGTTTT
GCGCAGCTTGCACCTTACTACCGCGCGCCACTCCCTTAATGACACGGGCAAAAGCATGGTAACCCGGGTATCAGGATCACCC
GTCGCTGGCGCGGTAAACGCATCAATACAAAGTGCTATGCCATTGACCAAGCCATGGGTGGTAAAGATCGTCTCCTTAGCCACATCC
CAGCCATCCGAGCCTCCATCCACCATTTGGATGGCGCGATATACCTCGAATCATCGCCGAAATAGCCGTAAAGCCCGTGTGCGGCCA
TCGCCCTCAGCCGCTTGTGTCACAACCTGCGGTGGCGGAAAGTCCATATCCGCAACCCACATGGCAAGCCCGGTCTGTGGCGAAACACC
GTATAGCTTCTCGCATGTGCCATTTTGAAGCAATGGGTGCTTACGCGGTTGATCGGTTTCGCGAAGCTATGGTCTGTCTGCTGCTATC
TGTCGACGATCTGGTGTTCGTTGGATGTAAGACTTCTGGAATATCATTTCTGACTAATGATCTCAAGCCATACAATGTTCTGATAA

ATCGGCAAAACACGGTACATCATCTGAAGTGCTGCCGATCCTACCTACCATCAATAACTGTCTGCCTTGCACTTGCAACATTGTCCC
TTCGCGCGTAAATCGGAAAAATATGATCCGATCCATCTGATCCACCCCGATCCGCGTCTTAAACGGCTTTCCGATCCAGTGACCGAAA
TTTCGCGCAGATATGGGAAGGCTGCCCGAAGATATGCTTGCAACCATGTATGATGCGCCCGCATGTGGCCCTTGCGGCACCGGATTGG
CGTTAAACAAGCGCATGATCGTGATGGATTGTGTGAAAGACCTGATCTTGCGCCGCGCCCCCTAGTGTGATCAATCCCGAAATTACC
TGGGCTTCCGAAACCTTGCCACCTACGAAGAGGGCTGCCTTTCCATCCCGCATCAATACGCCGATGTGCAACCGGCTGCCGAAGTTG
CGGTGCGGTGGACAGGGCTTGACGGCAAAACCTACGAGGAGCAGTTGCGCCGGCTGTGGCAACCTGCGTGACGATGAAATCGACCA
TCTGAATGGTAAGTTGTTTATTGATTACCTGCGCCCACTTGCCCGGTGTGTCTGCTGTATCTGCGACCAACGCGCCGTACCGGTGCGGTGAA
GCGCGCGGTGATGCCACACGCGCGTTCTTGCACTGCGCCGACGCGCTGCCTTTGACCGCTGCGGTTCGAATTACCAATACCCGA
TGACGTTGCGCGCATATGGGCGGATATGTCGACATCATGGACGCGATGCCCGGTATGCGCTTGCCGACCGCAAATCGCGGTGTG
CTGCGTCTTGCCGTCGTCGATTGTTGCGATGACCGTGCCGAGCGCATCTGATGGCCAAACCCAAAGTTTTGATGCCAGCGGTGAGT
TGCGCAGGCGCATGAAGCCTCGCCCACTTGCCCGGTGTGTCTGCTGTATCTGCGACCAACGCGCCGTACCGGTGCGGTGAA
CGCGACGGGTGATCGAAGATCGTGATCTGGTCAACCTTTGGGCCACGTAGTGACGATCAGATCGACCATCTGAACGGCCACATG
TATTTGACCGCGCTGTGCGCGCTAAAGCGCAAGATGCTGATTGCAAAAGCGGAAAGTTGCGGAGCGGACATGAGGATTGTCTTCAT
GGGACCCCCGATTTTGCGGTGCCGATCTTGAAGCGCTTGCTGCCACCATGATGTGGTCTGCGTTTACTCCCAACCGCGCGTCCC
GCTGCGCGTGGCAGGATCGGCCAGTCCGGTGTCAATTGCGCGCATAGGCGCTTGGGTATTCCGACGCGCATCGGATGCTGAA
GAACCCCGAAGTGATCGCGGATTACCGCCCTGAATGCCGATATCGCGGTGTGGTCTGCGTTTACGTTTGATCTGCGCAGGGCCAT
TCTGATGCCCCGCGAGGGGCTGCTGAACATCCACGCTCGCTTTTGCGCGGTGGCGTGGTGTGCTGCCCGATCCACCGCGCAATC
ATGGCTGGCGATACAGAGACGGGAATTTGCATCATGCAGATGGAGGCGGGTCTGGATACCGGCCCTGTTATGCTGCGCGGTGATCC
CGATCGAGCGCGATACACCGCGATCTGCACGAGGCTTGCTGCGACGTGATGACGCTTGCTGCGACGTGAGTGGCGAGGCT
GCCCGAACCACTGCTGCAATCGGCGGACGGCGTGACTTATGCCAACAGATTGACAAGGCGAGGCGCGGTGACTGGACTCAGACC
GCAGTGACGATTGATCGCCAAATTCGCGCGCTCTGCGCAATTTCCCGCGCATGGTGCAGGTGGCGGGTGAACGGCTAAAGCTGTCTC
GTTCTGTGTGTGGTGGTGAAGGTGCGCCGGGACAGGTTTTCACCGTCTGACCATCGCGTGGGACGGGTGCGGTTGAAATCAC
CTGACCGCTGCGAAGCGCAACGCCCGATGCTGCGCGAAGATTGCTGCGCGGATGGGTCTGCGCGGATGGGTCTGCGCGGATGGGT
CTTGACGGTGGCGGTACAGAGCGGTGCGCGATGTTGGTGGCTGGATACACGCGCCACCAATCCGCGATCTGTTGTAACACATCG
ATCTGACACCGAGCAATGAAACCGGGATGCGATCGGATGAGGAAGAGCGCGTGGGTGACTTCGCCACCATCGGGCAGGCGATG
CTGGCGAATCTGCGCCATGACATTGCAAGCCAACGCGCTATTACCTAAGTCTGTTGCCAGAGCGGATCGGAGAGAGTGATGCCTAGCC
TCATTTTGCTGCGAATCATCGGTGCTGCGCGGGCTTTTGTACCGGTGCGGCTTTATGCGGGTGCAAACTCGGCTTCAACAGCGGTT
GATCGGTATGTGGGGCGGTCTCGGCTCGACCATCTTGCGGTCTTGCTGCGGTGACGGTACCGGCATTACCGCTTATTTTATGGCGCG
ATCCTTGCGGTGATGTTGCTGATATGGGATGGCGGACCTATATCTCTAAGTAAGTGTCTACCGCATCTTGATCTTAAAGCTTTT
GCCACCCGCAATTTGCCACAGAAGTTGGCCCTGCCAAGCGGCAACAGCATCGCGCTTTTGCGCGCGCTTTGTACCACGACCAAG
TGTGAACCTTACGCTGCTTCACTGTTTGAACGCGAGGCTTCAGCCCGCTTTTCGCAAGACTGCATCACGAAGTCCATCGACGAGCG
CAAGGTCAAGCGGTCTGCTGATCACCCTCAATGATTTCATAGATTATGCGCGCCCTTGGCTGAGAATTACGACTTGCAATCGC
TGCTGCAGTCGCGCATCCAGCGCATCCCATCCGCTAGATGCGCGCAGCGGATCATACCGCAGCGAGCAAAATCGTTGCACCAAG
GTTGGTCCGGCAAGCCCTGTAGCTGCGCCACGGATGCAAAATGCCACGGCTTTTCGCCACCGCAAGCAAAATCTGCGGATTGTGA
GGAAGATTCTGCTGCGAAGCAAGTTCTTGAACGGCCCATACAAATGCTTAAACGAACGTAAGTTTATATTCAAGTTCTTGAAATG
TGATGCCCAATTATGTGCTAGGGTGGCGTCGAAAACCTCAACCTCAGTCCACTTTCACTGTTTTGAACGGTGCCATGCCGGCTCGCG
CCAAATTCATCTGCACGCTCATTTTCAACGTGCCCGCATGTCCTTGATCCATTCCAGATCACGAATGCTCCCGCGCGCGCATC
GAGCCTCTGCCACAGATCGACATTCTTTACCGCGCGGCCACCGCGCTGCGCCAGCCCTTACGCTTCCAGCCATCCATCCATTGCTG
ATGCGCTTCTTCAATAGGCATGTCCGTACAGATGGCTGATGCTGATGCTGACAGCGCTTACGACAGCGCTTACGACAGCGCTTAC
GCTCCATCCGGTTGTTGGTGGTCAAGCGCTCGCCACCTGAAGGGTGGCGTCTTTACACCGCGCCACCTCAGCGCGCAGCATCAA
AACACCCCAACACCGGGCGGGGTTGCTGAAACAGGTCCGTAGTATAGGCAATAGGTCTGGCATGTTCTCTTTGTCCAAAT
ACTAAATCAACGGATGCCAGATGGCCGACGAAACGGTCAAGCAAGTTCCCGCAGCACACGGGGCACTTTAAATTCACCGCTTACG
CGCGGTTTCGACGATTGACGGTCACTCATGCTTGTCACGAAAGCTCGATTACCTCGTTACCAACACCTCGGGCGCTGACGCC
CCTGCGGTGATCGCAACTGCGCCAATCCGTCAGCGCGCATGATGATCTGTCGCGCTGCGACCGATTGCGCGTGAAGGCGAGC
CCGCGCGCGCGCGACTTCGACAGGCGCTGCGAATTTGACGAATTCGCGCGCGCGATCACAGCAGGCGCTGATCTTGCCCGCGAT
TGCTTTTACCGATGCTGCGGTTCGTTGTTGCATAGCAGATGCTTCTTATGCGCGCCGACGATGGCGGGGAACCGGGCTTGACG
GCTGTGACGATCCCTGCGGTGTCATCCACGAAAGCGTGGTCTGGGTGACATAGGCAAGCGCCCTTCATCGCGCACCACGAAGCGCG
CCCATCACCTTCGGTTTTCCACCAACAGACCTCGCGCGGTGAGTGGTCCCATGGTGCCGATGCGGTGCGGTGCGGTGCGGTGCGG
GATCATCACCATCTGCAGGCGTTCTCAAATGCCGTTCGGCTCCACATGTACTTTGCTGACCAAGGGGCGAGTGCATCAACAAAT
ACCATCTCAGCCTTACTGCTTCCGCGCGACCGCTTTGGCAGCCATGGGCGGAAAAAATCACCGCGCTCTTCGGGACGTCAT
CCAGTTCTTCGACGAAATCGCACCCAGCGCGCAACCGCTGACTACAAATTTGTTATGAACAAATCTATGGCGCACATATACCGG
CGCAACCCCATCGATTGCGCATCTCGACAATCTTGATGCGCCGATCAACCGCAGCGAGAACCGCGTGGCGCGAGCATGAAGT
TTAAGCGGTGAACGGGTGATCATGGCTCGACAGACTTTCCCAAGACCTAGTGCAAGCATTCTCAGGTCTACCCCCGACGGCATCA
CCTTGGCGGACAAACAGACAAGAAAAACCGGGAGCGTTTCGCAACCCGCGCAGGTGAGTGTGTCGGAAGGTTTACTTCGCTC
GATCGACATCTCTTACGCTCAGCCTTGCTGCGCGGAGGCGACCAATCAGTCAACGCAATTCATGCTCAATTCGATAAAGTTATCG
GCTTGGGATCGGCTTGTGTTGCTGCGCAATCATCGGTGCTGCTGCGGATGGTGGTATGATACCAACGCAACCGCGCTTGACCGCTGAGCG
TTTCAATCAACGAGCAAAATCCCGTGCCTCGGAGAGATCACAATATGATCGACGCGCGCGCAAGTTCCATGGCATCGACCGCAAG
TTCGATGTCATGTTGCCCTTACGTTACGTGCGCTTGCTGCTGCGGTGATTCTTTCGCGGTTTGGTCAACATGGTGAAGCGGTG
TAATTCAACCAATCCACAAGCGGGCGAATCGGGGAGTACTCGTCATTTTCAGCAAGCAGTATAGTAAATGCACGAGAAGCTTGC
CTCTGCGCATGAACTCGGAACGTAACAGCTTGTAGTCTATGTCAAATCCCAACGCGCTTTCAGCGCGGTACAGGTTTGTATCCATCAAT
GAACAGCGCAAGCGGTTGCTCTTGTAAACATACCCAGTCCCTTCAAATACTGCTCTCCAATCGATTTTCCGTGAGCGGACTACG
TTAATGTAGTTAAATGCGATGGCGAACAAGGGGAATATCGCCAAATATTCGCCATGGCAAGCGTTTCTATACGGAAGTGAACACT
TAAGATGGTTCAATTACAGGCTGCCCTTCTGCGTTTGGCGCTTAACCTGCCTTTTGCCGACCTGATGCCATTCAAACACTGCTATTG
GCAATAACCCAGTTTCCCTGACGTCATTTGCCATTGCGCAGGTGAGTGGGTTTTCGCAACACCTGTTTCCCGCGCGCGCGGCG
CAGATTACGTCAATGCTGCTGCTATACTTCAAGTTGCAAAAGATATGTACCGACTGAAGTGTGCTGCTGCGGCTTCAACAGATTGAGGC
CAACTTTGGCGCGCAGCGGACGACGCTTGGGGGATGCGGACGCTTGATATTGATCTTTCGGCACTGGGCGACGCGCTTTCGCCGAT
CGGCAACCCCAACCCGCTGGCGCAATCTTGATCCACGCTGCGAGGCCACCCAAACACCGACTGATCTGATCTGCGCATCCCCGCA
TGCAAGATCGGGCTTTTGTCTGCTGCTGCGGAGATTGCCGACGAAACCAAGGTGCCGAAGATCTGCGCGAGCGGATGATCGAAAG
GCTGGCGGCGCTCCCTGCTACCGATGTCGCTGAAATGCGCCACTTTAGCCGTGGTAACCTGCCCGGATTAAGACTTGTCAAGCCAT
TAGTCAGCGCTTACATAGCGCTCCATATCCATAGCCTGCATTGGAGTATCCCATGGCCCGCGTGACGCTCGAAGATTGCGTTGACA
AAGTCCCGAACCCTTCAAGTGGTGATGCTGCGCGCATGCGCGCGGTGAAATTAAGCAGGTTCTGCGGTGACAGTTGACCGCGA
CAATGACAGAAGTCCGGTTGTGCTGCTGCGGAGATTGCCGACGAAACCAAGGTGCCGAAGATCTGCGCGAGCGGATGATCGAAAG
TATCAAACCTCAGATCGAGGTTGATGAGCTGAAGAAGATCAGATGGCGTGTGATGGGTGGCGAAGTTGACCGTCCGATGACGGATG
ATATGTCGAAGAAAAGCTGTTGCGCGCATGATGGAAGCGCAAGGCGATAACTAAGACCGGGATGCCCGCGAGGATGCGACGAGGAT
GATCGACGTAGAAGACCTGATCGCCCTCGTCCGCAACTACAACCCGCGACCAATGTGATCTGATCGCGCGCGGCTTACCGGTATGGC
CTGAAGATGCAAGAGGTGAGTGCGCCATTGAGCGAGCCCTACTTTACACATCCCATCGCGTTGCGCGGCTTACCGGTGACGGAACAGC
GGCTGGATGATGAACCATCATACCGCGCTGCTGCACGACCATCGAAGATACCAATCGACCTATACCGAAGTGCGCCGATGTT

TGGTGACGAGGTCGCAAAGCTGGTCGATGGCGTGACCAAGCTGACCAACTTGCAACTATCATCGGCCCAAAGTCAGCAAGCGGAAAAAC
 TTTCGCAAGCTGTTTCATGGCGATGTCCGAAGATTTCGGGTGATCTTGGTCAAGCTGGCCGACCGTCTGCACAACATGCGCACCATAA
 AATCCATGCGCCCCGAAAAGCAGGCACAAAAAGCCCGGAGACGATGGAATCTTTGCCCGCTTGCTGGTCGCATGGGTATGCATG
 GATGCGCGAAGAGCTGGAAGACCTGGCCCTCAAGGTGCTGAACCCGAGGCGCGCAATTCATCATCCGCCGCTTCATCAGTTGCAA
 CGTGAACGGGCGATGTGGTTTCAAGATTACCGCCGATATCCGCGCCGAGTTGAAAAAGCCAAGATTGACGCCGATGTGTTTCGGTC
 GCGCGAAAAAGCCCTATTCGCTCTGGCGCAAGATGCAGGAAAAGGATCTCGCCTTTTCGCGACTGTCCGACATCTACGGCTTTTCGCAT
 CATCCGCGCTCTGAGGCGGATTGTTACCGCATCTTGGCGTCATCCACCAACGCTGGCGCGCGTGGCCGGCCGGTTTAAAGACTAT
 ATCAGCCAGCCAAAGAACAACGGCTATAGGTCCATTACACCACGCTCTCAGGTGCTGATGGCAAACGGGTGCGAGGTGCAGATCAGAA
 CACGCCAGATGCACGAAGTGGCCGAGGCGGGCGTCGCCGCTCATTTGGTCATACCGCGAAGGTGTGCGCGCAAAGAACCCGTTTGGCGT
 AGATCCGGCAAAATGGATTGCCACCCTGACGGAACGCTTTGAAGAAGGCGATCAGACGAATTTCTAGAACACGTGAAACTGGAATG
 TATCTGATCAGGTGTTTTCCTTACCCCAAAGGCGATGTCATTCAGTGCCTGGTGGCCACGCGCGTTGACTACGCCCTATTCCA

7.5 Das Cosmid slc_1p

7.5.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stop	Orien- tierung
501	COG0205: 6-Phosphofruktokinase (EC 2.7.1.11)	83	1279	-
502	Hypothetisches Protein	1289	1744	-
503	Uncharakterisiertes Protein mit unbekannter Funktion (COG4198)	1897	3198	-
504	Konserviertes Protein mit unbekannter Funktion (DUF820)	3302	3931	-
505	Adenosylhomocysteinase 1 (EC 3.3.1.1)	3948	5261	-
506	N-(5'phosphoribosyl)anthranilat-Isomerase (EC 5.3.1.24)	5419	6096	-
507	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	6099	7604	+
508	Potentiell Protein A eines generellen Sekretionsweges	7624	9078	+
509	Potentiell ATP-Bindeprotein	9099	10343	+
510	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	10364	11691	-
511	Dolicholphosphat-Mannosyltransferase (KOG2978)	11773	12585	+
512	Potentielle Transposase	12700	13374	-
513	Hypothetische Transposase	13367	13948	-
514	Potentielle Acetylhydrolase (ähnlich zu "Platelet"-Aktivierungsfaktor-Acetylhydrolase IB γ -Untereinheit (EC 3.1.1.47))	14070	14701	-
515	Uracil-DNA-Glykosylase (COG1573)	14966	15665	-
516	Konserviertes Membran- assoziiertes Protein,	15667	17373	-
517	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	17379	20315	-
518	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	20305	21309	-
519	Hypothetisches Protein	20365	21162	+
520	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	21323	21784	-
521	Hypothetisches Biopolymer-Transport-Protein exbD	21839	22303	-
522	TolQ, Biopolymer-Transport-Protein (COG0811)	22380	23243	-
523	TolQ, Biopolymer Transport-Protein (COG0811)	23629	24258	+
524	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	24276	24764	+
525	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	24773	25393	+
526	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	25523	26620	+
527	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	26647	27294	-
528	Transkriptionsregulator KdpE des KDP-Operons	27389	28096	-
529	Sensor-Histidin-Kinase KdpD eines 2-Komponenten-System (EC 2.7.3.-) (COG2205)	28101	29399	-
530	Hypothetisches Protein	29437	29811	-

531	Hypothetisches Protein	29862	30542	-
532	Insertions Element IS630 hypothetisches 39 kDa Protein (pfam00665, rve, Integrase Kern-Domäne)	30755	31849	-
533	Transposase	32173	34041	-
534	Serin/Threonin-Protein-Kinase (smart00220)	34303	37155	-
535	Hypothetisches Protein	37171	37596	-

7.5.2 Sequenz des Cosmides slc_1p

TCATCCCTGTTGAGTATCGCGGCGGACCCCTACCCCCGACCTCTCCTGGAGTACCGGGAGAGGGAGAACGCAATCGGGCCGATCACAC
GTTGGCCATCGCCGGCTCTCGACTCTCGTCTGCTAAGCGCTCGCGGCTCTTGCTGTTCCGATGGCGGCAGCGGCTCTGAGAACGGGCTC
TCCGCGCGGGCCGGTCCGCCAAGCTGATGCCAGCGCCCGCGCGCTTGACAGCGCGCGCCGTTGGGGTCAACTCGCGACAGCCGCG
AGACCGCTCGCAGATCGGCACGCTGTTGAAGTTCCGGCGGCTGGTAGCAGATCATCTCGCGCAACCGCAGGTGATGCACAGCGGCAC
CGCATGCGCGCCGAAGTGGGTGGCGAGCAGCGGTGCAACGTCGTCGGCGGGCCCGCGCTTGCAAATGCCCCAGCACCCAGCGAGCGG
GTCTCGCGGTGCAATCGCTCCTCAATCTCGGCACAGATCACGTTGCCGATGCGCGCCAGCCGACCTGCCGGTCTTCGTGACGGCGCT
CGACCAGCACCATGCCGCGCTCCGGCAGCTCAGTCTCTTCGGCAACGATGATCAGCGTGAATCGCTTGCCGCTGGTTTCGCGATCCAG
AATCTTGTGGCATATCTGTTCAAATGTCCAAGGGATCTCCGGGATCAGGATCACATCGCCGCGCGCGCAATTCGGCGCTGCAACGCG
ATCCAGCCTGCGTGCCGGCCCATGACTTCGAGCACCATGATCCGCTCGTGAAGTGGCGGCGTGGTGTGACGCCGCTGAGGGCGTCGG
TCGCGCACGCGACGGCGCTGTGCAAGCCGAAGGTGTACGCGGTGCGCGACAGGTCGTTGTGATCGTCTTCGGGACGCCAACCCAGCG
AATGCCGAACCTCATGGAAGTGTGCGCAACCGCCAGCGACCCATCACCCCGATGCAGATCAGGCCGCACAGGTTGAGCTGCTCGACG
GTGGTCTGCACCGCGGACGAGCTCGATGTCCAGTCAAGTCGAGCCGGTCTGCGATTTCGAGCGGGCGCGCAATCGCCCTTGTGGTCTG
AGCCAAGGATCGTGCTCCTTGGGTGAGAATACCCGTGGTGTCTCTGTTTCTGAGGAAACATACGTGACAGGGTCGACCAGCCCTC
GTAGCCCTTCAAGAAACCCAGCAGCTCGTAGCCCAACTGGCGGGCGCTTTGACGACGCGCGGATCACGGCGTTCAAGCCAGGACAA
TCTCCTCCACTGGTCAGCACCCCCAGACGTTTGGCAGCATGGCTCATTGCGCAACCCATACGGTGAACCTAGAAACAGAAACGGCGC
GAGCGAGGCGCTGACAGCGCGCGCCACCGTGGGGGAGTGCAGGTGGTCCGGCAATTGTAGGTTACGAGTACGGCGGCGGCAAGGAA
AAACCCGCGTCTTCCACGTGAACCGGGACGCGAATCCGGCTTCTGTAGATCGCCGTGGCGCAAGCCGGCAATGGCTGCATGACGGGC
CACTCGCACGGCGCGATGAGCTCGGCGATGCCCAACGGGGCAACATCTCAGAGCCAGGGCAACGCCCTGGGAAACGTGCTTTGAG
ATGCAACCGCGTTGCGGTAAACAGACGGGCGAAATGAACCGGGCGCTTCCGAGCCGTAGGCCGATCCCTGAGCATATCGCGTTGGG
CGTGAAAGAAAGCGAAATTCGGGTGCGCGGTTTACGTCGAAACGGGCTGGGTAGGCCGCAAAACCGCAACCCGCGGCTTGCCTG
TCACGAGAACTCTTGTGGAACCCGTTGGGGTTCATAGGCGATTTCCTTGTATGGCACTACCCAGGTTGGCGCGCGCTTCCGCCGCTCA
CCCTGGGCTGTGATGTTTAAACGCCCTTCGGCGTATCAGCCCTTCTCTCTCACTCCAGCGGATTGATTACAGCCCGCTGAGGAGCTTG
GGATAGAAGTAGGTGCTCTTGGCCGGCATCCGCTCCTGGTGTGGTGTGATCTGGCGGATGTGATCGACGGTCGCGCGCATGACCAATG
TGCCGAGCGGGTACTCGCCCGTGTGAGCCCGTGCATGACCTCTGACAGGTCACATAGTTCGGCTTGGGCGGCTCTTGCCTG
TAGCAGCGTTTCAATCAGCAGCCGGTGGAGAATGCTGACGCCGAGCCCTGCCAATCTGCGCTGTGTTCTGACGCGGCCTCGGCCATC
CGTGGCGCGCGCGCTCGGTGATCCGAGCGACCCAGCGTTCGTCCTGGGCGGTGAAGAGTCCGAGCTTCCCTTGCTCGTCTGTCGA
CCTCCAGCTCTTCCAGATCGTTGTGCGCAGGTCGCTCCCTCGCCGGCCACTCGGCAGGTGAAGGCGTCCCCAGCTCTTGTATCAG
GTACGCCGACGATGGCCGGCAGCCCGCGGAACAGCGGTGCGTGGGCGAGGACACCATGCCGGGATCGTTTCAATCCACGCGACATC
ATCAGCAGCGAGTTAGCCGGATGGTTGGGCGTCAACTTGCCCCCGCGCGCAACTCGTCGCGGTAGTTGACAGGCGCTCTCGTAGCGAT
GATGGCCGTTCGGCGATGAACACCGGCCGCGCGGCATCGCTGCGCGACAGCGCAATCACCAGACATCGGTACCCGGCCACATCCG
GTGGACGACGCCAGGTGGTGGTGGCCAGCAGCGCGCTTCTCGCGATGGCCGCTTCGAGCAGGTCCTGGGCGTGGTCTCGGGG
TCTGGGTACAGCCAAAGATCTGGCTCAGGTTGGCTCGCGAGGTCGCTGAGCAATAGTCGGTCTGCTTTGGGCGCGACATCGTCT
CCTCATGCGGGTAGATGTTCCCTCGCCAAACCGCTCGAGCCGACGCGGCACATGAAGCCGCGCGCGTCAGCAGACGCCCGCGTA
CCGAAACTCTGTGTGGTAGACATAGACGCGCGGTCCGACTCGGCGTACAGTAGCCCTTCGGAACGCCAATTCCGCAAGAACCGCGCG
CGCCCGCAATACCGGTTGTTGCCGTCGTCATCCCCCGGCTCATCGCGGTTTCAAGATCAATCGCACACGTTTCGCGGATGCTGCTGT
AGAGTCTGCTCCTGAAGTTCCGGCCGATCAGCTATAGCGGTCGATGAGTACAGCTCGCTCAACGACGTCAGGTCGTCGATGCGG
GATTCCGCGAAAGGCTTGGATGTGAGGATGGGAGTGGGATCGGGAATCGGGTATCGGGTATCGGCAAAAGCAAGGGCTTCGGGT
GTTTATCCCGAAGCCCTGGAGAGTTGTCAAACGAGGCGACCGTGTGAGGATCGCTGGTTCGGCGGCCCAAGTGTGCGCGAAGGAG
AGTAATCTGGCCAGCGCAACTCGAAGCTGGCAGCAACTCGGGACGATAGACCTCGGACGACCCGATCGTCAGCTCGATGACCTTCC
CGATTACGATCAACACCCCGTCAATTAGCTCGTACCGGTAGTCGTCGTCGTAATCCGTAACCCGCTGCAATCGTCGACGCTCATC
CGAATCCCGTTGAGTTCCGGGCGGAGCACAAGCGATTGCGTTGGCGCGAGGACAATCATCAAAGCCTCCCCGGCATCAATACCGGTAG
TGATCGGGCTTGAATGGACCTTCAACCGGTACCCGATGTAATCGGCTGCGAAGGCGTGAGCCGGGTCAACTGACTCCAGCTTCG
CCAAGTGACGCGCGGCGACTTCTTCGTCGAGCTTCTTGGGCGAGCATGTACGCCAACCAGGATATTTCTCTGTTCTGTCACAGCTC
GAGTGGGCTTTTCGAAAGACCGTCAATGTTCCGCTCGAAGCGGTTGATGATCCAGTACTCCGCGATGCCAAGGGCCATGTAATCCCG
TCTCTCGATGTAGTCGCGCATCCAATTCGCGCGCGCGCGGAAACGAACTCGATTGCGATCGTCGCTGATCCTTAGGTGGATCGGGA
TGCGGTTTGTAGTCCACCCAGATCACCCGATCGGCACGACGCGCGCTGTGCGGCAAGCAATGTACCGTTGCTGAGAGTGCCTGTA
GCAATGAGCCCTGCGGGTATGGTCTCGCCAGTTTCGGATCCAGTGTCCGAGCTCCTCGTTCGGATCGCACTCTTCTTCCGAGGGAAT
CGATTACGATCAACACCCCGTCAATTAGCTCGTACCGGTAGTCGTCGTCGTAATCCGTAACCCGCTGCAATCGTCGACGCTCATC
CGAATCCCGTTGAGTTCCGGGCGGAGCACAAGCGATTGCGTTGGCGCGAGGACAATCATCAAAGCCTCCCCGGCATCAATACCGGTAG
TGATCGGGCTTGAATGGACCTTCAACCGGTACCCGATGTAATCGGCTGCGAAGGCGTGAGCCGGGTCAACTGACTCCAGCTTCG
CCAAGTGACGCGCGGCGACTTCTTCGTCGAGCTTCTTGGGCGAGCATGTACGCCAACCAGGATATTTCTCTGTTCTGTCACAGCTC
GAGTGGGCTTTTCGAAAGACCGTCAATGTTGGTGAACGACGTCGATGAGTACGACGCGCGGCGCGGCGTCTCCATCGTCGTCGACCTCAAAACCTCC
ATCGCGCTTCGAGGCGTGTGATGGGCTATCTCGTGCAGTACACGCGCGCGGCGGCGGCGTCTCCATCGTCGTCGACCTCAAAACCTCC
CGAGCTCGCCATAGCCGGCGATAACGACGACCTTGGCGGCCACCATCACGTCGGTGGCCCGCTTGTATCCCGTCGGCCAGCGACTCGCG
GCAGCCGTAGAGGTTGTGCAACTTGCTCTTGGTGACCGAGTCTGTGACGTTGATGGCGGCGACCCGAGCTCGCCCGCTGGTGCATC
TGGTACAGCCGGTGAACGCGCGTAGTCGTCCTTCCGACAGTCCCGGATGCGCGCGAGCAGCTCGGGGTACCGCTGATGGACCATCG
CGGTGCGCTTCGAGGCGTGTGTCGAGATCATGTTGACGCGCTGGCGGAAACAGCGCTGCTGATGACCATGCAAGCTCAAACTC
CTCGCGCTTCTCTTCCACGCAAAACCGGGGAATCCCGCGCGGCAATGGCGCGCGCGCATGGTCTGCTGCTGGAGAGATATTG
CAACTGCTCCAGGTGACGTCGGCGCCAGCGCTTGGAGGTTTCAATGAGCACTGCCGTCTCGATCGTCATGTGAAGCAGCCGCGCA

TCCGCGCTCCCGCGAGCGGCTTGACTTGCCGTAACGCTCCCGCAAGGACATCAAACCGGGCATCTCGTTCTCGGCGAGCATGATCGA
CTTGCGGCCCCAATCGGCCAATGAGAGATCGGCCACCTTATAGGGCAGTTTGGTTTCGACTTGCGACACAGAAGGCTCCTGAATAGTG
GTTGGTTGCTGGTGAACATTAAACCCGACGCGTACGCGAGGGCTGGACCGCGGTTTACCCTCGCTTACGCTATTCGGGTTAGTATTG
TCGGGCACATCTTATGGACGCGTGTGTGAAGGTGACAAGGACAAGCCGAGCTACGACATAGATCCGCCGAGCGACGCAACGTTGGCCC
TGCCCGCTTGGACAAAGCCAAAGGATGCGGCGCTGGATCCTTGATCCCCCGGTGGAACCTCGACGCCGCTGGCGGTGTCCACTGCCCGGG
CCGAGCAATGCGGATCGCTCGGCGACATTCTCGGGTAATAGCCCCCGCAAGGACTAGTGGCGGCACTCCAGCGGCCTTATTGTAG
TTGCGGACCGCATTCAGTCGATCAACCTTCCCGTGCCGCGCATAGGCGCGCTGGCTTGATGATCGCACAGGACCATGCGGGGCATCC
AGCCGATCTCGGCGCAGCGAGCCAGATACGCGTGGATCGGCGCCAGGCCCTTGTGGACCGCAACGGAAACGCCGATCACGGGCAACCC
GCCGAGCTCCGCCAGGAATTCGGGCGGTTTCATCCCCGTGGAGTTGCACAGGTCGAGCCCCAGCCGATGCACCGTCGCCGAAACGGAG
CAGCTCGTCGATTGACAAACAGCCCACTTTGACGAGCCGAGCAGGAGCAGACGCCAGTATGGCCTGGGCTGGTCGAGCGATACAA
ACCGAGGCTCTCGGGATAGAAGTTGAGTCCAATGGCGCTCCGCTCCAGCCTCGACCGCCGCGAGTGCATCCTCAGGCCCGTAATGCC
GCAGATTTTGACGGAGAAGCTCATTGTGGTTAGAAGCTGCCACGAGCTGTTCTCTACATTGTATCACGGCTTGGCATCAAGCGGCCC
ACTGCCGCTGGTCAATACAGATCATGTACCCTTCAAGCAGCACTGCGCGCTGGCGGCCACCGAAGCTACCTGTTTCGGCGTGACGGCG
CTGGCGATCCTGCTGGTTGGCAACCTGTCTGTCACGAGCCGTCTCGGTCAAGGCAACGGCGTACCGGGGACGGCCGTTGTGAAGGGG
GGAGTCTCGGATCGGATCACCTCAAGCAGAGCAATTGCTGGCGCTGCGCGGCGAGCTGCTCCCTTCGCGCCGCTGCCAGCTGAGTGCCT
CAAGATCACACGGCGGACAGCCGCGACGGTGGCGGCTGCTGAGCATCTCGTCGACCGCGACCGAGCCCCGACGAGGCAATCCGCGTG
GCAATGTGTCTCGGCGTACATCGCTGCGCCGTTGAGCGGGGTAGCACAGCCCGAGTTTCAAGAGGCGATTGCGCAAGCACAAGCCG
CAACAGCGCTGGCGAGAGAAGAGATCGCCGCGGTGGCGGAGGCGATCACGTGCTGGTCGATCGCTCCTGCACTGCCGGACAGCCG
ATTGAGCTCTCTCGGGATAGAAGTTGAGTCCAATGGCGCTCCGCTCCAGCCTCGACCGCCGCGAGTGCATCCTCAGGCCGTAATGCC
GCAGATTTTGACGGAGAAGCTCATTGTGGTTAGAAGCTGCCACGAGCTGTTCTCTACATTGTATCACGGCTTGGCATCAAGCGGCCC
ACTGCCGCTGGTCAATACAGATCATGTACCCTTCAAGCAGCACTGCGCGCTGGCGGCCACCGAAGCTACCTGTTTCGGCGTGACGGCG
CTGGCGATCCTGCTGGTTGGCAACCTGTCTGTCACGAGCCGTCTCGGTCAAGGCAACGGCGTACCGGGGACGGCCGTTGTGAAGGGG
GGAGTCTCGGATCGGATCACCTCAAGCAGAGCAATTGCTGGCGCTGCGCGGCGAGCTGCTCCCTTCGCGCCGCTGCCAGCTGAGTGCCT
CAAGATCACACGGCGGACAGCCGCGACGGTGGCGGCTGCTGAGCATCTCGTCGACCGCGACCGAGCCCCGACGAGGCAATCCGCGTG
GCAATGTGTCTCGGCGTACATCGCTGCGCCGTTGAGCGGGGTAGCACAGCCCGAGTTTCAAGAGGCGATTGCGCAAGCACAAGCCG
CAACAGCGCTGGCGAGAGAAGAGATCGCCGCGGTGGCGGAGGCGATCACGTGCTGGTCGATCGCTCCTGCACTGCCGGACAGCCG
ATTGAGCTCTCTCGGGATAGAAGTTGAGTCCAATGGCGCTCCGCTCCAGCCTCGACCGCCGCGAGTGCATCCTCAGGCCGTAATGCC
GAGTCTGCCAGCCAAATTCGGCTGGCAAGCTTTGCACCGTGAACCTCAGCGCACTCGAGGCAAGCGTGAGGAACGGCTGCAGCATGA
CCGATGCTCACCCACCGTTTCAGCGAATTGACCAAGAAATCAGCGCGTTGACGGCACGCTTGCTGCTCTGCCCGCGCCAAACGGGGG
GGACGAGCGGAACAACCTACGCTGCGCTAGCAGCACCAGCGCCAGCCAAAGCAGAGTGCACAAAGACGCGACTGCTCCTCTGC
CCAGATGCTCTCGGGATAGAAGTTGAGTCCAATGGCGCTCCGCTCCAGCCTCGACCGCCGCGAGTGCATCCTCAGGCCGTAATGCC
CTGAGGGCGGTTTGAAGAATGCCCTGCCCGCGAACCGCGCTTGGCTGATCAAGCACAGCGGCCGTCGAGCCGTCGCAATGGCAGGT
CTTGCCCGCGCACCATGCCCAGCTTGTTGCCGCTTCGGCCCCCGGTGCGTCCGGAAGCGTGACAATGTCTGCTGGCGCTCGTTGCCGGA
ATGGCGATGGCGTTGATCGGAAGCCGTCAAACCCGCGACGCTTGGCCAGCGGCGGAAGCAGAGCGCTGGGTGCCGATTCTGTGTCTCG
GGTGTCTGGAATCCGCCGAGTCTCGCATCTTGGCTTTGAACTGTTTCGGGCTTTCGGTGCGGGGATCAAACGCAACGCTGCAGCT
GGCATTGGCCGGCGCCCTGTTGGCAAGTATTCTCTCAGCGTCTCTGATTTTCGGGCGGAGGACACCGATCAGGCGCTCCGCTGG
GGTTGGCAACCGCTCGAATCTCTGACAGAGGATGAGGCCAGGGGACTTGCAGATGTACGAAGCACTGTTCAACCTGCAACAGCGG
CCATTTCGGGCCGCGCGCAGGTGATCGCTACTTTCGGCGCGCGGCATCGAAGAGCCCGCCAGGTCTCTGCTCCGCTGCACTCCAGC
GGCGCGAGGCGCGCAGCTGCTGATTGGCCGCTCGGGCAGCGGAAAGACACTGCTTGCAGGTCTTGGCCGAACAGCAGCTTACC
ATTGAGGTGGCGCTGCTGCTGGGGCAATCTACAAACCTGCCGCGCTTGTGTCAGGCAATCTTGTTCGAGCTTGGGCTCCCGTAT
CGCGGATTGGACGATGGCGAATGCGGTTATCGCTCAACGATCATCTGCTCCGCGAGGTGCGGAGGACTCGAAGGGTTGGTGTCTA
TCGTCGACGAAGCGCACACGCTGCCGCTGCGGCTGCTGGAAGAGGTGCGGCTGCTGACGAACCTGGCCCGGAGGAGGCCCTCGCT
CGCGCTGATTCTCTGGGGAGCCCCCTGCTGAGGAACGCTGGAAGTCCGAAGCTCGAATCGCTTAGCGGACGCTGCTGCCCGCG
TGTTACTTGGAGCGCTGACGCACGATGAAACGGCGGCTATATCAAAGCGCAGATCACGTCCGCGAGGAGGGGACCTGATGCGATGT
TGGAACAGGAGGCGCTCGGGGCGTCCATCGGGCAACCGAAGGCATTCCAGGCTGATCAATCAGCTTTGGCACCATGCTTGTGCT
CGGTTTCGCCGATGGCGAGGCCCCGAGTCAACGCAGGCGATATTGGAGCAAGCATGGGCGGATTTCGAGCAACTTCCGACGCTTGGGGA
GAATCGCGAGGAGACCCGCGTGGAGCGGCCATCGAATTCGGGCGTGTATCGAGTTTGGCAGGCTGGCGAGGCAACGACGAC
CTGTTGGCCCTGAGTTGAAAGCGCGCCGCTAGGTATCGTCGGGCAACCGCGACCGAGGAAGCCGAGGCAACGACCGCTTGGGA
GGTGATTGAGCGGACCTGACAATCCTCGAAGCGAGTTGCGACCGAGCACTGCGATCGAGTTGCCGGCGCGCTCATGGCGACCCG
TTTGGGGAGCAGTTTGCTGAAGACGAAGTGGTGTATCGATCGCTATGCTCGCTCGACCGCGCGGATCGCAGCAGCGGCCACGCT
TTTGCAAGAAGGAGACGTGCTCACTCGGCTGCTGCAACAGGCGCGCGCTCGGAGCCTCTGGAGATCTGCGACGCGACCGGTCGA
GCCACAACCTGACCCCGCTTGGCGCTCCCGCTGCGCACTGACCATCCGAATCCAGTTGACGAGATCGACTCGGACGAGT
GTGATCGAAGAAGATCCGAAGTGTCTGCTGTTACGGCCCGCGTCCGCGGTTGCGGCGCGAGGATATCGCAACCTGTTGCAAGC
TGCGGCGGGGATAGTCGCCAGAGGTTGAAAGCCGATGGGTAGCATTTCTCGATGCTTGAAGCGCTTGGAGGAGAAGGCGGAGCATCCG
CCGGCACCTGCTGCGCGAGTCGAGCAACGACCAACAAGAGCACTGCGGGATTGGTGTTCCTGGCGATCCTGCGGAAGATGCTCTTAA
CGCCGCGAGTCAAGACCCATACACCCAGGCGCGCTGCGAGCGGTTCCGCTCGATCAGTAGTTTCTCGAAGCTGCGACCCGAGT
GGAGATTTGGAAGCGTTACAGGCACGTTCCAGTCAGCGAGCTTTGGAGTCGCCCGCGCAACTCCACGGAATTCGAAGCAGAT
CCTTCCCCCTGCAAGCGCTCGAAGCCGCGGAACAGGCGATTGATCGGAATGCGGCCACAGCCGACCCAGGAACCTCCGCCCC
AACTGCTCCATCGGCTTCCAGTCCGGAAGCCGCGGCTCCGACTGGTTGCAATCCTATCTGCGGAACCGGGATCTCTGGTGCCTC
GCCGCTACCGGCTCTCTGTTTGGTGTTTTGGCCGACGCGCTGAGCTTGGAGTTCGAAGGAAATCCCCACCAACCGGAAACGCTCCGCG
ATGCAAGTCGCGGACCGAGCGCGCGCTTGGCGGACCGGCGACGGGCGAGGGCGAGGCCCGGCGAGCATCTGCTCGGGGTGGATCGC
TGCGCGCAGACCTGAATGAGCTGTGCGAGAGGCTCCGAGCACAGCTTACGCTTGGCGTTCTCTGATCCTTCTGTTGACGGCCACGGA
CCCGGCAATGGGCGCGACCGCGGTGCTGGTTGAGTCTCGAGAGGCAATGGCGCAAGTGGCGGGATCGAGCTGCTGGTGTGCGACGCC
GACCTACGGCGCCACGATCTGTGCGCGGCTTCAAGGCGGCAAGACGCGCGGCTGTCGAGAGTGTCCGAGGCTGAGTCCGAGGCTGAGC
GCGACCTGGTGTGACACGCGCGTCAAGGGCTGCACCTGCTGCGGCTGGGCTGGCGCGGATTACGGCTGGGACGGCACCGCCGA
GGCAACCTCGCCCTGGTGTGAGCGACCTCAAGCAACAGTATGACTTGATCTGATCGATGGGCTGCGCTCTCTCGCCCGAGACC
TGCGCCATCTCGCGGTGCTGCAACGCCACCTACCTGGTATCGGCTCGGCACGCCGCGGTGGGACGCCACCGATGCGCTCCGCCACC
TCCAAGACTCCGGCGCGCGCGAGCGGGAGCGGTTCTGATTCGCTAGGCGCGAGCTCGTCTGTTTCTCTCGCCCGGGCG
GCTGACCCCGCGCGGCTGCACGCAAAAACCGGCAACCATGGCCATCATGCTTGCCACGAAGACGAACATCGTGGGATAGGAGCCA
GTGTAATCCAGCAGCTTGGCGGTGATCGGCGCTCCACGAGATTGCCGAGATCGAAGTGGCGAGCATCAACGTTGTTCCAGTCCCC
GGTATCTGCCGGAAAGACCGAAGTCCCCCGCGGACCCAGCATGGAACAACATGGCGTGGCGGATCCCCATGAACGTGGCGGGAAT
CGCGAGCTGCCATTCTGCTCTACGACCAAGAACAGCAAGATGCTGAAGATCAGGCTGGCGAGCCCAACCGAGCGCTGGTCTGCGCAG
CCGATCCGCTCCGGCAACCGCGCATGCAAAATCCGAGTCAGGAACGCCACCGCGCGTAGACGGCGAAGAACGCTGATCCTCGCAA
TCCCGAGATTGCCCGCAAGGTCCTGAGGAACGTGGACGGCAACCCACGCCGAACCGGTGGCGATGCCAACGATCAGAATCGCCCC
CGGATGGTAACGCCGCAACAACGGCCACATCGGGAGCGGCGACGGCGCGCACGGGTGGCGCTATGCCCGCGTCCGACGCGCGCA
AACAACATCCGACGAGCCAGCCAGCGGACGCAACCGGAACATGCGATCCAGGTTAGACCGCGATGCTGCGGACCGGACGAGGA
AGTACCAATCAGCGTGCCCGCCACCATTTCCACAAGCCCGACGTTCCAGTGTGCCAACACCTCGGCCAGCTGGCTACCGGCGA
CTTCAACGAAATATAGGTGATCGCGCTCCGAAGGCCCGGCCATGCTAGTGCTGAGCAGGCTGCGCAGCAGCAACACCGCGCGGAG
TCCACTCGCACGACCCACAGGTGTCCCAAGCAGCTTTCGATAAACAACAATCGACCACAGCCAAACCTGGCGCGGCCGCTACAGGT
GATCGCATTTGCCCTGGACCAGCCGATCAGCAGGCTGCGCCGATGCCCAATTCCGACGATCAGGCCAGGTGCAATTCGCTCT
CAGGTACGTGACAAAATCCGATACCGATACAGCAACTGATCGCTAGCATAAGCGAAGTGTTCGCCAGGTACGTGTACGAGAAGGGA
GGCCCGTAGGAGGAGGTTGCGAGTCTGAGGGTTGAGGGCTGAGAGACGGGAGCGGACGCGCTGCTGAGCAGATCGGCACGATGCTCTG
TCTCTGTCACCCGCGGCTCGGAAGGGGCACTTAATTTGCCAGCGCGGTGTAAGACGGCTCCGCGCGCGCAGCATGGTGGGGTAGAG
TGTAAGTGGCAGGCTGGTTCCCTCAGTATACCTCGCATACCGAGCTAGGCTTGAAGATGGCTTAAAGGACCCCTATGCCCGGCAAGACCTGGT
TATCCTCGCTACGTACAACGAGATTGAGAGCTTGCCGCGATTGGTGCAGCAAGTCTTCAGCGCTTGCCCCAGGCCGATCTGCTGGTG

ATCGACGACAATTGCGCCGACGGCACCGGCCAATGGTGCACACCAAGGCCAGTCCGATTACAGCCTCAAGTGCCTGCACCGCAGCG
GCAAGGAGGGCCTCGGCACTGCAATCCTAGCGGGGATCGGGTACTCGATTACAGCACGGGTATGACTATGTGCTGAACATGGACGCCGA
TTTCAGCCATGAACCCAGTACCTGCGCGACCTTGTGCGCGGATGGACCGGCCAGGCCAGCGTTCGGTGCAGCGTGATCGGGTCTCG
CGCTACATTCCCGGCGGAGGGATCAAGGGTTGGCCGCTCAAACGGCACCTGATGAGCCGCGGGATCAATTGGTACTGCGCTGGCTGC
TGGGGTTGCGGCCCAAAGACTGCAGCGCGGGTACCCTTGTATCGCACCGCGCCCTGGCGCGCTCGACTTTGAACAACTCCGTTC
CCGCGGCTACTCCTTTCAGGAAGAGGTGCTGTGGCGGCTCAAGCGGCTAGGCTGCCGCTTTGACGAGACCCCCATCGTGTTTGTCGAC
CGCTCCACCGGACGCTCGAAGATTAAACCGCGTGAAGCCGCTCGGCACTCCGGATCATCCTTCGGCTTGAGCTGGAAGATGGGGCA
TCGGGAGGCGGGAATCGGGAATCGGGAATCGGGAATCGGCCGCGGCGGAGCAAGACACCGGCAGCCGTAGCCGAATGCAAAAGTCTA
GCCTGTGCACGGGCATCCTGCCGTGTCTTCCACGGGCAAGATGCCCCACGCATCGATCACTAGTACCGCCCGCTGAGTTGAGCG
TCCTTGGGGGACGAGGTTGTCCAGGGTCAGAGGTTGAGCGGTGGCCAGTGTAGGTCCATTGTAAGGGTTTGGCCAGCGTACGATTG
AAGTATCAATAAGGCCAGCAGGCGATCGCAAGGTCTTCTGTCGAGCAAGGTTCCGCGCGGAGCAGCGACGCTGAGGATGTC
TGAACCAGATTTTCGATTGTGTTCAACCAGGACGTGTGGCGTGGCGTGTACACAAAGCGGATGCGGTGGCTCTTGTCTCCAGGAACGC
TTTGGCGCTCGCTCGCATTTACGACGCGCGCGCGCCCTTGATCCCAAGGTATCGGGCAGTTGGCACTGTTGGGCCAGCTAATGTC
ACCAAGCCTTTGGACAGTGAATGTTCAACTGGTTCGACGACGAGTCCACTCCGCGTCAAGGTCGGTAGCCACGGTGCAGGCCACGT
GGTTCACAAAGTTCGGTTCGGTCCGCTGTATGTCGCGGTGACGACCTCGCCCGTCAAGGTTGGCGGCTGAGGATGTC
TTGCGTGGCGTACGTCGCTACTCGAATTTCGCGGCGTTCGACTTGGCCGGGAGCAGTGGGCTTGGTGGGGCAATGCGTTCCAGCGCC
TGATGCTGGTCAATTCGTCGGTGTGATCGTGTGGGCGCGGTGTTCCGTCGCTCGCTGTGGAGCTCCAGATACGTGTACACAGCG
CTTGACCCGCGCGTCAATTGCGGGTGGCCTGTTTGTCCGCGAGTTGAGCCAGTACCCTGCGATGCGGCTTCAGGTTCGCCCCG
CTTTAAAAAACAGGCCAGTACGCGGATCGCAAGGTCTTCTGTCGAGCAAGTCTCGGAGCAGTTCGAACTTCGAGGATGTCGAGGATGTC
GTGTGTGACCGCGCTCCCGATTCTTCCGCGACTCGCAGGCCACCGCCAGAATGTCGGTGATTGCTCCGCGGTGAAGGTTCGCGGCG
ACCCAGGCGCGGCTCATCCGACGACCTCGATCACGCGCGCGGGAATCCGCCAGGTCTCGCAACACTCGACGATCGCCAATC
GCTTCAGACTTGTGCCACCGCAGACGCCAAACCGCGACCTGTGCGGCCCAATCCGATCTCGGCAGCGATCTCTCTGTTGTTCC
CCCTTCAGACTCGAGGATGATCCTTGGCCGCGCGCGCCACTTTCGCGAGCAGTTCGAACTTCGAGGATGTCGAGGATGTCGAGGATGTC
TGCTGCCCTCCGAATCACCACCTTCCGCGCGTCCCTGGCATGGTTTTCTCCACGATCAGACATCTTAAATCTGGGAACCTTC
GCCTGATCTTGGCGATTCCGCCGATTCCGTGGAAGATCAACTCGCGGGGCGGTACTAGGGGATCTTCGCGCTTCTTCAACTCCCC
CCAGCAGTTCTCTACCTTCGGCTCGATCGCTTCAGCCCAATCGCGTAGCCCTTGGGGTCAAGGTGACGCAAGTCCGGCATGATCTC
CGCTCGAGCTGCGCTCGGCTTCGAGGAACTTGGGCGGATGTCGAGTGTGACCATCTTGGCATCGGCTTCGAGGATGTCGAGGATGTC
TCGCTCGCGCGGCGTCTTTTCGCGCTGTGGATTGGGCTTTTTCGCGCGGGAAGACGGCCAGCAGCAGGACCTTGGTCTCGGGCA
GCTTTTGGCGGAGTGTGTGACGATCGCTTGATCCCGTCCGCGATCTGTTCCGCGGTGTGTGTCATTCCGTTTCGAGTTGTGGTCC
GATCATCAGCAGCAGCTTGGGCGAGATGCGCTCGATGTTGCGGTGATCAAGCCTCCACAAGACGTGCTGCGTGCCTGCGCGCGG
ATCCCATCTTGGCGCTTTCGCGGAGGCGTAGTCTTGTCCACACGCTCTTGCATTGGTTTCCAGCCTTGGGTGATCGAGTCTC
CCAGGAGAATCAGTGCATATTGCTTGGTTCGCTTGGCGCGCTCGTTGAACTTTTCTGTCGTTCCATCTGCGCGGCTGGTTCGCGCGGAAC
CGGCTTGACCGCGAGTGTGCGGCTCTGGCCGGGGCGGCCATAGCCGAGATCAACGTCAAGGCCAAGGTCACTGATCCGAGAGTC
CATCGCGGGGTGCGCATCGTCTTCTCCGGTGGCACTTGTCTTCAATTGAAAACCGATGACGCCAATAATGTGCGGGCGCGCG
GAGAAACCGGCTGAGGCATGGTTCGGGCTTTCGCGGCTCACCAACCGCGCGGTGGATTCTTAAGCTTAAGGATGTCGAAATGTC
GGAAGTTACTCTTCGCGCGGCGCCAAACAGCCTCCGACCGGTGTGAAACAATTCCGCCAGCATCTCGCGCTCAGCCGTCCGGTGAACG
TGTTCTGTGCTGGCTCGGGTATAGTCTCCGACAGGTAACGCCCTCCGGAACAACGGGACACCGCTTGGTGGGCGAACTTGGGAAGCGG
CCCCGCAACAGTCCCGCTTCCCGTGCAGATCGACACCGGCTCTCCACCGCATCTGACCCAACGCCAGGAACACCGGCACCGCGAGA
ATGTGCAGCCGTTTCAATAGAAATCCGCGACAGGCCGCAACTCTGTCGCGCAACGGTTTGTTCAGGCGGAGCAACATGGCAGCGG
CGGTGATCGCACAGTTCGGTGAAGCTCAAGCCGTCGTCACTGCGCTGGACGTGCGGTGGTGGCAAAAGCGGCTTCGCGCAGCGCAAG
ATACAGCCATTTCGCGCTACGGTCAACCGTGAACATCCGCGCGGTGCGGTTTCGCGCCATGGGCGCGCGGCCAAGCCGACGATCAGC
AGCGGTGCTGCGGATCGCCGAATTCGCGACCGGCTTCCCAAGTATGTCGTCACGGAACGCCCTTTCGCGCACCTTGGGCGACCT
CGCGCAATAGCTTCGAGCCGGCCGATCGCTACAGTCAGCAATTTGATGGTTTCAGCGTTCCCAAGGATCATCGAGACTATAAC
AGCTAGCGGCTACGTTTGAACGACACTTGTCTAGTCGCGCGCGGATGCTGTTTTCGCTTTCGAGCTTGGCGGGATATCCAATCTAGATA
GTGGCAATAGCGGTAGTAGACTTCAACGTACGCGTACAGGCTGGTATCATCAGCTTCCGCTGCACTCCCCAGGCGTTCGGC
CATCGGCTTGTTCGGGTCCAGCTCCCTGCCGCGCAGCCCTCTTTGATCTGCGTTTCGATCAGCGTTCGCGCGCATGTTGCGGTTCCAG
GTGTCCCAATCGGGGCGGGGAACGTTGTGCATCACTTGGCTGGCGTAGTACCAGTAGTACGTGTCGCGCTCGGCAAGCGCCGCGGCT
GGTTCATCAGGTAGGCTATGCTTTCGATCATCGACGGCGGTTCGCGGCTTCCAGGTATTGGCTTCGCGAGGCGCCACCGCGT
CATCGACGAGTTTCTGACGTTCTCCCAAGTAGCAATACAGCCCTTGTCTTTTCAGACGCAACGGATTGACGCGACGCTTCGGCC
GCTTGAACGCTCTGATGTTGACCTGCAAGCCCGCCATCTGAGCGCTCTTGAAGGCCATGAGTCCCAACCAACACGAGCGTGTAC
CGGGCTGACGAGCACATAGCGCCAGCCGCGGTGCGCTTGTGTTGTCGCGTTCAATAAACCGGATCGCGGCTGCGCGGCCCTGCC
CGTTCGCGGTGTCGCGCTCATGCCGTATGCGTAGCTTCGACAGAGATGATCGTTCGCGGAGGCGGTGCGAGTACATCACTGGCCGAGCTGCT
GACAGGTGCGCGGTATCTCGCGCTTTTCACTTGGTGCAGAGCATCCAGGCGATGCGCGCTCGAATGTTCTTCTGATAGGGGCGGT
CGGTGTCGCTGGTTCGGCGCGCGGAGGAATGCGAGCAGGCGCAAGCGGTGCTCCGCGTTCGAGTTCGCGCGCCAGCTGACGCGCGG
ACAGGTTTTGCTTTCAGCGATACTGGTGTAGGCTCCAGCTTCGCTTTCGCGTTTCGATGGCGCGCCAGCTGACGCGCGGCG
GCCATGAGCGTCCGACGCTTGGTCCGCGGTCGCCAGCAACGCTTCGCGCATTCCTTTCGCGGCTGCGGAGGCGGCTGCGGAGGCGG
CGCGCGCGTTCGCGCGCTGGTTCGATTCTCCGATACCGCTCCGACGCGCGCGGCGCCCTGCGTTCGCGCTCTGCGCCAGCGCGC
GGTGTCAAACCTCCAGCCGCCAAACGGCAACGAATCGAGCGCGTTCGCTTCCGCGCGCGCTCGAAGACTTTAGAATCG
TCATTGTACTGTGCGCTCTGGGCGGCGGCTCGGTCAACAGAAGCGTGTGCGTCCGAGCTCGGTGGGTGCGAGCGCGCTGTCTCAA
GATTGAAGTCCAACTGTGCCAACTCGGGGACCGTATTGTTCAAAGCCCTCGAACGTTGGGAGGGGCGGTGCGAAGCGGCAACGTGACGCG
GCTGAGGATCAGCATGATCAGCATCAGGCCACCGCGTGTCCGACAGGCTGACGCCCCACCACCGCCAATTCATTTCGAGCCAATCG
ACTGTTTTCGCGCTCAGCTCCGCGGGCGCGGGAACCGGATGCTGGCGATCAGCTTCTGAGATCGCGGATCAGCGACGACTGCTGTC
CATCGGCGGCAACGAGTCCGGTGTGATTGAACATCGGCGCTACTGCTTTCTTGGCTCCGCTGTCGCGCCCTGGGCGACGAGAC
TTATCGAGCAGATTGATGACTGAGCGACCATCTCCGGCGCGCTCAGCTCCGCGCTCAAGACCAAGGCGGCTTTAATACTTGTCTCG
CCTGGTGGGCTGAGCCGGTCTTGTAGTGCATGCTGTTTGGTTCAGGCACTCGGCCACATTGTAACGACTTCATAGTATTCAG
CGTTTTTTTCGGAAGCGTTGACGAAGCTCCTGAGCGCGTCCAGTGAGAGACTGCTGCGGGTAGCGCTCCGGATCAGTTTCGCGC
CAGGATTGAGTATCCGTCCGCGTGCATCAGCGCGGCAAAATCATGCGCGCGCGCGGAGCAGCTCGTGCAGCTTCGGAAGCGCGG
CTTGAATTTCCCATCGGCGACGAGGTTGCTGAGTTGTGACGCTGTCGAGTTCGAGCGCGGCTGATGAGCAGCAGTGTGCG
GTTCTGCTGGCAAGCCTGGACCACAGTCTGTACTGCTCAGCGCGCGGCTCTTTCGAGCCAATTCAGGTAGACGTCGCAATAAAT
AGCCTGCGCTGGGCGAAATGGCTGACCGGGCGAAGTGGTCCAGCAGCTTGGTGAGCAGCTCTTCTGCGCGCGCGGCTCGGGT
CCGACGCTGTGGAACCCCTGCGATGACTTGGCCGCGGCTCGATGGTCTGGCGCCACTCGGCGTGCAGCGCTTGGCGAGCTGAT
GAGCGCAAGATTGCTGGCTATCGTCTGCGCGCTTCCAGCGTGTGAGCGTTAGCGCGCGCGGCTCACGCTGCTGAGTGGC
ATCGACGCGCGGCGCAGCAGCGCAGCGCGCGCAGCGAGGCGGAATGGTGCGGCGCGCTGCGGTTCTGTCGGAATTGACAATCG
GTTCCAGGATCTCGGCGGCTGGCGAGGCTCGTCTCAAGACGCGCTTCCGCGCAGCAAGAGACGCGCACTCGAGCTTAGATGGGCGC
CGCGCTGCGGCGCGGCGGCTTGTATGCGCAGCAGCGTATCGGTCAATAGTTGCACTGCTTCTGCGCGAGAACAGCGGCTTGGCCC
TGAGCGCGGCGCGCGGCGGCTTCTGCGCGAGGATTCGCGCGCAGGCACTTGCAGCGCAGGAATAGAGCTTTCGCGCGCGGCT
CGGACGCGGGATCAGCGGTTTCGAGCAATTTGATGGTTCGCTCCGTTTCGCGCGCGCGGACGTTGAGCGCTGCGCAGCATGAGCGCGC

CTGATCGCGCTTCGGCCTGTTGCGCCGACGCGCGATACAAGCTTCGGAGATCGAAACAGCTTGGTTTCGGCGCGCGCTTTGTCTCTTG
GCGGTTCGAGTCGAGCTTCGTGCGCGCGCGCATCGCCAAAGCTTCGCTGCCGCGGGGAGCTGTGCGCTCGAAGGCTGGTTCGCGGCCAGCG
CTTCGGCGGTGGCCAGCGCTCGGCCATTTGACCGCGCTTGAATTCGCTTCGCGCCAGCTTGAATCGTGTGAGCGCGCTGTCTCCGT
TTGGTTAGCGCTGGATGCGCAGCTCGACGCGCGCTGTAGCGCGCAATCGCTTCGTCCCAACACCCCTCGCGCGCGCGACATCACCG
AGGCTCAGTGCTTCGTCCAGCGTCCGCGGGTTCAGCCTGACTGGGGAGCGTGCTGCCGCGGAGCAGAATTGCTTGGCTTGGTATG
GGCTTTCGACACAGAGCCATGTCGCTCAGGATGGCGCATGGCGGAGTGGGCGAGTTTTCGTGCGCATCGCCGTTCGCGAGATTGCGACCG
GGCAACCTCGCCTTGGCAACTCCAAGCGATGCCCTGAAAGCCCTCGGTCTCGCGCGCGGACTTGTCTGCGCGAGCGAGTCCCG
GCCCTGGTGAGCAGTGTCTGTAATCTTCGAGGCGCGCGAGGACCTTCGACGCGGCAACGTCGCGCTCGGCAACACGGGACGAACT
CGGCATCGGCGGGTGTCTGCGCGGGTTCGGGCGGTTTCGCGAGCACCTCGTCAAACAGTCCAGCGCCGTTTGTGACTCGCCTAGCTC
CGCGAGCGCTTTGCCATGCCACAGATGTGCATAAAAGCGCCAGTTCGGAGAGCGCATATTCTTGAAGAGCTCGTCGAAGGCGTTTCGG
CGCTCGCGCAGGAGATTGGTCCCGCGGGCTCCGCGAGTCTCCGTACGTTTCGCGCGTGTAGTACGCGCGCGGAGCTGCAAGC
GCGCTTCGGAAACATGTTCTCCAGATCGTCTACCTCGGCGCTCTTTCTCGCGTTCGCGTACCGGCTTGTGCTTCTTCTTCTT
GGTCTGGCGGTGGGCAATCGTGTCCGCGGGGACGCTTGACGACCGGGGAGATGGTTAGGCGCCACCTTCAACAACCTGCGACTGA
TAGGCGGCGAGCGCTTTGGCGAAAGCGAAGCTGCGCCTCTTCAGCGCCTCGCGCGCTTCGTGGTTGATGCTGGCGCGAGACGATCGGT
CGGCGCTCGACGATGCTTCTTCCAAATGCTTGGCGCGGTTTCATCGGATTCGCCCGACCTCGCCAGCGCGCGCCCGCGCGCTG
ATGTTGCGGCTGCTGTTTCAGCAACCGTTCGAGACGCTTCAGCTTCGCAACACGCTCGCGGAGGCGGAGGATTCGCGGTTTCA
CGGCGCGGATCCGAGGCTGTGCGCAAGTTCAGGTCGAGGACCGCGCGCACGTCGTGGGCAAGTCAGTTCGGTCATGAATCGACT
TCAGATAGACGACGCGCAACTGCGCGTAGCGCGGTTTCGAGTCATGCACAAAGTCCAAGTATCGCTCGCGCGCGAAAGATCGCGC
GGCGACAAACGACGACGAGCTCAGGCGCCAGCGCCATCTACGCGCGATGTGGCGTTCGCGACGATCAGCCTCATCGTCGCGCTCTCT
CTCGCGCTCGCGGATTTCCAGGAAATGCGCGTGGTAGACTGCATTGAGTGGGGCGACGTTTCAGCGGAGTGGGAGTTGCTG
TCGATCTCGCGAGCCAACGCTCGACGTCGCGCGCCTTTGTGCGCGAGCGGGCGCGCGTTCGGTGGCCGCAAGTCCGCTGCGCA
ACCACACCGCGCCAGCGCGCGCGCAAGATCAAAGCGCCGATGCTGAATGTCACCCAAAAGTAATCGTACCCGTTTGGGCGCATGCC
CGGTGTTTGGCAGTGATGCGCAGCGGCTCCGATCAGCGCGCGCGCGCGGAGGCTTGTGCAAGCGCTGATAGGCCATCAGCTTTC
AGAAAATAGCCACGAACTGGCTTCTTCGTAATCTCGGCGCCAGCGGATGCGCTTCGCGAGCTCGCTGAACACCAAGTAGG
GGAACGATGCGCATCGTCGCTCGCGCGCGAGGCTCTGTACACTTGTCTACTCCGGCGAATTCTCCACAGCGCGATGGGTGAGCGC
GCGCGGAGGTGTCAGCGCGAGCTCAATCACTTGC CGCGGAACCGATCGGGCTCGTCCAACTTCGCTGTACAAGAGGCTTTGCTGG
CCGCGGCTTCGACGCTCGTAGAGCTCTGAGCGCGCTTCAGCTCATCAGCGCCCAATACGCGGGCATCTCTCGCGAGCGAGCGCGG
CGCGATCAACGACCGCTTGAATAACGAGTTCGCGCGCTCGCCTCGTGGGTCAGCGCTCGTTGGTTCGCTTCAGCATCACTTCTTT
TGCGGGCGCGGCAACGGGCGATGGGCGATCCGCTGCCGTTGATTGATCGCGCGCACGCGCGCAGGTCGCGGCTCTTGGCCCTG
CTGATCAGCATCCACAGCAGCGCAAGCAGGGCGATCATGGTCAACAGCGCGCGGACGTCGCGGCGGTGAACATCGACGTTGAGTGC
TCGGCGCGCTCATATCGGCGGACCTTTACGCTCTGCTGCCGCGTTCGCGGAGTTCACCGAACTCAGTCTCGAAAGCTTCTTTT
CGTCCGCGAGCTTCTGCGCGTTCGACGCTCGATGACTTCATCAGCGCGTTATAACGACGCTGAGCGCGCTTCGATCAATACCTTC
GTCGAACGGAATTTCCCGGATCGGCCAGCACGGTCGCCAACCGTTCGTCCAACTCTTGAGCGAATCCACGCGCCCATCTCCGATGGC
AACGAGTCGATCGCCCGCGCGGATTTGGGAAACACACTAATACCAACGTTTCAGCCCGCGCCACAGGGTCGGGATTCGATCGTGGTGC
ATCCGCGCGCGCTGCTCGCGCGCGACGTCGCTGGTGACCGATTTCGCGCGCGGCAAGCAAGAAATTCGCGCTTCGATCGCGGAGGCTT
AAACGTCAGGATGAAGAAGGCGAGCAACTGGAACGCCATGTGAGACATGGTTCGAGCTCAGCTCGACGTCCTTGTGATTCGCGG
CGCGCGCTTTCATCTACGCTCCGCTCGCGGTTTCATCGCTTGAGCGAATACCGCGGGAAGCGGTGCTTTCGCGAGCCTTGATCA
CGTGGTTGAGCAGGTTGAACCGAGTTCGCTGGTCGCGCGAATCAGGACGCTCGTGGGCGAGTTCATCGCCGCGCTGTAGCTTGGGGT
GGCGGCTCTCGCGCTCCGAGGTTCGCGGCTGGGCTCGCGCGCGATACGTTTCGAGCTCGCTTCGAGCTCCATACACAGCAGCGCGG
CCGCGATTGTCGAGTTGAGATCAGCGGGTCTCGACTTGGCTTTCGAGCGTTCGCGGTCAGCGCGGATCAGCGCAATTCAGCG
AGAGATCCATCGACGCGCTCTTGAAGCTGATCAACCAACAGTGAAGAACGTCAGTTCAGTTGAAGAACCATGTCCAAATATTGGAGTCAGGTT
GGGATCGCGCATCGCTTTGTCCGACATCGAAGCCGACATGTGTAGGTCAGGCTTTCAGCGCTGACTCGTGGTTTCGACGCTTCTCC
CTCTTCTGCTCAGGCTGGAAGAGCTGACTCAACAGCAATTGGCGCGGACGCGCGCTCGCGCGCGGCTAACACCTGTGCAACGGGG
GCTTGTACGCTGCAAGCGCGGCTTTCGCGCGCGGCTTGGCCATTCGCGCACGAATTCGCTCGCGCTGAGCAGCGCTCGCCGAGC
TGAGGTGCGCGACTCGGTTGCGGAACAGCGCGAAGAAATAAATGGCTGGGACGGCAAGGCGACTCCCTCGAAGCTCAACAAATAGTGC
TTCGAAATGCGCGCGCGACCTCGCTTGTCTGAGCTGCGTATCGGACAAGCGCATCAGCTGAAGCTGGAATCATTCCCTTGAGC
GTTCCCAACAGCCCGCATCGGACCCAACGTCGCCAGGACGCGCGAGCATGCTGATCTTCTTTTCATCTCGACCGTGATCAGTTCGG
GTCAGCGCTTCATCGCTTCGCGGCTTGTGACGCTTCCGAAAGCTTCGTCAGGCGGAGCAGCATCACCGAAACGCGAGTTC
GTCGCGCTGACGCGCGCGAAGACGCGCGGAAAGTCCGCGCTCGACGAGCGTTGTCATCTCTCGAGGACTTCGGGCGGATCACC
ACCTGCGGCGCAGCTCGACAAACAGCGCGGAGACGCTGGCGATAAAATAGATCGAAAGCAGCAGGATCAGCGCGCGCATCCAGCCG
AAGACGCCAGAAACACGCACTCCGCTCGCGCTGCGCGCTGCGCGCGCGGGGCTGCTGCGCTTCGCGCGCGGCGGACCGCTCGTATCGCTG
CGAAGATCAGGACCGCGCGGATAACGCGCAGCGCGACGAAACAGTACGTCGAATCGTGTGATTCGGAAGCGCGCGCGCATCGT
CGCAGCGTCACTGATCTGTTCTGGCGAGAGTGTTCGATGTGAAGACATGAACCGCGCGAAGCGGACCGCTTGTCTCAGAGCGG
AAACCTTGCGAAGCTGACGAATGCAGCGTTCATCGCATGTTCTTGAGACGCGCTGTTCTCGACGTCCTTGGCGTGTGAGCCACTGCT
ATCGATCGTAGGCTCAGTGAAGCGCGCTTGTGAAGACCGCGAGTTGCGCGAGCATGTCATGTTCTCGAGTTCGAACTCACACCGT
TCAGTAGGACCGCCGATGCAAGTGGCGGATCAACAACTTGAGTTTGTACATAAGGATTCATATAAAGGACGACGACTGCAAACTTA
ACTGCACTTTCCACAGCGGAGTGCACGCTAAATACAGACACATGAAAGTCAATGACCTGCGAAGTTGCTCGGCGAGCGCTGCTA
CTTGTCTTCGCGGTCAACGCCCTGTGGGCGGGTTCGCTGATTGTGCTGCGCGCGGCTGATGCAAGTTGCGGTTTCGAGCCAG
CGGAGACAGCCGGAATTTCTGAACGAAGTCGAGCGCGCACGTCGAACGCGCGGATTTCGACGGGGCGGCCAACTTCGCAAGACGATC
CGCGAGCGCTGCCCCAATTTGGTCAGCTTGGCTCTCAACCGAGTGGGTTACGCAAGGTCGAGCAGCTGTCTCGGACGAGTT
CCACAGCGAGCTCCTGGCGGACCTTGAGTATCGCTGAGCTGGGATTCGACCGTGAACAAGCGCGCGCTGCTCGGGCTGTTCGCG
ACGGTGTGGAATGATGGCCGCGTTTGGCCGAATCGGCACGGGCGAGAAGGTCGAGCCTTCGAGATTGCCGATGAAATCAGCATTG
CGCTGGTCTGCAACCGCATGGGATTGGGAGCGGCAATCCCTTCAACTTCATGTTGGCGCGCTCAACATCCGATCCGCAAGCTCCA
GGAGACGCTCAACCTGGCGTTGTCGGTTTCATGATGCTTCTGAGACCGTCACTTTAATAAAGGTCGTTTCGCGCTGGCAACGGA
CCCGCTTGGTGGATTTCGCGCGCGCGCGATGAGACGCGACCGTTCATGCTCGCAAGCTCTCAGGAGGGGAGCGAGATCGACAT
GACGGCGATGATCGACCTGGTGTTTCATGATGAACATCTTCTTCTCGTCACACGCTCAGCAGACGCTGGCCGAGGTGGACCTGCCT
GTCGCGAAACGCGGTGGTGGCGCGGACCTCGAAAGTTCGGTATCATCAGCTTGGTGGCGCGCGGACCGCAACAGGCTTCATC
TAGGCGACGCGGCGCAAGGGCGGACGCTCTGTGACAAGACGCTGACAGGCTTCGCGGAGCGGCTCGAAGCGGGGCGCGAGGG
CAAGAACACGCTGCTGATCAAGGCGGAAAGCGGCTGTCGATCGAGACGTCATCGCGTGGCGGCTGGTTCGCGCTGCCATCGAAGGA
ATGAAGTTGAACCTGGCGGTTCGCGGAACGGGATTAGCCAATCGCATGTTCCGGTTTTCTGTCATCCATTGTGGCCGACGGCTAAAAGT
CTCCGCGAGCTCGCCGCGAAGAAAGGTGCAATGTTCCGGCTCGCGCGGGTGTGCTGGTCCGTTTCCGGAAGGCGCGGCGATGCC
AGCAGCTCGCGCTCGAGCGGACCAAGCGGACCGGACCGATCATTCGCGCTCCCGAGCAGCTGGCCGAAGGCGAAGGGATGATA
TGACGGCGATGGTGCACATGCTCTTCTTACTGATCTTCTTCTGGTTACTCATGACAGCTTGAAGCGTCGATGAGCTGCC
GCCGCGGAGGCGCAGCAGGATGCTCGGCGGGCGAAGCGTGGCGGACTACGAGCAGGATCAGGAATACGTGATCGTCCGATTGAC
AACGACGACACCGTGTGGGTGGAAGATCCGAAGCGCCAGCCCCAGGAGGTGCTTGCCAAGCTGCGCGAGGGGCGAAGGACCGGG
CCGCGCGCGGCAAGTCGACCAAGCTGCTGGTGTGCTGGCGCGCGGACGAGCTACCGGACGATGTCGAGCTGCTGGACGCGGCGCA
CGAAGCAGGATGGATGGCTTCGGCTGGCGATGGAAGATGACCAATAAGGCGAAAGTCCACAAGGCGGGCGGCTCGTTAGGCGTAA

TCGTAAGCAGATATTTTCGCATCAGCCTGTTTTTCGCTACAAGCTGTCTACCGCACTCCCCAAGTTAAATAAACGAGGCTGCGAAGGCTC
ACATGGTCACTCTTTTCGTTAAGCGGTTCGCTAAGTCTGTTGGATGGGCGGATCTTCTAGCTGCTTTTCATCACTGCCGGCTTCTACCG
GGTGATGGGCTCTGCAGCGCTGCAGCATACGTTGTGTCACAAGTACACGACGGAACACGCTACGGAATACGTGATCGAGCATGCTC
TCCTGGGGGCTGTGCGAAGCTCGCGCTTCGCGTTCGCTGCTTTTCGCGCGAGAATTGTGGCGTTTCAAGCACCACTGGCTGCCTCCCGAC
GCGGTCCGGAAGGGCGAGCAGGGCCAGCGAGTTCATGCGCGCTTGGATGCTCAACCACAGTGGCTGCAACAGACGAGACTTGGCGC
TCGGCTGCGGCAAGCCCTCTTGTATGTGCATCAGAAGCAATCGGCGGAAGGTTTCAGACGATACCTCGAGACTTGTCCGAACGAGAC
TCCCACCCGACGCGCAACTACGCCGTCCGCCGTTCTGTCGTTGGGTTTCGCGGCTCTCGGCTTTCTGGGACCGCTCGTGCATT
TTGGACCCGCGCTCGCGCGCTTTTCGAGCAATGAGTCTCGCGCGAAGCTGCGGATGCGCGTACCGCGGAAATGGGACCGGCTTTAACAC
CACCACGATGGCGCTCGGCACATCGACCGTGATCATGTTGTGCATGTTCTCTGTTGAACGGGCGGAGCAGGACTTGTTCAGGAGGTC
GACGCGCGCTGAGACCGCGAGTTGTGCAACCGGTTCTGTGTCGAGAGCAGAGAGTGACCCCCGTGCTCTCCGCAATCGAATCTTCCC
ATCGCGATCTGCTCGGCGGATCGCGAGCTAGCTGCAGCCAGTGTGCAGGCTGCGGCCGAAATGTGGCGATGTGTCAGCAAGAGCCA
CGAAGACTGGCAACGCGACAGATCGAGGGGTGGAAACGATGTGCATGCGCAACAGCATCTGTGAGCTCTGGAATTTGACAGACGAC
TTGGCCGACAACCTGCAATTGTGTCAGCAGACTCTGTGGCTTCGACGAGGCGGTCCAAGGGCTAACGGCGGCCATTTCATTGTTAACCG
CGCTTCATCAAGGGCGGTCCCTGTCCAGTCCCAAGGCCGATAGCTGGTCCACGCTTTCGAAGACAGCGTTACCTTTTCGGAATTCAA
CTTTGACACGTCAACATAGACGTAATTTGCCGCAATTTCTCGCGCGACGCGCTCAAGAAGTCTGCCGCCCGGGCTTGTTTCCGGTGC
CCGAATCAATCACCATGATCATCGATAGTCCGCCGTTTCATGCGTTTGTAGTCGGGCGCAACTGCGCGTTCGACATCGGGGCTTCGGTGC
CGTCCGTCAGGAAGAAGATCGCGTTCGGGCTCCATCCGACGCCCCGTACCAAGGCCGCTTCGTGATTCTGTGCCCCCGTCGGCAGTGAT
GCTGTTGACGAACCTCTTCGCGTGTCTTTTCGTGCAATCGTTCGCGAAGGCGAGCGCGGCCGGCTGACCGTACAAGCGAAGGTCCCG
GGGCGATGGTTTGAAGAAGATGATCTGAAACTGTCTGCCTGTTCCAAAGTTTCAAGCTGCAAGAGCAGTTCGCTCTTCGCGCGCGCA
CGGGGCGCGTCCGCGCTTCGCCATGCTGGCGAGCGATCGAAGATATAGACGAATTAGAGCTTTCGCGCTCGACGCCGAACACACT
GGTCCGCGTTTCGTCCGTGAGCGGTGAGGCGCGCTCGGTCCACTCTGCATCCGCTGCGGCCAGGACCGCGACAATCAACAACAGC
CAAGTGTCTTCATTGCGGAAATCGTAGCCCGAAGCAACCGGGAAGAAACAAGCTTGTGCGCGGATGCCGCTTGATACTTTCTTTATAT
CTCGGCCAGGCGCAGTGTTCAGTCGAGATGAGACCGTAGCCGACCTTCTCGTTCGTTCAAGATGTGGCGCGGCTGGGCTGGGTCCGG
CCTCATCTTTCGCGCGAGATGCTGAAACTGTCTGCCTGTTCCAAAGTTTCAAGCTGCAAGAGCAGTTCGCTCTTCGCGCGCGCA
GGAAGCGTTCGTCAGCACCCGCGCCGATGACGGACAGGGTGGTCAGCAACTTGTATTCAATCCGCGTCAAGTGGACTTCGGCGCCC
CGCGCAAGAGACCGCTCGAGCGCGCAGGTGATCTTCAATTACCCGCTTCAAATACCTGGGATATCGCGCCTGCTTGCAGCGCTGCGC
CATGCCCGCGCGCACTTGAATCCGAGCGACGAGTTTCGCGCGTGTGTCAGAGGTTTTCGTCAGGTAGCTCGCGCGCGGTGTCAAGG
TGTGATCTTCTGCGCATCTTATTGTCGAACCGACGACGATGATCGCGCTTTCGACCATCTGCGAGCTTTCGAGCAGGACTTCTTGG
CCATCCATGTTCGGCGAGGCCGAGATCGAGCAGCAGCAGCTCAGGACGGCACTGCGCGGCCAACAAACAGCGCTTGTGGCTGTACCCG
CCTCTCTGATCCGAAAGCGCGCGCCGACAAGAACCGCGCGAGGAACCGGCGCATCGGAATTCATCTTCAATGACCAGCAGCAGCCGG
TTCGGCAGTAGACCGGACGACATGATTTCAAAGCAGTGTCTGTGGCGCGGTTTCGTCGAAGGCGAGTGGCAAGCGAGGCGCGGACA
AGGCAACGATACTCAACAAACCCAGCACGCCCGCGGAGCGTTTGGCGCGGATGATCGCGCGCATCGCTCGCGCAATGGCTTGGCAA
ATCGCCAGTCCCAACCCGACGCGCTCGCTGGCGCTCGGCGACACCGGTCTTGGCCCCGAAAGAAATTTGTCGAACACCTTCGCGCTCGCTTC
CCGCCGGCAAGCCTTGACCAATTGTTCGGCGACCTTGATTTACGCTTGTTCACCCGAGTACGCGCGCGTGTATCTCGATCCGGCTGCCCCG
GGGCGTGTGAACGAGTCGCGTTTTCACAAAGTTGACGAACATCTGTTCGATCAGGTGATCCGCGACCCACAGCAGCGGGAATCACTC
GGATCGAGACTGCAACACGTCGTCTAGTTTCCCTCCGCAACCGCGCAGGCGCAGCGACCACTCTCAGCAGCTGTCACAT
CTCGATTCAACACCGGAGCGCTGTCATCGAGCGCGCATGTGCGAGAAGGTTGTGTCAGTTTGGCGCGCAAGCGGTGTGATTTCATCGAC
CACCGTCTGCAGCATCTCCGTTTTTCGGGTTCGATCTGCTCGCGCTCTCGAGCAAGCTGCAAGCGGTACCCGCGATCATCGCCAGG
GGAGTGCAGCGAGTCTGTCGAACACGCTGTGAGCAACGAGTTGCGCGAGTTGCTCTCTTGACTTTGGACTTTGGGCTTGTCTGACCTCCA
CGAGTTGCTGCTGCGACAACGTGAAACGAAGTCCGCGCTGCTGTTCTTGTGTCGATACCTCGACTGCTTCTGAGTCGCGCCAT
GAGTTTCGCTGATCAACAGGCCGATTTCACGACATGACGCTCAAGGTCAGGAATACTGTGCGTCACTCGGATTGAAGCCAAAGATCGGC
TTCACAAAAAGAAATCGAACACCAAGTACGCCAGCACCGCGCGCGCACCGCGCGGCCATGCCAAGCCGCGCGGCTACCAAGAGCCA
CCCCCGCCAGGAAGATCATCAGATGTGGCTTCCGTGAGGCGAGGCTATGACTTAGCCAGCTCAGCATACCGCACAGCGCGACGAC
GTGCGCGCGCGATGCTAGGTTTCCATGCGACGCCCTACCGCGCGACGAACCGGTTGCGCCGACGCGCGCGGTGTGCGCATCAATC
TTCGAGCGCTGAAGATCTCCAGACCGGCCAACCGCGTTCCGCTTCGGGTCTGCGCGCACTATTGAGCGATCGATAGTACGCGCGTCTG
TGACCATAGGCGAAGCGCAAGAGTTTCTCGATGGCGTGCCTGCTAGCGTTTGAAGAGGATGCGTTGTCAAGGGAAAGTCGATCGTGT
TTTCGCGCTGTTTTGACATCGGACGTCACCGTCGATATTGTTGTTGTAGTTCGCGGGGACGAGTTTCCCTGAAGTTAGGCACTTCGCCAC
TGACTCATCTTCCCGCGCGCTTGTGATCTGACGCGTGTGCGCGACTTTTGTCTCAGGCGATTCGAACAGGTAATCAGTTTCAGTTGAT
CGACCATCCCTGTCCGTCAAAGCCATCGAAGAACGACCGTTTTCGCGCGCAAAATCCCAACCCAGCATTTGGCCAGCGGCTGCGCATCCA
GGGTTACGTTTCCGTGACTAACCCCAATTTCGGGTGATCGTAGGCGTGAACCTGCACCCGAGCACCAGCAGCAACGCGCCGATGCT
TCGAAGGTCGCTTCCAATCGTATGCTCATCACTCAAGGAGCTCGGCGCTTTGGCCACTTATGGAAGTCCCCATTCGCGAATCGCT
CTGTTTTCGCTTCTCACTGACGAATCGAAGCTCCCATCGTTCGTTGAGGCAAACTGGGCGCGCCCGGATGTCCGTTCCGCAATGCAATT
GATTGAGCGCCATTGATCGCAAAGGTTGACGGTGGCAACGCAAGTTGTCATGACCGTATTTCGCAATTTCGCTATCGGCGCAACCCCC
AACCAAAAGCCTCCCGTGTATTTCGCGGGACTGAAGGTTTGGCGAACGCCATCGAGATCAGTTCGATATTTTTCGCCACCAGAAACG
TGGAGCTCTGTCGCGCTTTCGATCGCGCAACGCTGTCTTAAACAGCATTCATTCACAAGATTCCTTTCGCTCCGTTGGCGAGCCGC
GACACCCGAAAAATCGTGGCCGACAGCGCATAGTTGACTTCGCGTGCAGCGGGAGTTCGCGCGGCGGCTGGGAGTTCGCGT
TCATTGAGATTCATGTGCCAGCGCTGGGACAGATGTAAAGGTCAGTCTCGTCTTCTGCAAGGCTTCGCTCCCGACAGCCGGACTGG
CCTGCGCTCCGGTAGGTATTCGCGACAGCGTTTTCGTTGGAACCGGTCGAGGGGACGCTGAAGGCTCGACTGCTCGTATACGGCAG
GATCAATGCGGCCCCAGCCCCACCTTCGAGGTTGCGCAGCGCGCGCTATTGACGGTTCGAACAATTCGCGGGAGGTTGGCCAAAGATAA
CCAGGCGGGAAGACGTGAACACATCGGCATAGCTGTGAATCGCCAGGGCATTGCTTCAAGTTTATGACACACTGCTGCGCGCG
CCGCTCTGCGTTCGCGCTGACAGCGGGGACGAGCAATGCGACTAAACAGCCGTGATGAATCTGGGACAGGGCCACAGGCCGTTGCG
ACGTAACGGTTCGTCGAGTGCAGCGCGTTGGGTTAGGTAGTCTGTGGACGCGCTGCATCAGTTGATCGATGGTGATGCACGTATGGT
TCGAGTCACTATTGTCGTGACGTTCTCTCCACAGCGGTTTCGATGCGGTTGTGATCGGGAGTATGCGGCGAGGAAGTGCAACTTCAC
CGCATCGCCACGCGGGCCATCGTCTGTTTCACCGCGCGGCTGGTGTGAATCCGGAATTTCCAGCAGAGATGAGTGGTTCTCGCG
GAGGCGTACGCGCGCTGACAGATGACCAAGGCCCAACAAACAGCGCGTGGTTTGGCAAGTCTTCGACCAGGCGATTCGTC
CGTACGCGGTTGAGCGCTCCGGCCAAGTAGCGTTTCTCGTTTTGTCCGCGCTCAGCACTTCTTCTGTTGGCCACGACGATCCA
GTCATCGCGGATTTGGGGTTGAGGTGGATGTCACCTATCCACATACAGCATCACTTCTGTCGGGCGGAGTGTGTTTCGCGCAACCG
CGAATCGGTTTCAAACGCGGCTTTTCTGTTTTCAGCACGGGACAGCCACCATTGCGTTGGGACGGCGCGACGTCAGCGCTGCG
CGCCACGACGCGCGCTCATGTTGTTGTGCTGATGCAGATGTTGTTTGGTTGGTTCGCCAGCAGCAGCAACTCTCGCTCCATGT
TGGTTCGCTGAAAGCCGATTTGCTGCGCGCAGAGGGCCACCGCGACGAGAACGCAACCATTCGTAATCTTTCGCTACCTTTCGCTGCGC
TTCTCTTCGCTTTCGACCAACCTCTGACGGCCATCCGTGAGGAACCGTTTTCGAACGCGATACACTTTCGCAACGCGCCGCAACCCA
GAATCGACGCGATCTCTGGGCACTTACCGCGCGCGAGATTCCGCAACATTTGCAACGACCATCAACACGAGCATTCGCGGAATG
CATGAATCGGAATCAACGACGACGCTCTGTTTTCAATAGCCGTTTCAAAGCTTCATCACTTGTGCAATACGATGGAAGT
CCTTTCATTTGCTGCGAATGATCTCAACGCAAGTGTTCGAGTTTCCGTTTTATCTATTCTGTCAGGTTTCGCGCAAGCCTATTT
AGAATGCCAATGATGCGCATACCCACAGGAGCTGCACCAATGTAAGAGCCGGGCTGTTTCACTGCTACCTCTCGCTGCAATGATGGC
AGCGGAAATGATGTCAGTCCGCGAAATGAATGTCAGTCCAGGCGAGCGGTTCAAACAGTCTAGCCAGGTTGCGCATTTGGGAGG
CCGGATGATCATATTCGCGGAGAAATCCGAGGTCGAGGCGCGAGTCTTCACTACAAGAGCGGTCGGGACTGAGCGTTCCGGAAG

TTCCAGCTTCAAGGAGGCCAGGATACGGGCTTGCTCCGGCGTGGGGCGAGCGACGCGGCGAGGGCGAGCTGCCGGCCGTCAACCGTC
TTCAGCAGAATGTCCCCAATCTGCACCTGAGCGAGCTCTCTCAAATGGTCTCCGGGGTCATGGGGCGTGGCTTCGGCGAGGGCGGTG
GTGATCCCATGTCCGGCTTGCGGATCAGTGTCTGTAAAGCCCGCTTGCTGGGCGCAGGTGATCCAGCGCTTTCCAAAGGGCATAGGCCAG
GACGCAGACCATCACATGCGCCTGGGTGCGCCCGTCGTAGTGGTGCCAGATGGGCCGAATCAAAGCTCGCTTTTCAACACGCGGAAG
GCGCGCTCCGCCAGGTTAACTGCATATAGCTCTCCAGAATTCTTCGGGCGGCCAGTCGGCGTAGTTGCTCTTCAGCAGGTAGGCGC
CGTCGCGAGCGAAAGCTGCCCGAAGCAGATCCCGCTGCCATTGCCAAGCGACTTCCGGCTTTCCCTGCCGGGCGACTGTGATCTGCAC
CAGTCGCGCCGCTTGGAAGAGCTTCCCTCAAACGTCCCACTCGCTCGATGATCTTATCGCGCGCTTCAGTTTGCCCTGTGCCACG
CGGCGACTCAGTCGCTTCAGAGCATCACGCAAACCTCGCGTGTGGCGGCGACGCATCGCGCGCTCTTTGCGGCGCGTGGGAAGTGC
GCGCCAGTAGGTAAAGCATGCCATCCCGCTGCACCGGCTTGACTTGCACATCTCTCGCAATATCCAGCCAGCCGGCTTCGCCAATCTC
CTCTTGGAACTGGGCCAACTCGCTGCGCAGGGTACCGATCAGATACTGACGCGGTGACTGGCTGAGAAACTTCAGATTGTCTTCACTC
ATCATCCCGTGATGACCCAGATCCGCGGCTCGCGCAAGCGCTTTTCGATGGCCGTACAGATGCTTTCCAGCGCTTCCACAT
CGCGCGTGTGCGCGCCAGCGTGTATGCGCCAACGGGAAGCCTTCGCGCGTCACGACCAGAGCCAGGATGATTGTTTGCAGTCCCC
ACGATGGTCGCGAGAGTAGCCGCGCTTGGCCAAGCTGTTCTCTCCGCCAGGCCCTCGAAGTAACTGCTGGTGAGGTATACAGCAGC
ACGTCGTAGTCCAACTTGAACAACGTTCTTAGCCGATCTTTCAGATCGTTCTCGATGGCGTCTTTGGCGGCCAGCAATTCGTCCAAGA
TGCGATCCCAAGCGCTTTCGTGATCTCGCTGTCCGGCACCGAGCAGGTCTCGAGCCCTGCGAGCCCTGCGAGCGTACCAATGTTCCGCCAA
AGCAAACCTCACTGCACGGCGCGCACAGTCGATTGATGACTTCGATCGCCACCACATCAGCCGGCGCCACCGTGTGACGGCCAGCGGC
AGATGCTCGCAACAATTTTCATCCAGCTTCAGCAGCCGCGCAGAGCCAAAGTGCCAACAGACGTTGCCGAGGCGAGTGCATTGGTCC
AGCCTGTGCTCCCAACCGCACGCGAACCACATCCGGTTCGTGCGGGAGCGAGAGCTTCGCTCGTGGCAAACAGTTCGAGTTGTTG
GACCTCACCGTGCGGTTGTAGAACGACACGCTCGCTCGCGCACCGAGCAGGTCTCGCTGCGCAGTGTTCAGTTCGCGCGCGCGGCTT
CGCTGTGCGGACCCGCATCGGTGCGAACGCTCTCGACCAAGGCGTAGTACGTGAACGCTTGCCTGCGGCTGCCTTGCAGGTTGATCGCC
GCAGAAACATCCGTGCCTCTGCGCGCACGAGCATGGCAGCGGTACGCGCAAGGCAAGGAGTAGTGTTCCTACTACATCGCCCGCGA
CGGTTTCCACACCATCAGCTCTCGACTTACGTCAAATAAGGGCGCAAAAGGCCGAAATCGACAGACTTTTCTTGAAGTGCAGCA
AGATCCCGTAGTCCAGTTCAGTGAACGACGCTTCGCGGAAAGAGGAGCTTCATGTGCGCCGAGCGCGCGGCTTCCAGCTTCCG
ACTCAACGTGTGCGATGGATGCCAAGGTTCATGGATGAAGGCGACCGCCAGCGGTTGCTGGGCGGCCAGCATCACGCTGTGCTAGCCG
CTCGACCTCGAATCGGCTTGAGCGAGCAGCGACTTGAAGTCATCGCGTGGCGGAGCGGTTTCAGGTCCGGCTCCGATTGCGAGATAA
ACGGCGTCGCGGTAATCTCGCGCGATTGCGGCCCTGAGCGCGCGGATTCGCGGTTTCGCGGTAACCTTTTGAACCTCGCGATCGCGG
TACGCGCGGCTGCGGCGAAGTTCGCGCGG
GGCGCGG
GATGCTTTCATCTCGCCCTCGGCGAGGATTGACGTAGCGAGCGCTTGCTGCAACGTGCTGAGTGCCGGCCGCGCGCGCTCGTTGGGTG
CAGTGCGCGGAGTGCAGGATCGCTGGAGACCGTTTCCACAGTTCCCGCGGTATCTCGTAGGACAGATGGAAGTGTCTCGCGGCGCGG
GCCGATCGCCTTGCCGGAATACTGCGCGGCCACGCGGCGCTCGCTTCGACGACTTACGCGGACAAAGAAACGGAATCGCCGAT
TGCGCTCGCCCGATGGGATGGTCGAGGACGCTCTGACGAATTGCCAACGCTTCGCGGTAGTACTCGAGCGCTGGGGCAAGTCGCG
GCCGACCTCGAGCGTCGCACCCCCCAATTCTCGCAACGTGAGCGCCAGATTGCTTCGCGAGCTGTCACTATGTTCTTTGATCACGAGC
CGTTTCCGCGCGATCGTCAGCGCATTTGAGAAGTGTCTGCTGCTTGGCCACTCGCCCATTTGTTTGAAGAGCACGCCAAATTTGAA
TGAAGTAGCCCACTCGGTGACGCGGATGGAGGCTTGAGGAATCAGCTTGTGCGGCGACTTGTGCGCGGATTTGCGCGGATTTGCAA
CACCGCTCGCGGTGCTCTTGCCTGCTGCGCGGCTCTTTTCAGCGCTGTGCACTTCGAGGATGAGTTTGGATCGTCTGACCGCA
AGCGTCGATTGTTGCGTGGCTGTTTTCGCTTCGATCGCGGATCTCAGAGCCGCGTGGCGCTTTCGTGCTTCTCTTTGGCGATCG
CTTGCTGCTCCACGGCGTTCTTGGCTCGCTTGAGCGCGCGCCCGGGCTCGATCGCCGCCGCTTTTTCATTGCGGATCGTCTGTT
TCTTGCTTCAACGTACCCGCAAAAGTGAACGATCGCGGTGCTGACCAAGAGCAAGATCGCGGTGGCACTGGCCAGCGGATG
CCGGGTTGCGGCGAGCTCCAGCGCCAAAGTGCCTCGCGGTGGAGACCGCGCGGCGCAAGATCGCTTCGCTTGTGGAATCGCCGCA
AATCGTTCGCGAGGGCTCCGCGGTTGGATAGCTTTTGTGGGTCTTTTTCAGGCGACTTGAAGCAAATCGTTTCGAGATCGCGAGG
CACCTTTGGTTCAAGGCGGCTCGCGGGACCGGTTTCAGCTTCACGACCTGTTGGATCGTGTGATGGCGTGGCGGCGAGGAACGGC
GGCGGCGCGTGAGCATTTCTGACAGGATCGTGCCGTTGGCGTACACATCGCGAGTGGCCGACGTCGTGACGTCGCGCGGAGCTT
GCTCGGGGCGCATGTAGTGGGCGAGCCTATGATTGAGCGCTGCGCGTGGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
GTCGCTGATCTTGGGAATCGCTTGCAGCGCGGCTTCCGTGAGCAGCTTCTGTTTTCAGCGGTGAGGCTCGTGGCCGACGAATGG
TCGCTGAACGCAAGCAAAATGTTGCGCGCTTCAGGTACCGGTGACGATGCGGAGTTGGTGTGCGCAGTGCATCGCCCGAGCGATCG
TTTCCAGCAGCCGCGGAATCGATCGCGGCTGCGGCTTCCCGGAGATCTTTGAGAGAGACTGCCGCCAGGACGAACTCCAGCGA
GAAGAAGGCAACCCCTTGTGCTCGCGGACCTCGTAGATTGACAGATGTTGCGGATGTTGCGAGCTCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
TGAAACCGCGCAAGTGGTCTGCGCCCGCATGCTGCGCGGCCAGCATCATCTTGTGATGGCGACCCAGCGATCGAGCCCTTTCTGCCGGG
CCTGATAGACTACGCCATGCGCGGTGGCGGAGCAGCGGATGATCGTATAGCCGGGATCTCCGGCCGTTCTCGCTTCAATTCGGA
CACAGACCTATCAAGGCGGAATCGTAGCGCGGCTCGCATACTCACCGTGGGCGCAACATGCTCCGGTGTCTCGTTGCGAAAC
TCGACGGTGGCGCTGGCACAGCCGCGGCTTCTGACTCGCCCGCGCTGTCGAGTGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
AATCAGTGTGCTTTCATGTGAAGCCTCGTGGCTAAATCCCGCGATGAAGTCGATGTCGTGCGGCAAACTATTGCTTGCAGGTC
AGTCACCTTGTCTTCAGCGCTTCGAGCGCTCGCGCTTGTATTGAACAGGAACAGTCTGCGCGGAGCTTCCGGTAAGGATATCC
TGGATCAGGTGCTGCTCACAGTAGCACCGGCGTTCAGGTTTGGAGGAAGACGCTGCCGTTCAATCGTGTGCGAAGGTGCGCGCGC
TGCCGGTGCCCTTCAGATTTCGCGACGCGGTGCGGCTAGTGCAGCGCGGAATTCATTTCGCCATGATCGAGCGGAGCGCGCTCAAC
GGCGTCATGTGACGTGTGGCGGCGATCAAGATATCGTCATCGCGTGGCCACCATGCGGTGCTGCGGTGGCCACCAGCATCATCAG
TCGCGTCCGTTGCCGCCACGAGCAGA

7.6 Das Cosmid slc_{1q}

7.6.1 Festlegung der Gene über “Genemark”

GeneMark.hmm (Version 2.2a)

Matrix: Maus

Die Sequenzen des Contigs 1 und des Contigs 2 wurden für die Analyse bei „GeneMark“ zusammengefügt.

Gene #	Exon #	Strand	Exon Type	Exon Range		Exon Length	Start/End Frame
1	1	-	Initial	15	1476	1462	1 1
2	2	-	Terminal	2040	2704	665	3 2
2	1	-	Initial	2820	3051	232	1 1
3	1	+	Initial	5169	5290	122	1 2
3	2	+	Internal	5450	6684	1235	3 1
3	3	+	Internal	6817	8363	1547	2 3
3	4	+	Terminal	8447	8629	183	1 3
4	5	-	Terminal	9404	9737	334	3 3
4	4	-	Internal	9899	10182	284	2 1
4	3	-	Internal	10498	10797	300	3 1
4	2	-	Internal	10923	11053	131	3 2
4	1	-	Initial	11421	12498	1078	1 1
5	2	-	Terminal	18440	18642	203	3 2
5	1	-	Initial	18774	18885	112	1 1
6	5	-	Terminal	22334	22503	170	3 2
6	4	-	Internal	22600	22693	94	1 1
6	3	-	Internal	23057	23233	177	3 1
6	2	-	Internal	23421	23511	91	3 3
6	1	-	Initial	23644	23762	119	2 1
7	1	+	Initial	27885	27930	46	1 1
7	2	+	Internal	28230	28399	170	2 3
7	3	+	Internal	28856	29107	252	1 3
7	4	+	Internal	29579	29734	156	1 3
7	5	+	Internal	30818	31193	376	1 1
7	6	+	Internal	31375	31463	89	2 3
7	7	+	Internal	31565	31646	82	1 1
7	8	+	Internal	31789	31921	133	2 2
7	9	+	Terminal	32100	32403	304	3 3
8	1	+	Initial	35462	35513	52	1 1
8	2	+	Internal	35645	36121	477	2 1

7.6.2 Aminosäuresequenzen der übersetzten cDNA

_1|GeneMark.hmm|gene 1|487_aa

MASSSSPPHYSCRRRRHRTSAKKKLSSRDRLQLAFLILNGLEYSEERHSVNIVMLYNSLFATYYDENKSKQMSMDVESTYRGLTLDD
ADYNSTFRQLLDSFGADRRLHAKYALEMFERVKELLKPMANVRSFDLSSRESTNEDDDDDDDDDDEKREPSTCIVCGDLHGHFD
DLLNIVNRFSTPGKSCYFVFGDWVDRGSKQIECLLTLYAFVMYPHRVFLNRGNHEDRAQNSLKAYSPCLKMAALSYFGKYGLVVYN
KLNEVFRHVPIAVIIGNPGTGQRYFVVHGGGLNDAIDLDELQGRDRSRLTSLCRRPTGTGPSDEYERFRATVTDLLWSDPMAKNGLKYN
ANRNIGKLFQPDVTARFLAKNQFTRLIRSHCEKQNGYEIMHNSKLITVFSASNYTLQNRASVLKIVYGRPKIDILTYNSTSKSSGSSS
SSSSTKPTPNHMDVSDCHDDDDDEDGLDHLRAIKSLKAVI
YRSKDPF

CAATTAACCCCTCACTAAAGGGATCTTTGATCGATAAATCACTGCCTTGAGACTCTTGATCGCTCTACTCAGATGATCTAGGCCGTCT
TCGTCGTCGTCGTCGTCGTCGATACACGATATCTACCATATGATTGCGGCTCGGTTTTGTACTACTACTACTGCTACTACCATACTACTCT
TGCTCGTCGAGTTGTGAAGTGAGTATCGATATTTTGGGCGTCCATAGACAATCTTGAGAACGCTGGCTCGATTTGAGGCGGTGTAGTT
GGACCGCTATAAATCAAGTGATGAGCTTGGAAATGTGCATGATCTCGTATCGGTTCTGCTTGCACTTCGTGCGATCTAATAGCGCGAGTG
AACTGGTTCTTGGCTAGAAATCGCGCTGTGAACGTCGGGACCGAACAGCTTGCCGATGTTGCGATTGCGGTTGTACTTGAGACCGTTCT
TGGCCATGGGATCACTCCACAAGAGATCGGTGACAGTGGCGCGAAAGCGCTCGTACTCGTCGCTTGCGCCCGGTGCCCGTCGCGCCCG
ACAAAGACTCGTCAGCCGAGAGCGATCGCCGCGCTGCAACTCGTCGATCGATGCGGTCATTTAGGCCACCGTGACAGCAAAAGTAG
CGCTGCCCGGTGCGCGGATGCTTATGATGACGGCGATGGGCACTGGCGGAAAGACTTCGTTAGCTTGTGTAGACGACGAGGCCGT
ACTTGCCAAAGTAGCTTACGCGCGCCATCTTCAGGATGGGCTGAGGCTTTCAGGCTATTCGGGCTCGGTCGCTCGTATTGCGCGG
ATTGAGGAAGACGCGGTGCGGATACATGACGAACGCGTAGAAGAGAGTGAGCAGACACTCGATCTGCTTGCTGCCTCGGTCCACCCAG
TCGCCGTGGAACACGAAATAGCAGGACTTGCCGGGCGTCGAGAATCGGTTAACAGATGTTGAGCAAGTCGTGCAAGTACCGGTGCAAA
CGCGGCACATGACATGCTCGGTTCTCTTCTCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCATCTCATCTGCT
TTCGCGCGAGCTCAAGTCAAACGACGCGCACATGGCCATGGGCTTGAGAAGCTCTTTGACGCGCTGCAACATCTCGAGGCGAATATTGG

CATACATACACACACACACGCAACATATACACACACACACACAACATACACACACACACACACACACAACATACACACAGTT
GATAAATAATTTAAATTTATCATATAATGTCTGGATTGCAAAATTAATCATATAATCATAGGAAGAAAATCGAAGAGATCTAGAGCTGTTGTT
GTTGTTTTCTTTCAATTAATTTTATTATAAAAGTATTTGTTTTGAGAATAAAAAGATAATCGCAATTCAGCAACGAACATAACTTTTTGT
TAGTTAGATAGGATTCGAATCAAGAGTGTGTTGAAGGGAAAAAATAAGTTGAAAAGCACTTTATTTTTTATAAGTTACTTAACA
AAGTAGAAGAGAATGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGATTCTTAATCATACTTTAATTCTGACTGAAAATAACTATACT
TGCTAGGCATTAGAAATTCATTTTGCACTTAGGTTTTTAAATAAGACTTATTATTTCTCATTTCAGTTTAATGATAGCTTGTGTAAGCA
AAAAAGAGTACTAGTAGAGAAAACCCAGGATGTGCTGGATTTTATGGTCTGTAAGGTTCGTTTTATAAGTTAATGCAAGTAGTTTGAAGC
ATGCGCGGAAACGTAATGTCGATGAAAATCTTAAAGATTCCAGAAACTATGTTCCAAGTCGAATGAGGCAATCGAATTTAAGTAG
TCTACATATATAGATCTCTTTTTCTTATTTTCGTTACACGAGTTTCGAGTTCTTCTAGAGTTATTCAAACAACAACAACAACATCTT
GAAGTGTGAGAGCAAATAAGAACTATAGAATACTAGTGGTGCCATAGGTAACATAACTAGATGCGCAATATGATTTCTATCAACTATCA
GATTTCAAATTTAGTCTCTTTTATGAGAGGCCAATATATTCGTTAATGCTTTTATGATTTATAAACGCCAAGTGAATCGAACT
AGCTAGACGATTTCAATTATGCTATTTTTGTATCAGTAGAGTTCACCTCATACAGTTATTGAGAACTCTACTTGGAATCTTTCAA

[illegible]

[illegible]

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orientierung
701	Hypothetischer ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, Permease-Komponente	1	229	-
702	Hypothetischer ABC-Typ Nitrat/Sulfit/Bicarbonat-Transportsystem, periplasmatische Komponente	386	1969	-
703	Hypothetisches Protein	2208	2969	-
704	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	3129	3893	-
705	Konserviertes Protein (hypothetische Dihydrodipicolinat-Synthase/N-Acetylneuraminat-Lyase)	3987	5045	-
706	Konserviertes Protein	5032	6018	-
707	Konserviertes Protein	6087	6752	-
708	Hypothetische Serin/Threonin-Protein-Kinase (katalytische Domäne)	6803	7651	-
709	Potentielle Serin/Threonin-Protein-Kinase (mit Membran-durchspannender Domäne)	7629	10550	-
710	Konserviertes Protein (potentielle Phospholipase/Lecithinase/Hämolyisin; COG3240	10705	11649	+
711	Potentielles AslA (Arylsulfatase A und verwandte Enzyme)	11777	13924	-
712	Potentielles OmpA-verwandtes Protein	14115	17522	+
713	Hypothetische Imidazolen-Propionase oder verwandte Amidohydrolasen	17623	18954	-
714	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	18971	19759	-
715	Alkohol-Dehydrogenase, Klasse IV	19867	21150	-
716	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	21204	23006	+
717	OmpA-verwandtes Protein	23107	26478	-
718	Hypothetisches Protein	26540	27166	+
719	Hypothetisches Protein	27238	27528	+
720	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	27529	28300	-
721	Hypothetisches Protein	28381	28728	-
722	1,4- α -Glukan verzweigendes Enzym (EC 2.4.1.18)	28813	31068	+
723	ATPase-Komponente eines ATP-Transporters mit verdoppelter ATPase-Domäne	31508	33145	-

724	Uncharakterisiertes konserviertes Protein (COG2947)	33147	33578	-
725	Serin/Threonin Protein-Kinase, katalytische Untereinheit	33642	34640	+

7.7.2 Sequenz des Cosmides slc_1s

TCAGCGCGGCGACCGGCAGGTTTCGGCCGAAGAGCGCGATCGGCGCTCCCGCTGCTTCGATCGCCCGCCACGATGCGGCCACGATCCC
GAGCGGCACGCCAACGAGGATGGCGAGACCGAACCCGATCAGCACGCGCCGCAACGTTGCGGCGATGCTTTGACAGAGTGCCTCGATCG
TTGAGCAGGCTCGGGAAGCTGGCGAGCACCTCGCGTGGGCTCGGCAGAAATACCGGCGAGATGAGGCGGTCTCTCGGTTGCCACCCGC
TGGTGGCGAGCCACGAGACGAGACGACGAACCGCCACCATCGCCGCGCCGAGCAGCCGGCGCACCATCCCGCGCGCGGGACCGGAAG
CGAGAACAGCGCGGCCCTGGCTTCGCGCACCATCTACTTTGGGGTCTGTCGCTCAGCCGGATAGACCTTGACCTCGACCCGCTGTTC
TTCGCGTGGTTCTCGGATCCGTCGTTTCGGCCGCGCGTCCAGCCGATGCGCGAGCTGGCGAACTGATTCGGCTGCAGCGAGGGGA
ACTTTCGAGGATCGCTCTTTGACCGAGTTGGCGCGGTGACGCGACAGCTCCTGCACCAAGGCTCTTCGGCACGGTCCCGCGCATCGA
ACCGTCGATATGTCCTCGATCACGATGCGCGCCGCGCTACTGGCCGCGAGCTTACCAGCTTCCTCGACGATGAATCCGACGTTG
GGATCGTAGAGTTCTCTACATCCTTGCCGTCCATGGTCTTGGTGACCTTCTTGTGAGGTCCAGGAGTTCGGGAAGAAGTGGATGA
CGACCGTTTGGTGAGGATCTCGTCTTCGCGCTGGATGGAGCCGGCAGTGGCCGGCGCAAACCTGCACGTCGTACTCGTCTCTCTG
GCTCGCATATTTTCGGTTTCGGAGCTCAGCTTCTGGATGACCGAGAAGTCCATCACCTGATCGAACGGCGTCTGCTGCGTCACGGCGTTG
ATCTTCTGTAGAGGAAATACGCGGTGTTCCACGTGCGCTCGAAACTGGTGCGGTGTTCTGTTTCAGGAAGAAGTACAGGTTCTCGG
CGTAGTTGGTGAATGCGCGTCGCCCAGCATGCCGAGCGCTCGCTTTCGGAATCGAGTAGCCGGCGGCCATCAGCTTGGCGACCTT
CTGCTTCGCTCTCTGAGTCTTCAGCTCCTGCATGGCGTGAAGATGCGCGCACCATGCCCTCCATGATGTCGGGTGTGCTTGGCA
AAGTCGGCACGCGAGAACCACAGTTCGGCGATCAACTTGTGGCGGTGCGCGTGGTGACGATGAGACGGTTGCCCTTGACCTTTTCGA
GGTTGTAGTGTCCGGTGCCAGGTGACGCGCGCGCCGCTGTCTGTGCGCATGAAGCGCGCGCTGCGAAGCGCGATCTCGGTCTCGCT
GAACTTGAACCTCGACTTCCGCGGCTGCACGCGCGCATTTGATCAGGGCGTTTCAGGGCGAAGAAATGCGACGCGGAGTCTTGGGCGAGG
ACAATCGTCTTGCTCGCAGATCGGACATCGTCTTGATGGCTTCGCGCACACGATTCCGTCGCGCGCGTTCGACCACTCGACCTGCT
GGTAGATGCGTGGCATCACCGTGAGTCTTTGCGCAAGCCTTCGAGGAAGAGCGGCACCATGTCGAGCGTGGCCAGCCGACGTGCAA
CGTGCCGCGCGCTTAGGCGTTCGCGCATGGCCACCGGTCTCAATCAGGACGAGCTCGAGCTTGAAGTCTTACCGCCCGCGCTTCCTC
CACATCTTGCCGCGCTTGAAGCCATTGTTGCGGTAGATGATCGGCCCCACCCGCGCCAGAGCTTGATCGGAACCGCACGGTTCGAT
CGGCCATCGGCTGGTAGCTGGAGATTCCCTTGACCTCTGGCAGCTTGGCGCTCGGGACGTAGTTGATTCTTGACCGTCTGATGCC
CGAGTTGTCTCGGCTTCTCCGCGCTGCGCGCATCTGCTTCACTTCTCGCTCGAGAACTGGCCGCGGATCCCGCGCGTCCCTGGCTG
CTGTAGCGCCAGCCGACGCGGACGAGGCGCAGAGCGCAGAGCAGGACGCGTAGAAAGCGCTGCGGTGTCGGTTGTCTCGCTCGCA
TAGCTCCCTCAGGAAGGAAGAAGGATGAAGGAAGAAGGATGAAGGATCGATGTTTTCTTCTTCCCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CTTCTCTCTAGTTCTGCTCTGCTTCTGTACCGGCTTGTCCGTGGTTCGCGCGGCCAGGTCCTTGCGCGCTTCGCGCACCGCGGTGTTT
AGGCGACTTCAGACCCAGTTCCACCTCGAAGTTCGTGAGCGCTGTTCCGCGAGCTCCGCTCCATGCGTTCTTCGGCTGAATCTCG
GCGATGCCCTTCGAGGACAGATCGCGCGGACGCGAAGCGCGCGCGGTTCTGTCGATCTTCTGCTGAATCACCGCTTCGATCTGTC
CGAAGTCCGTCGTGAGTTTCATGTCGAAGCTCTCGCGAGCTTGGCAATCTCCGCTTCCGCGCGCTCATCTTCAGCTCGCGCTCGTA
CTTCTGGATTTCTGGCGCAGCTCGATCAGCTTGTGCTTCGATGCTTGATTTTCTTCAGGTTGTTCCCGTACGCGGTTTCTGTCATC
TGCAGCTGCTGATCGTTGGCGCGAGCTCCCCCTTCGCTTCTGAGCTCCAGCGCAACTTCGCGCGCTCGCGCGATCGCGCGCTT
TCAAATAGCCCTTGGTCTCCGCTCGAGCTTCTGACAGTCTGAGCGAGCTTCGAGCAATTCGCAAAACCTGCGCGCTCAGCGCTCGACCGCG
ATACTGCTCGAGCCGACGCGACCTCTTCAGTGTCTGACCGAACGTCGTACTCATATTGCATCTGCGCAATGGGGTTCGCGCTCC
CAGAAGATATTGGCAATCTTGTGATTTGCGCGACGAACGCGAGACCAGAATTTTGGACAATCAGACGCTCTCTCAGGATGAATGC
CTGTAGGTGATAACTCCCAACTTCCAAATCCCAACTCCCAAAAGGGCGTTCCGAATCAGCGGGGTGAAAACCGCGAGCGACTCGTG
TTGTAGCTTGGCGATTGGGAGTTGGAAGTTGACAGTATGACAGCTTCGAGCAATTCGCGTACTTTCGCTCCCGCTCAGCGCTCGACCGCG
CGTCCCTTGTAGATATCGTCGAGCGCGCGCCGAAGCTCCGCGCGTTCGCGCGCGGATGACGTCCCTCCACCTCTTCAGGAATG
CGAATCTTCGCGGCTCGTGTGCAACGCGACGAAGTAGTCTGACGCGTCCCTCGCTCTCTCCTGAAGATATCGCGGGCGACGGTGT
CGGACTTCGCGCGCGGTGTTCTCGCGCTCGGTACGACGAGCAGGTATTTGCGGAAACCGCGCGCGGTAGAGATCGGACGGGCG
TTGCGACTTGGCTTCGCGATTGCGGTGCGCGCTCGAGCTTCGAGCAATTCGCGTCAATGCTCAGCGCATCGCGCTTCGCTTCT
GGAGAGGCAACAGTTCGAGACGCGCTCGAAAAGCTGTACACACCTATCTTGATGGGGAAGTCCGGATGGCTCGCGACGAAGCGCTC
GGTGGCATCCAGCGTGGCTCGAGCGCTCTCGGCGATGACGTACTTCGCGCGGATTTCGCGGGGCGGTTTCTTTATCGAGCGC
GACGTGTGACGAGGATTGCGACTGCGCGCGCAAGTCTTCTTCGACTTCTGCTGGTAGGGTTCGCGAAGGTTACGATCTCGTGGCTG
GCTGCGCTCCCGCGAGCCGAGCCGAGCGCGCAACCGAATTCGAGCCACTGTGGCCATGACGAGCGCAACAGCAGCTCGCGCGC
CAACTTGAGACAAGGCCGCAACGCGTGGGCTCGAGTTTCATGTGCGCAAGGAATCATGTAGATCGACGAGGGAGTGTACCGTTTCG
TTCGGAAGGATGCAAGACGAGCGGCTACCTGAGCCACAGATCCCGCGCTCCGCGACAAATGCGTCATCGGTCAAGTGTGGATATT
TTGACAGCAGCCGATCGATCTCTGCCATCTGCCCTGTGCTCAGCTCCTCGTGCGGATCGAGGACCCGCGTTCGCGCGAAGTCTTG
CCGCTCGCGGATTCGTGAATTTCAGGGATGACGCGCGCAAAACCTTCGCGCTCGAGCATTCGCGCTCGGCTCGGTCGAGGTCG
GCGCGAGCGCCAGGAGGCGCACCTCGTCGCTGCGCCACCTTGCAGCGCTGAAGCAGGCGACCGCTTGTCTGCTCCAGACCG
CCCACTGCGCGAGCAGGCGACCCGAAAGCGCAGTCGCGGCTGCGCGTCCGCGCGCGGTACCCGTCAGCAGATCCGCCACGATCGC
GTGCTCATTTCCCGTGTAGAGGGCCACGTCGCTTCGCGCGCTCTCCGCGAGTGCCTTCAGACGTCAGCGTGCCTGAGCATCGAAC
GGCGGACTTTGATCGCGACGACGCGGTGATGTCAGAAACCGCCGCGAGAATGCGCGATCGAGTACCCGTCGCGCGACGCGCGGTT
GCAGGTAGAAGCCGACACGGGAATCACGTCCGCCACGCGCGCACAGTGTGAGAACCCAGCTGTTGCTCGCGTCACGAAGGGCGCC
GAGGCTCAACAAAGCCGCTCTGAGCCGAGCGACGCGCGAGTTCCGCTCTGTAGCGCTGCGCGTGGTCTACGACACCTGCG
ACCATCACGGGCGGTGCTGCGTCTGGCGCACACGTCGCGCAGGTCGCTGCGGAGCGCGAGAACCAGGCTCCAGGAGCGCGATCG
TTCGCTCGGATTCGCGAATTCGCTGTGTCACGCGCAACCTTCGCGCTCGCGCTCGCGCTCGCGCTCGCGCTCGCGCTCGCGCT
CTGCCGCGCTCATCGAGCCGCGCTCGGCCGTGAGCGCGACGCGGTGGGCCGGGATTACGACGCGCGCGAGAAGCGTCTGGCGCAGG
CTCGACAAACGTTCTGTCAGAAGCGGCCATCCGTGACCTCGAAGTGGGTTGGCTTGTTCAGCGAGGACCGCTGCTGACCCAGTGC
GCGACCCATGCTGCGAGGACTGTGAGGGGACCTCGGGTTCGCCAATTCGCGCACGACGCGGTGGCATCGCTCAGGAGTGAACCG
GTCTTTCGCTGCGCGAGCAAGCGGGGCTCGCGCGCAACATGGAGCCGAACCATCGCGCATCTCTTGACCGAGATGCGTTCGCGCGC
GGTGACGTTCAATATCTGTTGGCGGTGATGCGCAGAGATCAGGCGAGCGCAGCGCATAGCTGTTGGCGTCAACCTGCCAGATGGCGTTG
AAGTAGCCGACGGTCAGGTGACAGGTTCCCGCGCAAAACCTTCGCGCGATGTCACACGCGTCCGTCAGCGGAGATGACCGCGT
AGTTCAATCTGTACAAGAGCGATGACGCGGTTCTGTCGCGACACGAACCTTACGACTCGTTTCGCGCCCAAGGACGAGTTCGCGCTA
TTCGCGACCGCGCGCGCGGTATCACTTCTCTGAGGTGAGCCGCTGATCGGCGACGAGGGGATACACTTTCGCGGTGTGAGAACACC
ACGAGCTTGGACCGCGCGCGGAGTGTTCGCGCGACCTTCGCGCGCACTACAGTGTGTTGGTGACCCAGGTTCAGGTTCGCTGCGCTTC
CGAATTCGCGCGCGCGAGAAACAGCACGTTCTCAGCGCGAGGCGCGCGCATCTGCGCGGCTCGAGCAGGTTCGACGCCAGGTT

CTGGATGTCGTCCGCTTCCAGTCGGCCGCGGGCTTCGGCCGAAGAAAATCGCGACGCCGCCATTACGCGATAACGGCTGCCAACACGC
GAGAGAGCCCGGTAGATCCGGCGGGCCAGCGAAGGCCCATCTTGCCGCCGGCACCGACAATCAGCAGCTCGCCATCGAGACGCCGCG
CGAATTCAACGTCCTCGGCCGGGCGGCCAATACGTCCTCGAGTTCGGTTCGGTGGCGAATTTGTGCCGGGTAGGTTTCATGGTGGT
GAAGCGAACGGCGATCAGCGCGCTATGACGCCAACAGATAGCGTAGCTCATCGTCGATTTCTGCGGACTGTGACGGTCTCGGCGA
TGGTCTCTCTCAGAGCGCGCAGCGAAGTGTTCGCGAGCTGTGGACGGCGACGCGGACCCGACCCCTCGCTGGTGCCGAATTCGCCGGC
CAGGTCGGGATACGACAGCGTATCGTTTCCGGTAAGCGTTGACCTCAGCTGCTTGAACAGCGCTCCCGGCCGACCGAACGTGTGTT
TCAGCGACCGGATCAATGCTCTGCTAGGACCTGCAGCGCCCATCGCCGCTCGTAGATCCGCTCCGGCGTCAGGTCGCTCGAGGGCT
CCAGCTGGTAGCGGCTTCGCCGTCGTGGAAGTCCAGCGGAACGTGAAGCAGCCGCCACCGCGTTTCAGCGTACGTGCCCAGTCCCG
TTCGTTTCGACAGGAAGTCCGGAGCGAGCCGAGGAGGAATGATCGGAAGCGGCCGCGACGGGGTTGCCGACTTCAAGTAACCCCTTC
TCGATTACCCTGGCAAAAAACGCTGCGTCAGGTCTGCCGCGTCGTGCGTCGCCGACCCGCTCTGCGAACGAAGCGTAAACCGGAA
ACCAATTCGACGTCACAAAGCTCGGCCAGCGCCGCTCAGCGTTCGTAAGCGGAGCTTCGCGCATGACGACCGGCTCAACCGGGTGT
CGCGAAGCGATGCCGGCTCCGCTCCGTCAAGTTCGAACTCCCTGCATATGTCCGAGCGCGGATTTCAGGTGCGTCGCCACATCTCGG
CTGTCTGCCAATTTGCGCCACGGGCATCCGGCCAGATGTTGTGCGAGACCGATGCGATGTCCGTTGCGACTTGAAGTACGCTGGAGAT
GAGGTACAGCAGATCGTCGACGTGCGCGCGTGGTTGTGTTCTCCGAAACCTCCCGAGTTCGATCCGAATCCCGGCCGCCAGCTCGG
CGCATGTCGATGCTCTATGGTTCGGCCGATTCGAGTTCGATGAGCAACGCTGGCATAACATGCTGGCAGGCTCAACCGGTCGATCA
CGTTGTGTGCTTGTATCGACCCGTGTGCCAGGCGACATCGGTGACGCTCAGCGACACGTTTCGAGATGTCAACGAGGACTTCGAGCCG
CTCCCGGATGGTCCGACGCGCGAAATACTGGTCGAGGCAAGCGCCAGCGCGTACTCGCGCACACCGAGGCGCGGCTTCAGTC
GTAAGTCCGCTGCCGATGAGCCGACGACCCGCGCGCGGGCATCGACGGGCAAGCGATGGAGGAGATCGCGCATGAGCGCCAGGA
ATAATTCGACGTCACAAAGCTCGGCCAGCGCCGCTCAGGACTTGACCTTGAAGAACGCGGGCTGGCGGACGCTGCGGCTCGGCTCC
GTTCCGCCACGGCCGATTGGTCCAGCAGCGGTGTGGTTTCTTCGATGACGACGCGAGGGCCCGCGCAACCGGTTTCGAGACCC
AACCGTAGAAGACAGCGCGCGCAACCGCGGCCCTCCGACGTCGCCACCATCGTGACTCACAGTGCAGCGACGGCTTCATGACGC
CCTGCTGGTGGTTTGGCGCCATCGCGCTGTGCGCGCAAGTGCAGCTTCGAACTGGCTGTAGAAGCGCCAGCGCTCGGACGGCTCT
GTGACGTCGCTGCGGCGCAGCGCTCGAAGAACTGCGCGTGCAGTGCAGCAACACCGCGCGAAGTTTCAACCGGCTCCGATTCAC
GCTGCGCATCAGCGCTCCATGCGGATCCCATGCGGTATTGACGCGCATCAGAGCAAGGCTCCCGCTCAGCATTTCCGCGCGCATCACC
GCGAGGCTCCAGATATCCAAAGCGGGCGCGGGCTGCTCGCCACGAGATGTTCCGGCGCATGTATTCCGGGGTACCGAGCAGACCC
CTGGAGCGGTGCTCGCTTCGAGTCGCCACCATCCCCCCCCGAAGAGGAGGTGGCTTTGCCACGCCGAAGTCGAGGACCTTGGGGTGGG
TGCGCTTTCTTTTACGAGAAAAATGTTCTCGGGCTTCAAGTCCCTGTGAACGAGCGGAGCGGTGCGCGCATCAACGCGCGCA
CACACACCGTTGAGAAATCAGGAGCACCAGCATCCGGCGCAATTTCCGCGCACCTCGATTTCTGGCGGAGGGTCCGGCCAAACGAGC
GTTCCATGACGAGAAACGGCTGTGATCACCAGCAACACGGAAGTGTGACGCGTGACGACGTTGGGGTGACGAGACGGCGAGCCAG
CTTGGCCTCGTCGAAGAATCGCTCGACCGCACCATCGGCGCGCGCCAGATCTTCGCGAACCACTTTGGCCGCAACCGTGCATCGAGG
CGATGTCGTGCGCTTCGTAGATCGTCCCATTTCCCTTCGGCGCAGGCGTCTGTGAGCCTGTACCGGCCCGCGAGTGTGCGCGCA
GGTCCCGGACCGCCAGAGCGCGCGTGTGCGAGCGCACGTTGACTGCCCCATCGAAGCAATCGCCACATTCGGGGCATTTCTTCGAG
GGTAGGCAGTCCCGCTGTGACAGGCGAGTGCAGGAAAGCAGCGGATGTTGTCCGCGATGGTGACGAGACATCCCGGTATCCGCC
GAATAGGGCTCCTCGGATCGCTTACGCGCGAGCGGAGCGGCGGTAAGGGTCCGCTCGATCCGATACCCGGAACAATGAGGTGGA
TGCCACCGCGCATGACATAGTCGATGTGCGCGTGTGCTCAGGTGCGGATCGCATCGGTCGCGCTCCAGGCTTCGAGCGGTTG
TTCGAGCAGCGCACGAGCGCGACGAGTTTCGCTTCGGCATGGAGGTGCGCGAGCGCATGTGCCCGGAGTTCGCGCGATCGTGCGG
TAAACGGGTTTCGTATCGTCTCGCGCCAGCAATACCGCAAACCTCGGGTGCATCGCGGCTTCGATTTTGGCGACGACGAGCGGAGCGA
CGCTCTCGAGGCTGCGCTCTCGACGACGCTGTTGAGCCACCTCGCGCAGCACGAGTATCCGTATGTCTCCCTGCAAAAAAGCGAGC
GTGATAGCGCTCGAGCCATCGTGTCTCAGGCTGACGCGTACGCGTACGCGCAAGATAGCGTACGCTGCTCCATGACGCTGAC
AGCACGGCGTGTGCTCTGTGACGCGTACGCGACGAGTTCACGCGAGCACTTGTGCGCAGTACGGGCGGAACCGACATGGCGGTCC
AACGGGCGCAGCGCATACCTGAGCCACTGTGCGATGATGAACTGACGTGCAAGAGCCGATGCCGAGGACAGCGTAGGTAATCGAAAG
CGGTGCGGCCAGCATCGCGACTGCAGCGAACCGGATGGCTGGCGATTGCAACAGAGATGTCTTGAGGTTCGCGCGCGGTGTGAGCCAG
TGATACCGCAATCGGGAATGCCGAAGAACCGCCGTAGCAATCCGAGCACAACCGCTCGAAGCCGCGCGCTGTTTCACGTAT
CGATGCGCTGATGTTGAGACGACGATGACTACCGCCGCGCAACAGTGGTGACGCGGAAAGCGCGGCTCCGTTCTGCGGCC
TACGCTCCTTAGCGTCTTCCACCATAGACGACGGCTGCGAAGTTGTACAGAGGCACAGTACGCGCGCGGACGCTGCGGTCCAGATC
GCTGCTGATGCTCCCGCGCCCGCATGCGCGCGGAAACGACGCGCAACGATCAGCAACACCGGTCCGATGGCCAGGCTGTCTG
GCTACGCGCAGCATCAGCGCGCCGAGCGGTGCGGGCAGCTCGCGCCACAGGAAGCCAGCCGATCGGACGGGAGATCGTGAAGGT
GGCGACCGCAGCAGGAACACAGCGCCCGTACGCGCAACGGGGTCCCGCGGAGCGCGCCACGCGCAACGCGCAGCGCAGCGCTC
AGCAGTTTGGCCCCGAGGGTGACGACCAAGATGATGCTGCTGGGTTTCGCAATATCGCATTTGGCGTCGGAACCGAGCTGCAGTGGCA
ACGTGATGCTGCTGCTTCCCTCGCGCAACGACCACTGGCATCGGTATTCCGTTTTAGTGATCGTGCCAACTCGCGCTGGAATCAG
CCCGCAATCGCGACGTGCTTGAAGACGAGGATCTGTACCTTGTCTCAGTCCCGCGGTTCCGCGCGCATCCAGACGCCAGTCCG
GCGGACATGCGTGGCTTCCACCCGCTCCTATCGGCGACGAAACCGGATTTCGCGGACGCGTACGTCGCAATAAACACGAGGCA
AAAAGTACGCGCAGAACGAACTGGCGGCAACGACCAACACGGCGCGGCCAGCCGCGCGTACGGCCGATTTTCGACGGATTGTGCG
AGGAATCAGGACAGGGTCACTCCGCAAGTGACGACGCTGACTCGCGATGGCGACGTATCGAGGACGGCAACATTATAGCCGAG
CTAGCGCCAGCTCCTTCAACCTTACTGAAGCAACCGCACCAATTTGTACCGGTAACGTTCCACCTCCAATCTTCAGGAGAACTC
CGAGCCCGCGCTGTTGCGCGCGCGCTCAACAGCTCTCTTAATCAGGAGATTGGTATGACATGCGCTTTCGATCATGCTGACGCT
GGTTCTTGTCTCTGCGGGTTGACTGCGGGTACGCGGACATTAAGCGCCGAGATACATTTGCGCTGTTGTCTTCGGGATAGCTTG
TCCGACTCGGGCGCAATCTGCTCCTTCGCGCGCTACTTCGGGGCGCGTGGTCGAACGGTCAATACATACGCGGATGGCCTTGCGC
CACGCTACGGTCTCGGTGACGCGCTCCAGCCTTCTCAATCGCTGGCGGACGAACTATGCGCGCGCGCGCGCCGCTCACCGGCGC
GAGCGGTGTGCTGAACAGATCGCTTCTTACCTGCGGCGAGTGCAGTGAACGCGGACAAGCACAGCTGTACGTGGTGTTCATCGGT
GGAAACGACATCAGGACGGGCTGTTACGCGGTTTACGGATCCGTATTCAATCCGGCAGCGTTCGTGGACAGCCGGCTTCGGCGGT
TAGCCGTACGCTGAACGGAATCTCGGTGCTGGGCGGGCGCAACATCGCGGTGCTCGGTCTGCCGATCTGTGAACTGCCGGGACT
GCCGCCCCAGGCGCGCCTCTTGCACGTTTATGACTGTTTCGGTTCAATGCCGGGTGGCACAGATGTTCAGAGGTCTTCAGGAAGGC
GCGGACATGGGTATCTCGTCGACGTGTGACGCTCTTCGTTGAGATATTGACGAGTGGCGCGTGGCGCGCGCTTCGGGATCA
CGAAGTGCAGCAGCCCTGCTCGTATCAACCGAGTTGTGATCGCCAGTGTCCAAATCCCGATGCGTACCTCTTCTGGGATCC
CATCCATCCGACAGCCCGGTTACGAAATCCTCGCTGACTACGTGCTGCAATCTGTTGCCGAAGCTCGTGAGGACGAAGAGAACGAC
GAGGAGGAGACGAACAGCAACAGCGACCGTAGTTGAATCTGTGAGCAAGGCGTGAGGGAGTCCGCCGGCGGCTCCCAACGTT
TCAAAATCGCAATGGGACACTCAACATTTTGGCGGAGTTCGGAATTCGAAAAAGGTGAGTGTCTTTCATGGGCGGAGCTCG
GCGAGCGTGCAGCGCATGCTCTTGTCTCGGATCGAGCCGTAGCGACTGGCGGAAAGCGGTGACCGCCCCGGCTTGTGCGCCACGG
CCATCGCGTACGCGCCAGCCGTTACGCGCCATCGTCGACGCTGGATCGCGCTGATCGCACGTTTCGAAGTAGGGCAGAGCGTCCGT
GGGGCGACCGGCGGACGCCAGCGCGCGCGGCGAGATACAAGAGGGCTTCGGAATTCGACGGGTGCGGCTCGATCGCTCGCCGAACAGC
GTATCGCTCGAATTCGACGACCGCCACGATCGAATCACTCAAGTTTGGTCAATAGCGGATGCTGCGCGGCTCGAGTTCAGTTCGACGA
TGCGTGCATAGCGCGCGCTGCGGCGTGCAGATCCTCGCGAAGCAAGGCGAGGTGCGCCAGACGGCGAATCGCTCGATGTGATCGGG
GACGAGCTTCAGACCCGTTTCGACAGGGCCGAGGCTTCATCGTATTGCGTTCTGATGTCGAACCTCGGCCAGCGAGATGAGTGGC
TGCGGGAACGTCGGAATTTTACGCTGCGCGCTTCGAGGATCAGGCTCGCTTCTCGAATCGTCTGCGGATCGCAGGTTGTGCGCGA
GCACATTGCGTCTTCAGCGCTCAGCTGTCTTCTTCGTCGAGCGCGCAAGGTGCGCGATGCGGAGATCGTGACGTCGCGCAGCGC
GTAGGCGACAGCAGCGTCCGCTCGCATGAACAGCCCGGATCCTCTGACGCGCGACGTCAGTTTCGCGGATAGCGAGCTCCGGC

GATGTTGCGATCGTGACCGGCAATCGCCTCGACATCCGGGCCCGCCATGGGTTGCACGTATCGAGACGAGCGGGCGCGGTCGTCG
ACCGATCGACGATCTGCGGCCGCGGCAACATGCCGCGTCAGCAGCGTCTCGTCGACGAAGCCGAATCGCTGGTAGAGCGGCCGCCCA
TCGGCGTTTTCACGCGGATCGGCATTCCGGCCGGCAATGCTTTCATCGCGCGTCGAGCAGAGCGCCCGCCGATACG
GTAGGCCGGTTCGACGACATCATGGCAATCCAGCCAAAGCTGCCGTAATCGATGCCAATCGCCGTACCGACGATCTGCCCGTGTCT
TCGTCGATGGCGCGAAGCTGCCAGTCGGTGCAATCGTCAACAGCATCTGCCAGTCGGCGCGTCTGATTCCAGCCCGCGCTCGAGC
TCAGACGGAAAGAGTCATCGAGATCATCGAGCGTGAGATGCCGATGGCGGGGTGGGCCCTCGATCACCATCGCACCATGGCGTCT
TCGAAGAGCGCTCAGATCGTCGGGTCCGGCCGGCCGGCGACAATTCGCTCACGCGATGTCGCGTAGCGTTCTTCCACCGACG
ACGGAATATCCGACGACGAGTAGTCGAGGGCCCCGAGTCCGTTCCGGCTCTTACAGCGTTGCATGAACAGGTGATCCGATCGGCGAG
CACTTGGCGGCATCTTGATGCTGAACACCGGATACGTCCGCCCGAGTGCCTCCGCGGCTGAAGATGACGCTCCGGGTGGCGCTT
GCCGTATACCTGAAGACGGCGGGCGCATTCAGGATTACGGAGATGCCGTGCGGCACCAGCGGATGGTCCGTCTCGTACCCTGGTGCCC
GATAGTTTTCACGCCACCAGATACCGGATACGACATGCCATCGCAGCAGATGCAACGCGGCTTGGCCAAACCAATGCCCGCTGAAGA
CGCCGCGAGGAGCATTTCCGCACGCGCTTGTCTGCCAGCGGTCTCAACGGCGCGAACGAGCGACCGGGTAACCATTCGGAGCGCC
TGATAGACCAATGTCTGTGATAGGGTTCGAGCCCTGTATGCGGGGCGCAGCGCCGGACGTTCCGGCCGGCGCGCTGGTCAACG
CGAGGGCCGTGAACGACTCGAGGGCGTGGCTGAGGATGTCCAGACCTGCAGAGGCGGCGACCTCCGGGGAAACCGTGGCGGTGTTCTC
AGGTCGAGGTACGAGGTTCAGGCTTCAGGCGCGGATTCAGGCGGATTTTCGCGTGCATCGAGTCGAGATCGGAAGTCCGAGTCA
CCGGTCTGCTCTACTGCCGTTCCGGCGGTCTCGGGATAGCCATCAGCGGCTTCAGCGGTCCGGGGATGGGCGAGCCCTTCCCGATCG
GTGATTGACGTAATCGAGGAAGTCTGCCGGTGCCAGTCTGTGTAAGGTTCCGCCCTTCGCTGTGTCTATTTCGAGCGCGCCGCC
GACAGCGACGAACGCGTCTAGCGCCGCGCCCGGCAAACTCGATGGCGTCGAGAAACGATTGGTCCGTTGGTTCGATTCAACGCGG
TCGTAAACGAGTCTCAGCCACCAGATACCGGATTCGTCTCAGCGATTTCAGCAGATTCGAGGCTGGGTGGGGGAGCCGAGTGGGTGA
AGACCAGCAGAGGCGGGCTCCCATTTCTTTCAGGTTCGGCGCAACCTCGCGTGTGACACCAACGCCAAACCGGACGTTGGAGACCGC
CATCTCGAACGCATAGTCCCTATCTGCCATTCCCTCACCACACAGTTTCGCGTGGAATTTACCCAAGATAGTCTACATTTGTGCA
GCGGGCTTCCGAATGTCCCGCATATGTATGGTCCGGCTAATACTGGTCTTCGCCCTCTGTCTGGCATCGACGCACAGGCTGAT
TCGTAAACGAGTCTCAGCGCTCGGCGACGCGCAAGGATTCAGCAAGACGAGAACAGAAATCATCCGCGGCGCCGAGTGGGTGGG
ATGGGCGCGTCTCCGTCTGTTCCGCCCGCAACGAGATCATCGCTTCCAGGTGATCGTCGAAGCCGACGGCGATGGCATCGGCCA
ACTTCTGTACGCTGCCGAGCTCGTTTCGGCCACCGACCGGATCACCTACCAGCCGCGGGAGCGGATCCACCAACTCGGTGGGCG
CGGCCGATCCAGATCTTACCACGAATACATGCTCGTCTCGGACGCTTCCAATGCGCCCTGGGTCTTCGAGCGCGGATCACCGGCTG
CGCCCTCGGATCGAGCGGCTGGAAGCCGCTCAGCTTCCGCAAGCCGAGACGCGGGCGGGGCGGCTCGCGTCTCGATCAA
GAAGAATGAGAATCAGGCGCTGGATCGAAATCTACGTCGAGACGCGCGCGCGCCCGCATCTACCGCGGCACGATTTCGGTGCAG
ACCGACCACACGCGCGGAGTCTGCCGGTCAACTGCAGGTTTTCGATTTCGCTTCCGCGACGAGAACAGCATGCACGCGATGCTGT
TTTACATGAGCGAACAGGCCGAGCTCTACCACGGTCGCAACATGGATGCGGAGTACAACCGACTCGCGCACCGCCATCGCGTCTGAGCT
CGTGACGCTACGACGAGAAACGCGTTTCAGGAAACCTGGGACGATTTTCCGGCTCGGATTTCAAAAGGCTTCGGGGTACGAGGT
CCCGGAACCGGTGTGGGCAACGTCATTGTCCCGCGGACGTTCTACGCGCCCGGCTCCGACTTCGACGACCGCGCTCAGCTGTGCGG
TGAGCGATTCTGATGATGAGTTTCTGCGTGAAAACTGCCGCGGCAATCACGTTCTCTACATGCCGAGCAACCGGATCCCGATCA
ATATCCGCGCATCGTGGCGCTGGCCGACAACGTTTCACTCGAATCCCGGGCTGGTCCGGGCTCTGCCGATTTTGTCCACAGTCCGGTAT
TTTGAAGCCCTCGACGCTCGATCGATATCTGGGATACCGGCCGAGGCTTCTCTCGATCGCTGAGTGGGTGCGGCTGCCCGCG
GGCGTCAGTACTGGTTCTACAACGGCGGTCCGCCGCGAGCTGGAGCCATCACCATCGATGCGCCGGCAACCGACGCGCGCGACGAT
CTGGGCGGCTTCAAGCAGACGTCGCGTGTACTTTTATTGGCACTCCGTCCACTGGCGGCACAACCTCGCAGAAGCAGGGGGAACGG
AACCAGAACGCTGTGGGCGGAGAGCATCAGGTTGACAAACCGCAAGCAGCGCAACCGGTTCGCCGACGATCAGGGTTTCACTCAATGGGG
ACGCGGCTGATTATTTCGGGCGAGGATCGCTGCACACCGAGCAGGATCGTGCGGTTTCGCGCGGAGCCGAGTTCGCGTGAATGCGGCTGAA
GAACTTCGGCGCGGCTGCGAGGACCAATACTTGACGCTCGCGCGAAGCTGGGCCCTCAAGCTCTCGTCGACGAAGTCTGCG
GCCATCGTCCGCGCGTGTCTCGGATGCGACCGAACGCGTCAGCTTTCAGAGACGGGCGATCCCTACGAGGACGCGCGGCTCAAGC
TCGCGCGCGCATCGAAGCGGCGCAGCCCAAGCGCTAACGATAACTCCCAACTCCCAACTCCCAACTCCCAATTTCTCAAGTTCGAAC
GACTGAGAGTGTTTTGGAGTTGGGAGTTGGGCTTGGGAGTTGTGCTAATCAGAAATAGAACTCAACCGGAATTGAATGATGCGCC
CGTTGAGGCGCGTCAAGATCTGCCCGAAGCCGCTCGACTCGCGTGCATGTTTCGCGGACCGCAAGTTCGCGTGAATGCGGCTGAA
CAACTCGGTGCGGAACGGAAGTAGCGTCCGTCGCCGACGTTGAAATTTCTTCGCCAGCGTGAAGTGAAGTTTCGCCAGGCCCGGGCG
CGCATGATGCCGACGCGCGCTTCCGGAACGCTGGGGAGACGGGCTGAATGCCGTTCGCAACGCGTTCGTTGAACAGCGCGCGA
CCGTGCGCTCCGATTCGGGCAACTCCGGATCGCCGATGAGGTTTGGCGCGCGCGCGCTCGCGCCGAGGTTGAGCACCGAGGATCC
CCGAGGCTCGCGCTCAGAGCGAAGCGCTCTGGAGCAGCTGAATGTCGCGTGAACCTGACCTGCGGCGGAGGCGGAAATCCATCGCCCG
TTCCAACCGTCGCCGTAGCGCCGCGCGCGGCCGAACGGCAGTTCAGATGTAGCTGGCCACGAACCGGTGCCCTTATGTGCAACTCCG
TCGTTCCAGTTCCGCGCGCAGATTGTTACCCTCTGCGGCTCGCGGAACACTCCGGTGTGATACCCGCGCGCGCGCGCTGGTTGA
GATGTATCCGGCGCATCGGCGATCGCTTCGCCGAGTGTGATAGCTGATGATCGCGCTGAGCCCTTCGAGAAGCGTTTGTGCGAGGCGC
ATTTGACGCTTGTAGTTGGAGGCGACGCGATTCTCAGCTGATCTCAGCTGATGTGTCGCGAAGGCGGATAGGTGTAATAGTCACTCTCGCATACCAACGAAGCGCA
GATCCCCAACAAAGATTGGGCGACATCGTCCAGGTCAAGCCGAGCGCCAGCCCTGCGAGCGGTTGCTGTTGGAGCCAAACGCGTCTGTT
GAACGAACCTTCGCCAGGCCGGGCGAGCGCGCGCGCGGGAACGTCAGGTTGTCACGAACCTGTAACGCCCGAAGAACGTCATGCTC
CGTTTCGATTCGGGATCAGCGGACGATGTGGCGCGGACGATTCACAGCATCAGCGGGATGACCACTCAGCGGATGAGCGTTCTG
GCTGAAAGCCGGGCGTCCCGCGCGAAGGGTCTTACCACGCTGTGAAAGGCCGGCTTTTCCGCCCGCGTCCGACACCGCGC
ACGCGCGCACGCTTCTGATCGCGCAGCCCTCGTAGTCGCCGAACCAACGTCGCGTTGCGGACGAGCGGGCGCGCGACCGCA
CTCCGAACCTGGTTACGCTCGCTTTCGGCTTGGGCGCATTCAGCGCGTTCGAGAAGAAGTTGTTGGCATCGAGCTTGTCTGTCGCGAG
GAACTCGTAGACGCTGCCCTCACCATGTCTGCGCGGACGATTTGTTGGCATTTGACGAGCGCGGAGCTGCGGCGGATTCGCC
GAATAGGCGTTCGCTCTGATCTTGAACCTCTGACGGGCTCGATCGAGGCTGCACGAGTTGCACGTTCTCACCACGGAAGGAGTTTCG
AGTACGAGATATTGTTCCAGCGCTCGAGCAGGAACACGTTGTTGAACGTCGCGTTACCGTTGACGTTGAGCACGCTTTGAAATTCAC
GCTCCGACGCGCGGAGTCCCGGCGACGCGCGGAGAGAGCAGGCGAGCTGGTTGTAATCGCGCGCTTCAGCGGCGGTCGACG
ATTTGTTTTCGATGACGAGTCCCGCGCAAGACGCTGCTGCTGAGCAGCGGCTTGCGCCGACGACCTCGACGCTCTCGGTCA
GCTGACCCGACTGAAGCGTCACGTCGATCCGAGCACCTGGGCGACCTGGAGGTTGACGCGGTTCTGATACCATCTTCGGAACACGCT

GCTCTCGGCCGCTACTGAATACTCGCCTGGCCTCAGGCTCGGAATGACATAGGCGCCCTCACCGTCGGTCTCGGTTTTGACGCTGATA
TTCGTTTTGACGTTTCGTACCGTACCGTTCGGCAGCAGCGGCCGGATGCGTCGCGGACGATGCCGGTGATGGTTGACGTTTT
CTTGTTGGCGGGAGGCCGCGAGCAGAAACAGCAGACACGTAAAGAGAAAACAGAGCCGTGCTGTGCGATGACGAGATTCGCT
GGCGATATGGACATCCCGACGAGTGTGACGATCGTACCCCGTTTTGTGCTCAAAGCGAATGAGTTTTTGGCCGCAAAATGCCCTCA
TTTCTTAATGAGAGCTGTAAGTTGGGGCGACGCGATCGGGCGGAGGTGTGAATGGTCTGTTGCGATGGTGTGCGGATGTTGCTGCTAA
CGTCGATCGCCTTTGGCACGTGGCAGTCGCGGGCCGACGACGCGAGCGGCGACTGGCAGTCGTTTGGCCGCGATCCAGGCGCGCGTCG
TTATTCCTCTCAACCCAGATCAACACGAGAACCTGGCCTCGCTGGTCGAGGCTGGACCTTCGATACCTGGCGCTCCAGGATCTCGTC
TTCATCGGCGCGACCATCGATCGACGGTTCCGCGCTTTTCGACGCTCAGACCGGCCACGCTTTGGGAGACGATGCTCGAGGCCAGCG
CGCACGCGACGCGGATAACCTTCATGGGGCGGAACCCGAGAGGACGAGGGATGGCTCGTTGACGCTGTGCGGCTGGCGTGCAGGCGC
ACGCCAGCCCGGACGAACACCCCGGACGTCTCTCGCCCTTTGCGCTCCCCGCGTTGGAGCTCTTCGACAAGTCACTGGCGTTTTCT
GAAGCGGTGGCAATCTCGCTCTTCTGCTAGAGACACGCGGCGCAGCGCGCTGTCAGAGAAACGACGCGCCATTACAGGAATTCGCG
TCATCCGATCACTGCGAGTGACGCGGAAATTTGGATCTGAGCTCGGATCGATCGCAGGTTGATCGTGCACAGGCGGGATACGGCTTAG
CTTGAAGCGCATCTCCCGCAGGATAGGGTAGGCAGAAATCTTCGATGAGCGTCACGGTGAGCTGCTCAACTTGGAGATGCGGCGAC
TGCGCTCGCAGCTGCACGACAGGTGTCAGGGAAGTCGTGCGGCGGTGGCGTCTTCTTCGAATACTGGCGTCTCTCGATTTTCAATC
GCGAGGTGGCGCAATCTGCGTCTTCTGCTAGAGCAGCGGATGAGCGGAAAGTCTTCACGTTCCGCTGAGTGGCGCGGCGGATCTCC
GGGCTCGTGAGCGCATACGTGACGCCATCCTCGCGGAGAAAAGCGTTCCGTACCAGCGTCGCGATCATAGTACCAGTAGCCAGTA
GCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAGTAGCCAG
GGCAACTGATTGCTAGCTCAGCTTGCATCCATCGCCAATAATCCATAAGCTCAGGCCATGGGATTTCGCGCAGTGGATGCGTGTGATC
GAGCGGTGGCGCAATCTCGTCCAGCTCACTGCTGCGTGGCGGAGTGGCGAGTGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
TCGGTCACTCGAAAACCGGCTCGCCGGCGTGGTCTGCGCGCGCTGAAGGAGGCGTTCGACCGCGATCGCGTGCAGTGGACCTCGA
ACGCGCGCAGATGGAGTGGAGCGCCAGCGCGCGGAGGAGGCGTGCAGCGCGAGCTGCAGCGCAGGCGCGCGGCGGCGGCGGCGGCG
CAGCTGCGCCTGGTGGCGGTAATGGCGATCGCCATCTGGATGCTGTCGCGCGCGTGGGCGCCTTTCTGCGGGGGATGCAAGAAGGAG
CGCGCGTGGCGGATCGGCGGCGGTTGGCGACTCAGCGTGGCGTGGCTGGCGCGTTCGGAGCTGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
GTCGCGGATGCGCGAGTGGGCGGCGAAACGCGGTATCATCCGCGCGAGTGGCGCGCCAGTGGCTGCTCTGCTGGCGCTCGCGGTG
ACCGGAAGCGCTCTGCTGTTGCGATTTAGCGTTCCGCGATTCCGTGCGCGCGGAGTTGACGCGTTGATCAAGGTTTTTCGGGACAGAT
TGGTGTCTCGGACACCCGCGCTCGCTGCGGCACTTGGCGCGGCTTCCAGTTTCCGACCAATACATCAACATCGATGACAGTCTGGACG
GCCTCCGCGCGCGCATACGCGTACCGCGCGGAGCGCTGACCCCGTCCGCGATCGTCGATCTGCGCATGGTGGCGGCGGCGGCGGCGG
GTCGAACGACACCTTGACGGGCGCGCTGGTGAAGTGGCGATGTCACGCGAGGATGAGGCATACGATCGACTGGCGGTGCAGAACGTC
GGAGATATCGAGCGTGGCGTGCAGTGCAGCTGCGCGCGGCCATCCTGGCGACGCGAGCGCGTTCGCCGCGCGGAGCGCGTGGCGGT
TCGCCCTGCTCGGCCTGTTTCGCCGCAACGACCGGGCTCACTGGTTGGTGCCCGGCTTACCACAGGGCTGGTGTGACCTCGCTCGGTG
TCGGGCGGATCGTCCAGCGAATCAGAGCGCGAGGCGTGGGTTTTCACGACGCTCGGTGCTTCCCTCGCGCTCGTCAACCGCGGAGC
GAAGCATGACGCCACCCACCGCGCTTCGGCGGATCGACTTCGACGCGCTGGCGGAGGCGCGGCGATCAGACCCCTTTTCGATACCTCG
GCCGCGATCGTGGACGAAGGCGTGGTTATTCGCGCGTTCCTGCCACAGGCCGAAGTGGTCAAGCATCATCCGCGCGGTGGCGATGCT
GTGCCGATGCAAGAACGCCATGACGCGGGAATTTTCGAAGGACTACTCGCTGGCCTCACCACGATTCCCGATTACGCGCTGCGCGTCA
CCACCCGCGCGGCGATACCGATAACGTCGACGATCCGATTCGCTACGCGGAGTCTCGGTGACTACGATTTGATCTCTCTCGGCGA
AGGCAATCACACGCGGATCTACGAAAAGCTCGCGCGCCATCCGATGCGCATCGGCTCGGCTGACGCGCTGCACTTTGCGGTGTGGCG
CCCAACGCGCTCCGCGCCAGCGTCTCGCGGACTTCAACGCTGGGACGCTCGCGCTCACCAGATGCGTTGCTCGCGCGAGCGCGG
TCTGGGAGATCTTTCTTCTGCGCGACGGTTCGGCCATCGCTACAAGTTTCGAGATCAAGGACGCAACAAGAAGCTTCTGCTGAAGG
CGATCTTACGTTAGCGTGGCGTTTCGAGATCCGCGCTGCTGAGCTGACCGCGCTGAGCTGAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCG
ATGCGAGACCGCGGAGAGCTGAGTCTTGGCTCAATCGCGCGATGGGCCAATACGAAGTGCACCTGGGATCCTGGATGCGGATTCCCG
AGGAGAAGGATCGTTACCTGACCTACGAGAGCTTGGCGGTGGTCTATTCCGTACGTGCGCGACATGGGTTACAGCGACATCGAGCT
GCTCCCGGTTCATGGAACATCCGTTCTCGGGATCCTGGGGATACAGGTTGACGGGCTTCTATGACCGACGAGCCGCTTCGGAACGCGC
CTGAGTTCAAAGGTTTCGTGATGCTGCCACGTCGCGGACTTGGCGTCACTTCGATGAGCTGAGCTGAGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CTCAGCGGCTGGCGAGTTTCGACGCGACTTCACTTACGAGACGCGGACCCCGGAGGTTGAGCAGACGCGAGTGGGCGACGCTCAT
CTTCAACTACGGCGCAACGAAGTACGCAATTTCTGCTCGCCAACGCTCTCTTGGCTGCACGAGTACCACGCGGATGGCTGCGC
GTCGACGCGGTGCGGTGATGATCTACCTCGATTACTCGCGCGGGAAGGGAGTGGGTGCCGAACCGTTACGCGCGCGGGAATAATC
TGAGGCGGATCGAGTTTCTCCGCCAGATGAACATGCTGACGCGCGGAGCAGCGCGGATCGATCACCATCGCGGAGGAGTCAACGGC
CTTTCGCTGGTGGTCCGAGCTATCTCGCGCGCTGGGTTTCACTTACAAGTGGAACATGGGCTGGATGAGCAGATTTTCGAG
TACGTCAAGAAGGATCCGCTTACCGGCGATGGGATCACACACCTGACGTTCTCCCTGCTCTATGCTTACCAGAGAACTTCATCC
TGCGGTTCTCGCACGACGAAGTGGTACACGGCAAGCGGTGATGTTTCGGAAGATTCCCGGTGACGATGGCGGAGGCGGCGGCGGCG
CGGGCGCTTACCGCTTCTGTACGCGCACCCGGGCAAGAAGTCTGATGTTTCATGGGCTGCGAGTTTCGCGCAGACTGCGGAATGGAAC
TAGCATGACGAGTTCGACTGGCACGCGTTCGACGACCGGCTTCACTCGGCTTGGCGATTTCTGTTACCGATCTCAATCGAGCTACAC
CGAGCGAGCCGCGCATGCACAGGTGATTTTCGATCCGACGCGGTTTCACTGGATCGATTGCAACGACAACGAAAACAGCGTGGTCTC
GTTAATCCGCGCGGCGACAGAATCCCGATGACTTCTGTTGGCGCTCTGAACTTACGCGCGTGGCGCGGAGGCTACCGCATCGCG
GTCCCGAGGAGCGCGCTACATCGAGCTGCTCAACAGCATGCCAAGCCTACGGCGGAGCACTGCGGCAACGCGCGGCGGATCGTGT
TCACGAACCGATGCGCTCGCACGCGGTACAAGCTGCTGAGCTGAGCGTCCGCGATCCCTCGCTCGGTTTCTCTGCTGTAAGCCGCGGT
GTAAGATCGTTCTGTTCCATGGCTCGCCGTTGACGGCGCGCATCAAGGAGTTCGAGGAATGTCTCAGAGAAACGGCGAGAAGTCGCG
CTTCCAGATCAATCGAAACGCGGAGTACTCCGCGCGCGCAAGATTTCGCGAGCTGCTGGCAGCTCGGCGCGGAGAGAAGCGACCGCG
CACGCCAAGCCGCGCGGAGGAAGTAATAAGCTGTCGACGAGCATCTTTTCTCAGCGCTCGCGGGGCCCCACCCCGCTCGCTCTCGC
TCGCGAATTCGCGCTCGCTCGGGCGCAGGCGCTCCCCGAGCTCCCCGAGCCCGGAGTCCCCGAGCCCGGAGCCCGGAGCTCCCGA
GCCCCGAGCTCCCGAGTCCCGAGTCCCGAGCCCGGAGCCCGGAGCTCCCGAGTCCCGAGTCCCGAGTCCCGAGTCCCGAGTCCCGA
GTGTTACCGGTGTACCCCGCGCGCTTCGTGCCCCGTGCGCTCGACGATTTCCACGATAGGAACCCGGGTAGGCGTGCAGTTTCGCGCTG
GTGCCGACTCTCCCCGAGCTCGAGAACCGGGTGCTCAGCCCGCGAGGAACGCCGGTCTGTCGATACGAACATCATCGTTTCCCT
CGTATGACGAGCATGACGCGACGAGCATTTCTTGGTGGCGAGATCGAGGTGGTTCGTGCGTTTCGTCAGCAACGGAAGTTTGGCGG
GTCGAGCAGCATCCGCGCCAGGACGAGTGGGTCTTTTCGCCACCCGAGAGGGCGCGTATTTTCTTTTCCACCTCATCGCCAGAAAAC
TGGAACGCTCCGAGCAGGTTGCGCAGCAGCGCGTGCATCTGTCGGAATAATCCCGCTCGATCTGTTCCACACCGGTGAATCTCGGAT
CGAGCAGATCGAGAGCTGCTGTGCGAAGTATCCCATCTGACGCTGACACCGATACGACGCTGCGCGTGTCCGGTGGCAGGACGCC
GGCGACCATCCGCGAGCGTGGTCTTCCGCGGCCATTCCGCGCCATACGACACGCGCTCGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CCGTCGTGGACGATGCGACGGCGGTAGGCTTGTGACGCTTCGAGCACCGCGACCTGTTTCGCGGAGCGCTGCGGCTGCCGGAAT
CGAACTGCACGACGCGCGCTTTCTTCGGAAGCTCGATCTTTTCAATCTTTTCGAGGGCCTGACGCGGCTTTGACCTGCGCGGCTT
CGCCGATGCGCGCGGAAGCGGTGATGAACCGTGTCTTTCGCGAGCATCGCTGCTGGCGCGCATATGCCGCTCGCGATTTCGCT
TCGCGAATTCGCGCTCGCTCGGGCGCAGGCGCTCCCCGAGCTCCCCGAGCCCGGAGTCCCCGAGCCCGGAGTCCCCGAGCTCCCGA
CCACCCGATTCATGAAATCGCGATCGTGGGAGGTGATGACGAGCGCCCCGGGAAGCGACTTCAGGAACGCTTCGAGCCAGATGATCGA
TTGATGTCAGATGGTTGGTTCGTTTCGTCATGACGAGGAGTCCGGGCGGCGGAGCAGCAGCGGGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CATCCCCGTGACAACGCGCGGCGTCTGTCGATTTGTTTCACTCGTCAATCCGAGGCGGCTGACGCGGCTTTGACCTGCGCGGCTT
TCGCGAATTCGCGCGGAGATGTTTCGATTCCTGAACTTCGCCAAGCTGCGGAGGCGGCGGAGGATTTCGCTCGCGCTGCGCGGCT
GGACATCGCGCGTGCAGCGCTGAGCTCGTGGTGCAGCACGCGGCTGCGGCCACTGCCGCGATCGCTCTGTCAGCACGCTGCGC

CCTGACATCCCTTCCACGTCCTGCCTGAAGTAGCCGACCGTCACCTTCTTCGGAACGGACACTTCGCCGTCGTCGGGCGTCTCTTCGC
 CCACGACCATACGGAACACAGTCGTCTTGCCGGCGCCGTTGGGCCGACGAGGCCGACTTTTCGCCGGGATTTCAGTTGGAAGGAAGC
 GTCGACGAACAGTATCTGGCGGCCGTACTGCTTGTGACCCGGGAGAACGTGATCACGTACGCGGACCTCCCGCCGGGAGGCCGCGCC
 TTCGCTGCCATCGACTCGATCCGTCTCCACTCGACGTCGGTCACCGGCATGACGGACAAACGCGACATTCGGACGAGAAGAAACGTG
 GCGAACGCTTGTTCGGCTTTGATCGCCGCCAGGGTGACCGCTGACGCGAGCTTTTTCGACAGGCTCTACGTCAACCCGCTAGAGCTTTC
 CCGTCTTGTTCGGCCGGTCCGGATAGGCTGCGCCGACGCGCGGGCGATGCCAACGACCGCCTTTTCGTTCACAGTGTGATAGAAAAA
 GATGCGATCGCCATCGCGGATGCTCCGGAGGTGCTTTTTCGCCAATGGATTTCTCACACCGGTCCACGAGGTGCGCCATCGCGCGCG
 AGGTCGTATAGCTGTAGTTTCGACGGTTCTTCTTTCATCAGCCAGTTTCATCAGCGGGTCCGAGGCAATCGGGTATGTCGGTTTTTGC
 GTTCTTGTCTGGATTATAAACAGCCGTGACACGCCAGCACATCGGTCGTACAGGATCACGGGAACGCTCGCGGAGGGCGCATGGGG
 ATCGTCTATTCCGCGGTGATCCCAAGCTCGAGCGTCCGGTTCGCATAAAAACATTGCGCGGAGCCTCTCCGGATCCGGTTGCCCGGG
 AGCGACTGGCGCGGAGGACGCACTGCGCGCCGATCAACCAACCCGCGATCTGCCAGCTCTATGAAATCGGAGAGGACAACGGCGA
 GCTGTACCTGGCGATGGAGCTGCTGGAGGGAGAGTCCCTCGCCACCCGATCGGGCGCGGCCGGTTCGACGCTCGGAAGCGGTTTCA
 CTCGCGCTCAGCATGCTCGCCGGGATCGATGCGTGCATCGTCATGGCGTTGTGACCGGGATCTGAAACCTCGAACGTGTTCTCTGA
 CGGCGCACGGCGTCAAGCTCCTGGATTTCGGTGTGCGCCGCCACCGCGCGGCGCGGCAACGTCGACGCGGCTCACTTCCCC
 GGGCATGCTGATTGGCACGCCGCAATACTGTGCGCCGAGCAGATCCGGGGGAGCCGGCGATGCTCGAACGGACATCTTTCGCCGCG
 GCGCGATCGTTTACGAGATGGTGGCCGGGCAACGCCGTACGGCGGCCACACCACTGTGCAAGTCATCCACAACATCATGTACGACG
 AGCCACCGGTGCTGACGGGTGGGCTGCGGTGTGACGCTCGATCGCGTCATCAACAAGCGCTCGCCAAACAACGCGACGATCGGTA
 CCAGACCGCCGACGCTTCGCACAGGAGCTCCGCTCGTCTGCTCCTCGCGGATACGCAACCGGTTGCCGCCCGCGCCGACACGT
 CTCATCGTCTGCGCTTCGATCTCCGACCGATGCGAAACGGACTTTCTCGCGTTTCAGCTCGCCGATGCCATCACCAGTTTCGC
 TCTCGACGCTGACCGCGCTCGTCTGCGATCGAGCGTCTGCGCGGGCGGTTTGA

7.8 Das Cosmid slc_1t

7.8.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
801	Kalium-Aufnahme-Protein	1	646	-
802	Mit GGDEF-Motiv gekoppelte "response regulator receiver"-Donäne	871	2259	-
803	Hypothetisches Protein	2371	2649	+
804	Hypothetisches Protein	2646	3056	-
805	Potentielle Halogensäuren Dehalogenase-artige Hydrolase	3205	3903	+
806	Trimethylamin-Methyltransferase (MTTB)	3983	5542	+
807	Hypothetisches Protein	5559	6047	+
808	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	6123	6680	+
809	Kationen-Transport-Protein	6698	7669	+
810	Konserviertes Membran-assoziiertes Protein	7714	8379	-
811	UDP-N-acetylmuramoylalanin-D-Glutamat-Ligase (EC 6.3.2.9)	8450	9853	-
812	Hypothetisches Protein	10148	10360	+
813	Hypothetical Membrane Associated Protein	10384	10659	-
814	Uncharakterisierte Protein-Familie (UPF0156)	10874	11131	+
815	Hypothetical protein (COG3668, ParE (Plasmid stabilization system protein))	11121	11435	+
816	MiaB, 2-Methylthioadenin-Synthetase (COG0621)	11758	13104	-
817	Konserviertes Protein (hypothetische Tyrosin/Serin-Phosphatase, COG2365)	13261	13959	+
818	SUL1, Sulfat-Permease und verwandte Transporter (MFS-Superfamilie) (COG0659)	14025	15695	+
819	N-Methylhydantoinase/ Aceton-Carboxylase, β -Untereinheit, HyuA (COG0145)	15692	17689	+
820	CsdB, Selenocystein-Lyase (COG0520)	17686	18909	-
821	NodQ, bifunktionales Enzym (Nodulationsprotein)	19058	20074	+
822	Potentielles Kälteschock-Protein	20153	20362	-
823	Hypothetisches Protein	20482	21225	+
824	4-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase	21368	22441	+

825	Konserviertes Protein (COG3791)	22438	22893	+
826	Maleylacetoacetat-Isomerase (EC 5.2.1.2)	22880	23551	+
827	Homogentisat 1,2-Dioxygenase (EC 1.13.11.5)	23551	24693	+
828	Hypothetisches Protein	24697	25572	+
829	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	25846	26259	+
830	Protein der Fumarylacetoacetat-Hydrolase-Familie	26516	27478	+
831	Hypothetisches Protein	27475	28014	+
832	Acyl-CoA:Acetate/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit A, AtoD (EC 2.8.3.5)	28032	28733	+
833	Potentiell Phospholipid-Bindeprotein (COG1881)	28745	29392	+
834	Acyl-CoA:Acetat/3-Ketosäure-CoA-Transferase, Untereinheit B, AtoA (EC 2.8.3.5)	29405	30034	+
835	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	30182	30613	+
836	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	30619	30885	-
837	Konserviertes Protein (COG5361)	31024	32454	-
838	Peroxidase/Katalase (EC 1.11.1.6)	32531	34726	-
839	Konserviertes Protein (DUF1080)	34981	35556	+
840	Cytochrom P450	35751	37124	-
841	Hypothetisches Protein	37192	37731	+
842	Potentielle Kynureninase	38355	39005	-

7.8.2 Sequenz des Cosmides slc_1t

TCGGGCCAAAAAATTGGCAACCGCTTCGGTTCCGCGTGATTGCACGGCAAAATAGCGCGATCAGAATTCACCACCGCGATTGGCAAAAT
GAATCGCTCAAATCCCGGATGCACAAGCCGAGCGCTTCAACCGCCGAAAGCACGGAATTCGCCGGCGTAATGATCGCATCGCCGAGA
AACAGCGATGCCCGGAATATGGCCAGAATGTGCAGGCCGTCAGTTTTCGCCCGCGGTTGCGCACCAACGTCAGCAATGACAGGA
TACCGCCTCGCCCTTGTTATCGGCTCGCAGCAAAAAGTGACGTATTTGATCGTCAATATCAGGATCAATGCCACAGCAGCAACGA
AGTAACGCCAAGCACTTCTCGCGTGACAGGCCATCGCCCGCCACAACCTTCAACGATTCCCGCATCGCATACAGCGGGCTGGTGCCG
ATGTGCGCGTAAACGACACCAACCGAGCCAAGCGCCAGCGCAACAGTTTCTTGTTTCGAGCTGACTGAATGGCGGTTACCGTTGCCAC
CGCCGTCGCTTTTTCGGGTCAATAGATATGTTATGTGTCAAGGGGGTGAGGCTGGCCGATTTCGGGCAAAATACCTTGGCGCTGC
GTTCTTGACCGATTCTTCTCCGATCCACACTGAGTCGACCTCAGCGCGCGGAACCTAACACTTTGGCTTTGGCAGCACAATGCGCTA
TTGTGCGCGCAACATGGATTGAAAAATGTCTACTTTTCAACAATTACAATTGGTTATATTCAATCTCGCTCGTGCGTTTGCCCTC
GAGGCAAGGTGATCGCAATAGATCAAACCTTTTCCCGGTCCGCGGACGCTTCCCTCTGGCACCCGAATTTTTCAGTTATGCCGCG
ATCCTGGCAAGCGAGACCGGTTGCGACCTTGCCTTGATGCATATAGCGCTCGTGGCATGCCGTATCAGGCTGTCGCGCGTGG
CGGACGAATCCCGGACATCACAGCGCAATACTGACTGTCACGTTGGTGGTGCTTACCCTGGCGCAGAGTAAATGGAACAGTTTC
GACGGCCCGCCGACTCTCTCGCGCTGCGGCGCGCCGATGCTGCTGGTGTCGGGCATGACCAACAAAATTCCTCACCCCAAG
CGCGCAACAAGGTCAACGCCGCGCACATTTTCGCGCAACGTCGCGAAACTCGGTGACACCGCGTCACCGGCATCGTGCCCGCAGC
CGCTGTTGATTTGAAACCGTCCAGATTCATATCATTAACGAAAGCAAGCGCGGTTTGGCGCGCTTGGCGCGCTTCCCTGCTGCT
CATGTGCTGTGTGGCATAGCGACGGTTGAATAACCGGTCAACGGGTGATCACCGCCATTTTCAAAACGTCGCGCATATTGGTCCGC
AGTTGGTCAGACAATTGCTGCGTCGCATCTGTGAACGCAACCGCGCCACAGTTCGTTTATGTCAAAGGGTTCATGATGTAATCAC
TTGCACCCAGTTCAGCCCTGTGCGGCCACCGCAGGCAATTTGGCCGACGATCAGGATAATAGCTGAATGTGCGGTTTCCGTCCT
TGCCCGCAGCGAAGCAACCAATCGCAAAACCGTCGCGCTTCCGCGCGTTCGCGCGCAAGCAAGCGCGGTTTGGCGCGCTTCCCT
CCAGATTGGTGGCTTCGCGCTCGCTGTTGGTTTCAATCACCTGTACGTGACGCACTTATCCAGTTTGTCCGCCATTTGTGGCCAG
TTTCAACATCAGCGGTTGCCAGCATGACCGTTCCCGCGCTTGGCATTCGCGCGCAAAACCACTAAGGAACCGCGCCAGACCAATTC
GCGCGACGTCGAATCGCGCATCCGCAACTCGTCAAACATGACTTTGGTGCGCATCAGTTTGTGACCCGGGCAACCAACGCCAAATCA
TTACCCGCTTGGTCAGAAAAATCGTCTGCTCCAGCCTCAAGGCCCTTACGGCGTCTTTCGCGCAGATTGGTACCCGTCACCATGATCA
CCGGAATATGGGCAAGTTTCGCTGCTTGTGCTTCAAAATGTGACAGACCTCGTCCCGTCCATGTGCGGCATCATCACATCCAAAAGGAT
GATGTGAGGTTGTTTCGCGACGTGCCAATCCAAAGCCTGAACGCCATTTTCTGCGCAGCAAGACATCATAATAGGCCGACGACAGTTTC
GCCCGCAAAATCAGCCGTTGGATGCCGTGTCTATCAACAACAGAAATTCGCCCCGACATACAAAACCTCCCGCTTCGCCGACTAATGT
CGCTTCCCGCTTGGCAGTTTGGCGCAAACTCTTAACGAAAGCTAAAGCCGTTACTTTATCCACGTGAGGATGAACCCGATCAACAGC
CCAAATATCATCAGAAACCCGCTCATCTTGAATTCGGTTTCCAGCGTCCAGCGGTTTTCGCCCAATCTTCAATCGGTTCACTAC
CGAATTCACACACCTTGGTTTCATAGACCCCGGAAACTCGCGCGCAGGTGCGGTTTGGTAATGGTTTCAACCGATCAACCCGCG
GTTTTTCCCATCAGAAACCAAAATTTGGATTTTCGCGCTACCTGCCCGCGGTGCGGAAATCGCGGTAACCTTTGACGTCCTCCT
GCCATTTCCGCGAGATTGGCCGGTTCATCGAAGCTTCGATAAACCTTGGCCGCGAAACATTCACATCAATCGAATGGTATATTTCAA
AACCAACCTCCCGCGCAATGTGAGTCAGCCTGTCAGAAAACGTCGAATCTGGCAACCGCGCGCATTTGGCTTGTACAACTCTGC
GGTATTCTTGATGCTCTGAATTCAAAGGAATCCCTTTCGCGCAACCGATCAAAAGCCTGCTTTTGTATAAGACGGCACCTTTTCG
ACTTTAACTGACTTGGGCCAAGTGGTGCAGTGAATTCATCTTGACATGGCAACCGGTAACGGCGAAATCGAAAAATCGACTGGCACA
AGCGTTGTTGTTGACATGCAATCGCTGACCTTGGCCCGGAGCCGATTATGCGCCATACGCTGTGCGAAATCGCCGAAGTCGTC
TTTGCGCGCTTGGCCGAACAGACCCGGAATTTGGTTCTGGCGCATATGCGCGAGTCGGCAACCATAGCTCAACAACCCGAGCTGTGC
CATTCGACCACTTCTCGACGGCTTCTTGGCCAGGACTAAACTTGGCTCGCCACCAACGATGGCGAAGCCCGCGCGCGCGCA

CACTGACATCATCATAGCGTCCAAGCCATGGTATCGGGCTTGCCCTGCGCACATTTCATCTGTTGCTTCATCGCCATTTCAGCGCCAG
 CCTCGTCCATCGCCATTCGCGGCATCGCGGCCGCGCCATATGATGGGATCGGTGCGCGCCATATGCTCTTCATATCCATCGCGCCAAA
 TTTGCGCACAGGTCATTTTTCATCGGATCCATATCCTCGGCCAAGGCCAGGTTAGGCAAGGCAATGGCGCTCAGAACCGGCAAGTTGCAA
 AGATATTTTCACTCGGATTTTCTCACTTTTGAAGGGCGGAAACCCGGCCATTTAAGTGTGAAACCCCTAGCACCCCCCAATTACGC
 CCCCCACACGTTCCCGCGAGCGCACATAAGGTTGAGGATTGTTGCAAGTGACGCGTCCGTGGTCACCGGAATCAGGTTTGATTGCCG
 TCAACATTTTCCGTTACCATTATTGTTGATATCCATTGTTAAAGGAGGATCATGGCCAAGAACACATCCATCGCATCAGCGATCATTTT
 AACGATTTTTTAAACCAAGAGGTTCAAGCAGGCCATCAGGCTCGGCCAGGAAGTGGTGCAGCTGGTTTTCGGTTGCTGGAAGAAC
 AGGAAGCGAAGATGGAAGGTTGCGGCGAGAATTCAGAAAGGCTTGAGACAGCGGCATCGCAAGAGATGGATTGGGATGATCTTCTA
 TGGGAAAAGCACGCCAAAGCCGGGTGAAGCGTGCAGGTTAGATATCTGGTGCAAGCCGTACCGATATCGACGAAATCTGGGATTA
 TTCTCTAAAAAAATGGTCGCTCGCCAAAGGCTCAGCGCTATGTTGAGACACTGCGCAGGGCGTGTGAGCAGGTGGCCGATGGCCGCAAG
 CGCGCCCGCAAGCGCACACAATCAAGGCTGGGCTTTGGCAGATGACTCAGGTCGGCAGCTGGTTTATCTGCGCAAGAGCCCGGG
 AAATCGTCACTGCTCCGATCTTGACACAGAGCATGATGCGAAGGACGGAATGTCTCAGCAAGAGGAAACCATTTGGAATGATCGGGT
 GAAATCACCCATCCTACAAGTTTGCATGGCATCGTCGCAAAATCCCTTGCAGGCGCGACCGAACCAAGCTTTGAGCGTGTACTGACTC
 GCTAGGCGCCCGAGCCATTTCGTGAAACCAATAGGCAAAACATCAACGCCAAGATCAACGCCAACATACCCAAACCGCATGAGGATGGTTG
 GAATTAGCTCGGCCCATTTGGCTTTTCAAGGAACATTTGTGGCTTTTCACTTTTCGATGCGCCGTGGATTTCGATAGATAGCATCAAG
 CATTTTTCGCTTCTTTTCTCGCTCGTGCCTGCGCAGAATGTGCGCAACACCTCACCCCGCTCCCCCAAAATCATATTTCCCGC
 CCTCATCAACCACCACCTCAACCACATCCCCACCGACAACCCCTTGAACCCCTTCGTCGATAAACAGGTTCCCGTCGATCTCAGGTGC
 ATCCGCCATGTTGCGCAAGTGCAGCCCTCACCGTCCACATCATCGACAATCACCGCCAGGCGCATCCCCACCTTGCCCGCCAGTTTG
 GCCTCGGAAATCGCCTGGGCTTTTCCATGAAGCGGTCCCATTCTCTCTGTTTAAACCGCTGAGTCCACATGGTCGGGCAAGCATTCG
 AACTTCCCGCATCGAGTTTTCGATTTGAAACACCCACCTTCAACTGCGCTTCGTCCTCAACCATCGACAGGTGCTGGAATTC
 GGCCTCGGTTTCCCCCGGATAGCCAACGATGAACGTCGAACGCGAGCGTGATATCCGGGCAAGTGAACGCCAGTTTGCAATTTCTCTC
 AAGGTCGGGCGCTGTTGCGCGGGCGGCCATGCGTTTACGACATCTGGGATGCGAATGTTGGAACGGCAGCTCCAGATAGGGCAGCA
 CCAACCCGCTGCGCATCGAGGAAATAGGTCGCGCACATCGGATAGGATAGACGTAATGACGCGCACCCAGCCCGCCAGCGACCC
 CAGATCGCGCGCCAGATCAACAATGCGGCCATGCGCCGCTCTCTCTTATAGGCCAGTCAACCCATAGGCGGAGGTGCTCTGC
 GAAATCACCAACAGTCTTTTACCCCTGCGGCCACAGGCTTTTCCGCTCGCGCATACCGCATGGCGCGGGCGGCTTTGAGGCGGC
 CGCGCATGTGCGGAATGATGAGAACTTGCATTTGTGTTTACAGCTTTCGAGATTTTCAGATAGGAATAATGCCGTGGCGCTCAGGCT
 TACCCCGTGGGCGGAGCAGGTCGATGAACGGGTGCGGTGCGGAGCAGCTTGTGAACCGCGTCCAGACAGCTTCATATTGCT
 TCGCGCCTGTTACCGCCAAAACCTTTGATGTCGCCCGGTAAATGAATCGGGTTTCGCCCAACGAGCGGTCGCAATGACCTTTGC
 CATTGGCATTCAGCGCTCGCCAATCGCCTCCAGACTTTTCGGCTTGGCTGAATCGAGGAACCGCAAGTATTGACGATCACCGCTC
 GGCCCTTCATAATCGGCGGAAATCGCATAGCCTTCGGCGCGCAACCGAGTCAGATGCGTTTCACTGTCACCAAAAGCCTTTGGGACAA
 CCCAAGCTTACCATGCGGATTTTCGGCTGGCGCGGACGGGCCACATCGGGGATGTGGGAACCGGGCAAGATCGGGACGCAAAATTCGGCG
 GGTTCGGGTGATCCGCGCGTATAATGCGCTTTACGCGGTTAGAAGCAGTAATTCACCAACGAGGCGCTGATATGGCGAGTCG
 CAATGCTTTCCAGAACCCCATTTTCTGCGAAAGACGCGCGCAAGTAATCGGAGAAACCCCTTGTTCAACCTGCGAAATCGTTGGGCCA
 AATGATGACGGGCTGGCGTTTCGGGTTTCACTCCCTTATGAGAGGCTGGAACGGGCGCAGGCCCTATTTCGACCTGTACTGGATTGA
 CCACGGGTTTTCGAGCGCATTTACGGCAACCAATATCAATCGGCACCGGCTGTTTTCGTCGGCGCAACCATCGCCAAAGACATC
 CGCAATTTTCGGCAAGCGCGGCAAAACCATCGTCAACTGCGCGCACCGGGCGCGCGGCGTATCTGCTGGAACGCGAGGCTT
 GTGCCGCAACGAGCTTTGCATGATCGACGTGCGCAACCTCCTCGCGCAACCTGCGAAAGCGGAGGTCATTCTGGAATTTGGCCATAT
 CCACGCCAATCGAGCGCGACCTTGATGTTCCATTGCAAAATCCGGTGGCGATCGCGCGGCGATGGTGGCGGGCTTGTTCGTTGTTT
 GACGCGCGCAACATTTGACAGGCGCAAGCGCAACTCAGCGCGAAATATCTGCACTTCGAGTTTCAACACCGCGCTGCTGGATCAGT
 TGCTGTCGAATTTGAACGACGCGCAAGCTGATTTCTGCAATGGGTTAGGACGACTAGCATCAAGAGCAATCGAGGCGCATTT
 CCACGCCAATCGTTGGGGATCGGTGTTTGTGATTTGGATATTTGCGCGCGAATAGGCACACCCCTTTGCGTCCAGTGTGTGGCTTGA
 TTGAGTGGGAAACTGAATTTCCGGGAACCGCATGTGAGCAACCTTTGCCAGCTATACACACCCAAACTGTTGACTGTGCTGCGCGA
 AGGCTATCGACTGGCACAGTTCCGCGCTGATGCTTTTCCGGGCTGACTGTGGCTATCTGTCGATTTGCCATTGTGATGGCCATTGCC
 ATTTGCTCGGGTGTGAACCGGAACCGGCTTGTACACCGCATCATCGGCGGTTTCTGTTCTGCGCATTAGGGGGCAGCGCAT
 AGGTTTGGCGGGCGCGCGGGCATTCATCTGTGTTGACGCAACCGTTTCCAGCACGCGGTTGACGTTGTATCTTGGCCACCAT
 CATGTGCGGGTGTCTCTGATGCGCGCAGGCTGGCTAAGGCTGGGCATTTTCGTCAAGTTTATCCCTATCTGTTACCGTTGGCTTC
 ACTTCGGGCTATCCGCTCATATTTTCGCCAGCGAGATCTGTCGCGCTGTTTGGCCCTGGTCTTGAACAATCCGAACCCGAGCCTCTGG
 CGGAAAAGCTCGCGGATTTGTGGCTGCTGCGGACTTTCGATTTTTCGGCGTTTTCATGGCTTTGGTCAGTCTGGCGGTGATCAT
 TTTCTTGGCGAAACATGGCCAAAAGCGCCGGGAATGTTGTGGTGTGTCGATTTGGCGGGCTGGCTACTTTGGGCTTTTGGCTTGGCG
 ATTGAAACCATCGGTCGCGTTTTCGCGCGCATCCCGGCGCGCATGCTTTTGGCCGAATGCCGGTGGTAACCTTTGCCAACTGCGGG
 CAGTCTTGGCAGATGCGCTTGTCTTTCGCTGCTGCTGGCGCATCGAATCTTTGCTTTCGCGCGTGGTGAGCAGAGATGACCGGGCG
 TCGCATCGCTCAAAATGCGAATTTGGTGGCAGAGGATTTGCCAATGTCGCGACGGGTTTTCGAGGGTTTTCGCTACCGGCAAC
 ATCGCCCGCACCGCCACAACGTCGCTTCTGTTGCGCATGAGACCGTGGCGGCGATTTGATTCGCGGTTTCTTTTGGCCTTCATCC
 TGCTTGGCGCTCCATTAGCATTCAACATTCGCTGCGCGCTTTGGCTGCGGTTCTAGCTTTTCGTTTCGTTGGAACATGTTTGAACGGCA
 CGCTTTTGGCGCTTTTATCGGTGGGCGCAGCGCGAAGCGGTGCTGATCTGTTGGCGCTGATACCGGCGGTGTTGCTGTCCACGAGTGC
 GCGACAAAACCTTTGGTGCCTCAAGGCAAAATCGTGACAACCCGCGCACGATCTGGCTTTGGGCATCGGGCGGGCCATTGATGCCGTGCT
 CGCAGACAGCGCCCCAGAAAAAATACGCTGTTATCGCTGTTCCACACACCTTGGCAACCAATGCGTTGAGGTGAGGGCAAGGTGGGCGA
 TTTTGTCTGATTTCAATCGGCTTTGAACCAAAAGATCTGGAGCGCGCGGCTGACCGCGCCCTGAAAGCGGCAACCGGTTGTTGCA
 TTTTGTGGTGAACATTACATTCGCGCAATGAACACCGCCTTGGATATCGAGGCCCTGAAAGCGGGATTTTGGCGCATGTGCGCGA
 AGTTGGTGCGTTTGGCATTGCCGGACATTTTGTGTGTCGCAATCCGACCCATGAAATTCAGCGCCGCGATCTGGTGCAGCAATTGACG
 GCAACCAAGTACGATGTTTTCGACAGAAATGACTGCCCGCTCAACCGCGCGAAACGGGCATTTGACTCGGCTTGAATGCGCGGCTGA
 TCGGTTTGTAGTCGGGCGTTGATCGAGGATCGCAAGCTTGTCTAAGCGCAAGCAAAATCAACGCGCTTTGATGTTGGTGCAGCGCGA
 TGGTGCTTGGTTTTCAGCGATTTTGGCGGCAACCAACCGATGAAACCATTTTTCGCGCGCGCGGCTCAGTGTGCGGTGCTGCTG
 TGGTTGACCGGAGCGGCAACCGGATTTGTCTCTGATATCGGTGGCACCACCACCGGATGTGCGCATCTTAGCCGAAGTTCGCCGAAAA
 TCGACCCCGAAGGTGCCATGTTGCGCGGCATCGCACCATGTTGCGAGGCGGTGCGCATGCGCACAAACCGGCTTGGTGGCGACAGCA
 AGTGCAACTTTTGGCCCATGGTTTGGCGGGCAGCTGGTTTGGGGCCACGTGCGCGCTTCTTTGGCCCTTGGCCATGGACTGG
 CCGGACATGTTTCATGCGCGCGTGTGATGACAAATCGCCACCGAGGACATCGGAAACCGATGCGAGTTTGTGGTTTCGGTCTTGC
 GAAAGGGGCGGAACCTCAGCGGGCTTAGCGAACGCGAACGCGCTTGTATAAGCCGACTTGGCGAGTTGGCGCTGCGGACCGGAAAA
 GATCGGTTCCCGCTTGAATTCGGTGTGGGAACGATGTTGTGTCGCGCGCTTGTGTCAGATATCGGCTTTACCCCGACGCGATGCC
 CGCATGTTTCTGGTTCGGCAACCGCTTGGGACAGGCGCGCGCTGCTGATCTTTTTCGCCCGGCAAAAAACCGGCTCGG
 CGGAGTGAITGCAACCGATGCGGAGTCGGTTTCAAAATGGTTCATCGACAGTTGACGACGACAGCTGCGAGATCTGCTGGAAC

CGCTTTCGCCGAAGATAGCTTTGATCATCTGAAAACTGGCGCGTCATGTCCTCTCCAACGTGGGAACGCGCGCGCATCGCGGCGCT
GCCAAGGTCAACATCGGGCTGGGATTGCCGCTCATCGGCTTGGGCGCATCCGCCCCACCTACTACGGCGCGGTAGCGCAACGCTTGG
GCTGCGAGGCGGATTTGCCAAACGATGCTGGCGTGGCCAAATGCGCATTTGGTGCTTATACAGGGCAAAACGCGCGCTTGC
TGTTACCAGCCCGCAGAGGGTAAGTTTTCGCGTGACCTTTTGGCGGCCCAAGGGACTTTCGCGCGTAGAGGCGCTCTGACCTGT
GCCGAAGACGCAGTGCTGCTCGTCCGCGATCCGACGAAGCGACGGCCTCGGGCGTGCGAGGAAATCAGGGTTCGATGTCGAACGACAGGTGC
AAAATGTAACGGTTCGAAGGCCGCGAAACCTTTGTGCAAGCGCAGGTTTTCAGGCCATAGCCAGCGCGCAGACCCGGCATCGCGCTGGCCTA
GTCAGCAAAACAATTCGCCGCAAGTCTCCAGCGCGGCCAACGACGCTCAACCTCGGCCCTTGGTGTTATACAGGGCAAAACGCGCGCG
CAGGTGGCGTTGACGCCCAGATGCGCCATCAGCGGTTGCGCGCAATGATGTCGGGCCGAATGGCGACGCCCTTTTCGATCAACGATGG
TTGAAACATCATGCGGATGCGCCCCACCTGCGATCGTGACGAGAAGATCGCCCCCTTTTCGCGCGCATTTCTTGGATATTCAACCA
GTTAAAGGCCGAAGGCCGCGATTGGGCATAGTCGCGCAACTCGCGTTTATGGCCAGCGATATTCCGCATGCCCAAAACGTTTCAGATAG
TCAATCGCGCGCCCAAGCCGATCATCTGGGCGATTCCGGGTGCTGCCGCTCAAATTTGTGCGCGCGCTTGGCGGTTAGGTTATCGCGT
CTTTGGCAACGGTTCGCGATCATGTCGCCGCCACCAAGAAGCGGCGCATTTTCGGCAAATCGGTTTTGGCGCACATAAATGCGCCCGA
AGCGTTCGGGCCATATAACTTGTGCCCTGTAACCGCATAAAAATCGCAGCGGATTTCGCCACGTTGACGGGCGATGTCACCGCGCGCT
TGTGAGCCATCGACACAGACCGCAATGCCCTTTGTGCGCGCGCGCGCGGCAATGGTTTTTACATCGACAACCGTTCCCGAAGCGTTG
ACATATGGCTGATAGCGATCATCTTGGTGCGCGGCCATGGCTGCGATCACGGCGTGCGCATCGACGAAACGCGTTCGATGTCGATC
GACCCATTTCAACACCACGCCCTGCCGTTCCCGCAGAAAATGCCACGGCACAATGTTGGCATGATGTTCCATGACGGAAAGGACAATT
TCGTACCCGCCCTGCAAATTCGGCATGGCCAGGCATAGACACAAGGTTTCACTGCTTGTGTCGAACCGGTGGTAAAGATGATTTTCG
TGTCAGTTGAGCGCCAGAAATCGCCGCAAGGTTTTCGGGACCGCTTCATATTTGTGCGTTGCGTGGTTGAAAGGTAATGACAGGCC
GCGATGCGCATTTGGCGTATTCTTCGGCATAGAAACGGCTTCCAAACGCTTCCAGCCGATCTCTGATGACGGAAGCAAGCGCTTCTTC
AGATAGACCAGCGGCTTGTCCCATACTTTTGGGCCAGTATCGGGAATCCTGACGAACGGCGCGACATCAAAACATCTACATCGCTC
CCGCGCGCACAAAGCCCGCATGATCGCCAGATAATTGACGAGAAGACGAATCCGACAAAAGCAGCATATTGTTGCGATCGTCAC
CGCCGATGGCGACTTGC CGCGCGCGCTGCGGCGGATGCCGTAACCTTGTGATCGAGGATGAGATCGACGCCCTCTCGGGGCGACGCT
TTGCTGCGCCCGGAAGCCCGCGGAAGTCTCCAAACGCTTCCAGCCGATCTCTGATGACGGAAGCAAGCGCTTCTTCGATGACGCGCC
ACGCTACCTGCTCAAGATCGGCTCGCAGACCGTGCAGGCCACGATCACCGGCATCCGGCACAAAGATCGACATCAACACGCTCGACAA
GACGAGGGCCACGCCCTCGGCCCTCAACGAAATGGCTTTCGCAACGCTACTACCAACAGCCGATCGCCTTCGACCCCTATCGCTTC
ATTCGCGAATCCGGCGCTTTCATCTGATCGACCGCTTCCAAACACAGACGGTTCGGCGCGGGCATGATGCAATTCCTGATGCGCG
CCACCAATGCTGATCGCACGCGATGACGTAACGAAGGCTTCCCGCTACTGCTGGAAGGGCCACCGTCCAGGCGATCCTCTGTTGTC
CGGCTCTCGGGCGCTGGCAAGTCCACTATCGCCAACTGGTTCGAACGGCGCTCGCAGACATGGGCGCGCATACTTACTCGCTGGAC
GGGACAACATCCGCCAGGGCTCAACAAGGATCTCGGCTTACCGACGCGGATCGCGTTGAGAACATTCCCGCATCGCGGAGGTTG
CGAAGCTATTCGTCGACAGTGGGCTCATCGTCACCGCGAGCTTTCATCTCGCCCTTCGCGCGCGAGCGCGACATGTTTCGCGGCCCT
CGAGACCGCGCAATTCATCGAGGTGTTCTGTCGATGCGCGCTTGAGATTGCTGAGAGGCGCGATCCGAAGGGCTCTACAAGAAAGCT
CGCGCGGCCAGATCCGCAACTTCACCGGCATCGATAGTCCGATGAAGCACCTGTGCGGCCAGAACTACGTCCTCGACACGTCGATCG
CGACTGCCGAGGCGCTGGCTGATCAGGTGATCGAACACCTGCGCAAGGCGGATCATCGGATCATCAGCCGACAGGCGCTCGACTT
CAGCATCTGACAGAAATAGAAAGGCCGCGCACTGGCGATTGCTTGAAGCGGATCGCCAGTGCGCAGCTAAATTTGTGCGCGCGGTT
CTAGAGCTGCTTTCGCTGCGTCCGCGACTTTCGCCGAGGTTTGTCTTTCGAGTTTCAAGTTCGAGCTGACGCGCTGATTTTCTTAAAG
CTGTGATGCTGCTGAGCTTGAACGGCAGAGATGTGGACGAACACGTCGCCCCCGCCGATTCCGGCTGAATGAAGCCGTAGCCTTTT
GTTGTTGAACCACTTCACAGTGC CGGTAGCCATAGAGGTGTAGCTTTTCAAGTTTTCGTCGAAGGGCGGCACTATAGCTGCGAAGCG
TCGCGCGCCTAAGGAACGATTTCGGCCAGGCCAAGAAATGTTTTGACAGGCACTAGGCGGAACAAAGTGTCCCGTAAGGGGACATTCG
CTTCCAATGTTATTTGTGTAACACAGGCGCGCGCTTCCCGCTTTCGATCGGCAATGTCGGGCGAAGGACGCAATTTGTTCTG
GGCGCGCAGCGCTTTCAGTTCGCGGAGTTGCTTTGCGCTGTTGGCTGCGCTGTCGACGGCGGGTTCGCGGACCTGGTTGGCTCG
CTGGCGAATAGTCAATTTCTTGTGCGCGCTTTCATCTCGCGCCGAAGCCATCGCTGCGGGCGGCGACGGAGCGCATTTTCTGCT
GGCGGGGCGCGCTGCGCGTAAGTCTCGAGATTCTTTTCGCGCGCGCGCGCCGACCTGCTCCGGCCACCTCCGGATAGCGCGCTGG
CTCGGCTTCTGCTCTGCGCATCCATTCACGCTCATGCGCGGCTTACAACGCCGTCATCTGGCAGGGGACGGCGCTCGGATTG
TGGCTTCGATGGGCTCATTTCTCCAGAGGCGCCGAGGGGCTGTTGCAATGATGCTGCGCTGCGAGGCGATGGAAGCCCGCGCC
CGCCCGGGGATCGCGTTGCGGCGTCTCCATACCACGCCGCTCGGCTGGCTGCTCGCCCATCTCATCGCGCAATCAGCGCAAGG
GCATGACAGGCGATGTTTCGCCGCTCGGCGCGCTGCTGCTTATGTCGCTGCGATCTCATCGCGCGCGCTGGAAGCCCTGCGCG
CCGAAGCGAACCTGAGGCGCAGCGACCTGCATAAAATCGGGCCAAACAGCCCTGATCAGCACAACCTTTCAAAGATGATCCG
TGGGCTTCGCGCGGCTCGCTTCTTTCGTCGCGCACACGAGCATATATCTTCGCCCTAAGTACGGAAGCGATGCGCGCACTTTTGA
AAACCGCTGGGCACTGACGATTTCGAGTTCGTCGAATTCATTTCCGCCGACCCGCTGGTCTTGGCGAAGCTGTTTCGAGACGCTGGG
TTCAGCCCGCTTCCCGCATCGTCCAAAGAACGTGATCCGCTTCAAGCAGGGCGACATCAACTTCATCTCAACATGGAGCCTGCAG
CGCAGCGCGAGAATTCGCGGCCAGCACGCTCAGGGCGCCACGCCATGGCTTCCGCGTCAAGGACCGCGCAAGGCCCTACGCCGA
AGCGCTCAAGCTGCGCGGAGCGCGCTTTCGCGCAGGTTCGCGCGCATGGAGTCAACATTCGCCCATCAAGGCGATCGTGGCGC
TACATCTATCTCGTCGATCGCTACGGCGCCACGGTATCTACGACATCGACTTCACGCCATCCCGGCGCAGATGAAGCGGAGAAGA
AGAACTCGTTCGGCTTCACTATCTGACACCTCACCCACAACCTGTTCCGCGCAATATGGAACAAGTGGGCGAGTTACTATGAGAC
CATCTTCAACTTCGCGAGATCCGCTACTTCGACATCAGAGGCGAAGCAGACCGGCTCATCTCGAAAGCGATGACATCCCATGCGGCG
AAGATCGCGCGCTCAACGAAAGTCGCGACGACAGGCGAGATCGAGGAATTCCTCAAGGACTATGGCGCGGAGGATCGGAC
ACATCGCGCTCGGCACGGAACAATCTACGACAGCGTCGAAGCGCTCCGCAAACAAGGCATCCCGTTCCAGACCGTGCCCGACACCTA
CTATGAAGGCATCGGCCAGCGCATCGGCAATCAGGCGAAGACGTGCGCGCCTGCACAAGAACCAGATCTGATCGACGGCGCGCG
ACCAAGGGGCGAGGCTGCTGCTGAGATCTTCACCGCCAACAGATCGGCGCGATCTTCTTCGAGCTGATCCAGCGCAAGGGCAATG
AAGGCTTCGGCGAGGGCAATTTCCGCGCTCTCTTCGAGAGCATCGAAGCGGATCAAATCCGCGCGGCTGTAAGGCGGAAGCGTG
AGCGTCGCGCTGCCAGTGAAGGCGGCTGCATCTCGGTGAATCGCGTCTGCGCGTCAGCGTCCCGCGCATCATCACCATGGCTGCC
ACTGCAAGGGCTGCCAGAAGATGAGCGCCAGCGCTTCTGCTGACGGCGATGTTCCGGCGCAGGGCTTCGAGGTGCTCAAAGGCAA
GCCGAGGTCCGTGCGTGACGGGGAGTCGGCTATCACTTCTGTCCGAAATGCTCACTGGCTCTACACACGCGCGCCGCAAT
CCCTTCGTCAATATCCGCGCGTCTGTTTCGAGATTCCGCTCTGGTTCACGCGCTTTCATCGAAACCTTCGTCGAGAAACTGCTC
GGGCTATGACAGGCGCGGCTACGGCTTCAGGAAGTATCCGCGCGCGCACGATTACGGAATACTGGTGGAGGAATACGCCGAATGGAG
TGCCCGGTTTTGAGCAGGGCGCGCCATGAGCAAGACCATCTCTACGGCTACTGGCGCTCTCCGCGACCTACCGACCCGCGCATCG
GTCGAACCTCAAGGGCGTCAGCTACACGACCGTTCGGCTCCATCTCTGAAGGACGAGCACAGCGCCAAACGATCTCGCACGCCAC
CCCTCGGGCGCGTACCGATCCAGCAAGTCCGATCGGCTCGGCGATCCATGCGGATGATGCGGATGATGCGGATGATGCGGATGATGCGG
CCGACCCGCTCTGCTCCCGCGGATCCCGGACACGCGCCACGTCGCGGACCTCAAGGACAGATCGTCTGATCATTTACCCGCT
CAATAACACCTCCACGCTGGCCCGCTGCGCTCCAGTTTCGGCGCAGACGATGACGCCATCGCAAGCTGGTACGAGCACTGGATCGCT
CGCGGCTTCAACGTGCTGGAACAGATGCTCCATCCACCGAAATTTCTGCGTGGCGATAGCCCGACGCTCGCGGACATCGCTCTCG
TGCCCGAGGTGACGAACGACGCGGATACCCGCGAGATCTCTCAACGAGTTTCCCAACATCTGCGCATCGACACAGCGCTGCGCCA
GATCAAGGCGTTCCGAGACGCGGCGCCGAACAACAGCCGAGGCGAAGCAGTAATGACCAAGGGCAAATGGATACCCGTGCAAGGCG
CCGAGGGGAGGCACTCGAAGCAGGCCCATGCCGACATGCCGGAAGGCACCTTCGAGCGCGAAATGTCGAAGAGGGCTTCTTCGCGCC
CGCGGCTTTCTCCACACCCGAAGCCGCGGACCGGCTGGATAACCTTCGAAGGTCCACTCCGCGCGCGCATTTGATCTCACAAG
ACCTCGACAGGGCGAAGGCGCAGGTCCGTGGCATGCCCGGTGATCTTTTCGAACAAGGCTGTCGAGTTCGTTACTGGAAGCTCG
GTGGGCGGATGACGAAGCTGTCCCGCAATGGCGATGGCGATACGCTGCTTTCATCCACGCTGGAAGTCCGACTTCTACAGCGACTG

GGGACACTATTCCGCCGTCCCGGGCGATTACATCTACATCCCGCGCGGCGGCATGTTCTTCTGAAGCCTGGCGGCCCGCTCGATGCG
CTGGTGATCGAAGCGACCAACACGCACTTCACCCCTGCCGGATCGCGCGCTGTAGGTCCGCACGCTTCTTCGATCCCGCCATGCTGG
AAACGCCGAAGATCGACGCCGCTTCTCTCGATCATCAGAAAGCCAGCGGCCAATGGCAGGTGAGGTGAAGAAGCGAGGCCAATTTC
AATAGTCACCTATCCGAGACGCCGCTGGATGCCGTGCGCTGGCACGGCGACCTCGCGCCGGTGAAGATCAACGTGAAGGACCTGCGC
CCCGTCGTGAGCACCGCTACCACTGCGGCCATCGGTTACGCGACATTCCTGAGTGACCGCTTCGTCTGTCTGCACCTTCTGTCCGC
GCCCCTTCGAGACCGATCCCGCGCGCTGAAAGTGCCGTTCTTCCACAACAACGACGATTCGACGAAGTCTCTTCTACCATGCCGG
CGACTTCTTCAGCCGTGACAACATCGAGGCCGCGATGATGACTTCCACCCCTCCGGCTTCACCCACGGCCCGCACCTTGAGCGGTG
AAGAAGATGCTCGTCCAGGACAAGCCAATGACCGACGAGTACGCCGTCTATGATCGACACCCGCGACCCCTTGTATGTGGGCGAGGCGG
CTGCGAGCGTCGAGAGCACCGCTACGTGCACTCTGGAAGACGAGCGAATAGCGGGTGAGTTACGAACCTCTATCTATCCGAAATC
CTACGACGCCAATCTGTTCCGCCACCATTTACCGTCCGGCCGAATATACGATGTTAGTGGGCGAGGCGGCTACGGCAATGAAGAC
ACTCGCGTCGGCTTCACGTTCGACTTCAGCGAAGCGAGCATGAGTGAAGCAAGCGAGCCCGCCGTCTTTTCAATCTTTCAGACTTTTCGCTCGC
GCGTGTTCGATATCGAAGCCGCGCAGGAATCTCAATATTTCTGGACGCGTTCGACAGCCGATTTGTGATCCGCAGCAATTTGAAAG
CATGGGCGTGGGGCCATATACCAGCGACGGCTTCTGCGGAGCTGGAATGCCAACAACAGTTCTGCTTCGAGTCTTTTCTGGTGCG
AAGCTCGAAGCGGTGATCTGGCCCGCGATCTGCCCTGGTTCGAGGCGATCTGGCGTTGGAACCTGAAGCGTGAGGAACGTGAGCAAC
GCTGCGGCGACCGTCTGTCGTCTGAGGTTCTGTTGGGCGGTCTGCTGCAATAGCGAACCCTGATCTCTGTGCGAGGCGGCGGCGG
CGTGCCACATTGATCCCGCGCGATCTGTCACGACGTCTCTGTCGCGCAACCACGCCCGTCCGGTAAAGTCGATGTTTCGGCGCT
ATTGCTGGAAGCGGCCGAAACCCGAGATGAAAATGGTGGCCCTCAGGGCGGTCCGCCGCTCCACGAAGTGGTGAAACCGAATTCG
ACGGCGAGAGGATCGTTAGACGCGCTCAGGCGACAGGCATCATTTCCACGCTGGCGTGGGCCGAGGACGAGCATACGCATCTTGCC
GCCGGAAGAACTTCACGTTCGACTTCAGCGAAGCGAGTCTGATCTGATCTGAGGCGGTCTAGCGCCGCGTGTGGCGCGGCGGCGGCGG
ACCGACACAGGCGATGAGGTAGGCGCACACGGCGGCGATAGAAGCAGGCGCGGGTGAATAACATGGCTCGAAACTCCGAAACTGCTTCAG
GCCGCGCATGCGCAGGCGGTCCGAAGTGAATCTGGTACGCTGGCGTCAGGATGCGCGCCCTTCGTTAACGAGGTATGATGTTGGCG
GGCGGGCGAGGCGCTAGTTTTCGGCAGACGTTTTCGTTGCTTTTCGAAGGAGACTCTCATGGCGCGTCTGACGATTGCAAGTTGCG
GTTTCGCGCTTTCGCCGTCTCCTGCGCGCAATCGCGCTCCCGCGCGCCGCGCTGACACCGCGCGCCGCGCTGCGGCGGCGGCGGCGG
CGCGCGCGAAGCCGCCACGCTGCGCCCGATGCCCGCGTGGTTCGCGATGAACCTGATGTGCGGTGGCGAAAGCTTCGCCGTGCGCTT
CCTCGAAACAAGCGCCACCGTCTGCAACGCCGACGGCAGCAACAGCAATCTACCGTCTCTTGCGCCCGACGCCAATGCTGCGCCCGG
GTTTCAACCTACACTAACGGCACAATGACGTTTCGCCAAGCAGGTGGCGCGGCCACCCCGCGGTCTCCGCTTCGCCCGCGGCGGCG
TGGTTCGAGGTTTCGCGCATCGCGCAGAATGATTCCTGATCTGTCGCAATCGCGGTGTCATTCGCGGCGAAGCGCGCGCGCG
CAGACCCGGAACCCAGGGCGCGTAAGCACAATGTTTCGGAATGTCGTTCCAGCAGCGATTTCCGCCCTGGGTTCGGGATAACGCCCT
TCGCGGTTTCGGAATGACACCGCGCAGGAATCTGCGAATTCGCGTCCGGCCTCAGCGCTCTAGAAACGCTCCATGAAACTTGCCCTCT
CTAAAGCCGGTTCGCGATGGACGACTGGTGGTCTCTCCACGACCTCACCAAGATGGCCGACGCCAGCCACATCGCGCCGACGCTCC
AGTCTGCGCTCGATAGCTGGAACCGCGCGCCACGCTCTCCAGTCTCTCGCTGGCGAATCGAATCGGCTCTATTCACCGCAAGC
CTTCCACGAACACGACTGCGCGTCCCGCTGCGCGCGCGCTATCAGTGGGCGCAGCGCTCGGCTTACGTGAACACGCTCCAGCTCGTG
CGCCAGGCGCGCAAGGCGGAAATGCCGGAGACGTTCTGGACCGACCGCTGATGTACCAGGGCGGTTCGGAATCGTTCTCGGTCCGC
GCGATCCATCCCGCTGGCCGATCCCGAATGGGGATGCGACATGGAAGGCGAGATCGCGCTCATCCGCGCAGCTTTCGCGCGCGGCG
CACCCAGGAGGAGGCGCAACACGCCATCCGCTCTGCTGCGCGCAACGACGCTCTCGCTCCGCAATCTTCCCAACGAACTCCGCG
AAGGGCTTCGCGTCTTCTCCAGTCGAAGCCATCCAGCGCTTCTCGCCCGTCCGCGTACGCCCGACGAATGGACGGCATGTGGGACG
GGCGTCTCTCCATGGCGCGCTGCAGGTCCGTCTCAACGGCGAAACCTTCGGCTGCGCGCAGACCGCCGTGCATGACGTTTCGATTT
CCCGACGCTGATTGCCACGCGCGGAAGACACGCGCGTGTCTGCGCGGCTCGATCATCGGCTCCGGTACGGTCTCAACCCGCGGCGCG
GCCGCGCGAAGACCGGATTCCTCAAGCGCGCGACCGCGTTCGAGATAGAATGCCGACAGCAAGGGCGGTTCGATCTTCGGGCGAAT
CGACCAGACGGTGAATCTGAGCAGCAAGCAGATCCGTGCACGCGTGACCGAGTGCATCTGCCAACCAGCGCAGCGGTTGAACGCGG
CCTTTGCGCGCATCGACTTCCACGACTCGTATCGGGCGCGCTGGCCCCACCTGATCTTGGCCCGCTCACATCTTCCATGGCATATT
CAGCCACACTCCGGTCTGGATGAGAGCGCGCTGATCTCCGCAACAGATTCGCTAGGCTGTGCTGGCTCGAATGCGCGGTACGTTT
GAAATCGCTGGTTCTCGCCCTCGCGAGCGCTATCAGGTCCGCGCAAGATAGGGCCATGGCCGATCTTCTCCCTCTCGGGCAGCGAAC
TGGTAGCCGCGCGAATAATCTGCACATGGATTTCCGCGTCTCGATCATGAAGGTGCGCGATGGCGGCGGGGCGCGCGTCTGCTCTC
CACCATCTGCAAGGTTCAACAACACTTTCGGGCGGGTCTACCTGTCTTGGCTGATTCGTTTCAAGTTTCGGCGTACGCAAGTTGATG
GCGCGCGCTCTCTCGCACAGCGCTCTAGGTTCCAAGGAGCCACGATGACGACTAAGGTCTATCTGATGCTCAAGCAGCTCTTGCG
AGCGACGCTCTTCGAGCGCATGACTATCGCGCGCGCTTCGCGCTTTCGCGGTATCCCGGAATCTGATCGCGGAGATCAAGCG
GCGGGCGTCAAGGGCTCACCGTCTCTGAACAACGCCGCGTTCGATGGCTTCGCGCTCGCGCTCTTCTCAACACCAAGCAGGTAA
AGAAGATGATCTCGTCTACGTGCGCGAGAACAAGGAATTCGAGCGCCAGTATCTCTCCGGCGAATCGAATTTGAATTCACCCGCA
GGGACGCTGGCCGAACGCTGCCGCGGGGTGGCGCAGGACTTCCGGCTTCTACACAAAGACCGGCTCGGCGAGTCTGCGCGGCA
GGCAAGGAGCGCACTTCAACGCGGAGACTTCACTCTCGAACAACCGCACTGCGTTCGAGTCTTTCGATCTGGAAGCGTGGAAAG
GCGACGCCCAAGGTAACCTCATCTTCGCAAGACGGCCCGCAACTTCAACCCGACATGGCGACGGCCGGCAAGTTCTGTGTGCGCGA
AGTGGAAAGAAATCGTCCCGCTCGGCTCTATCGACCCCGACACATACATCTCGCCGCGATTTTCGTGAACCGCGTATCCCGGGCAGG
TTCGGAAGCGCATCGAACAGCGCACCGTCCGCAAGAGGCTTGAGAAGCAGGCGAGTGAACCCGGGCTCGCGGAGCCCGCACAGTT
CCACACCGCGCGCAACTCGGTGAGGAGATCGACGCGGACTTCAAGCAGCTGCTCAACACAGAAATGGGAGTCGCTGCAATGAATCCGCA
GCAATCTGATCGCCACGACCGCCATCATCTCGCGTCTGCCGACCGGCGAGCGCTCAAGTGAACGATCCGGACCATGCCAAGC
GCGCATCCATCGCCACCGATCACATGTATCCACGCTGCGGCGGCAAGAACACTGCGCCCGCTCAACTGGACAGCGCGCCCAAGGG
CACGAAGTCTTTCGCGCTTACCTTCGTGACACCGAGCGTCTGCGCGTTCGCGTGGTTCGCACTGGATTGTTGTCAACATCCCGCGGAC
GCGACCTCGTTGCGGAAGGGCGGTGCGCTTCTGCGCGCGCGCAAGGCCCTCAAGAGCAATTTCCGGGATGAAGTTTACGCCGCGCCGT
GCCCGCCCGCGCGCACCGGCATCCATAAGTACGAATTCACGCTCTACGCACTGCCACGCGCGCGCCGCCATCTGTCAGCGAGTCGAG
CGCAAGAAATCTTGTGAAAGCCTCGGAAACTTGCCCTCGCCAAGGCGACCTCAAGGGTGTGCGCCGCGCGCGCGGCGACCGCAACTGA
AAGGACCGAACCATGCTTGGGATCGCGATCAATGGCGGCGCGCGCCGCAAGAGCTGGAGGATGGCTTCTACGTCAACCTCGGTA
TCGCGATTCCGACGCTGGTTCGCGAACCACATCCCGCGCGCGCTGATGTACGCTGCACTGCGAAGACCGCATGCTCGGCATGGGCGC
GTTCCCGTTTCGAGGGCGAGGAAGACCCGACCTCATCAACGCCGCGCAACAGACGATCACCGAGCTTGTGCGGTGTTATTTCTCC
TCTCTCCAGTCTTTCGGCATGATCCGCGCGCGCCACATCGATCTGCGCATCTCGCGCGGATGGAGGTCTCCGAAAAAGGCGACCTCG
CCAACTGGATGATCCCGGGCAAGCTGGTGAAGGGCATGGGCGCGCGCATGGATCTGTCGCGCGGCTCAAGCGCGTCTGCTCATCAT
GGACACCGCGCAGAACCGCGGTGAAACCAAGCTGCTGACGAGCTGCTTCTCCCGCGCCACGCGCAGAGCGCGCCCTCCGTACCGCATATC
ACCAATCTCGCGCTTTCGATGTCTGTCAGGGCGGCGTGAAGTGGTGGAGACCGCCCCGCGGTGACGCGCGAGGAGATCGCGGCAA
ACACGACGGCGAAACTGGTCAACTGACGCGCGCTTTCGCTCCCGCACTTTCGCTGCAAGTGAGGGAGGTAAAGAGCGCGCGCGCTC
TCCACGTCCCGGTCGCTGCTCTAAACAACCTCTGCCCAACGAGCGCACCGCTCAAGCGATTCTTAGGGGATTAGCCGTG
ATCCGTTTCGCCCTCGCAACATCGCCGTTGCCAGCGCGCTGTTTCTCTCCCGCGCCACGCGCAGAGCGCGCCCTCCGTACCGCGG
AATGGATCGGCAAAATACATCTGCACGCGAGGGCTCACATCGTCAATCTCACCGTCAAGAGGGCGACGGCGCGCCATCAAGGCGAC
CTTCAGTTTCGCGCCGCTGCTGAAAATCCCGAAGTTCCGAAAGGCGCTTACCAGATGCGCTGCACATACGATCCCGCGACGCGCAGC
GTGAAGCTCGACGGCGTCAAATGGATCGACGCGCGCTTGGTACGTCATGGTTCGCTCGACGGCCATGACGCGCTCAGGCCAGG
AGATCGCGGTCATGTGCGGATCTTCCGCGCTGCACGCGCTCGAAGTATGGCGCGCGGTGAGCTGATCGGCTGAAACCGTCAGGCG
CGCGCGCGCGGATCAGCGACAGCAGCGCCAGCACGACCGCGCGCGATGGTTCGCTAGAGGATGCTGGTATCAGCGGATTACCG

[illegible]

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orientierung
901	Potentielles Typ I Restriktions-modifikationssystem, Restriktionsuntereinheit R und verwandte Helikasen (EC 3.1.21.3)	1	3022	-
902	Konserviertes hypothetisches Protein	3019	3543	-
903	Konserviertes hypothetisches Protein	3540	4691	-
904	Konserviertes Protein	4846	6279	-
905	Konserviertes hypothetisches Protein	6272	7972	-
906	Potentielles Typ I Restriktions-modifikationssystem, Spezifitätsuntereinheit	7969	9243	-
907	Konserviertes Protein	9240	10412	-
908	Potentielle Serin-Protease DO-like	10565	11782	+
909	Hypothetisches Protein	11733	13895	-
910	Hypothetisches Protein	13894	14868	+
911	Konserviertes Protein (Hypothetische Peptidase)	14871	16136	+
912	Hypothetisches Lantibiotin modifizierendes Enzym	16133	17365	+
913	Hypothetisches Protein	17362	20235	+
914	Hypothetisches Protein	20307	20999	+
915	Hypothetisches Prolipoprotein-Diacylglyceryl-Transferase (LGT)	21092	21691	+
916	Hypothetisches Protein	21835	22719	+
917	Konserviertes Protein (Vorausgesagte Glyceryl-Transferase)	22689	23741	+
918	Konserviertes Protein (hypothetisches “death-on-curing” Protein)	23725	24126	-
919	Hypothetisches Protein	24439	25821	-
920	Hypothetical Membrane Spanning Protein	25919	26797	-
921	Hypothetisches Protein	26880	27230	-
922	Hypothetisches Protein	27249	28307	-
923	Hypothetisches Protein	28304	29365	-
924	Hypothetisches Protein	29335	30225	-
925	3-Isopropylmalat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.85)	30345	31445	+
926	Aldehyd-Dehydrogenase (thermostabil) (EC 1.2.1.3)	31574	33295	+

7.9.2 Die Sequenz des Cosmides slc_1u

TCGCTCTCGCTGGCGCGCAGTCTCCGATACGCTTCGCCGGCCATCCAGGAGGTCACTACCTTCTGGAACGGCGCGTCGTTTCATGAACCG
 AACGAGAGATCTCTCGTTCTGATCCATGCGCTCCAGCAACAGGCTTTTCGAGCAGGTTCTTGAAGACAGCTGCAACTTGTCTGTCGGA
 TTGACCGCGCGCGCTCGTGGAGGCCCGCTCGGCCATGCTGCCCTCCACGATCTGATCGAAGAAGAACTGGTCCGCTGGTTGAAGT
 CCGTCTCCGAAGCGCTCGTTGACGATGTCGATGAGCTGCGACAGCGGACCGGCGCTCCCGCACGAGCGCGCTCCCACTCGGTTGG
 GCCATCGAGCTTCTGAGCATCGCCCTCGTGCAGCGAGATCGAACCCTCGTGATCTTCTGAAGACGGTAGTACTCGAGCCGGATCTCG
 TCGTGCAACTGAGTACGCGGGTTCGCCCTTCGCGCGGGGAAGCTTCGCGCTGAGGTCTGCGAGGAAGACATAGAGCCGCTCGAGGCTCG
 AGTCTCTGGTAGGATGACCTGGCTCAGGAAGCCGCTAGAGATTGAGGAAGGCTGAGCCTTCCCGCGCCAGAGCTCGGTCTCTTCTCT
 GTTCTCTGCTGCGCGGCGAGTGAAGCGGGAACAGCGCGGCTGAGCGCGCGCTTCAACGCTTGGTATCGCTCGGGCTCTGTTTCGCC
 TTGGGCTTGAAGTAGACGGCGCAGAAGCGCTCGAGTTCCTCGGCCACGTAGACGCGCTCGCATCGAGCTCGCCGCGGATCTGGTACA
 TCCGTGCGGGATCCACTGCTCGCCCATCTCGGCGCTTCGAAGTAGCTTGAACGCTCGCGGATCTCGTCCCGTCTGTGACGAA
 ATCGAGGACGAAGGTGTCTCTTCTGAGCGGTGGATCCGTTTCAGGCGAGAGCGCTGACAGCGCTGGATCCCTGCCACCGCGGA
 TCGAGCTACATCGTGTGAGGAGTGGCTGGTTCGAACCGGTTCTGGTACTTTCGCGCACGACGAGCACTGGTATTCTCGGACGAGA
 ACTTCTCCGCGAGCTCTCTCTCCGGACTCCCGGTTTCATCCCTCTCGGTGTAGGTACGCGCTCGACCTTGTCTCTGAAACGTT
 TCCGGAAGAAGCCACGAGCGTTTCGATCGGTTACCCCTCTCTGATGTAGCGGTGCAAGCTCTGCTTGTAGCGACCCGCTCGAGC
 CGTGAGCTCTGACCACTCGCTTCGCGCGCCCGCGATCTTGTCGCGGTGAAGGCTTGAAGTGTCTCCACTCACCTCGGTCT
 TCGGCGCATGTTGTGCGGTGAGCTTGAAGAACCGGCGAGCGCGCGCTCTTTCGCTCGACGTTGGGATCGTCTCGCATCGCA
 AGCCTTAAGGAGGCGGTAGTAAGTGGCGTAACCTGTGTAATGGGCGAGAACATCGAGGATGAACTCTTCTCGATCGCCTGGCGCATG
 GTGTAGCGATGAGTCGGCTCGCCGTTTCGCGCCGAAGACAGCGAGGTCTTGTGCTTCGCGCTAGCCGTGAAGGCGAAAAAGCTCAGT
 TCGCTTGCGCCCGCTTGGCCATCGCTCCGGAACATCTCGTCGAGGTCTGTCGAGGCCCTCTCGGTGGCGCGCTTCTTGCCCTCTC
 CGAAGGCGCTTGGCGCGGAGCAGCAGCTTTCAGTTCAGTGGCGCTCGCCCGCTGGGAGCTGTGCGCTTCGTGACGATCAGCGG
 AAACCTCCGCGCGGGAGGTGCGGCACCCCTCTGCTCTCTCGCTCTTGGGCCATCTCGAGGAGGTGATCGGAGACGAAAGGGAACCTT
 GCAAGTGGTGATAATGATCGGGACGCCGCTGTGAGCGCGCGCCGAAGCTGCTTCGAGTGTCTGTCGATCTTCTCGACCAGCCCGC
 CTGTGTCTCGAACTGGTAATCGTGTCTTCGGAGCTGCTGATCGAGCAGCAGCGCGTTCGTCACGACACGCGCTGTCGAAGACTCTC
 CGTTTCGATCGCTGTGAAGTGAACGCGAGGCGGTGCGCAGCAACCGATGGTGTGCTCTTCCGCTGCCGCGGATGCTCTCACAA
 GGTAGTTGTGGCCTGGCCCCCTCGCTGCGCGCGCGCGCGGTGAGCTTCCGACCCGCTCGAGCTGGTGGTAGCGCGGAAGATCATCGA
 CTCGTTTCGAGACTTTCGCGCCCTGGTGTGTCGCCGCTCTCGTGCACCTGGAGATGGATGAAGCGGCGGAGGATCGAGAAGCTGTGT
 CGCTCGAGGATCTCTTCCACAGGTAGGCGCTTCGGTAGGTTCGCGCCGATGGGTGCGGTGGGTGCGGCCCCACCGTTCGACAGCGC
 GGTGAACCGCGAGGAAGTGGTGTGCTGGCTGCTTCAAGTCGGTGGTTCATCAGCAGCACTCGGTGTCGACCGCGAAGTGCAGCGCT
 GCGGCGCTTGAACCTCGAAGATCGGCTCGTGGGCGTCCCGGTGCTCTTGTACTGCGCTCGGGCGTTCTCGACGGTCTGTCCGGTGA
 GGATCTTGAGCTGACGCGTGGCGAACGGGATGCCGTTGAGCTCAAGGTGACGTGAGGGAATTCTCGAGCGCGCGGAGGTACCGGA
 TCGCGCGCTGAGGCGCGAGCCGGTTTCGCGCGTAGCGCGCTCGAGCTCGGGTTTGTAGCTCGTGCGCCCTCGGAAGCTGGAGCGACTG
 AAGCTTCGCGCGTAGACCTTGAAGCGTGGCGAGGTTGCCAGCGCGCTTCGCTCGATCCACTGCAAGGTGCGCGGAACCT
 TGATCCCGGTCTGCTCGCGGTGACGAGCTTCGAGTCGCGGCCACTCTTGGGCTGGGTGCTTGGATGAACGCCAAGACCTCGCCCG
 GGAAGATCGCGCGCGCTTGTGGAACGCTTCCGGCTTGACGGAGAGCTACCCATGCCCGAGAGGTGCGCTTCGATGACCGTTCGAA
 GGTGCTCTCGAGTGCTTCTGCTTCAAGGTGACCCACGAGATCGAGCTGGACCTTCAGTCCCTTAGCATGAAGAATGTGCTCT
 TGGGAGACACTGTAAGTCTGTTCAGACGTGCGGCGAGCAGACCGGTTTCGCAATTCCGACGCGGCTGCTGTTGGTACGACACC
 CGTGGCGTGGACATCGAGTAGCGACGACGACGCCATCCGCTCGGTTCGCGAATTTCGCTTGGCGCGGTGCAAACTATGGGGGTT
 CGCTGAACCCAGAGCATCACTTCGGCATACGCCAGCTCACATCTTCGCGGTTTGAATCGAGGAAGAAAGCCGCTGGGACGTGTTCT
 TTACCACTGACGAGGTTCTTCTCTTCTCCCGGTAAGCAGCTGTTTCGATGCGATCGAGGCTGCGAGCTTGCCCAAGTGGTG
 CGCTCGGAGAAGCGCTTTCAGAAACCCGACAGATCTCAAGGCTAGTAGGCATTTTCGCGGATGAAGACGTCGGAATCCAG
 AGGAACAAGGAGCCTTGTCTATGGCAGGTGACACCCAGCGCGCGCGTACTCTTGAACCGCGCGCGCGAGGCTGTTAGGTC
 GTAGGCTCTCTGAAGCTCAGCGCGCTTCAGGGCAGCGTAGATGACGCTGTCGCGAATTTCGCGCCAGCGCGCTATTCTGGTTG
 TTGTAGAAATCGCGCGCAGAGCGCGCTTTCGCTGACAGGCTCTCTCGCGGTGTAGGTCTGCTGAAGACTCGAAGACGCTTTCGCG
 CGACGACCCAGATCACTGCTGCTGCGCGCGGCCACGATGGGGTGACCTTGAAGTGCCTGGCAATTGCTCGAAGGCTCCGACG
 GCCCTTCACTGCGCGTCAGAGCTCTTGTAGCTCGCTCGCGCGCACGAGAACTCGCGCGCTGATCGCAAAACGCTTCGACCCTG
 GTGTTGCGGGAAAGATGCCGTGCAATCCGAGAGGCCCTCGCTTCGAGCGGAGCCATAGTGGCGAGTCTGTCGAGCCAATGTGA
 ACATCTGAGCGGATTTTCGCTGTCGCAACATTGACGAAGACGACCGGGCGTAGCGGTTCGCTGAGCGGAAGCCGCGAACTCGTCCAC
 GTCGAGCTTCGATGGGTGTTGTTCCGACGAGCCGCTTGATGATGCCAATACGCGAGTTCGTCGATGCGACGCGCGAGTCTGTT
 ACCGCTCTCTGCAAGTTCGAGACGCGGAGGCCACCCGTCGACGAGCGAGCATTCTGTCGGATCTCCGCGCCGAGCGCGCGGTT
 CGTCGCTGAGCGGTGCGCTGCCACGAACTCCAGAGGCCCGGCTCGCTTTCGAGGCGCTCTCCGCGAGCCAGTCTGGCGCGGTTG
 CATGGCTAGATGGTGTTCGAGGAGATCGGCGCTCGGCGCTCGGGACCGCGACGCGCTCTGAGTTCGCGAATCGGCAGTCTGCTCG
 ACGGTGGCTTCGGGAAGGACGGAATCCGAGCGGCTGCGCTCGCTTTCGGAAGGCTTCCAGTGTCTCAGAGTCGGCGAGCT
 CCGTGGCTCCACGCGTTCGAGCTTCGGAAGCGCGCGACAGGTGAGCAGCTGACGCGCGACGCTCGACCGCCACCGCAGCAG
 CTCGCGCTTACCTCGACGCGCAACATGGAGATGCCCCGCCCCCTCTCGGATGGACCGAAGGAAGTCTAGTCTGCTTTCGCGCGC
 TCCAACTCGCGGTTACCGGCAAGCGAGTTTCATCGCTTCGCGCTCGGCGCCCGCCACCGGACGAGATCTAATCATAGGAACGTTG
 AGTAGCTCAGGACCCCTTGGGATGAGCTTGCAGGATCTCGACAGATGAGTACGCACTTCGAGGCGCGTTCGAGCGCATGAGCT
 CTTGACGAGGAGGTGGTGGCGCTCCAGAGAAGCACTGTGTGATCGAACTCGAGGCGCTTACGAGCAACGCTGTGCCGATAGTGC
 CAATTGGAGGTTTCGGCCACGATGGCGCGCGCTGTTGCGCTGCGACCCACAGTTCTGCGAGCTCGGAGAAATGTGTGCGCGCTACAG
 TGACGAGCGCGCTTCGGAAGCTGGAATGCGCATTCGGTTCGATAGAGCCACCGATCACTTCGCGCGGCGAGGATCGGTTTCGAGCCAG
 CAGCGCGCTTCGCGCGGTTGAAGCTTCGCGAGCGCTTGAGCTGGTCGCGCTGCTCAGGTTCTTGGTGTGATTCGCGAGTCCGCG
 GCGAGCGGTGATGGCTTCGACGAGCTCTCAGCGCGGACCTATGCGCGTATCGCTCGGATACGAACTCCACAGACTGGGCGAGC
 ACTGTGCGGCCATCAGCGCGCAAGCCTCGCGCCAGATTACGAGATCCGGGTTCATCGAACTCTCGACGACAGGCCAGCGCCAC
 CCATGCGCTTCGCCAACTCTGTGCACTATGGCGCACTGAGGATTGCGACGACGCTCTCTTCGCGGAGGCACTACCTTCGCGGA
 TTGGAAGCCCAAGCTGTGGCCTTCAATGTCGTTAGGTGCTGTACCATGTGACCGGTGCATCGGCGATCGCGAGGCTTCCA
 GTTGCCTTGAAGTGTGAGTCGAGCGCGAGCGCACTTCTCAAGCGCTCAATGATCCCTCAGCAGCGCAGCGCAAGCTCGGTAA
 GTACGTCGTGATCACTTCGAAATCAGCAGTGTGTTGCCCATGGCAGGCTGGATCGTCGCGAAGGCCGAAACGGTCTGGAGTGG
 ATCTCCAACGCTTCGCGACGCGGACGATCCGCGAGCGCTCGTATGAGTGGCTGTGGTTTCAGGGAACAGCTCTGATCTCGTCGACA
 AGCAGCGCTCATAGCTCTCGCGCACGACGCGCTTCAAGAGGGCGTACGCGAGCTTCTCGGCTCCAGGTTACCGCGCACCCCAAT
 CCGGATTCGCGCTCGCGCGCCGTTGCGAAGCGGAGATTGAGGGTATGACGCGCCATATCGAAGGCAACACCCCGCGATGGTGGCGAG

GTGGAACCTGTGCTAGACACGCCCTTGTCAACGAGGCGCTTCTTATGGCCGCCACACCGGCGTGCCTGTGGGTCAAGACGAGCTGA
CGACCCAAGCGCTGATCGGCTACGAGTTGTCCAAGCAGCTCCGCTTCCCGCAGCCAGCGGCGGCGACGGCGAAGGCTCGTGGCGAGC
CGAGCATCGGCTGACCCGCGCTTAGCCATGCGCGAAACTTTCGAGGCTCCGATCACGCTGAGTGCAGGCTCGGCTGAGAAATGGAGC
TCCAGTGATCCGCGACAAGGGAGCCAGGAGCTCACCCTGCTCACGGGTCTTGAACCATGAGTGGTTCTCTGCTTTCGCGAGGTCACC
GAATGCTTTGCGGAACGACGACAACGCCATTTGCCGTGAGCCACGACGCCGATCTCCCTCTATCAACGCTGACCGGGCCGCTCCGAGC
TGGTCGCGGAGCGCTTCGCGAACGCCCTCGTCCGCGCGTTCATCAGCCCGAGCGGCCATCTGGGTAAATGGCGGCTTCGGGCAGATCAT
TCGTAAGGCACTGCTCGGTGCACAGCCCTTGGGGCCATGCGAGGACCGTGCACCCACAGCCTTCTCAGCTTCGCTTTCGCATCGGC
GTCGATCAGCAGAGCCACCTCGTAGCCGAGTGTGCGGAGGTGCCCGGAGATTTCCGGCGGCTGTGTGCCACCCCTGCCGTCGACCACA
ACACCCCTCGGTATCCGAAGCTCCCCCGGTTTCGGCTGTCCAGGCTTCATCGAGCGCTGGCAGAGGCCCATCTCGGTGCTCCCT
CAGCGACAATAACCTTCGCGGCTAGGAGCGCTTGGGGCTCCTCTTGAAGATGTACTCGACGGCCCTGGAAGGCTGCGAACCGTCA
AGTCTCGAGCGCTCGCTCGCTCACGCAACCTCAGCGGAGCTCCAATTCCTGAAGGACCGCCGCGAGTGAAGTGGTGGTCTTGAAGC
TGCCCATTCGCGAGTCCGTCGCCCTCGGGACGGCGCCCGCAAGGACGCGCAAGAGGCGCCGAATGCGATGCGGTTTCGAGTCCCTGCT
CGAATTCATCAATGATGTTGAGCCCGGATTCGCTGCGGCTCACGCTGATGGCGATTGCAAGGAGGCTGCGCTGCCGAGGCGCCG
ACGCGAGTTCGGGACCTTCCCATCATGACGAGGAGCGCTCCGGTCAGTCAACGAGAGCGCTGCGTTCGAGGTGAGGCACGAGCGC
TTCGTCGAGCGCTCGCTCGCTCACGCAACCTCAGCGGAGCTTGGCTTTCGCGGCGCCCGCGAGTTTCGAGGCTTCGAGCTTTCGAGC
CCGATCGCGCTTGGCTGTGCGCTCGGCGAGAACC GCCCTACAGAATCACCCTGTGCTGAGGCGCGTAAGTACGGAGCCCGGCT
CCATCCGAGGTGTGGTCTACGTAACCCCGCACGCGAGCATTCGAGAGCTTCGCGGTGCGCTGCCATGAAGGGGCTCCTCCCGCCC
TCGGAGTCGAGGACGCTCCACACGGGCTCGAGACTCGCTGACGCGAGAGCTCGACGACGAGCGGCTTCTCTCTTGTCTCTCACCGG
ATGCTCGAGCAGCTTCGCCCTTGTCTGGAAGCGTTCGAGGCTTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGT
GGTGATGGTTGCACGGATGACAATTCGCTCGCCGGTGTGAAGTCCCAGAAGTCGGTGTGCTGGAAGGGGACATTCACCTTCGGCGAG
AGCAGCGCTCGATGGCGTCAAGGATCGTCGACTTCCCGGAGTCCCTGGACCAACGAGCGCGGGGCTTCGCGGATGTGCCGCCAGT
CCAGGGACTTCTACTCTCTGAAGTTCCTGATCTCGAGCCGAGCGAGCTTCACGCACCCAACTCCTTCAGCGCGCTACGAGCTGAATC
ACGGTGTTCGGGCGGCGCAACAATCTCTCTGAGCTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGTTCGAGT
GGCGCTCCTTGAGCAACGCGACGGTTCGCTCGGTGCGGCGCGCACGGCTCGAGCTTCGCGGTTCGCGCGCAATGTGCTCGACAAT
CCTCTTCGCTCAGCAACTTGTGAAGGAACACGGGAGCTTCAAGAGCTCTCGGGCTCGATTGCCACTGATTGATGCGAATGCCA
TTGGAGCTAGACATGTACACGGTCGTAAGTTGGGGTGTCTGAGCATGAAGTGCAAAAACCTTGGGGAGCTCTGCATGGGTGCGGCGAA
ACACGAGCTAGTCGGGACTCGTGATGCCACGAAGTCCGAGGATCCCGAGCGATCCCTGCCAAGCTTCATCTTGTGACGACAAGAT
GCCAGCTCGACGAGTTGGTACTTAGTAAGGTTGTCAGGCGACAGCTTCGCATTGTCTATCGCGCGAAGACCGTTTCGATTACGCCGTAC
TCGCGATAGACGGAAGTACCGTCAAGTCTGGAATCCGAGAATCTTCGACTGACGAAAGAGCCTGCCAACGCGACTTTGGCGCCAAT
GCGCTGGCGCTCCCGAATCCACTCCACGCCGCTGGGGGCCATTCGTGTCTCGGGGTTCGAGTCCGCACGTGACGGCGGTGGCGATCAT
CGTCTCGGCTTTCTGAGAGCAGGTTCGAGAAGCCGCTGCTTTGCTATGACGAGCGCATCGAGCGCGCTGTCTCGCGGTGAGGTAG
CCGGCGATAGCAGTTGCTCGTGGACTGGCGGACAGGGATCTCCAGGTTTCGCGATGACATCGACTGCGATTCCGGGTTCGGGCGAGT
ACTGGGAGTGTGTTGAGGTTTATCGCTCGAAGGAGCTCACCAAGCCAGGTAAATGTCCACCTCGCTCTTGGCCTCGACCACTACGGC
GTGTTCCGAGGCGCCAGAACATCCCGAGGCGTAGTTGATGTTTCCCGCACAGGGCGCTTGGCGGCGGACGAGCGGTAGTTCCCGCAA
TGGGTGAAGCCGATGTGTAGCCGCGACTCCGTTCTCTTCAAACACGGGACTACTCCCATCTTCAGCAATTGAGTGAAGTGAAGTGA
AGTCTCCGCTCCTCAGCGACGCCACATACTTGAAGCGCTTCTTGCCCGAGTGTGCGGGATCTGGTCCAGCCAGGTGGACGGCTCCCT
CAGGAGACAACCTCGCGAAGTAGCCGATGACTACTTCTCCGCTTCTTCAGCTCCTCGTCGATCGCCTCGAGCGGGCGCGGCGCGC
TAAACCTCTAGAAATGACGGTTGAAGCTGATCTCATAGCCGACCTTGTCTCTCGTCCGCTCCATCCAGGCTCGGGAACGTGGGGTTCG
CAGTTCAGTCTTCGACAACCGCTCGACATCTCTTCCAGCGGACTGTTCTCGAAGTTCGCGAAGGTTCGGTTCGGTTCGAGTTCGCGCA
CCCGCCTTGGAACTGGGTGCGCATCCGCGCACACCTCGGTGAAGGTGCTTCTGAACGCTTCATAGCCGCTGCTTCCAGCGGGTCT
TCCGCTTGTGAAGGATCTCGTCGACTCGCTGCGAAGCGGCTTCAGTTCGAAGTGTGGCTCGCGGCGCAAGGCTCGTCTGATGGCTTC
GAGATCTGTAAGCAGAGCAGGGTACTGGGCCACGAATAGAGCGGTGCGTTCCTCGGTGATCGTCGCCCTCGGGCGGCGACGAGCCGTG
GCGAGGAGACGTCGAACGTGACCTCGACGACCGGCTCGGCGGTGAAGTTCGACCGCTCGCGCCCGGCTTCACTCCCAACGTTGGAAG
CGCGCGCGCGCGCGACCCGGAAGCCTGCGCGGTAGCCGCGAGGCTGTACGACCCGTCAGCGAGTCCCGACGCGCTGTACCGCCGCTC
GGCGTCCGTACCGCGTCCACTTGGCTCATCTGCTGCCGCTGGAGGCTCGTGACGAGCTTTCGCACCTCCTCTCGATGTGCGGCGGC
GGCGGCGCGCCCTCGGCCCGCTCGCGCCAGCTGGACGCTGCGCGGTAGATCGCCCGACGGTACGCGCGGACGCGGCGTCCCGTCCG
GGCGGCTCAGCGCGCGGAGATCGCGCGGTGCGCGCTCCACTGCGCGAGGACAGGTTCGCGGAGCGCTTCGCGAGCGGCTATC
GCCCTGCGCTCGCATTCGCGCGAGGCTCGTGCAGCGGCGCGGGAACGTCGCCGCGCGGCGCGGCGCGGCGCTTCTCGAC
GCGCGAGCAGGTACCCGACCGCGAGCCACGCGCGAGCAGGAGGCGATCCCGCGCGCATGCCTTCGAGTGTAGCGCCTC
CGCGGGCCCCCGCGCCCCCTTTCATGCAACAATGCGCTCGATGCCAGAAGACGCTTGTCTCTCTGCTCTCTCGCGGCGC
CGCGCGTGCGCGGACGATACCGGACGCGCGGAGTTCGCGCGCTCGTCCGCCACGCGACGGAAGGTCCTTTCGCGCGCTCGT
CTACGTGAAGTTCGCGGAGTCCACGAGGAGGGGAAGAAGAGGCGCAGGAGGTCTCCGCGAGCGGCTCTCATCTCGCGCGAG
GGCGAGCTCGTGACCAACTGGCACGTCTGTCGACAAGGCGGTGAGGTCCGCTGCTTCTCCAGGACGGGACGCGTATCCCGCGGAGG
TGCTGGGTTCGGACAAGGACACCGACCTCGCGCTGATCGGCTGAAGCGTTCGCGCGGCGCGCGCGCGCTCCCGTACGCGGACTTCG
CGACTTCGCGGCGCTCCGCGAGGCGACTTCTCATGCGGATGGGGCGCGGCTGGGGATGGCCCGCTCGGTACAGTACGGGATCATC
GCGGCCACGAAGCGCTACTGCGCGAGTACAGGAGTACAGCTTTCGCTTCCAGACGAGCGCTCGGCGGCGCGCGCGCTCCCGTACGCGGACTTCG
GCCGCTCGTGGACACGAGCGGCGGGTATCGGGATCAACACGCGGGCGTGTGTACGGCGGCGACATCGGCTTCTCGATCCCCG
GGAGACGATCCGGATACCGTTCGATCTATCCGAAGCAGGAGCGTGAAGTGGAGTGGACGCGGATCGAGTCCAGCGCTGCGC
GACTTCGACCGGAACATCTACTTCGACGCGACCGAGGGGTGATCGTCTCGGCGAGGCGGAAAGCCCCGCGCGCGCGCGGCG
TCGAGCCGCGCGACCGGATCAGGAGTACGCGCACACGAGCGCTACCCGCGACACCCAGCAGACTTCCGCGCGCTGCGGCGCGGCT
CGGGATGCTCGAGGTGGGAAGCCGTTGAAGCTCGGCTCGTGCAGCGCGAGAAGACGCTCGAGGTTCGAGTTCAGCGCGCTCGAGAAG
GGCAAGGTTCGAGGCGACGAGCTCGACTGCCGCGCTGGGACTTCACGGCGAAGACGATCAACCGCTTCGACAACCCGAGCTTCTCT
TCCACCGGGCGAGGGGCTGTTCTGTTTCGGCGTCCGCGAGCCCGGGAACGCGGGGACGAGGTCTTCGGAAGAAGACATCGTGCT
CAAGGTGAGCAGCAGCGGAGCTGAAGACGCTCGCGGAGCTGAAAAAACTCCACGACGAGGCGATCCGGGGCTTCGCGACGAGCAGCG
GTCGTCCTGACCGTGTCCGGAACGGGCTCATGCGCGCGCTGCTGCTGATTTCTACGGGACACGAGAAGGAGTAGGAACATGCGC
CGGATCCTGATCTCGCATCTGTCGCTGCGCGCGCGCGCACGCGCGGAGGATCGACGGCGCGGACATGGCGAAGATCGCGGACG
GATCGAGCCCTCTCTCGTCTGTCGAGTACTGGCTCCGCTTCGACGCGGCGAGGCGCGCGCGCGCTCTCTCGCGGGGGACGA
CGAGCAGCTCGTCCGGAACGAGCGGCTCTCGTGCAGCGGCGCGCTCGTGTGCGGCGCGGCGCGCGCGCTCCCGTACGCGGACTGATC
CACCCCGGTTCTGTTGACCGCGTGAAGTCCGTGCGGCGACCGGACCGTGCACGCGCGCCCTCTCTGATATCTCCAGCGCGGGAACG
GCCTCTGCTCAAGCTCGAGGGCCCTTGGAGGGCGCGCGCGCGCTCGTGTTCGACGCGAAAGCGAGCCGCGCTTCGCGCGCGGAT
GCACCTCCGCGACGAGGCGTGGGCGATCTCCGTTCGGCGGTTCTCGACCGTCTGTCGCGCGGAGGACCGGAGGGCTTCGCGCTCGCG
GACACGCCCTTCGACATGGCGTGCAGACCGCGCGCACGCTCACGGGATCCAGTTCTTCGACGAGCTTCGCTCGACGACTCTGGGA
AGGGCTCGCGGTCGACCTCCCGCGGTGCCCGCGACCGCATGACGGCCTGCTCGCGGAGACGGCTGCGCGGGCGGCGAGCGGCT
GCCGCGGTTCTCGCTCTCTTCCGACGCGGGAAGGCGAAGGGCGCGGACGCGGTTCTCTTCTTCGAGCGGAGCAGGAGGGCGAA
AACGCGACCGGATGACACCGCTGGGCGTGGTCTTCGACGGGAAGGGTGTCTGCTCTCGCGGACCTGAAGCCCAAGGTGACGGCG
GGCTCGAGGGGATCCTCGTCCACATGCGGAGGGCGAGCCCTCCCGCGACTTCCGCTTCTGCTGAAGCGCTTCGCGCGCTCGT
CGCGGAGACCGGTTCCCTCCCGCGCGCTCCCTCCCGCGGAGGGATCCGCGCTCGCGGGGAAGCCTCTGCTCGCGCGC

[illegible]

TGATCGCGCGCATCGCGCAGAACCAGCTCGAGGACGGCAACTGGACGGTCTACCAGGCGGCGCGGCCCGCGTCTCAACACGGCGCT
GAACGTCCTCGCCCTCGCGCGCGCAAGGAGGCGGGGGTCAAGGTGCCGGCGGACGTCCTCGACCGCGCGTCAAGGCGCTCGCGGCG
ATCGCGCAGAAGGACGACCTCTTCCCTACTCCACGATGACCGCGCCACGAGTGGATGACGACGGAGACCGCTCGCTCGCCGCGACG
CCCTCTGCGAGCACGCGCTCTCGAGAACGGCAAGGGGACGCGAAGATGCTCAAGGCGGCGTGGGGCGGTTCGAGACGTTTCCCGCC
CGAGCTGCGGCTGCGCCACGAAGAAGCTCTACGACTACTTCAACTCGCGCGGTACGCGCGCTACTACTTCTTCTCGCCACCGGAAC
GCGTTCGACGCGGCGGCACTCTCGACGGGAAGACCCGCGACACGTCGCGGGGCTCGTCCGGAAGGCCGTGCTCGACGCGCGGGAGG
GCGACGGACAGGTCATGACACACAGATGATCGCGCGCGCTACGCGACCGCCAGGCGCTCTCGATCCGCGCCCGCGGTCAAGTCC
GGCCCCCGAGCCCCCCCCGACCTTCTGTCGGCACGGATCTCTGTCGCACTTGATCCGGGAGATGATGACCCCGAGGTTCTTCG
CCATGTCGTCAGGAAGTGGATCTGCCCCCTGCTCTCTCGCTGCGGCTCGCCGCGATCGTCTCTTCTCGCGCGCTGCTGCCCCGT
CGGGGTGCGGCGACCCGAGACGAGCAAGTGCACCCGAAGCTCACGGGCGTCTGGGAGGAGCTCAAGGAGGACGGCTCGCCCAAGGGC
TCCTCTGTCGCTCTCGTGGCGTTTCGACGCGCGCGCTACCTCGCTCGCGACCGTGAGATCGAGCGGAGCGCGACGGCTCAAGGTGA
AGCCCGCGACGCGCACTACAAGGCGTGGCTGACGGCGATCGAGGGGCGCACGTTCTGTCAGGCGCAGCCGCTCTACTCAAGGAGGC
GGTGACCGAGGGCGACAAGCTCCCGGGATTCCTGGTGCGCCGCGATCGAGCGCTCGGAGGACAGGAAGAACTCAAGGCCACGGCCGTC
GACCCCGACTTCAAGGCCCTCGAGCCGCTGAGGATGCTCCCGGGCCACATGAGCTACGAGCCGCGCGGCGGGCGAGAAGGCGCCGT
CGAGAGTACGGTCGCGCTCTCCGCGCGCTCATCGCGAGACGCTGAGACGAGAGAGCTGACAGGAAGAGAGCTTACGCGCTCAAGTGA
GCGCGTAACGGACAAGGCCGTGCTCAAGGCGGTCTTCGAGAGCGTGATCGGGTGACCGCTACGGCGCGTGCTCTCTCGCGGCGCTCG
TCGCCGGTGGTGGGTGCGCGCGCGGACAGGGAGATCGATCCGCTCCAGCTCGATCGGATGGCGCGGCTGCTCTGCGGCGCGAGGTCT
TCTAGGCGCGTGCTGCTCGGATGGATCGGAGGGGGGTGGGGGCGAGCCGGGCGCTCTTCGGCGCCCTGTTCTCTCGCGGTGCGGCGG
GCGCGCTCGGTGCTTCTTCGCGGCTGCTGCTACGGCACGCGGACCGACCTGCGGTGGGCTTTCCACGGCCGCCATCCCGCCAGCT
CTACGAGTCTTGGGCGCGCTGCTCTCTTCGGCTCGTACTCGCGCGCGCAGCCATCGCCGCTGCGGGCGAGGCGTCTCTCGCC
TTCCGGGTGCTGCTACGGCATTTTCGCGTTCGCACTCGAATCTCTCGCGCGGACAAACGCGCCGCTCTCTTGGGCTCACGGTCCATC
AGTGCGCTCTGCTGCTGCGGCTTCGACGCGCTGCTGCTCTCGCGCGCGGCTGCTGCTTCCGCGCGCGGCGGAGGCTCTCAAGTGA
GATCATCCGCGCAGCAGCGAATCGCCCGGCTTACCGGGTAGCGCATCCGCGGTCCCGGTGCGCGGATCTCGAGCGGCACGTCG
CTCTCTTTCGCGAGGAGTGGTGAAGTGGTGCGGCGGACCGAGAGCTAGGCGTACATCATCAGTAGCGCGGCTCACGAGTCGCG
GGCTCCCGTAGTGAAGCAGCGGCTGCTGTCGAGGAAGAGGACCGTGCCCGCGGATACCGAACTCGACGAGCTCTCTTCGGTCCAC
GGCGCGAAGAGTCTGCTGCTCGACACCGGTCGCGGTCGCGCGGTCGCGGTCGCGGTCGCGGTCGCGGTCGCGGTCGCGGTCGCGG
GCGGGCAGGAACGAGAAGGGCCCCGACTCGCGGGTACGTCGCGCAGGACAGATCACGTACACCATCGCGAGTCGTGGTAGTCGC
AGTGAAGAGCTGGCTCGCCCGTACTTCCCGTCCAGTCCGGGACGAACCGCTGGTCCGACTCGCGAGCCGAGCGCCAGGGGCTT
CGCGGCCGAGAGCGTCGGGACAAACCTCAGGTACCGGATCGCGGGGAGGAGCACCTCCGACGAGCTCGCGAAGTCGAGCACCCGAG
TATCGCGGATGTCG
TCCCCGTCGACTCCGCGAGCAGCGGTCGAGGTGGGGAGGGACCGCGACGTGTCGATCGCCATCCGTCGCGCAGCTCGACGAGCGG
ACCTTTCGCGCGCGCGTCTCTCGCGGATGAGGTGCTCGAGCTCCGGAATGCTCTCTCGCGAAACGCGACGCGAGCGCGGTTCTTCACG
CCGTTGAACGCGCGCGGATGCGCATCTGTCGCCCGCGAGCCGAGCGAGCGGTTGGTGTCTCGCTCGAGCTTCGAGGCGACCCAGCGG
TCACCCGCTTGTGTCGAGCATGCGCACCTTCTACCAACGCGCCCGCGCCCTCAAGCTGATACCTTGCAGCTGCGCGCGCTCTCT
ACTGCCAGCCGTTGACCGGCTTGGCCACTACGTGCGCACCTTGTGTCGTCGCGCGAGCTCGCGCCGGGCGACGAGGTCCACCTAGT
CGCCGGCGCGCGCGGCTTCCCGGGCTCGCGCGACACGCGGGCGTCCCGTTTCATCGACCTGCGCGCGCTTTCGCGCGAGGGCGGTGCG
GTGGTTCGCGCGCTGCTCGACGAACGGAACGCTGCTCGCCGAAGCGGTCCAGGGGATCGCGCGGACGCTCTCTGTCGTCGAGCACT
TCCGCTTCAGAAAGTGGAACTCGCCGACGAGGCGCTGCGCGGATCGCGGTCGCGCGGCGAAGGCGCGAAGTCTGCTGTCGACAGG
CATCGCGCTCAAGAGCGACCCGCGCGCTGCGCGGCGCTCGCGGCGCACTTCGACGCGCTCTCTGTCGACGGCGATCCGAGCGTGACC
CGCTTCGAGGAGCAGCTGCGGTGGGCGGCGACATCCCGGTGCGCGGTTTCGTACACCGGTATGTGTGTGGGAGGCTCCGGGAACCC
AGGACGCGCGCGCGCATCTCTGTCGCGCGGAGGCGGCGCTCGAGGCGGAGGCGCTCTTGCCTGCGCTCGAGGCGTGGCGGCT
CTCCTGCGAGGACCGGTCGCTCGTGGCGTTCACGGGCGGTCCTCTCGCGAAGAGTCTTCGCGCGGCTCCAGCGCTCGCGGACGTG
CGCGGTTTCACGCGCGACCTCGCGGGTGGATGCGCGCATCCGACCTCTCGATCAGCCGCGCGGCTATAACACCTTCGCGGACATCC
TCTGTGCGCGCGCGGCGCTGGTCTGTCGCGCTGATGTCGAGACAGCGCTTCGCGCGCGCTCGGCTCGCGGAGCTGGGCGT
GGTTCGAGACGCTCGCGCCCGAGGAGCTGTCGCGCGAGTCTGTCGCGACGCGATCCGCGCGCGCTCGCGCGCGCGAGACCCACGAC
ACGATCGCGCTCGACGCGCGCGCGGCGGACCCGTGCGCTGCTGGAGGAGATCGTCAACGATCGCTCTTACCGCGTGTGTCGACGAA
AGCGGTGCTCTGCTCTGTCG
CCGTTGACACGAGGAAACCTCGGCCGAGGCGAGAGCGGTCGCTTGTGTCGCTCCACGAAAGCGTGGTCTTTCACAGGTGGAAGA
GGTACGCGCGCGGATGCGAGGAGCCGCTCGTGAGGAGTCTCTCTCGGAACCGTGCCGCGGATCATCACGGCGGATTCACGAG
TCCTTGTGTCGCGAGCGGAGGATCGCCCGCAACTCTCTGATCGACCGCGCGTGGATCGCAAGGACGTCGTCGATCGTGAGGACGCG
GGCGATGGGTCTTCGCGCAGCTGCGCAGGACCTCCTCGAGCTTTCGCTGATGACGCGCTTCAGCGCATGTCGAGCGCTTCTTGTG
GATGGGTCGAGGTTCTGTCGCTGTCG
TCCAGGATGGGCTTGTTCGAGGAAGAGGGGCTGCGGTTGCCGATCTTCTGATCTGCTGATCATGGGCGCGCTCCATGTGTTTTATA
CTATGTATAACGCTTGTGCGGGCGTCAAGGCGGGCGAGGCGCTGAAAGGCGGCGATCCGTCATCAGCCAACCTCTTGAGGGCT
TGCGAACTTCCGCTTCCGCTCTGAGCGCGGCTCGAATGCGCGCTTCGCGCTTCGCGCTTCGCGCTTCGCGCTTCGCGCTTCGCGCT
TCCGTGCGTCTGATCGACAAGGGGTGTCGCGTCTGATCTCAAGCAGCTTTCGACACCGCGCGGTGATGACAAGAGCAGGCTGTG
CCGTGCTCTGTCGAGCGCTGATCATGGGTCTCTTTCGCGTAACCCGAGCTTAGAACATCGTATACCCGATGCGCGGAGCGCGGT
CCGCTAGAAATGGCCCGCCGTCGAGGAGCAGGAAACGAACTGTTGACGCGCGTGGGTCGCGGACGCGGATGGGGAGCTGTCGCT
CGCTACTGGCAGCGGTCGCGGCGCGGAGCGAGATCGATGCCCAGCGCTCAGGAAGCGGATGCGGATCTCTCGCGGAGGATCTCGTCT
TCCGCCACGCCAAGGGCTACGGCGTCTGTCGCGGAGCACTGCCCCGACCGCGCGCTGCTGCGTACGGCATCTGCGAGCCGAGCGG
GATCCGTTGCGCGTACCACGGCTGGAAGTTCGCGCCCGACGGAAGTGCCTCGAGGTGCCCCCGGAGCCCGCTCTTCCCGCTGCTG
CGGCGGTGCGCGCTTGGCCTATCCCGCGCAGGAGCTCGCGGCTTGTCTTCGCGTACTGGGCCCCGGGCGCGTCTCTCTGTCG
CGCTCTGCGCTCGATCGAAGACGGCCACGGCGCCACTGCGGCTCAGGAGCAGGTGCGGCGTTGCTGCGCGCGCGCGCGCGGCT
AGCAGCGTGTAGGCGGACCCGCTCCACGGCACCCACTCTCGCACGTGACGAGGGCGGGCGCGCAGTACCTGCGCCGG
CAGGAGAAGGTTCGCTTCGACGTGTCGAGCACGGGATCGTGAAGCGGAGGGTGTTCGAGGGGGGTTCGGAATCGGACGAGCACTGGG
CCGTGCGGCCACCCGCTCTCTTCCCGAACCGCTGCGGGTGGGCGAGCACGGGAGGTTCGCGGTCGAGATCCGCTGCGCGGTTCGACGA
CAGCACAGCTGGGCACTCTGGGTCTGCT
CCTTGGCGCGACGAGCGCGGTGAGTTCATCTGTCGACTTCTGTCGAGCGCGCGGACATCATGGCTGGGTACGCGAGGAGATCGCCG
ATCGACCCCGGAGACGCTCGGCGCGTCCGATCAGGGCATCGCGCTCTACCGCGGATGCTCTCTGGAGCAGGTGAGAGGGTTCGCGC
GGGGGAGGAGCCCTTGGGCGTGGTCCGCAAGGAGCACCGCATCTCTGAGCTGCGCGAGGAGGAACAAGTTTCGCGCGCGCGCGGAG
TTCTCTCTGCGCTCGATCGAAGACGGCCACGGCGCCACTGCGGCTCAGGAGCAGGTGCGGCGTTGCTGCGCGCGCGCGCGCGGCT
AGCAGCGTGTAGGCGGACCCGCTCCACGGCACCCAGGCGAGGCTCAGGAGCGGAAACGCGGTGAACCGCGCGCCGATGAGCAGGGCG
AACGCGCGAGCATGAGAAGGAGCGCCGGGACGAGGAGATCGCGGCGCGTACGCTCACGAGCGCGAGCGGGTAGAGAAGCTCTGTGG
GCACGGTGGCGCGGAGCGCGTGGCAGAGGAGCGGGACCGGGAGCCGAGGCTGAGGTTCCGGGGGGGAGAAGCCCGTACCT
CCGCTCGATCAGGACGAGCCGAGGTTGTCGCTGTCGATCCAGTCAAGTCCAGTGGCGGAGCTTCGCCACGCGCGCGGAGGAAC
GCCGTGCGCAGGAGGACCTGGATCGCGCGCAGCGGCCAACGGTACTCGCGCTCGCGCGCGGGTTCGCGGGCGCGCGCGCGCATCGA

CGGAGAAGGCGTCGCCGGCCCCGGCTCGCGGCCATGACGCCGAGCATGATCGCCACGGGAAGGTCGCTGTGGTGGGCGACGCCGAAGCT
GCTGTGATGACAGAGTAGGTCAGGCGCCGAGGACGAAGGTCGCCACCCTCGCGGCCGGGTGAACAGCCCCGATTGCGGACAGGGCGAGC
GACGCGAGGAAGATCCACTTTCGCCGCGAGCAGCATCCTTCGGGCGCCACGGGCGAGCGAGTCGCGCGCGCAGGTAGAAACAGCCGAAG
GGGCGGACCCCCAGGCGCGAAGTCGCACGGCGCTAGAGCGCGAGCAGCCCCGGAAGACGAGCGCCCCGCTGATGCCGAGGCCCTCT
CGGCCCCGAGGGCGCGAACCAGAACCGGTTCAGGCTCCGGTCATCGCGCCTCCGCCGGGCTCGCCCCAGGAGTTCGCGCGCGCGCG
GGCGGTTCGGGTTTCTGGCGTCGGGGTCGACTTCCCACGTCATCCGGTAGAGGCGAAGGCTGCGAGCGCGGGCTGCATGCCGCC
CGCGCGCGGCGGCGCTCTAGTCGCGGAGCAGCTCCGGGAGGGCTTCGCGCAGCCGCGGTTCGTCCATCGCGGCGAGCAGCGCTCG
AGCTGGACGACCCGGAAGGGATGGAAGCCGCGTGTCTGGAGAGAGGGGCTCGCGGCCCGACCGACACTCCGTAGAGCCAGATC
GCTGACCTCGGGACCGCTGCGGAGGTCCGAGTACATCGCTAGGACGAGAACGCGCAGCTCTCCCGGTGAGGAGGATCGCGCGCGC
CTGGCCGCGAGGACCGCGAGCAGATCGCTTCGAAGCAGCCGGCGCCCGCGGTTCATGCCGCCCGGCCATGGGTGCGGACGCC
GCCAGCTCGGTAGGTACGTTTTTCGACGGGCATCGACAGGACCTTCGAGCCACGAGGCGAGCGATCGCGCGCGGAGCTCGTAGACCCGAAG
CGCGAAGAGGCGGTTCGGGAGCGCGAAACCGGGGGCTGAGGAGCCCCGGCCATGTGCCGGCGGTCAAGTGCACGTCTCTCCGTGCC
GCTTCGACGGCCCCGGGCGACGGCAGGCGAGCGCCCCCGCGCTCGAGGGCGAGGAGGAGCGCGAAGACGTTGACCGTGATCCGGT
ACGTCCCCCTCGGCGCGGCGCGCGAGGAACGCGGGCCAACTGAGCGCGGGACACGCGCGCGGATGCGGTAGAGATCGACCAGCGC
CCGGGCGCGGAGCGCACGCTGGAGTTCGCGAAGTTCGAGCGCAGAGCGCAGAGCGCAGCGCATCGCGCGGAGCGTTCGAGCCGAG
CGCACGTTCGCGGATCGTGCAGCTTCCCGCGCCCCCGGAGCCCCCGAGATCGAACCGGAACGAAGGGTGCCGGGCGAGAGTCCAGT
GCAGGTTCACGTTGGCGCTTCCCCACGTAGTCGAACGCGATGGGTGAAGCTGAGCGCGAGGCGCCGACGGGCGAGACCGACGCGCG
CGGAAGCCCGGCCCTCGAGGGCCCCGTTCCGGCGCGCGGAGGTCCCCCTCCGGGACAGAAAGTTCGAGGTTCGCGCTCGCGCGCG
TCGAGCCGCGGTAGAACCGGGCGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGG
GTCCGAGCGCGCGGAGCAGCGCGCGCTGCGCTCCGCTGCGCGCGCGCGCGCGCTGGAACGCGCTCGAGCGTGTCTCCGGCACCCG
CGACGCGGCGGCGAGCGCTCGAGGAGCGAGTCGAGGATTCGCGCGACGCTCTCCGGCGGGCGAAGGCTTTGAGTTCGGGCCCGCGC
TCCGCTCTCTCTCCCTGAGGCGCGGCGGCGACGAAGCGAGGTTCGCGGCTGCGTCACGGGACCTGCTTCCGGATCGCGTCCAGAG
GGCGGCGCGGTTCGACGCGCGCCCGGAGGCCACCGGAGGTCGAGGCGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGG
GCGCGCTCGCGCACCCGCGCTCGCTCCCGCGGAAGGCCGCGCGCGCTGCTCCGGGAGCGCAGCGAGGAAGACGCTCCGCCGGAGCC
GGGCGCGCGCTCGGGCACGGGAGCGCTCGCAGCTCGAAGCGGTCCACGTTCGGGAGCGACCGCGGGGAAGACCGGCGCGGAGCGC
TCCCTCGCGGCTCGCGTCCGCCCGGGCCAGCGCGCGAGCTGCACGGCGCTCAGGTTCCGGGCTCGATCCCGTTCGCGCGCGCTCG
CGAGCTCGGTCGCGTTCGCGCGCTTCGCGGCTTCGCGGAGCGCTTCGCGGAGCGGGAAGCGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAGCGGAG
CGATCGTCGGATCCCGCGGGCCACGGGCGGATCGCGCGGACGTCGACGAACAGCCGGTCGTTGGTCAAGTAGCGGACGCCCCCGC
GAGGAGCGCGTGGAGCAGGAGCGTCTTGCCCGAGCGCGCGGCCCGCGATCGCGACGACCGCGCGCGGACCTCGACCGCGGCC
GCTGGAGGTGACGCTGCCCTCGGAAGCGCTGAGCGGTAAGAGTTTCGCGGCGACCGCGGAGGAGCGGAGCGCGGAGCGGAGCGGCG
CGTCCGCGGGGCGGAGATCGACAGCTCGCGCGCCCCGACAGGTTAGAGGATGCCCTCGCCCGCTCGCGGATCTCGAGCGCGGCTC
GGGAGCGCGCGCGCGCGGAGCTCGGAAGCTCCCGTCGAGAGTGAAGCACTCGATCTCCCGGAGCGGCGCTCGCGCGCGGCGCGC
ATCGGCCGAAGGCGACCGTACGCGGTGATGAGGGGTGCGGAGGGGAGCGGGTTCGAAGCCAGGAACCTCCGCGAGCCAGAGGA
CGCGGCCCGGCTCGCGCACTCGACCGCGATACGAGCGGGCGCTAGGCGGATCGGAGCATGGAACCTGCTGTCGGGATCGCGCGCG
CCCTCTCTCGATCGGTCGAGCAGCGCGCGGAGCGGAGCGTTCGCGCGCGCTAGCCCGGAGCCCGCGGACCGTCCGTCGCGG
CGAGCGCGCGATCATCCAGAAGCGGCTGTGCTCGACGAACCCGCGCGGCTCGCGGAAGCGCGCTACGCGCGAGGAAGATCTCGCG
CGCGGGGCGTCGAGCGGCCACCGGTAGCAGGTGCGCGGAGATCCTCGTCGGCGCACCGACCGCGCCCCCGCTTGTGACGAGAG
AAGAGTCGCCCGGAGGGTTCGACGACGATGTTCTCGGACAGAGATCGCGATGGATGATCGTCAGGTTCGAGCGCGGGGCGGCTTC
CGCTCGGAGCTCTCTGAGGCGCAGGCGCGGCTGTCGCGAAGCGCGCCATGTGACGAGCGCGCAGCTCGGAGGAGAGGATCTCG
CCGCGCGCGCGCAACAGTGGCGCGGCTCCGCGCGGAGCGCTCCCGTGACGTCGCGGAGGCTCTCCCGCGCCAGCGGAGATGG
CCCCGTCAACCGTTCTGTCGAGCGTGTCCCGCGGATCCAGGCTCGAGCAGCGCGCGCATGCGGCGGATGACGCGCGGGA
ACCTCCCGGGTCCAGCCGCGGACGATCGCTCGATCCGGGCGGCGACGCCACCGGAAGGCGAGCGCGCCCCCTTCAGGGTACGCGC
TTCGGCGAAGTTCGAGCGCGGAAGGTGTCCGGGACCGGCGAGCGGCCCTCGCGGAGATGCTCTGCTAGCCGAGGTCGCGGAGGA
CGCTCATGTCAGGAGTCTCGAGGTTCGAGCGCACGGCGACGGAACCCCGACGCGCGCGCTTTATACCGCGGCGGCGAGGCGCGC
TCCAGGCGCGCTTGACGTTGCGCGCTCGCGCGATACCATGCCGCTTCGCGAGGGGCAAGAGCCGATCGTGTGCGCGCTCTCG
ACCGCATCTTCGGGTCTCCGTGCCCTGACCGGGCCCCGTGCGCTCTTGGCTCTCGAGGGCGAGGGGATCGGCCCGGAGGTCTGTCG
TGTCGCGTGCAGGCGATCGCGGCCCTCGAAGCGGCGGCGCTCGAAGCGTCGAGGTTCGGATTCGCGCGCGCGCGCTGCCCGGCTC
GAGCGGCGCGCGCGCGCGCGATGCCCACTGGGATCGTGCCGCGACGAGGTCTGCATCGAGGGAACCGAGGCGCACGCGCGCC
CGTGACGCTCGCGCGGCGCGCGGCGAGCCGCTTTCGACAAGACCTTCTTCAGCGCTTCGGCGTCCCGCGGTTCGAGGAGGCGCTG
CGCGCGACGGATCGACACGGTCTGTCGCGCGCGCTCCACTCCACGCTGCGTCGCGGCGACCGTGTGAGCGCTACGAGCGG
GGCTCGCGTGTGATCGCGGAGGATGCCGTGGAAGCCAGATCCGGTGCACGCGCGGCCACCGCGCGCTGGCTTACGGATCGCGC
GGCGGCTTCGTTCCGGTCGAGGGGATCTCTGAGGAGTTTCGGGGGGCTCGGGGGGGCTGAGCGCGCCCGCGCGCGCGGCGGT
GACGCGGCGCAAGAGGCGTGGCCGGCATGGCGGCGACATCGCACGCGGAGCGCGCGCGCTGCTCGAGAGGTCGCGGGCTTTGTG
AGCCGAGGCGACGTGCTCGCGCGCGAGATGGCCCGGAGACCGGAAGCCGCTGCGCTACGGGCGTTCGAGGCGAGCGCGCGCGT
CGCGCTCTCTCCGGGACGGCCCGGCGCGCGGGGTTCGCGGAGGAGTTCGCGGCGCGCGGCGGAGCAGCCGACGCGCTCCCCACGGC
GTGCTGCGCTGCGAGCGCGCGGAGAGGATCGCGGAGGCGCTTCGCGCAAGATCGGCGCTCGGTCGAGGAGCGCGGAGGAGCGGTCG
TCTGGAAGCCCGCGCGCGCGCGCGGCGATCGCAACACGGCTTGTGAGCTCTCTGTCGCTGCCGGCGCGCGCGGGCGCTCTCGG
CCTTCTGTGCGGGGATGCCGCGCGCGCGGTCGCTCTGGAGGACGAACGCGTGCAGCGGCTGCTCACCAGCTCCCCCGCGCGC
GGCATGCGGCGGAGAGATCGCGGCTCGCGGAACATCCCCCTCCAGCGGAGTTCGCGGGAACACCGGCGATCGTCTGGTCGG
ACGCGACCTGCGACGCGCGGCGAGAGGATCGCGGAGGCGCTTCGCGGAGGCGGCGAGCGTGCACCGCAACCGGCGGCTCAT
CGTCAGACCGCGGTGCGAGGCGACTTCGTGCGCTGCTCACAAGCGCGACCGCGAGCTCGGGTCGCGATCCCCCTCGACCCCTCG
ACCCATGTGCGGGCGCTCGTCTCGCGGAGGCGGTCGCGCGCTGCGCGGGTCGATCAGCGTGCAGCGCGCGTGGCGCGGAGGTGA
TCGTCCGCGACGCGTCTGCTGCCCCCGGCGACTTCGTGCGCGGACGATCGTCTTTCGAGCAGCTTCGCGGAGATCGTGCAGGA
GGAGACGTTTCGAGCCGCTCTGTCGTCGAGCGCGGCGGAGTTCGCGGAGGCGGTGCGCTGTAAGCGGCGCGGCGGCGGCGGCT
GTCGCGCGCTCTTCTCGCGCTCGCGGAACCTAGGGCACGCTTCTCGAGGAGGCGGAGGCGGGAATCTGAAGTTCGACGAGGCGA

CCGCCGACGCGGGCGTTCGAGGCCCTTCGGCGGCTGGAAGGCGTCCGGCGTCCGCCCGCGGAGCATGGCCACTCCGACGTGGAGTT
 CTACACCCGGGCGCAGGCGCTCTACGATTGAGCGCTTCGAGCCCGAGGGGAGGGCGACATCCGCTTCGTTTCGCTCATGATCGTCGTC
 ACCTACGCCACGGACCGGAACCAACCGGCGCTCCGGCGGTTCTCGCCCCCTCGTGCGCGCGCTTCGGCTCGACCTCGTCGTCTCTCC
 CCCCAGCGCCCCCTCGAAAGCTGCGGACTTTCGGATGAAGGACCGATGGCTCCTCCGGTTCCTCCGCGGCGTCCCGGAGGACGAGAT
 CGTCTTCTCGACCGACGGCTACGACGCCCTTCCTCCTCGCCGGGCGGAGGAGATCATCGCGAAGTACCGGTTCGTTTCGGGCGCCCGCTC
 GTGTTCTCCGCGGAGCAGAACTGCTGGCCGCGCCCGGCGCTCGCGGCGCGCTATCCGCCGTCGCCACGCCGCGCCGCTACCTGAACG
 CCGGCGGCTTCGTTCGGCCCCG

7.10 Das Cosmid slc_1x

7.10.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
1001	4-Hydroxy-2-oxovalerat-Aldolase (EC 4.1.2.-)	259	1044	+
1002	Aminotransferase (EC 2.6.1.-)	1270	2499	+
1003	Extrazelluläres Bindeprotein (Familie 3)	2569	3366	+
1004	ABC-Transporter-Permease	3439	4113	+
1005	Potentielle Aminotransferase	4149	5429	+
1006	Aldehyd-Dehydrogenase (EC 1.2.1.3)	5499	6925	-
1007	Potentielle Metall-abhängige Hydrolase (COG3618)	7043	7930	-
1008	CoxE, Protein mit von Willebrand Faktor Typ A (COG3552)	7930	9060	-
1009	CoxD (MoxR-ähnliche ATPase, COG0714)	9057	9935	-
1010	CoxL	10097	11101	-
1011	CoxL	11105	12475	-
1012	CoxS (COG2080)	12480	12962	-
1013	CoxM (COG1319)	13010	13807	-
1014	Konserviertes Protein	13824	14267	-
1015	Potentieller Transkriptionsregulator, AraC-Familie	14373	15197	-
1016	ABC-Transporter, periplasmatisches Substrat-bindendes Protein, UgpB (COG1653)	15474	16805	+
1017	ABC-Transporter, Permease, UgpA (COG1175,)	16868	17866	+
1018	ABC-Transporter, Permease, UgpE (COG0395)	17863	18810	+
1019	Hypothetisches Protein	18807	19013	+
1020	ABC-Transporter, ATPase-Komponente, MalK (COG3839)	19017	20126	+
1021	ABC-Transporter, ATPase-Komponente, MalK (COG3839)	20119	21135	+
1022	Dak2	21150	21752	+
1023	EIIA-man, PTS	21749	22138	+
1024	HPr-verwandtes Protein, PTS (COG1925)	22151	22462	+
1025	EI, PTS (Phosphoenolpyruvat-Protein-Kinase)	22467	24068	+
1026	Konserviertes Protein	24070	24504	+
1027	Dihydroxyacetonkinase, Dak1 (COG2376)	24541	25527	+
1028	Potentielles universelles Stress-Protein UspA	25540	26376	-
1029	Sensor-Protein FixL (EC 2.7.3.-)	26523	28106	+
1030	Transkriptionsregulator FixJ	28093	28716	+

1031	Hypothetisches Protein (potentieller Transkriptions-regulator FixT2)	28796	29161	+
1032	Regulationsprotein bei der Stickstofffixierung, FixK	29246	29896	+
1033	Konserviertes Protein	29862	31199	-
1034	Dienlacton-Hydrolase und verwandte Enzyme (COG0412)	31567	32454	+
1035	Uncharakterisiertes, in den Propionat-Katabolismus involviertes Protein (COG2079, PrpD)	32693	34168	-
1036	COG1804, Vorausgesagte Acyl-CoA-Transferase/Carnitin-Dehydratase, CaiB	34198	35319	-
1037	Acyl-CoA- Dehydrogenase, CaiA (EC 1.3.99.3), (COG1960)	35332	36510	-
1038	L-Alanin-DL-Glutamat-Epimerase und verwandte Enzyme der Enolase-Superfamilie (COG4948)	36534	37703	-
1039	Hypothetisches Protein	37700	38032	-

7.10.2 Sequenz des Cosmides slc_1x

CTGCGCCGCGGTCTCAGATTGTCGTCCAGCTTGCCAGCCAGCGCTCGGGAACATCGGTGATCGCCAGCCCGCCATCGGCGTTGGTTCGAG
AAGATGCCGAGCTTCAGCCGGTTCGGTCTTTGAGCGGGTGTGGTCTGATCATGCTGGTCTCCCGACCGTCCACGCTAAGAGCGTTCG
CCAGATATTTCAAGCATGAAACAGCACCATTGCGAGGCACCCAGCTTTGCGGCTAAGGCTTGAGCCACCGATCCGGGAGGACGACATGAAG
AACTTTTCGCGACAGGACCGTTGCGGGAACGCCGTGGTTCGGCACTTTGCGCGAGATCCCGCATCCGGTGGCGATCGAGGTGACCGCGC
AGGCAGGGCCTGATTTTCATCTGCATCGACTGGGAACACGGTTCAGATCGCCCGCGACCGATCGAAAATCTCGTGCCTGCTGCGACGT
GAGGAATGTCCCGCGATGGTCCGGGTGCCCGGCCATGCTCCCGAGGCAATCGCCGCGCGCTGGACAGCGGCGCGCAGGGCGTCTCTG
GCGCCGCGGTGTCGACGCGCGCAGGCGGCCCGCTGGTGAAGGCGGCACGCTACCCGCTTCGGGCGAGCGCGCGCTCGGCGCGCG
GCCGCGCGAGCGGTATGGCTACCGCATCTTCGACTATCTCGCGGAAGCAAATGACTCCATTGTCGTGCGCGTGCAGGTGAGACCGC
CGAAGGGTTCGCCAATGCCGCGCGCATCGCCGCAACCGACGCGCTCGACCTCGTCTTCGTGCGACCCGGCGACCTCTCCGTTTCGCTC
GATGCTATCGGCCGACGGTGCCTGAACTCGCCAGGGCGATCGAAAAGATCATCGCCGCGACGCTGAAGCGGGGCAAGACCGCGC
TCGCGCCGAAAATCGGATCGGATCGATTTCGGAAGCAGCGACGATTCAGAAATTCAAAGACCTAGAGCGCTTTGCGCGCTGGAAGGACGCG
CGGCGCTCTAGCGCGCTTACGCTTTGGAAGGCATCGCGCGCAGATCCGCGACCTCCACACCGAGAATCATCGCCAACTTTCGCGTGC
GCGCCGCTGAGCTCGGCGATGTGATCGCTCTCTGTTACGCGGAAGGCGACCTCGTGACGCTGACTTCATTTCGCGAGGCGCGCAAGGC
AGCCTTCGACGAAGGCCAGACCTTCTACATTCCCAACATGCGCGGCTACGCGCGCTGACCGAGGCGCTGTCGGCTTATCAGTTCGCGG
CTGCGCGCAAGCATCGGATCGGATCGACCGCACCCGCTGACGCCAGCGCGCATGCGAGCCCTCTACATCGCGCTTGAAGGACGCG
ATGTCGCGCACGAACGTCGTCTATGTGCGCCCCAATGGCCCAACATCCACAACGCCATCCACCTGATCGCGCGGCAACCGCGCCCCCT
CGCGCTCGATTTTCGACGCGGACTGGAAGCTCGACCTCGACCGGCTTTTCGCGACTTGCGATGCGCGCACGCGGGCCATCTTCTGTGCG
ACCCCGTCCAATCCGACCGGCTGGACGGCAACGCGTGGCGAGATGGAGGCGCTGCTTGAATTACGCGCGCGCACCGGCGATCTGGATCA
TTTTCGCGGAAATCGGATCGGATCTTCTCGGAAAGCAGCGACGATTCGACACTTCGATCCTGCGAGATGCGGAGGACGCGCGCTGCGCT
CTCCGTCAACAGCTTCTCAAGGCATGGGCGATGACCGGCTGGCGCGTGGCTGACCCATCCCTCGGGGATAGCGGACAGCTT
GCCGCAATGACGCAATACGTCAACAGCGCGCACCGCGGCCCTCCAGGCGAGTGCCGCGCGCGCCATCAAAAGGGCGAACCCTGG
TCGAGGAAATCCGCGAGCGCATCAAGACCGGGCTGGACCTGGCTATGACCGGCTGGCGCATTTTCTTGAATCATACTTCGACGAA
GCCACGCGCGCGCATGTACGATTTCTTCGCGGTGGAAGGCGAAGCGGACTCGCGTGCCTGTGCGCGACATCTTGGAAGAGCGCT
GTGCGGCTGGCGCGCGGGTACCTGTTTCGCGAGTTTCGCGCAATGCCTTCGTGCGCATGTGCGTCTATCGCGAGGCCAGCGAGCTCGAAA
CGCGCTTGGCCGAATGCTCGAATTCAAGAATTGACGCCGCGCAACGCGCGCCAAACACACCGCGCGGGGAGGACTCGTCCGAGCCAA
CCAGAGGGAAAGAAAGATGAATTTACCCGTCGCAACCTGCTCATGATCGCCGCGAGTGGCCGGCTTTGCGGGGCGCCCATGGCCGCC
TTCGCGGAAGCGTCTGAACGTGGCTCCTATCCGCAACACCGCCCTTCGAATACAAGGCCGAGAGCGGCAATTTTCGAGGGTTTCG
AGGTTCGACATCGTGACCGCGGCCAAGCGCGCGCATGACCGTCAACATCGAAGGCTATGACTTCAGCGCGTGTTCGCGCGGAC
AAGCTCGGGCCGATCGACGCGCGATCTCTCGATCACCATCAGCGCGAGCGGCTGGGCTCGCAGTCTTCACGCGAGCCCTACTAC
GATTCGACATGGGTATCGCGGCCAAGACCGACGCGCGGTGAAGACCTTCGCCGACCTCAAGGGCAAGATCGTGGCGGCTGTGTCG
GCTCGACCGGCGGAAATATGCCAACGACAACGAAGGACGCCAGGCTTTGCGGAAGTGAAGGATCAATACCGAGCGAGGACGTACT
GCTTGACCTGGCGCGCGCGCGTGGATGGCGTGGTTCAGCGACGTGCGGGCATGGAATACGCCCTTACCAAGATGCGAGGCGCTTGGC
GTCGTGACCGCATCAAGACGGGCGAGCAGTACGGCTGATGATGACCAAGGACTCTCCGCATCTGGCCAAAGATCAACGACGCGTTGA
CCGAAATGAAGAAGGACGCGACGCTGCGAGCAATCCACAAGAAGTGGTTTCGCGACCGACGCGCGCGCGGCGACTCTCTGACGCGCAAGA
GGCGCGCTTCCGAAGGCTGATATAACAGCATCGTTGCGACTGATTGTCGCCGCGCAAGCGCGGACCAATTTGATGCGGGGGA
CTGCACATGACGTTGCTCGACAGCTTCTTCAACAGCGAGGTCATGCTGTGCGCGCTGCGGCGCTGCGGCGCTTTCATCAACACGCG
TGAAGCTTGGGCTGCTCGCCATCGGTATCGGAATTCGGTGGGCTTGTGATCGCCCTCGTGCCTCTACGCGCAAAGCGGTTTCG
CTGGCTCGCCATCGGCTATATCGACATCTTCCGCGCCATGCGCGTGTGCTGCTCTATCCTGATCTACTACGCGCTTCCCTTTGTC
GGCATCCGCTCTCGTATGGGTTTCGCGCAGCTGGCTTCACTTTCATCATGTCGGCTACTCGGCGGAAGTGTTCGCTCGGGCA
TTCGAGGACTTCCGAGGCGGCGACGCGCTGCGGCTCGGCTTCCGCTGCTGCGGAGGCTGCGGAGGCTGCTGCGGCTTCCGCTGCGGCA
GGCGGTGCGTGTGCTCATCTCTGCGACAGCACTGCGTGTGATGTTCAAGGATACGTCGCTGGCCTCGGTGGTTCGCTTGGCC
GAACTTCTCAAGGAGGCGCAACAACGCGCAGGCGCTTTACGCAATTCGTCGCGCTGATCGGAGCGCGCTGATCTACCTGATCTTCC
TTTGGCCGATGTTGCGCTGGTGGGCTGCTCGAACGCAAGTTCAAGTCGAGAAGACACGCTGATCCCGGACATCCAAAGCTTCTCT
TGAGGACTTTCAGTGAACAGCATCCATCGCGCGCTGCTGCGGAGAACTTTCTGTCGAGAAGATGAGGAGATGTTCCGAGCGCTCC
GGAAAGCGGCGACTTCATTTTCTCGACAACGCCGCGCGGAGCGCAGATCCACAGAGCGTGTGTCGACGCGAGTGACCGACCATCTGGT
TTCACACAACGTGACGCGCGCGCGCGCTATGGCGCAGCGTGACGGTGGAAGAAGGTGTGGCGGACGCGCGCGAGAGCGTGGCTCTC
CTGATCAACGCCCGGAACCATCCGAGATCTGCTTCGGCATGAACGCCACATCGTTTCATCAGGCTGGTGACGCTCGGATCTCGGCCAGA
TGATTGCGCGCGGAGCGCGGCGGCGGCTGCTGCTGACCGGATGACCGGACGCGGCAACATCGCGAGTGGCAGCGCTGGAACA
GTCCGCTGCGAAGATCGTGTGGTGGCGGATGCGCGAAAACGGCAATCTGCACGTGACGACCTGAAGCGCTGGTCAACAGCGCGCAG

CGGCTCGTCGCCTGCACGGTAACGGCGCATTTCGATCGGCTCGATCGTCGACGTCGCGTCGGTGGCGAAAAATCGCGCACGCCGCCGGCG
CCGAGGTCTTCTGGACTGCGTGCATTATGGGCCGATGGCTCGATGGACGTGCAGGCCCTGGGACTGCGACTACCTTATCTGCTCGGG
CTACCAAGAAATTTCTCGCCGCACATGGGGTTCTCTGTGGGCCCGCTTCGAGCTGCTGAAGCGGCTCGGCACCTTCGCGGAGGATTTATCGATC
CCGGACGAGCCGCCCTACAAGGTAGAGGCCGGCAGCTTTCTGCTTACGAGAATGTCCGCCGATGGACGCCCGGTCGCGTATCTGGAAT
CGATCGGCCGCAACTTCGCGCCATCGAACAAACCGCACCGGGCGCCAGAACATCGTCGCTGGCATGGCGCGATCCGACAGTACGAACT
GGTGCTGGCGCGGGCGATGATGAAGGTGCTGAAGAGTGCAGGCGCGACCATCTATGGCGTCGCCGACGAGGCGCGCATCGACGAGCGC
GTGCCGACCTTCTGCTTCAACATCGGCACGCTGTGCGCGCAGGCGATCGTGAGGAGATGGCGAAGCGACGAGATCGGCATCCGCGACG
GCCACATGTATGCCCCACGCCCTGATGAAGCGGCTCAACCTGTGATGGATTTCGGGCGCAATCCGCGCTTCGCTCGTCCACTACAACAC
GCTGGACGAGGTGCGCCGTTTTCGCGACGCGCTGAAGGGTGTGATCGCCAGGCTGGCGTGAGCGCGGAGACGCCGTGAACCGCGCGCT
CTTCCCCACCTTGGCGGGGAAGAGGAATGGGCCGGACGAGGTTACTCCCCGTAGCCGATGATGCCCTTGATCTCTAGGAAGTCTGGA
TCGCCAGCTCGGCGTATTGCGCGCGCTTTCGCGACTGCTGTGAGCGCGCCGAAGGCGCGTAAGATCCCATTCGCGATAGTTGATCGA
GACCTGGCCGGCGCGCATGCGCGCAGCTATGGCGCGGGCGTGCTCGATGTTCTTGGAAGTGCACGTAGGCGCGGAGCCCATAGACTGTG
TCGTTGGCGATCTCGACAGCGTCTTCTCTGTCGTATAGAGATTAACCGAGAGGACCGGTCCGAAGATTTCTTCTCTCAATGTCTCA
TGCCCGGCTTACGTGGCCGAAGACGGTTCGGGCGGATGTAGTAGCCGCGATTGAGGTGTTTCAGGACGGCCAAGGCCGCCGTTGACGAG
CGTCCGACCGCTCTGCTTTCGATCGATCAGACCTGATGGCGCGCTTGTGTCGCTACTGGATCTTGTCTGCTAGGATCTTGTCTGCTAGGATCTG
TCCAGGCGCGGGTCTGTTGACCTTGTGCGCTCTGCGGCCCTTCTTGCGATCTCGAGCGCTCTGTCGTGACGGGCGCGGCCGACAGCA
TGCGGGTCGGCGCGTCGACGAGACTGGCCGCTGTTGCCGAAGCAGCCCTTACACCTTCTTAACCGCCCGCTCGAAATCGCGCTCCGG
CAGGATGATGTTTCGCCGACTTTCGCCCAAGCTCTTGGCACACGCGCTTACCCTTTCGCCCGCGCTCTGCAACGATGATGCCGGCG
CGGCTCGGACCGGCTGCGCGTTCGCGCGCCAGGTGATGGCGGCACTGGAAGTGGCGGACGTGCGCTGCGAAGTCTGCTGATGATG
TGACACACCTTTCGGAACGCCCGCGCGCATGATGACCTCGGAGAAGATGATGCTGAAATCGGCGCGATCTCCGATGGCTTCAGCAC
GACCGTGACGCCGCTGCGATCGCGGGGCGACTTTCGACAGCATCTGTTGAGCGGCCAGTTCATGGGGTATGAGCGCGCAGACG
CCGATCGGCTCTTTCGACGACCATGGTGGTTCGCGCGCGCTCGGTGAGTTCGTAATCCTCGAAGGACTTGATGGTGGATTCCATATGCC
CGGCCCGGCTGCGGCTGCGCGTTCGCGCGCCAGGTGATGGCGGCAAGCTTTTCTGCGGCTGATGCGCTTTCGTAAGTCTGCTGAAGCG
CTCGTTGTAGACTTCAAGGATGCGCCTCAGCAGCGCCAGCCGTTTCAGCTTGTGTTGAGGAGAAAGGCCGGAACGCTGCCTTGGA
GCGCAACCGCGCGATCGACGTGCGCTTTCGATCGACGAGATCTGCGTATAGGCTTCTTCGCTGAGGGGTGATGACGTCCAGAA
CCGCCGGAACCGCGGATCGACCCACTTGCCATCAATGTAGAATTAAGGTGGTGTCTCATGGTCTACCTGTCTCTTCAATTTTGTG
ATGACCGGCTGACACAAAGACGCGGCTGTAGGCAACCATCGCGCATGTCGCCAGCATGTCGCCAGCTTCGCGCGCGCGGCG
CCTTACACTGGCCGATAGATGCGTTCGGCGGTGTTCCAGAAGATGTGCGCTCGGCTTGGCGCGGTGTCTCGAGACCGCGCGCGAT
GGCGGGCTATCAATCGCGGTGACTGGTCCACAGCTTTTCGATCGGAAAATTAGAGCCGAACATCAGCCGCTCGTTCGCAAGAATCTC
TATCGCGTGTGCCACCACCGTGCCGATGACCTGCGGGTCTGTTTGGTGGACGAAGGTGCCTAGGCCGGAAGTTTTCGCTAGAAGTTG
GGCGCTCGCAAGCGTGCAGCGCCGGCTTCCACTCTCGACACCGGTTTCGCAAGACCGGTGAGCATCCCGGTATGAGTCAAGG
TGAAATGGTCTGCGGATTCTCGCGGACAAGCTCAAGCCCATCTTTCATCTGGGCGGGGAAAAGCTGCAGATCGAAGGATAGGCCATA
GTCTTTCAGCCTCGCAACGTTCTTCTTGACGACAGGGTTCGATGACCTGGTTCGCGCGATCTGCGCAAGCGGAAGGCCGCGCTCTCGTGC
CAGTGAAGTGCATCCGACGCGCGCAGCAGCGGATATTCTTCAGCCGCTCGATCTGCTGACGACGCTGCTCCACGCTCATGTCTG
CATAGCCAGATGCGGCTGCGGCCAGCCTTTCGCTTCGCGCTTCCTGAGAAACGCGACTTCTGTTCTCGAATCTCTTTCGCGCA
GTTGGTCTGGACATAGACCGCTTTTCCACGCGCGATCCGGCTGATCGCGGAGAAATCTCTGATCGGATAGTCGCGCGGATCGGC
TCGTAGGTTCCGAAGATGCGCGGACCATCGGCCGACAGCCAGGGCTGGTCTTCTGCGCCAGATGTGGAATTCGAATCGATGG
CCTTTTGATCAGAGGGTCTCTCTCCACAGGTTTCGCGCGCGGGGTGCGGCCGCGACCGAGCGTCAGCATGAACTCGGCGAGACTGAA
AGCGCTCGGACCGTGCAGCAGATCTGTCGAGGACGCGGATGCGCTGCGCGCGCGCTTTCGCGCGCGCGCTTCGCGCGCGCGGCGCA
GCGCGTGGCGAGTGACAGACGGAAGGCGCGCGCGCGCGGCGCATGGCGGTCTCCATCTCGGCATGGTTCGCGCGCTCCAGCCC
GTCCGACAGGAGCAGGATCGCCGCGCGCGCGCGCAAGGCGGCAAGCGCGGTATGGCGAGGAAGGCGAGCAGCGTCCGACCGATGCGC
GTACCCCGTCCAGTCTGTCGACAGGCGAGCGACCGCTCCAGCGCGCATCGAGGTTCGGAACCTTTCAGCGCGCGCTGACGCGGG
TCAGCGCGTGCAGCGTGAACACCTTCGACGCGATCGCGGATGACGCGGCTGTGCGCGAGCTTCAGATAATCGCGGTGTCGCG
CTTTCATCGAGCCGGAATGTCTGATCAGGATCAGACGCGCGGTGACACGCTCGGACGCGGACGCGCGCGGCGCGCGCGCG
TCGGAACGACGATCGAACGACGCGCGCGCGCGAGATCGAGCTTCCCGCGCAATTTGGTTCGCGACGGACCGGAAGGAGCGCGCTGAG
GCAAGGCTTGGGCGAGCGCGCGGGAATCCGCCAACGCGCTGGCGTTCGCGCTGGAACGAGCGGATGCGGAGCGCTCTACGGCGGA
AGCGGATCGCGCTCTCTCTCTGCTGAGCTCCGGCTGTTTCGCGCTTCTGCTGACGCGGTGTCTGCTCTTACCTCGGTGCTCTCG
TCGCTTTCGCTATCCACAGTACGCTGCGCTCGCCATGAGAAGCCAGGCAAGCGCCTCGAATTCGCGCTGTCGGTCTGCGGTG
GAGCAAGCGTTGCAAGCGCGCGCTGGTGGATATCTCTCATGGAACGGGACCGAGCAGCGTCACGCCCTGCATGAACCGCATCGCCTG
CTCGGCGCGACCGGGAACCAAGCGCGCGAGATGCTTGGCAAAATCGGCAACCGGTTCGCGCGGAGCGGGGAGAGCCGTACGCGCA
TCGCCCTTTCGAGGATCGGTCGAGTTCGGGATTGAGGAAGCTCATGCTTCTCTCTGCTGATCAGAACGCGGACGCGCGCGGGA
GGCTTCAGGCGACGGCTGCGCGCTTTTCCAGTATGGTTCGCGCGGCTTCGCCCATTCGACCGCTTCGCGCGCTTCGCGCGCTGCGG
AGCGGTTTTGACGAGATTTTCGCGACCGCTTTGGCGACCGCGCGGGCGGTGGCTTCGCGGACGTCGCGCGCGCGCAGCATGATGATCG
CCGCTTCGCGTTCGCGCTGGATAGGCGATCCAGTGGTAGACGCGCGCGCGCGAGCGCTTCGCGCAAGCTCGCGGGTTCGCGTTGA
GTCAGGATCACCAGCGGCTGGCTTGGCGCGCGGATGGTCCCTCGCTCCGGATGGTATCTGGAATCGGACAGGAATTAAGGAGC
AATGCTCGAATTCGTGATCCGACCTTCGATGTCGATCGTCAACAGCAGCATCTTTGCTCGGGCTGCTGCAACCTGCAACAGCGGAC
GCGCGATCAGGAAGCGGTGCTCATAGATGTGACCTCTCGCTCGCCAGCCTGCCGAATGGCGAGAAGTGGCGTGTATGTTCCACTC
ATAAAGCGCGTGGCGCGCTCGATGCCCTCGTAGCATTCGAGCGGACGAGGTTCGCGCGAGGTGAGCGCGCGCATCGCTTGGCGGCT
TCCGTCTTGGCGACGCCCGCGCGCTTTCGAGCAGCAGCGGCTTTCGCGAGCCGATGGCGAGGAAGATCGCGGTAGCAAGCCCTCAT
CGCCAGGTGAGCGCATGCCGCGAGGCGGGAAGCTAGGGACTTCGGGGAGGCGCGGATATCGTCTAAGGGGCGGATCGAAGGCTG
CGCGCCCCCTCCACCACGCTTCGCGTGGTCCACCTCCCCGCTGCGCAGGGGAGGAACAGGCGGCGCGGCCATACCGATCTTGATCC
TCCCCGTTTACGGGGGAGGGGACCGCCGAAGCGGTGGAGGGGCGATGGCTGCTGCATAGCCTAAGCGCCCGCTGTTCTTCAA
CGCCCGGAGAATCCGCTCGGGCGTATCGGCATCATGTGATGCGCACCGCGACCGCGTTCGAACACCGCGTTGGCGACCGCGGGATC
TGCGGATTGGCGCAGCATTTTCGCCCGGCCCTTGGCCCCGATGAGACCATCGGCCGCGGGGCGCTTCAGCAGCAGCATTTCTCGTGTGCG
CGAGATCGCCCGGACCTGGCATCAGATATTGTTGAAGTGGTGCCGCCATGGTTCGCGCGCGCGGATAATAGGGCTCGGTCTCTGTA
GAGCGGTGCGGAATGCCATCCACGAACCGCGACGAGCTGCTGCTCCACCATCTTCGGGTTGAGCGCGCGGCGCATCTCGAAGACG
TCTTTCAGCGGAGACGAGGTGACTTCGCCGGTCTCGTCTGACATCGACCTCGCGGACCGTTCAGGATCGGGCTAGCGAGTTCGCGG
GCTTTCATGCGCGCGTTTCGACCTTCGGGATAAGAGCGCGGACACAGGAATGCCACGCCCGGATCGAGCGCGGAGCTTGAATG
CGCCATCAGCGAGTGTGAAGATCGAGATTGACTTCTGCGGCGCGCCCTTGACGTGGATGTTGCCCTCCCCGTCTGTATCGAGGTGCG
GCGCGTTGACCTCCAGCGCTTCGCGCGGCACTTCGAGCATACCTGCGCGGCTCCTGCGCGCGCTGGATGACCGCATTCGCGATGCG
GGTGGTTCGCGCGCATGCAACGTGCCATGCAGTGTGCCCTGTGTGCGGTATCCGCCGTGTCGATGGTGACCTGCTCGGTCTTAC
CGCATCGCTTCGCGCGAGATCTGCGCATGACCTGCTTCAGCCCTGCGCCAGGTTCGACCGACGAGCTCAGCGCATGAGTGAAGTTCGCG
GTCGCGCTCGAATGCACGAGCGCTGGCTCGGATCGCCACCGAGGTTTCATGCCGTTCGGATAGTTGATCGCGCAACCGCGCGCGCG
GCCGATCGCATGGCTCAGGCTCTCTTGTAGGATGACATCTTGAGGTACTTCTCCGCCACCGCGCAGTTGGCCAGGCGCGACGCTTC
CTGCATGCATTCGATGAGTGTGCGCCGCTGCTGGGCTGGGCTGCGCTTCATGTGCGCGTTCGCGGTAGGCGTTGAAGCGGAAC
TCGAGCGGATCCATGCCAATACCGCGCGAGCTGTCTCATCTGCACTTCAGCGCGAAGTTCGCGGATGGTGAAGCGGAAACCGCGCA
TCGCGGACGACGCGGTGCGGTTGGTGTAGACGAGTATGTGTCGACTGACACGTTTCGCGACCGTATAGGGGCGGGGATAATGCGCGGC

GGCTCGACCTTCTGCGCGGTGTTCTCTCGGCACGCTCGCCGCCATATGGCTTCTCGCGCTTCAAGGTGCCGCTGGCCGACGATCTCCTGT
TCTTCATCCTGTGACGCGCATGATGCCGCCGATCGCGGTGGCGATCCCATCTACCTGATGTACCGCGAGTTGGCGCTGTCCGATAC
CGCGCTCGGATCCTTCTGCTCTACACGCGCGGTCAACGATATCGCTGGCGGTGTGGCTGCTCAAGGTGACGATCTCCCGG
GAGTATGAGGAAGCCGCGATGATCGACGGCTACACGCGGTGACGGCGTTCCGCAAGGTGGTTCTGCCGAGGCGACACCGGCATTG
CGGCGACCGCATCTTCTGCTGATCTTCTGCTGGAACGAATACGCTTCTGCTGCTGATCGGCGACGCGCGACACCGCGCC
GCCCTTCATCCCGACCATCATCGGCGAAGGCGGCGAGGACTGGCCGGCCGTGGCTGCGGGAACGACCGTCTTCTGGTGCCGATCCTG
GTCTTCAGGATCCTCCTCAGGAACAGCTGCTGCGCGGATACCTTCGGGGCGGTACGCAAAATGAGCGTGGGCGAGACAAAGGAAGCG
CCGTTTCAACTGGCCCCGCGCACTGCGCCGCGGGCTGCTCGAAAACATCGCCACGGCGATCATCGGCATCGGTTTCTGATGCTGTTT
CAGCCCTTCTGCGGTGTGCTCTACACATGGTCTGTTGTTGCGCACGGCGATGTTTCATCATCGTCTCGAAGTTCCCGG
AGTAGACGATGGCCGAGATACGCGTCCAAAACCTCAGGAAGGAATTCGGATCGTTCTGTTGGCGGTCCAGGATTCCAACCTCGTGGTCAA
CGATGGCGAGTTCTTCTGCTGATGCTCGGCGCTCGGGCTCGGCAAGACGACGACGCTGCGCATGATCGCCGCGCTTGAACCTGCGGACC
GGCGGACAGATCCTGCTCGGCGGCGACGACGCTCAGATGCTGAGGGCGCGGAGCGGACATCGCTTCTGTTTCCAGCTTTTTCGCGC
TCTATCCGCATATGAACGTGCGCAAGAATATGGGTTTCCCGCTCTTGGCGCAGGGCATGCGCAAGGCCGAGATCAGGGCGCGGTGTGCA
GGAGACCGCAAGCTTCTGCGGATCGACCATCTGCTCGACCGCCCGGTGTCGGGCTCGCCGGCGGCGACCGCCAGCGCGTGGCGCTC
GGCGGCGGATCTTCTGCTGATGCTCGGCGCTCGGGCTCGGCAAGCTCGGAACGCTCGACGCTCGGCGGCTTCCGCGATCTGAGTCC
ACGAACGCGCGAGCTGCATAATCGCATCCACGCGACGACGGTCTATGTGACGCGACGACGCTGGAAGCGATGTGATGGCCGACAA
GATCGCGGTGATGAACACGCGCTCATCGAGCAGTTTCGGCACGCGCAAGGAGATCTACGATCACCTGCAACGATGTTCTGTCGCCGAC
TTCATCGGTTTCGCCCAATGAATTTCTGAAGTTTCGGCGGCGCTTCTGCGAAGGGTGCAGAGGAGATCGTGGTGAAGGAGCGAATG
TCCGGTGCAGGAGTGCAGAGGCGTTTCGGCGAGCGCTTTCGGCTTGGCGTAAAGGCCGAGTTCGCGGCTTCCGCGATCTGAGTCC
GAAGCTGCGCGGCTCGATCTACGGCACGGAATATCTCGGCACCACGAGATCGTTCGGCTGGAGACGGGTGACGGCATGTGAAGGCG
CGGTTTCCCGCCGACATCAAGCTGCGCATGGGCGAGCCTGTCGGGCTGTGTTCAACCCGCAACGCTGTGCTGTTTCGAGAAGGCGT
CTGGCGCGCGGTCCACACAAGCGCCCGGGAACCCGTGGCGACGGGAGCGGCGCATGGTGAAGTTTCTGCTGCGCGGCGTATCCAAGG
GACCGGCTCGGAGTGCAGACCTCGGCGGCGGCGGCGACGAGGACCTCGGCGCGCGCACGGAACACCTGACCATCCAGAAGCGCGACGAC
CAAGACGACGACGCTACGGCTCGTTCGGGGCTCGAACGGCCCGACAGCGGCTCGATCGTATCGACGGCGCGACGTCACCAAGGTC
GCGCGGCGGCGCGCGACGTGGCCTTCTGTTTCCAGCAATATTCGCTCTACCCGATTTGACCGTGTTCGAGAACCTCGCCTTCCCGC
TCCGCTCGCCGCGCGCAATGTGGGCAAGCAGGAGATCGAACGCGGGTTCGCGGAGGTGGCGAAGCTGGTGCATCGACCAACAGCT
GGCGAAGCAGCTCGCTCTCGGCTCTCGGCGCGGAGATGCGAGCAGCTTTCGATCGGCGCGCGCTTCGAGGCTTCTGAGTCTGAGT
ATGGACGAGCGCTGTGCTGCTCGACGCGCAAGCTGCGCGGCGATCTCAGGCTCGAGCTCAAGCGCATCCAGGCCGAACCTGGCTCGA
CCATGCTCTATGTACGCGACGACGAGATCGAGGCGATGACCATGGCCGACCGCATCGGCATCCTCGCCGAGGACGGATGGTGCAGAT
CGGCACGCGGAGGAGATCTACACCGAACCGGCGAACCTGTCATGTCGCGCACGCTCGGTGACCGCGCGATCAATCTCTGCGCGCC
GACCTGCTCGCCGAGACCTCGGCGCGGCGGCGGCGACGAGGACCTCGGCGCGCGCACGGAACACCTGACCATCCAGAAGCGCGACGAC
GCCATTTCGAGCGGAACGATCGACTGGATCGAGCATCTCGGCGACGAGAACACCTGACGCTGACCGTGGCAGCGCGCAACCTGGTGAC
GCTGACCGATCCGACACGCTGTTTCGAAAGGGGCGACCGGTGACGATCCGCTTCAAGGCGCGCTCTATTTTACGGCGGTGGCAAC
AGGATGACCGGGTATGGAGGCGCGCCACCATGACAGACCGGATCTCAAGGCCCTGATCGCCGCGGTTCGGGACGCGATCGTCTGGTCA
TGCGAAGAGGTTCAACGCTCGACGAGCGATCGGCGACGCGCTCAAGGCGGCTTTCGAGGCTTTCGAGGCTTTCGAGGCTTTCGAGG
GATGCGCGGACACTTGGCGAGAAGCCTTTCCCGAAGCACTGAAGGCGATCGGCACCAAGCTGGTGATGACCCGTGGGCGGCGCATCGG
GACCGCTGTTTCGGGACGTTGTTTCATGACGCTCGGCAAGGAGATTTCGCGCGAACCGGCGCGCGGATTTTCGCGCGCGGTGGCGAA
TCTCATCGACGAGTTCGCGGCGCGCGGCAAGTTCGAGCGCGGACGAGAACCATGCTCGATGTGCTCTACCCGTTGACGAGTTCGCGGT
CGCGCGGCGAAGGCGCGCGGCAATCGCGGACATCGCGGACGCTTCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CGTCTTTCTCGGCGACCGCTCGATCGGCGCATATGGATGCGCGGAGCGCGCTCGACCGCGTTCGATCGTCCGCGGCAATCGCGGAACTCT
GGAGACCGACGCGTGAAGAATGTGCGCATCGTCTATCGTATCGCACTCGTCCAAGTTTCGCGAAGGACCGCGGACATGGTGGCGCAGA
TGGTTCGGCGAAGAGGTGCCGCTGGCGTGGTGGCGGCGCAACCGCGACGCGGCGTGGGCGCGAGGTTCGCGCGCATCATGGAGGCAAT
CGCAAGAGCTTGGTTCGAGGCGCGCGTTCGCAATCTCTGCTGATCTCGTGGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
GGCGGCGCGCTTCGCGAAGATCGTCTGCAACGCGCGGATCGTTCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CATCGCTCAAGGATGTAGTCCGACCGCGCACGAACTCGCGCGGCGATAGGACAAGATCGAGATGTGCGGCGACGATCGGCAAGAT
CGAGATACGCGACGCGGTGGGCGCTGATGCCCGTCCGTCGCTGAAATTCACCAAGCTGGCGAAAACCTTTCCAGCTTCGTTGGAATG
CGCTGTTCGGAAGCGCGCCCTGGATCGACGCGAAGTTCGATGTAAGGTTGATGGCGCGCAAGGCGCGAAGGGCACCAGCTCTATT
TGGCGCGCGAAGGAGCTGCGCAAGCATCGAGCGCTGTTGGCGGCTGGTTCACCCGCGATTTTCGACGAGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
GGCGCATGTGAGGAGCGCTGACAGGCTGCTGCGCGCGAAGACCGGCGCTGACATTACGCGGCGCGCGCGCATCGCGGGCTACGCGCA
AGGGCGCTTCCACCGGTTGGACACCAAGCGCTCTATTACGAACGAAAGCGCTTCCAGCGCTGGAAGCGAAGCGCTCAAGGCGGCGC
ATCGAGACATCAGCCAAACGCTTGGCGACCTCGTCTCGAAACACCGCGGAGCGCTGACATGCTGGAGTTCCAGATCGCATGCTG
TGCGGACGACTCGCTTTTCGGGCGCGGCGCTGACGCTATTCGAGCGGGAACGGCAGCGGACGCGGATGGTTCGCGCGCATGCAAGC
CGAAATCGACGGATATGAGACGGCGGCGACGAGTATTTCCGCGCACGCGCGGCGGCGGCTCAAGGACATCCGCGAGCGGTGCTGGAC
GTGCTGGGCGATGACGGCTCGTGGACGCTCCCGAGGCGGATCCTGGTTCGGCGAAGACATCGCGCGGCGGCGGCTTCTCGCCACCG
ACTGAGCGCAAGGCGGCGGCGATCGCGTGACGGCAGGAGTTTCGGCGAGCCACGTCGCGATGCTTGGCCGCTCGCGCGGCGTGGCGAT
GGTGTGCGGCTGGTTCGGTGGCGGCTGGAATTCGAGCGGCTGCGCTTTCGACGCGGGAACGGCAGCGGATGGTTCGCGCGGAGG
GGCGAAGCGGCGGCGCTTTTCAGATCCAATGCGGACGCTTTCGCGCAAGCGCGCGATGGCGGAGACCATCTGATCGGCGCGCGG
TGACCGCAACGCGACGCGGTGACCATGCTGATGAACGTCGCGCATCCGGAAGATGTGACGCGCATCGATATCGCAACCTGCGACGCG
CTCGGACTTATGCGAACGGAGTTCTGTTTCGGAGGGTCAAGCGGCTTGCCCGACGAGGAAACGCGATACCGCGCTATCGCAAGGTG
TCCGAATGGGCGCGCGGCAAGCCAGTGACGATCAGGACCGTTCGATGCGCGCGGCGGCAAGCCGGTGGCGGATTTACGGTGGAGGAGA
CCAATCCGTTCTTGGGTTGCGCGGCGATACGCTTGGCGTGGCGCGGCGGATGTGTTCCGCGATCCAGATCAGGGCGTTGCTCAGGGC
GGCGGTTACGGCAATCTGAAGGTCATGTTCCGATGATCGAGTGCAGGGAAGATATACGCTGCAAAAGCGATGTTTCGCGGAGGAA
CCCGGACGGCTTGGCGACACCGGATCCCTTTCGCAATGCCCGCGTGGGATCATGGTTCAGGTTGCCAGTGTGGCGGTTGGCGCGG
AGCTTTTCTCCGAAGCGCGGTTCTTCTGATCGGCTCCAACGATCTGACGCAATATGTGATGGCGGCGGCGGCGGCAATGATCATGTT
CGCGGCGCTCAACGCGGTGACGAACCGCGGCTGCTTCCGCTGATCGAGGCGGTGGCCAGCTTTCGAGCGGATCGCGGCTTCCGCTC
AGCTTGTGCGGCGACGCGCGCGGCGATCCCTGGCGATCCCGCACTGCTCAAGCGGGGACTGCGCGACCTTTCGTTGGTGCGCGGCGC
AGCTTGGCCGGGCGAAGGCGGCGGTCGCGCGGCGCACGCGCTGACATGGCCAGGAAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
ACGCGG
CGGCAAGCACCGCAGCTTCTGTCACCCAGATCACAGCGCGGCTTTCGACGCGGATTCGCTCGAAACATCTGCGGCGGATCTTTTCC
GTCTGCCATTTACGCGCGCAGGAGCGCGAAGCGTTCTGTCGCGGCTTACAGGTTGGCGCATCCGCGCAAGGCGCTCGATGGAGCGCGAGT
TGCGCGGTAGCAGGCATATCGCCTGACAGTGCCGATATGGGCGACGCAAGCAGAACGCGGCGCTCGACCGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CATACACAGGATCACGAGCATCGCGCGCAAGGCGGCTGAGCGGCTGAGCGCTGAGCGAAGGAGGAGTGACCATGAAGAAGTTT
ATCAATGCGGTTCGAGGACGTGCTGACGGAAGCCTGACGCGCATCGTTCGCGGCGCATTCGACATCCTGACGCTTGGCGGCGGCGGCGG
AGTTTCATCCGCGCAAGGTGCTGAAGCGGCGCAAGGTTCGCGCTTATCTCGGCGCGGCGGCTCCGCGCATGAGCCATTGACGCGCGGCT
GGTTCGGGATGGCATGCTCGACGCGGCTTGGCCGGGCGAGGTTTACCTTCGCGGACGCGCGGACAGATGATGAGGCGGTTGGCGGAC
GTGACACCGCGCGGCGGCTGCTTCTCATGTCGAAGAACTACGAAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
CGGTGCTGACGAGTCTCATCAATGACGAGCTGGCAGTGGAGGACTCTCTTTCACGACAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG

GGTGGAGAAAGTCTCTGGGCGCCGCGCAGAAAGAGGGGCGCCCGCTCGCCGCGCTGAAGACGCTCGGCGACAAGGTGAACCGCGCGACG
CGCTCGATGGGCGTGGCGCTGACCTCTCGATCGTCCCGGCGCGGGCAAGCCCAATTTGAGATCGCGGACGACGAAATGGAATTCG
GCGTTGGCATCCATGCGGAACCGGGCGCGCGCCAGCTCTCGCGCGGATGCGATCGCGCGGAAATCTCGCGCGCGCGCTCGT
CGGCGACCTCGGAGCGCGCGCCAGGGACAACGCCCTGCTGTTCTGTAACGGCTTCGGCGGCACACCGTCGATGGAGCTTTACCTGATG
TACAACAGCGCGCGAAAGATGCTGGAACGGCATGGCGTGACGATCGCGCGCTCGTGGTCGGCAGCTATGTAACCTCGCTTGAGATGG
CGGGCTGCTCGATTACGCTGACCATGCTCGACGATGAGACCGCGCGGCTGTGGGACGCACCGGTTACACCGCGCGCTCGCTGGGG
CATGTGAAGCCGTCGTGCGTCAGTGCGAGAGCAGCACCGAACGAAAGATCCGAAAGAACCGCGCGCGCTCGCGCGCGCGGAA
ATCGCGCAGCGCGAATGGCCATAACCAACCCATCACCAGCAGGTTGACGTCACGCTCCAGCGCGCAAGTTGAAGAGTCTCGGCGATC
GGACAGTCTCCAGATCGAGCACAACTGCTGCGCGCGCAGACCGACTCGCGGAGCGCGCGCGGAGGCGTTGCGCGCATCTCTTT
CCTTGATCGGCTTCTGTCATAGACCGTGAGAACGGAATTTCTTGGCGTGCTGCAGAAAAGCGCGGCGATCGGCGACAGCCCGCGC
AGCCGCGCGCTCTCAACCTCCAGCGCATCGCCACATGGTCAAGCGCGATGGCTTGAGCCTGTGCGGCACGAGAACCGCGCGCGC
GAGCCGAACACGACGACCTCCGCCATCATGCGGCTGGTTTCTGTTGCCAAATTAACAGGGAGCAGGCTCAAGTCGAGGTAGCGGGCAT
GCACCGCGCCACATCGCGGAGCGCGCGCATCGCGCGGTACCGGATACGGCCGAGACTTCGACGCCAATCGCGGTGGCTTGGGCTC
TACAAGATGCGCCAGCGGTGCGCCTCGATGCGGCTCTTGGTCTCCGCGTCGCGGATCAATTGCGGCGTGTGAGGAGAAATTCGAC
AGCGCTACGAGCTCGGAAATGTGCGCTTGATGCGCAACGACGAGCATCGCGCAATTTGGCGCGCATCTCGCGCGCATCTGAGCTTGC
CGAGCGCGGCTCGCGCATGCTCTCGGATAGGTGGCGATGGGCGAAATGCGTGTGCTTTCATGACGTTTCTCTCTCTCGCGC
GTTGGCGGTGGGGCATGATGCCGATTTTCCGAGGTGTAAACAGACAATCCGCGCGATTACTTGATCCGCGTCAAGGAGCGGCATCG
ACGGAATGGATAGGAGCTATCCCTGTGCGGTCCCGATGCGCGCGATTGCCGGCCCGGCTTTGTGCGCACTACAAGAGACCCCTCAGAGTT
AAAGCGACTCTCAACCTTCCGCGCATGAAAGATTTTCCGCGCATGCGCAACGAGCATCTGAGAGCAGCGATCTTCTGAGCTTGCAGGCG
GCGGCTATACGTTTGGCGTTGTGCGCTGCGCCCTCTCTTCCGGCTGGCCTTTCTTCTGAACGGGCTGTGGCGGGCGGCGCACTGCT
GCTTCTCTGTTCCGCGGTGTGCGCGCAGCGCTGATCGCGCGCGCGGTCCCGGCTTTTTCGAACCGTTCTGTCCATCGCGCGCGC
CGGTATCTGGGCGACCCCGCGCGCGCTTCTGATATTCGCGCGCGTCTCGTGGCGATGGCTGGGCGGGAGGGATGCTCCACCGCG
ACGCGCGCATCTCGGAAACGAGAGACCGCATTCGCGCGCGCATCTGAGATCTATCTCGACACCTTCTGAGCTTCTGCGCGCGC
CGTGGTCTATCGACACGAAGGGCACCATCGTCTCTTACGCGCGCGCGGTGCGGCAGTTGCGGTATGCCGAGCAGGAGCGGTGCGG
CACACGTGCATATGCTGATGCCGGAACCTACCATGCGGAGCAGACGCTATCTCGCCGATATATGACCACGCGCGAGCCGCGCA
TCATCGGTATTGACCGCGCTCGTCTGCGGCGCGCGCAAGGACGGCTCGACCTTTCGATGAAGCTCGCGCGGAGATGAAATCTGG
CTGATCGAGGAGCCGCTGCTTACAGGCTTACGCGGACCTCGCAACGAGGAATCGCGCGCGAGGCTCGAGGAGTACAGGCGCAACT
GCCGCGGTGGCGCGCTGAACGAGCTTGGCGAAATGGCGTCGACCTTGGCGCATGAACTGAACAGCGGTTGGCCACGATCGCAAACT
ACACGAGGGCTGCGTGCCTGTGCGCGACATGGACGACGCGGTGCGGATCGGATGCGCGAGGCGCTGGAGGAAACCGCCAGGCA
ATCGCTGCGCGGGGCGCGCATCATCCGGCACCTGCGCGAATTCGTGACGCGCGCGGAGACCGAAAGTCAACCGCACGATATCCGCAAG
CTGATCGAGGAGCCGCTGCTGCTTGGTGGCTTCGCGCAACGCGCGCTCAGGAGCACATTTCTGAGCTTCGGGCGAGGCGCGCTA
CCGTCATGGTCGACCGCATCCAGATCCAGCAGGTCTGATCAACTTGATCCGCAACGGCATGGAAGCCATGCGGAGCAGCAGACATCG
CGACTGACGATACGACACGCGCCGGAAGGGGCGACATCGATAAGGGTTCGACGTTTCAGACACGGGCGCGGCGATACCCGAAGACATC
CGCGCCCGGCTTTTCCAGCCCTTCGTACCAACAAGCGGGGCGCGATGGGAATCGGACTTTCGATCTCCAAACGCATATCGAGGCGC
ATGGCGGTGAATTCGACTAGCCCTAACCTTTACGTTGGTGCAACCTTCAGTTTCTCGTTCGCTGCGCCACTTCGCGCGCGCG
AGCCGGCAAGAGGAGAGCGATGCTGACCGGTGACTATGCTGTTTCATATCGTCGATGACGAGGAGCCGCTGCGCAAGTCTGCTGGCTTT
CCTTTGTGATGGCCGGTTTCGCGGTGCGGGTGACGACTCCGCGACAGCTTCTGCGCTGTGCTCCCGGCTCAGCAAGGGATGT
CTGGTGACCGCATCTCAGGATGCCGGACATGAGCGGTGTGGAACGTGCTCGAGCAACTGGCGACGGCGAAGCGGTGATGCCGCGCATCG
TCATACCGGECATGGCGAGCTGCGGATGCTGCTGTCGCAATGAAGCGGAGCTCTGACTTCATCGAGAAACCTTTGAGGACAA
AGTCTGATCGAGGCCATTCGCGGTGCTGCGGAACGTATTCGCGCCCGCATTCGCGCATCGGATGACGCGGATGCGATCCGTCGCCG
ATCGAACAGCTCAGCGAGCGGAGCGGAGGTGCTCGGAGCCGTGCTGGCGCGCTGCCGAACAAGACAATCGCCTACGACCTGAATA
TCAGTCCACGCACGGTGAGGTCATCGCGCCAGCGTGATGGCAAGATGACAGGCCAAAGCCTGCCGAGCTCGTGCGCATGTGCT
CTGACGAGAAGCCGCGCACCATATTTGATCTGGCGCAATGCCAGGCATCGCGCTCCGCGTAGCAATAGGATCAACCGCATCGCACA
GCGCGCGGACACTTTTCGTTGACAACGCGCCCGCTCGTCTGTTGTCGCGCCAGACCGAGCTTTCGCGCGCTCGCTCGAGTTGCG
TTGACAGCGGAAGGGTTTTCGCTCGAGTCCATCCGAGATCGGGCTGGCAATCGCAACGCGGGTGGCTGACGCAAGCTGCGCGA
TCGTCGACGACAGGGCCGTCGAGAATGGGCCGAAGCCATCGTACGTTTTCGACGCTTCGCTGCGCCAGTGATCTTTCTGGCGGGCGA
GAAGTCCATGCCCTGCCCTGCCGACGCTGACGGTGCTGACAAAGCCTTTTCTGGGACGACCGCTGATCGACCGCTCATGCGATC
GCCCGCAAAACCGCGCAAGGTCCTACGTAGATTCCTACGAAGATACCAAGAAATTTCAATGCGGCTGCCCTTGGCCACTGCTTTCG
GTATCGAGAACCGATGCGGAGAAAGACGATGACGCTGCGCCAGACCTTTACAGCCCGGATTTCGATCTCCGAAACTGGACCGCGC
GCAATCCGTGCCCTCCGTATTGCAAGATCCGACCCGCGGACCTTCTATCCGGCGGAGCGGAGATTTACGCGCAGGGCGAAATCGCC
GGCAAACTCTTCGGGTGAGTTTCGCGCGCTTCGCGCTTACCGCCTGCTTGGCGACGAGCGCGCCAGATCTCGGCTTCCACCTCG
CCGAGAGAGTTTTTCGAGCGCGGAGCATCTTCTTCGCGAGACGATCGCCGTTTCGCGCATTCAGTGTATGCGGCG
GGCGCGCGCGCGCAGCTTTCGCGCAACTGATGCTATCGACTCCAGGTTCTGGTCCGGGCCAGGAACATCTCTCTGCTGCTGCGC
CGCAAGCGGCGGAGAACGTTTGGCGCGGTTTCTGGTCGATATGGCGGAACGCGCAAGGTGATCTGATGAGGTGACCTGCCGATGT
CGCGGACGACATTGGCGACTATCTTGGTCTGACGATGAGACAGTGTGCGCGGTGTTGAGTGCCTCAAGCAGAAAGCGGTGATCCG
GCTGCCAATCTCAGAAGCGTCGAGATCTCAAGCGCGAGCATCTGCGCGCTTCTGAGCTGCTTCTGCGCGCAGGCGCATCGGCG
CGCGGAGCTTCTGACCTGCGAGCGGATGTCCGGGACGCGGACGATCTCCAGAACGCACCGACCGTTCGCGGACCGACGCGCAAGAC
GCGCGCGACGCTTGCCTGCGCATCGAGCGTCGACAGTTCGCGGTGACGTCACGCGGAGGCGCAGCGGATCCGGCTCAGCCG
CCGTGCGCAACAGCGCGCGCAGCAGCGGATTGCCCGTCGACTGCGAATCGGGGCTGTGGCTTCGGCAGTCGATCACATAGTCCGCT
CGATGGTTCGCTTCGCGACCGGTTCTCGCGGGAACAACCGCACTTTCGCGCCGGCGCGCTTTCCTCGTGCGGCGCCAGCGCGC
AAAAACCGCGAGTTGTCCCGAAGCCTTCGCGCCTCGATGCGATCATGTATCTCCGGCGCCATTCGATGCCGATGGACATCCACCAG
GGCGCGCATGCGCGCAGGAAACGCGCTTCTCGACGCGCGGTAGGCTGCGCCAGATTTCTGGCTATAGGGACGAGGCTGTGACGA
CCGAGCGCCAGTCTCCCTGGCGCTCGGCTCGACCTGCCGCAACCGTTCGCGCACCCATCGACAGAGCCGCGACACCGACGCTTCGGC
AGGCAAGTCGAGTTTTTCGAGCGGCGCAGGCGCGCGGCTTGTGTCGCGGCTTGGCACAAGGCGCGCGGAAATCGCGCGCATC
GGGCGCTGTGGCTTTGTTGAGGAGCGACATGACGCTGTGACCATGGACAGACCGGTGCCGACCACCAACCGAGGCGTCAGGGG
GAATGTGCAAAACCGGATGGGCTCGACCAATAATCGCGCGCGCACGCGGAGCCTTGGCGCGGGGCTCTGTTGCCGCTCGCAAGCAC
CGCGCATTCGCGCGGATAGCGTGACCGCTCGGAGGCGCAGGTTCCACGCCATCCGGGCGCTCGACGAGATCGACGACCTGCTTTTCG
TGAGTTGAAGCCGTCGCTGGCAAGCTGACGCTGCGGAGGAGGAGTTCAGCGCATTCGATAGAGAAACCATTCGCGATCTGATGGCTATCC
GCCGATCAGATCAACGCACTATGTGACAGTGTCCAAGAAAATTCGACGCGGGGATGGTTCACTTACGTGGACCCGCGCGCGGCGAG
ACCGCTGGAATCAACTGTGGTGACGCAAGGTGAAACGCGTCCCTCAAGTCTTGTGCGATATCCGGTCTATGATGGTGGTTCGCG
GTGGCAGACCGTTCGCGCGGGGCTGATCGCACCGCGCTCTTTAAATCCAGAGGAAAACCCCATGACCAGATGACCGCAAGGACTT
TCGCGAGGAATCGCTGGAATCTACGATTATTACGCGCAGCGAAAAATCAACAGCGCGAGTTCTTGTGCTGCGCGCAATTCGCG
GTCGGGGCGGTGACCGCGCGCGGCTCGTGGCTGCTGTCGCCGATTATGCGCTGGCCAGCAGGTGCAATTCACCGATCCCGACA

TTCTTCCCTCCGAATACATCACCTACCTACGTCGCCCAAGGGGGCATGGCGAGGTCGCGGGCTATCTGGTGCTGCCTGCCAAGCTCGACGGCAAGGGCGCGCGCTTGTGCTCGTTACACGAAAACCGTGGCCCTCAACCCCTACATCGAGGACGTCGCGCGCGCGCTCGCCAAGCGAGGCTTCATTGCGCTTGGCGCGGACGGGCTGACCTCGGTGGTTCATCGGGCAATGACGAAAAGGCGCGAGCTTCAAGCAAGGTCGACC CGGAAAGAGCTGATGAACGACTTCTTCGCCGCCATCGAATTCATGATGGCGACGAAAATGACCGCGAAGTTGGCATACCCGGCTTCTGCTACGGCGCGCGGTGTCAAATGCGGCAGCGGTGGCCTATCCGGAATGGCAGCGCGCTTCTCTTCTACGGCCGCCAGGCGCGCGTCGAGGACGTCGCGCGCATCAAGGCGCGCTTCTCCTTCTTCGCGCAACTCGACACCCGCATCAACGAAAGGCTGGCCGGGCTACGAGGCGCTCTGAAGGCCAACAAACAAGGCTTACGAGGGCTACGTGTATCCAGGCGCTCAACCCAGCTTCCACAAGTATCCACGCCACCTACAGACGAAGCTCGGCCAAGAGCTGCCTGGGACCGACGATCGCTGGTTCAAGAAGTATCTGGCTGATCACCAGAGGGCGCGCGCGCCCGAAGCGCGCTCCGGTGGGCCGCAAGAACCGGTTGCGAACCACCTGATTGCAAAACCCACCGCGCGCGCTCGAGATCGAGCGTCGCGCGCCAGAGCCTCGACGCGATCCGCGCAACTCTGGCGCTTTTGGCGCTCGATCCGCGCGATGGCATGCGACCCGGTCCCGTGGCGTTTGCGATGACACGGCCGCTTCTCTCGTCGATTCCTCAAAAGGCGCTACGCGCGGCTCCACCTGCCAATCCAGCAACTCAAAATCTGGCCGATCATGTTTCGCGCCTCTAGTGACACAGACGAATCGAAGACTTTTGATGCGCACAGCATGATCAGGCCCTCGGCGCAATCGCGGAACCTCCCTTCAAGCTCGGAGTCGGAAGCGGATTGTGCGGGCTGCGCGCATAGTTCTCGTCGGCCAGCGCTCGATATGCCGCGCTGCTCCTCGTCGTCACCTCGATCTTCGAGCGGATGCGGTCCAGCCCATGTCTCGATCGCATGGTTCGAACCGCGTCTCGATGCGTCTGCTGATCTCTGCGAAGCGCGGACGAAATCGTACGAAATCTGTCGGCTGAAATCTTCCCTCGAGCTCCGTCGCGCATGCGGACGCGAAGCGGATGGGACCGAGCAGCTTGCTGCCAGCCTTCAGCTCACCGACGCGATGTCGTGCGCGCTCAGTCCGTTCTCCGCGATCAGGAAGAGCATCGCTCCATGCTCGGATGGGTGAGCACACCGGACGGATAGGTTTGATCGAGACGCCGGGCTTCTCATCGCGTGGCGCTTCCGCGAAGCGGTCGCGCACGAGAGCCGGCTCCCGCGCGGACCGGCGCATCGCCAGATCCCCCTCGAGCGCTTCAGATTCGCGGAGAGGCGGCTGGCGTGGCAGAGCGCGCGCTCACGCGCTTTCGCGCGCGCGCGCGCATGCGATCGCTGCGTCCGTCGAGCTGCGGTCCGACGCGCATCGGCTTGTGTCGCGAAGCGCGGCGGATCGCTGCGGACGCGGATCGCGGACGCGGATCGAGCGCGCTGCGCGACGCCCCCGCATTGAGGCGGAGCATCTTTGCGCGCGCTGCGCGCGCGCGCAAAAGGTGCCGATTGTGCCGGAGGTGTGGAAGCGCGCTCATGTAGTGGTCCGGATTGATCGCGCTCGGCCACCTTGCAGCCCACTCGAAACCCCGGAAATGCCGTAGGAACCGTTTGGCTCGACCGGCGCTCCGCTCCGCTCCGCGACAACAGATCCGACATCGCATCGTCAAGCGCGCATGAGCGCGGCGGATGGTGGGGTGCACTAAAGAGGCGTAGGGGCGCGCGGCTCTTCGCGGAGTTGCGTGTGCTCCAGTCATCGCGTGCCGCGGCGCTTCGCGCCAGAGCGCGGCGAGATGCGCGCGCACCCCGCGCTCCGGCTTGCAGATGAGACGCGCTGCGGCGTACCGCGAGACTCTCGATGTAAGCCCCAATGGCCCTCATTCGCGGTGATCGGACCCGCGAGCGCGACGCGGAGACCATCGAGCGCAGCGCGCGCGATGCAAGCGCTCTCTCGTCAAGTTCGCCGATTCGAGATCGAGACGAGAAGTTGAGGCTGAGGCGCGCTTGGTCAGGCGCGTCAGATGCGCATGCGGTCGGGTCGGGTGCACTAAAGAGGCGTAGGGGCGCGCGGCTCTTCGCGGAGTTGCGTGTGCTCCAGTCATCGCGTGCCGCGCGGCGCTTCGCGCCAGAGCGCGGCGAGATGCGCGCGCACCCCGCGCTCCGGCTTGCAGATGAGACGCGCTGCGGCGTACCGCGAGACTCTCGATGTAAGCCCCAATGGCCCTCATTCGCGGTGATCGGACCCGCGAGCGCGACGCGGAGACCATCGAGCGCAGCGCGCGCGATGCAAGCGCTCTCTCGTCAAGTTCGCCGATTCGAGATCGAGACGAGAAGTTGAGGCTGAGGCGCGCTTGGTCAGGCGCGTCAGATGCGCATGCGGTCGGGTCGGGTGCACTAAAGAGGCGTAGGGGCGCGCGGCTCTTCGCGGAGTTGCGTGTGCTCCAGTCATCGCGTGCCGCGCGGCGGCGGCGACGGCGACACGTCGCGCTTCGTGCGCATATCACCCGTCCTCGATGGGATGCGCGCGCAGATGAGCGGCGTGTGACCATCGCATAGCGATGCCTGCGCGCTCGAGCGCGCGCATCATACCTCTGTCGGCGGAGTTTGAAAGAGGCCCCGATCCGAGCCGTCATTTCCGCGCGGTTCTCGATCCGCGGAAATGCGTCGGCGAGCTGAGTTCGCGAAGCGCGGATCGGTGCGCAACGCGCGCTGCGTTCGCGAAGCGCGGCTGCGCCATCGACCTCGCGATGCGCATGCGGATGCGAAGGAAATGCGCACTGAGCGCGGTTCAACTCTTCCAGCACGTCACAGCGGAGCGGAGACGCGCCACTGCACCGGGCTGAGATTTTCCACGAAGACGTCGCGCTTCGCGAGCATCGCTTCAGAAGCGCCAGGTGCGCTGCTGCTTCAAGTTCGAGCGCGCATCGACTGCTTGGCGGTTACGCCAGATGAAATAGGTGGACTGCCCTTGGAAGCTGGTCGATTGGCGCGCAAAATCTCCC TCAGCGCGCTCAACCTTGATGATCAGCGCGCCCGGATCCGCGAGCGCGAGGTGCAAGAGGGGCGGCCACTGCCTGTTCCAGCGAGA CGACAAGCAATCCATGCAGCGGTCCGGCCATCGCTCCGGTTCTCAATAGGAACGGGGCATGCCGAGAACATGCTCGGACAGATAGGC AAGGATGAGGTTCTGTCGAGATGCGGCGCCACCTGGTAGAGCGCGGTTTCGCGGAACTTGCCTTCGATCGATTCCTCTCGGCGAAGCGG AAGCCGCGCATGGGTCTGAGGCGAGTATCGGCGGCTGCCAGGAGGCGCTCGGAAGCGAGCAGCTTGGCCATGTTGGCTCCGGGCGCG AGGCTTCGCCCGCATCGAAGCGTTTCGCGCGCCGTTAGACATCAGCTTCGCGCGCTCCGTCGCGCATAGGCGCGCGCATCGGGAA CTGAACGCGCTGGTTCTGCGCGATCGGCGCGCCGAAGACGATGCGCTCGTTGGCGTAGCGCGCAGCGGTTTTCTGTAACACGCGCA TCGCGCATGATATCGCGCGCATCAGGATCGCTCGGCATTATCCCATCGAGGATGATAGCCAAAACCTTGGCCCTCTCGCGCATCA GGTGTGCGCGCGGATTTCCGATTTGCGAAGAAGACCTCGGTCTGCTCGCATGATTAGCATATGCGCGGATCGGCTTAATCGAGAGCCC GTTGGCAGTGTCTGCTTTCATGTGACGAGGAAGCGGAGAGCCGCTGCGATTCTTCGCACCTTGTCTCTGTTGGTGGCGGCA AGCAGGATCATCAGGTTCGGAATGTTTCGGCCCGCGAGGTCCAGACCTTCTGGCCGTTGATCATATAGTCTCGCCGCGCTTCTCCGCAA AAGTTCGCGATCGATGTCGTGTGCGTCCGGCGCGCGGCTCTGTGACGCGGAAGGCTGAAAGCGGGTCTTGGCGTGGGCATTTCCG GACGCACAGCGCTTCTCGACCTCGTTCCGTGACGACGAGCGTCCCCATCGCTGATCTGCGCATGGAGCGCGCGGCGATTTCGAG CCTGTGATAGGACTTCTTCCAGAATGTTTGGCGCGCACCGGATGCTCCGCGTGCCTTCATACGCTCCGGAATCAGACCGCGA GAAAGCCACCTTCGGTCATCGCGTGGACGAAGGCGCTCGGATAGGCCTTTTCCGGTCGAGCGCGCGCCAGTATTCGCCCGGAAAGGC GGGCGAAAGGGCGCGCAGCGCATGGCGGATTTTCGCGGATCATGTGCGCGTGGCGGTCGATGGCTGCTCTCTGTTATGGCTACTCCT CTCGCTCCGCTCTCAGGTGCTGTCGCTTCGCGCATCGCCCTGATCAGCGCGGAATTCGCTCGAAGCCGATGCCCCGCGCATCGG CAGGCGACGCGACCGTCTCGATGCGGTTGCCATCGGCGAAACCGCAGAACCGGTTGAAGACTTCGGATAGGATGCTTGGCGCGCA AGCTTCAGGCGGCGCGCATGTTACGCGACAGCTGGTGCCCGCATGGGGAATGCAGTTGCGGCTGGAAAAGCCCTCCTTGCCGATCG CTTTCAGCGTGGCGAGATATTCGACAGCCCGTAGAGAGCGCGCAATCGAATCGAGCCAACTCGATCGGCGCGCATGCCCGGTA GCGCGCAAGATTGCGGGATCTGATGCGCAAAACAGGTTCTCGCGGTCGCCATCGGCGCGGATGACCTTCGCGAGTTCGCGCTG ATATGCTAGTCGAGCGGCTCGCGGCTCTCTGTCAGCAGAAGAGATTGTAGGGCTTCATCGCTCGCATAGGCGAGCGGCTTTCGA GGTCAAAGCGGCGGTTGGCGTCGACGCGGAGACACTTGCCCTCGCCACCACATCCAGCACCGCTTCGATGCGGCGGATGTCCTCGTC GAGCGGCGCGCGCGCATCTTATCTTGACGACTTCGTAGCCATGCGCGCATAGCGCGCATCTCGTCTGGAGCTGGCTGTCTGCTC TTGCGCGGATAGTAGTACGCGCGCGGATAGACAAACCCGACGTGTCGTGGCTGCCATCACCATAGGTATCGGCGCATGCTTGT AGAGCGGACGCGCGGATCTTGGCGACGCGCTCCAGACGCGCATGTGACAGACGCGCAGCGGACCGACCGCTGCCATCGCCACGCG CGGCTTCTCGTTGACCATCATCGCCGCGCAGATCTGTGCGGATCGAGGTTGTGCGCGCGCTCGTTGACGAAGCTCTCCGGCTTCGCC TCGCGCAGGCGCGGACGGAAGCGTTGTTTCAGCAGCGCCGCTCGCCGATACCGCGGCTTCAATGAAAGCGGTAGCCGATACCGGCT TGCCGCTCTTACCTGATCGGTACGACGCGCACGCGCTCGGCTCATCTCGAGAAATCGATGAAGCGGTCGGATGGGCGAGCA GATGAGACACCGGCTCTCGAATGTGACAGATTTTCATAGGCTCTTGCTTTTGACAGCCCGCAATCGCACGACGAGCGGCGGCG CGATGATGTTGGTGAGGAAGGAACGGGTGAACTGGAAACCGGCGACGATTGCGCGCGGCGCGCGGAGCGCTTGGCCGAAGCGATCAT CTCGCGAGACCGCGCGGGGCGACCCGAGCGCCAGCGAGACGGGCGGACATCCACGAAAGGCGGAGCACCGGACGAGAAGCCGAAG ACCATGAAGAGGATGAGGCGCGCGTGCAGATGACGGCGGCAACGCCGCTCGCGGACGCGCGCGCAAACTCTTCTTTCAGCCGTC GCGCGACGCAAGCGCA

7.11 Das Cosmid slc_2g

7.11.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
1101	Potentielle Protease	1	633	-
1102	Hypothetisches Protein	704	1066	-
1103	Potentielle Protease <i>yuxL</i> (EC 3.4.21.-)	1332	3548	+
1104	Konserviertes Protein	3711	7052	-
1105	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	7244	7813	-
1106	Konserviertes Protein	7889	8299	-
1107	Konserviertes Protein (pfam04412)	8299	9570	-
1108	Konserviertes Membran-assoziiertes Protein	9656	10438	-
1109	Threonin-Dehydratase (EC 4.2.1.16)	10671	11711	+
1110	Potentielles osmotisch induzierbares Protein	11942	12385	-
1111	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	12479	13471	-
1112	γ -Glutamyl-Transpeptidase	13512	15179	-
1113	Glutamin-Synthetase	15464	17668	+
1114	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	17787	21014	+
1115	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	21122	23632	+
1116	Potentielle Threonin-Dehydratase (EC 4.2.1.16)	24062	25039	-
1117	COG2989, Uncharakterisiertes in Bakterien konserviertes Protein	25023	26792	+
1118	Glutamin-Synthetase	26935	28239	-
1119	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	28291	29256	+
1120	Konserviertes Protein (COG2107)	29330	30178	+
1121	Potentielles Sensor-Protein AtoS (EC 2.7.3.-)	30203	33358	+
1122	Hypothetisches Protein	33585	34253	+
1123	Potentielle Sensor-Hisidin-Kinase	34278	35867	+
1124	Hypothetisches „response-regulator-receiver“ Protein	36001	36357	+
1125	Hypothetisches Protein	36490	37011	+
1126	Potentielle Kurzketten-Dehydrogenase/Reduktase	37008	37727	+
1127	Hypothetisches Protein	37724	38617	+
1128	Hypothetisches Protein	38895	39068	+

7.11.2 Die Sequenz des Cosmides slc_2g

CGCCGTCGGGGCTGGGCTCGCGAATACGCCGTCAGCCAGCATGGCGTTCGCGCCGGTTCGCCCGCTCCTCGGCGGGCTGGAAGACAAAC
ACGACTGTGCCGGCGAGCGAGTCGCGCACCCTGGTGCAGCATCGTCGCGAGCGCGACGCCGATCGTGGTGTGGACGTCATGCCCGCAGA
TGTGCCGGATCCCGGGACGACCGAACGGAACCTCCACGGGATCCGGAGCCGTCGACGCGACCGCGTCCATGTGCGGCTCGGTAGGCAAC
CACC GGACCCGGGCGCCGCCACGAGGATCGCGACCACACCGTGGCCCTCCAACGCCCGTGCACCTCCAGGCCAGCTGCCGCATC
GCCGACGACGACACCCGGCCGTGCGTGTCTCGAATCCGGAGACTTCCGGATGGCGGTGCAGGTGCGGTGCGAATTCACCATGCGCG
CCGAGTCGCGGACAAGTACCGATCGTAACGTCTCGGCGACGGGCCGGGTGGAATCGGTGCGAACGACGCTCCTCCCGGCGACTGCCG
GCAGGCGATGGTGGCGACGAAGCAGAGAGTGAGCGTGCGGACGATGGGCATCGAGGCGAATCGGCAGTATGACCAACCTAGGTCCGCC
CGGACACCCAACGACACTCGCCGATGACAGAACGTCCGGCCCGGTGGCAGGCCGACGCTGGGTCCGTGGTGTTCGACGCTCCCGGT
CAGAACGGAGGGATGAACAGGTTGACCTTCTCCCCGCCACGACCGTGATCTCGTCGTGACCTGGTTGCCGCGCGCCCGATCGGGT
GCACCGCAATCGCAGCGACGCGCCACTGAACAGCAGGTGCGGGGGGATCGTGAGCTTGCCGACGGTCAGCCCGGTACCGTTCCAG
CCGCTGTACCCGAGGCCGTGCACGGCATAGATACCGCGTCGTTGAACGCCGTGTTCTCGACTTCGAGGACGGTGCGACCCTGCTTC

CGGTGTCATCGTGACTGACCATAACAAGCCAGTCGCGTGCCAGCGCAGGTGACTTTCGCCACATCGGCACCGTGACTTCCCGGCATCGC
GACCGTATCGGTGAGGTCGACGAAATCGGCATGAGCGATCATGCCCTGCACACCTCATTGGACCACGTTACCTTGCCAGACGCCA
GCACCTCGAGCTCGCGCGCCGATGCGAGAGTGCGTAGTCTGCCGCGAGAGTACCACGATCGGACACCGTCCCATACGACGCCATC
CGCCACGAGCGCGCCGATCACCAGGATCGGGTCGGCCGTGCGGAGCAGATCGCGGCAGGGCCACGCCCGCCCGGATCACTTCCGCG
AGCAGCTCGAACTCGAGCTCGACCCGCGACCGTTCGGCATCAGGAGCACACGCCCGCGATCGAGGCGCCATGCTGCGGATGGTGCA
CGTCGATGACCGTGCTTCGCGCTCATGCACGCCGCCCAGAAGCTCAATGGCTCACTGAGTGCGACCACCGCGCCGCGCGCTCACC
CGCTACAAGCACTTCGCGCGCCTGCATCATGCTCGATCAACCGCGCGCAGCGCTCATCGCGCCACACGTCCTCCGACGCGCGACT
CCACGCATTCTCCAGGGTCCCGAACACCACTCGTACCCGAGGTTGCCGGGAGCATACCACGCCCACTTCGCGGAGTTTGTATCAC
GGCGCCGGCGCGCGCGAGGATGGGCGTGAGGTACGTGCACGTGTCCGTACGATCTTCACGCCGAGGCGTTCGCAACTCGACTTCC
CATCCGCGATCGGCCACGGCCTGCAGCACCTCAGCCCCGTGACACGTAGAACGCAATCGCCTCGTTACGGGGCGCCCCGCGAATA
GTGCTGCGAATCGCTCGAACTCGGTGAGCGAGAAGTCCGCGCTGCCAACGCTCAGCGCCCCAGGCGTTCGAACGCTCGCGCGAGC
CGCGCCATGCCCTCCGCCATGTGCGGGGACCGAACGTACCGTGCGCTCGGGAGCCCGGCCACCAAGCGCGCGTTCGAGCGTGGG
GCCTCGGGCGTGAGCCAACGACGTGAAACATCGCCACGGCGCGAGCCGATGCCGTGCTGCACCGAGGCGTTGAGCTGGTCTTCG
TCGCGGTGGGACCGCGATGATGGCGGGGATCAGCCCCGCGAGCTTCGCGCCGACGAAGTGGCCCGAGTGGCGAAGAAGACGTGCG
CTCGCTGAGTGTGAGTTCGAAATCCCTCAACGAGTACGACACCGCGCGCCGCGGATCGGTGTGCGCCGCGGATCGGTGCGCGC
CATCCCGTGAGCGCGCGCGATGTCCATGAAGTCGCGGTAGCGCTCGGTGCGCGCACCGGAGCACGCTGTTGCGAGAACACGATCGCGT
TGATTTCGCCCCAGCGACCTGCTCGCCGAGGTGGGGCGGATCGACGAGTTGGTACGGCGCACAGGTCCACGTTTTCGCGCATCCCAT
CGCCCGGTAGTACCGCATCATATCGCGACCCCGCGCGCCACCTCTGGAGGGCCGCGAAAGAGCTCGGGGTGCAACAGGTCCACGATG
CCACGCTGAGTGTGCTCGGTACGCGCACTACGCCCCCGCGCGCTGCCAACGCTCAGCGGCTTCGTCGTGCGAAGTTCGCGCGATCA
GGCACCCGTCTACGTGTGCGCGAGTGATCGGCAGCAGCGACACGGCGCTGGTACCGGCCCATGCGCGTCACGAGCCGCATTGCGAG
CTGACCGCGGGGCGCTCGCACCCGCCAGGAGTGCCTGTGTGTGCTGCGTGAGCGCAGGGTACGTCGCTGTATCCCGGTCCGGT
GAGCGGAGCGAGCCGAGAACCAGGACCCAGCGTGTCTTGTCCGGGATGACCGGGACTTGTGTATCGCGTGACGCGCAGCATCAG
CTACCGCTGAGTGTGAGTTCGCGGCTGCCGGGCTCGCGCATCGCGCGCTCGCGCTTCGTCGTGCGAAGTTCGTCGTGCGCGAGCT
TCGATCGGAACAACAGTCCACCGAGGAACAGCAGCGCCAGGTGAGGAGCAGCAGTCCCATCGCCGAGCGCTTGTGCCGATCGTACGA
GACGGAGACGTTTGAGGCCCCAGCGCGCAGGAAGCGACGACGATGTAGTAGTACCTACCGGATGGATGTGCCCGGAGGTGTGCACC
ACGTGCGACGCGCGAGAGCGGCGAGCGGATTGAACAACGTGAAGAACCCTCAATGCAGGTACCGCCACCGGGAGTTGAGGTTGAGCAGT
TCGCGCTGCGTGTGATCGCCACCGCGCGGCTTGAGCAACCGACCTCATTTCCGGCTGTAGGCAACCTGCTCCACATCGTTCGCG
CACCTCGAGGCTGCACACCACATCGAACGTCGCGTCGGCATATGGCAACCGACCATCCATTGAGAGCGCTCGCAGGCAACGGCGGGA
TAGCGGTAGATCTCGGGCGTACGTGCGCAGGCACCTCAGTATGGTTCGCGGCGCGCAGCCGAGCGTTTCTCACAGAAGCGGCCACGA
CCCCGGAAGAATCCCTTCGCGCGCACCGAGGTGCGAGTATGCGAATGCCGGGGCGAGCAGCGGCCGACCATCGCGAAGACCTGGTC
GTTCTGCTCTGTGTGCGAGAGCGCGCGCGCTCTCTGCGACATGCTTGGCACAGGAGGCTTCGGGGTGAAGGAATCGCCGACGCG
CCAACTGTGGTGCCCGTCCGCGACGCGGAAGGCTCGCGCGACGTGACCGCATGGAAACGAAGAGCGCGCGCGGAATCGAACCGCG
AATAACGTTTTTGAGACCGCTGCCTTACCATTGGCTACGGCGCGGTGGGGAGGAAGCTAGTCCGGCGAGCGACGTGCTCAAGGC
GGAGGTGCGGTGAGGCCCCGCGTGGGACTGGTTCATAAGCGGTGATCGAACGGCAACTTACGCTCCCGGGGAGCGTCCCCCGCT
CAGCGAGTGCACCATGCTGCGGAACCAAGCTCAGACCATCGCGCATCGCGCGCTCGAGGCTGCGGCGCGCATCCGGGCGAGCTCAT
GCACCGGCAAGCGGACTCCCGCTTCTTGGGCGACCGCGCCAACGCTCGCGTGTCCCTCAAGCTCGAACTCTTCCAGAAGACCGGCTC
CTTCAAGGTGCGCGCGCTCATCAATACGTGCGAGCGTACCGCGGGGAGCGCGGACCGCGCTGATCTCCATGTACGCGGGGAAT
CATGCCACAGGCCCTCGCGTGGGGCGCGTCCACGCTCGGCATTCCCGCCACCATCGTATGCCATGACCGCGCTGCCGGGAAAAGTCG
CGCGCGTCCGGGCTATGGCGGCGAGGTGTCGAGACGAGGTGACCTCTCGCCACCGCGCGCTGAGTTCGCGCGCGGCTTCCCGTGTGCTA
CACGCTCATTCATCCCTTCGACGAGCCCCGCGATCATCGCGGGGACGGGACGCTCGGCATGGAGATCGTCGACGAGCTGCCGACGCTC
GACGTGGTCTGTGAAGTGTGGCGGAGGCGGGTGTCTTCGCGGTGCGCGCGCGATCAAGGCGCGGCGCCACCGCGCGCGTGA
TCGCGCATCGAACCCGAACACTCGAACGTGATGTCCCTCTCGCTCGCGCGGGCTCACCCAGCGCTCACCGTCAACCGCACCGGTGGC
CGACGGCTCGCGCGCCATTACGGGCTGAACGCTTACGCATGTGCGCGAGCTGGTCGACGAGGTGATCAGATCCCCGATGCC
GAGATCTTCGAGGCGATGCGCGTCTCATGGAACGCTGCAAGCTTTCGCGGAACCTTACGTGCGCGCGGATCTCCCGTGTGCTA
CGGGCGCATCACCGTGCCTGCGGGAGCGCGTGGTGCCTATCATCTCGCGCGCAACATCGACCTGGCGCGACTGCGGGAGATCAC
GGCATAGGTCTGCGCACGATCAGTGGCGAAGATCAAGTGCTTCAACGCGAGGCGCAGGGGGCGCAGAGGGTGCCTGAGAACAAGA
CAGAAGACTTGTCTGTGTGTCGAGGAGCGACCTCTGCTGACCTCGCTGTCGCGAACAAGGTACAGTGCAGTTCCTGCGCGGCTG
CTACGCTGCGCGCTGCGCTGAAGTACTTGCCCTTGGTAGTTGCTCTTCCAGTTGCGGCTGAAGCGAGTGGCTGAGCGTATG
TGGCACCGCTTACGCGCTTGTGTGATGGGACAGCGCTCTTCGCCCCGTTGCGGATCTGCTGGAATTGCTCGGCGCTCGCCCCGGC
ACCTTCCCCACGACCTCGAGCGTATGCCCGTGTCTCGAAGCGCGCCGCGGCTTGGGTTTCGAGTTGAGAGTGCGCCGTGGCTTCA
ACTGTCAGGCGTGAGACCGGACCGCTCAGGCGAAGCTCAGGGCCATCGCAAAGCAGCCGCTATGTCGCGCGCAATGAGTTCCTC
GGGGTGTGCGCGCTTGCCTGCTTACCGAAGCGCAGGCTGACCTGTACGCGCGTGTGCTGAGCACACCGCTGCTGTCTGCTC
AGCGTGCCTGCTCTTCTTGGCACTGCCATTCCAGGTGCGGTTGGCTCGTGCCTCAGTCCCATGGTCTGCTACGTGGGTGAAACCG
TCGTGAAGTACACGACACCGTTCATCGGTGTGACGGGAACGACGCAAGATACCCGATACACGCGCTGCTTACGCTGCTTGCCTT
CACCTCCCGACGCCACCACTCTCCATTCGCGCGCTCGTCCCGCTACGTCGATGTGACGAACGGCCGCTCGGCCCCATGTGCC
GTATAGGTCCCGAGTCCACCCACGAGTCCCTTGTGCTGATTCACGCGATTACGCGCACGGCAATCGGAGCGGTGTCCCCAAGGT
CCGAACGGCCATTCCGGTTGAGGTGCTCCATCCGACCGTACCGTTGTGCTGATGATGTCCGCGCGTTCGCGAAGTGGTGCCG
GCTCCACGCGCCATTCCCTCGCCACGCGCGATCGTTGTAGTACGGGGCCCGGAAGCCGACAGCACCACCTTCCGCGTGGAG
ATGCCGCGCGCTTCAGCTCTGCAGGATCAGCTCGAGCTTGTGAGCAGCTTTTCTCAGGACGACGCTACTTGGGCCAGCGGTGCG
GCTGGTGTGCTGCGTACGAAGTGCCTAACGTGAAATGCGCCGACGATGAGCGACGCGTCTCTCGTGTACCTCCGACGAAGCGCT
GGGATTGTAGTAGTTGCGCGACATGATCCAGCGCTCCGACGGCCAGCGACCCAGGCGATACCCGTTGAGTACGTGCGCGCGCTTCTCA
CCGAACGCTCGCAGCAGAGGTAGGAAAAGGGCTGGCCCTCCGACGTGCGTACGACATGCGCGCGCGCGTGTGAATGGCCTTCTGCG
CAAGCACGTCGATGAACCTTGAACCGCGATCGCCTCAGCGGAGTACGCTGCGAAAGCGCAACGCGCGGTGTGCCCAAGCAGCGA
ATCGGGACCTCGACGACCGCAGCCTTTGCGCGGATCTCGGCGAGCGCGCGCACGCTGAGCGCACCACTGCCCGCGGTGGAGCCTTGC
AGGTCCCTGAAGGCCACGATCAGCCACGCGCACGCAAAAAGTGGCGGACAAACCGGACCCGAGGAGGAGCGCCGAACAACTACGC
GCAACATCGCGGGCGGTGAGCCAGCACCCGTCCACCCGTCCGACCATACACACCGCTCCCGAACGCTCGCGCGGAAGTCCGAGC
CCACCATCAGGGCGCGGACACCGGATGCACGAGGATCATCTGCGCGCGCGGCAACTCCGCGCTCGGCGGTGCACTGCCACCTGGTG
ACCGCGCGGAGGAGCGCGCACGCGACGTCAGGACCGCGCGGCTCAGCCCAAGGCGCCGCGGATAGACCGCTGCGCGGCGGAGC
GCTTCCACCGCTGCTGCGGGGTATCCCGAAGCGCAGCGCTTGTTCAGGATCTGGATCAGCGTCTGCGGCTGGCCATCGCCACCGG
GCGTGCCAGCACCATCGCCACCGACTGGTGCAGCTTGAAGCACCATCGCGGGGCTCAGCGTGTGGAAGGGACGCTTGCCTGGAGCGAT
GATGTTCCGATGACTGGGGTCCAGCGAGTAGAGCGATCCGCGGTTGTGGAGCAGATGCCGTTCCCGGACCATCCGACCGCTGCGC
AACCCGGCAACAGGCTTCGATCAGCGACCGCATTCGCGCTTGTGATCAGCACAGGTAGACCGTGTCCCGCTTGCCTGAC
GGTGGGCGTTCGCCAGGCGCCACGATCGTGTGCGCGCGATGCGACGGGCGAGTTGCGGGGCATACTCCATGGAAGAGGACCGATC
GGTGGCACGGGCGACATGCGGGTGTGCGCCACAGGCGGTGCGGGTGGCATAAGCCAGTTTGTGCTCCCTCGACGACGCTGGATG
TAATCTCGCCGATGCGCCCCATCGCGCTCAGGTCGTCTGCGACGCGATGTTTACGATCTGAGGAACGTCACCCCTGCGTGTGG
GCGGGAACGCGACACTTCTTGTGCGAGGTACGTCGCGGATCGCGCTGCTCCACTCGGTGCGGATGCGCGGAGTTCGCGCGCGT
GACGAATCCGCTTTCGCGCTGGATGAAGCACTCAGCGCTTTCGCGAGCGTTCCCGTGTACAGGTCCCGCGCACCGAATTGCGCGAGA

CGCCGCAACGTGCCGGCGAGGTCCTTCTGTATAAGGAGCGTCCCGGGAGCGGGCGCCTTGCCATCCACCAGGTACGTGCGCGCGAGCT
CGCGCTCCGCCCCGACCTTTTCGCACCTCGCCCCGAATGTGAGCGGAGAGTCGCGTCGAAACCGGAAAGCCTGGTCGGCATAACCCGAT
CGCCGGGGCGAGTGCCTGTGCGAGCGTGGTCTCCGTATCGGGCGAGCGGCATCTTCCACGCGCGCACCGCCCGCCGACCGCAAAACG
GACATGATCCCGGTGCGAGGGAACGCTCGTCAGGTTCTTCGCGCGGAAGGCTGGGGCGTCGCGCCGGAACCCCGCCGCTCCCGATCCGT
TCAGCGCGACGACGCGCCCCGTTTTCGCATCGCGATACAGCATGAACAGGTCCCTCCACCCCGTTTCATGTGCGGTGCGACGACGGC
GAGCACCCCCCGCATCGCAATGGCCGATCCACCGCTTGCCGCCACGACGAAGGACGGCGGGCGCCCGCGGTGCGCAGGGCATGA
TCGGATGACCAAGCCGCGGATCGGCCCATACGTTCGGGACGCATCATCTGCGTTTGCGCCGGAAGTGCCGAGACAGAGCGGACGAGCA
GAAAAGCCACGCGCGAGGCGGGGAGGCGAGGAGGCTCTCATGGGATGCGCGGCCACTCGAGGGACATGGAAGGGTCAGCGCGCTTC
GGCAGAGAGTTTACACCTCACCCTCGCCACGTAACCGTGGGGGTCCAGCCAGCTCCATGGTCACTATGTATCGAAATGTGCAAA
TTGCGCACTTTTGTGTCACATTTGTGCGCATCTCGGCTAGGTTCCCTGCCTTCTTGGGCTGTTTTCGTGTCATATTCAGCACGAAATG
GCTACAGCACCTGAAATCGCCTCGACAACTGCCCTCTACATACCCCTACCCTTCATCGCATGCCGACGCTCCCGGAAAGCAG
CGGTATCAGCCATCGCCGACGAACGACACCGCTGCTTCTCGAACGGCGCAGGGTCCGTGCGCGATTACTTCGGTATCAACACCTT
TGCGCGCGCCAGATGCGCACCAAGCTGCCTAAGGACGCGTTTGCCAAGCTCCAGGCCGCGATTGCGCTCGGCAAGAGCTCGACTCC
GAGATCGCGCCACCGTGGCCAGGCCATCAAGGAGTGGCGGTTTCGCGCGCGCGACGCACTTCTCCCACTGGTTCTCCCGCAGA
CCCGGATCAGCGTGAAGACACGATGCGCTTCTGGGTTTCGAGGAAAGTCGCCATCGCCATCGCCGATCATGAGGCTGATGGCCAG
TCAGTCCGAGCCGACGCGTCTGTTCCCGTCCGGTGGCTCCGCGCCACATGGGAAGCGCGGGCTACACCGCTGGAACCCCGCC
TCGCCCGTCTTCATCGTTCGAGTTCGGGCAACGTCCGACGCTCTGTCATCCGTGCGTCTTCATCGCTACACGGCGAAGCGCTCGATG
AGATGACGCGCTCCTCCGCTCGAGCGACGTGCTCAGCGAGAAGGCGATCAAGCTCCTTTCGCTCCTCGGCGACAAAGCGTGCAGCG
CGTCTACAGCACCTCGGCCCGAGCAGGAATCTTCCGTACAGCCCTACCCTTCGCGTTCGCGCTGCAACTGCTTCCCGGATCGGCGATG
CGCACCTGCTTGGTGCGCCGCCCGCGCTGGGCGAGCTCGAGGACCACTACTTTGGCGCATCCCGGAGCGCATCCAGGCCTGCA
TTGCCGAGGTGGAGCAGCTGTACAAGCTCGCGTTCGATCATGACGCGGCAATGAGGTGGCTCCATCCAGTTTCGAGATGGC
GCCCTCTTCGAGGAGACGACATCGCGGTGACCAACACAGCTCGTCATGGCGATCCTGCGCGGTGTCGCCATGCGCCACGGCTG
CGGCTTCGTGCGAGAGAAGCCCTTTGCGCGGTGAAGCGCTGCGGCAAGCACTGCAACTGCTTCCCGGATCGGCGATGCGGCGATG
AGCTCGACGGTTCAACCTGCTCCGCCCGGCAAGACCCCGCACCAAGAGCTCCGCTTCTCCTCTTCTCGCGCGAGTCTCAAGGG
CGTGACAAAGCACGCCGGGGTCTCCGTGCGGGATCGCCACGTCCGGCAACGAACATCGCTCGCGCCAACGAGGCGCGCCGCC
ATCATCTCGGTGTTTCATGGGAAGACCTTGACCCAGCTCATCGAGGACATCGCCGCCGGGAAGCAGGCGGGGACCGCGCGGAGG
CTCTCATCTCGTTGAGTGAACCGCTCCCGGATCGAGGAGCAACACCGACCGCAATCGCGCTCCGCTTTCGCTTTCGCTTTCGCTG
CAACAAGTTCGAGTTCCGCGCGGTGGGCGGTGCGAGGCGATCGCTGGCCGTCACGATCCTCAACGCGCGCGTTCGCCGAAGCGATC
GAGGAACCTCACGGAGCAGTGGCGCGGAGCTCAAGAAGACGAAGCGCGTCGACGATGCCGTGCTCAAGGTCTGACGATCGCGTTCC
GCTCCACGAGCGCGCTCCGCTTCGAGGGGAACAATACTTCCGACGAGTGGGTCAAGGAGGCCGAGAAGCGCGGCTGCTCAACCTGCG
CCGCTCGCGGAGGCCCTCGCGCAGCTCACACGAACCGCGCAAGAAGCTTTCACGACGCTCGGGATCCTCAGCAAGGAGGATCT
GAATCGCGCTACCACATCCGGGTGAGCGTTACCTGAAGGACTTGCTGATCGAGATGCACACCTCACGGAAATCGCCGACACCATGA
TCCTCCCGCGCGGTACGCGTATCAGGGGGGGTTCGCCGCGAGTGGCGCGATGCGAAGGCCGCGGGCATCAAGGAGGTGCGCGAGGT
TGACCGTGCCAACGAGGTTCGGAGCACTCGCGAAGAGGCTCAAGGCGAGCGCGACATCCTCGCAAGGCTCACCATCAAGGCGCAAC
ATGACGCAACAAGCTGAGGAGTGGCGCGGCTTGTGACCACTGCGGCGCGACGCGATCGTGAGCTCGGGCATCGTGGCAGCGCC
TCGAGGTGCTGGTAGCCGACGACATGTGGCCGCTCCCAAGTACCGGAGATGCTCTTCCCGGTGTAATGCGCTCCGGCGAGGCGAGCC
GGGACAGGAGATGAAGGGTTCGGCGTTCGGTAGGTGAACGCGCCGACCTTCTTGCCTATTGGGAGACTCGCCGAGCCGACCTGT
GCTATTCTCGGTGCGATGTGAGAGAATGCGACCTCACCACCGTTTCTGCGCAATGCAAGGCTGGAACCGGGGAATCCGGTTCCGAGT
CGTCTCGCTTTCAGTTCTCTGGAGGTTCCCTGCGCTGCTTACCTACCTGCTCGGTCCGCTTCTTCTGCTTCTGCTGCTGCTG
CCGCTTGGCGCGCGGTGATGGCGGCACGACACCCACGCGACGCGCGCGGCTTCACGGTTCGCGCTGTCCAGCAGCAGCTCTCTGT
GGAGCAGGGGGCCAGCGAAGCGTACCGCCACGATTGGCGCGACGGGGAGCTTCTCGGAACCGTCAACCTCGCGGTGACCGGCTC
CCGACGGGCTCAGGCGCTCGTTCAACCCGGCAGCGATACCTCCGGCACACATCGACTACGCTGAACGCTGACGCGCGCGCCGCTCGG
TCGCTCTGCTGATCATCTTTCACGCTACGGGTTCGCGCCACGGCGCTCTCAGCCAGACGCGACCTTACCGTACCGGTGACGCG
ACGACCGGCTTCGATGACGCTCTCTCCGCGACGTGCGAGGCAACAGGGCGCGAAGCGGACGCTTACGCGCCACCATTTGCCGCG
ACGAATTCACCGCGCGGTGGCAGTTCGCGCATACCGGTGCCAAGCCATTACCCCGCGCTCACGAATGTGCGCGACGTGTACACGG
TGCTCTCGCGGTGAATCCGGCCGCTCCGGTTCGCTGCGCAGACACTACGGTACGCGGACCGGTACCGCGGTGACCGCGGCCACGCG
GACTCACACGATACCGTGACCGCGCGCCCCAAGCGAGCATCGCGATGACGCTCTCTCGCGGACATCGACGCGCAACAGGGGGCG
AAGCGGCGTTTACCGCCACGATCGCCCGACGAATTCGCGGGTGGCGTTCGCGATCAGCGGCGCGGACCGGATTAATCTCCCA
CCGTACGAACGTCCGTGATGTATACACGGTGGTCTGGCCGTGAATCCGCTGGCTCTCGTTCGCGCCGAGACCTGACGGTTACCGC
CAGGGTACAGGAGTGACCGTTCGACTGCGACTCACACGATCAGGTTACCGCGCGCGCGCGAGGAGCATCACTTGCCTTCG
CCGACTCGCATACCATGACAGCCGGAAGCGCGGCACAGGAGCTCAGATCACCATACGCGCGTCAGCTTACCGGACCGGTGGTTA
CCGCGTGCAGTCCGGGCTGTTTACCGGCTCAGCGGCAACCGGACCGCTGACCTTGTGCGCCGCGAGCAGGCGACGCTACGCTT
CCAGGACGGTGTGAACACCGCGCGGGGACCTACAACGTCTGGTCCAGGGTGC CGCGCGCGGCGGCTGCGGCACTGCGGCACTGTACGATA
GCGGTACGATACCGCAGCACCGGCCAGCAGCATCTCCTGCGCGCATCGCCGACCGCGCTGCTGCTACGGCGGGGGGCAACAGCG
CAACCCACGATACGATACGCGAAGCAACTTCGAGGCGCGGTGACCATTCGCGCGAACACCGGTGGCGTGGCGCGCTTCGCTC
AGCCACCGCGCGTCTCAACGACGCGGCAACAGCGCTGATGCTGTTTACCGCGCGCGGGGCAACAGCGGACGATACCGGTG
ACCATCACGGGTTCGGCACCGGTATCACTGACGCGACCGTCTGCTTTCAGTGCAGGTGCTGGCGCTCGCTCGAGCATCGGGATCA
GCCTGTACCCCTCGACGTTATCGCTGACGGCGGGGCGTCCGGTTCTCGACCGTGACCATCGCGCGACGAATTCGCGGAGGCGT
CACGATCGCGCCACTGGTCAGCGCGCGGCATCAGGTCACCCGACGGGGTTCGCGACCAACAGCTGACGCTCAACGTG
TCCGTTCGCGCGCGGTGTCGCGCGGGGTGATATCCGTGACCATCAGGGCTCCGGCACTGGCCCTCACCAATGCGACCGCCAGCTCA
CCGTTCGCGTTACGCCAGCATCGAGCGCGGCAACAGCAGTGGCAGTTTCTGCGCCCTGACCGGGATCCCGATCTGGTTTCGCTGCGCA
GAACGGCAACGCCAGCGCTCCATTCTGTTAGGTCTCGGCGGTACGAACAATACGTTCTCTTCGACATACACACGTTGGGCGCGCTC
CGTACGTGTCGAGAGGGGAGCAGTACGGCTCAACGTGGTATACGGCACGCGCGCGGAGCTTTCGCGCGAGGGAACGGGTGGAG
CATGCGTGGGATCCGCGTGGGAAGACGCTACCGGGACCGTCCGCGTCTGACTTCCGCGCTGCAATTTCGCGCGATCAGCTCGG
GGGCGGTCTGCACAAGCGCAGCAAGCACAGCCGAATTCACGCTGAACAACGTGCAAGACGGCAATCGCGACCTCGTCGCCACGCGC
AGCGCGTGAATCTCAGCAGGGGATCACTCTCGGTGATCAAGGCCATCATCCGGCGGAACCTCAATCCGCGGAACAACAGCGTGTTC
CCCTGATCGATTTTCGAGCCAGCAGGCGCTTCAGCCCGGTCAACAAGCAGCTCACCATCGCAGGCGGGGCGGTGGATCGGAGATCCT
GAGTGCCTTCAACTTCTTATTCTCCAGGAACCTTCGCTGCTTGGTACTGGGCGCCCTGGGCGGATACGAGCGTCCGCGCC
ACGGTGGCGCAGGCGAACAACCGTGTCCGGTGACGTGAACGTATCACTGCTATCGGCACAGTTTTCAGGGTGGTGACCCGTGGCCA
TTGTTTCGACCTTTCGCTCTTACCGTATCCGGCGAACCAGACGTTGACGCTGGGTCCGCGAGTGAATGTTCCGCGCATCTCGGTGCT
CTCCACACAGGCTATGCCCGGCTTCGCGCATGGTGGCGCGCTCAATCGGAGTACGACAATGCCGAGGCGATCTTCTCACAGAGC
ATCGGAGCCGAATCGGACGAGCGGATTCAGGTCCTTCGCGGCTACATGGGCGAGCGGACCAATTCGATGCTTCGATCCCGGACT
TCACCGAGTCCGTGGCTGGCAAAATACGTGGGCGCCACAGACAGGACGAGACGACCTGGGTGCTGCGGTTACGGGGTGGATCAA
CTTGAGCGGCTGTTTACCGACGCTCTGTGTTCCGTACAGCGCAACGACTGGGTAAAGTGACCCCGTAGGGCGCTGCGCGATCCGAT
CTCGAAGGGCCCCGACGCGACGACGCTCGGGCCCTTCTGGCTTTGCACTCCGGTTCGTTCAAGTTTCAGCCCGTTCCCATCGGAGATAT
CGTGAACGCGCCCGCACCGGAGCCCTCTTACGCGCTTCGCTGGCGCTGGCCATGCTGGCTGCGGCGGTGGCGATAAGGGCACGACG
CCAATCCCGTTCCCGGGGATTACGGTTCAGCTCTCCAGCACGACGCTGACCGTTCGAGCAAGGCGCGGGGTACCATCAGGCGCA

ACATCGGACGACACCGGCAGTTTTCGCCGGGACTGTGAACCTCTCGTGGAGAGCGTTCCACACGGGCATCGCGGCGTCTTACGCGCGG
 CAGCATTAACCTCTGGTACGAGCTCGACACGCTACCGTACCGGTCCGATCCACGGTGGCTCCCGGCTCGTACACCTTACAGCTGCGC
 GGTACGGCGCGCGGCTCAGCGACACAGACTGCTCCCGTCTCGTGAACCGTACCGCGAGGCGCCCGGATCGCGATGACCTTTCGCGCGC
 CATCAGCGACCGTCTGCTGCGGCACGAACGCAACGTTTCGCGCGACCATCGCCCGACGAACCTTCGCGCGAAGCGTCAACATTGCCAT
 CACCGGCGCGCGGACGCGGCTACGACACAGCGTGAGTACCACCGGTGACGTGCACACGGCCACGGTCAACGTTCGCGGGAACGGTCACG
 CCGGGGACGATACAGCTTACGCGCATGCGCCAGCGGACCGGAGCTCTCGCGGTGAGCGACCGTTTACGCTGACCGGTACCGCGGCAC
 CCGTCGCGACGATTGCCCTCACGCGGCCCCACGGCATCTACCGTGCAGCCCGGACGCGCTGTAGGACCGGTGTTCTCGATCACG
 CGCGACCAACTTCTCGGAGCGGTGACACTCGCGTGAATTCGGGCTTCCCGCGGCTACCGGACATTACGCCCTGCGGGGGG
 ACGACCGGGAACAGCGTGATCGCAACTTCTCGCCACCTCCGGGACTCCCGCGGGGACCTACAACGTCTGCTCGCAGGGAACGGGAA
 CCGGCGCCACGACCGGGACCGTGCAACTGATCATTACGCTGGCCGCGCTGCCGCGGACGCGCATTCGCGCTACCGCGGCTTCCCTCCAC
 GGTCTCCACCGCGCAGGGAACGAGCGTGGGTACGGTCAATCAACATCGTGCACCAACATCACCGGCCCTTACCCCTACCGACAC
 AACGTGCGCGGGGATACCGCGACCTTTGGCGTCTCCGTCACACGAGAACGCGATCGCTCAACCTCGCGGTGATGCGTCGG
 TCCCCGTTGGTTCTGATACCGATTACCATCACCGGGGCGGCCACTGGCGTTACCAACGTGTCCATCACGGTGACGTGAACGTCAACCA
 GGGCCAGGGCGGGGACGCGGAACGTGACGTTACCTTCTGCGCGCGCGCTCGACCATTCCCTGTGGGTGCGCTGCAGAACGCGGTTCT
 GGCCAGTGGCAGCGGCCACCCCGGTTGGCACCAACACGTACTCTTACAGATCAACACCATCGCGCGGCTGGCGTGGGTTAGCGAT
 CGGGGCGCGACGCGTATGGGATGAACATCGGTACGCGACTTTCGGGACTCAACGCGCGCGCGCGTCAACGTGCTCTCGCACA
 GACCAAGACCGTGACTGGCACGGTCGCGGGGCTGGCGCGCGGACCGACATCGTCAGCGTCGCGTGGGACGTGCGGTGCGGTCCCCA
 CCCCCGACACAGGCGACCGCGGCTTACCATCACCGGGGTCCCGCGCGGACGCTTGACATCTCTGGCAACGCGCACGAGCTTCAACC
 TCGCCAAACCGCAGCGCGCTCGTCTTCGAGCGCATCTACCTGCGTCTGGGCTCACCTGCCGACGGGAGTCCATCGGCACCGCTGA
 TTTTCGCGAGTACAGCTGATGTCAGTTGCCCCGACTTACGGAGCTACACAGATCGCGTGAACGTGCGTGAGCAAGTACGCGACTC
 TCGACCTTACAGTCCGCCAGCGGGGCTTCGCGAGCATTGGGCTCCGGGTGCGTTCGTCCACGCTCAACTACCCGGCGCTCCCGTAT
 CGCGACGCGGCTCGCGCACCTGCACTTCCCTCTTTGCCCTCGCGACGACATCAGCCAGGGGGTGACGACCGCTGCGCGCGGGGTAC
 CGCTGTTTCGCGGACCCCGCGCCAAACCAATCTACGTTAGGCACCCCTCGGCATCCCCAGATACGACGCGCCGAGTGCA
 CCATATGCCAGGCTCGGTCGGTCTCTTCGCTCAGGGGAGTACGAAACCGCTGGAGCACGCGGCTTACCCAGGCGAAGCGACGG
 TCACGATCACCGTCAGCCAGGGCTACCGTCCAACATGGCGCGCTCGACGTGACCGTCCCGGACTTACCCGCCGTTAGTGGCTGGCA
 GAACACTGGGGATGCTCGCGGGCACAGCACTGCGTGGAACGTGACGCGCTTTCGGGTGGGTGGTGGGCGCGCGGCCAACGCGCGAA
 GGGCCCATACCGCGCATCGCTTCCGCGCGGGGACGATACCGCGCTAGCCGCGGCTGCGGACGCGACGAAAGCCGGGAGCCGCAAGG
 CTCACAGGCTTCGTTCGCTGCGCGCAGCGCAATCACGCTTGTGGCGCACTTCGACGACAGCAGGCGGATGCTCCAGGAGC
 GCGAGGCTCGACGCCACGGACGGACGGGATGCTGTTCTTCGCGAGAAATCTTGAGCGGACCCACGTCCACCACGTACGCGCGGTG
 TGATGCTCCACCCGTGAAGAGGAAGTACCGCGCGCGAGGATGAGGACGATGCCACAAGGGTGGCGACTTTCATGATGGAGGCTTC
 CTGTGTGAAGGTGGATCAGCTCGAACGCTCAAGCGTAGACGGCCCTGCGCGCGGAGGCGAGTGTCCGTGCGGACGTGCTGCTGCCCT
 CCTCGCGGAGGAGAGCTCGCGCATCGCTGCTGCGCTTAGGCTCCGACCCGGTACCCGTGTCAGCGCTCGTGGCGAATGTGCG
 GCCACAGATCACGACCGCGACCCGCGATCCATCGATCCGGCCCGCATCACGACGGCAGGACGCGACCGCCACGCGCGCGCTCCCTCG
 ATTTCCCGGAGTGTGTTTTCGCCACAGGCGCATCGCGCACGCGATCTCTCTTCGTGACAGTACCCAGTCAATCCAGGGGTCC
 GGCAAACTCGAAGTCCAGGTCGGCTCGGCTCCATTCTCCCGCGCTTCCGTTCGGAAGGCTGGGCAATGTCCGGCATTTTCGACGACGT
 CCCCCGCGCCACCGAAACAGACATGACGGGGATGCTTCGGGAGGCGACGATACGCGCATCTCGGGGCGAATCTCCGACGGTAG
 CTGCGCATCCCGCGGATCAACCCGCCACCCCAACGGCCACGTAGACCCGCGACAGATCCGGGACCTGACGACGAGCTCAACGGTGA
 GCGTCCCTTACCCCGCATACGCGGACATATTGTACGGGGAGACGATGACCTCTCGCTCTCATTGGCGACGCGCTCGCTCGAT
 CTCGTGATCAGCGCTCGGTGCGGAAATGACGACTTCGCGCGCTTGGCGCGGATCTGTGACCTTTGCGCGGACGCCCCCGCC
 GGTGAAGAAGACTGGGCGCGAATCGCGAGCGGTGACAGGCGTAGCCACAGCGCGCGCTGATTCCTCGCTCGAGGCTGCTACGACT
 CCTCTGCGGATCGTCTCTGACAGGGTAAGGAGCTTGTGTAACGCCCCGAAGCTTGAACGACCCCGTCACTGCTCTGCTCGAC
 CTTACCATGACGTCTGCGCCCGTGAAGAGCGGAGAGTTCGGGACCTCGGTCGACCGCGTATGAGAATGTGGGAGGAATGCGACGT
 TCGAGCTCGAGGACGAGGACGAGGAGCATGAAAAGAGTCTCATCGGTAGGCGCATTTCTGCTGCTCAAGAGAACTACATCGC
 GCGAGCGCGCGCTAGTAGTATTCTCGCACACTCATGCTTCACTGTGACCGCTTTCGTGCTGCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGATGT
 TTCCCGGTTGTGCGGGTGGCACAGCTCGCGCCGACACGAGCTTGGTCCCGCCACGCTTCCAGTTTCGCGGCTTCTCGCGCGCCG
 AACTCGCAGGAGCGCGGTGCGCGGTATCGAGGAGCTGTGCGCCGATGTGACGCTGCGTACGAGCGCGTGAGTTGGGCGGTGCTGT
 GGAGCGACAAGGCGAGGCAACGACGTTCGCGACAGGGAGCTGTGAAGTTTCTCGGCGCGCTCGATTTCGCTCGGGCTCAATCTCGTGA
 CTTTCAGCGCGCGCTGCTGACTCTCTCGCACCGCGCTGCTGCTCGCCCTGATGAGAACACAGGCGGATTCGAGGCGACC
 CTCAGCGTCGCGACGCGCGCGTGTCTCAGCGCATCTCGTTGGGAGCGCGCGCGACAGACAAAAGCCTATCCGACCTTTCGCGCGTGC
 GCGACGACTACGACCTTGGCGCTGGCGTCTATGCGGTGTGCGCGCACACCGGATCTCTTCGGGTCTTCGACCAAGCGCGCGCGCAATG
 GACGCGGATTCGCGAGCTCTGCGCGCATCTCCAAAGGCGCGGCGGATTCGGCATGACTCGGTGCTCGTTTCGCGGAGCGGTGAAGA
 GCGCGACGTTTCAACGCGCGCGGACGCTCGGAGCTGTGCGCACTATGGATCCGCGGATTCGCGACGCGCCCGCGCTCGAG
 GCGACACACCGTTCAGCGCTCGCTCGCGCTTGTGTCGCAAGTTTCAGAAGGAGAAACAGGTTCGCGAGACCGCGCTTTCGATGT
 CGCCACGCGCGATCGCATGCGCGCGCTTTCGCGGACGCGTTCGCGGATGCGGTGCTCTCGCTCGAGCGCTGCGCTGTTGCCGCGC
 ACCGCGGACGCGACGCGCATCATGCTCAACGTGCGCGAGTACCGGCTTCGCGCTTACGACGAAGTTCAGGGGGCCACGCGCGCGCT
 TCGCATGAAGGTCTGCTCGGCGCGGGAGGAAGATCGTACACGCGCTCTTACCGAGAGGTGAGACCTGATCTTCTCGC
 GTTCTGGGAAGTCCCAAGACCATCGCCCTCGACGAGATCGTCCGAAAGATCCACAAGGATTCCACGTACCTCTCGCGCAATCGCTAC
 ATCTCTGTGCGCGGACCTTCGACACCGCGAAGGCGCTGACCCCTGATTTCGCGCACCATCGCGAAGATCGCGAAGAGCGTTCGCGGTAC
 GGCAGCTGCCGGGGACTACAACCTCGCTCGGTTCGATCAAGTTTATGCTCCGGAAGCTGAACTTATCTGCGACGACCAACAGCA
 GAAGCAGTTCTTCAAGCGCAGCAGGCGCGCTTGAGCCACGGTGTATCCGCTGCGCGAACCACGCGCTCGCCAGTGATCTCTC
 GCGCGCACACGCGCTGGACGATGAGCGCATGAAGAAGGCAATGAAGACGACACGCGGAGACCGTTCGCGCTCAGCTCGCATCC
 CGGTGCTCATGCTTACCACACCGCGCGCTGACAGACCAGGCGTGTGCGCTCGTTCAAGGACGTGTACAAGTACGACGAGGAGCT
 GGAGAAAGATCTCGGCGCGCGCTTCCGTCAGCAGCTTAGGCGACCTTCGGGGCGGGATGAGACGGGTAGACGGGATGAGACGGGTACGG
 GTGGAATACCGCCCATATCGCTTCGCGCGAAGGACGAGCCAGCGTTGTTGCCCTTCGCGCCGCTGCGCCCGCGCCCGCGC
 CGCCGCTCAGTACTTGAGCAGGTACCGGTTCAGCTCCCATGATGACCTGCGTATGTACTCTGTCGCACTCTGCGCGCTTCGCGTGC
 AGAAAGTGTTCGCGACGTGCTCGCCTAACCGGCCATGATACGTGCTCTTCTCCAGCTCGTCGACGCGCTGTTAGGTCTTCG
 GCGAGTCTGTCGATGCGACGCGCGCTTCTCGCGGAACGACATCTGAAGATGTTTCGCTGTCACGCGCTCGCGGTAATCGCGTTCGT
 CGCCACGCTATCCAGCCCGCGGACGATACCGCAAGCAGCGAGGTAGGGGTGGCGCGCGGTGGCTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCGG
 GTCCCGGGCGCGCGCGCGCGCACGCGCACACGAGCGCATCGATTGCGCATGACACGCGACGTTTACCGGGGCTCGAACCCCG
 GTACCAGCGCTTGTACGAATTACCAACGGGTTCTGTACGGCGCAGAACCCGCGCGCATGTGCGACGACACCGCCGATGTAGTGCAG
 CGCAACCCGGAATCAACTCCATTCGCGGTTTCGCGCGCAAGAAGACGCTTCTTGGCCGTGCGCAAGAGATGACTGCTGCGGTGTCATCCG
 CTGCGGTTCTGCGGCTAGATCGGCTTCGGCATGAACGACGCGAGGTAGGGGTGGCGCGCGGTGGCTGGCTGCTGCTGCTGCTGCGG
 TCGCATGTTGTTCGCGGCTGCTCAGCGCATCGGCATAGCGGAAGTGCATCTGTGCTGGCGGTGGGCGACCTCATGTGTCGCGGCTTC
 CACTCGAAGCCATCTGCTCGAGCGCTGACACGATCGCGCGCGCGCGTCTTCGCCAAGGTTCGCGGGAGCCAGGTGCAAGTACGAT
 CCCAGCTCTGTGATGACCTCGCGAGACGCTGTGTCGCCGCTTGTGAAACAGGAAGACTCCGCTTCCGATTCGCGGCTTATCATCAGAAGC
 CCATCTCCGCGCGCGCGCATCTGCGGCTTGAGGACCTGCTGGGTCGCCGTTCGAGTGGGTCGCTTCCGCGCGGTGACGTGCGATCGCA
 GATGATCGGCGGACCGGACTGTCCGATCCCCACGGAACACCGAAAGTCGAGATGTGGGACAGGAGGACATGTCCGACTCC

CCGTCCTGGATCACGGAATCCGACGGCGTGAGCACCCGGTTGGTCTACGCGCTGGCCGAGGATGGCGATGTCTCCGGCACAGAAGCGCG
 CTTTTTCGATGGTCGTGCGCGAGGCCATCGCCCGGAGGACGTGCGGATGTCAAGTACGCGGAGCGGTCAAACGCTCGCGGCGCGGATG
 GAAGCCGCGGGTCAGGCGCTCGGTGCGATGGCGCTCTATTCCGAGTCTGCGTGGGACGCGGACAGGAAGTCGAAGAGGCGGGCTCGCGTCC
 TCGCCACGATCGCTGCGCAGGCCGCGCGGCCATCGACCGTTTCGAGGCTTGTGACGAGTCTGGCCAGAAGCGTCTCGAAGCGAT
 CGGCGAGGTGGCGACAGGCGTTGCGCATGAGCTCCGGAACCCCTTGTTCGGGATCTCGTCAGCCGCACAGCTGCTGCGCTTCCGCGCT
 CGCGAGGACGTGGTTGTGAGAAGAAGCTCGGGCGCATCTCCGAGAAGTGGACCGGCTCAGCCGATGGTCACGTCGCTGCTCGAGT
 TCGGCCGCCCAAGCCACGACGCTGGCCCCCTTCGATCCGACCTCGCGTGGGATGAGGTACTCGAGGACAGCGCGGGCTGCTGGA
 GTCGCGGTGCTCTCATTGCGCGGGTTTCGGCCCCCGCTCCGACGGTGATTTCGGGCGGACGCCGAAAAGATCGCGCAGGTGTTCTTG
 AACCTCCTGGTGAACGCCGCCGACACGCGCCGGTTCGCTCGGACCTCGCACTCGAATCCACGCTGCTCCCGTCGGGCGCTGGCGCA
 TGCAACTGACGAATCCGGGGCCGACGGTGCCCCCGGACGTGCTCGAGCGCTGTTTCGAGATGTTCTACTCGACGAAATCCGGGGGAC
 CGGCTCCGCGCTGCGCTGTCAGCATCGTGGAGAACACGCTGGGACATCGCCATGCGCGAGCTCGCGGAGGCGGGAACAAC
 GTGTCCATCGAGCTCCCGGCTCCCTCCGGCGCGCGCAACAGCCGTGAACCTTCGCGGGGTCTCGAGCGTTACCCCTGCACCTTC
 TGAGCCAGACTGCGCTCCAAGCCCATATGCGCGCGCCATCTGATCATCGAAGACGAGCAATCCATCCGGGACGCCCTCGCGGACC
 TGTTCGAGTGGCCGCGACGGCAGTGACCGCGGTGCGGACACTCGACGAGGCCAAGGCGGCACTGGCCGCTCGCCCCCTACGACCTGAT
 CCTGAGCGCAATTCGCGTGGTGGAAAGCGTGACGGTGGCTGCGGTCATGGCGCGGCTGGCTTCCCGCGGAGGCGGCAACGTC
 ATCGCCCTGACGGCTTTCCCGATCAGGACAACCGCTCGCTCGCTCCGACTCGGCGCCACGTACTTCTGGAGAAGCCGGTGGACC
 TCAGACGATCGCTCGGTGGCCGCAAGCACGCGCATCGCTCGCTCTATCCGACCCGCGCGGCAAGCGTCGAGACGAAGCGC
 GACGAGCGCGTAGTTGCGCGGGGCCACGGGCACAGGCCGGGCTCCTGCGTGTGACGCGTGCAGAGTTGCTTGTCTGCTCGCTGCTG
 CGGCTCCGACGACCGCGTAATCTACCGAATGATGCGCGCGTGGCGTTCGCTTTCGCGCGGACGCGCGGCTTTCGCGGCAACG
 ACGCGCGAGGCTGGCGGCGCACGTCTCCGACTCGTCGACGCGGTGCGTGTGCGTCCCAATGCGTCTGCGCGCGCGCGCCCCCTC
 CGCGCGTGGGTGCGCTTCTACGTGTCCAATCGCTGATGGACCGCCGGAAGGTGCGGCGACATCGCGGACCTACAGCTATCGGAC
 TTCTCCAGCTCCTGTGATCAAGATCCGGCAGCGGAGGGGCAAGATCTCGAGACCATCCGCGGCGAGTTGAAGGAAGTACCGGCG
 ACGCTCCGACGACGCGTGGTGGTGGTTCCTCAATGCGCTCGAGTCAACGCGGGCGTCCCGCGGCGCGCAATCGCGGCGGCTC
 GCATTCTGGCGTGCATCGCGGTGGCCGACGGTGTGAGTGCACGTGCGCGACGACTCGAGCGCCGCCAGCGAGGACGCGATCATC
 GGGTTCGCTGAGGCGCTGCGCACCGCGATCGGTGCGCTCGAGAAGGCATGAACGTCGCCGAATGGATGTCGCGTGTGCTGATCAC
 GGGCGTGGGCGGTTCAGGCCAGGTGGGCGAAGCCGTGGCCGGTGCCTTCGGATCGTTAGGCGCGCGGTGCGTCTCTCGATCGCACG
 CTGGTGAAGTTCGCGTGGTGGCGGGAAGTTCAGGCCCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 CCCTCGACGCGCTGTCGAGGAAGTGACTGCGACGCGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 GTCGCGATCGCCGAGACGCCCCCGATGCGTGGCAGCGCATGTCGCCATCAACCTCAGACGCGGTACCTCAGACCCGGCGGTTC
 ATTCCCTGCTCCGGAAGTCCCGCGGCGCGCATTTGTCTACTTTGCTCCTCGCGGCGGCACTCCCGCGGGAAGGTGTCGGGCATGGCGG
 CATACAGTGCCGCCAAGACCGGCGTCTGTCACCTGATGCGCGCGGTGGCAGCGGAAGAGCGCAGCCATGGCGTTCGCGCCAACCGCGT
 CGCACCAACCGCCATTTCGACGCGAGCCAACTCGCCAGCATGGACGCCGACACCGTCTACGTGGAACGCGAGACGGTGGCCGATTGG
 GTACCATGCTTTGCTCGATGCTGTCGCGCCCGTCAACGGGCGAGTCTGTAAGCTCGGATGAACGCGACGCGCCCGCGAGTTCTCCGG
 CGCGATGAGCGCGCGCGCCCGCGCGCCCTCGGCGCCACCCGGAAGCACATCGTTCGAGACGGGCGCTGGAGTCCCTCCCACTC
 TTTGCGCTGAGCGACTCCGCGAGGAAGCTCATTCTACACCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 ATCGGCTTCCCGGCGAGTTCGACAGGACGTCTACGTGAGATCTGTCGCGGATTCTCTCGATGCGCGGTGAGCCGGACGATGGGTGCGT
 CTCCTTTACGCTGCACGCTTCTGCGTTCGATCGGCGCGCGCGGATGGCCGACCTACGAACAGCTCCGCGCAGCCCTCAGCCGG
 CTGGAACGACCTCCCTCGAGTCCAGCGCGGCTACTTCAATGCGTCTCGGGGCGAGGCGCTGGACGGGCGATTACCGTCTCTGTCG
 TGTGCTCATGCTGACGACGTGTGTCGAGCGGGAACAGCTCGCGCTTTCCCAACGTCACGACGCGGGAACCGGCGACGCGCG
 GGTACCCCTGTGCGCCCTCCTCCGGGCAACATCGCCCGGGGACACGCCACCTCGCTCGTGCCTCGCAGTACAGGCGCTGTGCTCT
 CCGGTGGCCCGGAGGTTGTATCGTTGCTCGAGGTGCGACGAGCCGAAGACACGGTACCTGGCGGATCGAGTGGAGGCGCTCGCGG
 AACAGATGCCCCCTGTCACGCGGTATCCCTCACACCTGCAGCGGCTCTGCAGCCGGCACACGAATGCTCTCAGGCCCGGCATCGT
 GCGCGACGCCAAGGTGCACGACGAGACCGGACCTGGTACGTGACTACGTGCTCGCATGCGCACTGCGCTAACGATTGGAGGCCCA
 TGTACACGCGATCCCGCGCGCGCCACGGCGCTTCTCCCGAACCAACCGGTGCTCCCGCGCTCGCCACGCCCCGCTCGCGG
 ACCGGAGCCCGGTGCGACACCTGCGCGGTGACGCGGTACCTGAACTGCGTCTCTGTCGAGGTGCTTGGGTTGCCGAAGCTTCGG
 TAAGTGTCACTCGTGGCCCCCGCGGTGCGAGAGCGCGCAGCCGGGACGACTGGTCCCTCGCGGAGGAACCTACCCGCGCGGT
 GGGCGTATTCTGTTAGTTACCGTGTGCTCCTCACTGGATGACCGCATGAAATCCATCAGGAAGCTGGCCCTCGGGGTGCTGCTG
 GTCGCTCCGCTGTCGCGGGCGGGTTTCATTGCCAGGACGGGCGCACGAGGACGGCGGTGCGCTCTCGGACAGGTCTCTGAT

7.12 Das Cosmid slc_2j

7.12.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- tierung
1201	Hypothetisches Protein	318	1283	-
1202	Potentielle Aminopeptidase	1348	3309	-
1203	Konserviertes Protein (COG3804)	3390	4388	+
1204	Uroporphyrinogen III-Synthase/Methyltransferase (EC 4.2.1.75)	4452	5999	-
1205	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	5996	6922	-
1206	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	6907	7806	-
1207	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	8163	8573	+

1208	Konserviertes Protein (potentiell AtpB, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit A)	8577	9521	+
1209	Hypothetisches Protein	9561	9809	+
1210	Konserviertes Protein (potentiell AtpB, F0F1-Typ ATP-Synthase, Untereinheit B)	9897	10400	+
1211	Konserviertes hypothetisches Protein	10415	11338	+
1212	Hypothetisches Protein	11683	13011	-
1213	Potentielle membranständige GTPase (Stress-Antwort)	13048	14886	-
1214	Hypothetisches Protein (Hypothetisches Fe-S-Cluster)	14939	15442	+
1215	Menaquinol-c-Reduktase, Cytochrom B-Untereinheit	15445	17016	+
1216	Konserviertes Protein (potentielle Dipeptidylaminopeptidase/Acylaminoacylpeptidase)	17105	20086	+
1217	Hypothetisches Protein	20209	20964	-
1218	Hypothetisches Protein	20515	21006	+
1219	Hypothetisches Protein	21072	21590	+
1220	Hypothetisches Protein	21749	23398	+
1221	Hypothetisches Membran-assoziiertes Protein	23401	25164	+
1222	Dehydrogenase von verzweigten α -Ketosäuren E1 (KOG0525)	25174	27339	+
1223		27362	27772	+
1224	Konserviertes Membran-durchspannendes Protein (COG0705)	27810	28580	-
1225	Virulenz-Faktor MviN	28603	30141	-
1226	Konserviertes hypothetisches Protein (COG1610)	30430	30879	-
1227	Hypothetisches Protein	30889	32031	-
1228	Konserviertes Protein	32036	33019	-
1229	Hypothetisches Protein	33024	34067	-
1230	Hypothetisches Protein UbiE, Methylase involviert in Ubiquinon/Menaquinon-Biosynthese (COG2226)	34067	34915	-
1231	Hypothetisches Protein	35028	35969	+
1232	Hypothetisches Protein	36034	36558	-
1233	Hypothetisches Membran-durchspannendes Protein	36693	38276	-
1234	Dolichol-phosphat-Mannosyltransferase (EC 2.4.1.83)	38395	39159	+

7.12.2 Das Cosmid slc_2j

ACGGCGTCATGCAGCGACGCGTTCAGGCTGTGCGAACGCCTCCCCGAGATCCACCCGGGCCACGGGGATCGAGAAGGTATTCGCGACGA
 GTCGCGCGTCTCTTCATCCTGCGGATGGCTGTAGCAGGGCAGCAGGACGCCAGCACCCGCTGGGGAAACGCGAGCTGACACAACCTT
 CGCGACGACCCGAGTCGATGCCGCGCTCAGGCCAAAGACGTAGCCCTGCGCGCCGGCGCTGCCGCCGCGATCGCGCAACCAAGTGTG
 GAAATGCGTTCGCGCCGCGTCATGAGAGAAGTATCCATCAATCACTAGTCCATCAATCACTCAATTTCTGAGCGCTTCAGCGCCGCG
 GTGACTCGGGCCACACGGGCTCGGGCGCGCAACATAGTTCGCTATGCGCGAGTTTCGCCCTGGAAGAACACCGTTTCCGACGCCATGAA
 CGCGAGGCGTCCCCAGATCCGCAACAGCAGGTAGATCTGGGTGACGAGCAGCGCCAGCCACGGCGCTGCGGTGGCGGCGGGCGCCGAG
 GAGTACCACAGCCGCGCAGCAGCAGCGCGCGCGGAGGTTGAGCAGGTAGAGGCCGCTGTCGGAACGGACGCCGCGCGATGAACC
 GCAGCGATGACGACACGGCACTCAACATGCTCCGGCGATCCTCGACGACCGTCCGGACCTTCGCGAAGTCGCGCAGAGGTTACAGAA
 CGCCAGCCAGCGAAGAAGACGAGGTAGAGCACGGCGCGGAGGGCGATCGCGTCCCGTTCTCGGTTCATCTCGCGCTCCACCGGTG
 TAGAGCGTGCCGAAGAGAACGGGATGCAGCCACGAGAAGAGCCACCAATACGCCGCGCCGATCACGACAGCCAGTCTGAGGAACCGGA
 AGAAGTAGGTGCCGACGCGGAGAAGAAGGCACCCGTGCGCACCGGCCGCGCGGGCGAACCAGTTCGATGATGCCGCCGACATGAA
 GACCCAGAGCGCGATGTACACGGCAATCGCCAGGCGAGCGACGGATTCAACGGTTCGTAGTGAACCGGCTGACGGTTCGCCATC
 GTGGCACCGAAGCCGAGTATCTCGAACGTGAAGGTGCGCGAGAGGCCAGTGGCCGCGGCATCGAACTCAGCGGCCAGCCGGCGTTCC
 ATCCCGCGCGACGGTCTCGGCTTCGAGACTCGAACCGAGATGCGTGGAGATGGACCGATGGACCACGGCGGTTCATCGGCAACCGCAA
 CAGGAATGTGGCGCCATCACGCCCGCGGAGCGCGCGCGAATCACGCGCGCCAGCCCTCGAGGAACGCCAACAGAGTCCGGC
 GTCTCGGCCGGGCCACCGAGCGACCTCAGCGAAGAGGCATACGTGACGAGGACCTCTGCGAAGTACGTGAGCCAGGCCAAGGCC
 CACTTGCCGGCGGCATCGGCGGTCTGCGGCCGCGCCACCAACTGTTGTTCTGTGTAATTCAGTTCGAGCAGTAGAACCGCATCGGGGT
 CGACTTCGACGCGAGTGATGGGCGAAGCGTCGCGCACGTGCAACGCTTTCCAGCGATCCGCGCCATCCACGTGAGGAGCCGACAGT
 GCCGCCGCGAGGTGACGCGCACGGTCTGCGGAACACGCCGTCCCCGAGGCGGGCGCACGACCACCGTGTGTCTGAATCCCTCGGGCGCC
 GGTTCGGACGTGACCTGACCGACGCCGTAGTCGAACGTGCGCGGAGTTTCGGTGCACGGCGTCAAGAACCACGTGAGGTCTTGCCTG
 GGATCTCGTTGGCGATCGCGAAGAACTCCTCGGGGTTCGGATGCCGGTAGAGGCCGCGGCGGAAGTGCCTGCGGAGAATCGTTCGCAC
 GGATCCGACCGCATCGTTCGTTTCGAGCGTCGCGAGCCACAACCGGCTCTGTTGTAGCTGGTGGCGCTGGCCGAGCCGGGCCAGTAC
 TTCCACGTGCGCGTGGACTGGTTCTCTGACGACGACAGGCCGGAAGGCGTTTCAGACGATTGCCGTGATGGCGCGCGACCACGCCA
 CATCCGTTGATTTCCAGCCGGCCAGGCCACCGAAGTAGCGGCCGTGGCGACGAGCGACCCGGAAGGCTTCGTCCAGTACTCGTG
 CGTCAATACGTGTTTCAGACCTCGTCCATCCAGGCGTCTCGAACTCGTTCGTGGCGATCAGGCCGTACCGAAGTATGTCGGCGCC

TCGTGCACGGTCACGCTCTCGGGCTGCGTCCACGCGCCGGTGGCCACCACCGCGTACCCGCCGTGAACAACGTCGGGTATTCCATGC
CACCCGTGTTCTCGCCCTGCGACGCGGGATTGAAGATCGTGACCGGGTCGACGATGGTGATGTGCCCGTACGGATACGGGCCGAACCA
GGTGCCGTGATCTTGAGCGCCGCGCGCTGCGCGCGGAAATGCCCGGACTTCTGGCCGGCGTGCCTGCGCATGCGACGCGCGGATC
TCCACCGCGCGCAGACCGGGTTCTCGAATCGTTTCGCGATGCTCGACGAAGTCGGGGCTGGTCTCCACACGAAGTCGTGCACGTCCG
CCTGAACGAATCCGTGCCGCACGCGCGCGCGCTGCGCGTCCGTGGCAGACGCCACGCGTGCTGTGCTCCGACCGTCCATCCCGGGG
CACGGTCAGCGTGACGTGATGTGCCGAAATCCGAAAAGAAATCTGTGCGCGCATGAACTGATGCGCGTTCCAGCCCTCGTCTTCC
AGGACGCGGATCTTCGGAACCACTGCGCGACGAAGTAATAGTTCGCCGATGCGACCCGTGCGGGCAAACGTGCGCGGACGCGTGCGG
TCCAGCGGAGTTTCGAGGTCGATGGACGCGCCCGGAGCCACCGGTGAGTCGAGCGGTACCGCCAACAGCGTGCGATCGTCGGCGTTCCC
GTGTCAGGCGCGACGAACGTGCGCGCCGCAAGCAGGCTTCTGCGCGCGGTGCGAGGGTGGTGACGTGATGCCGCCGAAGTCGTCC
GCCGGCGCGCGGCGAGGGAACGGTTGCGCCCGAGCGCTGTCTGCGCATCCAGGACGAACGCGTGTGCGGCCAGGCGTTCCAGTACA
AATGGACGCGGATCTCCGCCACCGGGTGGCGGCAAAATGTCGCCCAGGCCAGCCGCCCTGCGGACAACTCTATCTCTGCCCGGATC
GAGGGCGCGCGTGATCGTGTAGTTGGCATTCCGGGGAGACGCGGGCGTCCGCCGCTCTGCGGGACTCGCGCTGCGGAACCGGGGAC
GCCAGCGCTACGACGGCCAGCGCGGTGCGACCCGCAATCGTCCACCGTGCCATGACGCGAGAATCCTACTTGATCCAGCTACAATCTA
TTGTTTGTCCGTACGGCATCGGCGGATGCAAAGGAGCGTTGGATCGTGCTTATCAAGACGTTACACATCGGACTCGGACCCATCGGTG
CGGGACGCGGATCGGCGGTGGCGTCCCGCAGGGGATTCGCGCGCGTGGACATCGACCCGAAGACGCGGAGGAGGATC
CGGCGACGTCTGCGGGCTGCGCCGCAAGTCGCGGTGAAGATCGCCGCGGACATCGCGAAGACGATTTCGCGCGACGAAGCCCGACGTG
GCCGTGCTTGCACGAGCTCGAGCTCAAGCGCGTGTGTCGCCGAGTTTCGAAGCGGTGCTGAAGCTCAAGGTACCGATCGTGTGACCA
CCGAGGAATGCGCTATCCCGTCCGACGAATTCGCGCGCGCGGAAGAGGATCGACGCGTGGCTAGGCGCGCCCGGTGGCGGTGCT
GGGACCGCGGATCTCCCGGTTTACGATGGACGCACTCAAGTCCACGTGGAGGCGTATCTCGCGCGCCCTGAATCTGTCGATGCTGTTT
GGATCAGCGGACGCCGCGCATCTCGTCGATGATCGCGCGCGGCTTATGCGGACATCGCCACCGCGGCCATCACCGTCAACTCGCT
CCCGAAGTCTCTCAGGCCAGCGCGGATGCGCAGCATGCGGGACATGCGCGTCCCGTCTGATTTTCGGTGGGTAGAACGAAAGCGTA
GTGCTTGGTGGCGAGGTGCTGAGTGCTTGGTGACGACGAAGCACCAGGCACTCAGCACCAGACTGTTCTGTAAGTCCCGCACCCAGT
CCCTCAGCTAGCTCCGTCGACGCTGAACCGGTGCGCGGACGATCGTGGGATGATGCGGAGTTCCAGCGCGCGCGCGTGCAGCGCT
CGATGGCGGCGACACCGGTCTGCGGAGCAGTCCGCGCGCTGTCTCGCCGATGAGCGCGCGGAAACGCTTCCACCGCGTGGGCT
CGTGAACGTGACCGCATCCACCTGACCATCGAGGAGCAGCGGTAGATGCGCTGGCGCGCGGTGAATCCGCGGATCGGCTCGGTCT
CTGTACGCCACGAGGTGCGTCACGCTGGCGCGCGGTCCCGTACGCGCGTGGGCCACGACGTTGCGCTCGTGGTGGGGCGCACCGA
GGATCGATCGTCCGTCACCGTGGAGTGCGCCACCATCGCATCGGTGACACCCCTGACCCGCGAGTTCCGGAATTACGACATCCGCTT
GAGTCCGTACGCGCGAGCTGGTCCGCGGTGGAGGGACCCAGCGCGACAGTGACGCGCGGCGCCAGCGCGCATGTGCGCGGTCCG
CGCGCATCGCCGCGAGCAGCGGTGCGGGTGACACCGCGGACTCGAACACAATCCAGTTCGAACCGATCGACCGACGCGCAATGCGAT
CGAGCGCTCGGGATCTCAGGCGCGGAATCTGAACGTCGCGCGCATGATCGCTCGGCACCCAGATTTCTCGAGCGGGTCCGCTCAG
CTCGCGCGCGGTGCGATCGACCTGGTCACGATGATGCGCTTCCGAAACCGGCGCGGTGCTGCTCGGATCTCCGCGGTCTCCGCGG
TTGACGACGTGCGCGACAGGAGCATCCCGGTTCCGACGCGCGTTCGCGCTCGTGAAGATTTTCGAGCAGGCTGGCAATGGTGCCGG
TGAGCGTGGCTGCGAGGACTGCGTGCCGCGGTAGATGAGCGCGCGGATTCTGTCGGCGGAGCGTCCGTGGTTCGATGAGCTGCTGGAG
CACCGTTCGCGGCGAGCCTGGGCGTGGCCCGCAGCAGGCCAGCGTGCTTTCGAGTGCGGCGCGCGCGCGCCAGCGCATCTCCGCGCGTCCG
TCCTCGGCGGTGCTTTCGTCGCGCAATGAGCAGCAGTGAGTGGCGCGTTCGCGCGCGTGGATGCGTACCGGGATGCGCGGATGCGCGG
CGCCAGCAGGGCGGCGACGCGCGGTACAATTCGAACGCGATGCCCTGTTCTGTCGAGAAACATCGCTTCTTCGCGCGCTGTGCGAA
GACGAACGATCGCCCACTTCAGCCGTGCGACGCTGTGCGCGTTCGCGGCTTTCTCGGCGAGCAGCATCGAGATCGCATCTTCGCGG
ACGTGCGGTTCCGCGGGGCGCGCGCGTTCGATGCGCTCGGCGTTCGCGCGCGCCAGCGGAGCACCGGCTCGGCGCGCGGTTCGTACA
CGACCATCGCTTTCGCGGAGAAGCTTGGCGCGCGCGCGCTGACACCTCGGGATCGCCGCGCGCGCGCGCGCATGATAACACCGCG
GCCGCTGCGCTCAGCGCGCGCTTCGCGCGGAGTAGCGCGTTCGCGCGCGGTTCGCGCGCGGTTCGCGCGCGGTTCGCGCGCGGTTCG
TCTTGGGAAGGCGCGTTCGCGCTTCACGTTCTTCGATGCATACGCCAGCGTGTACTGATGCGCAGTTTCGTCGCGCATCTGGCGGTA
CAGCGCGGGGAGTTGCTTCAGTTTCGTCACGCGCTAGGCGCGCGCGCGGTTCGCGCGCGAGCGTTCGCGAGCACGAAATCGGCTTCG
TTCCACCCGCGTTCCTTCGCGCTCTTGTGCGACGATGCCGATGACGATAGGCGACCACTTCGAGCGCGCGCGCGGTTCCAGCAGCT
CCTTCAGCGGATGCTGGAAGTTCGCGCGTTCGCGCGTTCGCGCGGAGTAGCAGCATCGCTGCGCGCGAGGTTCGCGCGCGGATTCGCGCG
GATGCGCGCGATTTCGCTCAGGAGGTGTACAGCGCTTGTAGAGCGACGTGATCCGCGGCTTCCATCCGCGCGACGCGCGCATCC
AACGCTCGCGATCCCGGTGAACGGCTCAGGATCTTGGCCTGGTTGTGGAAGTCGATGACCTGCCCGAGCTCCGCGGACCCATGTC
GCTTGAATGAATCCGCGCGCGCTTCGCGCGCATCGGCGTTCGAGGTTTCGAGTTCATGCTGCTGCTGCTGATGATGAGCGAGAGCGCAT
GGGCTGCGCGCTGCGCGGAAATTCGTCGATCTTCGCGCGGAGACGACCTTTCGATAGATTCGAAATCCGATTTGGTCGAGCGCGCGCACG
AGGCGGTTCTGACCATCGGCGACCGTAATGGTGAGTAGAACGAGGTGCGTCCGCGCGGAACTTCTGCTGGCCGCGCGACCGAAACCT
GGAGCAGAGCGCGACGCGCGTGTGGCGGCCAGCGCGCGATCACTACCGCGCCACTTCGACGAGCGCACACGAGCGCTCTTCGCGG
CGCGAGTGACTTCAATGCGATCAGGCGGAATCAGCGACTTCGCGCGCGGCTAGATCAGGAGTACCGCGACGCAATCAGGTTTCGTCA
CGTGGTGAATGCGGATTCGATGCGCTGGCGCGGAGACGACCTTGTTCATGCGCGCGTGTTCGCGGGTTCGCGCGCGGAGCGCG
GGCGGTTTCGCGCGTTCGCGCGCTTCGCGCGACCCCGCGCTGAAGCGTCACGACCCACAGGATGCGCGGATGACTTTCGAGCGCG
TCTCTGATCTGCGTGTGAGCTCGCTCGAAAATCCGCGCGGTTCTCGCGCGACGAACGCGACGATCACCGCGATGGCGCTTCGCGCT
TCTTCAGGTCACGCGTGGCGTCCATGATGGCTGGAGGAAATAGGCCCGGACCCGCGGATGGAGAAGTAGCGCTTCGCGACATCCAG
CAGCGCGTGGGGTTTCGCGTGAAGTCCACACGCGGAGTCGCGGCTTCGCGGAATGTATGAATGCTGTTGGCGCGCGGCTCAGG
GCCGCGATCTTCGCGACGAACGTGCTCAACGTGCGCGGAGGTACTGCACGAGCGACTGGGTGCGCTGGCTGTCTGCCAGAAAGT
AGAGTGGGACGCGCGCGCGCGCGCGGAGGCCCGGAGGACCTCGCGAGCGACGCGGTTCTCGCGGACGAAAGTCCGTGCGCTGCAT
GTCGGCCACCGGAGGTGTTGTTCTGTCGCGGCACTGACGAGCAGCGCGCTCGCGTGTCTCGCGTGGTTCGCGCGGAGTTGAGGAG
GATGAAACGGAGATGGCGATGACTCCGGCCATACCGCGCGCGGAAACGAATTTGCCACGATACCTCGGAGTATAGTTGGCGCGAACG
CTAGTGAACATAATTACAAGGTGTTGTAATATCTGTGGGTTCCGAGGGGCGTCCAAGGACGCGCTGGGGCGCAGTGGCGCGTGAGGT
GACTCTGTGGCGGTGGGCGACGAGCGCGGACCGAGTGGCTCAGGACACTTCGTTCTTCCATACAGGCTGACGAGGCGCGTCCCG
CGCGCAGGAGTGGTTATTACTCATAGGCGCCATCGATTCTGCGCGCGGCTCGGATACCTGGCAGACCGGATGTTTCGGGATCGCGCC
GACCGACTGGTGGCGCATGCTCTTCGGGGTGTCTCGGCGTGTGATGATCTCTGCGGCAAGGAACATCTGCGCGCGGCGCGG
CGGTGATGGCGGTGGCGCGCATCTTCGCGCGCTCGCGGTGATCGCGGTGCGACGGGCTGGGGTACGAGAAGATCGCGCGCGCGGT
GTTTGGCGCGATGATCGGCGCGCTCGTTCGCGGTGTTGCGACCTGGATCGTGACGCTGCGAACCTATCGCGCAATCCGCGCGAGGTT
TCGGCCCTGATGATGCGGGCTTCTCATGAAGTCTGTTTTCGCGCGTACGTTGTTGGTGGTGGAGAGTGGCGGAATCCAG
TGCGACCTTCGAGCTGAGCTTTCACGCGCTTTCATCGCGCTGTACGCGGTGGAAGCGGGTATCTCGCAGCTGTCTGCTGCGCTGCC
GGGGCTCACGCCCCGCTACTTCCGGGAGCCGCTAGTCGATGCGCTTGGATTGGATCTTTCGGGCCACTGGCAAACTCCGACGGC
GGCGCGCGCGCTCGATGGCGGCCAGAAAGGCTCGACTTCGTCGGGACGTCGCCAACGGCGAGCACGCGCTGTTTCACTGCGCA
GATCTTCGGCATCGACTTTTCCATCACCAAGCATGTGCTGATGCTGTGGGTGGTGGCGATCTCTGCTTCTGTTCTGCTCTCCGCGG
GGTTCGCGCTACCTCCGCGCGCGGACGATGTCGCGTCCGCGCATCAATGCGCTGGAGATCGTGTGATGCTGCTGACGCGAC
ACCATCGCATGCCGAACGTGCGCAAGAAGTGGCTGTGGACGTGGACGCGCGTGTGCTGACGTTCTTTTCTTCATCTTGGCGCGA

ACGCGATCGGCCCTGGTTCCGATTTCGACTTCATCGGGCTCGTCGATCACCTGTTTCATACACTCGGCCGAGGACTCGTTTCCTCAAGCA
CCTGATCCACGGCGGCGGACGCGGCACTTCAACGTCAGCCGCGGGGCTGGCGTCGATCAGCTTCGTGCGGATCATCGCCGCC
GGTTCGAAGGCGCACGGCTTCGTGCGACACTGGATGAACCTGGTGCCCAACGGCTGCCGAAGGCGCTTACCTGCTCATGTGACGCG
TGGAGATCATCGGCCTGTTTCGTCCGGCCGTTTCGCGCTGACGATGCGACTCGCCGCCAACATGACCGGGCGCCATATCGCCATTCTCGC
GATCCTTTTCGTTCGTGTTACGTTTCGCCGGCATGATGGGCCCGCTGGCCGGCATCGGCGTCGGCGCTCGGATTCTCGGTGCCGCTCGCG
GCCGCGATTTCGGGCTCGAGATCATCGTCGTGCTCGTCCAGGCGTACGTGTTTCACGCTGTTGTTCGGCCGTTTCATTGGCATGGCCA
TTCACTCGCACCATAATCAGGTACCGCTTAACACGTCGCTCTTAAGGAGATTTCGCATGACGAAAGCCGCTCAAGCTACTTCGATTGC
CGTTGCTTACGCCGAGCCGGCTTGGCGCCGGTCTGGCCGTCATCGGCGCGGGCATTGGCATCGGCAAGCTCGCCGCTGGCGCGGCG
GAAGGCATCGCGCGCCAGCCGAGCGCGACGCCGAGATCACGAGCGCGACGCGAGCTGCCGCTCTTCCTGCTCGAAGGCGCTCGCGATTTC
TCGCGGTTCGTGGCTGCCGCTCGTCACTTCGTACCAAGTAACCTCGTTCGGGCCAGGCGCGGAGGCGCGCCGTTTGAAGCGAGGGCG
CGGACCGCGCGCCGCTAGAAAGAGGAAAGGACGCTGCTGCTGTCAGAAATCCGCTCGTCCAAGTCGATCGAGCCGTGTACGTGGAGCTTC
ATCTCGACGTTTCTGTGCTCGCGTGGGCGCTGTGCAAGTTCGCTGGAAGCCCTTGATGAAGGCGCTCGAGGAGCGGCGAGAAGACGA
TTGCGCGCGCCGTCGATGACGCGCTCAGGCCAGGGAGAGCTCGAGCGCGCCAGCAGGACGCCGCTAAGCTGCTCGCGAGGCCCG
GGTGGACGCCGAAGATCTCTGAACCGTGGCCGCGCCGACGCGGATCGCTTCGCCAGGAACGTCGAGACAAGGCGATCGCCGAGGCC
GCCAACATCTCGACGAGCCGAGCGAAGCATCGAGCGGAAAGCGGCAAGCGATCGATGACATCGCGCGGAGGCGCTGACGCTGT
CCGTGGCCATCGCTTCAAGCTCATCCGCGCGAGATCAAGGCGACGGATCAGGACGTGCTGCTGAACGAAGCGCTTCGGGAAATTCA
GGGCACGAAGCAGTAAGCCGGCCAGGTGCCATGCGCCGATTGACGTCCTTCTCGTCTGATGGTTCGTCATCTGGGGCGTCAACTACA
GCATCATCAAACAGGCGTTCGACGAGATCCACCCAGCCGTTCAATGCCATGCGGCTGGTGTGGCGTCCGCGGTCTTCTCTGTCGCG
TATCGCGCTGACCCGCTAGAACGAGGACGCTGCTGCTGTCAGAAATCCCTTACGCCCAATCCCTCGGCGGCTGTACGCTGACGCTG
TTCTGGCTCGGTATCGTCGGCCACCTCGGGTATCAGTATTGTTTCGTGCGCGGCTGGCCGCGACGAGCGTGTGCAACGCCGCACTCA
TCATCGGCGCCACGCCGCTCGTTGTGGCGCTCGCATCCGCGCTCTCGGCGCGAGCGTATCGGCGCGTTGCACTGGCTGGGGCGCGC
AATCTCGGTGTCGCGCTCTACTTCGTGGTTCGGCCACGGCGCGTCTGGGAGGCGGACTCTCGGCGCGGACCTGCTCATCATGTTG
TCGGTCTGCTGCTGGCGACGTACACGATCGGCGCCGCTGCTGCTGTCAGGCTATCGCGCGCACTCGCCGCTGTACGCTGACGATGG
CGATTGGCGTCTGCGCTACGTGGCGCTGACGTTCCCCAGTTTCTCGGCTCGACTGGGCGCGCTGACGCTCTACACGTGGGCTC
GCTCGTGTCTCGCGCTTACTTGCCTCAACGTGGCGTACTGATTGTTGATACAGGCGTGCAGACAATCGGCGCGGCGCGACGTCG
ATGTACTCGAACCTGGTGCCGGTGGTGGCCATGAGTTTTCGCGGCTGTGCTCGGAGAGCAGGTGACGAGCAAGTTCATCGGGG
CCGCTGCTGCTGTCAGAGAGTCTGTGACCGGCTTGGTCTGCTGACCAACCCGCGGTACCCATTGAGGATCACGCGAGGATGAT
GAAGGTTCTTGCCACGCTGTTTGGCATCACGCTCGCCATGCGCGTTCGCGCGCTCAAATTCACCGCTCTGCGGCTGGTGTGCAAG
GCGCGAGCTCGTCGATGAGGCTTGCCGACTTCACCTCGCGAAAGTGGCGGTCGACGCAAGACGCGAGCGGCGACACTTACTTTT
TTGGCGGCGACGGCGGATCCGTGCGAGGCGAACCTGGATCGCTGGATCGGACAGGTGGCGCGAGCCGAACGGCGGTGGTTCGATCGACGC
GGCAAGACACGACGCTGGCGAGCGCCGCGGCTCAAATCACGCTCTGTTGATGTGGCGGGGACCTACGTGGCTGAATTCAGCCG
GGATCGGCGGAGCGCTTCAACAAGCCGGGATTCCGGTACTCGGGGCGTGGTTCGAGACGCCGCGGGGCGCACTTCGTGAAGGTGG
TCGCGCCGCGCGTACGTTGGCGAAGTGGGAAGCGAGCTGACGCGCTTCTGAAGAGCGTGGCTTGGGTACGCCAGCTTCTTCATT
CTGAGATTTCAGAGACAGACCGCGAGCATCATCGTCCCGATCGTCAGGACGCGCGGCTCATGAGCGTCGATAGGCGCGCGCGCGGA
TGAGGTCGTACATCGTGAAGCTCACGAGCGCATCGCATGCGCGCGGCGGAGGCGGACGCGAGCTGTGTTCGCGGCGGATCG
CAGGCACACCATGGCCGCGTGGCGACAGCAGGACGTAGTCCAGCCCTGCGGAGAGATCACCGGAATCAGCAGGCTCAGCAATCCG
AATTCGAGGTAGAGCGGCTCGGTACGTCCTTGCGCCGTGACACGAAAGCCAGGAGACGCCGCGATCGCAATGGTCCCAGCG
CGAACAGGCGAGCTGCGGCCCTCGCCGGTCCATTGGTTCAGGCCGACATGGCGGACACGTTTTCGCGCTTCAGGAGATTTCGGCAG
CTGCTGCTGTGTCGAGGACGCTGCGGTACAGGCTGCGATGATCGAGATTTCCTGCGAGCTTTCCTGCGAGCTGAGGCGGTGCGAGCT
CCAAGGGCCACGAGCAGCAGCGCCGCGGCGACCGCTGGCGAGACCGCCGCGCAGCAGCCAGCGACGAGGATCAGGGCGTAGACCT
TGACGAAGACACCATGCGCAGGAGGACCGCGCGCTCTGCGCGCTCCACAGCGCGCCAGGAGCGCGCCGTCAGCAACGCCGCG
GAGCACACGTTCTGCTGCGCCAGCAGGATTCCCGGGCAAAGAATTGAGGGTGACGAGGGCGGTGAGCCAGATGAGGACACGCTCG
CTCCGTTGCGCTCCGCGAGGCGCGGACCGACATCGGAGCAGGATCACGAGCAGCGCGCAGAGAGATGCGTACCATCAGTTCTGCTG
CGCGCGGTGCTGACCGCGCGGAGGAGCGGACGATGGGCAAGACGCGGAGGTAAGTTCGAGTGTGCTGCGCGCTGCGCGCG
GTACAGATTCTCGGCATGACCGCCCGCACGGCCGCGCGCGGTACACGTCGAAGTCCACCATTTCCCGGTGACGCGCATCGCGTAG
AGAGCCGCAAACACTGCAGCGAGCAGCAGCGCGCGCTGACCGCTTCAGGGCGCGAGGACTTGCATCCGCCAAGTACCAGATCAC
GCAATCACCGAATACCAAATCTCAGGTCTCTCGCTCGGTCTCATGTTTCGCGCGGAGGACCGCTTGCGCAACCGCAGGAAGTCGCG
GCGTGACCTCCAGGTTTCATCGCTGTTGATGAATCTGATGGCTGCTCGAGGCTGAGGCGCGGCGGAACTCGAATTCGAGGCGGATGCTTC
GTCGGCCGACGACGCGCCGATGTTCTGCTGCTTCTCTCGCGCTGATGTTACGTCGAGGTGCTGTGTCGCGTGAATCTCTCGCCGACG
ATCATGCCCTCGTAGACGTCGGTTCGCGGATCCACGAACATCTCGCCGCGCTCTGCGAGCCGCGGATCGCGTAGGCCGTGACCTTGC
CTGGTCGATCGAGACAGCGCGCCGTCGGACGCGCGGAATCGTGCACGCTTCCAGCCCTCGAAGTTCGATGTCATGATGTCGCG
TCCGTCGCGCGCTTTCGTTGAGGAATTGCGTGCAGAAATCCAATCAGGCGCGCGCGGAACTCGAATTCGAGGCGGATGCGCGCG
CTGCCGTGGTTGATCATCTTGGTTCATCATGCCCTTGGCATGCCGACTGGGCGATGACCATGCCCTGGTACTCTCTCGCCACGTCCA
CGACGAGCTCTTCCACGGGCTCCATGCGGTCGCGTTCGTTGATCTCTTCGTGACGATCTCGGCGCGGACACTTGCAGCTCGTAGCCCTC
CGGCGCATCATCTCGATCAGGATCGAGAGCTGGAGCTCGCCGCGGCGGACGACCTTCTGTTTCGGCGCTCTCGGTGGGCTCCACG
CGATGGACACGTTTCCGAGCAGCTCGGATCGAGCCGCTTCTGCTGCGGAGGTCAGCACTGCGGCTCCGCTCGCGCGGCGGCTC
GCGAGCTATTGACGCCGAAGATCATCGAGACCGTGGCTCGTCGATGGCGATGGTGGCGATGGCTTGGAGATTCTCGCGCTCGGCGAT
CGTCTCGCGCATCATGATGCCCTCGATGCCGCGAGGACGATGATGCCCGCGGACGCGCGCGCGCTCGACGCGCTTGGAGCCCT
TCGAACGTGTAGAGCTTGGTGACCACCGTCCGCTGCACGGACCCATCGAGCTTACAGACGCCGATCGGGTCGCCACCTTGACCCGGC
CGTTGAAGATGCGGCGGATGGCGAGCCGCGCCAGGTAGTCTGCTGAGTCGAGATTGGCGACGAGCGCTGGAGCGGCGGCTCGCGCGG
CCCGCGCGGCGGCGGATGTGCTTACGACCGCGCTGCAACAACGCCGAGGTCCTCGCCGGCTCTCGAGCTTTCGCGCTCGCCGTG
CCCTGCCGGGATTCGTGTACAGGACAGGGAAGTCGAGCTGATCTCTCGGTGGCGTCGAGGTCGATGAAGAGGTCGTACACCTCGTTCA
GCACCGCGGCGCTCCGCGCGTCCGAGCGATCGATCTTGTGATGACGACCATGGGCGTCAGCCGCGCTCGAGGGCTTGCAGGAC
GAAGCGGGTCTGGGGCAGCGGGCCCTCGGACGCGTCCACAGCAGCATGATGCCATCGACCATCGACAGCGCTCGCTCGACTTCGCGC
CCGAAGTCGGCGTGGCCCGGCGTTCACGATGTTGATGAGGTGGTCTGATAGTGACGCGCGTGTCTTCTCGCGAGAATCGTGATGC
CGGCTCGCGTTCGAGCTATTTCGAGTCCATGACGCGCTCGGCGACCGCTCGTTGGACCGGAAGATGCCGCTCTGGTGGAGCAGGGC
GTCCACGAGCGTCGTTTTCGCGTGGTCAACGTGCGCCACGATGGCGATGTTTCTGAGGGCGGGATTGGCCACACCTGCGCGAACGGA
ATGGCTCGGGACATCTCACCAGTATAGACATTCGCTGCTGTTGAGGAATTGGTGATCTGGCAATGGCAGTTCAGATGTCAT
TTCCGCGACCAATGTCGTCGATTTTCGAGAATCGTCGCGTGCACCTCGTCCGTTTCGTGAATGGCGGAATGGCGCTGATTACGGCGGC
GTTGGCCGCTGCTGGTGGCGCGCGCGGCCACGCCAGGCGCGAGGCGGCTCGCGCGGTCGGCGGAAGGCCGGGACGATCTTCGACCTG
CTGCGGATGCGCGGTTTTCGCGCGCTCTCGCGGAGCGCAAAGCGGACGGATGGCTCGAGACCAGCAGGCGAGTCCGTCGCTACATCG
ACAAGCGGGCAGACGATTCAGCGCTTCTCGCGCAGCTGTTTCGACGCTGAGGCTGCCGCTGTGACGTGGAACGAGACGAAGACGAGTA
CCTCTGTCCATGCCACGGCGGTGTCTACGATCGTGACGAGCGCTGCTCTCGGTCCGCGCGCTGCGCGCTCGCCCGCTCAACGTT
CGCGTGAACCGCGAGACGTCGAGATTGAGGTGCAACTGTGAGCATGTTTCGCGAAGGTCGCGAAGTGGCTCGACGACCGTACCGGCTT
CCGATGTTTGGCGGCGACGCGCTCGACGAGCGCTCGCCGCCGCGGACCGGCTGGTGGTTACGCTCGGCGAGCTGCTGACGTTTCGGC
ATCGCGCTGCAATTCTCACCAGCATCGGCTCGCGCTTCTTACGCGCGACCCCGGACCATGCTGGTGGAGACGCTGCGCTTCATCA
CGGACAGCGTGCAGCGCGGCTCGTTTCTGCGCGGCTGCACCACTGGGGCGGAGTCTGCTGGTCTGCGCGCGCTCTGCATCTTTG

[illegible]

GTGGTGCCCGGCAGCTACGACATTTCGCGTTCATGAAGCTGCCGCCGCTCCGGCGACCCAAACGGGGACGAGCAGTGTGGTCCAAGCGG
GTGGTTCGACGATCGTCAGCACCATCAACTCTCGAGTACCGCAGACGCTTTCGACGAGCCGACCTGGTGGGCTGCCAGCCGGTCCG
GGTCGCGGACGCGAGGTCGCCGCCCTCACGGTCAGCGTGCCTGCGAGAGGGCCGAAGAATCACGGGGCGAGTCCGATGCTGGTCCGCC
CCCCCTCTGAGCGGGGATCGCCTCCACCAGATCGGGATTTCGCCCGGAATCGGCCGATTCCAGATTGATCTCCCTACGGGAGTTCATGC
TGTCGAGCGGAGTCGTGATGCGACCGCGCGGTTTCAGAACTACAGTTGCCCGCGCGAAGTACGTAATTTCGAGCGAGTGGACCGGC
CAACTGGGTACTAAAGAGCCTCCGCTTGGGCGCGCGCAGCTGACCGACGTTCCCGTCGAGCTCAGGGGGACGAACTTGGCGATGTC
GTAGTCGTGCTGACGACGCGACTCGGGCAGGTGGTCCGCTCAGTCCGCGCGCCGTGAGATCAATCCCCGACTGTGCTGCTCTTCCCTG
TCGAGCCATCGATGTGGCTCGACCATGGGACGAATCCCCGCCGCTTCGCATGGTGAGGCCGGCCACGGACGGGTGCTACCGTATGTC
GAACTTGCCCGCGGGGAGTACTTCGCCGTTGCTGTCTCGACACGCGTGTGATCGACTGGCAGGATCCACGTTATCTCCACAAGCTG
GCGGCGCTCGCCGCGCGCGTGACCGTCCGTAACGGCGAGACGAAGACGGTCGATCTCGACGTCGCGAGGTGCGGTAGCCGTGCGTCG
GGGCTTTATTCGCGCTAGCGTGCAGGATGACCGCGAGTCCGCTCCGCTTCCGACCGCGCGCAGACACGAGCGGTGACGCTGGTGGTGA
ACGAGCCTCACTGGTACGGCGCGGATCTCCGGTACCGTCTTGAACGACATTACCGGGCTCCCGCTTCGCCGCGCGCGCGTCACTCTCA
CGAACACGAATTGGGACTGCGCCTCAGCGCTGTCACTGAAGATGCCGGCAGTTTGCGTTTTCGGAACCTCCCGCGGGCCGGTACCT
CATTGGCGCGAGCAAGCCGGGATTTCGTGGCGACCAACTATGGAGCCGCTCGTCCGCGCGGGCGGGCATTCCGTGGCCGTAGTCGCA
GGAGAGCGACGCGTTCGTAGTCGATCTCCTCCTCGGCGCGCTGTCACCGCGCGCGTTCGACCGCGCGCGTTCGCGGCTGGTGG
CGAACGTTTCGGGTGATCGTGTCCGGCCGACGGTGGCCGCCGAACTGGCCAGCCGACCTTCGAGCCAGCCGTTGGGCCCATCGGCCA
GCAGACGACGACCGCGCGGAGTACCGGATCTTCGGCATCCCGCGAGCGAGTATTTTCGTGTCGCGGTGGCGGCTCTAGCGCGCGG
TATTCGACCGACCTCCGGGAGACGACCGCTCCAGAGGTTGAGTGGGCGACGAGGCAACTTCAGTCCCCCTTCGCCGCGCAGACGCGCTG
GAGCGGTTATTCGCGCTGTCGAGTTTCGTGCGCAGGTTCTTCCGCTCAGGACGCTGTCGACCGCGCGGTTGAGTTCGCGGCTGGTGG
TGAAGAAAGGGGAGGCGTCGACATCCTCATGGATCTGACTCCGACCGCGCGCATCGCAGGGCAGGTGCTTTCGCCACTGGGGTCTGTG
TCCGCCACCACACAGATCACGGTCTTTTCGCACAATTCATACCGGCATTCCGCTGGTGGGCTTCGGCTCCACGCTCGTCGACGACG
CGAAGAAATTTTCGACCGCAGGTTTTCGCCCAGGCACTTACACCGTGGTGGCAGCTGCCACAGCTCCGACCGACCCCTCTGGGCCCTC
GGCGGTTATTCGCGCTGTCGAGTTCGTGCGCAGGTTCTTCCGCTGACCGGCGCGTTCGACCGGCAACTTCGAGTTCGCGCTGGCGCTG
GGCGCGCTGCTGTTTGGCGCAAGGTGAGCAAGCCGCTGAGGATCTCACGCGAGTCGGCGTGAGCCTGCTGGCAGCTCCGTACCCCG
CGCGCTCACTCGGCGTCGCGCGCTCCAAGATGGCGCTGACGGCGCATTCGTGTTACGCGGTGTCGCCCCAGGTCGCTATCGAATTAT
TGGCAGTGCCCCAGGCGGTGGGCGATTTCGACAGCGTCCGTTGCCGCTGTCGATCCTTCGAGGCTTCGTGAGATTGGCGACACC
GAGCGTCAAGAACCTCGAGGTGAGTTCACGATCTCGAGCGCGATCTGTTGACCTTCGCGCTTCGGGCAAGCCACGCCCG
AATACTTCGTCTATTGTCTATCCAGCTAACCGCGCTACTGGATGCCGAATCGCGCCGATCATGTCCGCGCGTCTGGGACGGATGG
CCGATTCCGCTTCAGAACCTACCGCGGGGAGTACCTGATTGCCGCGGTGACCGACGTCGAACAGGCGAGTGGTTTCGATCCGAGA
TTCTGGAGCAGCTCGTCGACGCTCGACGAAATGTCACTACCGACGCGGAGAGAAAGTTTCAGAGCTTGAGAAATCCGCTAGTGGC
GGCGGTCAGTACTTCGCGTGTCTTGTGTCGCTTCAGCACATCCGCCGAACCCGGGAGAACTTCCTTCGAGGTCGGGGCAGTGGC
CCACCGGCACGTCCATCGCACCCACGCGCGGACGGGCGCATCCAGGTACTCGAACAGGTGCGCGCGCAGCAGTGGCGCCAGCTCGGC
ACCGAAGCCGCGAGTCACTGATCCTCATGCGCGATCACGATGCGGCTGGTCTCCTTGACGGCTGAGGCGATCGGTCGCCAGTCGAAG
GGCATGATCGTGCAGAGTCCAGCACTTTCGACTGATGCCGCTCTTCGCGCTGCTGCGCGCGAGGAGGGTTTCGCTGCGACGAGCG
GGCCCCAGTTCGACGACACCGTCGGTCCCTTCGCGTTTGACGGCGCTTTCGCGAAGGGAATTCGAGTTCGAAACCCGATATTC
GGCCTTGTGTAGTCTGGCGGTACAGGTGCTTGTGCTCCAGGAACAGGACGGGGTCTGTCGACGCGCATCGCCGTGCGGAGCAGACCC
GCGGCATCCTGCGGTTTCGACGGATACACACGCGGATACCGGGGCGAGTGGCGAAGATGCTCTCGCCGACTGGGAGTGTACGGCG
CGCGCGCGCGCAGATAGCGCGCTCGCGGTGCGAATCACCATCGGGCAGGAGAACGCGTTGCTCGATCGGTACCTGAGCATCGCGAC
TTGCTTCGGAATCTGATCATCGCGCGAGTGTAGTCAAAGAATCAAGTTCGACGACCGCGCTTGTGATCGCGCGCGGATCGCGCT
AGCGCGCGCGCAGATGTTGGCCTCGCGCAGCGGGGAATGAATACGCGGTGACCCCCGAACGCTTTCGAGAGCGGTGCGTGACCT
TGAAGACGCGCGCTTTCGCTGAGTCTTTCGATGCTTTCGTGCGTGGCGTCCGCCAGCTTTCGCCGAACATGACGATGCGCGG
GTTTCGCCGCATCTCGTCTTCATGGTCCGGTTGATGGCGCGACCATCGTGTCCGGTTCGCTTCGGGCGCGGCGACGCACTCGAAC
GCCTCGACGCGCGATCGACGCTTGGCGAGTAGACCGAGCCGCGCGGTCTTCTTTCGCGGTTTTCGCGCTTTCACCGCGCATCTG
CCGCTCTGTTTCACTTCACGATCAACGCTCCTTGGCGATGACCGCGCATCTCGTGGTACACGCGCAGCTCCCTTCAGAGCTTGGC
CAGCTTCGGGATGGGATCGCGGTGCTTCTTCGCGCGCTCGGCCGCGCTTGTACAGCTTCTCGTCTGCGACAGGAGTGTGAA
TACGGACGCGTGACCTTGGCGTGACGAGCGCGGGCCCTTCGCGCGCGCGCAATAGTCCACGCGCTCTGTATGGCCCGATGGCTCT
CGAAGATATCCGTGCGCTGCACTTGACGACCTTGAGCCCGGGGAAGTCCGGACGACGTCGGAATGCTGCCGCCAGCGCTGTCAC
TTCGACGGGAACGAGATCGCATAGCCGTTGCTCCTCGATGCGGAGACCGCGCAGTCCCGCGAGTCCCGCGCGGTGCGAGCGACTCC
CAGAACTCGCCCTCGGACGTGGTCCGTCGCCAATCGAGACGTAGACGACCTCGTCTTTCGAACTTGCTCTCGCGGTTTCGCGACGC
CCTCGAGCTTGGCGTAGAGGAGCCCCGCTTCGGCGCAGCGCAGCGCATGGAGACACTGCGTGCCGCTCGGACTCGACTGCGAGACGAT
GTTGAGGTTCTTGTGGCCCCAGTGCACGGCATCTGGCGGCCACCGCTGTTTGGGTGCTCTTCGCGGCCAGCCGAGGAACATC
TCCAGCGCGCTCATGCGGAGCTCAAGGCAACAGGCGCGGTGCGCATAGTAGGGAAGAACCAGTCCGAGCCGGGCTTCAGGACGAGAC
CGCGGCCACCATGATGGCTTCGTGGCCCCGCGCGCTGATCTGGAAGAAGATCAGGCTCTGGTTCTTGAGCTGGATTCTTGTGTCATC
GATCCGGCGCGACAGCAGCATCGTCCGGTAGATCGGATGAGCTCGTCTTCGAGAAACCGTCCACCGTGGCTGACGCGCGCGCGGT
CTCGGCGCCTTCGCGTCTGTGCGTGCAATTTGCCGTTGGTGTGGGAGAGGCTTCATCCGTGGTGTCTTCAAACGTCGATGCTGTG
TGGGGCGCGCGGTGACCCCGCAACCGGTCGATTATCTCCAGCACTTCATGCGGATCGCGCCAAACCTCTTCGCTGGGCGGA
TATCGAGCTCGACAAAGTGACAGAAATGGTGTGCGCAAGGAATTCGTGTCGACGGTGAGTCTGTCGAGACCTACCTGAAGAAG
GGGCGCAGGTGCCGAGGCACTCGCACGCGCGCCACAGTGGGTCTACGTCCTCAGGGCGTGCTGCGGGTGACGTCGGCTGGCGACT
CGGTCATCGCTAAGGAGGCGATGTCGTGCAATTTCCGCCGATCCGATCACAGGCCGAGGCGCTCGAAGATACGTTCTGTGCTCGT
CATGACAGGTGACGACGGGTACGACAGGTGACGACAGGTGACGACGGGTGACGACAGGTGACGACGGGTGACGACGGGTGACGACGG
GTTAGTGGATTGTGAAGTTGCCGCCGCTGCCACCACACGGCCGCTTGGTGGATGTTGAATCTTCCGATCCGATCCATCCGCCA
CTTCGTCAGCCGCTACTGAATCGCGAGCTTCAGGCTCGTCCGGCCGCTGAGGTAGAACCAGCCACAGTAATCCGGCGAGGTGCGTG
GCTTCTGCCACCGAGCCATTGCGGCCGCTGATTGCCGCGAGGAACGCGCATGCGGCCCATCAGCGCCGCGCTACGCGCGCGCGGACGCG
GGAAGATGAACATGAACAGCATCTGTGCGTGCGGAAACAGGAGCGCCACGCGAGCAGCAGGCGCATACACGCGCCTGATGCGCGAT
GGTCTGTCGCGCTAGATGTCCGCGCGACGCTGTACGGCAGCAACGAAACGAGCACCGTCTCGGATGCCGATCCAATGCCGGTGAGG
GCTAGTACTTACGAAGCCGCGGGTGCCCCAGCGTCTGTCGAGATCGACGCGGAACATCCACAACGCCAGCATGTTGAACAGGATGT
GCATGAAGCCCTGCGGTCATGCACAAAGAGATACGTGCCGAGCCGCCACAGCTGCGCGCCCTCGATAACCGCCGCTGGTGAGAGGCC
GGGCGAGCACGCCCATCGGATGGTATGGCGCGCAACGAGAGTGGCTCGGTGGAGGTGCGGAGGCGTCAGAGAACTGGCCCGTGAG
CCAGGCGTGTGAGTAGTACGCGGCCACGGCCATCGCGGCCGAGGCGAAGCAGGTCTTGGCGAAGGTACAGAGGATCCGCGCGTGA
CCGCGCGCAAGCCGCTCGAGATCAGGTACATCAGCAGGCGCGCATTCAGGATGGCGCGATGGCGGTGCCAGCGCCAGGCGCGGGA
ATCCGTAGACGAGTTACGCCAGAGGTTAGCGCGAGGTTGGTGGCGATGGTACGAGGCTACAGAGGACCGGTGTCGCGCGCTCGCC
CAGCGAATAGAAGCTCGCGGAGACGATCTTGACGATCGAATAGCCGATGATGCCCGCGCTAGCAGAGGAGAGCCGCGCGGTGATG
GCCGTTGACCATCGCTCGAAGCGCGCTGGAAGATGAGTCTGACAAATGGGGTGCGCAACACCATCAGACCCAGCATCGACGCGCA
CCGAAGCAGGACATCAACCTGATGCCCCAGGACGCGTCGATACCATGGCTTGTGGGCAACCTCGGCCGCTTCCGCGCGGAGCTC

GGGTATTGACGCGGTGCGCCACGGAGACGCCGAAGATGCCGATCGGCAGGTACATCAACGTGAACGCGTACCTCAGCGCTGACGCTGCG
CCGGGCTCGCTCGTCGCCAGCCACGTGTTACAGGAGGTTGATCTGCGCCGCCGCCGACCAGTGGTGCCGGGGCCCCATCAGAAACA
TGACTTCGCGCAATGCCGGTTCGCGGAAGTTGAGCCGCCACTGATGGCGATAGCCCTCTGCGCGGAGACCGGGAACTTGAGCGAGCAG
CTGCGCCACGCCGCCGCCAGCATGCCAACCGACAGCGCCATGATGGGTTTCGATGCCCATCTGCGAGAACACCGTGTAGCCGACGACG
GTTGAGAGGATGAAGACGACGTTGTACATCGCCGGGGCGCTGCGTGGTGTGAAGAACCGCGCAGTGCGTTCTGTGATGCCCATGCCGG
CGGCAGCCACGGCGATCAACGTGAGGAACGGCAGGTTTCATCCGCGTCAGCCACACGGTGAGATCGAGCTGACCAGGAATCTCGAGGAA
CTTGTCGTCGACACCACTCCGTTCCGTGAGCGGTCTGCGCAACGAGCCATCCGAGCACACACGAGACCCGTGACGAGCAGCTCCGTTG
ATTACCTGCGAGGAGAGACGCCACGCCGCTTCTTGCCTTCTTTTCGTCAGCGTGCCTGTGAGCGCCGGCACGAACGCCGCGCTCATCG
CGCTTCGCGAAACAGCTCCCGGAGCAGCGTGGGGATGCGCGTGCAGACGACGAAGGCTTCGAACCTGGGGGGCCGTGCCGAAGTAGCG
CGCTGACCTGATCCCGAACAGTCCGAAGAGGCGGCTGGTCAATGTCGCGATCGCGATCAGGCCGGCCGCTCCGCCGATGCGTCGT
TTCCGATCGCGCGGTGTCAGGCACGATGCGTGGTGTGCGGAAGTTCGCGGAGCGGTGACGATCGTGTGCGCCGACTTTGTTAGCGCGCAGA
ATAAAAGGGAGGTTACCGGAAATAAGAAGGGGCCCTAACCCCTGTGTTGAGGCCCTGCCCGGAGGATGGATGAGAGGCGCTTGCAGAT
TGCTTTTCATCAGTCTTAGACGGGGCCCTCGCGGAAAAAGTTTGGGCGCGGATTGTTAAGAACTCGCAATCAGGACAGCCGCTTCTTTG
ACCGCATCGCTCAGCCCGCGCCATCGACGGAAGACCGGCGAGGCGCGCCATTGTGGCCTTCATGACCTTGCCCATTTCTTACAGG
TCTGCGCGCGGTCTCGCCACGCGCCCTCGATCGCTCGGCGCGGAGTCTGTCGCGCGGAGTCTGTCGCGCGCGGAGTCTGTCGCGCGCAG
CGTAATCTCCGCGAGTTCCCGGTGCGCGAGTTCTTGGCGACCGGCGCTGAGAACTGGTCCGCGCGCTCACGGCGCTGCTTTACAAGT
ACGCCGACAACCTGAAGCGACTCGGTCTCGTCTAACGTACGTCCCTTTTCGACTTCCTTGTTCATCAGCGCGGCTTGAGCATGCGCA
CGGGGGCGAGCGACGCTTGATCCTTGGCGCGCATCGCGTCCGCGATGTCCTGGTTCACGGTGTCAAAGAGGGAAGGCGATGACGTGAGT
CTATCCAGCGGTCTGTCAGTATAGGCGCGCATAGGCGCGGAGTCTGCGCGCGGAGACTGAAATGCGCGCGGAGCTTTGTTAGCGCGCAGA
GGCTTCAGCGACGAGGATGGTTCGATCGCTGCGTCAACCGCGCTGACAGAAGTTGACGTTGCGCTTCGGGACGACGTGGACATCAT
CTCAAATAATTCGTGACGCTCGACGCCCGCGGGTGTCCGCTGACACACGGGTGTACCCGAGGCGAGCGCTTCCACGGCAACGGT
GGGCGAGCGCTCGAGCAGCGAGGGTAGCGCAAGACGCTGCGCAGCGCGCGTACTTCGCGACGACCGCGTTCTCGACAACGCCCGCG
AAGCTCGCGCGGTGTCGATGCCACGATCTCGCGCTGGTGTGCGCGCATCAGCAGCGGCGGAGTCTGCGCGCGGCGGAGTCAACGCGCGCA
CGTCTTGGCGCGCGCGCGGATTCGCGCGAAGGCGTTCGATCAGATACTGCTGGCGCGCAATTCGTGACGTGCGTTACGTTTCAGGAT
GACGCGGGGTTCCACAATCCCGAGTTCTGCGCGCAGCGCTGCGGTGCGCGCTCATCGCGGGGCTGAAAGGCCGCTCCGATCGCGGGA
TACACACCGCGTCCCGGAGGATGTTTCGAGTCCGACCGCGAGACCGGTGTTTCGAGCAGCTTTCGCGGTGTAGAACGTCACGCGCGCGGCC
GCTCAACGCGGTTCGCAAGGGATCGATCGCGCGCGCGGCTGCTGAGTGTGCGCAGACCTCCGTGCGCTACAGCGTGGAGTTACGGCTT
CTTCCGGGACGCGCGCCAGGCGCGCGCAACCTCGACGATGAGCCGTTGCTGTGTCAGATGCAGCACATCCGCGTTCGATGGCGCGTCC
ATGAGCGCGCGCGGATCCGCGCTGCTGCGGATCGACTCCGTCGAGGAGGCGCGCCCAATCCGGTGTGGGCTTCTTTCGCGCGCA
GGTGCCAAACGCGACCGGCGCTCATTTGGCGCGCGCGTGGCGCGCTGTGCGCGCTCATGCGTGACGAGCGTGACCGTGTGGCGCTTCGCG
GGCGGCCCATCGCGAGTTTCGGCGCGCAGCAGCGCTTGGCGCGCTGATCGGGAGGAAGATGCGCGCTCAGCTGACAGATGCGCATG
GCCTCAGGCGCTCCGGCGCGCGCGCGCCACGAACATCCGGCGGTACTCTCGAACGTCATGCGCTCCGCTCCGAGTTCTTTCGTGGCG
AAGGTGAGGATCTGTCGAGGCGCTCGAGAAACCGCTCGAGCTCCCGTGGGTCTGTTGTACGGGCTGCCACCAGCAGATCGCTTCAC
TCGAGTGAACACGAGATTGAGGATCGGCGCACCCCGCTGATGACCTGCGCGCGCAGCGCCATCATGTCCGCGCTGGAGCTGTAGGA
CGGCGTCAAGCATCTGCACGCGCGCATCGCGCTAGCCCGCAGGACAGCTTTCGTGCTGAGTTTTCAGCGCGCGCGGCGTAGATCGCT
TCGATCGATTCCGGGACGCTCCGGTTTCAGCGCGCGCGAGATCGGTAGCTCCAGGACGTTGCTCGATCCCGCGCGCTCGCATCGTCGT
AGGCGAGAAAGTAGCGCGTGAGCGCGCGCGCCACGAAGTCGGGGCGCTGTTTGTGTGCTTCGTAGAAAAGTGGCGGCCACCGAGGATC
CAGGAGGTAGCGCGCGCTCGAGCGAGGAGACGTGCGAGGCTGAGAAGCCGAAGCGCCCGATCGGTAGGACACGGGCGCAATTCGA
ACAGGCTCTCGATGCGCAACGGTGAGTTGTCCAACGCGCATCAAACCTGTGTCAGCGGAGTGCAGCGCGGAGCGCGGCTGCGCA
CGTGTGCGGTCGCAAGGGCGCGCTCTCCAGGCGTGATGATGCGCACCGATCTCGACGTCGCCCTGGCCAGGAGCGATCGCAGCAG
TTCAGCCGACCGCGGATCTCCGCGACCGGATGCGTGGTACGTACGTGCGCGCACGCGATGCTTTTCGAAGAATCATGACGCGCG
CCGAGCGGTACAGATTTTCGAAGGTCTGGTTCGCGCGCGCTGCGCGCGTCCCACTGATTGTCGCCCTCGGTATCGATCGCGACGAGCA
CGCGGGTCTCGCACTCATCGGTTTCATCGGTCTGCTGCTCGGATCGCGCGCTCAGTGCACCGGCTCTGTGTCGTCGAAGACGACG
GCGGCTCTCCACGCGCATGATCTTGGTGACGAAGTCCATGGTGACTTCAGCGGTAGTAGCCGACTTCTTCAGGTGTTTTCGGTA
TCCCTGTGTCAGCGCAATGTTTCGGATCTTGTGCGGAGTCCACGCGCGGGCTTCGCGGTTCGATCCATCGCAACAGCGCTTTCAGCGCG
GACGGGTGCTCCGATCGGCCAACAGTCCACGAGCAGCGTCACGCGCGCGCGCGCTCTGACGTCGGCGGTACACGACGTAGCCCG
CGACGTCGTACCGCGCTGGAGCGCGGCCACGGTGTAGCGCAGCTGCGGAGGCTGCGTGTACTTCCAGTTCAAAATACCGCGCTCACG
CCGTACGCGCAAGCGAATTTTCGCGCGGACCCCGTGCCGAGCGCTTGTGAAGCGCTCGTGAAGTTCAGTTCGATCTGAATCTCTCCC
TCGAGAGGGCGGTTCCGCGACACCAACCGGATCCACGGCAACGTGACCGCGGACACCGAGCGATTACGCGCCATCGGCCACTGCGGTC
TGCGGAGCGCGCGCGGCTCAGCGGCTTACGAGACACGCGACCTGCGCGAGGTGCGGCCACTTCAGTTTTCGGAAGAGCGGTGAGGA
GATTTCGAGAGGCGGAGACCGAGCGATGACCGAGCTTTCGCGTCCGAGGTGCGGAAGAGCACATCGCCAGACCTGCGCTGCGGT
TCCGGGGCCACCATCAGTCCATGCCCCATGCGCGCGCATCTCTGGTCAATTAACGTCAGCGGAGCGGCGGCGGCTACTGAC
CGACGATCGCTGGCCCTCGCGTTCGACCCAGATCAGCGGACCGGTGCGCGCGTGTTCGGATTGCGCGGCTACTGCCAGTCCCATCG
CAGACGATTGGCTTCCGCCATGTCGTTGCGGAAGACGCGCGGATACAGCGCTTCGATCTGCTTCGATCATCGGGCGGTTACCGGTCA
ATCTCGGCATCAGGTGCTCGGCTGCTCGGTCGAGGAGCAGTACCTCATGTTGCTGATGAGTGCCTTTCGCTGAGCGGGCTCGATCC
GATCGGCGCGGCGGCGGAGCATGCGCGGAGCGGTCGTTGAGTGCAGTTCAGTTCCTTCGCGTCTGTCGCGGAAGCGCGCTCGCG
ATCTGGCGCGCAGGCGGTTACCGTACCAAGTTCAGCAGGTGCTGTCGCTTGACGATGCCGTTTCTGGCGTCACGAATGAAGGAGT
TCTCATGCGCGGCTCTTCAGTGTTCAGGGCGCATGACGGGCGAGCAGCGGAACGTCCGGAAGGCGATGCGCGCGCGGACGATCAG
GTGACGCGGACGGGAATCCGACGCGGGGGAGATGCGCTCCGGCGAACGACAGGTACGGCGCGCTCGAGAGAAACAGCAGGCGCGCG
GGCTTCAGCACGCGCGCGCACTCGCGCAGATACACGGCGCGTCCGCGAGCGTGCATGACGGCGTGGGAGAGCAGCATGATCGAACG
ATCCGACTTGAACGGCAGGGCCATGCCGTGAGCTGGAGAAAGTGGAGACGCGTCAGACCTTCTCGCGCGGAGCTTCGATCCCGC
CTGACTGAACCGGTTCGATCGGATCGATGCCGACAACCTCGTCGCGGTGTTTCGGCCAGGGACAGCGGATGCCGCCACCGCCACACCG
CGGTCGAGCACAGTCCGTGGATCCGACACCCGACGTTTCGAGAAACGCGATGACCTTGGCGCTGCGGTAGTACTCGAAGAGCGCGT
AGTCGATTCGGATCGGAAGCGGCGATCGCGGTGCGCTTCGCTTCGCTTAACTGCGCGCACGATGGTGTCTCTGGGCGCGCAG
CCGCGCGCGGGGCTGGGGGTGACTTCTCGATCAGCCACGCTCTGTCGATACCCGGGGTCTGTCGATCGCGAACTTCCCGATGATCCG
CCGGTGGGTGTAGCGATCGAGAATTTCTTGCATGAGACAGGTTGACTCTCGTATCCAACCTTCGCGAAACCGTACGTAGTATATAG
CGCGCATCGTCGCGTTTCAATCGTCTGATGTTGCGGAAGCGCGCGCGCAGGAAGATCGGACGGATCGGATTTCTCGAGGGCGAGG
CATTCGCGGCTTTCCTGCGAGCGCTGCGGCGGCAAGTTTCAACCGCGCGCAGACGCTCGGTAGTTGAGGTTCGAGTTCGAGTTCGA
CTGCGCCCATCGCGGCTACTGTCCGAGATCCAGGCCACAAGAATGGTTCGCGAGCGTGACGCCGACGGCCATCGGAATCCGCGCGGCC
GCGAGCCAGGCACTGCTGTCGCGCGCAGAACGCCAGGGCCACGGAGGTGCGGATCAGCACGAGTCCGGTTCGCCAGTTCGAACGGTTCATCC
TGAGTCCCGGACCGCGACGCTTCTGTTGAAGACCAACCGGAGCGCGGACGCGACACGACGAAGCCGAGCGCCAGGATCAACGGCGC
GGCCAGCGCGCTGCGAGCACCTTGGCGGGGCAATAGCGCGGACGCCACGCTTGGCCGAGCGCGGACGAGCCGCGGAGCGGCGG
ATGAGCGCTGGCACGAACATCAGTAGCGCGCTCGTTACCGCGCTCATGAACGATCAATTTCGAGAAAGCGGATCAACAGCCACAGGA
CAAGCAGCGCTCGCCCGGCTTCGACTCGCGCCATCGGGCCACGATGCCGGCATCGCGATTACGGCGCGAGGGCCACGAACCAT
CCGCGAGAAAGAAATCGTGGCTGACGGGCGACGACGAGGCGTTCGCGACGAACGCCGCGAGGCTGTACGTCGGCTTCCGTCGACGCTC
ATCTGCCAGTTGTAGAATGCACTCGTCTTCAGTAGGGAATGACGAAGTACAGGCGGACAAATAGTCTCGCGCGACGCGGAGCGCTGCGA
GCGTGAGCCAGGCGCTGTCACGATCCGCGGCTCCGGCCGACTAAGTCCAGCGCGCTCCGAAACCCGGCGAGCGGATCGCGCGGCGAT

GACCCAGAGCGCGTCGGCGGAAATCGCGGCGACAAAGAAGGCCGCTGACGCCTTGGTGAAGAAGGCCAGGACGGCCGCGCTGCCCGCC
 ACATCCCCCAGGCCGATCGCCGCTCGCCCATGGAATACCGGGCCACGCGAGCACGATGAAGGCCGTCATCGTGGATTCCATCAGCG
 CCGCGCGGTTCACATGACCCAGGTGAAGTTGACCGAGAGCAGCACCAACCAATCAGCGCGATCCTTCTCCAGGCTGTTCTCCGCG
 CGATCCCCACAGTGCGGCGAGGCCCATCATCAGGGCCGCCACGCCGACGAGGCCGACACGACCGGCACCGTGCGTGCTGCCAGGTA
 CCAGCGCGAACCGCGAGAACCGCGACGTAAGTCTGAGCGCGCTGAAAGACCGGTGTGAGATAGCGGGGTTCAGATTGTCCGCTGCCAGA
 CGCCCCACAGCGCTGTTTCTGGCGTTGTGCGTCCACGCACCTTCGTGTCGACAGGATACCGACCGAGAAAGTCGGCGGATCCGC
 GCGGAGCCACGCACTCGCAATGCGGCACCGGCAAGGAGAATCAGGGCGGCCAGCGCCAGGAAACGACTCGCTGTCATATCACCTCAG
 CGCCGCCCGCAGACAGAGAACAGTTCTGCTCCTCGTAGGCCGTGCTGTAGCCGGCTCCAGCCACTCGCGCAAATGCGGCGTGTGTCATGA
 AGAAGTCGAGAGAGTCTTGCACATCTTCTGCCAGTCCCCAGTCTGTTTTCTGAAGAGCGATGACTTCGGGACGGGCGCGTTCGAGGTC
 GGCAAGCATGCCGACGGATCCATAGCCGGGTGCGGCGCGCTCGAACTCGAGCACACCGGCCGGCTCCAGAAGAACCAGGAGGCGCTT
 GCGCGGTGCTCTTGACGTAGACCCCGCGGACCGGAAGCCGAAGACGACGTCGCGTAGCCTCGGGGTGTGCGAGGCTTACGTACG
 CCGCCAGGCGCTCGACGGCGGGGAGAGAATTGCCCGGGCCCTCCCGATCGAATCTCGCGAGATACTCGGCCCGGCCGATGCGTCC
 GGCCATGAACCGGGCGTCAAACAGCATGTCTCCACCGCTGCGGGACGCCGAACAGTCTCGGTCGAGAGCCGGCGTGGGTTTCGATA
 CCGACCTCCACGCGCCCGCGACAATCAGCAAGCGGCCGCGGCCGCTAACACCCGTCCGACCGAGCCGTCCCGTGTCCGCGCAAGG
 TCGGAGCCACGCGCGAGCGGTGAGGGCCAGCGCGCTGAGGCTTACGAAGTACTGCGCGCCATGCGCGCTTACGTACGCGCAG
 GATCGACAGCACGCTCGCGACGACCCAGGACAGCGCGACAGCGTGTGCTCGGGAGAACGACGACCTGCCGAGCAGACCCCCGATCGCG
 CCAGTCCGCCCATGAACAGAGCCGCTTACCTTCGCGCGATGGAAGAGAAGCGTGGCGGGATCTCCGCGACGTGCGCGCGCTTGC
 GGTAGTTTTCGCGGAGTACGCGAGGTTGTAGGCCACGGTGCAGGCCAGAGATCGCGAGCGCGCCCGCGCGCAAAGTACAGCAG
 CGCTGAGAGAGACGGCCGATCTGACGATGGTCTGCCCCAGCTACAACGAAGAGACCGGCTGGCGGAACCTCGTCTCCAGGTTGTTTGA
 CCCGCGGCAATGCCACGGGCACGATGTACAGATGGCGTTGTACTTCAGCCACACCGCCAGGCCGCGAGGGGCGCTGCCAGCAGCA
 ACCGCGAGATGCTGCCCGGGCGGACACGCGCGGACACCGCGCGGTACGGCCAAGCAATGAACGTTTCGCACTGCGCGCGCAC
 GTTCATCCCGCCGAGCCGTGGATTCCGGGGTTCGCGAGGAGCAGGAGCAACGCGCGGCTACGGCACACGCGGCCCTCCGAACATC
 CGGCTCCGAGGCGCAACAGCAGCCACGCGCCCATCGCGCGGCCACGAGTCCGCAACCGCGACCGCCGATTCTGTGGGGCCAGAGGC
 CCCACATCACGGCATAACGCGCAAACACGCTGGCGGCTTCTGTTCAACGCGTTCGCGGTAGGGCACGTTGCCGTCGAGGATCTGTG
 GGCCACGTAGCTGTAGAGCAGTTGATCGCGCGCGGCCGCTGCGCGACCGAGGGGACGCGGCACGCGACCGAGCAGGATCAGCACGAG
 AGCCATTTCTGCGATCTGAAGTTCTGTGTCGGTTTCTGCGTTCATGAATGGGTGCGGTAGAGCTTGAATTATAGTTCTCGGGTGA
 CGCTGATTTGTGCGAGCCGATCTGACGATGGTCTGCCCCAGCTACAACGAAGAGACCGGCTGGCGGAACCTCGTCTCCAGGTTGTTTGA
 ATCCGCGGAACAGGCCGCTCTCGCGCTGGAGCTGGTGGTCTGGACGACAATTTCCGCGACGCGCGGGCCGCTCGCGGACGAGCTG
 GCGAAGACCTACAGGATGAAGGTAGTGCATCGCGCGGGCAAGCTCGACTCGGGACCGCGTGTGTCGAGGGCTTCGCGGTTGCGACCG
 CGGATGCGGTGGGCGTGATGGACGCGGACTTCAGCCATCCTCCGGCGCTCGTGCCCAAGCTCTACGCGCGCTTCAAGCGCACCGGGC
 GGACGTGATTTGTGCGAGCCGCTACATCGCGGGCGGAGCACACCGAGCTGGCCGTTACGCGCGCGCTGATGTGCGCGCTGCGGTG
 CTCTGCGCCGCGCGCTGTGCGCGATTTCGCGACCGCGCTCGGGGTTCTTCATCATCCGCGCGAAATTACCCAGCGAGTGAGCATCA
 AAGCCGGCGGCTTCAAGATCTGCGTGGAGCTGATTTGTGCGAGGCTGGCCGACGCGGCTCGTTCGAGCTGCGGTATCAATTGATGACCG
 GGAATCTGGCGAGAGCAAGATGAGCAAGCGCGAGGCCGCGCGCTATCTGGTGCAGTTGAAGGACTTGTGTTGTTGCGTTTGTGCAAT
 CCCGGCCGGGCGCGCAACAGCAGCGCAACCCCTCGCCCTAGTTCGCGAGCTCGCAATCTACCTGCGGTGAGCGCGGCTGCGCGT
 TTGACGGCGAGCGCTGGTTCGCCCTCTCGCGCGATCGCGCCCCCGCGCGCGGCCACGGTACCGGCGATCCGAACAACACTCGCGA
 TCCACAGTGCAGGCGAGGCTCCACTTGGTGGACGCGAGTCTGATGCTGCGGTGAGGAGATAACCGGCTCTCAGATAG
 AAGCGGCGCTTCGCGCGGTGATCGCGCTCGAGCACGATGGGCTCGTCCAGCCCATTCCTTGTAGCAGATAGAAGGAATACTCCATGC
 CGACCACTCTTCGCTCGCGAGCAGTCCATCGCGCTTGGCCTTGGCGTAGAGA

7.13 Bakterielle 16S rRNA-Gensequenzen

s11106

AATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCAGAGCTCAACTCTGGAGCTGCCTTTGATACTGG
 GTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGAATTCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGAGGGAACACAGTGGCGAAGGCCG
 CTACTGTTCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTTGTAGTCCACGCCGTAACAGATGA
 ATGTTAGCCGTCGGGCAGTTGACTGTTTGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAACATTCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAACT
 CAAAGGAATTGACGGGGGCGCGACAAGCGGTGAGCATGTGTTTAATTGCAAGCAACCGCGAGAACCCTTACAGCTCTTGACATTC
 GGGGTATGGGCAGTGGAGACATTTGCTTTCAGTTCCGCTGAGCCCTAGAACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGCTGAGAT
 GTTGCAAAATGCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCCTAGTTCGCGAGCATTCAGTTGGGCACTTAAGGGGACTGCCGCTGATAAGC
 CGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACGGGCTGGGCTA

s11108

ACTGGGCGTAAAGGGTGCCTAGGTGGTTTGATAAGTTGGGTGTGAAATTCCTGGGCTTAACCTGGGAACCTGCGCTCAATACTGTTGAG
 CTAGAGTATTGTAGAGGAAAGTGGAATTTCCAGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATTGGAAGGAACATCAGTGGCGAAGGCCACTTT
 CTGGACAGATACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAAC
 TGATGTTGGGTGCAACTAGGCACCTCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTTCGCCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCA
 AAGGAATTGACGGGGGCGCGACAAGCGGTGAGATGTGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATCCAC
 GGAACCTTTCAGAGATGGAATTGGTGCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGAGCTGTGCTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTACCAGCAGCTAATGGTGGGAACCTTAAGGAGACCGCGGCGACAAGCCGGA
 GGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACAGGGCTACACAGTACTACAATGGAGAGGACAGAGGGCAGCAAACT
 CGCGAGAGTGAGCCAATCCAGAAACCTTCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGTAGTAATC
 CGAGATCAGCAATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTGTACACACCGCCCTACACCATGGGAGTTTGTGACCCAGAAGCAGG
 TAGCTTAACCGCAAGGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGTGAAAGTCGTAACAAGGT

s11109

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATCAACGCTGGCGGCGTGCCTCAGACATGCAAGTCGAACGCGAAAGTCCCTTCGGGGGATAAGTAG
 AGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTACCTTCGGGTGGGGAATAACCGAGGAAACTTGGGCTAACACCGCATAATGCAG
 CGGCACCACATGGTGACAGTTGTTAAAGCGGGGATTTTAGGACCTCGCGCCTGAAGAGGAGCCTGCGGCGAGATTAGCTAGTTGGTAA
 GGTAAACGCTTACCAAGCGACGATCTGTAACCGGCTGAGAGGGCGGTGCGTCACACTGACACTGACATACGGGTGAGACTCCTACG
 GGAGGCGACGAGTCGGGAATTTTGGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCCAGCAACGCGCGGTGAAGGATGAATCCCTCGGGATGTAACCT
 TCGCAAAATGGGAAGAATTAGTAGGGGTTAATACCCCTATGATGACAGCGTACCTTTTGTAAAGCTCCGGCTAACTCCGTCAGCAGC
 CGCGGTAATACGGGGGAGCAAGCGTTGTTCCGATTACTGAGCGTAAAGGGCGGTAGGCGGTGAGCACAAGTCAGTTGTGAAATCT

CCGGGCTTAACTCGGAAAGGTCAACTGATACTGTGCGACTAGAGTGCAGAAGGGGCAACTGGAATTCTCGGTGTAGCGGTGAAATGCG
TAGATATCGAGAGGAACACCTGCGGCGAAGGCGGGTGTCTGGGCTGACACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGCGAAACGGGAT
TAGATACCCCGGTAGTCTTGGCCTTAAACGATGGATGCTTGGTGTCTGGAGTTATATAGTCTCCGGGTGCGCGAGCTAACCGCTTAAG
CATCCCGCTTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAATTC
GACGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTAGAATGCCTCGACAACTCCAGAGATGGAGCCTCTAGGGAAACCTAGGCAGAGTGCAG
GGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCGATAGTTGCTAGCGG
TTCGGCCGAGCGACTCTATTTGAGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAGGTGGGATGACGTCAAGTCTTCGGGCTTTATGTCTCAGGG
CTACACACGTGCTACAATGGCAAGTACAAAGCGCTGCAAACTCGCGAGAGGGAGCCAATCGCAAAAAGCTTGTCTCAGTTCCGATTGG
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCACGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACA
CCGCCGTCACATCACGAAAGTGGGTTGTACTAGAAGTCGTCAAGCCAACCGCAAGGAGGCAGACGCCTACGGTATGATCCATGATTG
GGGTGAAGTCGTACAAGGT

s11117

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGAATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACGGGGGCAACCCCTGGTGGCG
AGTGGCGAACGGGTGAGTAACACATCGGAACGCGTCTGTAAATGGGGGATAACCTGGCGAAAGCCAGGCTAATACCGCATACGCTCTG
AGGAGAAAGCGGGGATTGGAACGACCTCGGTTATAGGATGTCGATTAGTCAAGTCTTCGGGTGCGCGAGCTAACGGCTTAACGCTG
GGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATTTTGACAATGGGGGCAACCCCTGATCCAGCATTCCGCGTAGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCCGGCCGGGAAG
AAATCGCATCTTCTAATACGGGGTGTGGATGACGGTACCGBAAGAAGAACCCGGCTAAGTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGTGCGCAGCGCGCCATAAGACAGATGTGAAATCCCGGGCTTAACCTG
GGAACTGCGTTTGTGACTGTGGTGTCTGAGTGGCGCAGAGGGGGTGGAAATCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGG
AACACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGTCGACACTGACGCTCATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTA
GTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTAGGTGTTGGGGAAGGAGACTTCTTTAGTACCGTAGCTAACGCGTGAAGTTCCGCCGCTGGGGA
GTACGTCGCAAGGTAATAAAGCTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCAAGCGGTGGATGATGTGGATTAAATCGATGCAACGCGCAAGAA
ACCTTACCTACCCCTTGACATGCCCGGAACCCCTGCTGAGAGGTGGGGTGCCCGAAAGGGAATCGGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTGAGTCTGCTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCAATTAAATGTCATCATTTGGTTGGGCACTTTAA
TGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCGAAGTCCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAA
GGTGGTACAGAGGTTGCCAAGCGCGAGGTGGAGCCAACTCCCAAGCCGATCGTAGTCCGGCTCGGAGTCTCAGCTCAGCATCC
GTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTGCGGTTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGG
GAGCGGGTCTTACCAGAAGCAGTTAGCCTAACCGCAAGGGGGCGATTGCCACGTTAGGATTCTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG
GT

s11118

GTGAACGCTGGCGGTAGACCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGA
GGAATACATCGGAATCTACTCTGTCTGGGGGATAACGTAGGGAAACTTACGCTAATACCGCATACGACCTACGGGTGAAAGCAGGGG
ACCTTTCGGGCTTTGCGCGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGTCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCCGATAGCTG
GTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTACGACGCTGACGCTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACATATGGCGC
CAAGCCTGATCCAGCCATACCGCGTGGGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAATCCAGCTGGCTAATA
CCCGGTTGGGATGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGAAGGGTGAAGCGTTACTC
GGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTGGTCTTAAAGTCCGTTGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAAGTGCAGTGGGATAC
GGACGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGCGGAATTCTGTGTGACAGTGAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATTCAGCTGGCAAGC
AGCTACCTTGGACCAACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTATCCACGCCCTAAACGAT
GCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCCGCCCTGGGGAGTACGGTTCGAAGACTGA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCCTTGAC
ATGTGCGAAGCTTTCCAGAGATGGATCGGTGCCCTTCGGGAACCTGCAACAGAGTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTGTAGTTGCGCAGCAGTAAATGGTGGGAATCTTAAGGAGACCCCGGTCACAA
ACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAAGTCAATGAGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTACTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTG
CAAGCCGCGCAGCGTAAGCCAATCCAGAAACCTTATCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGGTA
GTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTTGTCACCAGA
AGCAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11121

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAAGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGCGAAAGGCTTTTCGGGCTGAGTAGAGCG
CGGACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATCTACCTGGTAGTGGGGGACAACCTTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATACGCCCCACGGG
GGAAGAGCGGGGACCTTCGGGCTCGCGCTATCAGATGAGGTCGACTAGGATTAGCTTGTGTGGTAGGATAAAGGCTACCAAGGCGAC
GATCCTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCCAATGGGGGCAACCCGTGACGCGAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTAAGTGGGGAGAAAAGGG
TAGCTGTTAATAGCGGTTACCTGTGATGTTACCCACAGAATAAGCACCGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGT
CGAGCTTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTGAGTGGTGTGTTAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGT
GCAGTTGATACTGGCCGACTAGAGTACGAGAGAGGGAGGTAGAATTCATGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATATGGAGGAATACC
GGTGGCGAAGGCGGCTCTGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGATCAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCAC
GCCGTAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGAGACTTGATTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCAATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTAAAGCTCAATGAATTGACGGGGGCGCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATCCAGAGAACTTTCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCG
TGTCTGTAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTGCCAGCGAGTAATGTGGGAACTCTAAGGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGAGCTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGAACGC
ACAGAGGGCTGCAAGGCGCGAGCTGGAGCCAACTCCCAAAAACGTTTTCGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGGAAGT
CGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGG
TTGCTCCAGAAGTGGTTAGCCTAACCTTCGGGGGGCGATCACACGAGGTGATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11124

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAACAGGCTTCGGGCGCTGACGAGT
GGCGGACGGGTGAGGAATGCGTAGGAATCTACCCAGTAGCGGGGACAACCTTAGGGAACTTAAGCTAATACCGCATACGCCCCACGG
GGGAAAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGCACTATTGGATGAGCCTACGTCGGATTAGTTAGTTGGTAGGGTAAAAGCCTACCAAGGCGA
CGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGACGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATAT
TGACAATGGGGGCAACCCGTGATCCAGCAATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTCGGTAGGGACGAAAAG
CTGAGGGCTAATATCCTTCAGTCTTGACTTAACCTAAA

s11126

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCGAGGCTAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGAAGCTTGCTTCCTTGAGACC
GGCGACGGGTGCGTAACGCGTAGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCACAGAGAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATGA
AATCGCATGGTTTTATAATTAAAGTTCCAACGGTATAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGA

CAATGATAGGTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGGACAAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGACGGAAGACGCATCTATGGTGTGTAAACTGCTTTTGTACGGGAAGA
AACACTCCCTTCGTGAAGGAGCTTGACGGTACCCTAAGAAATAAGGATCGGTAACTCCGTGCCAGACCCGGTAATACCGAGGATCC
AAGCGGTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTTTAAATAGTCAGTGGTGAATCTGGTCGCTCAACGATCAAACGG
CCATTGATACTGTTAGACTTGAATTATTAGGAAGTAAC TAGAATATGTAAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACATGGAATACCA
ATTGCGAAGGCAGGTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGGATACTAGCTGTGGGCGCAAGTTTCAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAG
AATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACCGGAGGAACCTTACCAAGGC
TTAAATGTAGATTGACAGGACTGGAACAGTTTTTCTTCGACAAATTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGCCGTGAG
GTGTCAGGTTAAGTCTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCAAGTCGGGAACTCTAACAAGACTGCCAGTGTA
AAGCTGTAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATGATCAGCGCCCTTACGACCTGGGCTACACACGCTACATGGAGCGGTACAGAGAGC
AGCCACTGGGTGACCAGGAGCGAATCTACAAAACCGTTCTCAGTTCCGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACCTG
AAGTCGGTGACCGTAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTGGTAACTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11127

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAAACACATGCAAGTCGAACGCGAAATTTTTCTTCGGAAAGAGAGTAG
AGTGGCGCACGGGTGAGTAACGCGTAAGTTATCTACCCGCGCATCTGGAATAACTACCGAAAGGTGTGCTAATACCGGATACGTTGA
GAGATCAAGAAAGGTGGCCTCTGGATATGCTACCGTGCTGGGATGAGCTTGGTACCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCCATACCA
AGCGACAGTAAGGTGAGGATGACGTCAAATGATCAGCGCCCTTACGACCTGGGCTACACACGCTACATGGAGCGGTACAGAGAGC
GAATATTGCGCAATGGGGCAACCCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGATGATGAAGGCCCTTCGGGTGCTAAAATCTGTGATGAGGAA
GAAGTGTATGGTGGATAATACCTGCTGTACTTGACGGTACCATCGAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATAC
GAGGGGTGCAAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGGTAGGCGGTTTGCTAAGTCAGATGTGAAAGCCCATGGCTCAACC
ATGACCTTACGTTGTTGAAACTGGCGGAGTTGAGTATTGGAGGGGTGGAATTCGGGTAATTCGGGTGTAGAGTGAATTCGTAGATACGGA
GGAATACCGGTGGCGAAGGCGACCCACTGGCCAAATACTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGG
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGGTGTTGGGACGGTTAATCGTCTCATTGCCGAGCTAACGCATTAAGTTGACGCGCTGGG
GAGTACGGTTCGCAAGATTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAAATTCGACGCAACGCGCA
GAACCTTACGTTGGTCTTGACATCCTGGGAATCCTGTGGAACACGCGGATGCTCCTTACGAGGAGCCCGGTGACAGGTGCTGGAGGAGC
TGTCGTCAGCTCGTGTGTCGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACT
CTAAGAGACTGCCGCTGTCAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCTTTTATGACCAGGGGTACACACGTAGTA
CAATGGCATAAAACAAAGGCGAGCGACATCGCGAGGTGAAGCGAATCCCGAAATTTATGTCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGAC
TCCATGAGGTTGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCACGCCAGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCCGGTACACCA
CGGGAGTTGGTTGTACCAGAAGCAGTTGAGCCAACCGTTTACGGAGGCAGGCTGCCAAGGTATGGCGAGTAACTGGGGTGAAGTCGTA
ACAAGGTA

s11128

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGCGCAGCGGGGCTTCGGCCTGCCGCGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAATGCATCGGAACGTGCCATGTTGTGGGGGATAACTACGCGAAAGCGTAGCTAATACCGCATAAGCCCTG
AGGGGGAAGCGGGGATTCTTCGGAACCTCGTGCGATTGGAGCGGCCGATGTCCGATTAGCTAGTAGGTGAGGTAAGGCTCACCTA
GGCGACGATCCGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTCTACGGGAGGCAGAGTGGGG
AATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCATGCGCGTGAAGTGAAGAGGCTTCGGGTTGTAAGCTCTTTTCGGCGGGGAAG
AAATCGTGTCTCTAACATAGGACATGGATGACGGTACCAGCTAAGAAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGT
GGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTAAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACTG
NGAATCGCTTTGTGACTGCAAGGCTCGAGT

s11131

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAAGGAGCTTGCTCCTGGATTCA
GCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGATAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATAACGCTCTAC
GGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCCTTCGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAGGC
GACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAATGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGTGGGGAAT
ATTGGACATAGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCGCGTGTGTGAAGAGGCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAG
GGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACAGAGG
GTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGTGGTTTGTAAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGA
ACTGCATCCAAACTGGCAAGCTAGAGTATGGTAGAGGTGGTGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAAC
ACCAGTGGGTCGAAGGCGAACCTGGACTGATGACACTGAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCTGGGGAGTAC
GG

s11143

AGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGAATGCTTTACACATGCAAATCGAGCGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGCGG
CGAACGGGTGAGTAACATATCGGAACGTATCCTGTAATGGGGGATAACCACTCGAAAGAGTGGCTAATACCGCATAACGATCAAGAGAT
GAAAGTGGGGGACCGCAAGGCCCTACGTTATAGGAGCGGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGGGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGATG
ATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTG
GACAATGGGGGAAACCCCTGATCCAGCCATTCGCGGTGAGTGAAGAGGCGCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTCGGGAGGGAAGAAACGGT
CCAGGCTAATACTCTGGACTAATGACGGTACCTGAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGTAGGGTGC
GAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTACGTTGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACTGGGAAGCTG
CGTTGAAAACGGCAAGACTAGAGTGTGTGAGANGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCG
ATGGCGAAGGCAGCCCCCTGNATAACATTGACGCTGANGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAAC

s11147

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGCGAACGCTGGCGGTGTGCTTAAACATGCAAGTCGAACGCGAAAGTTTTCTTCGGAAGACGAGTAG
AGTGGCGCACGGGTGAGTAACGCGTAAGTAATCTGCCCTGGTATCTGGGATAACCCACCGAAAGGTGTGCTAATACGGGATAACGCTGA
TTTATCAGGAAAGGTGGCCTCTTATCAGAAAGTACTGTACCGGCTGCTGCTACCATAGTTAGTTGGTAGGGTAAATGGCCTAC
CAAGGCGACGATGGTTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGAATGAAACACGGACCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
AGGAATATTGCGCAATGGGGGAAACCCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGATGATGAAGGCCCTTCGGGTGCTAAAATCCTGTGATGGA
AAGAAATGTAGTATGCCTAATACGTGTACTATTTGACGGTACCATAAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGGAGGGTGCAAGCGTTGTTTCGGAATTAACCTGAGCGCTAAGCGCGGCTAGGCGGCTACGTAAGTCAGATGTGAAAGTCCACGGCTCAA
CCGTGGAAGTGCATTTGAAACTGGATGGCTTGAGTACTGGAGGGGGTGGTGAATTTCCGGGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATCGG
GAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGACCCCTGGCCAGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCGGTAAACGATGTCAACTAGGTGTTGGGACGGTTAATCGTCTCATTGCCGAGCTAACGCAATAAGTTGACCGCCTG
GGGAGTACGGTCCGCAAGATTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAAATTCGACGCAACCGC
CAGAACCCTACCTGGTCTTGACATCCCGAGAATCTTTTGGAAACAAGAGAGTGCCTCTTTGAGGAGCTCGGTGACAGGTGCTGCATGG

AGAGTTTGATCATGGCTCANGATGAACGCTAGCGGGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGCAGCACGAGGTAGCAATACTTTGGTG
 GCGACCGCGCGACGGGTGAGTAACGGGTATGCAACCTACCTGTACTGGGGATGACCCCGAGAAATCCGGATAATACCCCATAAAG
 ATATGAGATGGCATCATTTTATATTAAAGTTCGAGGTACGGGATCGGTATACATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAACGGCCTA
 CCAAGGCTGCGATGTTTAGGGGTCTTGAGAGGGTGCATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACAGCACTCTACGGGAGGCAGCAT
 GAGGAATATTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACCAGCCATCCCGCGTGCAGGAAGAAGGCGCTATGCGTCGTAACCTGCTTTTCCAGG
 GGAAGAAATTTATCTACGTGTAGGTAATTCGCCGTACCTTGGGAATAAGCATCGGCTAACCTCCGTGCCAGCGCCGGTAAATACGGA
 GGATGCAAGCGTATACCCGATTATTGGGTTTAAAGGTCGCTAGGCCGATTAAAGTCAGTGGTGAATAATCAGCTTAACTGTGA
 GAATTGCCGGTTGATACTGTTAGTCTTGAGTACGGTCAAGGTTAGGCGGAATGTGTAATGTAGCGGTGAAATGCCTAGATATTACACAGA
 ACACCGATTGCGAAGGCGAGCTTACTGGGCCATTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGAGCGCAACAGGATAGATACCTCGTGTAG
 TCCACGCCGTAAACGATCACTCGCTTGTGGCGATACACAGTCAGCGCTAAGCAAAAGCATTAAGTGATCCACCTGGGGAGTAGC
 GCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAAGCGGAGAGCATGTGGTTTAATTGATGATACGCGAGGAACCTT
 ACCCGGGGCTTGAAAGTTACTGAAGATACCAGAGACGGTATCGTCCCTTCGGGACAGGAAACTAGGTGCTGCATGGCTGTCGCAGCTCG
 TGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATGTTTAAAGTTCGCCAGCGCGTACGGCGGGGACTTAAACAGCT
 GCCTGTGCAAAACAGTGAGGAAGGCGGGGACGAGCTCAAGTCAATCATGCCCCTTACGTCGGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCAGGT
 ACAGAGGGCGAGCCAGCCAGCAATGGTGCAGCAATCCCTTAAAGCCGATACAGATTGCGATCGGGGCTGCAACTCGGCCCGGTGAAGC

TGGATTTCGCTAGTAATCGCGTATCAGCAATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGAAAGCTG
GGGGTGCCCTAAAGCATGTAACCGCAAGGAGCGTGTTAGGGCAATACCGGTAATTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGT

s11165a

AGAGTTTGCATCATGGCTCAGGACGAACGTTGGCGGCGTGCTTAATACATGCAAGTCAACTGAAGCATCGGTAGCAATACTGATGTGGA
GGTGGCGCAGCGGTGAGTAACACGTAGGTAATCTGCCTTCAGGTCTGACATAACCCCGGAAACCGGGGCTAATATCAGATGATGAG
CGGCTTGACATCAAGACAGTTGTTAAAGCTTCGGTGCCCTGAAGATGAGCCTGCGTCTGATTAGCTAGTTGGCGGAGTAATGGCCCCACC
AAGGCTACGATCAGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCACAGTAA
GGAATATTGCTCAATGGGAGAAATCCTGAAGCAGCAACGCCGCTGAGGGATGAAGGGCTTTTGCTCGTAAACCTCTGTAGTGAGGGA
AAAAATTTCCACTCTGTGGAATATGATGTACCTCAAAAGTAAGCCCCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAAATACGTAGGGGG
CAAACGTTGTCCGATTACTGGGTGTAAAGGGTGCTCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGAAGTGAAATCCTAGAGCTTAACTCTGGAACCT
GCTTTTGTACTCTCAAGGCTTGAATGTGGAAGAGGAGGATGGAATTTCTGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATCAGAAAGAACACC
AGTGGCGAAGGCGATCCTCTGGTCCACTATTGACGCTAAAGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCCTTAAACGATGAATACTAGACGTTGGGGTTAAACTCAGTGTGCGAGCTAACGCATT

s11165b

AGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGTAAACGAGCGCAACCCCTGTCTTAGTTGCCAGCG
CGTAATGGCGGGAACCTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCTG
GGCTACACACGTGCTACATGGGCGGTACAAAGGTTGCCAAACCGCGAGGTGGAGCTAATCCCGTAAACCGGTTCTGTAGTCCGGATT
GGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAAATCAGAACGTTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCGCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGCTAGTCTAACCGCAAGGGGACGGTTACCACTTTGTGATTTCATGAC
TGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11167

AGAGTTTGCATCATGGCTCANATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTTCGAGCGCGAAAGGCTTTCCGGGCTGAGTAGAGCG
GCGGACGGGTGAGTAACCGGTAGGAATCTACCTGGTAGTGGGGGACAACCTGGGGAACTCAAGCTAATACCGCATACGCCCCAAGGG
GGAAAGCGGGGATCTTCGGACCTCGCGCTATCGGATGAGCCTGCGTAGGATTAGCTTGTGTGTGAGGTAAGGGCTCACCAAGGCGAC
GATCCTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT
GCCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGAGCCATGCCGCGTGTGTAAGGAAGCCCTAGGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGGGGAGAAAGGG
TGGCCGTTAATAGCGGTACCTGTGATGTTACCCACAGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAAATACGGAGGGTG
CGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTGTAAAGTCAGCTGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGNGAACT
GCAGTTGATACTGGCCGACTAGAGTACGAGAGAGGGA

s11171

AGAGTTTGCATCATGGCTCAGAGCGAACGCTGGCGGCGTGCCTAACACATGCAAGTCGCACGAGAAAGGGGTAGCAATACCCCTGTAC
AGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAAATTTACCTCAGGGTTGGGAATAACCTGCCGAAAGCGGGCTAATACCGGATAACGTCTG
CGGGGCCACATGGTCCAGCGACCAAGCGCACCTCTTCTGAAAGTTGGCGCCTGGAGAGAAACCCGCTCCCATTAGCTAGTTGGTG
AGGTTACGGCTCACCAAGGCTCCGATGGGTAGCCGCGCTGAGAGGCGCACCGGCCACAGTGGAACTGAGACACGGTCCACACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTGAGGAATCTTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCGAGCGACGCGCGTGGACGATGAAGGCCCTTCGGGTCTGTAAG
TCCTGTTCGGGTGGGAAGAAATTCGGGAGCTAATATCTCCGGGACTTGACTGTACCACCAGAGGAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAG
CAGCCCGGTAATACGGAGGGGGCCAGCGTTGCTCGGAATTATTTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCCTTGCAAGTCTGATGTGAAA
GCCACGCGCTCAACCGTGAAGTGCATCTTATACCTGCTTGGGTGAGCTGTGGGAGAGGGAAGCGGAATTCCTTCGGGACCGCGGTAAAGG
GCGTAGATATCGGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTCTTGACCACTGACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCTAGGGGAGCAAACAG
GATTAGATACCCCTGGTAGTCTTAGCCATAAACGATGTGCACTTGGTGTTGGGGGTATCGACCCCTCCAGTGCCGTAGCAAAACGCATTA
AGTGCACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAAT
TCGACCAAGCGCGAAGAACCTTACC GGGGTTTGAAGTCTGCGGTGACAGGCCCGAGAAATGGGGTCTTCTTCGGGACCGCGGTAAAGG
GCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTACCATCGGGTC
ATGCCGGGACTCTAGGGAGACTGCCCCGAAACGGGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCTCTATGTCCCGGCC
ACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGTCGCAATACCGCGAGGTGGAGCTAATCCACAAACCGTCCCCAGTTCCGGATTGGAG
TCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGCTCTAGTTGCTGACAGCCGCGGTGAATTCCTTCGGGACCGCGGTACACACC
GCCCGTACATACGAAAGTTGGCTGCACTTGAAGTCGNTGGGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGGCGCCGATGGTGTGGTTGATGATTG
GGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11174

GAAGGCGGCTCTCTGACCATCACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCCT
AAACGATGCGAACTGGACGTTGGGATCAATTGAGATTTAGTGTGCAAGCTAACCGGTTAAGTTCGCGGCTGGGGAGTACGGTCGCA
AGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAGCGGTGAGTATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGG
TCTTGACATGTACGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCCTCGGGAACCGTAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGT
GTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGCTCTAGTTGCTGACACAGTAAATGTTGGGAACCTCTAAGGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTACTACAAATGGTCGGGACAG
AGGGTCGCAATACCGCGAGGTGGAGCCAATCCCAGAAACCGGATCTTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTCGTGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGAATCAGCATTTGTGCGGTTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGCTCACACCATGGGAGTTGTTG
CACCAGAAGCAGTAGCTTAACCGTAAGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11176

TTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCGTTTGACATCCTTGTGCGGATTTTCAGAGATGATTTCTTTCAGTTCCGGCTGGACA
AGTGACA*GGTGTGTCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCATCTTTAGTT
GCCATCATTTCAGTTGGGCACTCTAAAGAACTGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACA
CGTGGGTACACACGTGCTACAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAACCGGGCGACCGGTAGCTAATCTCCAAAAGCCGTCTCAGTTCCG
GATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTG
TACACACCGCCGTCACACCATGGGATTTGGAATCACCCGAAGCGGTTGCGCTAACCTAGCAATAGGAGGCAGGCGACCACGGTGGGT
TTAGAGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11177

CGGCTTACCAAGGCTTCGATGGTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAACACCGGTCCAGACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTGAGGAATTTTGGCAATGGGGGAAACCTTGACGCGCAACCGCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGAGTCGTAAAGCTCTGT
CAAGTGGGAAGAATCTAAATATGATAATACCATATTTTACTGACGGTACCCTGAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCTTCTTAAGTCAGATGTGAAGGCCG
GGGCTTAACCCCGAAGTGCAATTTGAAACTAAGTGGCTTGAGTATGGGAGAGGGAAGTGAATTCCTGGTGTAGAGGTGAAATTCGTA
GATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGACTTCTTGACCAATACTGACGCTGAGGCGCGAAGGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCGAGTAACCGGTGAACACTAGGTGTAGCGGGTATTGACCCCTGCTGTGCCGCGAGTTAACGCATTAAGTGT
TCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAC

GCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGCTTGACATCCCGAGAATCCTGATGAAAGTCGGGAGTGCCTTCGGGGAACTCGGTGACCGGTGCTGTCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGCCCTTAGTTGCCAGCGAGTAATGTC

s11178

TGACGGTACCAGAGGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGAGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTGATACTGGCTAACTAGAGTGAGGTTAGAGGAGAGTGAATTCCCGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCCGGAGGAACATCAGTTCCGAAGCGCGCTCTCTGGACCATCACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGACGTTGGGATCAATTGAGATTTCAGTGTGGAAGCTAACCGCTTAAGTTCCGCCCTGGGAGTACGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATGTACGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACCGTAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGTCTTAGTTGCCAGCAGCTAATGGTGGGAACCTCTAA

s11185

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCCTAACACATGCAAGTCGAACGGGAGTTGTTTTCGGACACAAGAGTGGCGACGGGTGAGTAACACGTAGCTAACCTGCCCGAAGCTCGGGATAACGTTCCGAAAGGAATGTAATAACCGGATAAGCTCATGGACTGTAGAGGCCTGTGAGAAAAGGAGCAATCCACTTTGGGATGGGGCTGCGACCCATCAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGACGGGTAGGGGACCTGAGAGGGTGACCCCCACAGTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGACGAGTGGAGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCTGGGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCCCTTTCTGTGTGACGAGACAAGGACGGTAGCACAGGAATAAGTGTGCGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTAGGACACAAGCG

s11187

GGGGAATATGGACAATGGGGGCAACCCTGATCCAGCGACGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCTGCGGGTTGTAAAGCACTTTTAGTGGGATGAAAAGTTACGGGCTAACACCCTTGGATCTTGACCTAACCCAAAGAAAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGTGCGCAAGGCTTAATCGGAATTACTGGGCTGAAAGTCCGCTGCGTATTTAATTAGTCGATGTAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTCGATACTGGATAGCTAGAGTTCGGCAGAGGGAAGTGGAATTTAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGAAGAACATCAGTGGCGAAAGCGACTTCTGAGACCAGAACTGACGATCAGGCACGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCATAAACGATGACAACTAGACGTTGGAGGCATTGGCCCCACAGTGTGCGAGCTAACGCGTTAAGTTGTCCGCTGGGACAGGTACAGAGGTAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCAAGAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATGTCTGGAATCCCGAAGAGATTTGGGAGTGCCGCAAGGAACAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACCTCTAAGGAGACCGCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTATGACCAGGGCTACACACGTGCTACAAAGGCAGGTACAGGGGAAGCCACCCGCGAGGGGAGCTAATCCAGAAAAGCCTGTCTTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTGCAGTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTGATTGCACCAGAAGCAGGTAGCCTGACCGCAAGGAAGGCGCTTACCACGGTGTGGTTAATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGTA

s11193

CTTGTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCTTCGACGGGTAGCTGGTCTGAGAGGACGATCAGCCACACTGGCACTGCGACACGGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAAGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGAGCAGCGACGCCGCGTGGGGGTGAAGGTCTTCGAGTTGTAAACCCCTTTTCGGGAGGGAAGATGGAATGGGGTAACCCATTTCGAGCGGTACCTCCAGAAGCGACCGTAACCTTCGTGCCACGACCGCGGTAATCGAAGGTGCGAAGCGTTATTTCGGATTACTGGGCTACAGGAGCGTTCGGTAAGCCCTTTGTGGAATCTTCAGGCTTAACCTGGAACAGTCGGAGGGGACTGCCGGGCTAGAGGACGGGAGAGGAGCGCGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAAGGCCGTGGCGAAGGCGGCGCTCTGGAACGTTTCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTTAACTATGAATACTAAGTGTGCGCGGGTTACCGCCGCTGCCGAGCTAACGCAATTAAGTATTCCGCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGACCGCGCGGAAGAACCTTACCAGGCTGGACATGCAAGTGAATGCAAGGTTGAAAGCCCAACGAGGTAGCAATACCATCTGTTCAGGTGCTGTCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTGTCTTCAGTTACCAACGGGTATGCCCCGAACCTCTGGAGAGACTGCCCAGGAGAACGGGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTTATGCTGGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAAGGGCTGCAAAACCCGTAAAGGGGAAGCGAATCTCAAAAAACGGCCCTCAGTTTCAGATCGAGTCTGCAACTCGCAACTCGTGAAGCGGAATCGTAGTAATCCCGGATGAGCATGCAAGCGCGGGGTGAATACGTTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCCGTCAACCACGAAGGTTTTGTGTACCTGAAGTCGTTGGCGCCAACCGCAAGGAGGCAGACGCCACCGGTATGACCGATGATTGGGTGAAGTCGTAACAAGTA

s11207

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGCAGTAGCAATACTGTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGGATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGCGGCGGACCGCAAGGCGTGCGCCGATGAGATGAACCGATGTCGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGATCTGAGAGGATGATCAGCCACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATTGGGAATTGGGCGCAAGCCGTGATCCAGCCTGACCGGTGGAAGAGGCTTGGGTGAAGAGGCTTGGGTGTAAGGCTGTGCGTGAATCCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAACCACGAAGGTTTTGTGTACCTGAAGTCGTTGGCGCCAACCGCAAGGAGGCAGACGCCACCGGTATGACCGATGATTGGGTGAAGTCGTAACAAGTA

s11224

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGCAGTAGCAATACTGTGGGTGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGGATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATACGCCCTACCGGGGAAAGCGGCGGACCGCAAGGCGTGCGCCGATGAGATGAACCGATGTCGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGATCTGAGAGGATGATCAGCCACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCTTCCGGTTGTAAAGCACTTTTGTCC

s11241

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAAGCAACGCTGGCGGCGTGCCCTAACACATGCAAGTCGTACGAGAAATCCTGGGCAACCGGGAGAGTAAAGTGGCGCACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACTATCTTAAATTTGGGGATAACTCTTCGAAAGGGGAGTTAATACCGAATAATATTA

CAATTCTCCGGGAGTTTGGAAATTAAAGGTGGCCTCTGCATGCAAGCTATCGTTTATGGATGGGCCCGCGTACCAATTAGCTAGTTGGTA
GGGTAACAGCCTACCAAGGCAACGATGGTTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCCAGCCACACTGGAAGTCTGAGACACGGTCCAGACTCCTAC
GGGAGGCGACAGTGGGGAATCTTTCGCAATGGGGGAAAACCTTGACGACGCAACGCGCGTGGGTGATGAAGGCCCTTCGGGTCTGATNAG
CCCTGTGAGGTGGGAAGAAACCTGTGGATGCTAATACCAACCCACAATTGACGGTACCACCGGAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTGTTTCGGAAATTATTTGGGCGTAAAGCGCGTGTAGTGGTGTGATAGTCAAGTCAAGTGTGAA
AGCCTTCTGCTTAAACAGAAGAAGTGCATTTGAAACTGCTCGGCTAGAGTACGGGAGAGGAGAGTGGAAATTTCCCGGTGTAGAGGTGAAA
TTCGTAGATATCGGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCCGATACGTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
GGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCGCTAAACGATGGGCACTAGGTGTAGGAGGTATTGACCCCTTCTGTGCCGAAGCTAACGCATT
AAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGCGCCGCAAGGCTAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAA
TTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTTGACATCCGCTGACACTCCCGGAAACGGGATTTTCTCCGCAAGGGGACAGCGAGAC
AGTGTCTGCTGCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCATCTTAGTTGCCATCA
TTGAGTTGGGAACCTCTAAGGAACTGCCTCGGTTAACGGGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCTTTATGTCCAGGG
CTACACACGTGTACAATGGGTGGTACAAAGGGTTGCAATCCCGCAAGGGGAGCTAATCTCAAAAAGCCTCTCAGTTTCAAGATTGG
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGGGCGGAATCGCTAGTAATTGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA
CCGCCGTACACCATGAGAGCTGACTGTACCAGAAGTCGCTCGGCTAACCCGTAAGGGAAGCAGCGCGCTAAGGTATGGTTGGTGAT
TGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11248

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGTATGCTTAAACACATGCAAGTCTGAACGGTAGCAGGCCTTCGGGCGCTGACGAGT
GGCGGACGGGTGAGTAACGCTAGGAATCTGCCCTTAGTGGGGGACAACGTTGGGGAACCCACGCTAATACCGCATACGCCCTACGG
GGGAAAGCGGGGCTCTTCGGACCTCGCGCTATGAGATGAGCCTGCGTTAGATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAAGGCCATACCAAGCGCA
CGATCTATAGCTGGTCTGAGAGGACGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATAT
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATACCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCTAGGGTTGTAAAGCACTTTCAATTGGGAGGAAAAAC
CTGCCGCTCAATATGCCCGTAGCTTGACATTACCTTTAGAGGAAGTACGGGCTAACTCCGTCGCAACGAGCGCAACCCCTCATCTTAGTTGCCATCA
CAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGTTCTGTTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACTGGGAAC
GCATTTGAAACTGGCGAAGTAGAGTTGAGTAGAGGGGAGTGGAAATTTAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGAAGGAACACC
AGTGGCGAAGGCGACTCCTCGACTCAAATGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGTAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCAC
GCTGTAAACGATGTCACACTAGCCGTTGGTCTATTTACAGGAAGTACGGGCGAGCTAACGCATTAGTTGACCGCTTGGGAGAGGTG
CCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTACCCCTTGACATCCAGAGAATCTGTTAGAGATAGTGGAGTGCCTTCGGGAGCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTCAGCTC
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTAGTTGCCAGCGGGTGATGCCGGGAACCTTAGGGAGAC
TGCCGCTGATAAACCGGAGGAA

s11255

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGAGGCTTAAACACATGCAAGTCTGAACGCCCCGCAAGGGGAGTGGCAGACGGGTG
AGTAACGCGTGGGAACGTAACCTTTTCAGTTTCGGAATAACTCAGGGGAAACTTGTGCTAATACCGGATACGCCCGTAAGGGGAAAGATTTA
TCGCTGAAAGATGCGCCCGCTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGTAAAGGCCCTACCAAGGCGACGATCCTAGTGTCTGAGAGGAT
ATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGCGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCA
GCCATGCCGCGTGTGTGATGAAGGCCCTTAGGGTTGTAAAGCACTTTACCGATGAAGATAATGACGGTAGTCGGAGAAGAAGCCCCGG
CTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATCACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATTGTT
AAGTGAGGGGTGAAATCCCGGGGCTCAACCCCGGAATCTGTTTCATACCTGGCAGTCTTAGTTGACAGAGGTAAAGTGGAAATTCGA
GTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGGCGCAAGGCGGCTTACTGGATCGATACGAGCTGAGGTGCGAAGC
GTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCGCTAAACTATGAGAGCTAGCCGTGCGCAAGTACACTTGTGGTGGGCG
AGCTAACGCATTAAAGCTCTCCGCCCTGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCCCTTGACATCCCGGTCGCGGTTTCCAGAGATGGATTCTTCATGCTTCG
GCTGGACCGGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGAGCTGCTGCTGAGATGTTGGGTTAGGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTC

s11263

CGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGTTTAAATTCGACGCAACGCGAAGAACC
TTACCTTAGGCTTGACATCCACGGAACCCCTTGGAAACATCGGGGTGCCCTTCGGGGAGCCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCT
AGCTTGTGTCTGCTGAGTGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTACCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTATGGG
GACTGCCGACACAATGTGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGCCTAGGGCTACACAGTACTACAATGGC
CGTTACAGAGGGCAGCAAGCTCGCGAGGGTAAGCAAAATCCAGAAAGACGCGCTCAGTTTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG
AAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCTGATCAGCAGGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAAAG
TCTGTTATATCCCGAAGTCGGTGGGCTAACCGCAAGGGGGCAGCTGCCTAAGGTATGGCCGATGATTGGGTTGAAGTCGTAACAAGGT

s11269

CGTAAACGATGGATACTCGACATTTGCGATATACTGTAAGTGTCTGAGCGAAAGCATTAAGTATCCACCTGGGAAGTACGACCGCAA
GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGTCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCTGGG
CTAGAATGCTGGGGGAATATGGGTGAAAGCTCATAGGGTAGCAATACCCGACAGTAAGGTGCTGAGTGGCTGTGCTCAGCTCGTGGG
GTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCACTAGTTGCCATCAGGTAATGCTGGGAACCTCTAGTGAAACTGCCG
TCGTAAGACGCGAGGAAGGAGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCAGGGCTACACAGTGTACAAATGGTGAATACAA
AGGGCAGCTACCTGGTAACAGGATGCTAATCTCAAAAAATCTCATCTCAGTTCGAATTGGGGTCTGCGACTCGACCTCATGAAGCTGGA
ATCGCTAGTAATCGTATATACGCAATGATACGGTGAATACGTTCCCGGACCTTGTACACACCGCCGCTCAAGCCATGGAAGCCGGGGG
GACCTGAAGTCGGTAACCGCAAGGAGCCGCTAGGGTAAGACCGGTAACCTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s1s1271

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATGAACGCTGGCGGCGTGTCTTAAACACATGCAAGTCTGAACGAGAAACCCCGGCTTGCCTGGGGGAGTAA
AGTGGCGCAGCGGTGAGTAACGCGTGGGTAATCTACCCTCGAATTGGGGGATAACCGCCGAAAGCGGGGCTAATACCGAATAAGACCA
CGGTGGTTTCGGCCACTGAGGTCAAAGATGGCCTCTGCTTGCAAGCTGTCTTTGAGGATGAGCCCGCGTCCCATTAGCTAGTTGGTG
GGGTAAGGCGCTACCAAGGCGACGATGGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGGCCAGCCACACTGGAAGTCTGACACACGGTCCAGACTCCTAC
GGGAGGCGAGCTGAGGAATTTTTCGCAATGGGGGAAACCCCTGACGCGAGCAACGCGCGTGAAGTGTGAAGGCCCTTCGGGTGTGAAG
CTCTGTGAGGTTGGGAAGAATTTTTCGCTGAATAATCCGAAAAATGACGGTACCGCTGAAGGAAGCAGCGCTAAGTCCGTGCGCA
GCAGCCACGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTATTCGGATTATTTGGGCGTAAAGGGCGTGTAGGCGGTTTGAATAGTCAGGTGTGAA
AGCCCTTGCGTT

s1s1271

CGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGGCTTGACATCCCTTGACCGTCTA
TGAAAGTAGGCTTTCTTTTCGGGACAAGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGAGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTTAGTTGCCAGTATTAAGTTGGGCACTCTAAAGATACTGCCTCGGTTAACGGGGAGGAAGGTGGGGA
TGACGTCAAGTCTCATGGCCTTTATGCCAGGGCTACACAGTGTCTACAATGGGCGGTACAAACGGTTGCAATCCCGCGAGGGGGAG
CTAATCCGAAAAAGCCGTCCTCAGTTTCGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCAT

GCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAGAAAGTTGGTTGTACCAGAAGTGCGTGAGCTAATCCAC
TTCCGTCGGAAGGCAGCGCCCTAAGGTGTGGCTGATAATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11278

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGC
GGCGAACGGGTGAGTAACATATCGGAACGTATCCTGTAATGGGGGATAAACCCTCGAAAGAGTGCGCTAATACCGCATACGATCGAGAG
ATGAAAGTGGGGGACCGCAAGGCCTCACGTTATAGGAGCGGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGA
TGATCAGTTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTCGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGGACAATGGGGGCAACCTTGATCCAGCCATTCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCTGTAGGGGAAGAAACG
GTCCAAGCTAATACCTTTGACTAATGACGGTACCTCAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
GCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAGGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTACGTTTCGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTGGGAAC
TGCGTTGAAAACGGCAAGACTAGAGTGTGTGAGAGGGGGTATGATTCACGTTAGCAGTGAAGTCCCGAGAGATGTGGGAATAC
CGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAACACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGTGACTTGTTTCACTTAGTAACGTAGCTAACGCGAGAAGTTGACCGCTGGGGAGTAGCG
TCGCAAGATTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGATTAAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTA
CCTACCTTGACATGTCAGGAAGCTGACAGAGATGTCCGCGTGCCTCGCCGAAAGGGAATCTGGACACAGGTGTCGATCGCTGCTGCAGC
TCGTGCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCATTAAATTGCCATCATTTAGTTGGGCACCTTTAATGAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTCACACGTAATACATGTTGGT
TACAGAGGGTCGCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCCAGAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAG
TCGGAATCGAATAGTAATCGCGGATCAGCATGTCCGCGTACCGGCTTGTACACACCGCGTCCACCATGGGAGTGG
GTTATACCAGAAGTAGGTAGCCTAACCGTAAGGAGGGCGCTTACCACGGTGTGATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11283

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGAATGAACGCTGGCGGCGTGCATAACACATGCAAGTCGAACGAGAAAGGGGCTTCGGCCCCGAGTAAAG
TGCGCGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTACCCTGGAATCTGGGATAACACTGCGAAAGTGTGCTAATACCGGGTAGCATCCTC
GAGCGGGAGTTTGGGGATGAGAGCCGGCTCTTGTAAAGCTGGTGTCTGGGATGGGCTCGCGTCTATCAGCTAGTTGGTGGGGTA
ATGGCTTACCAAGCGCGGACGGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGGCACACTGGCAGTGAACACGGGCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTGAGGAATTTTGCGCAATGGGGGAAACCCCTGACGCAGCAACGCCGCTGGGTGA

s11288

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGTAACCGGGGCAACCTGGCGACGAGT
GGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTGCCCAACAGTGGGGGATAGCCCGCGAAAGCCGGATTAAATACCGCATACGACCTCAGG
GTGAAAGCGGGGATCGCAAGACCTCGCGCCGTTGGAGCGGCCGATATCAGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAAAAGCCCACCAAGCCGA
CGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGCGGGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACCGCTTTTGTGAGGGAAGAAATC
CTTTGAGCTAATACCTCGGAGGGATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
GCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTCTTGAAGACAGGTGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAAC
TGCACTTTGACTGTCAAGGCTCGAGTACGCGAGAGGGGATGGAATTCCGCGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATGTCCGAGGAACAC
CGATGGCGAAGGCAATCCCTGGGCTGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGGACGGCTTGCTGTTTCACTAAGCAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAACAAGCGGTGGATGATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTAC
CTACCTTGTAGCTGTGGAATCCCGCAGAGATGTGGGATGTCTGGAAGAGAGCAGACAGCAGGTGCTGCATGAGTGTCCGCTGCGG
CTGTGCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCATTAGTTGCTACGAAAGGGGCACTCTAATGAGACTGCCG
TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTACACACGTATGCAATGGCCGGTACAGA
GGGCTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCCAGAAAACCGGTGCTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCCGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCTTGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGCGGGTTCTG
CCAGAAGTAGTTAGCTAACCGCAAGGAGGGCGATTACCACGGCAGGGTTTCGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAA

s11289

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCAGGGGCAACCTGGTGGCGAGT
GGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACATGTCCGGAAGTGGGGGATAACGTAGCGAAAGTTACGCTAATACCGCATATGCCCTGAGG
GGGAAAGAGGGGATCGTAAGACCTTTTCGTTTTCGGAGTGGCCGATATCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCCTACCAAGGCAA
CGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTACGCGGAAAGAAATC
GTGCAACCTAATACGTTGATGGATGACGGTACCGGAAGAAGAAGCAGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGT
GCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTAAAGACAGATGTGGAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAAC
TGCATTTGTGACTGCAAGGCTAGAGTACGGCAGAGGGGGGTAGAATCCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGATATGTGGAGGAATAC
CGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGTGATGACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTAGGTGTTGGGGGAGGAGACTCTCTTAGTACCGCAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACG
GCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCAACAAGCGGTGGATTATGTGGATTAAATCGATGCAACGCGAAAGAACTT
ACCTACCCTTGACATGTTGCGGAATCCTGAAGAGATTTAGGAGTGCTCGAAAGAGAACCAGATACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGAG
CTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCATTAAATTGCCATCATTTAGTTGGGCACTTTAATGAGA
CTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTAATACAATGGTCTG
GTACAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCTCAGAAAGCCGATCGTAGTCCGATTGTTCTCTGCAACTCCGAGAGCATGAA
GTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTCCGCGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTG
GGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCACCTTTGTGATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11293

CGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCCTCGGAACATATCCAGAGATGGATGGGTGCCTTCGGGAACCGAGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGAG
CTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTAGTTGCCAGCAGCTAATGGTGGGAACCTCAAGGA
GACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCTGGGCTACACAGTGTCTACAATGGA
ACGCAAGAGGGGAGCAAAAGCGCGAGCTGGAGCCAATCCCAACAAAGCCTTTCGTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAG
TGGGTTGCTCCAGAAGTGTTAGCCTAACCTTCGGGGGGCGCATCACCACGAGTGGTTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11302

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGAATGCTTTGCACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGC
GGCGAACGGGTGAGTAACATATCGGAACGTATCCTGTAATGGGGGATAAACCCTCGAAAGAGTGCGCTAATACCGCATACGATCGAGAG
ATGAAAGTGGGGGACCGCAAGGCCTCACGTTATAGGAGCGGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGA
TGATCAGTAGCTGGTCTGGGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGACAATGGGGGCAACCTGATCCAGCCATTCGCGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCTGTAGGGGAAGAAACG
GTCCAAGCTAATACCTTTGACTAATGACGGTACCTCAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT

GCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTTGTACGTTTCGATGTGAAAGCCCCGGGCTTAACCTGGGAAC
TGCGTTGAAAACGGCAAGACTAGAGTGTGTCTAGAGGGGGGTAGAATTCACGTTGAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGGAGGAATAC
CGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAAACAAGTACGCTCATGCAAGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGTGACTTGTTCACCTTAGTAACGTAGCTAACGCGAGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGG
TCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGGATTATGTGGATTAAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTA
CCTACCCCTTGACATGCCAGGAAGCTGACAGAGATGTGCGGCGTGCCCGAAAGGGAATCTGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGTGCACCCCTGCCATTAAATGCCATCATTTAGTTGGGCATCTTAATGGGAC
TGCCGCTGACAAACCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGGCCAGGGCTTCACACGTAATACAATGGTCGG
TACAGAGGTTGCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCCAAGAAAGCGATCGTAGTCCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAG
TCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTGCGGCGTAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGG
GTTTTACCAGAAGTAGGTAGTCTAACCCGAAGGAGGACGCTTACCACGGTAGTATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGTA
s11305

AAAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGTATAGTAGCAATACTAGAGACCGGCG
CACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATAGTATG
GCATGGCTATTATAATTAAGTCAACAAGCGTGAAGATGACGCTCATGCAAGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCCA
GATGGGTAGGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCCACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATT
GGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGGATGACGGTCTATGGATTGTAAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAACA
CTCCGACGTGTCGGAGCTTGACGGTACTGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATCCAAGC
GTTATCCGAATCATTTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGGCTAATAAGTCAGTGGTGAAATCTCCCGGCTCAACCGGAAATGCAAGCTTAA
TGATACTGTTAGTCTTGAATTATTAGGAAGTAAGTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAATTG
CGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACTCTGTGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGGATACTAGCTGTTGGGTGCAAACTCAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAGAATG
AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGAGGATGTTGGTTTAAATTCGATGATACCGGAGGAACCTTACCAAGCTTAA
ATGTAGATTGACCGGTTTGGAAACAGACTTTTCGCAAGACAATTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTCTGCAGCTCGTGCCGTGAGGTGT
CAGGTTAAGTCCATATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCATGTCGGGAACCTTAACGAGACTGCCAGTGCAAACT
GTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGGCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAGAGAGCAGCC
ATGGGCAAGCAGCGAATCTATAAAACCGGTACAGTCTCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGGAATCGCTAGTATGTA
ATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTGCTGAAAGT
CGGTGACCGCAAGGAGCTGCCCTAGGGTAAAACTGGTAAGTGGGGCTAAGTCGTAACAAGTA
s11307

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAATACATGCAAGTCGAGGGGCAGCGCAGTGATAGCAATACATGGGCG
GCGACCGGCAACCGGGTGGGAACACGTACGCAATCTACCCAAAACCTGATGAATAGCCCTCCGAAAGGAGGATTAAATACATCGTAACC
TAATGAAGTGGCATCGCTTTATTAGTATAGTCCGGCGGTTTTGGATGAGCGTGCGCCTGATTAGGTAGTTGGCGGGGTAAACGGCCCA
CCAAGCCTGCGATCAGTAAGTGGTGTGAGAGCAGCAGCTGACACGCGGCACTGAGACACGGGCCGAGTCTCTACGGGAGGTCAGCAGT
AAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACACGCCATGCCGCGTGAAGGATGAAGGTCTCTGAGTTGAAACTTCTTTATATAT
GGACGAAACCTCTTTTTCTAAGGAGACTGACGGTACCATAGGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAG
GGTGCAAGCGTTATCCGGATTCACTGGGTTTAAAGGGTGGTAGGAGGGCAGGTAAGTCAGTGGTGAAATCTTCGAGCTTAACTCGGA
AACTGCCCTTGATACTATCTGTCTTGAATACCGTGGAGATGAGCGGAATATGTCTATGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATGACATAGAA
CACCAATTTCGAAGGCAGCTCGTTACACGAATATTGACTCTGAGCGCAAGAGCGTGGGGATCAACAGGATTAGATACCTGAGTAACT
CCACGCCCTAAACGATGGATACCTCGACATACGCGATACACTGTGTCTGAGCGAAAGCATTAAGTATCCACCTGGGAACTACGACC
GCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGGCGGGGTCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACC
TGGGCTAGAATGCACTCTGACCGTGGGTGAAAGCTCATTTTGTAGCAATACACAGATTGTAAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCAGCTCG
TGCCGTGAGGTGTTGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCATCAGTAGTTGCCATCAGTAACGCTGGGAACTCTACTGAAACT
GCCGTCGTGAAGACGCGAGGAAGGAGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCAGGGGTACACACGTGCTACAATGGGGCGT
ACAAAGGGCTGCCACTTAGCGATAAGGAGCCAATCCCAAAAACGCCTCTCAGTTCAGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGC
TGGAATCGCTAGTAATCGTATATCAGCAATGATACGGTGAATACGTTCCCGGACCTTGACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTG
GGTGTACCTAAAGTCGGTAACCGCAAGGAGCCGCTAGGGTAAAACTAGTAAGTGGGGCTAAGTCGTAACAAGTA
s11309

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAATACATGCAAGTCGAGGGGGATTAGTTGCTTAGCAATAGATGATT
ATGAGACCGGCAACCGGGTGGCGAACACGTACGCAACCTTCCCAAAAACCTGGTGAATAGCCCTCCGAAAGGAGGATTAAATGACCCGTAA
CATATAGAGATGGCATCATTTTTATATTATAGTCCGGCGGTTTTGGATGGGCGTGCGCCTGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAAACGGC
CCACCAAGCCTTCAGTACGTAAGTGGTGTGAGAGCAGCAGCTGACACGCGCACTGAGACACGGGCCGACTCTACGGGAGGACGAGC
AGTAAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACAGCCATGCCGCTGAAGGATGACGGCCCTCTGGGTGTGAAACTTCTTTTAT
CTGGGACGAAAAAGGGCTTTCTAGCTCGACTGACGGTACCAGAGGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
GGAGGTGCAAGCGTTATCCGGATTACTGGGTTTAAAGGGTGGTAGGTGGGTCTGTAAGTCAGTGGTGAAATCTCCGAGCTTAACT
CGGAAACTTGCCATTGATACTATAGGCTTTGAATTATCTGGAGGTGAAGCGGAATATGTCTAGTACGGGTGAAATGCTTAGATATGACAT
AGAACACCAATTGCGAAGGCAGCTTACTACGGATTGATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCTGG
TAGTCCACGCCCTAAACGATGGATACTCGACATACGCGATATACTGTGTGTCTGAGCGAAAGCATTAAGTATCCACCTGGGAAGT
ACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGTCCGCAACGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAAC
CTTACCTGGGTTAGAATGCGGTTTGACCGTAGGTGAAAGCTTATTTGTAGCAATACACAGATCGTAAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTC
AGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCACTAGTTGCCATCAGGTAATGCTGGGAACTCTAGT
GAAACTGCCGTCGTGAAGCGGTGAGGAAGGAGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCAGGGGTACACACGTGCTACAATG
GCGAGTACAAAGGGCAGCTACCTGGTGACAGGATGCTAATCTCAAAAACCTCGTCTCAGTTCGAATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TGAAGCTGGAATCGTAGTAATCGTATATCAGCAATGATACGGTGAATACGTTCCCGGACCTTGTAACACACCGCCCGTCAAGCCATGG
AAGCTGGGTGTACCTAAAGTCGGTAAACCGCAAGGAGCCGCTAGGGTAAAACTAGTAAGTGGGGTTAAGTCGTAACAAGTA
s11310

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGCAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCGAAAGGGACTTCGGTCCCGAGTAGAG
TGCGCACGGGTGAGTAACGCGTAAGTAATCTACCCCTGTATTTGGAATAACCCACCGAAAGGTGAGCTAATACGGATACGTTTACAGA
CTGGTGCGAATCAGTGTGAAGAAAGATGGCCTCTTCTTGAAAGCTATTGTACAGGGACGAGCTTGCGTACCATTAGCTAGTTGGTAGG
GTAATGGCTTACCAAGGCAACGATGGTTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGAACCTGGAACACGGACCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGAGGAATATTGCGCAATGGGGGCAACCCTGACGCGAGCAGCCGCGTGGATGATGAAGGCCCTTGGGTGCTGAAATC
CTGTCAAGGTGGAAGAAACGGTATATATGCTAATATCGTATATATTGACGGTACCACCAAAGGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGTGTGTCAAGTCAGATGTGAAAG
CCCTCGGCTCAACCGGGGACGTGCATTTGAAACTGGCAGACTTGAGTATTGGAGGGGGTGGTGGAAATCCCGGTGTAGAGGTGAAATT
CTGATATATCGGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGACCACTGGCCAAATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACACAGG
ATTAGATACCCTGTGTAGTCCACGCGGTAACAGATGTCAACTAGGTGTGGGATGGTTAATCGTCTCAATGGCCGAGCTAACGCATTAA
GTTGACCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGCAACGCGGTGGAGTATGTGGTTTAAATT

CGACGCAACGCGCAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCCGGGAATTTCTGGAACAGGAGAGTGCCTCGCAAGAGGAACCTGGTGAC
AGGTGCTGCATGGCTGTCGTGCTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTTAGTTGCCATCA
TTGAGTTGGGCACCTCTAAAGAGACTGCCGGTGTCAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCTCATGGCCCTTTATGACCAAGG
CTACACACGTACTACAATGGCCGTACAAAGGGCAGCGACACAGCGATGTGAAGCCAATCCCATAAAGCCGGTCTCAGTCCGGATTGG
AGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCACGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCCTTGTACACA
CCGCCGTCACACCACGGGAGTTGGTTGTACCAGAAGCAGTTGAGCTAACCGCAAGGAGGCAGGCTGCCAAGGTATGGCTAGTAAGT
GGTGAAGTCGTAAACAAGTA

s11312

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGCGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGCCGTAGCAATACGGCAGCGGCAGACG
GGAGAGTAACACGTGGGAACGTACCTTTTCAGTTTCGGAACCAACCCAGGGAACTTGGGCTAATACCGGATACGCCCTTACGGGAAAGA
TTTATCGCTGAAAGATCGGCCCGCTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCACCAAGGCAGCATCAGTAGCTGGTCTGAGAG
GATGATCAGCCTCACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCCTGA
TCCAGCCATGCCGCGTGGGTGATGAAGGCCCTAGGGTTGTAAAGCCCTTTTCGGCGGGGAAGATAATGACGGTACCCGCAGAAGAAGCC
CCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGCGGGCTAGCGTTGCTCGGAATCACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGCGCGCT
TGTTAAGTCAGGGGTGAAATCCTGGAGCTCAACTCCAGAAGTGCCTTGATACTGGCGAGCTCGAGTTCGGGAGAGGTGAGTGGAAGT
GCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGCAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGCCCGATCTGACGCTGAGGTGCGA
AAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCATGGATGCTAGCCGTTGGCGGGTTTACTCGTCAGTG
GCGCAGCTAACGCTTTAAGCATCCCGCTGGGGAGTACG

s11313

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGAATGCTTTACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGC
GGCGAACGGGTGAGTAACATATCGGAACGTATCCTGTAATGGGGGATAACCACTCGAAAGAGTGGCTAATACCGCATACGATCGAGAG
ATGAAAGTGGGGACCGCAAGGCCCTCAGTTATAGGAGCGGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGGGGTTAAAGCGCCACGCAAGCGGA
TGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATTCCGCGTGAAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTCGGCAGGGAAGAAACG
GTTCAAGCTAATACTTTGAACTAATGACGGTACCTGAAGAAGAAGCAGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
TCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTACGTTTCGATGTGAAGGCCCTAACCTGAGGAAAC
TGCATTGATACTGCCGAGCTAGAGTGTGTCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATAC
CGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGATAACACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGTGACTTGTTCACCTTAGTAACGTAGCTAACCGGAGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGG
TCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAACAGCGGTGATTATGTGGATTAACTTCGATGCAACGCGAAGAAACCTTA
CCTACCCCTTGACATGCCAGGAAGCTGACAGAGATGTCCGCGTGCCCGAAAGGGAATCTGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTATTAAATTGCCATCATTTAGTTGGGCACTTTAATGAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGCGCCCTTATGGGTAGGGCCTCACACGTAAATCAATAGTGGTGG
TACAGAGGTTACCCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAAATCCCAGAACCCGATCGTAGTCCGGATTGGGCTGCAAGTGCAGTCCATCATG
TCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGCCCTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGG
GTTATACCAGAAGTAGGTAGCCTAACCGTAAGGAGGGCGCTTACCACGGTGTGATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11316

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGAGGAGCTTGCTCCTTGGG
TGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAAAAAGTCGGAATCTGCCTATTTGTGGGGGATAACGTAGGGGAACTTACGCTAATACCGCATACG
ACCTACGGGTGAAAGCGGAGGACCTTCGGGCTTCGCGCAGATAGATGAGCCAACGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCAC
CAAGGCGCAGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGGA
AAGAAAAGCCTTCGGTTAATACCCCTGGTGTATGACGGATCCGGAAGAAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGTTGTTAAGTCTGATGTGAAGCCCTGGGCTCAAC
CTGGGAATGGCATTGGATACTGGCAACCTAGAATGTGGTAGAGGGTGGCGGAATTCGCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATCCGG
AGGAACATCCGTGGCGAAAGCGGCCACCTGGACCAACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCAGCCCTTAAACGATGCGAAGCTGGATGTTGGGCTCAATTTGAGAGCTCAGTATCGAAGCTAACCGGTTAAGTTCCCGCCCTGG
GAAGTACGGTGCAGAACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCCGGAACCCCTTGAGAGATCAGAGGGTGCCTTCGGGAACCGGAACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGATGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAGCGAGCGCAACCCCTTGCTCTTAGTTGCCAGCAGCTAATGTTGGGAAGT
TAAGGAAGTCTGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAGCTCAAGCTCATCATGCGCCCTTACGCGGAGGCTACACAGCTATAC
AATGGTAGGGACAGAGGGTGCAAACCCGCGAGGGCAAGCCAATCCCAGAAACCCCTATCTCAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGAC
TCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACC
ATGGGAGTGGGTTTTACCAGAAGTAGGTAGTCTAACCGCAAGGGGGCGCTTACCACGGTAGTATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
CAAGGTA

s11317

TTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCGTTTGACATCCTTGTGCGGATTTTCAGAGATGATTTCTTCAGTTCCGGTGGACA
AGTGACA*GGTGTGCATGGCTGTCGTGCTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCATCTTTAGTT
GCCATCATTCAGTTGGGCACTCTAAAGAACTGCGCGTGAAGCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTTCATGGCCCTTACA
CGCTGGGCTACACAGTGTCTACAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAACCGGGCGACCGGTAGCTAATCTCCAAAAGCCGTCTCAGTTTCG
GATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGGGATTTGGATTACCCGAAGGCGTTGCGCTAACCTAGCAATAGGAGGCAGGCGACCACGGTGGGT
TTAGAGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11319

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGGGGTATAGTAGCAATACTAGAGACCGGCG
CACGGGTGCGTAACGCGTATGCAACCTACCTTTTACAGGGGAATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATGCCCCATGGTATAATTAGTTC
GCATCATTCAGTTGGGCACTCTAAAGAACTGCGCGTGAAGCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTTCATGGCCCTTACA
GATAGGTAGGGTCTCTGAGAGGGAGATCCCCCACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATT
GGACAATGGGCGCAAGCCGTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGGAAGACGATCTATGGTGTGTAAACTGCTTTTGTACGGGAAGAAACA
CTCCTTCGTGAAGGAGCTTGACGGTACCGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGGTGCAGC
GTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCCGANGCGGATTTAAGTCAAGTGTGTAAGGCTACAGCTTAACTGTAGAACTGCCAT
TGATACTGTAAGTCTTGAATTTCGGTGAAGTGGGCGGAATATGTGATGTAGCGGTGAATGCTTAGATATGACATAGAACACCGATNG
CGAAGGCAGCTCACTAGGCCTGGATTGACGCTCAGGGAGCAAGGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AACTATCAATACTCGTTTTTCGGCGATATAATGTGCGAGACTAAGCGAAAGTGATAAGTATTGCACCTGGGGAGTACGATCGCAAGGT
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAAGCGGTGGAGATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAGGGCTT
AAATGTAGAGGGAATATATTGGAAACAGTATAGCCTTCGGGCCGTCTACAAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGCGGTGAGGT

GTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTTAGTTGCCAGCGAGTCATGTCGGGGACTCTAAAGAACTGCCTACGCAAG
TAGTGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCACGGCCCTTACGTCCTGGGCCACACAGTGTCTACAATGGTAGATACAGAGGGCAG
CTACCCCGCGAGGGGATGCGAATCTCGAAAGTCTATCTCAGTTCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCTAG
TAATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACCTGAA
GTCGGTGACCGTAAGGAGCTGCCTAGGGTAAACTGCGTAAGTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGT

s11320

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGAAGCTTGCTTCCTTGAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCCAGAGAAATTTGGATTAACTCATAGTATTATGA
AATCGCATGGTTTTATAATTAAGTTCCACCGGTATAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGA
CAATGATGGGTAGGGTCTTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGCGTCAATGAGCGCAAGTCTGAACCAAGCCATGCCGCGTGAGGATGACGGTCTATGGATTGAAACTGCTTTTATACAGGAAGA
AACACTCCCTCGTGAGGGAGCTTGACGGTACTGTAGGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCC
AAGCGTTATCCGGAATCATTTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTTTAAATAGTCAGTGGTGAAAGCCTATCGCTTAACGATAGAACGG
CCATTGATACTGTTAGACTTGAATTAGTGGGAAGTAACTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACATGGAATACCA
ATTGCGTAAGGACCGGTTACTATCATATATTTGACGCTGATGAGCAGAAAGCGTGCGGAGCGCAACAGGATTAGATACCTGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTCCGGAGCAATCTGAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAGGTATCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAG
AATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGAGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAACTTACCAGGGC
TTAAATGGGAGACGACAGGACTGGAAACGGTTTTTTCTTCGGACGCTTTCGAAGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAG
GTGTGAGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTATTGTCTTCCAGCGGTCTACGCGGGTCTAAGCAAGCTGCGGAGCA
AACCGTGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGTCCTGGGCTACACGCGTGCTACAATGGCGGTACAGAGAGC
AGCCACCACGCAAGTGGGCGCAATCTTCAAACCGGTTCTCAGTTCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGATTTCGCT
AGTAATCGCATATCAGCCATGATGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACCTG
AAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAACTGGTAAGTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11322

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGCTGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGAGGAAGCAGTAATGTTTCTTCAGCGG
CGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCTCGAAATGGGGGATAGCCTTCCGAAAGGAAGATTAACTCCGCATAACCTCGGATCT
CCGCTGAGGACCGAGAAAAGGAGAAATCCGTTTCGAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCCCAAGCAAG
CGACGATGCGTAGCCGACTGAGAGGGTATCGGCCACATTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTCGGGTGCTAAAGCTCTTTGATCAGGGACGAT
AATGACGGTACCTGAAAAACAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTACT
GGCGCTAAAGTAAGCTGAGGTGGATATTTAAGTGGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCCGGGAAGTGCATTCCTCAAGCTGATCTG
GAGTGCAGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAANGCGGCTTTCTG
GACTGTAACTGACACTGAGGCATGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACTATGGGTACTAG
GTGTAGGGGGTATCGACTCCCCCTGTGCCGTGCTTAAACACAATAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGTGCAAGACTAAAACCTCAAAG
GAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCTAGACTTGACATCTCTGTA
ATTACCTTAAACCGGGGAGCCCTTCGGGGCAGGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAG
TCCCGCAACGAGCGCAACCTTTATTTTTAGTTGCTACCATTAGGTTGAGCACTCTAAAGAGACTGCCCGGGTTAACCGGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCCTTATGTCTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGAGGACAAAGAGACGCAAGACCGCGAGG
TGAGACGCTCTCAAACTCATCCAGTTTCGGATTTCAGGCTACCGCTGCATGAAGCGGAGTTGCCAGTAATCCGCAATCCGCAATG
AGCATGTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAACCATGAGAGTTGGCAATACCCGAAGTCCGTGGGGTAA
CCTTTATTGGAGCCAGCGGCCGAAGGTAGGGTCAGCGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11323

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAAACATGCAAGTCGAACGGCAGCAGGTTTGTAGCAATACAAAT
GGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTAGGAATCTGCCTTAAAGAGGGGGACAACCCGAGGAACTCGGGCTAATACCGCATA
ATCTCGCAGAGAAAAGCTGGGTGGTAACACCTGGCGCTTAAAGAGGAGCCTGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGCCCTAC
CAAGGCGATGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCAATGCCCGGTGTGTAAGAAGGCCTTCGGGTGTAAAGCACTTTAGTGGGG
AAGAAGGTGTGATGTTTAAAGAGACAGCACATTTGACGGTACCTGCAGATAAAGCACCGGCTAAGTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATA
CAGAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGCGGTAGGCGGTTAGATAAGTGAGATGTGAAATCCCTGGGCTTAAAC
CTAGGAACCTGCATCTCATCTGTTTGAAGTGAAGTACTGTAGAGGTAGTGAATTTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGA
AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGTACCTGGGCAGATAGTACGCTGAGGCGCGAGAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGT
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGAGAATAGATTGGCAGGCTGTGACTGTTAGTATCGAAGCTAACCGCATAGTTCTCCGCTGGG
GAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACCGCAA
GAACCTTACCTACCTTGACATCTTAGGAATCTGCAGAGATGTGGGAGTGCCGAAAGGAACCTAGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
TGCAGCTCGTGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGTAAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTAGTTACCATTTAGTTGGGGACTCTAA
GGAGACTGCTGGTGTGATGAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGATGAGCATCATATGGCCTTTATGGGTAGGCTACACAGCTGTACAT
GGTCCGTACAGAGGGTAGCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCAGAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCC
ATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAACCATGG
GAGTGGGTGTACAGAGAAGTAGGTAGAGTAACCGCAAGGGGCTCGCTTACCACGGTATGGTTTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG
GTA

s11325

AAAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGTTGCTTGCAACCTTGAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCCAGAGAAATTTGGATTAACTCATAGTATTATG
AATGGCATCATTTAATAATTAAGTCAACACGGTATAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAAGGTAACGGCTTACCAAGA
CAATGATGGGTAGGGTCTTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACACGCGATGCCGCGTGACGAGTACGCGTCTATGGATTGTAACCTGCTTTTGTACAGGAAGA
AACACTGGTTCGTGAACAGCTTGACGGTACTGTGAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCC
AAGCGTTATCCGGAATCATTTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTGAGATGAAGTCAAGTCAAGTGGTGAAGCGCCATCGCTCAACCGGTGAACGG
CCATTGATACTGTCTGACTTGAATTTATGGAAGTAACTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCA
ATTGCGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTGGAAGCAATTTCAAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAG
AATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGC
TTAAATGTAGATTGACCGGTTTGGAAACAGACTTTTCGCAAGACAATTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAG
GTGTCAGGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTAGTTGCCAGCGAGTCATGTGCGGAACTCTAACGAGACTGCCAGTGCA
AACTGAGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAGAGAGC
AGCCACTGGGTGACCAGGAGCGAATCTATAAAACCGGTACAGTTTCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCT

AGTAATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTGCCTG
AAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTGGTAACTAGGGNTAAGTCGTAACAAGGTA

s11326

AAAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCATAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGTTGCTTGCAACCTTGAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCCAGAGAAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATTG
AATGGCATCATTTAATAATTAAAGTCACAACGGTATAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGA
CAATGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACCAGCCATGCCGCGTGACAGGATGACGGTCTATGGATTGTAACTGCTTTTGTACAGGAAGA
AACACTGTTTCGTGAACCAGCTTGACGGTACTGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAGGATCC
AAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTGAGATAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGGTGGAACGG
CCATTGATAGCTGTCTGACTTGAATTATTAGGAAGTAACCTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAAATACCA
ATTGCGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGATGATAGCTGTTGGAAGCAATTTCACTGGCTTAAGCGAAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAG
AATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGC
TTAAATGCTGATGTAACCGGTTTGGAAACAGACTTTTCGCAAGCAATTTACAAGTGCTGCATGCTCGTCCGCTGCGCTGAG
GTGTCAGGTTAAGTCTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCATGTCGGAACTCTAACGAGACTGCCAGTGCA
AACTGAGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAATCATCACGCCCTTACGCCCTGGGCTACACACGTCTACATGGCCGGTAGAGAGC
AGCCACTGGGTGACCAGGAGCGAATCTATAAAACCGGTCACAGTTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGCT
AATATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTGCCTG
AAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTGGTAACTAGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11327

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAATACATGCAAGTCGAGGAGTATAGTTCTTCGGAACTAGAGACCGG
CGCAGCGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCCAGAGAAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATAGAG
TGGCATCATTTTATAATTAAAGTCACAACGGTGAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCA
ACGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATA
TTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGACAGGATGACGGTCTATGGATTGTAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAA
CTAGTGGTTGCTGAACCGCTTACGGTACTGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCGAA
GCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTTTAGTAAGTCAGTGGTGAAAGCCCATCGCTCAACGGTGGAACGGCC
ATTGATAGTCTGCTAACTTGAATTATTAGGAAGTAACCTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAAT
TGCGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGATGCTAGCTAGTGTGGAAGCAATTTCACTGGCTTAAGCGAAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAGAA
TGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTT
AAATGTAGATTGACCGGTTTGGAAACAGACTTTTCGCAAGACAAATTTACAGGTGCTGCATGGTTGCTCGTCACTCGTCCGTGAGGT
GTCAGGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTGTTGTTAGTTGCCAGCGAGTCATGTCGGAACTCTAACGAGACTGCCAGTGCAAA
CTGAGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAATCATCACGCCCTTACGCCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAGAGAGCAG
CCACTGGGTGACCAGGAGCGAATCTATAAAACCGTTCTCAGTTCCGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGAATCGTAG
TAATCGGATATCAGCCATGATCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTGCCTGAA
GTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTGGTAACTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTAAGAGCCGAATTCAGCACACTGGCG
CGGTTACTAGTGGATCCGAGCTCGGTACCAAGC

s11330

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGTCGATGAATAATCGATAGTGGCGAAC
GGGTGAGTAACACGTAGTTTACCTGCCCGGAAGAGGGGGATAACGTTCCGAAAGGAATGCTAATACCCCATAGCTCACATCGAATAG
TAAGTGTGAGAAAAGGAGTAATCCGCTTTGGGATGGGACTGCGGTCATCAGCTAGTTGGTGAGGTAAGGCTCACCAAGGCGACGA
CGGATAGGGGCCCTGAGAGGGTGAACCCCACTGGAATCGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGTC
TCAATGGGCGCAAGCCTGAAGCAGCAACGCCGCTGGGCGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCCCTTTTCTAGGTGACGAGGAAGGG
CGGTAGCCTAGGAATAAGTGTCGCTAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACCGTAGGACGCAAGCGTTATCCGGAGTTACTGGGCG
TAAAGAGCGCGCAGGCGGGTCTTAAGTCATTTATGAAAGCCCTAGGCTAACTTGGGGAGTGTAATGATGATACTGGCGGTCTAGGTG
AGGAAGGAGATGTGGAATTCGCGGTGATGGTGAATTCGCTAGATATGCGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGCCGATCCTGGTCTT
TAAGTACGCTGAGGCGCAAGCATGGGTAGCGAACGGGATTAGAGACCCCGTAGTCCATGCCGTAACGATGTACACTAAATGTT
CGTTATCGAGAGGTAATGGGTATTGAAGCTAACGCGATAAGTGTAACCGCTGGGAGTACGGTCCGAAGGCTAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCGTGTGGTTTAATTCGAGGCTACCGGAAAAACCTTACCTGGGTTTGACATCGCGTGACATCT
GGTGAAGGCGGACACTTCCGCAAGGGACACAAAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTAGCTGCTGAGGTGTTTCGGTTAAGTCC
GCAACGAGCGCAACCCCTATTGCCAGTTACAAGTGTCTGGCGAGACTGCCCGTGGTAAACGGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGT
CAGCATGGCCTTTATATCCAGGGCTACACACACGCTACAATGGCGCATACAATGGGTGCGAAAGCGCGAGGTGGAGCCATCTAAA
AAGTCGCTCACAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAACCGCGCGTCAGCATAGTCCGTGAA
TAGCTTCCCGGCCCTTGTAACACCGCCGCTCAGCTACGTGAGGAGCTGGTTATGCCTGAAGTCGGGAAGCTAACCGCAAGGGGGCTACT
GCCGAGGGCAGAATTGGTGACTGGGACGAAGTCGTAACAAGT

s11331

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCATAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGAAGCTTGCTTCCTTGAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCCAGAGAAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATGA
AATCGCATGGTTTTTATAATTAAAGTTCCAACGGTATAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGTTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGA
CAATGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAA
TATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACCAGCCATGCCGCGTGACAGGATGACGGTCTATGGATTGTAACTGCTTTTATACAGGAAGA
AACACTCGGACGTTCCGAGCTTACGCGTACTGTAGGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATCC
AAGCGTTATCCGGAATCATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTTTAAATAGTCAGTGGTGAAAGCCTATCGCTTAAACGATAGAACGG
CCATTGATACTGTTAGACTTGAATTAGTGGGAAGTAACCTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACATGGAATACCA
ATTGCGAAGGCAGGTTACTATCACTATATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACG
CCGTAAACGATGAGGATGAGCTGTTCCGAGCAATCTGAGTGGCTTAAGCGAAAAGTGATAAGTATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAG
AATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGAGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGC
TTAAATGGGAGACGACAGGACTGGAACAGTTTTCCTTCGAGCGTCTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTCCCGTGGT
GTGTCAGGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTGCCAGCGGGTCATGCCGGAACTCTAACAAAGACTGCCGGTGCA
AATCGTGAAGGAAGGTGGGATGACGTCAAATCATCACGCCCTTACGCTCTGGGCTACACACGTCTACAATGGCGGATGAGTCCGCTGAG
AGCCACCACGCAAGTGGGCGCAATCTTCAAACCGTTCTCAGTTCCGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGATTTCGCT
AGTAATCGCATATCAGCCATGATCGGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACCTG
AAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTGGTAACTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11335

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACGGGAGCAATCCTGGTGGCGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTGCCAGTCGTGGGGGATAACGCAGCGAAAGCTGTGCTAATACCCGCATACGATCTCT
GGATGAAAAGCGGGGACTCGCAAGAGACCTCGCGCGATTGGAGCGGCCGATATCAGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGCCCTACCAAG
GCGACGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGAAGTCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCCGGTGCAGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACTGCTTTTGTGCGGAACGA
AACGGTTTCGCTTAATACGGTGGGCTAATGACGGTACCCTAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAACGTGA
GGTGCAGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCTGCGCAGCGCGGTATATATAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGG
GACCTGCATTTGTGACTGTATAGCTAGAGTACGGTAGAGGGGGATGGAATTCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGCGGAGGA
ACACCGATGGCGAAGGCAATCCCCGTGGACCTGTACTGACGCTCATGCACGAGAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTTGGTAG
TCCACGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGGGTCTTCACTGACTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCTGGGGAGTA
CGCCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAACCT
TTACCCACCTTTGACATGTACGGAAGTCGCTAGAGATAGCTTCGTGCTCGAAAGAGAGCCGTAACACAGGTGCTGCATGGCTGCTGTC
AGCTCGTGTGCGTAGATGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTATTAGTTGCTACATTCAGTTGGGCACCTTAATGAG
ACTGCCGGTGACAAGCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATAGGTGGGGCTACACACGTCATACAATGGCT
GGTCCGCAAGGTTGCAACCCGCGAGGGGAGCTAATCCACACAAGCGGTGATGATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAACCTGGA
AGTCCGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGC
GGTTCTGCCAGAAGTAGTTAGCTAACCGCAAGGAGGCGATTACCACGGCAGGGTTCGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA
s11336

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGTAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGGAGAGCTTGCTCTCTGGG
TGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGAATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAAG
ACCTTCGGGTGAAAGCCGGGACCTTCGGGCCTGGCGCGGATAGATGAGCGGATGTCGGATTAGCTTGTGGCGGGGTAAAGCCGAC
CAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATACCGCGTGAAGGCGTGAAGGAGGCTTCGGGTTGTAAAGCCGCTTTGTGGGA
AAGAAATCCTGTCGGTTAATAACCGGTAGGGATGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTGTTAAGTCTGTCGTGAAAGCCCTGGGCTCAAC
CTGGGAATTGCGATGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGACAGTGAATTTCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGA
AGGAATATCGGTGCAAGGCGACTGTCTGGGCGCAACCTGACGACTGAGGACGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTG
GTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGCGCAACTTGGTGCCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCCGCTGG
GGAGTACGTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT
GCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCCTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTA
GGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
s11337

CTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAATGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTTGT
AAGCGAGATGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTAGGAATAGCATTTTGAAGTGGCGAAGTACGATCTTGTAGAGGGGGTAGAATTCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTTGACAAAGACTGACGCTCATGCACGAAAGC
GTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCGGTAAACGATGTCTACTCGGAGTTTGGTGTCTTGAACACTGGGCTCTC
AAGCTAACGCATTAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGCTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGA
GCATGTGTTTAACTTCGATGCAACGCGAAGAACTTACTACTCTTGACAACACGGAATTCGCTAGAGATAGCTTAGTGTGCTTCCG
AACCGTGAGACAGCTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGTTGTTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTT
ATTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTTAGGGAGACTGCCGCTGATAAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGAGCTCAAGTCATCATGGCC
CTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGAGTACAGAGGGTTGCAAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCACAAGCTCGTCG
TAGTCCGGATGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCG
GGCCTTGATACACACCGCCGTCACACCATTGGGAGTGGGCTGCAAAAGAAGTGGGTAGCTTAACCTTCGGGGGGGCGCTCACCACTTTG
TGGTTTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA
s11339

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGGGGGCAACCCCTGGTGGCGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTACCCGGAATGGGGGATAACGTAGCGAAAGTTACGCTAATACCGCATATGCCCTAA
GGGGGAAAGCGGGGATTGCGAAGGACCTCGCGTTTTCGGAGCGGCCGATATCGGATTAGCTAGTAGGTAGGTAAGGCTCACCTAG
GCCACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGAAGTCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATTTTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGCCGGAAGA
AAACCGCTGAGGTTAATAACCTGTGTGGATGACGGTACCGGTGAAGGAGAAAGCACCGCTAACTACGTCAGCAGCCGCGTAACTAGTA
AGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGTAAAGACAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGG
GAAGTGCATTTGTAACTGCAAGGCTAGAGTACCGCAGAAAGGGGTAGAATTCCACGCTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGA
ATACCGATGGCGAAGGCAGCCCTGGGTGCTACTGACGCTCATGCAAGGAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTCGGTAG
TCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGGTGTGGGGAGGAGAACTTCCTTAGTACCGCAGCTAACGCTGAGGTTGACCGCTGGGAG
TACGGTTCGAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATTATGTGGATTAAATTCGATGCAACGCGAAAAA
CCTTACCTACCCTTGACATGCCAGGAACCTGCCAGAGATGGCTTGGTGCCGAAAGGGAACCTGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCG
TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTAATTTGCCATCATTAGTTGGGCACCTTTAAT
GAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACAGCTAATACAAATG
GCCGGTACAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCTCAGAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCA
TGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTGCGCGGTGAATACGTTCCGGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGG
AGCGGGTTCTACCAGAAGCAGCTAGCCTAACCGCAAGGGGGGCGGTTGCCACGGTAGGGTTCGTGGCTGGGGTGAAGTCGTAACAAGG
TA

s11340

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGCAGTAGCAATACTGTGGG
TGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGGATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATACG
CCCTACGGGGGAAAGCGGCGGACCGCAAGGCGTCCGCGGATGAGATGAACCGGATGTCGCGATTAGCTTAGTGGCGGGGTAAAGCCGAC
CAAGGCGACGATCGGTAGCTGATCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTCCGGA
AAGAAAAGCACGTAATTAATACCTATGTGTGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGTTGTTAAGTCTGTCTGTGAAATCCCCGGGCTCAAC
CTGGGAATGGCGATGGATACTGGCAAGCTAGAGTGAAGTAGAGGAGTGAATTCGCGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGG
AGGAACATCAGTTGCGAAGGCGGCTCTCTGGACCATCACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTG
GTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGACGTTTGGCTCAATTAGGAGCTCAGTGTGCAAGCTAACCGGTTAAGTTCCGCGCTGG
GGAGTACGGTCGAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGC
AGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT

CGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTC
TAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACACAGGGGTACACACGTAACCTAC
AATGGTGGGGACAGAGGGTTCGCGAAGCCCGAGGTGGAGCCAAATCCAGGAAACCCATATCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAATATTGCCGAC
TCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATTGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACC
ATGGGAGTTTGTTCACCAGAAGCAGGTAGCTTAACCGTAAGGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAA
CAAGGTAA

s11342

GAACGAACGCTGGCGGCGCGCCTAACACATGCAAGTCGAACGAGAATCCGGGGCAACCTGGTAGTAAAGTGGCAACGGGTGAGGAAT
ACATGGGTAAACCTGCCCCTTGAGAAGGGAATAACCCGCCGAAAGGTGAGCTAATACCCCTATACGCTCCTTTTCTACGGAAGGGAAGG
AAAGCTAAGCCGTGGGCTCGGCGCTCAAGGAGGGGCTCATGTCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCTACGACGG
GTAGCTCGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGCACTGAGATACGGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGCCGCA
ATGGGCGAAAGCCTGACGACGACGACGCCGCGTGGGGATGAAGGTTTTTCGGATTGTAAACCCCTTTTCATGAGGAAAGATAAAGTGGGT
AACCCTTATAGACGCTACCTCAAGAAGAAGCCACGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGTGGCAAGCGTTGTTCCGA
TTTACTGGGCGTAAAGAGCACGTAGGCGGTTGGGTAAAGCCTCTTCGGGAAATCTCTCGGCTTAACCGGGAAGGTGAGGGGAACTACT
CAGCTAGAGGACGGGAGAGGAGCGCGAATTCCCGGTGTAGCGGTGAATGCGTAGATATCGGGAAGAAGGCCGCTGGCGAAGGCGG
GCTCTGGAACGTACCTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCCTAACGATGGG
TACTAAGTGTGCGCGGTTTACCGCGGTCGCCGACGTAAACGAGTAAGTACCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTTGGACATGCTCG
TGTACGAACCTGAAAGGTTGAGGATCTGAAAGGGGAGCGAGCTCAGGTGCGTATGCGTGTGCTGATGGCTGTCTGCTGCGCTGAGGTGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGTAACCCCTGTCTTCAGTTGCCATCGGGTCATGCCGAGCACTCTGGAGAGACTGCCAGGATAACGGG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTTATGCTGGGGTACACACGTGTACAATGACCGGTACAGAGGTTGCAAT
CCCGCAAGGGGAGCCAATCTCAAAAAACCGGCTCAGTTTCTGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGGTGGAATCGCTAGTAA
CTGCGTACGACGACCGCGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCCCGTACACCCAGAAAGTCAGTGTACCCAGAGTCA
CTGGCGCCAACCCGAAAGGAGGAGGTGCCAAGGTATGGTTGGTAATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11344

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGACGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACAGCAGTAGCAATACTGTGGG
TGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGATCTACCTTTTCTGTGGGGATAACGTTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATACG
CCCTACGGGGGAAAGCGGCGGACCGCAAGGCGTCGCGCATGAGATGAACCGATGTCCGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCAC
CAAGGCGACGATCGGTAGCTGATCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTACGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTG
GGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTCCGGA
AAGAAAGACGCGGATTAATACCCCTCGTGTGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA
CGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTTGTAAAGTCTGTGCTGAAATCCCCGGGCTCAAC
CTGGGAATGGCGATGGATACTGGCAAGCTAGAGTGAAGTGAAGGAGAGTGAATCCCGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCGGG
AGGAACATCAGTTGCGAAGGCGGCTCTCTGGACCATCACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCCTG
TAGTCTCAGCCCTTAAACGATGCGAATGAGCTTGGGCTCAATTAGTACGCTCAGTGTGCGAAGCTAACCGGTTAAGTTCGCGCGCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGC
AGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGTGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTC
TAAGGAGACTCCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGTACAGTCAAGTCAATCATGCGCCTTACGACACAGGGCTACACAGCTACAA
AATGGTGGGGACAGAGGTCGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCCAATCCAGAAACCCCTATCTTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGAC
TCCATGAAATCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATTGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACC
ATGGGAGTTTGTTCACCAGAAGCAGGTAGCTTAACCGTAAGGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAA
CAAGGTA

s11345

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGGGGGCTTCGGCCTGCCGCGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAATGCATCGGAACGTGCCATGTCTGTGGGGGATAACGTATCGAAAGTTACGCTAATACCGCATACGTCCTG
AGGAGAGAAAGCGGGGACTCGCAAGAGCCTCGCGCATTTGGAGCGGCCGATGTCCGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCTACCAA
GGCGACGATCCGTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGG
AATTTTGGACAATGGGGGAAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGACGGAAG
AAAACCTTTTGGGCTAAACCCCTGAGAGGATGACGCTACGTAAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAATAGCT
AGGGTGCAGCCTTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTGTGCAAGACAGGTGTGAATCCCCGGGCTTAACCTG
GGAACTGCGGCTTGTAGTGCACAACTAGAGTACGCGAGGGGGTGGAATTCCTGGTGTAGCATTGCAATGCGTAGAATGCGAGG
AACATCGATGGCGAAGGACGCCCTGGGCCAGTACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGGTA
GTCCACGCCCTAAACGATGTGACTAGTTGTTCCGAGGGTAAACCTCTGAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTCGACCGCCTGGGGA
GTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGATGATGTGGATTAAATTCGATGCAACGCGAAAA
CCTTACCTACCCCTGACATGTGAGGAACCTGCTGAAAAGTGGGGGTGCTCGAAAGAGAGCCTGAACACAGGTGCTGATGGCTGTGCG
TCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCAATTAGTTGCTACGCAAGGCACTCTAGTGAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTACACAGCTATACATAGGTGCG
TACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGC

s11347a

ATCGGGTTGCGTCCATTAGCTTGTGGTAGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGATGGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACA
CTGGAACGTAAACACGGTCCAGACTCCCACGGGAGGCGAGCTTGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCCTGATCCAGCAATGCCGC
GTGAATGATGAAGGCCCTTAGGGTCGTAAGTCTTTTAGTGGGGAAGAAGGGTAACCTTGACGGTACCCACAGAAAAAGCACCGGCTAA
CTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTTTCGGGAATTATTGGGCTAAAGCGCGGTGACGCTGAGTGAAGGT
CTGGTGTGAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGAAGTGCCTGGATACTACATAGCTAGAGGGTTAGAGAGGAAAGCGGAATTTCTGGTGT
AGGGGTGAAATCCGTAGATATCAAGAGGAACACCGATGCGGAAGGCAGCTTTCTGGCTAACATCTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGG
GTAGCAACACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGGATACT

s11348b

AAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGTCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAG
GAACCTTACCTAGGCTAGAATGTGAGTGACAGATGGTGAAAGCCGTTCTTCCTTCGGGACACGAAACAAGGTGCTGCATGGTTGTGCT
CAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTACAGCACGTTAAGGTGGGGACTCTAG
CAAGACTGCCCGGCTAAGCCGCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGGCCCTTATGCCTAGGGCGACACACAGTGTACAA
GGCCGCGACAGAGGGTGCAGACCGCGAGGTTTAGCCAATCCCATAAAGCCGGTCCAGTTCCGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCC
ATGAAGGTGGAATCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCATGCGCGGTGAATACGTTCCCGGACCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATG
GAAGTTGGGGGTACCTAAAGATGGTGACTTTACGGGGAGCTATCTAAGGTAAACACAGTAACCTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11349

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATCAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCGAAAAAGGGCTTCGGCCCTTAGTAGAG
TGGCGTACGGGTGAGTAACACGCTGGGTAACTACCTTTGGGTGGGGAATAACTCAGGGAACCTTGAGCTAATACCGCATAATGCAGCG
GCTCGACATCGAGACAGTTGTTAAAGTAGTAATACGCTGAAGAGGAGCCCGCGCTGATTAGTTGGTGGGGTAAACGGCTTACC
AAGGCTACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGGCCAGCCACAATGGCACTGAAACACGGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAAATTTTGGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCAACGCGCGTGAAGGATGAAATCTTTCGGGATGTAACCTTCGCAAGTGTGGGA
AGAATACAATGACGGTACCACAAGTAAGCCCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGGGGGGCAAGCGTTGTTTCGGAA
TTAATCGCGCTAAAGGGACCGGTAGGCGGGTCTTCAAGTCAGCCGTGAAATCTCCAGGCTTAACCTGGAAAGGGTTCGGTTGACTGTCTG
AGCTAGAGTGTAGAAGAGGCAACTGGAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACCGAGGAACACCTGCGGCGAAAGCGGGT
TGCTGGGCTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCTAGGGTAGCAACCGGATTAGATACCCCGTAGTCTAGCCTTAAACGATGCTG
ACTTGGTGTCCCGGGTTTAAAGTCCCGGGGTGCTGGAGCTAACGCGTTAAGTCAGCCGCTGGGGAGTACGGTTCGAAGGCTGAACT
CAAAGGAATTGACGGGACCCGCAACAAGCGGTGAGCATGTGGTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGGCTAGAACTGCG
GTGGATAAGTCTCAGAGATGAGACGATCCGAGTAATCGGCTCCTGCCTGCAAGGTGCTGCGTGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGA
TGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTACCGTGAGTTACCATCATTTAGTTGGGGACTCTCGCGGAACCTGCCGCTGATAAA
CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCTTTATGTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACCGCTGCG
GAAATCGCGAGATGAGCTAATCGGAAAAAACCTTCTCAGTTCGGGTGGAAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAATCGCTAG
TAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACATCACGAAAGTGGGCTGTACTAGAAG
ACGTTGAGCTAACCGCAAGGAGGAGCGCTCCACGGTATGGTTCATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11350

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAAGCTTAATACATGCAAGTCGAGGGGACGCGCAGTGTAGCAATACATGGGCG
GCGACCGGCAACCGGGTGCAGAACACGTACAGAACCCTTCTTCGAGCGGGGAATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATACCCCATAGTA
TATTGGGGTGGCATCACTTAATATTAAAGATTTATCACTTGAAGATGGCTGTGCGGCTGATTAGATAGTTGGCGGGTAAACGGCCCA
CCAAGTCTGCGATCAGTAACCTGGTGTGAGAGCAGCAGCAGTACACGCGGCACTGAGACACGGGCCGACTCCTACGGGAGGCTAGCAGT
AAGCAATATTGGTGAATGGACGAAAGTCTGAACCACTGAGGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAACTCTTTTATAGT
GGACGAAAAAGGTCTTTCTAGATCAACTGACGGTACCATGTGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGA
GGGTGCAAGCGTTATCCGATTCACTGGGTTTAAAGGGTGCCTAGGTGGGTTGGTAAGTCAGTGTGAAATCTCCGAGCTTAACTTGG
AACTGCCATTGATACTATCAGTCTTGAATATTGTGGAGGTTAGCGGAATATGTCATGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATGACATAGA
ACACCAATTGCGAAGGACGCTGGCTACACATATATTGACAGTGAAGGATCAACACGCGTGGGATCAACAGCGTGGGAACTTAGTGA
TCCACGCCCTAACTATGGATACTCGACATATGCGATACACTGTATGTCTGAGCGAAAGCATTAAGTATCCACCTGGGAAGTACG
ATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGGCGGGGTCGCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGATAGCGAGGAACCTT
ACCTGGGCTAGAAATGCGGTTTGACCGTGGGTGAAAGCTCATTTTGTAGCAATACACAGATCGTAAGGTGCTGCATGGCTGTCTGAG
TCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCACTAGTTGCCATCAGGTAATGCTGGGAACTTAGTGAA
ACTGCCGTGCGTAAGGCGTGAGGAAGGAGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCG
AGTACAAAGGGCAGCTACCTGGTGACAGGATGCTAATCTCAAAAACTCGTCTCAGTTTGAATGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGTATATCAGCAATGATACGGTGAATACGTTCCCGGACCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAG
TCGGGTGTACCTAAAGTCGGTAACCGCAAGGAGCGCCCTAGGGTAAAACTAGTAAGTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11351

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGT
GGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTACCCAAGAGTGGGGGATAACGTAGCGAAAGTTACGCTAATACCGCATACGATCTAAGG
ATGAAAGCAGGGGACCGCAAGGCCCTTGTGCTCCTGGAGCGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCTACCAAGGCTA
CGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTGTAGGGAAGAAACG
GTAGAGGCTAATATCCTTTGCTAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGT
GCAAGGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGCGGTTTGTAGTCTGTCTGTAATCCCGGGCTCAACCTGGGAAT
TGCGATGCGATGCTGCAAGGCTAGAATCTGGCAGAGGGGGGTAGAAATTCACGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACAC
CGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGTCAAGATTGACGCTCATGCAGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCTACTAGTTGTTCGGGTTTTAATTAACCTTGTTAAGCAGCTAACGCGTGAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGT
CGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAACAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTAC
CTACCTTTGACATGGAAGGAATCCTGGAGAGATCTGGGAGTGCCCGGGAAGGGAACCTTTACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCT
CGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTATTAGTTGCTACGAAAGAGCACTCTAATGAGACTGCCGG
TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTATACAATGGTACATACAGA
GGCGCGCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCAGAAAGTGTATCGTAGTCCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTGGAA
TCGGCTGATCGCGGATCAGCATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCTGGGAGCGGGTTTTA
CCAGAAGTAGGTAGCTTAACCGCAAGGAGGGCGCTTACCACGGTAGGATTCTGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11352

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATGAACGCTGGCGGCGTGGTTAAGACATGCAAGTCGAACGGGACTTTATTCTAGCAATACCGGTGA
AGTTCAGTGGCGAAGCGGTGCGTAACACGTGAACAATCTACCTATAAGTGTGGAATAGCTCGCCGAAAGGCGAATTAATACCGCATGT
GGTGGTTCTCCGCATGGAGAGCCTACTAAAGTCGGGGACCGCAAGGCCCTGACGCTAATAGAGGAGTTTCGCGGCCTATCAGCTAGTTGG
CAGGGTAACGGCTCACCAGGCAAGACGGGTAGCTGGTCTAAGAGGACGGTCGGACACACTGACACTGAATAACGGGTGACACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTCGGGAATTTTGGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCCAGCAACGCGCGTGAAGGATGAAGTATTTCCGTATGTAA
ACTTCGAAAGAATGGGAAGAAATAATGACGGTACCATTATAAGCTTCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGGGAG
CAAGCGTTGTTCCGATTACTTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCGCGTAAGTCACTTGTGAAATCTCTGAGCTTAACTCAGAACGG
CCAAGTGATACTGCAGTGCTAGAGTGTAGAAGGGGCAATCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCAAGAGGAACACC
TGAGGTGAAGACGGGTGCTGTTCTAACACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGCAAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTCTG
GCCCTAAACGATGAATACTTGGTGTCCGGGGTTTCAAGCCCTGGGTGCGCTGCTAACGTTTAAAGTATTTCCGCTGGGGAGTACGC
TCGCAAGAGTGAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTA
CCTGGACTAGAATGTGAGGGGATATCGGGTAATGCCGGTAGTCCGGGAAACCGGACCAGAAACAAGGTGCTGCATGGCTGTCTGACG
TCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCAACAGTTGCCATCATTAACTTGGGAACTCTGTTGAGAC
TGCCGTTGATAAAACGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGGCTTTATGTTGAGGCTTACAGCTCCATGCAAGTGGGAACTG
TACAAAACGTCGCAATCCCGCGAGGGGGAGCCAAATCGCGAAAACCATCCTCAGTTCCGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGT
TGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACATCACGAAAGTAGG
TTGTACTAGAAGTAGCTGGGCCAACTCGCAAGAGGGGTAGGTTACCACGGTATGATTTATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11354

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGCGGGGCAACCTGGCGGCGAGT
GGCGAACGGGTGAGTAATATATCGGAACGTACCCAGAAAGTGGGGGATAACGTAGCGAAAGTTACGCTAATACCGCATACGATCTACGG
ATGAAAGTGGGGGACCTTCCGGCCTCATGCTTTTGGAGCGGCCGATATCTGATTAGCTAGTTGGTGAAGGCTCACCAGGGCGA
CGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACGAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTT
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTTGTAGGGAAGAAACG

GTCTAGGTTAATACCTTGGGCTAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGT
GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCGAGGCGGTTTTGTAAAGTCTGTCTGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAAT
TGCGATGAGAGCTGCAAGGCTTGAATCTGGCAGAGGGGGGTAGAAATTCACAGTGTAGCAGTGAAGATGCGTAGAGATGTGGAGGAACAC
CGATGGCGAAGGCGACCCCCCTGGGTCAAGATTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCTACTAGTTGTCTGGGTTTTAATTAACCTTGGTAACGCAGCTAACGCGTGAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGT
CGCAAGATTAACCTCAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACCGGAAAAACCTTAC
CTACCCCTTGACATGGAAGGAAGTCCGGAGAGATCTGGATGTGCCGAAAGGGAACCTTCACACAGGTGCGCATGGCTGTCTGTCAGCT
CGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTATTAGTTGCTACATTTAGTTGAGCACTCTAATGAGACTG
CCGCTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTAATACAATGGCGCGTA
CAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCCAATCCAGAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTC
GGAATCGCTAGTAACTCGCGGATCAGCATGTCTGGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCCGCCGTACACCATGGGAGCGGGT
TTTACCAGAAGTAGGTAGCTTAACCGCAAGGGGGGCGCTTACCACGGTAGGATTCTGTACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGTA

s11355

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGAATGAACGCTGGCGGGCTGGTTAAGACATGCAAGTCGAACGGGACTTTATTCTGTAGCAATACGCGTGA
AGTTCAGTGGCGAACGGGTGCGTAACACGTGAACAATCTACCTATAAGTGTGAATAGTCTGCCGAAAGCGGAATTAATACCGCATGT
GGTGGTTCTCCGCATGGAGAGCCTACTAAAGTCGGGGACCGCAAGGCTGACGCTAATAGAGGAGTTCGCGGCCTATCAGCTAGTTGG
CGAGGTAAACGGCTCACCAGGCAAGACGGGTAGCTGGTCTAAGAGGACGGTCGACACACTGACACTGAATAACGGGTACAGACTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTCGGGAATTTTGGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCCAGCAACGCGCGTGAAGGATGAAGTATTTCCGTATGTAA
ACTTCGAAAGAATGGGAAGTAATAATGACGGTACCATTATTAAGCTCCGGCTAACCTACGTGCCAGCAGCGCGGTAGATATCAAGAGGAACACC
CAAGCGTTGTTCCGATTACTGGGCGTAAAGGGCGCGTAGGCGGCGCGGTAAAGTCACTTGTGAAATCTCTGAGCTTAACCTCAGAACGG
CCAAGTGATACTGCGATGCTAGAGTGTAGAAGGGCAATCGGAATCTTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCAAGAGGAACACC
TGAGGTGAAGACGGGTTGCTGGTCTAACACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGCAACCGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTCTG
GCCCTAAACGATCAATACTTGGTGTCCGGGGTTTCAAGCCCTGGGTGCGTTCGCTAACGTTTAAAGTATTCGCGCTGGGAGTAGCG
TCGCAAGAGTGAACCTCAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTGGACTAGAATGTGAGGGGATATCGGGTAATGCGCGTAGTCCGGGAAACCGGACCCAAAACAAGGTGCTGTCATGGCTGTCTGTCAGC
TCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCAACAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGAACCTCTGTTGAGAC
TGCCCTGTGATAAAGCGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCTTATGTTTCAAGGCTTATGTTTCAAGGCTTACACAGCTTCAATGAGTGG
TACAAAACGTCGCAATCCCGCAGGGGGAGCCAATCGCGAAAACCATCTCAGTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGT
TGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACATCAGAAAGTAGG
TTGTACTAGAAGTAGCTGGGCCAACTCGCAAGAGGGGTAGGTTACCACGGTATGATTTATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11359

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCCCTTACACATGCAAGTCGAACGGTAACCGGGGCAACCTGGCGACGAGT
GGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACGTGCCAGTAGTGGGGGATAGCCCGCGGAAAGCCGGATTAAATACCGCATACGACCTACGG
GTGAAAGCGGGGATCGCAAGACCTCGCGCTATTGGAGCGGCCGATGTAGATTAGGTAGTTGGTGAAGGTACACCAAGCCTT
CGATCTGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACACCGCACTGGGATGAGACACGGCCAGACTCCTGACGAGGCGAGTCAGGTGGGAATTT
TGACAAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCTGCGCGTGGGGAAGAAGGCTTTCGGGTTGTAAACCGCTTTTGTGAGGGAAGAAACG
CTCTGGGCTAATACCCCGGGTAAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAGCTACGGT
GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGCTTTCGAAGACAGATGTGAAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAAC
TGCAATTTGTGATAAAGCGTGGAGTGGCGCAGAGGGGATGAAATTCGCGGTGAACAGTGAATGCGTAGATATGCGGAGGAACAC
CGATGGCGAAGGCAATCCCTGGGCTGCACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCA
CGCCCTAAACGATGTCAACTGGTTGTTGGACGGCTTGTCTTTCAGTAACGAAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGGC
CGCAAGGTTGAACCTCAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGTTAATTCGATGCAACCGGAAAAACCTTAC
CTACCCCTGACATGTCAAGAATCTTGACAGAGATGTGAGATGCTCGAAAGAGAACTTGAACACAGGTGCTGTCATGGCCGTCTGACGT
CGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTCTATTAGTTGCTACGAAAGGCGACTCTAATGAGACTGCGCG
TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTACACACGTATACAATGGCCGGTACAGA
GGGCTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCAGAAAACCGGTGCTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCTTGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGCGGGTTCTG
CCAGAAGTAGTTAGCTTAACCGCAAGGAGGGCGATTACCACGGCAGGGTTCTGTACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT

s11360

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCCCTAACACATGCAAGTCGAGGGGTAGAGGAAGCTTGCTTCTTGTAGACC
GGCGCACGGGTGCGTAACGCGTATGCAATCTACCTTATACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATTG
AATGGCATCATTTTGATAATTAAAGTTCCACGGTATAAGATGAGCAGCGCTCCCTATTAGTTAGTTGGTAAAGTAAACGGCTTACCAAGA
CAATGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAAGAA
TATTGGTCAATGACGCAAGTCTGAACACGCCATGCCGCGTGCAGGATGACGGTCTATGGATTGTAACCTGCTTTTATACAGGAAGA
AACACTCCCTCGTGAGGGAGCTTGACGGTACTGTAGGAATAAGGATCGGCTAATCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGAGGATCC
AAGCGTTATCCGGAATCATTTGGGTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTTTAAATAGTCAAGTGGTGAAGGCTTTCGCTTAAACGATGAACCGG
CCATTGATACTGTTAGACTTGAATTAGTGGGAAGTAACTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACATGGAATACCA
ATTGCGAAGGCAGGTTACTATCACTATATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACG
CCGTAACGATGGATACTAGCTGTTCCGGAGCAATCTGAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCCACTGGGGAGTACGTTTCGCAAG
AATGAAACTCAAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGAGGAGGATGTGGTTAATTCGATGATACCGGAGGAACCTTACCAGGGC
TTAAATGGGAGACGACAGGACTGGAAACAGTTTTTTCTTCCGACGTCTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGCCGTGAG
GTGTCAGGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTGCCAGCGGGTCATGCCGGGAACCTTAAACAAGACTGCCGGTGCA
AACCGTGAGGAAGGTGGGGGTGACGTCAAATCATACGGCCCTTACGTCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGGTACAGAGAGC
AGCCACTACGCAAGTAGGCGCGAATCTTCAAAACCGTTCTCAGTTCCGGATCCGGAGTCTGCAACTCGACTCGGTGAAGCTGGATTCCGT
AGTAATCGCATATCAGCCATGATGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACCTG
AAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCTAGGGTAAACCTTGTAACTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGT

s11361

AGAGTTTGTATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGGCTGCTTAAACATGCAAGTCGAACGTGATCCGGAGCTTGCTCCGGTGAAAGT
GGCGCACGGGTGAGTAACGCGTGGATAACCTGCCCTGGTATCTGGGATAACATCTCGAAAGGGGTGCTAATACCGGATAAGCCACGG
ACTCCTCGGAGTCTGCCGGAAAGGTGGCTCTATTTATAAGCTACCGTATCAGGATGGGTCCGCGTACCATTAGCTAGTTGGTGGGG
TAATGGCCTACCAAGGCTACGATGGTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAATGAGACAGGTCAGACTCCTACGGG
AGGCAGAGTGGGGAATTTGCGCAATGGGGGAACCTTGACGACGCAACGCGCGGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGGGTCTGAAAGCTC
TGTCGGAGGGGAAGAAATGAAACCGTTAATACCCGTTTTTTCTTGACGGTACCCCTCAAAGGAAGCACCGGCTAATCCGTGCCAGCAG
CCGCGGTAAATACGGAGGGTGCAAGCGTTGTTTCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGCGTGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCC
CTGGGCTCAACCAGGAAGTGCAATGGATACTGGAAGACTTGAATACGGGAGAGGGTAGTGAATTCCTAGTGTAGGAGTGAAATCCG
TAGATATTAGGAGGAACCCGGTGGCGGAAGGCGCTACTTGACCGATATTGACGCTGAGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGAT
TAGATACCTTGGTAGTCCACGCGCTAAACGATGAGAACTAGGTGTTGCGGGTATTGACCCTGCAGTGCCCGCAGCTAACGCATTAAGT

TCTCCGCTGGGAAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCG
ACGCAACGCGCAGAACCCTTACCTGGGCTTGACATCTGTGGAATCTTCGTGAAAGCGAGGAGTGCCCTCGGGAGCCACAAGACAGGTGC
TGATGGCTGTCTCGTCAAGCTCGTGTCTGTGAGATGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCCTTAGTTGCCATCATTACGT
TGGGCACCTCTAAGGAGACTGCCGGTGTCAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGTCCAGGGCTACAC
ACGTGCTACAATGCCCGGTACAAAGGGTTGCAATACCGCGAGGTGGAGCCAAATCTCAAAAAGCCGGCCTCAGTTCCGGATTGGAGTCTG
CAACTCGACTCCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGCGCAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
GTCACACCACGGGAGTCGGTTGGTCCCGAAGTGCGTGAGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGCGTCTTAAGGAATGGCCGGTGACTGGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTA

s11362

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCATGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGTAACAGGACGCTAGGATCCCTTCGGG
GTAGATACCCCGGTACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGCATAGGAATCTACCCAGTAGTGGGGGATAAACGTGGAGAAATCCACGCT
AATACCGCATATGTCTACGGGACAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATTGGATGAGCCTATGTTGGATTAGCTTGTGGTGA
GGTAAAGGCTCACCAAGGTACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCAATGCCCGGTGTGTGAAGAAGGCCTGCGGGTTGTAAAGC
ACTTTTATTAGGAAGAAAAACCCGGAGCTAATACCTCCGGCACTTGACGGTACCTAAAGAATAAGCACCGCTAAGCTACGCTGGGCA
GCCCGGTAAATACTGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGTGTAGGCGGCTACTTAAGTCGGATGTGAAAGC
CCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTGATACCTGGGTAGCTAGAGTTTGGTAGAGGTAAGTGGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGC
ATAGATATCTGGAGGAACATCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACAAAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGA
TTAGATACCCCGGTAGTCCAGCCCTAAACGATGTCAAACCGGAGGATGGGTTCATTAAAGGAATACGATCCGCTAAGCTACGCTGGGCA
TTGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC
GATGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGCCCTTGACATCTGGGAACCTTTGTAGAGATACATTGGTGCTTCGGGAATCCAGTGACAGGTG
CTGCATGGCTGTCTGCTCAGTCTGCTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCACGTTA
TGTGGGAACTTAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGATGGGTACAGCTCAAGTCAAGTATGGCTTATGGCTGAGTGAAGTAAAG
CACACGTGCTACAATGGTCCGTACAGAGGGTCGCAATCCCGCGAGGGGGAGCTAATCCAGAAAGCCGATCTTAGTCCGGATCGCAGT
CTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGCAATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGCTTAACCTTCGGGAGAGCGGTTACCACGGTGTGATTCTAGACTGGG
GTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11364a

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAATTAAGGGGCTTGCTCCTTAATTTA
GTGGCGCACGGGTGAGTAATGCGTGGATAACCTACCCTGGTATCCTGGATAACATCTCGAAAGGGGTGCTAATACGGGATAAGCCAC
GGGTCTTCGGACCTCGCGGAAAAGGTGGCCTTGACTCAAGCTACTGTATCAGGATGGGTCCACGTACCATTAGCTAGTTGGTGGG
GTAAAGGCTACCAAGGCTACGATGGTTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCACAATGGGGGAAACCTTGACGCGAGCAACGCCGCTGAGTGATGAAGGCCTTCGGGTCTGTAAGCT
CTGTCAGAGGGAAGAAGTGTATTATGGTTAATACCCATGATACTTGACGGTACCTCAAAGGAAGCACCGGCTAATCCGTGCCAGC
AGCCGCGTAATACGAGGGGTGCGAGCGTTGTTTCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGTGTAGGCGGCTCCTTAAGTCTGATGTGAAG
CCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCAATTGGAACCTGGGGAACCTGAATACGGGAGAGGGTAGTGGAATTCCTGGTGTAGGAGTGAATC
CGTAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGACCGATATTGACGCT

s11364b

AGACGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGCTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAG
CTCTTAGTGGCGAGCTAACGCACTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAATACTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCG
ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCAGAGAACTTTCAGAGATGGATT
GGTGCCCTTCGGGAGCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCA
ACCCTTGTCCTTAGTTGCCAGCGCGTAATGGCGGGAACCTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAACCCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
GTGATCCGCGCTTACGACCTGGGCTACACAGCTGCTACAATGGGCGGTACAAAGGGTTGCCAAACCGCGAGGTGAGCTTAATCCCA
TAAACCGTTCTGATGTCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAAATCAGAACGTTACGGTG
AATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGCTAGTCTAACCGCAAGGGGGAGC
GTTACCACTTTGTGATTCTAGCTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11366

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGCGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAACGCCCGCAAGGGGAGTGGCAGACGGGTG
AGTAACGCGTGGGAACGTACCTTTTCAGTTTCGGAATAACTCAGGGAACTTTGTGCTAATACCGGATACGCCCGCAAGGGGAAAGATTTA
TCGCTGAAAGACTCGGCCCGCTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATG
ATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACCGGAGACGAGCAGTGGGGAATATTGGACATGGGGCGAAAGCCTGATCCA
GCCATGCCCGGTGTGTGATGAAGGCCCTCGGGTTGTAAACCGCTTTTCAGTAGGGAAGAAAATGACGGTACCTACAGAAGAAGCCCCGG
CCAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAACAGTAGGGGGCGAGCGTTGTCCGGATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTCGT
AAGTCGGATGTGAAAATCCAGGCTCACTTGGAGACGCCATTCGATACTGCGATGACTAGAGTCCGGTAGGGGAGTGTGGAATTCCT
GGTGACGGGTGAAATGCGCAGATACAGGAGGAACACCGCGGCAAGGCGGCACTCTGGGCGGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAG
CGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGATCACTAGCTGTTGGCGATACACCGATCAGCGGCAA
AGCAAAAGCATTAAAGTGATCCACCTGGGGAGTACGGCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGAGGAA
CATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCTGGGCTTAAATGTAGAGTGCAATTGAGAGGAACTTTTATTTCTTCGGAA
CTCTTTACAAGGTGCTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGCGGTGAGGTGTCCGGTTAAGTCCCATAAACGAGCGCAACCCCTATTACCAG
TTACAAGTGTCTGGCGAACTGCCGGTGTAAACCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCAGCGTGGCTCTTACGCCTTGGGCGAC
ACACGTGCTACAATGGGATGTTTACAAGGGACGCAAGGAGTAGTCCGGAGCAAATCCTATAAACCATCCCCAGTTCCGATTGAGGG
GTGCAACTCGCCCTCATGAAGCCGAATCGCTAGTAACCGTAGATCAGCCTCGCTACGGTGAATACGTTCTCGGGTTTTGTACACACC
GCCCGTCAAGCCATGGAAGTGGGTAGCGGATGAAGCGCTCAATTTATTTGGGCTCCAATCCGAGACTCGTAACCTGGGGCTAAGTCGTAA
CAAGGTA

s11367a

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCGAGGCTTAATACATGCAAGTCGAGGGGGATTAGTTTCTAGCAATAGAAGATT
ATGAGACGGCAAAACGGGTGCGGAACACGTACGCAACCTTCCAAAACTGGTGGATAGCCCTCCGAAAGGAGGATTAAATACACCGTAA
CATAATGAAGTGGCATCACTTTATTATTATAGCTCCGGCGGTTTTGGATGGGCGTGCCTGATTAGGTAGTTGGCGGGGTAAACGGCC
CACCAGCCTTCGATCAGTAACCTGGTGTGAGAGCACGACAGTCAACGCGGCACGTGAGACACGGGCCGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTAAGGAATATTGGTCAATGGACGCAAGTCTGAACTAGCCATGCCCGGTGAAGGATGACGGCCCTCTGGGTTGTAACTTCTTTTATC
TGGGACGAAAAAAGGGCTTTCTAGCTCGACTGACGGTACCAGAGGAATAAGCACCGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACG
GAGGGTGAAGCGTTATCCGGATTACTGGGTTTTAAGGGTGCGTAGGTGGGTCTGTAAGTCAGTGGTGAATCTCCGAGCTTAACCTC
GGAACTGCCATTGATACTATAGGTCTTGAATTATCTGGAGGTAAAGCGGAATATGTCATGTAGCGGTGAATGCTTAGATATGACATA
GAACACCAATTGCGAAGGCAGCTTACTACGGATCGATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCCTAAACGATGGATACTCGACATTTGCGATATACTGTAAAGTGTCTGAGCGAAAGCATTAAGTATCCACCTGGGAAGTA

CGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGTCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACC
TTACCTGGGCTAGAAATGCGGTTTGACCGTGGGTGAAAGCTCATTTTGTAGCAATACACAGATCGTAAGGTGC

s11367b

GCATGGCTGTCGTGACGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCATTAAATGGCATCATTACAGTT
GGGCACTTTAATGAAACTGCCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGCTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACA
CGTAATACAATGGCGCGTACAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCTCAGAAAGCGCGTCGTAGTCCGGATCGGAGTCTGC
AATCGGACTCCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAAATCGCGGATCAGCATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGCTCTTGTACACACCGCCCG
TCACACCATGGGAGTGGGTTTACCAGAAGCAGGTAGTCTAACCGCAAGGAGGGCGCTTGCCACGGTGAGATTATGACTGGGGTGAA
GTCGTAAACAAGGTA

s11372

AAGCGTCGCGCATGAGATGAACCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGATCTG
AGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGC
CTGATCCAGCCATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTCCGAAAAGAAAAGCACGGGATTAAATACCTC
GTGTGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAAT
TACTGGGCGTAAAGTCGTAGGTGGTGCCTTAAGTCTGTGCTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAATGGCGATGGATCTGGCGC
GCTAGAGTGAGGTAGAGGAGAGTGGAATTCGGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCAGTTGCGAAGGGCGGCTC
TCTGGACCATCACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGTTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAA
CTGGACGTTGGGCTCAATTAGGAGCTCAGTGTGCGAGCTAACCGGTTAAGTTGCGCCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGTTTAATTTCGATGCAACGCGCAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATCCA
CGGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTGACGCTCGTGTGCTGAGATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGCTTGTAGTTGCCAGCACGTAATGTTGGGAACCTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGG
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGGTACACACGTAATAATGGTGGGGACAGAGGGTCGCGAAG
CCGCGAGCGTAAGCGCAATCCAGAAACCTATCTTAGTCCGAGTCTGCAACTCGACTCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAAAT
CGCGGATCAGCATTGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGACACCAGAAGCAG
GTAGCTTAACCGTAAGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11373

AAAGTTTGATCATGGCTCANATTGAACGCTGGCGCATGCTTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCGGGGGCTTCGGCCTGCCGCGA
GTGGCGAACGGGTGAGTAATGCATCGGAACGTACCCATGTTGTGGGGGATAACGTAGCGAAAGCTACGCTAATACCGCATAAGCCCTG
AGGGGAAAGCGGGGGATTCTTCGGAACCTCGCGCAATTGGAGCGGCCGATGTCTAGATTAGCTAGTTGGCAGGGTAAAGGCCCTACCAA
GGCAGCATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATTTGGACAATGGGGCAACCCCTGATCCAGCCATGCCGCGTAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTTTCAGTTGGGAAGA
AACGGGGTTCTCTAACATAGGATCCTAATGACGGTACCAGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTA
GGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTGTAAAGACAGGTGTGAATCCCGGGCTTAACTGG
GAATCGCCTTGTGACTGCAAGGCTAGAGTACCGCAGAGGGGGTGAATTCACGCTGTAGCAGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGA
ACACCGATGGCGAAGGCGACCCCTGGGCGGATACCTGACGCTCATGCAAGAAAGCGTGGGGAGCAACCGGCTGCGTGGTAG
CCACGCGCTAAACGATGTCGACTAGTTGTTGCGAGCGGTAACGCACTGAGTAACGTAGCTAACCGGTGAAGTCGACCGCTGGGGAG
TAGGTCGCAAGATTAAAGCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAAATTCGATGCAACGCGAAAAA
CCTTACCTACCCCTTGACATGCTTGAATCCTTGAGAGATCAGGGAGTGCCCTCGGGAGCCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTG
AGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCAACCCCTTGTGCTAATTCGCTAGCTAGTTGGTGGGCTTAATGAGA
GACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTACACGCTCATACAATGGT
CGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATCGTAGTCTGCAACTCGACTACGTG
AAGTCGGAATCGCTAGTAAATCGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAG
TGGGTTTACCAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGG

s11374/s11375

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAGTGAACGTTGGCGGCGTGGATTAGGCATGCAAGTCGCGCGATAAATTTTCTTCGGAAGATGGAAAGC
GGCGGAAGGGAGAGGATAAGGTAGAAATCTACCTTCGGGACGGGGATAGCTGCGGGAACTGCTGGTAATACCCGATAATATCTTTGG
ATCAAAGGTGTGATTCCGCCTGGGGATGAGTCTACTTCTATTAGCTAGTTGGCAGGGTAATGGCCTACCAAGGCAACGATGGGTAGC
GGGTGTGAGAGCATGACCCGCCCTCACTGGGACTGAGAATGCCAGACACCTACGGGTGGCTGCAGTCGAGAATCTTCGGCAATGGGC
GCAAGCCTGACCGAGCGACGCCGCTGCGGGATGAAGGCCTTCGGGTTGTAACACGCTGTGCTAGGGGAACAAATGTAAGGGGTTCT
CCCTTTTACTTGAGTGATCTTAGGAGGAAGGGGAGGCTAAGCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGAGCTCCCGAACGTTATTCCG
TATTACTGGGCTTAAAGAGTTCTGAGCGGCCCGACAGGTGAGGTGTGAATCCCTCGGCTCAACCGGAAGTACGCTTCAAACCGT
CAGGCTTGAGGGATGAGAGGTGAGCGGAACAGATGGTGAGAGGCTGAAATGCGTTGATATCATCTGGAACACCGGTGGCGAAAGCGG
CTCACTGGATCTTTTCTGACGCTGAGGAACGAAAGCTAGGGTAGCGAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTTAGCCGTAAACGATGA
GCCTAGCCCGTGGGGACTCTCACATCCTCTCGGGCGTAGCGAAAGTGTAAAGTCTCCGCTGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAA
CTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGAAGAACCCTTATCCTAGTCTTGACA
TGCTTAAAGAATCTGACTGAAAGGTTGGAGTGCCCTTCGGGGAGGCTTTTGACACAGGTGCTCGATGGCTGTGCTGAGTCTGCTGCTG
ATGTGCGGTTAAGTCCCTTAACGAGCGAAACCCCTTGTCTCTAGTTGCCAGCGAGTAAAGTCGGGGACTCTAGAGAGACTGCCGGTGT
AAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCTTTATGATTAGGGCTGCACACGCTCTACATGCGGCATACAAAGGGA
AGCAAACCCGTGAGGGGGAGCAAAACCCCAAAAAGTGTGCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGC
TAGTAATCGCGGGTCAGCATACCCGCGTGAATGTGTTCCGAGCCCTTGACACACCGCCGTCAGGCCAGAAAGTTGGGAGGGCCCG
AAGTCGCTGAGCAAACCGCACGGGTGCAGGCGCCGAAGTGCAGTCTGACAATTTGGGACTAAGTCGTAACAAGGTA

s11376

AGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCGAGGCTAACACATGCAAGTCGAGCGGCAGCACGGGTACTTGTACCTGGTGGC
GAGCGGGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGCTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCT
ACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCCTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTACCAAG
GCCACGATCCGTAACCTGCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGAAGACAGGTCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
ATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGA
AGGGCAGTTACCTTAATACGTATCTGTTTTGACGTTACCGAGCAATACGACACCGGCTAACTCTGACGACCGCGCTAATACAGA
GGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTGTAAAGTTGGATGTGAATCCCGGGCTCAACCTGG
GAAGTGCATTCAAAGTGAACGAGAGATATGGTAGAGGGTGGTGAATTTCCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGA
ACACAGTGGCGAAGGCGACCACTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAG
TCCACGCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGCGCCAGCTAACCGATTAAAGTTGACCGCTGGGGAGT
ACGGCCGCAAGGTTAAACTCAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACCGGAAGAAC
CTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTACCAGCAGCTCATGGTGGGCACTCTAAGG
AGACTCGCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACAGCTGTCTACAATGG
TCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGT

GAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTACACCATGGGA
GTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGTGTGATTTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGT
A

s11377

CTCTAAGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAAT
CGGATTTACTGGGCGTAAAGGGTACGTAGGTGGTCTTTTAAAGTCGGATGTGAAATCCCTGAGCTTAACTTAGGAATTGCATTGCATAC
TGAAGACCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCACGGTGTAGCCGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGG
CAGCCATCTGGCCTAATACTGACACTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCATGCCGTAAACGA
TGTTACTAGCCGTTGGGGTCTTTGAGACTTTAGTGGCGCAGCTAACCGCATAAGTAGACCCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAA
AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATCCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGAC
ATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCTTACATACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTTTCCTTATTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGGAACTTTAAAGGATACTACCAGTGACAA
ACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACAGTGTCTACAATGGTTCGGTACAAAGGGTTG
CTACCTAGCGATAGGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTA
GTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTAACGCAACCGCCGTCACACACCGCCGTCACACAGGTGTTGTTGCACCAGAAG
TAGGTAGTCTAACCGCAAGGAGGACGCTTACCACGGTGTGGCCGACGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11378

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGTATAGTTCTTCGGAACCTAGAGACCGG
CGCAGGGTGCGTAACCGCTATGCAATCTACCTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTGGATTAAATACCTCATAGTATAATTGAA
TGGCATCATTTAATTATTAAAGTCACAACGGTGAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGCTTGTGGTAAAGTAACGGCTTACCAAGGCA
ACGATGGGTAGGGTCTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGACCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCTGAGGAATA
TTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACCAGCCATGCCGCGTGCAGGATGAGGGTCCATGGATTGTAAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAA
CACTGGTTCTGTGAACACTGACGCTTACGGTACTGTAAAGATAAGCATGCGGTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAACTGAGGAGTAAA
GCGTTATCCGGAATCATTTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTGACAGTAAGTCAGTGGTGAAGGCCATCGCTCAACGGTGGAAACGGCC
ATTGATACCTGTCTGACTTGAATTATTAGGAAGTAAGTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAAT
TGCGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGGATGATACCTAGCTGTGTTGGGAGCAATCTCAGTGGCTAAGCGAAAGTATAAGTATCCACTTGGGGAGTACGTTGCGCAAGAA
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTT
AAATGTAGATTGACCGGTTTGAAACAGATCTTTCGCAAGACAATTTACAAGGT

s11379a

AGTTTGATCATGGCTCAGAATGAACGTTGGCGGCGTGGATTAGGTCATGCAAGTCGAGCGGAACCTCGCAAGAGGTAAGAGCGGGCAA
AGGGAGAGTAACCGGTAGGTATCTACCCATGGGTCTGGGATAGCGGCGGAAACTGCCGGTAATACCAGATAACGTCCTCCGGACCAAAA
GGTGTGATTCCACCTGTGGAGGAGCCTACGGCCTATTAGCTAGTTGGCAGGGTAACGGCCTACCAAGGCTTGGATGGGTACGGGGTGT
GAGAGCATGCCCCCGCTCACTGGGACTGAGACACTGCCAGACACCTACGGGTGGCTGCAGTCGAGAATCTTCGGCAATGGGGCGCAAG
CCTGACCGAGCGACCGCGGTGCGGGATGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAACCGCTGTCGTAGGGAATGAAACGCTAGGTGAGTTATCTCAT
CTATTTGACTGAACCTAGGAGGAAGGGCCGGCTAATCTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGAGGCCCAACAGCTTATTCGGATTTA
CTGGGCTTAAAGAGTTCTGATGGCGGCACGGAAAGTGGGGTGTGAAATCCCTCGGCTCAACCGAGGAACCTGCGCTCCAACTATCGTGC
TAGAGGGGGATAGAGGTAAGCGGAACCTGATGGTGGAGCGGTGAAATGCGTTGATATCATCAGGAACACCGGAGGCGAAGGCGGCTTAC
TGGGTCCTTTCTGACGCTGAGGAACGAAAGCTAGGGGAGCAACAGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTTAGCCCTAAACCGTGAGCAACT
GGACCGGAGCTCTGCACAGGGTTTCGGTTCGTAGCGAAAGTGTTAAGTGTCTCCGCCTGGGGAGTATGGTTCGCAAGGCTGAAACTCAAG
GAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGAAGAACCTTATCTAGTCTTGATATGCTTAA
GAACCTTCTCGAAAGGGAGGGGTGCCCGCA

s11379b

GGGAGCTTTTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTGCTGAGTGTGCTGAGATGTGAGTTAAGTCTTATAACGAGCGCAACCCCTATT
GTTAGTTGCCAGCGGGTCATGCCGGGAACCTCAACAAGACTGCCAGTGCAAACTGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCACG
GCCCTTACGTCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGCGGTACAGAGAGCAGCCACTACGCAAGTAGGCGCGAATCTTCAAACCCGTT
CTCAGTTCCGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGTGAAGCTGGATTTCGTAGTAATCGCATATCAGCCATGATGCGGTGAATACGTTT
CCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGCTGGGGGTACTGGAAGTCGGTGACCGCAAGGAGCTGCCTAGGGTAAAACCTG
GTAACCTGGGGCTAAGTCGTAACAAGGTA

s11380

AGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCT
GATCCAGCATGCCGCGTGGGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTCCGGAAGAAAGACGCGGATTAATACCCTCGT
GTGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTA
CTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTGCCTTAAGTCTGTGCTGAAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAATGCGATGAGTACTGGCGCGC
TAGAGTAGGTTAGAGGAGAGTGAATTCCTGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACACTAGTTGCGAAGGCGGCTCTC
TGGAACCTACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCAGCCCTAAACCGATGCGCAACT
GGACGTTGGGCTCAATTAGGAGCTCAGTGTGCGAGCTAACCGTTAAGTTCCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAA
AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGCAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACG
GAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGCTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGT
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTAGTTGCCAGCAGCTAATGGTGGGAACCTTAAGGAGACTGCCCGGTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTACTACAATGGTGGGGACAGAGGGTCGCGAAGCC
GCCAGGTGGAGCCAATCCAGAAACCCTATCTTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG
CGGATCAGCATTGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGACCAGAAAGCAGGT
AGCTTAACCGTAAGGGGGGCGCTTGCCACGGTGTGGCCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11384

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAATCAACGCTGGCGGCGTGCTCAGACATGCAAGTCGAACGATTAAAGCTCTCTTCGGAGAGTGCATA
GAGTGGCGCACGGGTGAGTAACACGTAAGTAATCTACCTCTGAGTGGGGAATAACGTCGGAACCGGACGCTAATACCGCATTAATGCA
CGGCACCGCAAGGTGACAGTTGTAAAGATTTATCGCTTGGAGAGGAGCTTGCGGCAGATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAATGGCTTAC
CAAGGCTACGATCTGTAACCGGTCTTAGAGGACGGTCCGTACACTGACACTGAATAACGGGTGAGTCTTACGGGAGGCAGCAGTC
GGGAATTTTGGGCGATGGGCGAAAGCCTGACCCAGCAACGCCGCGTGAAGGATGAAGTATTTCCGTATGTAACCTTCGAAAGAATGGG
AAGAATAAATGACGGTACCATTTATAAGGTCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGACCAAGCGTTGTTCCGAT
TTACTGGGCGTAAGGGGCGGTAGGCGGCGTGGTAAGTCACTTGTGAAATCTCTGAGCTTAACCTCAGAACGGCCAAAGTACTGCTG
TGCTAGAGTGCAGAAGGGGCGAGTCGGAATTTTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCAAGAGGAACACCTGAGGTGAAGACGGGT
TGCTGGGCTGACACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGCAACCGGATTAGATACCCCGTAGTCTGGCCCTAAACGATGAAT
ACTTGGTGTCTGGAGTTATTAGTGCTCCGGGTGCCGTGCTAACGTTTTTGTAGTATTCGCCCTGGGGAGTACGCTCGCAAGAGTGAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTACCTAGGCTGAAGTGT
GAGGGAAGTCTGCGTAACAGCAGGCGTCTGGGAAACCAGACCCAAAACAAGGTGCTGCATGGCTGCTGCTGAGTCTGCTGCTGAGATG

TTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTGATAGTTGCTAACATTAAAGTTGAGAACTCTATCAAGACTGCTGTTGATAAAAC
GGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCTTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAAAACGTGCGAA
TCCCGTAAGGGGAGCTAATCGCAAAAACCGGTCTCAGTTTCGGATTGAAGTCTGCAAACTCGAATTCATGAAGTTGGAAATCGTACGTAA
TCGCGGATCAGAACGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGATACACCCCGCTCACATCACGAAAGTAGGTTGTAAGTAG
CTGGGCCAACTCGCAAGAGAGGAGGTTACCACGGTATGATTTATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11385

GGAAGTACGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGAGCAGTGGGGAATTGTTTCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGACGCAACGCCCGGT
GGAGGATGAAGGTCTTCGGATTGTAAACTCCTGTTGATCGGGACGAAAAGCTCCAACCTAATACGTTGGAGACTGACGGTACCGGTTG
AGGAAGCCACGGTAACTCTGTGCCAGCAGCCCGGTAAATACAGAGGTGCAAGCGTTGTTTCGGAACTACTGGGCGTAAAGGGCGCGT
AGGCGGCCCTTCTAAGTCGACGTGAAAGCCCCAGGCTTAACCTGGGAAGTGCCTGCTGATACTGGGAGGCTTGGATTTCGGGAGAGGGAT
GTGGAATTCGAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGCATCCTGGACCGAGATCGTACGCTG
AGGCGCGAAAGCTAGGGGAGCAACCGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTAGCCCTAAACGATGAGTGCCTTGGTGTGGCGGGTATCGAT
CCCTGCCGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAAATGACGGGGGCCCG
CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAATTGACGCAACCGCAAGAACCTTACCTGGGCTTGAAGTGTAGATGACATCCGGCGAAAGTTCG
GCTTCGCAAGGACATCTGCAGAGGTGCTGCATGGCTGCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAA
CCCTCGTCTCTGTTGCCATCAGGTTATGCTGGGCACCTCGGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAG
TCAGCATGGCCTTTATGTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGTGCGGTACAAAGCGTTCGCAAGCCCGCAGGGGTGAGCTAATCGCAG
AAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGGTGA
ATAGATTCGCGGGCTTGTACACACCCCGCTCACATCGAGTGGCTGTACTAGAAAGTAAGTCTGCTCCAACCCGCAAGGGAGGAA
GGTTCCTAAGGTATGGTTAGTGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11389

AAAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGTATAGTTCTTCGGAACTAGGGACCGG
CGCAGGGTGCCTAACCGGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATAATTGAA
TGGCATCATTTAATTATTAAGTCACAACGGTGAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGCTTGTGTTGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCA
ACGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGAAGGATA
TTGGTCAATGGGCGCAAGCCTGAACAGCCATGCCGCGTGACAGGATGACGGTCCATGGATTGTAAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAA
CTTGGTTGCTGAACAGCTTACGGTACTGTAAGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGATCCAA
GCCTTATCCGGAATCATTTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCGGTGAGATAAGTCAGTGGTGAAGGCCATCGCTCAACGGTGAACGGCC
ATTGATACTGTCTGACTTGAATTTATAGGAAGTAAGTGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAGATTACATGGAATACCAAT
TGCGAAGGCAGGTTACTACTAATGGATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGTAGCGAAGCAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCG
CTAAACGATGCGAAGTGGACGTTGGGCTCAATTAGGAGCTCAGTGTGCAAGCTAACGCGTTAAGTTTCGCCCGCTGGGGAGTACGGTGC
CAAGACTGAAACTCAAAGGAAATGACGGGGGCCCGCACAGCGGTGGATCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGCAAAACCTTACCT
GGGTTTGACATCCTCGGACCGCGGTAGAAATACGGTTTTTGTAGCAATACAACCGAGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCG
TGTGGTGACATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTTAGTTGCCAGCGGATAATGCCGGGGACTCTAAAGAACT
GCCAGCGCAAGCTGAGAGGAAGCGGGGACGACGTCAAGTCATACCGCCCTTACGTCTGGGCCACACAGCTGTACAATGGTAGGT
ACAGAGGCGAGCTACCCCGCAGGGGATGCGAATCTCTAAAGCCTATCTCAGTTTCGGATTGGAGTCTGCAACT

s11390

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTAGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGTATAGTTCTTCGGAACTAGAGACCGG
CGCAGGGTGCCTAACCGGTATGCAATCTACCTTTCACAGAGGGATAGCCAGAGAAATTTGGATTAAATACCTCATAGTATTATAGAG
TGGCATCACTTTTATAATTAAAGTCACAACGGTGAAGATGAGCATGCGTCCCATTAGCTAGTTGGTAAAGTAAACGGCTTACCAAGGCA
ACGATGGGTAGGGTCTGAGAGGGAGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGAAGGATA
TTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGACAGGATGACGGTCCATGGATTGTAAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAA
CACTGGTTCGTGAACAGCTTGACGGTACTGTAAGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGATCCAA
GCCTTATCCGGATTTCATTGGGTTTAAAGGGTGCCTAGGCGGAACGATAGTGGTGAAGGCCCTCAGCTTAAGTGAAGGATGCC
ATTGATACTGTCTGATCTTGAAGTACATTTGATGTGGCGGAATGTGTCTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATGACACAGAACCCGAT
TGCGAAGGCAGCTCACAAAACCTGTAAGTACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGTATCAAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCT
GTAACATATGATTACTCGATGTTTGGGATACACTGTAAGCGCTTAAGCGAAAGCGATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGCTCGCAAG
AGTGAACCTCAAAGGAAATGACGGGGGCCCGCACAGCGGAGGATATGTGGTTTAAATTCGATGATACCGGAGGACCTTACCTGGGC
TTGAAAGTTAGTGACCGTTCTTGAAGGGAATTTCCCGCAAGGGCACGAAACTAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGCCGTGA
GGTGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCATAGTTGCCAGCAGTAATGGTGGGAACTCTAGTGAAGTCTCCCGCGC
AAGCGGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCACGCGCTTACGTCCAGGGCTACACAGTACTACAATGGCAAGTACAAGGG
TTGCTACATGGTGAATGCTAATCTTAAAGCTTGTCCAGTTTCGGAATGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGTGGATTGCTGCG
TAGTAATCGAAATCAGCAATGTTTCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCCCGCTCAAACAATGGAAGTTGGGAGTATCT
AAAGTCGATAACCGCAAGGAGTGCCTTAGGGTAAACCAGTAAGTGGTGTAAAGTCGTAACAAGGTA

s11392

AAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACGTAGGGTGAAGCGTTGTTTCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGG
TGGTTTGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTCAAACCTGACAAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
GAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACACCCGGACTGATACTGACATGAGG
TGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGCTAAACGATGTCAACTAGCCGTGGGAGCCTTGAGCTC
TTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGCGCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTTGACGGGGGCCCGACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCAATGAACTTTCAGAGATGGATTGGT
GCCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACC
CTTGTCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAAGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
ATCATGGCCCTTACGGCTGGGCTACACAGGTGCTACAATGGGTACATACAGAGGGCCGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCAGAA
AGTGTATCGTAGTCCGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGTCTCGGGTGAAT
ACGTTCCCGGGTCTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGCGGGTTTACCAGAAAGTAGGTAGCTTAACCGCAAGGAGGGCGCTT
ACCACGGTGGGATTCTGTACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11393

CCTTCGGGTGTGAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGTTGTAGATTAATACTCTGCAATTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCG
GCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAAATACAGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTGT
TAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTCAAAACCTGACAAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGAATTTCC
TGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGATATAGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACACCTGGACTGATACCTGACACTGAGGTGCGAAAG
CGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGGC
GCAGCTAACGCATTAAAGTTGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGATTAAGAACTCAAATGAATTCAGGGGGCCCGCACAGCGGTGG
AGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCAATGAACCTTTCAGAGATGGATTGGTGCTCTCGG
GAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAAAGCAGAGCGCAACCCCTGTGCTCT
TAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGC

CCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAAACCGATC
GTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTGCGGGTGAATACGTTCCC
GGCCTTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGT
GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA

s11394

AGAGTTTGATCATGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGGCTGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGCAGGTCTAGTTTACTAGATGCTG
ACGAGTGGCGGACGGCTGAGTAACGCGTGGGAACGTGCCCTAAAGTGAGGGATAACGCACCCGAAAGGTGTGCTAATACCGCATATGAT
CTTCGGATTAAAGAATTTATTTCGCTTTAGGAGCGGCCCGCGTCGGATTAGGTTGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGCCGACGATCC
GTAGCTGTGCTGAGAGGATGACCAGCCAGACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATCTTCCACA
ATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGGGGATGAAGGCCCTTCGGGTCGTAACCCGCTTTTATTAGTGAAGAATATGACGGT
AATTAATGAATAAGGATCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTGCATACGTAGGATCCGAGCGTATCCGGAGTGAATCGGCGCTAAA
GAGTTGCGTAGGTGGTTAGTAAAGCGAATAGTGAATCTGGCGGCTCAACCGTACAGGCTATTATTTCGAACTCACTAACTCGAGAATG
GTAGAGGTAACCTGGAATTTCTTGTGTAGGAGTGAATCCGTAGATATAAAGAAAGGAACACCAATGGCGTAGGCAGGTTACTGGACCATT
TCTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCGAACCCGATTAGATACCCGGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTGG
TATTTCCCTTAAGGATCGGCTAAGCTAACGCGTTAAGCTTCCGCTTGAAGTACGGTTCGAGTACGGTCAAGAGCTAAACCATAAAGGCAATGGA
CGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATCGTGTCTTTAATTCGATGCTAAACGAAGAACCCTTACCAGGGTTTGACATCCTTGGAATCTCTG
CGAAAGTAGAGAGTGCTTTATTGAACCAAGTGACAGGTGATGCAATGGCCGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTTGGTTAAGTCCAT
CAACGAGCGCAACCCTTGTGAATAGTTGTATTTTTCTATTTCAGACTGCCCGGTAAACGGGGAGGAAGGAGGGGATGATGTCAGGTGAG
TATTTCCCTTACCTGGGCTAGAAACACGATACAATGCAATGCGCAGCAGCAAGCCGAGGCTAGGAGTGAATCGGAGGCTAAACG
GCTAGTCCCAGTTTCGGATTGGAGGCTGAAACTCGCCTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAAGCTGCGGTGAATA
CGTTCGCCGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAAACCATGAAAGTGACCAACACCCGAAGTCCGATTTCGTGCGCCTAAGGTGGGGGGCAT
GATTGGGGTTAAGTCGTAACAAGGTA

s11395

AGAGTTTGATCATGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGGCGCCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAGAAGGTGTAGCAATACACTTGTAAAG
CGCGAACCGGGTGAGGAACACATGGGTAACTACCATCGAGTGGGGAATAACACGCCGAAAGGTTGGCTAATACCGCGTAGCCCTCCG
AGTCTTCGGATTTCGGAGGGAAAGCCACGCTGAGAGTGTGGCGCTCTTTGATGGGCTCATGTCCTATCAGCTTGTGGTAGGGTAACGG
CCTTACCAAGCCTTTGACGGGTAGCTGCTGAGAGGACGCTGAGCAACTGCGCAGCTGCGACACGGGCTAGGAGTGAATCGGAGGAGCAG
CAGTAAGGAATATTGCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGAAGGTCTTCGGATTGTAAACCCCTTTTCGG
GAGGGAAGATGGGACGAGCAATCGTTTCGGACGGTACCTCCAGAAGCAGCCACGGCCAACCTTCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGAAG
GTGGCAAGCGTTGTTTCGGATTCT

s13202

CCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCC
GCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACCGGGAGAACCCTTACC
AGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGT
GTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGTAACGAGCGCAACCTTGTCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCGCTCTAAGGAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTA
CAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTC
GGAGTCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGT
TGACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACAGTGTGATTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13207

GTAGTCCCGCCGTAAACTATGGGTGCTAGCCGTCGGATAGCTTGTCTATTCGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGCACCCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACCGCGCAG
AACCTTACCACCTTTTGACATGCTTACTGATCGTTTCCAGAGATGATTATCCACGAATGGGCAATAGGACAGGTGCTGCATGGCTGTG
CGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCATTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTA
GTGGGACTGCCGCTGATAGCCCGGGGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCGCCCTTATGTGCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCGGTGACAGTGGGCAGCTACACAGCGATGTGATGCTAACCTCAAAAAGCCGCTCTCAGTTTCGGATTGGACTCTGCAACTCGAGTGC
ATGAAGTCGGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAACCGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGT
GAGTTGGTTTTTACC CGAAGACGATGTGCTAACCGCAAGGAGGCAGTCGGCCACGGTAAGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG
GTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13209

GTAGTCCCGCCGTAAACGATGATTGCTAGTTGTGCGGGATGCATGCATTTCGGTGACGCAGCTAACGCATTAAGCAATCCGCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACCGCGCAG
AACCTTACCACCTTTTGACATGCTTGGACCGCCACGGAGACGTGCGCTTCCCTTCGGGGACTAGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTG
TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCATTAGTTGCCATCATTAGTTGGGAACCTCTAAT
GGGACTGCGGCTGCTAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGCGCCCTTACAGGTTGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCGACTACAGAGGGTTAATCCTTAAAAGTCGTCTCAGTTTCGGATTGTCTCTGCAACTCGAGGGCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAAGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTACCCGAAGGCGC
TGCGCTGACCGCAAGGGGGCAGGCGACCAGGTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGC
TGGATCACCTC

s13210

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGATTGCTAGTTGTGCGGGAAGCTTGTCTTCGGTGACGCAGCTAACGCATTAAGCAATCCGCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACCGCGCAG
AACCTTACCACCTTTTGACATGCTTGGACCGCCACGGAGACGTGCGCTTCCCTTCGGGGACTAGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTG
TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCATTAGTTGCCATCATTAGTTGGGAACCTCTAAT
GGGACTGCGCGGTGCTAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGCGCCCTTACAGGTTGGGCTACACACGTGCTACAATG
GCGACTACAGAGGGTTAATCCTTAAAAGTCGTCTCAGTTTCGGATTGTCTCTGCAACTCGAGGGCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGATCAGCAAGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTTTACCCGAAGGCGC
TGCGCTGACCGCAAGGGGGCAGGCGACCAGGTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGC
TGGATCACCTC

s13212

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGATAACTAGTTGTTTCGGGCACCTTGGTGCTTGAGTGACGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACCGCGCA
GAACCTTACCAACGTTTCGACATGTCTAGTATGGTTTCCAGAGATGGATTCTTCAGTTTCGGCTGGCTAGAACACAGGTGCTGCATGGC
GTGCTGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCATCCCTAGTTTCGCGAGCTTAAGTTGGGCAC
CCAGGGAACTGCCGCTGATAAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGCGCCCTTACGCGTTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAAACTCGCGAGAGTGAGCTAATCTCCAAAAGCCGCTCTCAGTTTCGGATCGTTCTCTGCAACTCGAG

AGCGTGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTGTACACACCGCCCGTCGCACCAT
GGGAGTTGGTTTCACCCGAAGGCAGTGCCTTAACCCGCAAGGGAGGAAGCTGACCACGGTGGGATCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAA
CAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13214

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGAGCACTAGACCGGAGGACTGCACAGTTTTCGGTCTGTAGCGAAAGTGAAGTGCTCCGCCCTGGGGA
GTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTCAATTTCGAGGCTACGCGAAGA
ACCTTATCCTAGTCTTGACATGCTTTAGAATCCTCCTGAAAGGGAGGAGTGCTCGCAAGAGAGCTTTAGCACAGGTGCTGCATGGCTG
TCGTGAGCTCGTGTCTGAGATGTCTGGTTAAGTCCCTTAAACGAGCGAAACCTTGTCTTAGTTACCAGCGGGTCATGCCGGGAACCT
CTAAGGAGACTGCCGGTGTAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGACTAGGGCTGCACACGTCCTA
CAATGGTACACAAAGCGACGCAAACTCGCAAGAGCCAGCAAAATCGCAAAAATGTACCCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGC
CTGCTGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGATACACACCGCCCGTCAAGCC
ACGAAAGTGGGGGGCGCCCAACAGCACTGTCGTAACCGCAAGGAACAAGGTGCCTAAGGCGAACTCCGTGATTGGGACTAAGTCGTAA
CAGGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13215

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATAGGTACTAGGTAGTAGGTAACATGGGCTTACTGCCGGAGCTAAAGTGCTTAGTACCCCGCTGGGG
AGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTTCGAGGCTACGCGAAG
AACCTTACCTAGGCTTGACATGTGCGAAAGCGGCAGGAAGTAGAACCCGGAACCGGGAGCAACCGTATCCAGTCCGGAACCTTGCACA
GGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTCTGGTTAAGTCCCATAACGAGCGAAACCTTACCATCAGTTGCAATTGG
ACTCTGGTGGGACTGCCGGTGTCAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGACTAGGGCTGCACACGCT
CTACAATAGCGTGAACAAAGGGACGCCAACCCGAGAGGGGGAGCAAAATCCCAAAAAACACGCTCCAGTTTTCAGATCGCAGGCTGCAACT
CGCTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGGTCAGCAACACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGATACACACCGCCCGTCA
AGCCACGAAAGGATGGAGTGCCCGAAGTCGCCTTTACC GGCGCCGAAGGCAATACGTCTGATTGGGACTAAGTCGTAACAAGGTAACC
GTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13217

TACGGTCGCAAGGCTGAGACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAATTTCGACGCAACGCGAAGAA
CCTTACCTGGGCTCGAAGTGACAGATGACCATCGGCGAAAGTGCAGCTTCCGCAAGGACATCTGTATAGGTGCTGCATGGCTGTCTCAG
CTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCTTGTTCCTGTTGCGCATCAGGTAAAGCTGGGCACCTCGGAGA
GACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTTATGTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGC
CGATACAAGCGTTGCAAACTCGCGAGGGTGAGCTAATCGCATAAAGTCGGTCTCAGTTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCTGCTATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCGTGCCCGGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCGTCACATCACGAAAG
CTGGCTGTACTAGAAATCGCTACGCTAACCCGCAAGGGGGCAGGCGCTTAAGGTGTGGTCAGTGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGG
TAGCTGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13218

GTANTCCCGCCGTAAACGATGGACACTAGGTGTTGGTGGTATCAACCCACCAGTGCAGGAAAGCTAACGCATTAAGTGTCCTCCGCTGG
GGAGTACGCGCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCTGGGGTTTAATTTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCAAGGCTTGACATGACCAGGAATCCGGCGGAAACGTCGGCGCCCCGCAAGGGGCCCTGGCCACAGGTGTTGCATGGCTG
TCGTGAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCGTGTGTTGTATCACTCACACGAGACTGCCG
AGAGAAACTCGGAGGAAGCGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGCTCTTGGGCTACACCCACGCTACAATGGCCGGTACAA
CGGCGGGGAAACCGGAGGTGGAGCAAAATCCCTTAAAGCCGGTTCAGTTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCTACATGAAGCGGCA
GTTGCTAGTAACCGCCGGTCAGCATACGGCGGTGAATATGTTCCCGGGCTTGATACACACCGCCCGTCAGCTCATGAAAGCTGGCAAC
ACCCGAAGCCGGTGGGCCAACCCGAGGGGAGGACCGCTCGAAGGTGGGGTCGGTGAATGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
CCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTC

s13222

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGAATACTTGGTGTCTGGAATATTAAGTTCTGGGTGCCGTGCTAACGTTTAAAGTATTCGCGCTGG
GGAGTACGCTCGCAAGAGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGACGCAACGCGA
AGAACCTTACCTAGGCTAGAATGTGAGGGAAGAGAGGGTAATTCGATCGCTTGGGAAACAGACCCAAACAAGGTGCTGCATGGCT
GTCTGACGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCAACAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACCTC
TGTTGAGACTGCCGTTGATAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCTTAGGGCTACACAGCTGCTAC
AATGGATGGTACAAAACGTCGCAATCCCGTAAGGGGGAGCTAATCGCAAAAACCATTTCTCAGTTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACT
TCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATCGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGATACACACCGCCCGTCACATCAC
GAAAGTAGGTTGTACTAGAAGTAGGAGGGCTAATCGCAAGAGAGGCATCTTACCACGGTATGATTATGATTGGTGTGAAGTCGTAA
CAAGGTAGCTGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13223

GGCTGTAAACGATGGATGCTAGGCGTTGGCAGACTCAATCCTGTCCGCGCCGAAGTTAACACGATAAGCATCCCGCCTGGGAAGTACG
ACCGCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCTACACGAAGAACCTT
ACCCGGACTTGACATACTAGTGGTAGAGAGAAGAAATTTAATCGACCCGCAAGGGAGCTAATACAGGTGTTGCTACGCTGCTGCTAGC
TCGTGCTGTGAGATGTTCTGTTAAGTACGCTAACGAGCGCAACCCCTATTGCCAGTTACAAGTGTCTGGCGAGACTGCCGGCCGCAAG
CCGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTATGTCCGGGGCTACACACGCTACAATGGGATGGAACATGGGAAG
CCAAGCCGCGAGGCGGAGCAATCCTAGTAAACATTCTCAGTTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTTGGAGTTGCT
AGTAAACGCGCGCTCAGCTATAGTGCCTTGAATACGTTCCCGGGTCTTGATACACACCGCCCGTCACACTGTGGGAGCTGGTAACACCTA
AAGACATTGGCTTAAACCGCAAGGAGAGTAATGTTTAGGGTGGGGTCGGTGAAGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCTGTACGGGAAC
GTGCGGCTGGATCACCTC

s13224

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGGGTACTCGGTGTGCGGGGAATCAACCCCGCGGTGCCTTAGCTAACCGGTTAAGTACCCCGCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGGCTCGAACGGTGGTGGACAACCGTGGAACACGGTCTCCTCTTCGGAGGTGCGCATCGAGGTGCTGCATGGCTG
TCGTGAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTCTAGTTGCCAGCGAGTCAAGTCGGGCACT
CTAGAGGCTGCTCGGAAATCGGAAATCGAGGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTATGTCCGGGGCTACACACGCTACA
CAATGGGCGGTACAAAGGGTTGCAAGCCGCGAGGCAGAGCTAATCTCAAAAAACCGTCCTCAGTTTCGGATTGCAGTCTGCAACTCGA
CTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCCCGGATCAGCACGCGGGGTGA

s13226

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGAGTGCTTGGTGTGGCGGTATCGATCCCTGCCGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAATTTCGACGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGGCTTGAACCTGATGATGACATCCGGCGAAAGTCGGCTTCCGCAAGGACATCTGCAGAGTGCTGCATGGCTGTCTG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTCTGTTGCCATCAGGTTATGCTGGGCACCTG
AGGAGACTGCCGGTGATAAACCAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTATGTGCCAGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTTCGGTACAAAGCGTCGCAAGCCCGGAGGGTGAGCTAATCGCAGAAAGCCGGTCTCAGCTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTG

CATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACATCACG
AAAGCTGGCTGTACTAGAACTAAGTCTCAACCCGCAAGGGAGGAAGGTTCTAAGGTATGGTTAGTGATTGGGGTGAAGTCGTAAAC
AAGGTAGCTGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13227

CCGTAAACGATGAGCACTAGTCTGAGGGACTCTCACAGTTTCTCGGACGTAGCGAAAGTGTTAAGTGCTCCGCCCTGGGGAGTATGGTC
GCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGAAGAACCTTATC
CTAGTCTTGACATGCTTAAGAATCTGACTGAAAGGTTGGAGTGCCCGCAAGGGAGCTTTTGACAGGTTGCTGCATGGCTGTCTGCACG
TCGTGCTGTGAGATGTCTGGGTTAAGTCCCTTAACGAGCGAAACCTTATCTCTAGTTGCCACGGGTTCATGCCGGGACTCTAGAGAG
ACTGCCGTTGTTAAACCGGAGGAAGGTGGGTATGACGTCAAGTCTCATGGCTTATGATTAGGCTGCACACGCTCTACAATGC
CATACAAAGGGAACCGAAACCGCGAGGTCAAGGAAATCTCAAAAGTGTTGCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGA
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGACACACCGCCCGTCAAGCCACGAGAAT
TGGGAGGGCCCCGAAGTCGTGAGCGAACCGCAAGGACGCGAGGCGCCGAAGGTGACGTTGATAATGGGACTAAGTCGTAACAAGGTAG
CCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13228

GTAGTCTCGGCCGTAAACGATGAGCACTAGCCCCGTGGGGACTCTCACATCTCTCGGGCGTAGCGAAAGTGTTAAGTGCTCCGCCCTGG
GGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGA
AGAACCTTATCTTAGTCTTGACATGCTTAGGAATCTGACTGAAAGGTGCGAGTGCCCTTCGGGGAGCCTTTGACAGGTTGCTGCATGG
CTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTCTGTGTTAAGTCCCTTAACGAGCGAAACCTTGTCCCTAGTTGCCAGCGAGTAAAGTCGGGG
ACTCTAGGAGACTAGTAATCGCGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGACACACCGCCCGTCAAGCCACGAGAAT
CTACAATCGGGCATACAAAGGGACGCAACCCGTGAGGGGGAGCAAACTCAAAAAGTGTCGCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACT
CGCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGACACACCGCCCGTCAA
GCCACGAAAGTTGGGAGGGCCCCGAAGTCGTGAGCAACCGCAAGGTCGAGGCGCCGAAGGTCAACTTGACAATTGGGACTAAGTCG
TAACAAGGTAGCCGTAGGGGACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13232

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGTGAGCTAGATGTTTACAGAGGCGCAAGCCGTGCGGGTATCGAAGCAAACGCGATAAGCTGACCGCCT
GGGGAGTACGGTCGCAAGGCTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCGTGTGGTTTAATTCGAGGCTACAC
GAAGAACCTTACCTGGGTTGACATATACGTGGTGTGAGTGAATGAAAGGGAACGACCTTCGGGAGCGTATACAGGTGCTGCATGGCTG
TCGTGCTGAGCTCGTGTCTGAGATGTCTGTGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCCTGGTGCTAGTTACACGTGTCTAGCGCAACTGCCC
GTGAGAAACCGGGAGGAAGGTGGGGACGAGTCAAGTCAGCATGGCTTTATATCCAGGGCTACACACACGTACATGGGCGGTACAA
TGGGTCGCGAAACCGCGAGGTGGAGCCAATCTAAAAAGCCGTTCTGAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGA
GTTGCTAGTAACGAGCTCAGCTATACCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGACACACCGCCCGTACAGTTCAGGAGCTGGTCA
CGCTGAAGTCGGGAAGCTAACTGCAAAGAGGCTACCGCCGAGGCGAGGCGCGGTGACTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCTGTAC
CGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13233

GTAGTCCCGGCTGTAAACGATGAATGCCAGCTGTGCGGTGCTTGACACCTCAGTAGCGCAGCTAACGCTTTAAGCATTCGCCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCATCCCTTGACATGGCATGTTACCCGAGAGATTGCGGGTCCACTTCGGTGGCGTGACGCGAGGTGCTGCATGGCTGTCTG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCACGTCTTAGTTGCCATCATTTCAGTTGGGCACTCTAGG
GAGACTGCGGTTAAGCCGCAAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACGGGATGGCTACACAGGTGCTGCAATCAAT
GGCGGTGGCAGTGGGACGCGAAGGAGCGATCTGGAGCAAATCCCCAAAAACCGTCTCAGTTCAGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCA
TGAAGGCGGAATCGCTAATAATCGTGGATCAGCATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGACACACCGCCCGTACACCATGGG
AGTTGGTCTTACCCGACGCGCTGCGCCAACCGCAAGGAGGCGAGGCGACACGCTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGG
TAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13234

GTAGTCTCGGCCGTAAACGATGGGCACTAGGTGTAGCGGTTATTGACCCCTGCTGTGCCGAAGTTAACGCATTAAGTGCCCCGCCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGACGCAACGCGA
AGAACCTTACCTGGGCTTGACATCCCTTGACCGTCTATGAAAGTAGGCTTTCTTTTCGGGACAAGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTTAGTTGCCAGTATTAAAGTTGGGCACTTA
AAGATACTGCCTCGGTTAACGGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTATGCCAGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGGCGGTACAAACCGTTGCAATCCCGCGAGGGGGAGCTAATCCGAAAAAGCCGCTCAGTTCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTC
CGTGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGACACACCGCCCGTACACACG
AAAGTTGGTTGTACCAGAAGTGCGTGAGCTAATCCGTTTCGGCGGAAGGCGAGCGCCCTAAGGTGTGGCTGATAATTGGGGTGAAGTCG
TAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13236

GTAGTCTCGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCCGGCTCTCAGAGCTTGGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACAGCGTTTGACATCCCTTGACCGTCTATGAAAGTAGGCTTTCTTTTCGGGACAAGGAGACAGGTGCTGCATGGCTGT
TGTCGTGAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACT
CTAAGGAAACTGCCGTTGATAAGCCGAGGAAGGTGGGCATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACACGCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCGGTGACAGTGGGCGAGCAACCCCTGCGAGGGGTAGCTAATCTCCAAAAACCGTCTCAGTTCCGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTGACACACCGCCCGTACACCA
TGGGATTTGGATTACCCGAAGGCGAGTGCCTAACCAGGAGGAGCGAGTGACCAGGTGGGTTTAGAGACTGGGGTGAAGTCGTAAC
AAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13237

GGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCTGCACAA
GCCGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCGTTTGACATCCCGCGCTAACCCGAAGAGATTGGGTGTTC
CTTTCGGGGACCGGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TCGTCTTAGTTGCCATCATTTAGTTAGGTAAGTCAAGGAAACCGCGGTGATAAGCCGAGGAGGTGGGATGACGTCAAGTCTC
ATGGCCCTTACACGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGGTGACAGTGGGCGACCCCTCGCGAGAGGGAGCTAATCCCAAAAGC
CGTCTCAGTTCCGATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGT
TCCCAGGCCCTTGACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTTGGGTTACCCGAAGGCGTTGCGCTAACTCGCAAGAGAGGCGAGGCGAC
CAGGTGGGCTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13238

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCTGGTACTTGGTACTTAGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCTGCACAAGCAGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAGCGTTTGGCATGTCCGACGATTTCAGAGATGATCTCTCCCTTCGGGACTGGAACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTTCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCTTTAGTTACCATCATTTCAGTTGGGCACTTA

AAGGAACCGCCCGTGATAAGCCGAGGAAGGTGGGGATGACGCCAAGTCCTCATGGCCCTTACGCGCTGGGCTACACACGCTGTACAA
TGGAACCTACAGTGGGCAGCAATCCCGCAGGGGTGAGCTAATCTCCAAAAGTTGTCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGC
ATGAAGGCGGAATTCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGG
GAGTTGGATTACCCGAAGGCGTTGCGCTAACTCGCAAGAGAGGCGAGCGACCACGGTGGGTTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13239

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGAGAACTAGATAGCGAGGGTGACATGCCCCCGCTGTCGGAGCAAAAGTGTAAAGTTCTCCGCTGGG
GAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTCAATTCGAGGCTACGCGAA
GAACCTTATCCTGGACTTGACATATGCGAAAGCGCTAGCAAGTACCCTGCGGAAACGTTAGGGGAACGGTATCCAGTCCGGAAGCTAG
TACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTCGGGTTAAGTCCCATAAACGAGCGAAACCCCTTGCCCTTTAGTTGCCA
GCGGTAAGACCGCGGCACTCTAGAGGACTGCCGCTGATCAAAACGGAGGAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGTC
CAGGGCTGCACACGTGCTACAATGCCGTGGTACAAGGGATGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAAAAAACAGCGCCAGTTCA
GATCGAAGGCTGCAACTCGCCTTCGTGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTGAGCAACACTGCGGTGAATGTGTTCTCGAGCCTT
GTACACACCGCCCGTCAAGCCACGAAAGGGAGGGACGTCCGAAGTCGCCCTTTACCGGTGCCGAAGACGGACTTTCTGATTGGGACTAA
GTGTAACAAGGTAACCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13240

GTAGTCCCGGCTGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTAGACCGCCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAA
GAACCTTAGAGACTGCCGCTTGACATAGTAAGAACTTCCAGAGCTGATTGGTGCCTTCGGAACCTTACATACAGTCTGCTGCATGGCTGCT
GTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTTTCCTTATTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTTT
AAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACACAGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGTCGGTACAAGGGTTGCTACCACGCGAGTGGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACT
CCATGAATCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCGCGGTGAATCAAGTTCGCCGGCCTTGATACACACCGCCGTCACACCAT
GGGAGTTTGTGACCAGAAGTAGGTAGTCTAACCGCAAGGAGGACGCTTACCACGGTGTGGCAGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13241

GTAGTCCCTGGCCGTAAACGATGAGCACTAGCCCGTGGGGACTCTCACATCCTCTCGGGCTAGCGAAAGTGTTAAGTGCTCCGCTGG
GGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGA
AGAACCTTATCCTAGTCTTGACATGCTTAAAGAACCTTTCTGAAAGGAGAGGGTGCCCTTCGGGGAGCTTTTGACACAGGTGCTGCATGG
CTGTGCGCAGACTCGTGTGAGATGTCGGGTTAAGTCCCTTAACGAGCGAAACCCCTTGCTCTAGTTGCCAGCGAGTAAAGTCGGGG
ACTCTAGAGAGACTGCCGCTGTTAAACCGGAGGAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGATTAGGGCTGCACACGT
CTACAATCGGCATACAAGGGGAAGCAAAACCCGTGAGGGGGAGCAAAACCCCAAAAAGTGTGCTCAGTTGCGATTGCGAGCTGCAACT
CGCTGCTGAAGTGAATCGCTAGTAATCGCGGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGATACACACCGCCCGTCAA
GCCACGAAAGTTGGGAGGGCCCGAAGTCGCTGAGCAACCGCAAGGGTGAGGCGCCGAAGGTGAGCTGACGATTGGGACTAAGTCG
TAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13242

GTAGTCCCTGGCCGTAAACACTGAACACTCGAGGAGGGGGGCTTCGGCCTTCTTTCTCTTAGCGAAAGCGTTAAGTGTTCGCTGGG
AGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTCGAGGCAACGCGAAG
AACCTTATCCTAGTCTTGACATGCTGGAATCAACCCGATGAAAGTCGGGGCCACATCGCAAGAGCGGAACATGCACAGTGTGCTGATG
CTGTGCTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTCGCGTTAAGTCGCTAAACGAGCGAAACCCCTATCCTTAGTTGCCAGCGAGTATGTCGGG
GACTCTAGGGAGACTGCCGCTGTCAAACCGGAGGAAGGCGGGGATGACGACAAGTCCCTCATGGCCTTTATGCCAGGGCTGCACACGT
GCTACAATGGGGCGTACAAGCGCCGCTAAGTCGCGAGACCAACGCTAATCGCAAAAAGCGTCCCCAGTACGGATTGCGAGCTGCAAC
TCGCTGCTGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCCGATCAGCATTCGCGCGGTGAATGTGTTCTGAGCCTTGATACACACCGCCCGTCA
AAGCCAGAAAGCGGGGGCATCCGAAGTCGCCGAGCTAACCGCAAGGGAGCAGGTGCCGAAGATGAACTCCGTGATTGGGACTAAGTC
CGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13244

GTAGTCCCTGGCCGTAAACGATGAGCACTAGATGGAAGGGTCTCCATAACCTTTCCATCGAAGCGAAAGTAAATTAGTGCTCCGCTGG
GGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGA
AGAACCTTATCCTAGTCTTGACATGCTGGAATTAACCCGATGAAAGCGGGCCACGCTTCGGGAGGAACATGCACAGGTGCTGCATG
GCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTCGGGTTAAGTCCCTTAACGAGCGAAACCCCTTGCTCACTAGTTGCCAGCGCTAATGGCGGG
GACTCTAGTGAGACTGCCGCTGTTAAACCGGAGGAAGNGGGGATGACGTCAAGTCCCTCATGGCCTTTATGATTAGGGCTGCACACGT
CCTACAATGGCGCACACAAGGGATGCAAACTCGCGAGCAAGTCCCAAAAAATGTGCCCATTCGGATTGCGAGCTGCAAC
TCGCTGCTGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGGTCAGCATACCGCGGTGAATATGTTCTGAGCCTTGATACACACCGCCCGTCA
AGCCACGAAAGTGGGGGTATCCGAAGTCGCCAAGCCAACCGCAAGGGGGCAAGCGCCGAAGATAAACTCCGCGATTGGGACTAAGTC
GTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13246

GGAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGAGCGTGTGGTTTAATTCGAGGCTACACGA
AGAACCTTACCTGGGTTTGACATATAAGTGGTAGTGAAGCGAAAGCGGAACGACCTTCGGGAGCTTATACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTCCGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCCGCGCTTAGTTACAAGTGTCTAACGCAACTGCCCCGT
GAGAAACAGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTTATATCCAGGGCTACACACAGCTACAATGGGCGGTACAGAT
GGTAGCGAAACCGGAGGTGGAGCCAATCCACAAGCCGTTCTGATGTCGATTGTCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAGTT
GCTAGTAACCGCAGGTGAGCTATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGATACACACCGCCCGTCACGTGATGGGAGCTGTACGCC
TGAAGTCGGGGAGCCAACCGAAGGAGCAACCGCCGAGGGCAGGGCTGGTGACTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCTGTACCGGA
AGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13247

TAGTAACGCGCCGAGTGTGCTGGAATTCCGGCTTGGAGGTGATCCAGCCGAGGTTCCCTACGGCTACCTTGTACGACTTACCCCC
AGTCGCTGACCTTACCGTGGTTAGCTGCCTCCTTGCGGTTAGCGCACTACCTTCGGGTAAAACCAACTCCCATGGTGTGACGGGCGGT
GTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACCGCAGCATGCTGATGCGGATTAGAGAGATCTTTTCTCAGTTCGGCTGGATCAGTACAGGTCGATGGC
CAATCCGAAGTGAAGTGGCTTTTGGAGATTAGCTCGACATCGCTGTCTCGCTGCCCACTGTCACCACCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGCCCCGTAAAGGGCCATGAGGACTTGACGTGATCCCCACCTTCTCTCGGCTTATCACCGGCAGTCCCCCTTAGAGTGCCCCAACTAAAT
CTGGGCAACTAAGGGCGAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTG
TTCTGGGGCCAGCCTAATGAAGGACAATGTCTCCACTGCCAAACCCGAATGTCAAGAGCTGGTA

s13248

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCCGGGCACTTGGTGTCTGGGTGGCCGAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCAGGCTTTGACATCCTGATCGCGGATTAGAGAGATCTTTTCTCAGTTCGGCTGGATCAGTGACAGGTCGTCATGGC
TGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACT

CTAAGGAAACCGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCCAGTCCCTCATGGCCCTTACACGCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCCGTGACAGTGGGCAGCCACCCCGCAGAGGGAGCTAATCCCAAAAGCCGTCTCAGTTCCGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTTGAATACGTTCCAGGCCCTTGTAACACACCGCCCTCACACCA
TGGGAGTTGGATTCACTCGAAGGCGATGAGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGGCGACCACAGTGGGTTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTA
ACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGTTGGATCACCTC

s13249

GTAGTCCTGGCCGTAAACTATGGGTGCTAGCCGTGCGATAGCTTGCTATTCGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGCACCCCGCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGACGCAACGCGAAG
AACCTTACCAGCTCTTGACATTTCTGACTGGTTCCAGAGATGGGATCGTCTAGCAATAGGCAGGAGGACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCATTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACCTCTA
GTGGGACTGCCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTATGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGCGGTGACAGTGGGCAGCTACTCAGCGATGGGAAGCTAATCTCAAAAAGCCGTCTCAGTTCCGATTGGACTCTGCAACTCGAGTCC
ATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGG
GAGTTGGTTTTACCCGAAGACGATGCGCTAACCCGCAAGGAGGCAGTCCGCCACGGTAAGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG
GTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13251

GTAGTCCCAGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCCGGGCTCATGGAGTCTGGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGG
GAGTGCGGTGCGAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGTCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTAAGCGGTTTACATCGCTCATCGCGATTTCAGTGAATTTCTTCAGTTTCGGCTGGATGAGTGACAGGTGCTGCTAGCTGGC
TGTCGTGACGCTCGTGTCTGTGAGATGTCCGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGCACT
CTAAGGAAACCGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACACGCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCGATGACAGTGAGCAGCTAGCCCGCAGGGTCTGCTAATCTCTAAAAGTCGTCTCAGTTCCGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATTAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCA
TGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGCGCTACGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGGCGACCACGGTGGGATCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG
ACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13253

GTAGTCCCAGCCGTAAACGATGAATGCCAGTCGTCCGGTAGCATGCTATTCGGTGACACACCTAACCGATTAAAGCATTCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAACCCCTTGACATGGGTATCGCGGGGCCAGAGATGGTCTTTTCAGTTTCGGCTGGATACCACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTCCGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCACATTTTCAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACCTCTG
GAGAACTGAGCGGTGTTAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGGTTGGGCTACACACGTGCTAGCTA
TGGTGGTGACAATGGGTTAATCCCAAAAAGCCATCTCAGTTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGCGTAACAGCATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGGGAATTGGATCTACCCGAAGGT
GGTGCGCAACCTGCAAAGGAGGCAGCCAACCACGGTAGGTTTCAGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTG
CGGCTGGATCACCTCC

s13255

GTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTGAGCTAGATGTTTCAGAGGGCGCAAGCCGTCCGGGTATCGAAGCAAACCCGATAAGCTGACCGCCT
GGGGAGTACGGTCGCAAGGCTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCGTGTGGTTTAATTCGAGGCTACAC
GAAGAACTTACCTGGGTTTACATACGTGGTAGTGAATGAAAGGGAACGACCTTCGGGAGCGTATACAGGTGCTGCTAGCTAGCTG
TCGTGAGCTCGTGTCCGTGAGGTGTTCCGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGGTGCTAGTTACACGTGTCTAGCGCAACTGCCC
GTGAGAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTTATATCCAGGGCTACACACACGTACAAATGGGCGGTACAA
TGGGTCCGCAAAACCGCAGGTGGAGCCAACTCTAAAAGGCCGTTTCGTAGTTTCGGATTGCAAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGA
GTTGCTAGTAATGTCAGGTCAGCTATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACGTCATGGGAGCTGGTCA
CGCCTGAAGTCGGGAAGCTAACTGCAAAAGAGGCTACCCCGAGGGCAGGGCCGGTGACTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTGGCTGTAC
CGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13257

GTAGTCCCAGCCGTAAACGATGAATGCCAGTCGTCCGGTAGCATGCTATTCGGTGACACACCTAACCGATTAAAGCATTCCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAACCCCTTGACATGGGTATCGCGGGGCCAGAGATGGTCTTTTCAGTTTCGGCTGGATACCACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTCCGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCACATTTTCAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACCTCTG
GAGAAACTGCCGGTGTTAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGGTTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTGGTGACAATGGGTTAATCCCAAAAAGCCATCTCAGTTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGCGTAACAGCATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCATGGGAATTGGATCTACCCGAAGGT
GGTGCGCAACCTGCAAAGGAGGCAGCCAACCACGGTAGGTTTCAGTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTG
CGGCTGGATCACCTCC

s13258

GTAGTCCCAGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTTCCGGATCTACGATCCTGAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAAGCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGTCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCAGCGTTTGACATCCTAATCGCGGTTTTTCAGAGATGATTACCTTCAGTTTCGGCTGGATTAGTGACAGGTGCTGCATGGC
TGTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACT
CTAAGGAAACTGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACACGCTGGGCTACACACGCGCTA
CAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAACCGGGCGACCGGTAGCTAATCTCTAAAACCGCTCTCAGTTCCGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCAGGCCCTTGTAACACACCGCCCGTCACACCA
TGGGATTTGGATTACCCGAAGGCAGTGCCTAACCCGAAGGAGGCAGTGAACACCGGTGGGTTTAGAGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13261

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGGGCACCTGNCNGGGGGGTAACCTATGGTCTCTCTGCCGAAGCAAATGTGCTAAGTGCCCCGCCTG
GGGAGTACGCTCGCAAGGTTAAAACTCAAAGAAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG
AAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCACGGATTAGTCCCATGAAGGTGGGGCAACAGCCCTTCGGGGTCGGAACGTGCACAGGTGTTG
CATGGCTGCCGTGAGTCTGTGCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGAAACCCCTATCATAGTTGCCAGCGGGTCATGC
CGGGAACCTTAGTGAGACTGCCGTTGTTAAGACGAGGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTATGGCCAGGGCGACAC
ACGTGCTACAATGGTCTGTACAAAGGGTTCCAAAACCGCAGGTGAGGCAATCCAAAAGCAGGCCCCAGTTCCGATTGAAGGCTG
CAATTCCGCTTCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCATGGCGCGGTGAATATGTTCTCTGAGCCTTGTAACACACCGCC
CGTCAAGCCACGAAAGCGGGAGCGCTCGAAGTCGCTATGTCCAACCGCAAGGGGACGGTGCCATAAGCAAGCTCCGTGATTGGGAC
TAAGCCGTAAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13262

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGATTGCTAGTTGTGCGGGAAGCTTGTCTTCGGTGACGCAGCTAACGCATTAAAGCAATCCGCCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCACCTTTTGACATGCCCGGACCGCCACAGAGATGTGGCTTTCCCTTCGGGGACTGGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCG
TCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCATTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGAACCTCTAAT
GGGACTGCCGGTGTGTAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACAGGGTGGGGTACACACGTGCTACAATG
GCGACTACAGAGGGTTAATCCTTAAAAGTCGTCTCAGTTTCGGATTGTCTCTGCAACTCGAGGGGCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAAT
CGCGGTACAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGATGGTTCTACCCGAAGCGA
TGCGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGTCGACCACGGTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCG
GCTGGATCACCTCC

s13263

GTAGTCCCGGCCGTAAACGTTGGACACTAGGTGTGAGGGGTATCGACCCCTTCGTGCCGAAGTTAACACATTAAAGTATCCCGCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATAGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTCAATTTCGACGCAACGCGA
AGAACCTTACCAGGCTCGAAATGTGGGGGACAGCTGTGAAACACAGTCTCTCCCGCAAGGGGAAGTCTCATATAGGTGCTGCATG
GCTGTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTGTAGTTACCAGCGGGTAAATGCCGGG
GACTCTAACGACGATGCCCGGTGTGATAAACAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCTTACGCTTGGGGTACACAGGTGCTGCAAT
GCTACAATGGCCGGCACAGAGAGAAGCAAGACCGCAAGGTGGAGCAAATCTTCAAAGCCGGTCCGAGTTTCGGATCGGAGTCTGCAATT
CGACTCCGTGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCAC
ACCACGAAAGTCAGTTGTACCAGAAGTCGGTGTACCAACCCGCAAGGGAGGAAGCCGCCGAAGGTATGGCCGGTGTATGGGGTGAAGT
CGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13265

GTAGTCTCGGCCGTAAACGATGGAAGCCAGCTGTGCGCAAGTTTACTTGTCTGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAAGCTTCCGCCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAGCTTGTACATCCCGGTGCGGGTACCAGAGATGGTACCTTTCAGTTAGGCTGGACCGGGTACAGGTGCTGCATGGCT
GTCGTGACGTCTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTC
TAAGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCNTNATGGCCNTTACGGGNTGGGTTACACAGGTGCTGAT
AATGGTGGTGACAGTGGGCGAGNCCGCGAGGTGCGAGCTAATCTCCTCAAAGCCATGTGAGTTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGT
GCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAT
GGGAGTTGGCTTTACCAGAGGCGCTGCGCTGACCGCAAGGAGGCAGGCGACCAGGTAGGGTCAGTACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13266

GTAGTCTCGGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTGCGGCGTCAAACCTCGGTGCCGCGAGCTAACGCATTAAAGTATTCGCCCTGGGGAG
TACGCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTTGCAAGCGTCTTAATAGGCGCCCTCCTTCAGGACAAGAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTC
AGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCACCTTTAGTTGCCAACAGGTTAAGCTGTGCACTCTAAA
CAGACTTACCGTGAATAACACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAATCATATGCTGCCCTTAGTATCTGGGCTACACAGGTGCTGCTACAAT
GTCGGTACAACGGGCAGCGAAAGAGCGATCTGGAGCGAATCCTAAAAAGCCGATCCAGTTTCGGATTGCAAGGCTGAAACTCGCCTACA
TGAAGTTGGAGTTGCTAGTAATCGCGAATCAGAAATGTGCGGGTGAATGCGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGA
AGTTGAGGGCGCCGAAGCCAGTGGTCCAACCCGTAAGGGAGGAAGCTGTGCAAGGTGAAATCAATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAA
GGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13267

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGAATGCTTGGTGTGCGGGTATCGATCCCTGCCGTGCCGAAATTAACGCGATAAGCATTCCGCCCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGACGCAACGCGA
AGAACCTTACCAGGCTCGAAATGCAGTTGACCATCGGTGAAAGCCGACTCCCGCAAGGGCAACTGTATAGGTGCTGCATGGCTGTGCG
TCAGTCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTCTGTGTCATCAGTAAGGTGGGCACTCTGG
AGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCTTTATGTCTGGGGCTACACACGTGCTACAAT
GGCCGATACAAAGCGCTGCCAACTCGCGAGAGTGAGCTAATCGCATAAAGTCCGGTCTCAGTTTCGGATTACAGGCTGCAACTCGCCCTGC
ATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACATCACGA
AAGCTGGCTGTACTAGAAATCGCCGCTAACCCGCAAGGGAGGCAGGCGCTTAAGGTATGGTTAGTGATGGGGTGAAGTCGTAACAA
AGGTAGCTGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13268

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTCCGGGCACTTGGTGTCTGGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAAGTTATCCGCCCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCAGCCTTTGACATCCCGCGCTATCCTGAGAGATCAGGGGTTCCCTTCGGGGACGCGGTGACAGGTGCTGCATGGCTGTG
GTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAA
GGAACCGCCCGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACAGGCTGGGCTACACAGTGTCTACAAT
GGCGGTGACAGTGAGCAAGTAAACCGGAGGGTGTGCTAATCTCCAAAGCCGCTCAGTTTCGGATTGTTCTCTGCAACTCGAGAGCA
TGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGG
AGTTGGCTTACCAGGAGCGTTGCGCTAATCGCAAGAGAGGCAGGCGACCACGGTGGGCTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAA
GGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13269

CTGTAAACGATGAATACTTGGTGTCTGGAATTATTATTGTTCCGGGTGCCGTGCTAACGTTTTAAGTATTCGCCCTGGGGAGTACGC
ACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCGACGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTGGACTAGAAATGTGAGGGAAGGACTCCTAATAGAGTCCGTCGGGAAACCGGACCAGAAACAAGGTGCTGCATGGCTGTGCTGAGC
TCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCAACAGTTGCCATCATTAAGTTGGGAACTCTGTTGAGAC
TGCCGTTGATAAAACGGAGGAAGGTGGGGATGATGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGTTTCAAGGGCTACACAGTGTCTACAATGGATGG
TACAAAACGTCGCAATCCCGCAAGGGGGAGCTAATCGCAAAAACCATTCCTCAGTTTCGGATTGAAGTCTGCAACTCGACTTCATGAAGT
TGAATCGTTAGTAATCGCGGATCAGAACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACATCACGAAAGTAGG
TTGTATTAGAAGTAGCTGGGCCAAGTCCGCAAGAGAGGCAGGTTACCACGGTATGATTTATGATTGGGGTGAAGTCGTGACAAGGTAGC
TGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13270

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGAGAACTGAGCGGGGGGGGCTTGCCCTTCCCGGCTGTAGCGAAAGCGTTAAGTTCTCCGCCCTGGGG
AGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTTCGAGGCAACGCGAAG
AACCTTATCCTAGATTTGACATGCTTGGATTAGTCAGTGGAAACATTGATGACGCTCGCAAGAGTGGAAACAGGCACAGGTGCTGCATG
GCTGTGCTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTGCGGTTAAGTCTTTAACGAGCGAAACCCCTGTCGTGAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGGA
CTCTGACGAGACCGCCGCGTCAAGCCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGTCTAGGGCTGCACACGTGTC
TACATGCCGCTATAAAGGGAAGCAAGACCGCGAGGTGGAGCAAATCCCAAAAAGCGCGGCCAGTTTCGGATTTCAGGCTGCAACTC
GCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCTATGCTGCGGTGAATGTGTTCTTGAGCCTTGTACACACCGCCCGCCAA

GCCACGAAAGGGGGAGCGTCCGAAGTCACTGAGTGAACCGCAAGGACACAGGTGCCGAAGACGAGCTCCCTGATTGGGACTAAGTCG
TAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13272

CCGTAAACGGTGCGCGTTTGGTGTGGGAGGATTCTGCCCTTCTGTGCCGGAGCTAACGCGTTAAACGCGCCGCTGGGGAGTACGGT
CGCAAGATTAAAACTCAAAGAAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGCTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTAC
CTAGCCTTGACATGCATCTCTAAGTCGGTGAAAGCCGGCGACTGTAGCAATACAGAATTTGCACAGGCGCTGCATGGCTGTCGTGAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTGAACCTGTGCCACCGCCTCCGGGCCGAGCACTCTGTTC
AGACTGCCCTGTGAAACGGGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGGCCCTTACGGCTAGGGCTGCACACGTACTACAATGC
TCAGTACAGAACGAACCAAAACCGCGAGGTGGAGGAAATCTCAAAACTGAGCCCAATTTCGGATTGGAGCTGCAACTCGCTCCATG
AAGCCGGAATCGCTAGTAATGGCGCATCAGCTACGGCGCCGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACATCATGGAA
GTCACTTGTACCCGAAGTGCATGCGCCAACCGCAAGGAGGCAGTGCCCTAAGGTATGGGTGGTAACTGGGATGAAGTCGTAACAAGGT
AGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13273

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGG
GAGTACGCGCCGAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACCTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTC
GTGAGCTCGTGTGCTGTGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTGTCCCTTAGTTACCAGCAGCTAATGGTGGGCACCTCT
AAGGAGACTGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGCTCGGTACAGGAAGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCAAGAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACT
GCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAT
GGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTTGTCTAACCTTCGGGAGGACGTTACCACGGTGTGATTATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13274

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGTGTGCTAGTTGTCTGATTGCTTAGCTTTTCAGTGACGCGAGCTAACGCATTAAGCACACCGCCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGACGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGCCTTGACATACCGGTTGAGGTCTTCCAGAGATGAGGGTCGTCAATTAGTTGGACCGGATACAGGTGCTGCATGGCT
GTGCTCAGCTCGTGTGCTGTGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTATCGTATGTTGCCATCACTTAGTTGGGCACCTC
ATGCGAGACCGCCGGTGTCAAGCCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCTAGGGCTACAAACGTGCTAC
AATGGCAGTGACATGGGCAGCAAGTCCGCAAGGATGAGCAAATCCCAAAAGCTGTCTCAGTTGAGATTGTCTCTGCAACTCGAGG
GCATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAT
GGGAGTTGGTTCTACCTGAAGGCGCTGCGCTAACCGCAAGGGGGCAGGCGACCAGGTAGGGTCAATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA
AGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13275

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGAATGCCAGACGTCCGGCANGCATGCTTGTCCGTTGTACACCTAACCGATTAAAGCATTCCGCCCTGGGG
AGTACGCGCCGAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAACCCCTTGACATGGGTATCGCGGGACCGGAGACGGTCCTTTCAGTTTCGGCTGGATACACACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTGCTGTGAGATGTTCCGTTAAGTCCGGCAACGAGCGCAACCCCACTTTTCAGTTGCCATCATTTCAGTTGGGCACCTCG
GAAGAATGCGCGGTGATAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTACTCATGGCCCTTACGGGTGGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTGGTGACAATGGGTTAATCCCAAAAGCCATCTCAGTTTCGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCAGGTCAGCTATACCTGCG
ATCGCGTAAACAGCATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAATTTGGGTCTACCCGACGAC
GGTGCGCCAACCTCGCAAGAGGAAGCAGCCGGCCACGGTAGGCTCAGTACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACC
TGCGGCTGGATCACCTC

s13277

GGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCGTGTGGTTTAATTTCGAGGCTACACGAAGAACCTTACCTGGGTTTGACATACAAGT
AGTAGTGAAGCGAAAGCGGAACGACCTTCGGGAGCTTGTACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTCCGTTA
AGTCCGCAAAACGAGCGCAACCCCTCGGCGTTAGTTACAAGTGTCTAACGCAACTGCCCGTGAGAAACGGGAGGAAGGTGGGGATGACGT
CAAGTCAGCATGGCCTTTATATCCAGGGCTACACACACGGTACAATGGGCGGTACAACGGGTTCGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCCAAATC
CATAAAGCCGTTTCGTAGTTTCGGATTGCAAGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAACCCGAGGTCAGCTATACCTGCG
GTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTTCATGGGAGCTGGTCACGCTGAAGTCGGGGAGCTAACCTAACGGAGG
CAACCGCCGAGGGCAGGGCTGGTGACTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCTGTACCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTCC

s13279

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTTCGGGGCCCATAGGGTTTCGGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGG
GAGTACGCGCCGAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCAGCGTTTGACATCCTCATCGCGGATCCAGAGATGGATTCTTCAGTTTCGGCTGGATGAGTGACAGGTGCTGCATGGC
TGTGCTCAGCTCGTGTGCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCCTTAGTTGCCATCATTTCAGTTGGGCACCT
CTAAGGAAACTGCCGTTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACACGCTGGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCCAAAAGCCGTCTCAGTTTCGGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCA
TGGGAGTTGGATTGACCGAAGGCGCTGAGCTAACCCGCAAGGGAGGCGAGGCGACCAGGTTCGGTTTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTA
ACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13280

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGATAACTAGCTGTTCGGGGTCTACGATCCTGAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTATCCGCCTGGG
GAGCAGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCTGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCA
GAACCTTACCAGCGTTTGACATCCTAATCGCGGTTTTCAGAGATGATTACCTTCAGTTTCGGCTGGATTAGTGACAGGTGCTGCATGGC
TGTGCTCAGCTCGTGTGCTGTGAGATGTTGGATTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGTCCTTAGTTGCCATCATTTCAGTTGGGCACCT
CTAAGGAAACTGCCGTTGATAAGCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACACGCTGGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGCGGTGACAGTGGGCAGCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCCAAAAGCCGTCTCAGTTTCGGATTGTTCTCTGCAACTCGAG
AGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAGCCGCGGTGAATACGTTCCAGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCA
TGGGAGTTGGATTGACCGAAGGCGCTGAGCTAACCCGCAAGGGAGGCGAGGCGACCAGGTTCGGTTTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTA
ACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTCC

s13281

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGGATGCTAGCCGTCGGATAGCATGCTTGTCCGTTGTACACCTAACCGATTAAAGCATTCCGCCTGGGG
AGTACGCGCCGAAGGTTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAACCCCTTGACATGGGTATAGCGG-ACCGGAGACGG-C-ATTC-TATCGACTGGAT-
CCACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTGCTGTGAGATGTTCCGGTTAAGTCCGGCAACGAGCGCGACCCACACTTTTCAGTTG
CCATCATTCAGTTTGGGCACTCTGGAAGAACTGCCGTTGATAAGCCGGAGGAAGGTGTGGATGACGTCAAGTCTCATGGCCCTTACGG
GTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAATGGGTTAATCCCAAAAGCCATCTCAGTTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACC

CCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGTAACAGCATGACGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGCCACACCAT
GGGAATTGGGTCTACCCGACGACGGTGCGCCAACCTCGCAAGAGGAAGCAGCCGGCCACGGTAGGCTCAGTGACTGGGGTGAAGTCGT
AACAAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13283

GTAGTCCCGGCCGTAAACGATGAGTGCTGGACGGGAGGGGGTTCCGCCCTTACCGGTCGGAGCGAAAGCGGGAAGCACTCCGCCCTGGGG
AATATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTCGAGGCAACGCGAAG
AACCTTATCCTAGGCTTGACATGCATGGATTAACCTCTCTGAGAGGAGAGCCACGCCTTCGGGTGGAACATGCACGGGTGCTGCATGGC
TGTCGTGAGCTCGTGCCGTGAGGTGTGCGGTTAAGTCCCTTCAACGAGCGAAACCCCTTGCTCCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGGACT
CTGGAGAGACCGCCGGCGTCAAGCCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCCTAGGGCTGCACACGTGCTA
CAATGCCGCGTACAAAGGGACGCCAAACCGCGAGGTGGAGCCAAATCCCAGAAAGCGCGGCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGC
CTGCATGAAGCTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTGAGCTATACGTGCGGTGAATGTGTTCCCTGAGCCTTGTAACACCCGCCCTCAAGC
CACGAAAGCGGGGGGCATCGCAAGTGATCGCGCAACCGCAAGGACGCAGATCCCTAAGATGAACCTCCGTGATTGGGACTAAGTCGTA
ACATGGTAACCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13285

CCCGGCTGTAAACGATGAGCACTGGATTGAAGGGTCCTCCATAGCCTTTTCTAGTCGCAACGAAAGCGTTAAGTGCTCCGCCGGGGAGT
ATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGGATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGAAGAAC
CTTATCCTAGTCTTGACATGCACGGATTAACTCCTGGAACAGGAGCCAGGCCCTTCGGGTACAACGTGCACAGGTGCTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGCTGAGATGTGCGGTTAAGTCCCTTAAACGAGCGAAACCCCTTGCTACTAGTTGCCAGCGCGTCATGGCGGGGACTC
TAGTGAGACTGCGGATCGCTAGTAATCGCAGGTGAGCTATACGTGCGGTGAATGTGTTCCCTGAGCCTTGTAACACCCGCCCTCAAGC
AATGCCACGTACAAAGGGAAGCAAACCTCGCGAGAGCAAGCAAATCTCAAAAAACGTGGGCCAGTTCCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCC
TGATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCCCTGAGCCTTGTAACACCCGCCCTCAAGCCA
CGAAAGTGGGGGTATCCGAAGTCACTGAGGTAACCGCAAGGAGCCAAGTGCCGAAGATAAACTCCGCGATTGGGACTAAGTCGTAAC
AAGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13286

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGGGCACTAGGCAATGGATCATCCCTATGGGGTTTATTGCCGTAGCAAATGTGTTAAGTGCCCGCCT
GGGGAGTACGCTCGCAAGGGTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGATCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGC
GAAGAACCCTTACCAGGCCCTTGACATGCACGGATTAGCTCTGTGAAAGCAGGGTGACAGCTCTTCGGAGTCGGAACGTGTGCAGGTGTT
GCATGGCTGTGCTGAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGAAACCCCTTATCGTTAGTTGCCAGCGGGTCAAG
CCGGGACTCTAGCGAGACTGCCGTTGTTAAACCGGAGGAAGGTGGGAGCAGCTCAAGTCATCATGGCCCTTATGGCCTGGGCTACA
CACGTGCTACAATGGCCCTATACAAAGGGTCCCGAAGCCGCGAGGTAGTGGAATCCCATAAAGTAGGGCCCCAGTTCCGGATTGTAGGCT
GAAATTCGCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGTATACGCCATGTGCGGTTGAATATGTTCCCTGATCCTTGTAACACCCGC
CCGTCAAGCCATGGGAGCGGGAGCGCTCGAAGTCGTTTTGTCCAACCGCAAGGGGACGGCGCCGAAAGCGAGCTCCGTGACTGGGA
CTAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13289

AGTCCCGCTGTAAACGATGAGCACTAGCCCGTGGGGACTCTCACATCCTCTCGGGCGTAGCGAAAGTGTTAAGTGCTCCGCCTGGGG
AGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTCGAGGCTACGCGAAG
AACCTTATCCTAGTCTTGACATGCTTAAGAACCCTTCTGAAAGGAGAGGGTGCCCTTCGGGGAGCTTTTGACAGGTGCTGCATGGCT
TGCTGTCAGCTCGTGCTGAGATGTGCGGTTAAGTCCCTTAAACGAGCGAAACCCCTTGCTCTAGTTGCCAGCGAGTAAAGTCGGGGAC
TCTAGAGAGACTGCGGTTTAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCTTTATGATTAGGGTGTACACAGCTCCT
ACAATGCGGCATACAAAGGGAAGCAAACCCATGAGGGGGAGCAAACCCCAAAAAGTGTCGCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCG
CCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGTCAGCATACCGCGGTGAATGTGTTCCCTGAGCCTTGTAACACCCGCCCTCAAGC
CACGAAAGTTGGGAGGGCCGAAGTCGCTGAGCAAAACCGCAAGGGTGACGGCGCCGAAGGTGAGCTCGACGATTGGGACTAAGTCGTA
ACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13292

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGAGTACTAGTGGGGAGGGAGTTCGCCTCCTTCTCACGGAGCGAAAGTTTAAAGTACTCCGCCTGGG
GAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCTCACACAAGCGGTGGAGCATGTGGCTTAATTCGAGGCAACGCGAA
AACCTTATCCTGGGTTTGACATGCAGGATTAACCTCTGTGAAAGCAGAGCCACGCCTTCGGGTGGAACCTGCACAGGTGCTGCATGG
CTGTCTGTCAGCTCGTGCTGAGATGTGCGGTTAAGTCCCTTAAACGAGCGAAACCCCTTGCTACTAGTTGCCAGAGTCATGTCCGGG
ACTCTAGTGAGACCGCCGGTGTTAAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCTTTATGCCAGGGCTGCACACGTG
CTACAATGGCGCTTACAAGGGGAAGCAAACCTCGCAAGAGCCAGCAAATCTCAAAAAGCGCGCCCAAGTTAGATTGCAGGCTGCAACT
CGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCTTTGCTGCGGTGAATGTGTTCCCTGAGCCTTGTAACACCCGCCCTCA
AGCCACGAAAGCGGGGAGCATCCGAAGTTGCTGCGTGAACCTTAAGGACACAGGTACCTAAGATGAGCTCCGTGATTGGGACTAAGTC
GTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13294

GTAGTCCTGGCCGTAAACGATGAATGTTAGCCGTGCGGCAGTTGACTGTTCCGTGGCGCAGCTAACGCATTAAACATTCCGCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGCAG
AACCTTACCAGCTCTTGACATCTGGGTCGCGGTTACCGGAGACGGTAACCTTCAGTTCCGCTGGACCAAGACAGGTGCTGCATGGCT
GTCGTGAGCTCGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTC
TAAGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGGCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATGTGAGCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCCGATTGCACTCTGCAACTCGAG
TGATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCTGACACCA
TGGGAGTTGGTTTTACCCGAAGGTAGTGCCTAACCAGCAAGGAGGACGTAACCACGGTAGGGTCAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAC
AAGGTAGCCGTAGGGGAACCTGCGGCTGGATCACCTC

s13296

GAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCGTGTTGTTAATTCGAGGCTACACGAAGAACCCTTACCTGGGTTTGGCATAACAAGTA
GTAGTGAAGCGAAAGCGGAACGACCTTCGGGAGCTTGTCAGGTCGTCATGGCTGTGCTGAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTGCGTTAA
GTCCGCAAAACGAGCGCAACCCCTCGGCGTTAGTTACAAGTGCTTAACGCAACTGCCCGTGAGAAACGGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
AAGTCAGCATGGCCTTTATATCCAGGGCTACACACACGCTACAATGGCGGGTACAACGGGTGCGGAAGCCGAGGTGGAGCCGATCC
ATAAAGCCGTTCTGAGTTCCGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAACCGCAGGTGAGCTATACTGCGG
TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAACACCCGCCCTCAGCTCATGGGAGCTGGTCACGCCCTGAAGTCGGGGAGCTAACCTCACGGAGGC
AACCGCCGAGGGGAGGGCTGGTACTGGGACGAAGTCGTAACAAGGTAGCTGTACCGGAAGGTGCGGCTGGATCACCTC

7.14 Archaeelle 16S rRNA-Gensequenzen

s13104

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCCTAGGGCGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGGACTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAGACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTGATGCCTAAAAAGCAT
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGGTAAACCCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGATAAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAAGTGTGAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGAGTGAAATCTTGAATCCTTGAAGGACCACAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACCGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAAACGATACCTCGTAGGTGTCTGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13106

AACACGCGGATAACCTACCCCTGGGTCTGGGATAACCCCGGGAACTGGGACTAATACCGGATAGATCAAAGAACTGGAATGTTCTC
TGTTTAAAACTCTGGTGCCCAAGGATGGGTCTGCGGCCATCAGGTAGTAGTGGGTGTAACTACCTACTAGCCTACGACGGGTAAAG
GGTTGTGAGAGCAAGAGCCCTGAGATGGATTCTGAGACATGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGGCGCGAAACTTTACAATGCG
GGAACCCGCGATAAGGGGACCCCGAGTGCCAGCACCTAGTGCTGGCTGTCCAGCTGTTCAAATAACAGTTGTTAGCAAGGCCGGGCA
AGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAACCCGGCGGCCGAGTGGTAGCCGTTATTATTGGGTTTAAAGGTCCTAGCCGGCCTATTAA
GTCTCTTGGGAAATCTGGCGACTCAATCGTCAGGCGTCCAAGAGATACTGGTAGGCTTGGGACTGGGAGAGGTGGGAGGTACTCCAGG
GGTAGGGGTGAAATCTCGTAATCCTTGGGGGACCACCGATGGCGAAGGCATCCACAGAACGGGTCCGACGGGTGAGGGACGAAAGCT
GGGGCAGGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATGCTCGTAGGTGTCAAGTGCAGTGCAGCCGATCTGGTG
CCGAGTGAAACTTGAAGCGAGTCACTGGGAAGTACGGTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCGGGGAGCACCAACCG

s13109

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCCCTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTTTAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGATCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTGTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAGACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGCCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAACCCGGCGGCTCGAGTGTTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGAC
CTGACGGCAAGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGC
ACGGTGGCAGCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAAC

s13110

ATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCAGAGTTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGCAAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGT
GGACAACCTACCTGCGAGAGGGGATAAACCCCGGAACTGGGGATAATACCCCATAGACTATAGATGCTGGAATGCTTTGTAGTTGA
AAGGTCCGCCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGCCCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTG
GGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCAGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACC
GTGATAAGGGAACCTCCAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAGGTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCC
AGCCGCCGTGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGTTTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGA
AATCTACTGGCTTAAACCAATAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGACCGGGAGAGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGA
AATCCTGTAACTCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCTCTCACCAGAACGGCTCCGACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAAA
CCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGCGCGTTAGGTGTATCGGTGACCACGAGTCAACGACGTGCCGAAGAGAAA
TCGTGAAACGTGCCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAGAGGAATTGGCGGGGAGCACCAACCG

s13113

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGGTCTATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGGGGTCCGATTAAAGCCATGCGAGTTGAGAGGGGT
AAGCCCTCGGCATACTGCTCAGTAATACGCGGATAACCTACCCCTGGGTCTGGGATAAACCCCGGAACTGGGACTAATACCCGATAG
ATCAGAGAACTGGAATGTTCTCTGGTTTAAAACTCCGGTCCCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAACTGA
CCTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACATGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACTGCGGGAAACCGCGATAAGGGGACCCGAGTGCCAGCACCTAGTGTGGCTGTCCATCTGTTCAAAAAA
CAGTTGTTAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAACCCGGCGGCCGAGTGGTAGCCGTTATTATCGGGTTTAA
AGGTCCGTAGCCGGCTTATTAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCGACTCAATCGTCAGGCGTCCAAGAGATACTGATATGCTTGGGACCG
GGAGAGGTGGGAGGTACTCCAGGGGTAGGGGTGAAATCTCGTAATCCTTGGGGGACCACCGATGGCGAAGGCATCCACAGAACGGG
TCCGACGTTGAGGGACGAAAGCTGGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCTGTAACAGCATGCTCGCTAGGTGTGAG
GTGCGGTGCGACCGCATCTGGTCCGTAGTGAAGAACTTGAAGCGAGTCACTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAAT
TGCGGGGAGCACCAAC

s13115

GATCCGCGCGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAAT
ACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCCCTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATCT
CGACTGCTGGAATGCTCAGACTTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCTA
CTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGGC
CGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTGATGCCTAAAAAGCAAT

GCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAACACCGCGGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGGG
TCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGAG
AGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAATCCTTGAAGGACCACCAAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCTG
ACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTCTAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCCGGCAC
GGTGCAGCCGTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCACAAC

s13116

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCAGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCTGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTCAGGACGGGTATAAACCCGGGAACTGGGTATAATCCCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATTGAGGACTAAAGCTCCGGCGCTGAGGATGGGTCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTCTAATGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCCGGCAACGGCGATAAGGGAACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGCGT
TGACACAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAAACCCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAATCCTTGAAGGACCACCAAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCCGGCA
CGGTGCGACCGTGTCTGGTCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACGG

s13117

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAGCCATGCGAGTCTGAGAGGTGCAA
GACCTCGGCATACCTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTATGGAGGGGATAAACCCGGGAACTGGGGATAATACCCCATAGAC
TATAGATGCTGGAATGCTTTGTAGTTGAAAGGTCCGCCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAAACGGCCC
AACAAGCTGTAAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCAG
GCGCGAAAACCTTTACAATGCCGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTAAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAGGT
GAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGTT
CGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAATCTACTGGCTTAACCAATAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAGAG
GTGAGAGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGAGCACCACTGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGCTCCGAC
AGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACGATGCGCGTTAGGTGTATCGGTGAC
CACGAGTACCAGCTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCGCTGGGAAGTACAGTTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCGG
GGGAGCACCACAACGG

s13118

GTTGTGGTGCTCCCCGCCAATTCCTTTAAGTTTCAGCCTTGC GGCCGTACTTCCCAGGTGGCTCGCTTACCGGCTTCCCTGCGGCAC
CAGACACGGTCGCGCCATGCCTGACACCTAGCGAGCATCGTTTACGGCTGGGACTACCCGGGTATCTAATCCGGTTCTGTGCCCCAGC
TTTCGTCCCTCACCGTCGAACCCGTTCTGGTAAGACGCCTTCGCCACAGGTGGTCTCACAGGGATTACAAGATTTCACTCCTACCCCT
GTAGTACTCTTACTCTCCCGTTCCAGCCTGGCAGTATCCCAGACAGCCTAATAGTTGAGCTATCAGATTTCCCTGAGGACTGA
CCAAACCGGCTACGGACCTTTAGACCCAATAATCACGATCACCACTCGGGCCGCCGTTGTACCGCGCGGCTGGCACCGGTCTTGC
CCGCCCTTGTCTAACAGGTGTATTTACACACCCGGACAGCCAGCATATGATGTGGCACTCGGTGTCCCCTTATCACGGTTTCCCGC
ATTGTAAAGTTTTCGCGCTGTCTGCGCCCCGTAGGGCTTGGATTATGTCTCAGAATCCATCTCCGGGCTCTTGTCTCTACAACCCGT
ACCCGTTTGTCCGGTAGTAGGTCCATTACACCTACTACTCTGATAGGCGCAGACCCATCCTTGGGCAGACGAATCCATTTCACGCA
TAAAGCATTCACGACATATGCGGTATCCGGAATTATCCCAGTTTCCCGGGTTATGCGCGACCCAAAGGCAGGTTATCCACGTGTT
ACTGAGCAGTACGCCATGTATTGCTACATATGACTCGCATGGCTTAGGCGAACACCGATAGCAGTAACCTCCGGCAGGATCGACAGAT
CTGACGCGGCCGCGGATCCGC

s13119

CGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAGCCATGCGAGTCTGAGAGGTGCA
AGACCTCGGCATACCTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTAAGGTGGGGGATAAACCCGGGAACTGGGGATAATACCCCATAGG
CTATGAATGCTGGAATGCTTCTGTAGTTGAAAGGTGAGCCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTAGTTGTTGGGGTAAACGGCC
CAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCA
GGCGCGAAAACCTTTACAATGCCGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTTAAATCGGGCTGTCCACCACTTTAAATAACTGG
TGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGT
TCGTAGCTGGTTTGTTAAGTCTCTGGGGAATCTGCCGCTCAACCGGCAGGCGTTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAGA
GGTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCTCACCAGAACGGCTCCGA
CAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACGATGCGCGTTAGGTGTATCGGTGA
CCACGAGTACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCGCTGGGAAGTACGGTTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCG
GGGGAGCACCACAACGG

s13122

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTCGATTCTGCCAGAGGCCACTGCTATCGGGGCTCGATTAAGCCATGCGAGTCTGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACCTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTAAGGAGGGGATAAACCCGGGAACTGGGGATAATACCCCATAG
ACTACAGAAGCTGGAATGCTCTGTAATCGAAAGGTCCGCCGCTTAGGATGGGTCTGCGGCTGATTAGGTGTTGTTGGGGTAAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCAGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAACCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGCGCGAAAACCTTTACAATGCCGGAAGAACTCGTGATAAGGGAACCCGAGTGCCCGCTAAATTCGGGCTGTTAATCTGTGTAAGGAGCAG
GTGGAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TCCGTAGCTGGATTGTTAAGTCTCTTGGGAAATCTACCGGCTTAACCGATAGGCGTTCAGGGGATACTGGCAATCTAGGGACCGGAAG
AGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCCTGTGGCGAAGGCGCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGGGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCTGTAACGATGTCGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCCCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCTGGGAAGTACGGTTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGAGCACCACAAC

s13125

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTCGATTCTGCCGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCTGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTTAGGTGCGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGA

TCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGATCGAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGGGTAACACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCCGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGC
CACGGTGCAGCCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAAC

s13127

CGGATCCCGCGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGAGGCCACTGCTATCAGAGTTCGATTAAGCCATGCGAGTTCGAGAGGTGCA
AGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTGTGGAAGAGGATAATCCCGGAAACTGGGGATAATACCTATAGA
CTATAGACGCTGGAATGCTCTGTAGCCGAAAGGTCCGCCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGCC
CAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
TGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGT
TCGTAGCTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGGAAATCTTCCGGCTTAACCGGAAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAGA
GGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGCTCCGA
CAGTGAGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTGA
CCACGAGTACCAGGTTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCG
GGGAGCACCAACCG

s13128

GCGGATCCCGCGCCGCTGCAGACCTGGTCGATTCTGCCGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTGTGAGACGGGAATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGATCCAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGATCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCCGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCCGAGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTGTAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATGTGCGTTAGGTGTCTGGC
CACGGTGCAGCCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAACCG

s13130

GCGGATCCCGCGCCGCTGCAGATCTGGTCGATTCTGCCGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCTGTGAGATGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGGTTGCTGGAATGCACCGAGCTTGAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGATCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCCGAGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTTCGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTGTAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGC
CACGGTACGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAACCG

s13131

GCGGATCCCGCGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCTGCCGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCTGTGAGATGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTCTAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGATCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCCGAGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTGTAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGC
CACGGTGCAGCCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAACCG

s13132

GGATCCCGCGCCGCTGCAGACCTGGTTGATTCTGCCGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTTGAATGCAGCAA
TAGATGGCGAACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTGCCCTTAGGTTGGGTATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGGTC
TCGATTGCTGGAATGCATCGAGATTTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACTTTACAATGCTGGCAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
TGATGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGAGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTGTAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13134

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAAACCTACCCTTGAGATGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGAAGGCTGGAATGCATCGAGATCGAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAACGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACACTGCGGGAAACCGCGATAAGGGGACCCGAGTGCCAGCACCTAGTGCTGGCTGTCCAGCTGTCCAAATAAC
AGTTGTTAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTACTGGGCTTAAAG
GCGTTTCGTAGCTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGGAAATCTGCCGGCTCAACCGGCAGGAGTTCCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGG
GAGAGGTGTGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGGAC
CTGACGGCAAAGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCTAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCCGGC
CACGGTGCACCGCTTGTCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAACAAC

s13135

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGAGGTTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGC
AAGACTGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAAACCTACCCTTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGTTGAAAGGTCCGGCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACTCCGAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGGAAATCTGCCGGCTCAACCGGCAGGCGTTCCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGCGCAAGGCGCTCACCAGAACCGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATGCGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCAGAGTCCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTAAACGTGCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCAACAACGG

s13137

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAAACCTACCCTTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTTGAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACTTTACAATGCTGGAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGCAT
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCCGCAA
CGGTGCGACCCGTTGTCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACAACGG

s13138

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGGGGTTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAAATGTTCTTC
GTGAACATGGCGAATGCTCAGTAACACGTGGATAAATCTGCCCTAAGGTGGAGGATAAACCTCGGGAATCTGGGGATAATACCCGATAG
ATCATAGATGCTGGAATGCCCTATGTTCTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGAGTCTGCGGTCTATCAGGTTGTAGTGGGTGTAACGTA
CCTACTAGCCGACGACGGATACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGC
AGGCGCGAACACTTTACAATGCGGGAAACCGCGATAAGGGAAACCCGAGTGCCAGCACCAAGTGTTGGCTGTCCAGATGATTAAATCT
CAITTTGTTAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGGTAACACCGCGGCCGAGTGGTAGCCGTTATTATTGGGTTTAA
AGGGTCCGTAGCCGGCTTATTAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCGACTCAATCGTCAGGCGTTCAAGGGATACTGGTAGGCTTGGGACCG
GGAGAGGTGGGAGGTACTCCAGGGGTAGGGGTGAAATCTCGTAATCCTTGGGGGACCACCAGATGGCGAAGGCGATCCCTCCAGAACGGG
TCCGACGCTGAGGGACGAAAGCTGGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATGCTCGCTAGGTGTCCAG
GTGCGGTGCGACCGCATCTGTTGCCGTAGTGAACCTTGAAGCGAGTCACCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAAT
TGCGGGGGAGCACCAACAACGG

s13139

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATTGGGATTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAGAGGGTTTCG
GCCCTCGGCTGACGGCTCAGTAACACGTGGATAAATCTGCCCTAAGGTGGAGGATAAACCTCGGGAATCTGAGAATAATACCCATAGGT
CTAGGATGCTGGAATGCATTAGCTTAAAGCTCCGGTGCTTAGGATGAGTCTGCGGACTATCAGGTTGTAGTCAGGGTAAAGACCT
GACTAGCCTACGACGGATACGGGTTGTGAGAGCAATAACCCGAGATGATATCTGAGACACGATATCAGGCCCTACGGGGCGCAGCAG
GCCGGAACCTTCGCACTGCGCGAAAGCGCGACGAGGGAATCCCAAGTGATGCACGTAAGTGTATACTGTTTCTGTCTAAAAAGC
AGAGAGAGTAAGAGCTGGGTAAGACGGGTGCCAGCCGCGCGGTAATACCTGCAGCTCTAGTGGTGATCGTTATTATTGGGCCTAAAA
CGTCCGTAGCCCGTCTTCTAAATGCCTGGGTAATCGTATGGCTTAAACATACGAATTCTGGGTAGACTGTTAGACTTGAGACCGGGA
GAGGCTAGAGGTACTCTGGGGTAGAGGTGAAATCTGTAATCCTAGGGGGACGACCAGTGGCGAAGGCGTCTAGCTAGAACGGGTCT
GACGGTGAGGGACGAAGCCCTGGGGCGCAAACGGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGGGGTAAACGCTGCTTGTGATGTTAGTCT
GGCTCCGAGCCAGATTAGTGTCCGAGAGAAGTTGTTAAGCAAGCTGCCTGGGAAGTACGGCCGCAAGACTGAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGGAGCACCAACAACGG

s13142

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAAACCTACCCTTGAGTCGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGATGCTGGAATGCATCGAGCTTAAAGCTCCGGTGCTTAGGATGAGTCTGCGGCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGATC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGC
ATTGCTATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTTAA
GGTCTGTAGCCGGCAATGATGCTCTTGGGAAATCCGAGCTCAAGGATGGATGTTGGGCTTTCAGGAGATACTGTAGTGGGTGTAGCGTAC
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGGAC
CTGACGGCAAAGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTCCGGC

CACGGTTCGACCGTTGTCGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCACAAC

s13143

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAGCCTACCCCTTAGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGAACTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAACTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTAAGGTTGTGAGAGCAAGAGTCTTGATGGATTCTGAGACATGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTTACACTGCGGGAAACCGCGATAAGGGGACCCCGAGTGCCAGCACCTAGTGCTGGCTGTCCAGCTGTTCAAAAAACAG
TTGTAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGGTAAACCCGGCGGCCGAGTGGTAGCCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCTCTCACCAGAACCGAAGCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTGCGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGGAGCACCACAACGG

s13144

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTGCCCTTAGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGACAGATC
TCGATTGCTGGAATGCATCGAGCTTGAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCTCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTTACAATGCCGGCAACCGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGATGCCTAAAAAGCAT
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGGTAAACCCGGCGGCTCGAGTGGTAAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGAAGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCTCTCACCAGAACCGAAGCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTGCGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGGAGCACCACAACGG

s13145

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCAGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGCAA
GACCTCGGCATACCTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACTAAGGTGGGGATAAACCCGGGAACTGGGGATAATACCCCATAGAC
TATGGAAGCTGGAATGCTCTGTAGCTGAAGGGTCAGCCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTAGTTGTTGGGGTAAACGGCCC
AACAAAGCTTGTAATCGGTACGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCAG
GCCGAAAACCTTTTACAATGCCGGGAAACCGTGATAAGGGAACTCTGAGTGCCCGTTAAATCGGGCTGTCCACCAGTTTAAAAAAGTGGT
GAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGTAATACCGCGCGCTCGAGTGTTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGTT
CGTAGCTGGTTTGTAAAGTTTCTGGGAAATCTTCCGGCTTAAACCGGAAGGCGTCCCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGAAGAG
GTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGGACGGCTCCGAC
AGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTGAC
CAGAGTCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCGG
GGGAGCACCACAACGG

s13146

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCCTTAGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGT
CCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGAACTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGTGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACCTTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAAGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGTAACACCGCGCGCTCGAGTGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTTCAAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCG
GAGAGGTGAGAGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCACTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTGGGGGACGAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATAGCTAGGTGTCTGCGC
CACGGTGCAGCCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGTCGAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCACAAC

s13148

CGTTGTGTGTCTCCCCGCCAATTCTTTAAGTTTCAGCCTTGCGACCGTACTTCCCAGGCGGTACGTTTTACGATTTCTCTTCGGCA
CCTCGGTGACTCGTGGTCACCGATACCTAACGCACATCGTTTACGGCTGGGACTACCCGGGTATCTAATCCGGTTTGCTCCCCAG
CTTTCGTCCCTCACTGTGCGAGCCGTCTCGGTGAGGCGCCTTCGCCACAGGTGGTCCCCCAAGGATTACAGGATTTCACTCCTACCCC
TGGAGTACCCCTCACCTCTTCCGGTCCCTAGTCTGCCAGTATCCCTGAGACGCCTTCCGGTTAAGCCGGAAGATTTCCCCAGAGACTT
AACAAACCGTACGAAACGCTTTAAGCCAGTAATAGTGGCCACCACTCGAGCCCGCGGTATTACCGCGGTGGCTGGCACCGGTCTTG
CCCGGCCCTTTCTTACCAGTTTTTTAACTGATGGACAGCCGATTTAACGGGCACTCGGAGTTCCCTTATCACGTTTTCCCGCATT
GTAAAGTTTTCGCGCCTGCTGCGCCCCGTAGGGCCTGGATTCTGTCTCAGAATCCATCTCCGGGCTCTTGCTCCACAACCCGTACC
GATTACAGGCTTGTGGGCCGTTACCCCAACAACCTAATCGGCGCGAGACCCATCCTATGGCGGCTGACCTTTCAACTACGAAGC
ATTCCAGATTCTAGCCTATGGGGTATTATCCCGAGTTTCCGGGGTATCCCCACCTTAGGTTGCTGATGCCTAAAAAGCAT
CAGTATGCCAGGTCTTGACCTCTCGACTCGCATGNTTAATCGAGCTCCGATAGCAGTGCCCTCCGGCAGGATCCCCAGATCTGC
AGCGGCCGCGGATCCG

s13151

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTCGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTGCCCTTAGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGAACTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGTGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAACACGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGATGCCTAAAAAGCAT
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGCGGTAAACCCGGCGGCTCGAGTGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG

GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTTGTCGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACG

s13152

GCGGATCCGCGGTCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCAGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTGTGGAAGGGGATAACCCCGGGAACCTGGGGATAATACCCCTATAG
ACTATAGATGCTGGAATGCTCTGTAGCCGAAAGTCCGCCGCCACAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGAC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTAAAAATCGGGCTGTCCACCAGTTTAAATAACTG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGGTAATACCGCGGGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGC
GTTTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAAATCTGCTGGCTTAAACCAACAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGGACGGCTCC
GACAGTGAGGACGAAAGCTGGGGGAGCAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGGT
GACCACGAGTCACCAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAACGTACCGCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAAC

s13153

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCTGCCGGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTTAGGTCCGGGATAAACCCCGGGAACCTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTCGACTGCTGGAATGCATCGAGATCGAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAGACTTTACAATGCTGGAACACGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGTGCAAGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATGTGCTAGGTGTGCGGCA
CACGGTGCAGCCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCACAAC

s13155

GGATCCGCGGTCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTTAGGGCGGGGATAAACCCCGGGAACCTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGGACTAAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGTGAAAACTTTACAATGCTGGAACACGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGCAC
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGCCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATGTGCTAGGTGTGCGGCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACG

s13157

CGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGCA
AGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAATCTAACCTAAGGTGGGGGATAAACCCCGGGAACCTGGGGATAATACCCATAGA
CTATGAATGCTGGAATGCTTTGTAGTCGAAGGTGAGCCGCCTTAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTAGTTGTTGGGGTAACGGCC
CAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
GGCGGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTAAAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAGG
TGAAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAATACCGGCGGCTCGAGTGGTGGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGT
TCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGAAATCTACTGGTTTAAACCAATAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAGA
GGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGGCTCCGA
CAGTGAGGACGAAAGCTGGGGGAGCAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATGCGCGTTAGGTGTATCGGTGA
CCACGAGTCACCGAGTCGCCAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCCGCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCGG
GGGAGCACCACAAC

s13158

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCAGAGTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAAACCCTTAGACCGGGGATAAACCCCGGGAACCTGGGTATAATACCCGATAAATC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTTGAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACTTTACAATGCTGGAACACGCGATAAGGGGTCCCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCTAAAAAGCAT
TGATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAACACCGCGGCTCGAGTGGTAAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGCCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCCTTGTAACTCCTTGAAGGATCACCAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACCGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTGCGCAA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACG

s13162

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCAGAGCTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAATCTAACCTACGGAAGGGGATAAACCCCGGGAACCTGGGGATAATACCCCTATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGCCGAAAGTCCGCCGCCGTAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC

CCAACGAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCTGAGTGCCCGTTAAATCGGGCTGTCCATCAGTTTAAAAAGCTG
GTAAAGAAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGGAAATCTTCCGGCTTAACCGGAAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGAAG
AGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGGACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACAGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCACAAC

s13163

GGATCCGCGGTCTGCTGCAGACCTGGCCGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGCAA
GACCTTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTACAGAGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAGAC
TATGGATGCTGGAATGCTTCTGTAGTTGAAAGGTCCGCCGCTGTAGGATGGGTCTGCGGTGCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGCCT
AACAAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGCAG
GCGCGAAAACTTTGCAATGCGGGAAACCGTGACAAGGGAACCTCTGAGTGCCCGTTAAATCGGGCTGTCCATCGGTTTAAATAACCGGT
GAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCGTT
CGTAGCTGGTTTGTAAAGTTTCTGGGGAAATCTTCCGGCTTAACCGGAAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGAAGAG
GTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGGACGGCTCCGAC
AGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACAGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTGAC
ACGAGTACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGCGG
GGGAGCACCACAACG

s13164

GCGGATCCGCGGTCTGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGGGA
AAGCCCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTGCCCTGCGGTGGGAAATAAACCCGGGAAACTGGGGATAATGCCCATAG
GCTACGGATGCTGGAATGCTCTGTAGCTCAAAGATTTATCGCCACAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTAGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTTTGATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGTCCGTAATGCGGACTGTCCGTATGTTTAAAAAGCAT
GCGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTTGGGAAATCTACCGGCTTAACCGATAGGCGTCCAAGGGATACTGGCGGTCTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGGGGTACTTCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACAGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAGGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCACAACG

s13165

GCGGATCCGCGGTCTGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTATGGAGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGGATAATGCCCATAG
ACTATGGAAGCTGGAATGCTCTGTAGTTGAAAGGTCCGCCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCCAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTAATGCGGACTGTCCGTATGTTTAAATAACAG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTTGGGAAATCTACTGGCTTAACCAATAGACGTTTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACAGATGTGCGTTAGGTGTATCGATG
ACCACGAGTCATCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCACAAC

s13166

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTCCGGACGGGATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGACTGCTGGAATGCTCAGAGATCGAAAGCTCCGGCCGAGAGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACTTTACAATGCCGGCAACGGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTGCTGATGCCCTAAAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGGCTTTACGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCTAGCCGTAACGATACTCGCTAGGTGTGCGCCA
CGGTGCGACCGTGGTGGTGGTGGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACG

s13169

GGCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAAGCCATGCGAGTCGGGAGGTG
CAAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTATGGAGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAG
GACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGTTGAAAGGTCCGCCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACCG
CCCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAG
CAGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGGAACCTCCGAGTGCCCGTAATGCGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACA
GTTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGC
GTTCTGAGTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGAAATCTGCGGCTCAACCGCAGGCGTTCCAGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGA
GAGGTGAGGGGTACTTCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGAACGGCTCC
GACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAACAGATGCGCGTTAGGTGTATCGGT
GACCACGAGTCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCGCCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCACAACG

s13170

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATCCTGCCGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTCCGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGGCTGCTCGGAATGCACCGAGGTGAAAAGCTCCGGCGCCAGAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCATAAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACCTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13171

GCGATCCGCGCCGCTGCAGATCTGGTCGATTCTGCCAGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCAATGTAGCAA
ATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTTAGTTCGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTTGAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
TACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAG
GCCGAAAACCTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCATAAAAGCA
TTGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAG
GGTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACCTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGG
AGAGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
TGACGGCAAGGGACGAAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGCTCTGTAGGTGTCTAGGC
ATGGCGCGACCGTTGTCTGGTGCCTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13172

GGATCCGCGGTCGCTGCAGACCTGGTTGATTCTGCCGAGGTTACTGCTATCGAGGGGCGACTAAGCCATGCGAGTCAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCTTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGCTTGAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCATAAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACCTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCTAGGCA
TGCGCGACCGTTGTCTGGTGCCTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTACAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13174

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTCGATCCTGCCGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTGCCTTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGAACTAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGTGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCATAAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACCTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13176

GGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCAGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCTGACTAAGCCATGCGAGTCAATGTAGCAA
TACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCTTAGGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGTCC
TCGACTGCTGGAATGCATCGAGAACTAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGGTCTGCGGCCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGTGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCAGG
CGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTATGCCATAAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAACACCGGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG
GTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACCTGTCAGGCTTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGCAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCT
GACGGCAAGGGACGAAAAGCTAGGGGCACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCTGGCCA
CGGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGG
CGGGGAGCACCAACCG

s13177

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGAGGCCACTGCTATCGGAGTTTCGATTAAAGCCATGCGAGTTGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTACAGAGGGGATAAACCCGGGAACTGGGGATAATACCCCTATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGCCGAAAGGTCCGCGCTGTAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACCTTTACAATGCGGGAAACCGTGATAAGGAACTCCGAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACTG
GTGAAGAAAGGGCCGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCGCGGTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAAATCTACTGGCTTAAACCAATAGACGTTTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGAG
AGGTGAGAGGTACTTTCAGGGGTAGGAGTGAATCTCTGTAATCCTTGGGAGACCACTGTGGCAAGGCCGTCTCACCAGAACGGACCTCG
ACAGTGAGGAGCAAGAGCTGGGGAGCAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGATG

ACCACGAGTCATCGCGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCA

s13178

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAGCCATGCGAATCGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTACAGAGGGGGATAACCCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTTCGTAGTTGAAAGGTCCGCCGCTGTAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCGAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTGCAATGCGGGAACCGTGACAAGGGAACCTGTAGTGCCCGTTAAATCGGGCTGTCCATCGGTTTAAATAACCG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAAATCTACTGGCTTAACCAATAGGCGTTTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCAAAGGCGTCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTCGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCACCGACGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCAAC

s13179

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTCGATCCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTCGATTAAGCCATGCGAGTTGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTACAGAAGGGGATAACCCCGGGAAACTGGGGATAATACCCATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGCGAAAGTCCGGCGCCTAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAACCGTGATAAGGGAACCTCGAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACTG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAAATCTACTGGCTTAACCAATAGACGTTTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCAAAGGCGTCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGATG
ACCACGAGTCATCGCGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCAAC

s13180

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTCGATCCTGCCGGAGGTCAGTCTATTGGGATTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCCTAGGTCGGGGATAAACCCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGA
TCTGACGTCTGGAATGCATCGAGATCGAAAGTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAATCCTTGTAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCAGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCCTAGGTGTCTGGC
CAGCGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAAC

s13181

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTGATTCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTTCGACTAAGCCATGCGAGTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCCTAGGACGGGGATAAACCCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGT
CCTGACGTCTGGAATGCATCGAGAATAAGCTCCGGCGCCTAAGGATGGGTCTGCGGCCATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGTGATC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGTGCAGCA
GGCGCGAAAACTTTACAATGCTGGAAACAGCGATGAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAACACCGCGCGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCCAGCAGCTCAACTGTTGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAATCCTTGTAATCCTTGAAGGACCACCAGTGCGGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGCAGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTAGCCGTAAACGATACTCCTAGGTGTCTGGC
CAGCGTGCGACCGTTGTCTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGCACCAAC

s13182

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCTACTGCTATCGGGTCCGATTAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGC
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTAACCTATGGAGGGGGATAACCCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAG
ACTATGGATGCTGGAATGCTCTGTAGTTGAAAGGTCCGCCGCTATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGGGAACCGTGATAAGGGAACCTCCAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTTTGTAAAGTCTCTGGGGAAATCTGCCGGCTCAACCGGACGGCGTTCCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGGAG
AGGTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGCCTCACCAGAACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTCGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCACCGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTGCCGCCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGCACCAAC

s13186

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCCTGCCGGTGGCCACTGCTATCGGGGTTTCGATTAAGCCATGCGAGTCGAGAGGTGT
AAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCCTAGGAGGGGGATAACCCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAG
ATTAGGGAGGCTGGAATGCCCCCTAGTTCAAAGGTCCGCCGCTCAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAAAGGC
CCAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGAGCCCCGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACTTTACAATGCGAGAAATCGTGATAAGGGAACCCCGAGTGCCCGTAAATTCGGGCTGTCCGCAGTGCAAAAACTG
GTGAAGAAAGAGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCCGGTAATACCGCGCGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG

TCCGTAGCTTGGTTGTTAAGTCTTCTGGGAAATCCATCGGCTTAACCGATGGGAGTTT CAGGAGATACTGGCAACCTAGGGACCGGGAG
CGGTGAGAGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAAATCCTGTAATCCTTGGGGGACCACCTGTGGCGAAGGCGTCTCACTAGAACCGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCAGCTGTAAACGATGCGCGTTAGGTTGATCCGGTG
ACCACGAGTCCACGAGGTGCCGAAGGGAAACCGTGAAACGTGCCGCTGGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGACCACAAGG

s13187

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGC
AATACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTTGGGACGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGT
CCTCAACTGCTGGAATGCATCGAGGTGCAAGCTCCGGTGCCCAAGGATGGGTCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTAC
CTACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAAAGCAAGAGCCCGGAGATGGACTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCA
GGCGCGAAAACCTTTACAATGCTGGAACAGCGATAAGGGAACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCGTGATGCCTAAAAAGC
ATTGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAA
GGGTCTGTAGCCGCGCCGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTGACGGCTTTCAGGAGATACTGTCCGGCTCGAGGCCGG
GAGAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGAC
CTGACGGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCGGC
CACGGTTCGACCGTGGTGGTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATT
GGCGGGGAGACCACAAC

s13189

GCGGATCCGCGGCCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCTACTGCTATCGGGTCCGACTAAGCCATGCGAGTTGAGAGGGGT
AAGCCCTCAGCATATTGCTCAGTAACACGCGGATAACCTGCCCTTGGGTTCGGGATAAACCCGGGAAACTGGGACTAATACCGGATAG
ATCAAAGAACTGGAATGTCTCTGGTTAAAACTCCGGTGCCCAAGGATGGGTCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAACGTA
CTACTAGCCTACGACGGGTAAAGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCTGAGATGGATTCTGAGACATGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGC
AGCGCGAAAACCTTTACACTGCGGGAACCGCGATAAGGGGACCCCGAGTGCCAGCACCTAGTGTGGCTGTCCAGCTGTCCAAATAA
CAGTTGTTAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAGCCGTTATTATTGGGTCTAA
AGGTCCCTAGCCGGCCTATTAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTCAATCGTCAGGCGTCCAAGAGATACTGGTAGGCTTGGGACCG
GGAGAGGTGGGAGGTACTCCAGGGGTAGGGGTGAAATCTCGTAATCCTTGGGGGACCACCGATGGCGAAGGCATCCACCGAGAACGGG
TCCGACCGTGAGGGACGAAAGCTAGGGGACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAAATGATCGAGTTAAGTGTGGC
GGCATCTACGAGATGGCCTGTGCTGTAGGGTAGCCGTTAAACTCGCGCCTCGGGAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAAT
TGCGGGGGAGACCACAAGG

s13191

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCGGTGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGCAAT
ACATGGCGTACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTTGGGACGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGTATAATACCCGATAGTCT
CGACTGCTGGAATGCATCGAGGTGCAAGCTCCGGTGCCCAAGGATGGGTCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCTA
CTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCAGGC
GCGAAAACCTTTACAATGCTGGAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTCTGTGATGCCTAAACCGCAT
GCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGGG
TCTGTAGCCGGCCGGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTGAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGAG
AGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAACTCCTTGAAGGACCACAGTGGCGAAGGCGTCTCACCAGAACGGACCTG
ACGCAAGGGACGAAAGCTAGGGGACGAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCTTAGCCGTAAACGATACTCGCTAGGTGTCGGCCAC
GGTGCAGCCGTTGTGCTGCCGTAGGGAAGCCGTGAAGCGAGCCACCTGGGAAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGGC
GGGGGAGACCACAAGG

s13192

TTACGGCTGGGACTACCCGGGTATCTAATCCGGTTTGCTCCCCAGCTTTCGTCCCTCACTGTGCGAGCCGTCTGGTGGAGCGCCTT
CGCCACAGGTGGTCCCCCAAGGATTACAGGATTTCACTCCTACCCTGGAGTACCCCTACCTCTTCCGGTCCCTAGTCTGCCAGTAT
CCCTGGGACGCCTTCCGGTTAAGCCGGAAGATTTCCCGAGAACTTAACAAACCAGCTACGAACGCTTTAAGCCAGTAATAGTGCC
ACCCTCAGACCGCGCGGTATTACCGCGCGGCTGGCACCAGGCTTTCGCCCGGCCCTTCTTCAACAGTTTAACTAGGTGGACAGCC
CGATTTAACGGGCACTCAGAGTTCCCTTATCACGGTTTCCCGCATTTGTAAGTTTTCGCGCCTGCTGCGCCCCGTAGGGCCTGGATC
GTGCTCTCAGAAATCCATCTCCGGGCTCTTGTCTCCACAAACCCGATACCGGATTACAGGCTTGTGGGCGGTTACCCCAACAACTACCTAAT
CGGCCGAGACCCATCTATGGCGGCTGACCCTTCAGCTACAGAGCATTCAGCTTCCATAGTCTATGGGTATTATCCCAAGTTTCC
CGGGTTATCCCCACCTTAGGTTAGGTTGTCCACGTGTACTGAGCAGTATGCCGAGGTCTTGACCTCTCGACTCGCATGGCTTAA
TCGAATCTGATAGCAGTGGCTCCGGCAGAAT

s13193

GCGGATCCGCGGTCGCTGCAGATCTGGTTGATTCTGCCGGAGGCCACTGCTATCGGAGTTGATTAAGCCATGCGAGTTCGAGAGGTGC
GAGACCTCGGCATACTGCTCAGTAACACGTGGACAACCTACCCTATGGAGGGGGATAAACCCGGGAAACTGGGGATAATACCCCATAG
ATTATGAATGCTGGAATGCTTTGTAGTTGAAAGTCCGCGCCATAGGATGGGTCTGCGGCCGATTAGGTTGTTGTTGGGGTAACGGC
CCAAACAAGCCTGTAATCGGTACGGGTTGTGGGAGCAAGGCCCGGAGTGCGAGTTCTGAGACACGAATCCAGGCCATCCAGGGCGCAGC
AGGCGCGAAAACCTTTACAATGCGGGAACCGTGATAAGGGAACCTCCAGTGCCCGTAAATCGGGCTGTCCATCTGTTTAAATAACAG
GTGAAGAAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAATACCGCGGCTCGAGTGGTGCCACTATTACTGGGCTTAAAGCG
TTCGTAGCTGGTCTGTTAAGTCTCTGGGGAATCTTCCGGCTTAAACCGAAGGCGTCTCAGGGATACTGGCAGACTAGGGACCGGAAG
AGGTGAGGGGTACTCCAGGGGTAGGAGTGAATCTGTAATCCTTGGGGGACCACTGTGGCGAAGGCGCTCACCAGGACGGCTCCG
ACAGTGAGGGACGAAAGCTGGGGGAGCAAACCGGATTAGATACCCGGGTAGTCCCAGCCGTAAACGATGTGCGTTAGGTGTATCGGTG
ACCACGAGTCAACGAGGTGCCGAAGAGAAATCGTGAAACGTACCGCCTGGAAGTACGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGCAATT

s13194

GGATCCGCGGCCGCTGCAGACCTGGTTCGATCCTGCCGGAGGTTACTGCTATCGAGGTTGACTAAGCCATGCGAGTTCGAATGTAGCAA
TACATGGCGTCCCGCTCAGTAACACGTGGATAACCTACCCTTGAGACGGGGATAAACCCGGGAACTGGGTATAATACCCGATAGATC
TCGACTGCTGGAATGCGTCGAGCTTTAAAGCTCCGGCGCTCAAGGATGGATCTGCGGCCTATCAGGTAGTAGTGGGTGTAGCGTACCT
ACTAGCCTACGACGGGTACGGGTTGTGAGAGCAAGAGCCCGGAGATGGATTCTGAGACACGAATCCAGGCCCTACGGGTGTCAGCAGG
CGCAAAAACCTTTACAATGCTGGAACAGCGATAAGGGGACCTCGAGTGCCAGGTTACAAATCTGGCTGTGGCTGATGCCTTAAAGCAT
TGCATAGCAAGGGCCGGGCAAGACCGGTGCCAGCCGCCGCGGTAACACCGCGGCTCGAGTGGTAACCGTTATTATTGGGTCTAAAGG

ATCTGTAGCCGCGCCGATAAGTCTCTTGGGAAATCTGGCAGCTTAACTGTCAGGCTTTCAGGAGATACTGTCTGGCTCGAGGCCGGGA
GAGGTGAGAGGTACTTCAGGGGTAGGGGTGAAATCTTGTAAATCCTTGAAGGACCACCGATG

7.15 Das Insert des Plasmides pEry1

7.15.1 Lage der offenen Leserahmen (ORFs)

ORF	Annotation	Start	Stopp	Orien- Tierun- g
1	Hypothetisches Protein	1	1017	-
2	Dehydrogenase mit konservierter Domäne COG0111	1304	2293	+
3	Hypothetisches Protein	2303	3958	+
4	Hypothetisches Protein	4050	4703	+
5	Hypothetisches Protein	4742	5005	+

7.15.2 Sequenz

GCTTGTGTAGGTATCGTTGCCGACGGGATCGGCGTGCCCGAACACGGACAGGGGGAATCCCGGCTGGTCCCCGAGCTTCGAGGTCCG
GGGATGCTCCTTACAAAGCGATCGAGGGCCTTGAGCTCCTTCTCGGTCTTGGGGTCGACGAACGAAGAGTCGAACCTGAAGCGAACG
TCCTCCAGGCGCCAGCACGCGACGGGAATGATCCCCGTCCGAATCGTGTTGTGCTCGCTCCCGGTGGCGGGTCCACGAACCGGGCCA
CGTGCGGATGCGGCGGAAGCTTGGCCGCGATGCCGCCCTTCGAGGTCAAAGGGGACGAAATCGTGTCAGCGGCACTCAAGCGCTCTC
CAGTCCGGTGCAACGATGCTAGCGGGCACGCCGGGACGGTCAAGGACGCGATCACCTCGCCCTCCGCCACTGGCGGAGTGCCAGGGC
AAAGGGTTTGAGCTCATGAGTTGCACACGGCTCACGCTCCGCCAGCCGCCACCCTGTATTCGAGCCGCGACGACGCACTTCCATTT
GTATCTCGACGAAGCCTACGGTCCGCTACATTGAGGCCGGCGCTTCAGCTGACCTGGTCGAAACGGTCACGCCACGAGCACACCGG
AGGAGGGAGGCCATGAAGATCGCAGTCATTCAGACTACGCTGACGTGTTCCGGACGACCCGCGCGTACCAGCGGCTGCGAGGGCAC
GAGGTCGTCGTGCACACCGACGCCCTACACCGAGCCGGCGCGTGTGTCGAGCAGGTGGCCGGCTGTGAGGCGGTGCTGCTCACGCGAGC
AGCGGGTGCCGGTGACCCGCGAGATCGTCGCGCGGCTGCCCGACCTCAGGTTTCATCAGCCAGACGAGCGCCAACGTCTACCACATCGA
CGTCGCCGCTGCACCGAGCACGGCGTGGTGTGTCGGCCGGGCGGGGGCGCGCGTACGGCCTTCTCGACGACGGCGGAGCTGACG
TGGGGTTTGATCATCGCTCGCTGCGTCACTGCGCTTCGAGGTGGAGCGACTCAAGCAGGGCTTCTGGCACTCGACCGTGGGCGACG
GCCTGGAGGGTCAGACGCTCGGGATCTACGCCCTTCGGTCACATCGGCGCGGCGGTGGCCAGGGTCGGCCGTGCGTTCGGCATGAAGGT
CGTGAGCTGGGGCGGTGAGGGCTCGACCGCGCTGCCCGGCGAGGGCTTCGAGGTGGCCCGAGCCGAGAGGCTTCTTCGAGGGG
GCCGACGTTGTGACGCTGCACTGCCCGGCGGACGAGACCCGCGCATCGTCAAGCCGACGATCTCGCGCGCATGAAGCCACGG
CGTGTGTTGTAACACGAGCCGCGCTCCGATCATCAGGAGGGGCGCGCTCGTTGCCGCGCTCGGCAAGGGCGGCCGGGCTTCGCGGC
GGTGGATGTCTTCGAGACGGAACCGGTGCTCGGCGCGCGCACCCGCTGCTGAAGATGCCGAACGCGCTGTGACGCCCGCATCTCGGC
TACGGGGAGAGGGAGGGCTACGAAGGCATCTACGCCGTGGCTCGAGCGCTGCTCGCTGGGTGGCGGCGGACGCCATCTCAGGCTGA
TCAATCCGAAGCGCTGGAGCGGCGAGAAGCGGTGACGAGGAGCCATGTCCGGCCGGGCGCTGATCCAGAGGCCGAACGGCAGCCGAC
CACTCCAGGGCGCCCCGACAGCGGCTCGGCGGCGGACCACTGTGTTGGTTCGCGGACGCGCGGAGCCTTGCGGCCCTTCCCTCC
CGTGGCTGCGGTGGCCCCAACGCAACACAGATTGACGCCCTTGCGTGCCTTCCCTGTGACGCTCTGCTTCAGCCAGGCGCGCA
CGGAGATGCTGTTCCGACCGAGCTTGGACTTCTACCACCTGACGCCGCTTCGGGACCGGCGCTGGCGGCATTCTGCTGAATGTGCT
CGGCTCGCGCGCTCGGCTTCTGATTGTGCAATGGATTTCGACGCGCTCAGGCGACCGGCGGGGACGCTCTCGCCGCGCGCGCC
GTGCTGACCTTCTCGCTCCATGAATTCGCGCGCATGACGACGAGGCGGTGGCCGATGGACCGATGTCATCGGATGGCTGGAC
TGCTGGTCTTGGCGCTTGGCGCTACCGCGCTCGTGAACATCCCGCACCCGGCCCTGCGGGTGGTGGCGGGCGTTCGGGTGGCGG
CTCACCCCTGGCGGTGGCACGATGGCCCTCGCCCTCTGGATGTTCTTCGAGGTGGCGGCGGCCGGCGTGGCGATGGGTGACCCG
ACGCCCTCGACCGGCGCGACCGAGTCTCCGGCGCGTGGTCTGGATCGTGTTCGAGGAGCTCGACACGCGCTCACGTTTCGAGGCGC
GACCGACTGGTCTCGAGTGGCGGAGCTCGATCGTCTGAGGCGGAGTCTGCTTACGCCACGCGCGCGCTCGCCGGCGGGCACGAC
TGACGTGACGATCCCCGCGCTCATACCGGGCGTCCGGTCTGTCGCGGTGGCCCCCTGAATCCGAGGGACCTCCAGCTCAGGTTTCGCG
GACGGCAAGACGGCGCAATGGAGCGCGGAGCCGAACGTGTTCTCCGCGCGCAACGCTCGGCTACGACACGGCGCTGATCGGATGGC
ATCTGCCGTATCCGCGGGTGCTCGCGGGCTCGTTCGCGGTTCGCGCATGGAACACCGCTCCGTTTCGAGCAGGTGCGTGGCGACAC
ATTCCGCGGGTCTGCTGTGGAGGAGTGGGCGAGCCTCGCGCCCCGCTGAATGTCCGTGGCGAGTCTCCGAGCGGGTTGCCGAGCTC
ACGAGCTTGGCGATCCGACCGCGGCGGACGACCGCTTCGCGCTCGTCTTCTCCACCTGCCGGTTCGCCAGCCACCGGGTATCTACG
ACCGGGCCACGGAACGTCTACGGCATGGAATTCAGCGGTGCGGCGGGGGCTACTTCGACAATCTCGCGCTCGCCGACCGGGTCTG
CGCGAGTTGCGGCGTGGGCTGGACCGTGTGCGCTCGCGCATGGAACACCGCTGAGTGGATCGTGGTGACCTCCACTCGATCGTGGCAGCGTCC
GCTCAGTACGACGGGACGACCGATCCGCGCGTACCGTTCCTCTCGGCGCGCGGAAGGCGGCGGACACGGCACGTGGACGCTCCGT
TTGGCACGAGGCCACACAGATCTGGTCTGGCCATCTTGCAGGCTCCATCAGCGACGAGGCGCGCGCGCTTGGCTCTCGCG
CCCAGCCGTGGCGCGCGGAGGACTAGCCATCGGCGCGCATCGACATCGAAGGCATCGGCGACCCGACATCTGCCAAAGACG
ATCGGGCAGTGTCTCAATCGGAGTGTGCGGTGGTGTATCCAGTACGACACCGCGCTCGCGTCTCGAGTCTCCAGCACACCGCTCCG
AACGGGCACGCGGGAGGCAACTGTCCGTGCTGTCGCGCTCCACCAATGGCACGACGCGTGCCTCTGAGGACGGGATGGACCACGACG
GGGACTCGACGACGCGGTGGAATGGCGTCTGCGAAGTGAACGACACTCCGGCACGACGAGCGACCGTGGGCGGGGCCATCCGCTC
GAAATACGTGGACACGACCCACGGCGTGTTCCTCTCAAGCGCTTCCCCGGCGGGGATGCGGGCGCGGAGGGCAGGCTGGCCACG
AGGACCGTGAAGACGACGCGCGCGGCTATTGCGCGGAGGAATTCGCAACAGCCGCTTTCGAGCCGCTTTCGCGCGCGCGCTCGCG
CAGCGCGGGTATCCCATCGCCGCGCAGGGTGGCCAAGTACCGAGACGAATTCGCCATCCCGTCCGGCGCGGCGGGAAGCGGATGG

GGTCCGCGGTGTGCCCCACCGCCGAGGTTTCCCCCAGAACCGCCGACCGTTCACCCACGACCCCGCCCGCGCGTACCCGGCCCTCGC
TCGCAACTCTCTGAAACTCAGGGCCGTTTACATTGGCATGGGGCTCGCACCGTCGGCCTCTCAGCATGAGTCGAGCGGCCCTCACGGG
CACGGAAGGAGAAACAAGTCATGACGATCGGAACCCCGCTCGCGTCGCTGGTTTGTTCGCCGCCTTCCCGACCGAGGCGGAGGGGGCT
GAGCTCGACTCCGTCTCTCGTATGGGAGGCGCGAGCCGTTGTCTGCTCGACTGCGCCGGCGGGCACGATCTGGTCCGCGTGCAGGACCTGG
TGTTCCTGTGCCTGAAGGCCGGACCGACCGAGCGCGCTACATCCTCCGGGTGCCGCCACGATGCGCACGGTGGGACAGGCGATCTC
CTGGACCTTCGGGCGATGACCGCCAAGGCGGGCGCCGGAGGGCACGCTCATGACTGAGACGATGGCCGCGGGGATGCTGGTCACGCTG
GTCGCCATGCTCGCTCTGGCGGGGCTGCTGCTGTTTCAGTCCGCCGGCTCGGCGGACAACGTGTTGCCGCTGGAGGCGAAGGCGGTCT
CAACGTCCGGATCC

Vielen Dank!

Als erstes möchte ich mich Rolf Daniel bedanken, der mir die Arbeit an diesem Thema ermöglichte. Er schaffte es, mit etwas Humor meist auch die „schwereren wissenschaftlichen Stunden“ erträglicher zu machen. Vielen Dank, Rolf, für die nette und hilfreiche Betreuung in den letzten Jahren!

Ein herzlicher Dank geht an die anderen aktuellen und ehemaligen „Fäkalforscher“ aus dem Labor (*E. coli* ist nun mal ein Darmbakterium!). Es war eine schöne Zeit! Ein Riesendank geht vor allem an Hanna und Jörg, die auf meiner Laborseite immer gute Stimmung verbreiteten und es immer schafften, mich zum Lachen zu bringen, selbst in den seltenen Fällen, wenn ich es eigentlich nicht wollte. Tanja möchte ich für die große Hilfsbereitschaft danken und Frank und Caro für so manches interessante Gespräch. Vielen Dank, Anja, Sönke, Frank, Jörg, Hanna, Sebastian, Baris, Susanne, Claudia und Caro.

Eine angenehme Atmosphäre fand ich auch immer in unserer neuen Abteilung vor. Ich möchte mich ganz besonders auch bei Volker und Jörg für ihr Bereitschaft, mir zu helfen, aber auch bei allen anderen bedanken. Ich war immer gerne bei Euch.

Sonja und Caroline möchte ich für ihre offenen Ohren danken. Es tut immer gut, sich so aufgenommen zu fühlen, auch wenn es einem mal nicht so gut geht.

Ein Dankeschön geht an die Mitglieder der anderen Abteilungen im Haus. Ganz besonders hervorheben möchte ich das G2L mit seinen Silkes, Mechthild und Iwona, ohne die meine Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Danke, Heiko, für Deine Hilfe! Ich verstand zum Teil zwar nicht viel, geholfen hast Du mir aber immer und das mit viel Geduld. Danken will ich auch Anke für das Anlernen und die Hilfe bei kniffligen Problemen.

Viel Hilfsbereitschaft traf ich auch immer in der Werkstatt an. Auch dann, wenn das Problem nicht ein defekter Autoklav, sondern vielleicht auch mal ein nicht zu öffnendes Fahrradschloss war.

Lossy, Du bist spitze!

Ein besondere Dank geht an meine Familie, Britta und Nicki, die mir sehr geholfen haben und die die größten Schätze sind, die ich auf der Welt habe! Schön, dass es Euch gibt! Und Mama, dafür, dass Du eigentlich die Naturwissenschaften nicht magst, hattest du bei den „Gradient-Engeln“, *Sau3A*, den Verdauen und den vielen HHHs viel Ausdauer. Vielen Dank!

Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtstag: 04. September 1976
Geburtsort: Hamburg
Familienstand: ledig

Schulbildung

1983-1987	Grundschule in Flensburg
1987-1996	Gymnasium in Flensburg
28. Mai 1996	Allgemeine Hochschulreife

Studium

1996-2001	Biologie (Diplom) an der Universität Göttingen
-----------	---

15. Oktober 1998	Vordiplom
27. August 2001	Diplom

Thema der Diplomarbeit:
„Identifizierung von Chitinasen und der
sie kodierenden Gene“

September 2001	Beginn der Arbeiten zur vorliegenden Dissertation
----------------	--

2000 bis Januar 2005	Lehramt für Gymnasien mit den Fächern Chemie und Biologie an der Universität Göttingen
4. Juli 2002	Zwischenprüfung in Chemie