



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 9915832-9 B1

(22) Data do Depósito: 03/12/1999

(45) Data de Concessão: 13/09/2016



(54) Título: "VARIANTE DE UMA CUTINASE DE CEPA DSM 1800 DE HUMICOLA INSOLENS PRECURSORA, SEQUÊNCIA DE DNA, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA MICROBIANA TRANSFORMADA, PROCESSOS PARA PRODUZIR UMA VARIANTE, PARA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE UM OLIGÔMERO CÍCLICO DE POLI(ETILENO TEREFALATO), PARA TINGIR PANO OU FIO DE POLIÉSTER, PARA MELHORAR O ACABAMENTO FUNCIONAL DE UM FIO OU PANO CONTENDO PET, E, COMPOSILÃO DETERGENTE".

(51) Int.Cl.: C12N 9/18; C12N 15/19; C08G 63/91; C11D 3/386

(30) Prioridade Unionista: 04/12/1998 DK PA 1998 01604, 09/03/1999 DK PA 1999 00330

(73) Titular(es): NOVOZYMES A/S

(72) Inventor(es): MASANOBU ABO, SHIRO FUKUYAMA, ALLAN SVENDSEN, TOMOKO MATSUI

"VARIANTE DE UMA CUTINASE DE CEPA DSM 1800 DE *HUMICOLA INSOLENS* PRECURSORA, SEQUÊNCIA DE DNA, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA MICROBIANA TRANSFORMADA, PROCESSOS PARA PRODUZIR UMA VARIANTE, PARA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE
5 UM OLIGÔMERO CÍCLICO DE POLI(ETILENO TEREFALATO), PARA TINGIR PANO OU FIO DE POLIÉSTER, PARA MELHORAR O ACABAMENTO FUNCIONAL DE UM FIO OU PANO CONTENDO PET, E, COMPOSIÇÃO DETERGENTE".

CAMPO DA INVENÇÃO

10 As cutinases são enzimas lipolíticas capazes de hidrolisar a cutinase do substrato. As cutinases são conhecidas de vários fungos (P.E. Kolattukudy em "Lipases", Ed. B. Borgström e H.L. Brockman, Elsevier 1984, 471-504). A seqüência de aminoácidos e a estrutura de cristal de uma cutinase de *Fusarium solani pisi* foram descritas (S. Longhi e outros,
15 Journal of Molecular Biology, 268(4), 779-799 (1997)). A seqüência de aminoácidos de uma cutinase de *Humicola insolens* também foi publicada (US 5.827.719).

Diversas variantes da cutinase de *Fusarium solani pisi* foram publicadas: WO 94/14963; WO 94/14964; Appl. Environm.
20 Microbiol. 64, 2794-2799, 1998; Proteins: Structure, Function and Genetics 26, 442-458, 1996; J. of Computational Chemistry 17, 1783-1803, 1996; Protein Engineering 6, 157-165, 1993; Proteins: Structure, Function and Genetics 33, 253-264, 1998; J. of Biotechnology 66, 11-26, 1998; Biochemistry 35, 398-410, 1996.

25 As cutinases fúngicas podem ser usadas na hidrólise enzimática dos oligômeros cíclicos de pol(etileno tereftalato), p. ex., no acabamento de fio ou pano de fibras de poli(etileno tereftalato) (WO 97/27237). Entretanto, é desejável melhorar a termoestabilidade das cutinases

fúngicas conhecidas, para permitir uma mais alta temperatura de processamento.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Os inventores descobriram certas variantes de cutinases
5 fúngicas tendo melhorada termoestabilidade.

Portanto, a invenção fornece uma variante de uma cutinase fúngica precursora, compreendendo substituição de um ou mais resíduos aminoácidos, que é localizada

a) dentro de 17 Å do local do aminoácido N-terminal (como
10 calculado pelos resíduos aminoácidos em uma estrutura de cristal), e/ou

b) dentro de 20 posições do aminoácido N-terminal.

A invenção também fornece uma seqüência de DNA codificando a variante, um vetor de expressão compreendendo a seqüência de DNA, uma célula hospedeira transformada abrigando a seqüência de DNA ou
15 o vetor de expressão, um processo de produzir a variante, processos de utilizar a variante e uma composição detergente compreendendo a variante.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Fig. 1 fornece as coordenadas para a estrutura 3D da cutinase de *H. insolens*.

20 A Fig. 2 é um modelo de computador mostrando as estruturas tridimensionais das cutinases de *F. solani pisi* (esquerda) e *H. insolens* (direita). Diferentes cores foram usadas para identificar o aminoácido N-terminal e zonas de 12 Å e 17 Å de diâmetro em torno deste.

As Figs. 3-6 ilustram a hidrólise de c3ET. Detalhes são dados
25 nos Exemplos.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Cutinase Fúngica

A cutinase precursora é uma cutinase fúngica, tal como uma cutinase fúngica filamentosa, p. ex., nativa de uma cepa de *Humicola* ou

Fusarium, especificamente *H. insolens* ou *F. solani pisi*, mais especificamente cepa *H. insolens* DSM 1800.

A seqüência de aminoácidos da cutinase da cepa *H. insolens* DSM 1800 e a seqüência de DNA codificando-a são mostradas como SEQ ID NO:2 e SEQ ID NO:1 da US 5.827.719. O sistema numérico usado aqui para a cutinase *H. insolens* é baseado no peptídeo maduro, como mostrado em dita SEQ ID NO:2.

A seqüência de aminoácidos da cutinase de *F. solani pisi* é mostrada como o peptídeo maduro na Fig. 1D de WO 94/14964. O sistema numérico usado aqui para a cutinase *F. solani pisi* é aquele usado em WO 94/14964; ele inclui a pró-seqüência mostrada na Fig. 1D; assim, a cutinase madura fica nas posições 16-214.

A cutinase precursora pode ter uma seqüência de aminoácidos que é de pelo menos 50% (particularmente pelo menos 70% ou pelo menos 80%) homóloga à cutinase da cepa *H. insolens* DSM 1800. A cutinase precursora pode particularmente ser uma que possa ser alinhada com a cutinase da cepa *H. insolens* DSM 1800.

Nomenclatura para aminoácidos e alterações

A especificação e reivindicações referem-se aos aminoácidos por seus códigos de uma letra. Um aminoácido particular de uma seqüência é identificado por seu código de uma-letra e sua posição, p. ex., Q1 indica Gln (glutamina na posição 1, isto é, no N-terminal).

A nomenclatura usada aqui para definir substituições é basicamente como descrita em WO 92/05249. Assim, R51P indica substituição de R (Arg) na posição 51 com P (Prò).

Homologia e alinhamento

Para fins da presente invenção, o grau de homologia pode ser adequadamente determinado de acordo com o processo descrito em Needleman, S. B. e Wunsch, C.D., (1970), Journal of Molecular Biology, 48,

443-45, com os seguintes ajustes para comparação da seqüência de polipeptídeo: penalidade de criação GAP de 3,0 e penalidade de extensão GAP de 0,1. A determinação pode ser realizada por meio de um programa de computador conhecido, tal como GAP provido no pacote de programa GCG (Programa Manual for the Wisconsin Package, Versão 8, agosto de 1994, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711).

Duas dadas seqüências podem ser alinhadas de acordo com o processo descrito em Needleman (supra) usando-se os mesmos parâmetros. Isto pode ser realizado por meio do programa GAP (supra).

Estrutura tridimensional da cutinase

A estrutura da cutinase de *H. insolens* foi resolvida de acordo com o princípio para os processos cristalográficos de raios-X, conforme apresentado, por exemplo, em X-Ray Structure Determination, Stout, G.K. e Jensen, L.H., John Wiley & Sons, Inc., NY, 1989. As coordenadas estruturais para a estrutura de cristal resolvida na resolução de 2,2 Å usando-se o processo de substituição isomorfo são dadas na Fig. 1 em formato PDB padrão (Protein Data Bank, Brookhaven National Laboratory, Brookhaven, CT).

A estrutura da cutinase de *F. solani pisi* é descrita em Martinez e outros (1992) Nature 356, 615-618. As estruturas 3D das cutinases de *F. solani pisi* e *H. insolens* são comparadas com um modelo de computador na Fig. 2.

Deve ser citado que as estruturas tridimensionais totais das cutinases fúngicas são muito similares e foram mostradas por cristalografia de raios-X serem altamente homólogas. As similaridades entre as cutinases de *F. solani pisi* e *H. insolens* são claramente evidentes pelo modelo de computador da Fig. 2. Portanto, modificações do tipo indicado para uma cutinase fúngica também será funcional para outras cutinases fúngicas.

Substituição próximo do N-terminal

A variante da invenção tem uma ou mais substituições amino ácidas nas vizinhanças do N-terminal. A substituição está dentro de uma distância de 17 Å (p. ex., dentro de 12 Å) e/ou dentro de 20 posições (p. ex., dentro de 15 posições) do N-terminal. A distância do N-terminal é para ser calculada entre o átomo C α dos aminoácidos e é calculada por um aminoácido de uma estrutura de cristal (isto é, visível na estrutura de raios-X).

Na cutinase da cepa de *H. insolens* DSM 1800, os dois aminoácidos N-terminal (Q1 e L2, isto é, Gln e Leu nas posições 1 e 2) não são visíveis na estrutura de raios-X, de modo que a distância é para ser calculada do aminoácido G3. Os aminoácidos dentro de 17 Å incluem as posições 3-12, 18, 20-60, 62-64, 82, 85-86, 100-108, 110-111, 130-132, 174, 176-182, 184-185, 188 e 192. Aqueles dentro de 12 Å incluem as posições 3-8, 22-27, 30-47, 53-59, 102, 177 e 180-181.

Na cutinase de *F. solani pisi*, o aminoácido N-terminal G17 é visível na estrutura de raios-X. Os aminoácidos dentro de 17 Å incluem as posições 17-26, 34-75, 77-79, 101, 115, 117-119, 147, 191-197, 199-200 e 203. Aqueles dentro de 12 Å incluem as posições 17-22, 38, 40, 45-58, 60, 65 e 70-72.

As variantes da invenção têm melhorada termoestabilidade em comparação com a enzima precursora. A termoestabilidade pode ser determinada pela temperatura de desnaturação por DSC (calorimetria de varredura diferencial), p. ex., como descrito em um exemplo, p. ex., em pH 8,5 com uma taxa de varredura de 90 k/h. As variantes podem ter uma temperatura de desnaturação que é de pelo menos 5 °C mais alta do que a da enzima precursora.

O número total de substituições nas regiões acima é tipicamente de 1-10, p. ex., 1-5 substituições nas regiões acima. Além disso, a variante de cutinase da invenção pode opcionalmente incluir outras

modificações da enzima precursora, tipicamente 10 ou menos, p. ex., 5 ou menos alterações (substituições, deleções ou inserções) fora das regiões acima. Assim, a seqüência de aminoácidos total da variante é tipicamente 1-20, p. ex., 1-10 alterações em comparação com a cutinase precursora.

5 Superfície acessível a solvente

Um ou mais das substituições podem ser feitas em um resíduo aminoácido, isto é, um resíduo aminoácido tendo uma superfície acessível a solvente. Isto pode ser calculado pelo programa “dssp” (versão outubro de 1988) descrito em W. Kabsch and C. Sander, *Biopolymers*, 22 (1983) págs. 10 2577-2637.

Na cutinase da cepa *H. insolens* DSM 1800, os seguintes aminoácidos situam-se dentro de 17 Å de G3 no N-terminal e têm uma superfície acessível a solvente maior do que 0: 3-12, 18, 26-33, 36-38, 40-45, 47-56, 59-60, 62-64, 82, 85-86, 104-105, 174, 176-179, 181-182, 192.

15 Substituições específicas

A substituição próxima do N-terminal pode especificamente ser uma que aumenta a carga elétrica, isto é, uma substituição de um arte anterior negativamente carregado com um aminoácido neutro ou positivamente carregado ou substituição de um aminoácido neutro com um 20 aminoácido positivamente carregado. Assim, um resíduo aminoácido negativo em uma posição correspondendo à posição E6, E10, E30, E47, D63, E82 e/ou E179 na cutinase da cepa *Humicola insolens* DSM 1800 pode ser substituído por um aminoácido neutro ou positivo, p. ex., R, K, Y, H, Q ou N. Algumas substituições específicas são aquelas correspondendo a E6Q/N, 25 E10Q/N, E47K/R ou E179Q/N. Além disso, um resíduo aminoácido neutro em uma posição correspondendo a N7, S11, N44 ou N52 da cutinase de *H. insolens* pode ser substituído por um aminoácido positivo (R, K ou H).

Outro exemplo de uma substituição próxima do N-terminal é uma substituição com um pro resíduo, p. ex., uma substituição

correspondendo a A14P ou R51P da cutinase da cepa de *Humicola insolens* DSM 1800.

Variantes Específicas

Os seguintes são alguns exemplos de variantes de cutinase de
5 *H. insolens*. As variantes correspondentes podem ser produzidas com base em outras cutinases precursoras.

R51P

E6N/Q+I138I

A14P+E47K

10 E47K

E179N/Q

E6N/Q+E47K+R51P

A14P+E47K+E179N/Q

E47K+E179N/Q

15 E47K+D63N

E6N/Q+E10N/Q+A14p+E47K+R51P+E179N/Q

E6N/Q+A14P+E47K+R51P+E179N/Q

Q1P+L2V+S11C+N15T+F24Y+L46I+E47K

Uso de variante de cutinase

20 A variante de cutinase da invenção pode ser usada, p. ex., para a hidrólise enzimática de oligômeros cíclicos de poli(etileno tereftalato), tais como tri(etileno tereftalato) cíclico, abreviado como c3ET.

Em particular, esta pode ser usada para remover tais oligômeros cíclicos de poliéster contendo tecido ou fio pelo tratamento do
25 tecido ou fio com a variante de cutinase, opcionalmente seguido por enxágüe do tecido ou fio com uma solução aquosa tendo um pH na faixa de cerca de pH 7 a cerca de pH 11. O tratamento do poliéster é convenientemente realizado acima da temperatura de transição vítrea de c3ET (cerca de 55 °C) e abaixo da temperatura de transição vítrea do poliéster (cerca de 70 °C).

Assim, o tratamento pode adequadamente ser realizado a 50-80 °C, p. ex, a 60-75 °C. O processo pode ser realizado em analogia com WO 97/27237.

5 A variante de cutinase pode ser usada para tratar têxtil contendo poliéster, p. ex., PET (polímero de etilenoglicol e ácido tereftálico), P3GT (polímero de 1,3-propanodiol e ácido tereftálico) ou uma mistura de poliéster/algodão. O tratamento pode fornecer benefícios ao têxtil de poliéster, tal como melhorado uso e conforto, aumenta permeabilidade à água, reduzido comportamento antiestático, melhorado manuseio e maciez, mudadas características de redeposição e/ou clarificação de cor.

10 A variante de cutinase pode ser usada para melhorar o acabamento funcional de um fio ou tecido contendo PET por um tratamento com uma variante de cutinase, seguido por um tratamento com um agente de acabamento, tal como um amaciante, uma resina anti-prega, um agente antiestático, um agente anti-sujeira ou agentes para dar efeitos livres de rugas, dobra permanente e resistência ao fogo. O tratamento com a variante de cutinase pode aumentar o número de grupos funcionais na superfície e isto pode ser usado para ligar o acabamento funcional. Exemplos de agentes de acabamento são descritos em "SENSHOKU SIAGEKAKO BENRAN", publicado em 15-10-1998 por Nihon Seni Sentaa KK.

20 A variante de cutinase da invenção é também útil em detergentes, onde ela pode ser incorporada para melhorar a remoção de sujeira gordurosa, como descrito na WO 94/03578 e WO 94/14964. A adição da variante de cutinase a detergente de lavagem de roupas pode reduzir o mal odor da roupa que é acumulada durante diversos ciclos de lavagem/uso.

25 A variante de cutinase pode também ser usada para degradação e reciclagem de poliéster, tal como policaprolactona (PCL), poli-etilenoglicol-tereftalato (PET), ácido poliático, polibutilenossuccinato e poli(hidroxibutírico ácido)-co-(hidroxivalérico ácido), p. ex., película e

garrafas, p. ex., como descrito na JP-A 5-344897.

A variante de cutinase pode também ser usada para outras aplicações conhecidas de lipases e cutinases, por exemplo, na indústria de cozimento (p. ex., como descrito em WO 94/04035 e EP 585988), na indústria de produção de papel (p. ex., para remoção de piche, vide EP 344700) e nas indústrias de couro, lã e afins (p. ex., para desengorduramento de couro de animais, pele ou lã de carneiro) e para outras aplicações envolvendo desengorduramento. Pode ser usada em forma imobilizada na indústria de gordura e óleo, como um catalisador de síntese orgânica (p. ex., reações de esterificação, transesterificação ou hidrólise de éster).

Tingimento de poliéster

A invenção fornece um processo para tingir tecido ou fio de poliéster. Neste processo, o tecido ou fio é primeiro tratado com uma cutinase, p. ex., 12-48 horas a 50-70 °C ou 65-70 °C, pH 7-10, seguido por tingimento com corante, p. ex., um corante reativo, um corante disperso ou um corante catiônica. O corante reativo pode ser um que reaja com grupos OH ou COOH, p. ex., tendo a estrutura Cromóforo-NHPh-SO₂CH₂CH₂OSO₃Na. O tingimento pode ser conduzido a 40-80 °C, p. ex., por 20-60 minutos.

A cutinase pode ser uma cutinase termoestável, tendo uma temperatura de desnaturação térmica, T_d, em pH 8,5 que é pelo menos 5° mais elevada do que a cutinase precursora, p. ex., 7-10 mais elevada, p. ex., um valor de 65 °C ou mais elevado. A medição pode ser feita por DSC, como descrito em um Exemplo desta especificação.

Tensoativo

No tratamento de tecido ou fio, um agente umectante convencional e/ou um agente dispersante podem ser usados para melhorar o contato com a enzima. O agente umectante pode ser um tensoativo não-iônico, p. ex., um álcool graxo etoxilado. Um agente umectante muito útil é

um éster de ácido graxo etoxilado e propoxilado, tal como Berol 087 (produto da Akzo Nobel, Suécia).

O agente dispersante pode adequadamente ser selecionado de tensoativos não-iônico, aniônico, catiônico, anfótero ou zwitteriônico. Mais especificamente, o agente dispersante pode ser selecionado de carboximetilcelulose, hidroxipropilcelulose, alquil aril sulfonatos, sulfatos de álcool graxo de cadeia longa (alquil sulfatos primários e secundários), olefinas sulfonadas, monoglicerídeos sulfatados, éteres sulfatados, sulfossuccinatos, metil éteres sulfonados, sulfonatos de alcano, ésteres de fosfato, isotionatos de alquila, acil-sarcosídeos, alquiltauridas, fluorotensoativos, álcool graxo e condensados de alquilfenol, condensados de ácido graxo, condensados de óxido de etileno com uma amina, condensados de óxido de etileno com uma amida, ésteres de sacarose, ésteres de sorbitano, alquiloamidas, óxidos de aminas graxas, monoaminas etoxiladas, diaminas etoxiladas, etoxilato de álcool e suas misturas. Um agente dispersante muito útil é um etoxilato de álcool, tal como Berol 08 (produto da Akzo Nobel, Suécia).

Processos para preparar variantes de cutinase

A variante de cutinase da invenção pode ser preparada por processos conhecidos na arte, p. ex., como descrito em WO 94/14963 ou WO 94/14964 (Unilever). O seguinte descreve processos para a clonagem de seqüências de DNA codificando cutinase, seguido por processos para gerar mutações em sítios específicos dentro da seqüência codificando-cutinase.

Clonagem de uma seqüência de DNA codificando uma cutinase

A seqüência de DNA codificando uma cutinase precursora pode ser isolada de qualquer célula ou microorganismo produzindo a cutinase em questão, empregando-se vários processos conhecidos na arte. Primeiro, um DNA genômico e/ou uma biblioteca de cDNA deve ser construída usando-se DNA cromossomal ou RNA mensageiro do organismo que produz

a cutinase a ser estudada. Em seguida, se a seqüência de aminoácidos da cutinase for conhecida, sondas de oligonucleotídeos rotuladas podem ser sintetizadas e usadas para identificar clones codificando cutinase de uma biblioteca genômica preparada do organismo em questão. Alternativamente,
5 uma sonda de oligonucleotídeo rotulada, contendo as seqüências homólogas para outro gene de cutinase conhecido, poderia ser usada como uma sonda para identificar clones codificando cutinase, empregando-se condições de hibridização e lavagem de mais baixa severidade.

Ainda outro processo para identificar os clones codificando cutinase envolveria inserir fragmentos de DNA genômico dentro de um vetor
10 de expressão, tal como um plasmídeo, transformar bactérias negativas de cutinase com a biblioteca de DNA genômico resultante e, em seguida, revestindo-se as bactérias transformadas sobre ágar contendo um substrato para cutinase (*i.e.* maltose), desse modo permitindo que os clones
15 expressando a cutinase sejam identificados.

Alternativamente, a seqüência de DNA codificando a enzima pode ser preparada sinteticamente por processos padrão estabelecidos, p. ex., o processo de fosforoamidita descrito por S.L. Beaucage e M.H. Caruthers (1981), *Tetrahedron Letters* 22, pág. 1859-1869, ou o processo descrito por
20 Matthes e outros (1984), *EMBO J.* 3, pág. 801-805. No processo de fosforoamidita, oligonucleotídeos são sintetizados, p. ex., em um sintetizador de DNA automático, purificados, recozidos, ligados e clonados em vetores apropriados.

Finalmente, a seqüência de DNA pode ser de origem
25 genômica e sintética mista, origem sintética e de cDNA mista ou origem genômica e cDNA mista, preparada ligando-se fragmentos de origem sintética, genômica ou de cDNA (como apropriado, os fragmentos correspondendo a várias partes da inteira seqüência de DNA), de acordo com técnicas padrão. A seqüência de DNA pode também ser preparada por reação

de cadeia de polimerase (PCR) usando-se imprimadores específicos, por exemplo, como descrito em US 4.683.204 ou R.K. Saiki e outros (1988), *Science* 239, 1988, págs. 487-491.

Mutagênese dirigida ao sítio

5 Uma vez uma seqüência de DNA codificando uma cutinase tenha sido isolada e sítios desejáveis para mutação identificados, mutações podem ser introduzidas usando-se oligonucleotídeos sintéticos. Estes oligonucleotídeos contêm seqüências de nucleotídeos flanqueando os sítios de mutação desejados. Em um processo específico, um intervalo de DNA de
10 filamento único, a seqüência codificando-cutinase, é criado em um vetor contendo o gene de cutinase. Em seguida o nucleotídeo sintético, contendo a mutação desejada, é recozido em um porção homóloga do DNA de filamento único. O intervalo restante é então enchido com polimerase de DNA I (fragmento de Klenow) e o constructo é ligado usando-se ligase T4. Um
15 exemplo específico deste processo é descrito em Morinaga e outros (1984), *Biotechnology* 2, págs. 646-639. A US 4.760.025 descreve a introdução de oligonucleotídeos codificando múltiplas mutações pela realização de alterações menores do cassette. Entretanto, uma variedade mesmo maior de mutações pode ser introduzida a qualquer tempo pelo processo de Morinaga,
20 porque uma multidão de oligonucleotídeos, de vários comprimentos, pode ser introduzida.

 Outro processo para introduzir mutações dentro de seqüências de DNA codificando cutinase é descrito em Nelson e Long (1989), *Analytical Biochemistry* 180, p. 147-151. Ele envolve a geração de 3-etapas de um
25 fragmento PCR contendo a desejada mutação introduzida utilizando-se um filamento de DNA quimicamente sintetizado como um dos imprimadores das reações PCR. Do fragmento PCR-gerado, um fragmento de DNA contendo a mutação pode ser isolado por clivagem com endonucleases de restrição e reinserido dentro de um plasmídeo de expressão.

Expressão de variantes de cutinase

De acordo com a invenção, uma seqüência de DNA codificando a variante produzida por processos descritos acima ou por quaisquer processos alternativos conhecidos na arte, pode ser expressa, em forma de enzima, usando-se um vetor de expressão que tipicamente inclui seqüências de controle codificando um promotor, operador, sítio de ligação de ribossomo, sinal de início de tradução e, opcionalmente, um gene repressor ou vários genes ativadores.

Vetor de expressão

O vetor de expressão recombinante contendo a seqüência de DNA codificando uma variante de cutinase da invenção pode ser qualquer vetor que possa, convenientemente, ser submetido a procedimentos de DNA recombinante, e a escolha do vetor com freqüência dependerá da célula hospedeira dentro da qual é para ser introduzido. O vetor pode ser um que, quando introduzido dentro de uma célula hospedeira, seja integrado dentro do genoma da célula hospedeira e replicado junto com o(s) cromossomo(s) dentro do(s) qual(ais) foi integrado. Exemplos de vetores de expressão adequados incluem pMT838.

Promotor

No vetor, a seqüência de DNA deve ser operavelmente conectada a uma seqüência de promotor adequada. O promotor pode ser qualquer seqüência de DNA que apresente atividade transcricional na célula hospedeira de escolha e pode ser derivada de genes codificando proteínas homólogas ou heterólogas para a célula hospedeira.

Exemplos de promotores adequados para direcionar a transcrição da seqüência de DNA codificando uma variante de cutinase da invenção, especialmente em um hospedeiro bacteriano, são o promotor do opéron *lac* de *E.coli*, os promotores *dagA* do gene de agarase de *Streptomyces coelicolor*, os promotores do gene da α -amilase (*amyL*) do

Bacillus licheniformis, os promotores do gene de amilase maltogênica (*amyM*) do *Bacillus stearothermophilus* os promotores da α -amilase (*amyQ*) do *Bacillus amyloliquefaciens*, os promotores dos genes *xyIA* e *xyIB* do *Bacillus subtilis* etc. Para transcrição em um hospedeiro fúngico, exemplos de promotores úteis são aqueles derivados do gene codificando A amilase TAKA de *A. oryzae*, o promotor TPI (triose fosfato isomerase) de *S. cerevisiae* (Alber e outros (1982), J. Mol. Appl. Genet 1, págs. 419-434, aspartica proteinase de *Rhizomucor miehei*, α -amilase neutra de *A. niger*, α -amilase estável em ácido de *A. niger*, glucoamilase de *A. niger*, lipase de *Rhizomucor miehei*, protease alcalina de *A. oryzae*, triose fosfato isomerase de *A. oryzae* ou acetamidase de *A. nidulans*.

Vetor de expressão

O vetor de expressão da invenção pode também compreender um terminador de transcrição adequado e, em eucariotos, seqüências de poliadenilação operavelmente conectadas a seqüência de DNA codificando a variante de α -amilase da invenção. Seqüências de trminação e poliadenilação podem adequadamente ser derivadas das mesmas fontes do promotor.

O vetor pode ainda compreender uma seqüência de DNA possibilitando o vetor replicar-se na célula hospedeira em questão. Exemplos de tais seqüências são as origens de replicação dos plasmídeos pUC19, pACY177, pUB110, pE194, pAMB1 e pIJ702.

O vetor pode também compreender um marcador selecionável, p. ex., um gene cujo produto complementa um defeito da célula hospedeira, tal como os genes *dal* de *B. subtilis* ou *B. licheniformis*, ou um que confira resistência a antibiótico, tal como ampicilina, canamicina, cloramfenicol ou resistência a tetraciclina. Além disso, o vetor pode compreender marcadores de seleção de *Aspergillus*, tais como *amdS*, *argB*, *niaD* e *sC*, um marcador dando origem a resistência a higromicina, ou a seleção pode ser realizada por cotransformação, p. ex., como descrito em WO 91/17243.

Os procedimentos usados para ligar o constructo de DNA da invenção codificando uma variante de cutinase, o promotor, terminador e outros elementos, respectivamente, e para inseri-los dentro de vetores adequados contendo a informação necessária para replicação, são bem conhecidos das pessoas hábeis na arte (cf., por exemplo, Sambrook e outros, 5 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2a. Ed., Cold Spring Harbor, 1989).

Células Hospedeiras

A célula da invenção, compreendendo um constructo de DNA 10 ou um vetor de expressão da invenção como definidos acima, é vantajosamente usada como uma célula hospedeira na produção recombinante de uma variante de cutinase da invenção. A célula pode ser transformada com o constructo de DNA da invenção codificando a variante, convenientemente integrando o constructo de DNA (em uma ou mais cópias) 15 dentro do cromossomo hospedeiro. Esta integração é geralmente considerada ser uma vantagem quando a seqüência de DNA for mais provável ser estavelmente mantida na célula. A integração dos constructos de DNA dentro do cromossomo hospedeiro pode ser realizada de acordo com processos convencionais, p. ex., por recombinação homóloga ou heteróloga. 20 Alternativamente, a célula pode ser transformada com um vetor de expressão como descrito acima com relação aos diferente tipos de células hospedeiras.

A célula da invenção pode ser uma célula de um organismo superior, tal como um mamífero ou um inseto, porém é preferivelmente uma célula microbiana, p. ex., uma célula bacteriana ou fúngica (incluindo 25 levedura).

Exemplos de bactérias adequadas são bactérias Gram positivas, tais como *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus alcalophilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus circulans*, *Bacillus lautus*,

Bacillus megaterium, *Bacillus thuringiensis* ou *Streptomyces lividans* ou *Streptomyces murinus*, ou bactérias gram-negativas, tais como *E. coli*. A transformação das bactérias pode, por exemplo, ser realizada por transformação de protoplasto ou utilizando-se células competentes em uma
5 maneira por si conhecida.

O organismo de levedura pode favoravelmente ser selecionado de uma espécie de *Saccharomyces* ou *Schizosaccharomyces*, p. ex., *Saccharomyces cerevisiae*.

A célula hospedeira pode também ser um fungo filamentosos, p. ex., uma cepa pertencente a uma espécie de *Aspergillus*, muitíssimo preferivelmente *Aspergillus oryzae* ou *Aspergillus niger*, ou uma cepa de *Fusarium*, tal como uma cepa de *Fusarium oxysporium*, *Fusarium graminearum* (no estado perfeito chamada *Gibberella zeae*, anteriormente *Sphaeria zeae*, sinônimo de *Gibberella roseum* e *Gibberella roseum* f. sp. *cerealis*), ou *Fusarium sulphureum* (no estado perfeito chamada *Gibberella puricaris*, sinônimo de *Fusarium trichothecioides*, *Fusarium bactridioides*, *Fusarium sambucium*, *Fusarium roseum* e *Fusarium roseum* var. *graminearum*), *Fusarium cerealis* (sinônimo de *Fusarium crokwellense*), ou *Fusarium venenatum*.

20 Em uma versão preferida da invenção, a célula hospedeira é uma cepa deficiente de protease ou sem protease.

Esta pode, por exemplo, ser a cepa deficiente de protease *Aspergillus oryzae* JaL 125, tendo o gene de protease alcalina chamado "alp" deletado. Esta cepa é descrita em WO 97/35956 (Novo Nordisk).

25 As células fúngicas filamentosas podem ser transformadas por um processo envolvendo formação de protoplasto e transformação dos protoplastos seguido por regeneração da parede celular de uma maneira por si conhecida. O uso de *Aspergillus* como um microorganismo hospedeiro é descrito na EP 238 023 (Novo Nordisk A/S), cujos conteúdos são por este

meio incorporados por referência.

Produção de variante de cutinase por cultivo de transformante

5 A invenção refere-se, entre outros, a um processo de produzir uma variante de cutinase da invenção, processo este compreendendo cultivar uma célula hospedeira sob condições condutivas para a produção da variante e recuperação da variante das células e/ou meio de cultura.

10 O meio usado para cultivar as células pode ser qualquer meio convencional adequado para cultivar a célula hospedeira em questão e obter expressão da variante de cutinase da invenção. Meios adequados estão disponíveis em fornecedores comerciais ou podem ser preparados de acordo com receitas publicadas (p. ex., como descrito nos catálogos da American Type Culture Collection).

15 A variante de cutinase secretada pelas células hospedeiras pode convenientemente ser recuperada do meio de cultura por procedimentos bem conhecidos, incluindo separação das células do meio por centrifugação ou filtragem e precipitando-se componentes proteicos do meio por intermédio de um sal tal como sulfato de amônio, seguido pelo uso de procedimentos cromatográficos tais como cromatografia de troca iônica, cromatografia de afinidade ou similares.

20 Expressão de variante em plantas

A presente invenção também refere-se a uma planta transgênica, parte de planta ou célula de planta que tenha sido transformada com uma seqüência de DNA codificando a variante da invenção, de modo a expressar e produzir esta enzima em quantidades recuperáveis. A enzima 25 pode ser recuperada da planta ou parte da planta. Alternativamente, a planta ou parte da planta contendo a enzima recombinante pode ser usada como tal.

A planta transgênica pode ser dicotiledônea ou monocotiledônea, abreviadamente uma dicot ou monocot. Exemplos de plantas monocot são gramíneas, tais como grama do prado (grama azul, Poa),

grama de forragem tal como *festuca*, *lolium*, grama moderada, tal como *Agrostis*, e cereais, p. ex., trigo, aveias, centeio, cevada, arroz, sorgo e milho.

Exemplos de plantas dicot são tabaco, legumes, tais como tremoços, batata, beterrama, ervilha, feijão e soja, e crucíferas (família Brassicaceae), tais como couve-flor, semente de colza oleaginosa e o organismo modelo estreitamente afim *Arabidopsis thaliana*.

Exemplos de partes de plantas são caule, calo, folhas, raiz, frutos, sementes e tubérculos. No presente contexto, também tecidos de plantas específicos, tais como cloroplasto, apoplasto, mitocôndrias, vacúolos, peroxissomos e citoplasma, são considerados serem uma parte de planta. Além disso, qualquer célula de planta, qualquer seja a origem do tecido, é considerada ser uma parte de planta.

Também incluídos dentro do escopo da invenção são a progênie de tais plantas, partes de planta e células de planta.

A planta ou célula de planta transgênica expressando a variante da invenção pode ser construída de acordo com processos conhecidos na arte. Em resumo, a planta ou célula de planta é construída incorporando-se um ou mais constructos de expressão codificando a enzima da invenção dentro do genoma hospedeiro da planta e propagando-se a resultante parte modificada ou célula de planta dentro de uma planta transgênica ou célula de planta.

Convenientemente, o constructo de expressão é um constructo de DNA que compreende um gene codificando a enzima da invenção em associação operável com seqüências reguladoras apropriadas, requeridas para expressão do gene na planta ou parte de planta de escolha. Além disso, o constructo de expressão pode compreender um marcador selecionável, útil para identificar células hospedeiras dentro das quais o constructo de expressão tenha sido integrado, e as seqüências de DNA necessárias para introdução do constructo dentro da planta em questão (o último depende do

processo de introdução do DNA a ser usado).

A escolha das seqüências reguladoras, tais como seqüências de promotor e terminador e, opcionalmente, seqüências de sinal ou seqüências de transito, é determinada, por ex., com base em quando, onde e
5 como a enzima é desejada ser expressa. Por exemplo, a expressão do gene codificando a enzima da invenção pode ser constitutiva ou indutível, ou pode ser desenvolvvente, específica de estágio ou tecido e o produto genético pode ser alvejado para um tecido específico ou parte de planta, tal como sementes ou folhas. As seqüências reguladoras são, p. ex., descritas por Tague e outros,
10 Plant, Phys., 86, 506, 1988.

Para expressão constitutiva o promotor 35S-CaMV pode ser usado (Franck e outros, 1980. Cell 21: 285-294). Promotores específicos de órgão podem, p. ex., ser um promotor de tecidos de armazenagem tais como sementes, tubérculos de batata e frutos (Edwards & Coruzzi, 1990, Annu.
15 Rev. Genet. 24: 275-303), ou de tecidos de bacia metabólica, tais como meristemas (Ito e outros, 1994, Plant Mol. Biol. 24: 863-878), um promotor específico de semente, tal como o promotor da glutelina, prolamina, globulina ou albumina do arroz (Wu e outros, Plant and Cell Physiology Vol. 39, No. 8, págs. 885-889 (1998)), um promotor *Vicia faba* da legumina B4 e
20 o gene de proteína de semente desconhecido da *Vicia faba* descrita por Conrad U. e outros, Journal of Plant Physiology Vol. 152, No. 6, págs. 708-711 (1998), um promotor de uma proteína corporal de óleo de semente (Chen e outros, Plant and cell physiology vol. 39, No. 9, págs. 935-941 (1998), o promotor napA de proteína de armazenagem de Brassica napus, ou qualquer
25 outro promotor específico de semente conhecido na arte, p. ex., como descrito em WO 91/14772. Além disso, o promotor pode ser um promotor específico de folha, tal como o promotor rbcS do arroz ou tomate (Kyozuka e outros, Plant Physiology Vol. 102, No. 3, págs. 991-1000 (1993), o promotor do gene de adenina metiltransferase do vírus clorela (Mitra, A. e Higgins,

DW, *Plant Molecular Biology* Vol. 26, No. 1, págs. 85-93 (1994), ou o promotor do gene aldP do arroz (Kagaya e outros, *Molecular e General Genetics* Vol. 248, No. 6, págs. 668-674 (1995) ou um promotor indutível de ferida tal como o promotor pin2 da batata (Xu e outros, *Plant Molecular Biology*, Vol. 22, No. 4, págs. 573-588 (1993).

Um elemento intensificador de promotor pode ser usado para obter-se expressão mais elevada da enzima da planta. Por exemplo, o elemento intensificador de promotor pode ser um intron que seja deslocado entre o promotor e a seqüência de nucleotídeos codificando a enzima. Por exemplo, Xu e outros, *op cit* descrevem o uso do primeiro intron do gene da actina do arroz 1 para aumentar a expressão.

O gene marcador selecionável e quaisquer outras partes do construto de expressão podem ser escolhidos daqueles disponíveis na arte.

O constructo de DNA é incorporado dentro do genoma da planta de acordo com técnicas convencionais conhecidas na arte, incluindo transformação mediada por *Agrobacterium*, transformação mediada por vírus, micro injeção, bombardeio de partículas, transformação biolística e eletroporação (Gasser e outros, *Science*, 244, 1293; Potrykus, *Bio/Techn.* 8, 535, 1990; Shimamoto e outros, *Nature*, 338d, 274, 1989).

Presentemente, a transferência do gene mediado por *Agrobacterium tumefaciens* é o processo de escolha para gerar dicots transgênicas (para revisão Hooykas & Schilperoort, 1992. *Plant Mol. Biol.* 19: 15-38); entretanto, ele pode também ser usado para transformar monocots, embora outros processos de transformação sejam geralmente preferidos para estas plantas. Presentemente, o processo de escolha para gerar monocots transgênicas é bombardeio de partículas (partículas de ouro ou tungstênio microscópicas, revestidas com o DNA transformante) dos *calli* embriônicos ou embriões em desenvolvimento (Christou, 1992, *Plant J.* 2: 275-281; Shimamoto, 1994. *Curr. Opin. Biotechnolo.* 5: 158-162; Vasil e

outros, 1992. Bio/Technology 10: 667-674). Um processo alternativo para transformação de monocots é baseado na transformação do protoplasto como descrito por Omirulleh S e outros, Plant Molecular Biology, Vol. 21, No. 3, págs. 415-428 (1993).

- 5 Em seguida à transformação, os transformantes tendo incorporado o constructo de expressão são selecionados e regenerados em plantas inteiras, de acordo com processos bem conhecidos na arte.

MATERIAIS E PROCESSOS

Plasmídeos

10 pJSO026

- Este é um plasmídeo de expressão de *S. cerevisiae*, descrito em WO 97/07205 e em J.S. Okkels (1996) "A URA-3-promoter deletion in um pYES vector increases the expression level da fungal lipase in *Saccharomyces cerevisiae*". Recombinant DNA Biotechnology III: The
15 Integration of Biological and Engineering Sciences, vol. 782 of the Annals of the New York Academy of Sciences).

pFuku83

- Este é uma levedura e vetor de lançadeira de *E. coli* para expressão da cutinase de *H. insolens* sob o controle de um promotor TPI,
20 construído de pJSO026.

Substrato

BETEB

- O bis(2-hidroxietil)éster dibenzoato do ácido tereftálico é aqui abreviado como BETEB (benzoil-etileno-tereftálico-eteleno-benzoadado). Ele
25 foi preparado do bis(2-hidroxietil) éster do ácido tereftálico e ácido benzóico.

Atividade da lipase (LU)

 Um substrato para lipase é preparado emulsificando-se tributirina (tributirato de glicerina), usando-se goma arábica como emulsificante. A hidrólise da tributirina a 30 °C em pH 7 é seguida em um

experimento de titulação de pH-estat. Uma unidade de atividade de lipase (1 LU) iguala a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol de ácido butírico/min nas condições padrão.

Calorimetria de varredura diferencial

5 Soluções amostra e de referência são cuidadosamente
desgaseificadas imediatamente antes à carga das amostras dentro do
calorímetro (referência: tampão sem enzima). As soluções amostra e de
referência (aprox. 0,5 ml) são termicamente preequilibradas por 20 minutos a
10 5 °C. A varredura DSC é realizada de 5 C a 95 C em uma taxa de varredura
de aproximadamente 90 k/h. As temperaturas de desnaturação são
determinadas em uma precisão de aproximadamente ± 1 C. Um VP-DSC da
Microcal Inc. é adequado para os experimentos.

Processos

Condições PCR

15 Etapa 1: 94 °C, 120 seg
 Etapa 2: 94 °C, 60 seg
 Etapa 3: 50 °C, 60 seg
 Etapa 4: 72 °C, 150 seg
 Vai para a etapa 2, 35 ciclos
20 Etapa 5: 72 °C, 480 seg
 Etapa 6: 4 °C, para sempre

EXEMPLOS

Exemplo 1: Preparação de variantes de cutinase

25 Uma seqüência de DNA codificando cutinase de *H. insolens*
foi obtida como descrito na US 5.827.719 (Novo Nordisk) e foi constatada ter
a seqüência de DNA como mostrada na SEQ ID NO:1 ali.

Variantes foram preparadas por mutagênese aleatória
localizada e seleção de clones positivos por incubação a 60 °C por 1 dia em
placas BETEB. As placas BETEB continham 200 ml/l de tampão de glicina

500 mM (pH 8,5), 1,25 g/l de BETEB (dissolvido em etanol quente) e 20 g/l de ágar.

Três variantes positivas foram isoladas e sua seqüência de aminoácidos foi determinada. Elas foram constatadas terem as seguintes modificações, em comparação com a cutinase de *H. insolens* precursora:

A14P + E47K

E47K

E179Q

Exemplo 2: Mutação direcionada ao sítio

10 Uma variante da cutinase de *H. insolens*, tendo as substituições E6Q+ E47K+ R51P foi preparada como segue:

Um par de imprimadores PCR foram projetados de modo a introduzir substituições amino ácidas, fazendo uso dos sítios de enzima de restrição existentes nas proximidades, como segue (um asterisco indica uma mutação introduzida):

Imprimador superior: E6Q F

cgg cag ctg gga gcc atc c*ag aac

Pvu II

Imprimador inferior: E47K,R51P

20 cgc cct gga tcc aga tgt tcg* gga tgt ggg act t*aa ggc

BamH I

A PCR foi realizada usando-se estes imprimadores e pFukuNL83 como um modelo sob a condição PCR descrita acima.

O fragmento PCR obtido foi purificado por Clontech Spinocolumn e digerido com *Pvu* II e *Bam*H I.

O fragmento resultante foi gel-purificado e ligado a pFuKuNL83, que tinha sido digerido com os mesmos sítios de enzima de restrição.

Exemplo 3: Termoestabilidae das variantes de cutinase

Variantes

A termoestabilidade foi testada como descrito abaixo para a cutinase de *H. insolens* e as seguintes suas variantes:

- 5 A14P+ E47K
 E47K
 E179Q
 E6Q+ E47K+ R51P
 A14P+ E47K+ E179Q
 E6Q+ A14P+ E47K+ R51p+ E179q
 10 E6Q+ E10Q+ A14P+ E47K+ R51P+ E179Q

Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

A termoestabilidade das variantes de cutinase foi investigada por meio de DSC em pH 4,5 (tampão de acetato 50 mM) e pH 8,5 (tampão de glicil-glicina 50 mM). A temperatura de desnaturação térmica, T_d , foi tirada como o topo do pico de desnaturação (pico endotérmico maior) em termogramas (C_p vs. T) obtido após aquecimento das soluções de enzima em uma taxa de aquecimento programada constante.

A cutinase precursora foi constatada ter t_d de 63 °C em pH 8,5. Seis das variantes acima foram constatadas terem T_d de 70-73 °C, isto é, uma melhora de 7-10 °C.

A cutinase precursora foi constatada ter uma T_d de 61 °C em pH 4,5. Cinco das variantes acima foram constatadas terem T_d de 64-66 °C, isto é, uma melhoria de 3-5 °C.

Hidrólise de BETEB

25 A termoestabilidade da cutinase de *H. insolens* e de duas das variantes acima foi medida por hidrólise de BETEB em temperatura elevada. Para cada cutinase, a seguinte mistura foi incubada por 17 horas em várias temperaturas na faixa de 55-70 °C.

0,1 ml de tampão glicil-glicina 0,5 M (pH 8,5)

0,1 ml de 0,5% BETEB dissolvido em etanol

0,1 ml de solução de enzima (aproximadamente 25 LU/ml)

0,7 ml de água Milli Q

O grau de hidrólise foi medido após a incubação. Os resultados são mostrados na tabela abaixo.

	Variante	Variante	Precursor
	27 LU/ml	25 LU/ml	24 LU/ml
55°C	98%	99%	72%
60°C	91%	83%	33%
65°C	66%	13%	7%

Estes resultados claramente mostram que as variantes têm melhorada termoestabilidade em comparação com a cutinase precursora.

Hidrólise de BETEB

A termoestabilidade da cutinase de *H. insolens* e de três das variantes acima foi medida por hidrólise de BETEB a 60 °C por 2 horas. A hidrólise foi realizada nas condições acima, exceto que a temperatura foi fixada a 60 °C e a dosagem de cutinase foi variada. Os resultados abaixo são mostrados na tabela abaixo.

LU/ml	Variante	Variante	Variante	Precursor
0	0%	0%	0%	0%
10	97%	99%	9%	6%
20	98%	99%	74%	
50	98%	94%	93%	15%
100	88%	69%	92%	34%
300				41%
600				63%
1200				82%

Os resultados mostram uma hidrólise muito mais rápida a 60 °C com as variantes do que com a cutinase precursora.

Exemplo 5: Hidrólise de c3ET

A cutinase de *H. insolens* e cinco das variantes acima foram testadas na hidrólise de c3ET em temperatura elevada. Para cada cutinase, a seguinte mistura foi incubada por 2 horas em várias temperaturas.

0,115 mg c3ET (0,1 ml de c3ET 2 mM dissolvido em HFIP foram colocados no vaso de reação. Solvente foi removido sob vácuo, então secado a 70 °C durante a noite.

0,1 ml de tampão de glicil-glicina 0,5 M (pH 8,5)

5 0,1 ml de solução de enzima (aproximadamente 600 LU/ml)

0,8 ml de água Milli Q

Após a incubação, 2 ml de 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) foram adicionados a cada mistura de reação, em seguida a proporção de hidrólise foi medida por HPLC. Os resultados mostrados na Fig 3
10 claramente indicam que as variantes têm melhorada termoestabilidade em comparação com a cutinase precursora.

Exemplo 5: Hidrólise de c3ET no fio

A termoestabilidade da cutinase de *H. insolens* e de cinco das variantes acima foi testada usando-se fio de poliéster contendo c3ET como
15 subproduto. A seguinte mistura de substrato foi preincubada a 60 ou 65 °C:

0,1 g fio de poliéster

0,2 ml tampão de glicil-glicina 0,5M (pH 8,5)

1,7 ml Água Milli Q

Após a preincubação, 0,1 ml de solução de enzima
20 (aproximadamente 1000 LU/ml) foi adicionado a cada vaso de reação e incubado por 17 horas. Em seguida 2 ml de HFIP foram adicionados e deixados por 30 minutos para extrair e hidrolisar c3ET sedimentando-se sobre a superfície do fio de poliéster; em seguida a proporção de hidrólise foi medida. Os resultados são mostrados na Fig. 4.

25 Vê-se que as variantes são mais eficazes do que a cutinase precursora para hidrolisar c3ET no fio de poliéster. Uma variante fornece proporção de hidrólise mais elevada a 65 °C do que a 60 °C.

Exemplo 6: Tratamento de fio com variante de cutinase

Os cursos de tempo da hidrólise C3ET no fio de poliéster em

diferente temperatura ou dosagem foram examinados. O curso de tempo em diferentes temperaturas é mostrado na Fig. 5. É visto que a temperatura ótima é 65 °C. A 70 °C há cerca de metade da atividade abandonada. O curso de tempo com dosagem de enzima aumentada é mostrado na Fig. 6. As curvas na dosagem 275 e 550 LU/ml são vistas serem iguais, indicando que a proporção de hidrólise alcançou o platô entre a dosagem de 100 a 275 LU/ml. Presumivelmente 200LU/ml é bastante.

Exemplo 7: Tingimento de poliéster com corante reativo

Os seguintes panos de poliéster foram tratados:

- 10 pano tecido; ca. 2 x 2 cm, 34 mg
 pano entrelaçado: ca. 1,5 x 1,5 cm, 50 mg

Cada pano foi embebido em 0,9 ml de tampão de GlyGly (glicil-glicina) 50 mM (pH 8,5) e 0,1 ml de solução de uma variante da cutinase de *H. insolens* (1100 LU/ml) e incubado a 65 ou 70 °C. Após um dia, 15 outro 0,1 ml de solução de enzima foi adicionado, a incubação foi continuada por mais dois dias, os panos foram então retirados e enxaguados em água. Um experimento comparativo foi feito com a cutinase precursora e um pedaço foi tratado da mesma maneira sem enzima.

Os panos foram agitados em uma mistura de 9g 120 g Na₂SO₄ e 60 g Na₂CO₃ em 3 litros de água deionizada a 60 °C por 30 min e em seguida enxaguados com água quente corrente. O corante reativo foi Celmazol Brilliant Blue B (produto da Mitsui Chemical Co., Japão), que tem a estrutura Cromóforo-NHPh-SO₂CH₂CH₂OSO₃Na.

Em todos os quatro experimentos (tecido e entrelaçado, 65 e 25 70 °C) os panos foram uniformemente tingidos.

Exemplo 8: Solubilização de fragmentos de poliéster de têxtil entrelaçado

Uma amostra de 1 x 1 de têxtil de poliéster entrelaçado (PET, polímero de etilenoglicol e ácido tereftálico) foi incubada por 1 hora em 1 ml de tampão em pH 10, 60 °C com 0,01 mg de uma variante de cutinase de *H.*

insolens. A mistura de reação foi separada e a liberação do ácido tereftálico foi verificada medindo-se OD a 250 nm (expresso como OD₂₅₀/mg PET). Experimentos comparativos foram feitos sem enzima ou com a cutinase precursora. Resultados:

	Enzima	OD ₂₅₀
Invenção	Variante de cutinase	4,5
Referência	Cutinase precursora	0,3
	Nenhuma	0,1

5 Os resultados mostram que a variante é eficaz em solubilizar o poliéster.

Em outro experimento, a variante de cutinase foi testada por 2 horas a 65 °C com e sem a adição de um tensoativo não-iônico (etoxilato de álcool, nome do produto Softanol 50), empregando-se várias quantidades da
10 variante de 0,5 a 200 LU/ml. Os resultados mostraram mais solubilização na presença de tensoativo não-iônico.

Exemplo 9: Hidrólise de policaprolactona e película de poliéster

Cerca de 0,1 g de policaprolactona ou película de poliéster foram colocados em tubos. Eles foram embebidos em 5 ml de tampão GlyGly
15 50 mM (pH 8,5) com ou sem uma variante de cutinase de *H. insolens* (450 LU). Eles foram incubados a 70 °C por 5 horas. Após a reação observamos uma fina camada de hidrolisato sobre a superfície dos tubos com enzima, tanto com policaprolactona como com película de poliéster. Por outro lado, nenhuma mudança foi observada nos controles sem enzima. No caso de
20 policaprolactona houve 10% de perda de peso. Não vimos mudança de peso do poliéster.

Exemplo 10: hidrólise de cPET

O desempenho de uma variante de cutinase foi comparado com o da enzima precursora (cutinase de *H. insolens*). Os testes foram feitos como
25 segue:

Um pedaço de pano manchado com oligômero de pano-PET

(preto) (aproximadamente 4 cm x 13 cm) é submetido ao tratamento enzimático em agitação relativamente baixa em um aparelho chamado mini-tergítômetro. O pano-PET é fixado sobre um suporte cilíndrico e perfurado (raio ca. 2 cm, altura ca. 6 cm), que gira em torno de seu eixo geométrico e com o lado manchado de oligômero do pano PET faceando o exterior do cilindro.

O pano é imerso em um béquer de vidro de 150 ml, contendo 100 ml da solução de tratamento em uma determinada temperatura (aqui 65 °C). Após um determinado tempo de tratamento (aqui 90 minutos) o pedaço de PET é removido do banho e enxaguado em água deionizada e secado ao ar.

Após condicionamento os pedaços de pano são visualmente classificados (com respeito à remoção da mancha de oligômero) no lado tendo a mancha de oligômero. A classificação sendo como segue:

- 2: Amostra significativamente pior do que a peça bruta (nenhuma enzima)
- 1: Amostra ligeiramente pior do que a peça bruta (nenhuma enzima)
- 0: Amostra não pode ser distinguida da peça bruta
- 1: Amostra ligeiramente melhorada vs peça bruta
- 2: Amostra significativamente melhorada em relação a peça bruta

Além disso, os pedaços de pano são lidos espectrofotometricamente (aparelho: Hunterlab Reflectometer) para quantificar a intensidade de cor (valor-K/S a 600 nm).

A tabela abaixo resume as condições de teste para uma prova comparando o desempenho das enzimas sob condições similares:

Temperatura:	65 °C
Tampão/pH:	tampão glicina 50 mM, pH 10,3

Tempo de tratamento (min) 90

Dosagem da Enzima (LU/g) 30.000

Os resultados da prova são resumidos abaixo

Enzima	Classificação visual (média)	Diferença K/S @ 600 nm
Nenhuma	0 (definido)	2,33
Cutinase precursora	0	2,38
Variante de cutinase	1,5-2,0	2,89

5 Por este conjunto de experimentos parece, assim, que a enzima precursora não fornece ou fornece somente efeito muito limitado nas dadas condições de teste (provavelmente porque a temperatura é demasiado alta para a enzima reter atividade), enquanto a variante de cutinase provê uma remoção substancial da mancha de oligômero do pano-PET.

Exemplo 11: hidrólise de cPET

10 O perfil de pH e temperatura de uma variante de cutinase de *H. insolens* foi testado em um experimento de tingimento disperso modelo. As provas foram realizadas como segue:

Um pedaço de pano de pano-PET (preto) manchado de oligômero é submetido às condições de uma seqüência de tingimento disperso típico em um Werner Mathis Labomat. Em resumo do processo, o
15 pedaço de pano é adicionado a uma solução de tampão, aquecido a 130 °C, esfriado à temperatura de tratamento. Enzima ou tampão é adicionado e então mantido na temperatura desejada por 30 minutos. A solução é esfriada à temperatura ambiente e a turbidez do licor de lavagem é medida. A redução
20 da turbidez é uma medida direta da atividade da cutinase, correspondendo aos oligômeros cPET hidrolisados.

Descrição detalhada do experimento:

A um pedaço de pano PET preto (apr. 4 cm x 13 cm) são adicionados 140 ml de tampão Britton-Robinson 100 mM, contendo 0,2 g/l
25 de Lutensol AT11 (BASF) e carregado no Labomat (32 rotações por minuto).

O Labomat é aquecido a 130 °C em um gradiente de 9

°C/minuto e mantido por 10 minutos.

Os béqueres são esfriados à temperatura de execução (de acordo com a tabela abaixo) em um gradiente de 9 °C/minuto e mantidos por 1 minuto.

5 10 ml de solução de enzima (100 LU/ml da variante) ou solução de tampão (0 LU/ml) em pH apropriado são injetados nos béqueres.

O Labomat é reaquecido à temperatura em um gradiente de 2 °C/min, e mantido por 30 minutos.

10 Os pedaços de pano são removidos e o licor de lavagem é esfriado à temperatura ambiente.

A turbidez dos licores de lavagem é medida.

15 Avaliação: A turbidez é medida em Hach 18900 Ratio Turbidimeter (padronizado com Padrões de Turbidez de 1,8, 18 e 180 NTU). O desempenho da enzima é calculado em relação a uma peça bruta como a diferença entre a turbidez do licor bruto (sem enzima) e a turbidez do licor tratado com enzima.

20 O desempenho relativo (redução de turbidez) da variante de cutinase é calculado e os resultados são mostrados na seguinte tabela. Quando um número negativo é obtido, então o resultado é dado como “negativo”. Um número negativo é suposto como sendo um artefato, causado pela variação do arranjo.

Temperatura	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
60°C	39	57	37	14
65°C	39	16	60	30
70°C	25	12	54	33
75°C	22	50	114	58
85°C	negativo	negativo	15	negativo

Os resultados mostram que a variante de cutinase é ativa em uma larga faixa de pH e temperatura, com remoção ótima de oligômero no atual arranjo em torno de pH 9 e 85 °C.

25 Exemplo 12: hidrólise de cPET

O efeito do tempo de tratamento foi investigado para uma variante de cutinase de *H. insolens* em um experimento de tingimento disperso modelo. As provas foram realizadas como segue:

Um pedaço de pano manchado de oligômero, de pano-PET (preto), é submetido às condições de uma seqüência de tingimento dispersa típica em um Werner Mathis Labomat. Em resumo do processo, o pedaço de pano é adicionado a uma solução de tampão, aquecido a 130 °C, esfriado à temperatura de tratamento. A enzima ou tampão (Britton-Robinson 100 mM, pH 9) é adicionado e então mantido a 75 °C por 0-40 minutos. A solução é esfriada à temperatura ambiente e a turbidez do licor de lavagem é medida. A redução de turbidez é uma medida direta da atividade de cutinase, correspondendo aos oligômeros cPET hidrolisados.

Descrição detalhada do experimento

Um pedaço de pano PET preto (ap. 4 cm x 13 cm) é adicionado a 140 ml de tampão Britton-Robinson 100 mM contendo 0,2 g/l Lutensol AT11 (BASF) e carregado no Labomat (32 rotações por minuto).

O Labomat é aquecido a 130 °C em um gradiente de 9 °C/min e a temperatura é mantida por 10 minutos.

Os béqueres são esfriados a 75 °C em um gradiente de 9 °C/min e mantido por 1 minuto.

10 ml de solução de enzima (100 LU/ml de variante) ou tampão Britton-Robinson 100 mM, pH 9,0 (0 LU/ml), são injetados dentro dos béqueres.

O Labomat é reaquecido a 75 °C em um gradiente de 2 °C/min, e mantido durante o número apropriado de minutos (0-40 minutos, vide tabela abaixo).

Os pedaços de pano são removidos e o licor de lavagem é esfriado à temperatura ambiente.

A turbidez dos licores de lavagem é medida.

Avaliação: A turbidez é medida em Hach 18900 Ratio Turbidimeter (padronizado com Padrões de Turbidez de 1,8, 18 e 180 NTU). O desempenho da enzima é calculado em relação a uma peça bruta no tempo igual a zero: A turbidez do licor bruto no tempo zero (sem enzima) subtraiu a

5 turbidez do licor tratado com enzima (em um determinado tempo).

O desempenho relativo (redução de turbidez) da variante de cutinase foi calculado e os resultados são mostrados na seguinte tabela.

Tempo (minutos)	Desempenho relativo (redução de turbidez)
0	0
5	42
10	48
15	62
20	69
25	85
30	72
40	78

Os resultados mostram que o efeito da enzima é aumentado

10 durante o tempo. Na atual dose de enzima e concentração de oligômero, parece nivelar-se acima de ap. 20 minutos.

Exemplo 13: Modificação de fibra

O efeito sobre as características de umedecimento de um pano de poliéster tingido disperso foi investigado tratando-se o pano com uma

15 variante de cutinase de *H. insolens* antes do tingimento. O experimento, portanto, consistiu de duas fases, a atual modificação de fibra e o procedimento de tingimento disperso.

Fase 1 - Modificação da Fibra:

Equipamento: Atlas Launder-O-meter LP2

20 Pano: poliéster 100% limpadado entrelaçado da Testfabrics

pH: tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7

Abrasivos: 5 grandes bolas de aço

Vol. Béquer: 120 ml

Tratamento: 2 horas 65 °C em seguida elevada até 90 °C
e mantida por 1 hora

Prep. pedaço de pano: Corte 3* 1,5 g pedaço de pano, 3 por béquer = 4,5 g

5 Enxágüe:

Enxágüe em água deionizada.

Fase 2 - Tingimento - corante disperso:

Solução de tingimento:

10 Adicionar junto com água deionizada para produzir relação de
licor 1:20-0,4% Dianix Red (DyStar) SE-CB (owf)
pH 4,5 - 5

Procedimento de Tingimento:

15 1. Um pedaço de pano por tratamento da modificação de
fibra é usado para o tingimento (1,5 g/pedaço de pano é usado para o cálculo
da relação de licor).

2. Preparar o banho de tingimento de acordo com a receita
acima. Adicionar a solução de corante fria nos béqueres de Labomat e
aquecer a 55 °C em um gradiente de 3,5 °C/minuto. Manter durante 5 minutos
uma vez a temperatura tenha sido alcançada.

20 3. Adicionar o pano ao béquer.

4. Elevar a temperatura a 130 °C em um gradiente de 1,5
°C/minuto. Tingir por 30 minutos.

15 5. Esfriar a 70 °C em um gradiente de 5 °C/min. Banho de
gota, porém coletar e enxaguar o pano quente (60 °C) por 10 minutos. Seguir
o enxágüe quente com um enxágüe de transbordamento à temperatura
ambiente até toda a sangria ter parado.

6. Deixar secar ao ar durante a noite.

Testes/Análise

Processo de Teste AATCC 61 - Fixação da cor na lavagem

Exaustão Percentual do Banho de Lavagem -

Espectrofotômetro

K/S e L* - Reflectômetro

Teste de Gotejamento AATCC TM-79

5

Resultados:

Os resultados da modificação da fibra são mostrados na seguinte tabela.

Dosagem variante	Manchamento (AATCC TM-61)	Mudança de cor (K/S @ 530 antes e após TM-61)	Teste de Gotejamento (AATCC TM-79)
Peça bruta	4,5	5	53 seg
50 LU/ml	4,5	5	18 seg
100 LU/ml	4,5	5	15 seg

Os resultados mostram que o tratamento do poliéster com a variante aumenta o umedecimento substancialmente. Não são notados efeitos adversos sobre a tingibilidade com o corante disperso no atual arranjo.

Exemplo 14: Redução do mal odor em têxteis sujos com suor humano/sebo pelo uso de uma variante de cutinase em lavagem de roupa

O desempenho da cutinase, com respeito à redução do mal odor, pode ser testada em uma prova de lavagem de um ciclo, realizada em um Terg-O-tometer.

Condições experimentais:

Licor de lavagem: 1000 ml por béquer

Pedaços de pano: 100 % poliéster (entrelaçado, previamente limpo por extração Soxhlet). 24 pedaços de pano (3,3 x 3,5 cm) por béquer.

Sujeira: Suor axilar masculino humano e sebo aplicado por esfregamento das axilas após exercício.

Detergente: 5 g/l de um detergente colorido padrão. Nenhum ajuste de pH.

Dureza da água: 3,2 mM $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ (em uma relação de 5:1)

Temperatura de lavagem: 30 °C

Tempo de lavagem: 30 min

Enxágüe: 15 minutos em água de bica corrente.

5 Avaliação:

Após lavagem, os pedaços de pano úmido são colocados em copos de 200 ml coloridos, fechado. Um painel sensorial treinado (9-11 juízes) avaliam o odor cheirando o espaço aéreo sobre as amostras úmidas e avalia a intensidade total do odor. A intensidade de odor é anotada colocando-se uma marca em uma escala de linha não-estruturada medindo 15 cm, com âncoras de palavra em cada extremidade (“nada” no início da escala e ‘muito forte’ no final). Todas as avaliações são realizadas duas vezes. Os pedaços de pano são avaliados no dia 1, 2 e 3 após a lavagem (os pedaços de pano são mantidos dentro dos vidros todas as vezes).

REIVINDICAÇÕES

1. Variante de uma cutinase de cepa DSM 1800 de *Humicola insolens* precursora com sequência de aminoácido da SEQ ID NO: 2, caracterizada pelo fato de:

- 5 a) ter 1-20 alterações na sequência de aminoácidos da precursora;
- b) ter substituições que correspondam a uma das seguintes no peptídeo maduro da SEQ ID NO: 2:
- (i) A14P+E47K,
- 10 (ii) E47K,
- (iii) E179N/Q,
- (iv) E6N/Q+E47K+R51P,
- (v) A14P+E47K+E179N/Q,
- (vi) E6N/Q+A14P+E47K+R51P+E179N/Q, ou
- 15 (vii) E6N/Q+E10N/Q+A14P+E47K+R51P+E179N/Q; e
- c) ser mais termoestável do que a cutinase precursora.

2. Sequência de DNA, caracterizada pelo fato de compreender a sequência de DNA de SEQ ID NO: 1 mutada para codificar a variante de cutinase, tendo mutações correspondendo a uma das seguintes:

- 20 (i) para a variante A14P+E47K,
- o códon de DNA “gcc” que codifica para Ala (A) na posição 14 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e
- o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição
- 25 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K);
- (ii) para a variante E47K,
- o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição
- 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA

“aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K);

(iii) para a variante E179N/Q,

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 179 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA

5 “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q);

(iv) para a variante E6N/Q + E47K + R51P,

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 6 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA

10 “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K); e

15 o códon de DNA “cgg” que codifica para Arg (R) na posição 51 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P);

(v) para a variante A14P + E47K + E179N/Q,

o códon de DNA “gcc” que codifica para Ala (A) na posição 14 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA

20 “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K); e

25 o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 179 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q);

(vi) para a variante E6N/Q+A14P+E47K+R51P+E179N/Q,

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 6 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q); e

5 o códon de DNA “gcc” que codifica para Ala (A) na posição 14 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA
10 “aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K); e

o códon de DNA “cgg” que codifica para Arg (R) na posição 51 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA
DNA “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição
15 179 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q);

(vii) para a variante
E6N/Q+E10N/Q+A14P+E47K+R51P+E179N/Q,

20 o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 6 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição
25 10 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q); e

o códon DNA “gcc” que codifica para Ala (A) na posição 14 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA

“cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 47 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “aaa” ou “aag” que codificam para Lys (K); e

5 o códon de DNA “cgg” que codifica para Arg (R) na posição 51 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA “cct”, “ccc”, “cca” ou “ccg” que codificam para Pro (P); e

o códon de DNA “gag” que codifica para Glu (E) na posição 179 no peptídeo maduro de SEQ ID NO: 2 é mutado para os códons de DNA
10 “aat” ou “aac” que codificam para Asn (N); ou para os códons de DNA “caa” ou “cag” que codificam para Gln (Q).

3. Vetor, caracterizado pelo fato de compreender a sequência de DNA como definida na reivindicação 2.

4. Célula hospedeira microbiana transformada, caracterizada
15 pelo fato de abrigar a sequência de DNA como definida na reivindicação 2.

5. Processo para produzir a variante como definida na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de compreender

a) cultivar a célula hospedeira como definida na reivindicação 4, de modo a expressar e, preferivelmente, secretar a variante, e

20 b) recuperar a variante.

6. Processo para hidrólise enzimática de um oligômero cíclico de poli(etileno tereftalato), caracterizado pelo fato de compreender tratar o oligômero cíclico com a variante de cutinase fúngica como definida na reivindicação 1.

25 7. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de o oligômero cíclico ser tri(etileno tereftalato) cíclico.

8. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de o tratamento ser realizado a 60-80°C.

9. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado

pelo fato de o oligômero cíclico estar presente nas fibras de um pano ou fio contendo poliéster.

5 10. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de compreender adicionalmente enxaguar subsequentemente o pano ou fio.

11. Processo para tingir pano ou fio de poliéster, caracterizado pelo fato de compreender:

- 10 a) tratar o pano ou fio com a variante como definida em na reivindicação 1, e
b) tingir o pano tratado com um corante reativo ou um corante disperso.

12. Processo para melhorar o acabamento funcional de um fio ou pano contendo PET, caracterizado pelo fato de compreender

- 15 a) tratar o fio ou pano com a variante como definida na reivindicação 1, e
b) subsequentemente tratar o fio ou pano com um agente de acabamento selecionado do grupo consistindo de amaciantes, resinas anti-rugas, agentes anti-estáticos, agentes anti-sujeira.

20 13. Composição detergente, caracterizada pelo fato de compreender um tensoativo e a variante como definida na reivindicação 1.

Fig. 1

Estrutura 3D de cutinase de *Humicola insolens* - Átomo

ATOM	1	N	GLY	A	3	24.424	-7.935	18.390	1.00	46.73
ATOM	2	CA	GLY	A	3	23.848	-8.994	17.546	1.00	42.29
ATOM	3	C	GLY	A	3	24.396	-10.112	16.727	1.00	37.35
ATOM	4	O	GLY	A	3	25.347	-10.913	16.728	1.00	35.38
ATOM	5	N	ALA	A	4	23.664	-10.625	15.797	1.00	34.53
ATOM	6	CA	ALA	A	4	23.051	-10.874	14.555	1.00	30.95
ATOM	7	C	ALA	A	4	21.574	-11.246	14.920	1.00	28.33
ATOM	8	O	ALA	A	4	20.677	-10.499	14.446	1.00	22.94
ATOM	9	CB	ALA	A	4	23.574	-11.780	13.556	1.00	26.92
ATOM	10	N	ILE	A	5	21.583	-12.058	16.043	1.00	26.48
ATOM	11	CA	ILE	A	5	20.281	-12.289	16.637	1.00	25.65
ATOM	12	C	ILE	A	5	20.316	-12.151	18.118	1.00	22.40
ATOM	13	O	ILE	A	5	21.060	-12.888	18.717	1.00	24.74
ATOM	14	CB	ILE	A	5	19.724	-13.683	16.524	1.00	26.04
ATOM	15	CG1	ILE	A	5	19.852	-13.927	15.050	1.00	29.85
ATOM	16	CG2	ILE	A	5	18.374	-13.558	17.159	1.00	20.48
ATOM	17	CD1	ILE	A	5	19.066	-15.133	14.709	1.00	27.96
ATOM	18	N	GLU	A	6	19.461	-11.377	18.668	1.00	20.52
ATOM	19	CA	GLU	A	6	19.207	-11.015	20.040	1.00	17.94
ATOM	20	C	GLU	A	6	17.711	-11.027	20.432	1.00	17.76
ATOM	21	O	GLU	A	6	16.931	-10.165	19.990	1.00	17.60
ATOM	22	CB	GLU	A	6	19.809	-9.614	20.199	1.00	14.22
ATOM	23	CG	GLU	A	6	21.232	-9.374	20.385	1.00	16.71
ATOM	24	CD	GLU	A	6	22.148	-10.387	21.030	1.00	34.47
ATOM	25	OE1	GLU	A	6	21.634	-11.347	21.693	1.00	49.57
ATOM	26	OE2	GLU	A	6	23.410	-10.310	20.975	1.00	37.43
ATOM	27	N	ASN	A	7	17.375	-11.895	21.333	1.00	21.67
ATOM	28	CA	ASN	A	7	16.070	-11.854	21.846	1.00	24.04
ATOM	29	C	ASN	A	7	15.927	-11.488	23.238	1.00	22.08
ATOM	30	O	ASN	A	7	15.098	-12.179	23.820	1.00	24.00
ATOM	31	CB	ASN	A	7	15.468	-13.307	21.820	1.00	25.06
ATOM	32	CG	ASN	A	7	15.039	-13.160	20.341	1.00	38.52
ATOM	33	OD1	ASN	A	7	15.519	-14.147	19.759	1.00	48.45
ATOM	34	ND2	ASN	A	7	14.318	-12.081	19.968	1.00	36.89
ATOM	35	N	GLY	A	8	16.671	-10.813	23.926	1.00	23.56
ATOM	36	CA	GLY	A	8	16.654	-10.628	25.363	1.00	23.69
ATOM	37	C	GLY	A	8	15.366	-10.247	25.984	1.00	22.72
ATOM	38	O	GLY	A	8	14.967	-10.939	26.867	1.00	32.25
ATOM	39	N	LEU	A	9	14.785	-9.144	25.755	1.00	23.61
ATOM	40	CA	LEU	A	9	13.470	-8.753	26.033	1.00	23.73
ATOM	41	C	LEU	A	9	12.559	-9.961	25.782	1.00	25.93
ATOM	42	O	LEU	A	9	11.494	-10.054	26.480	1.00	30.47
ATOM	43	CB	LEU	A	9	12.971	-7.621	25.105	1.00	5.84
ATOM	44	CG	LEU	A	9	11.556	-7.227	25.470	1.00	23.25
ATOM	45	CD1	LEU	A	9	11.422	-6.765	26.968	1.00	20.21
ATOM	46	CD2	LEU	A	9	11.009	-6.071	24.714	1.00	17.64
ATOM	47	N	GLU	A	10	12.775	-10.786	24.773	1.00	29.56

ATOM	48	CA	GLU	A	10	11.635	-11.681	24.484	1.00	33.93
ATOM	49	C	GLU	A	10	11.640	-12.872	25.412	1.00	32.18
ATOM	50	O	GLU	A	10	10.600	-13.159	25.996	1.00	36.67
ATOM	51	CB	GLU	A	10	11.513	-11.996	23.012	1.00	40.97
ATOM	52	CG	GLU	A	10	10.054	-12.303	22.745	1.00	51.96
ATOM	53	CD	GLU	A	10	9.570	-11.711	21.437	1.00	54.08
ATOM	54	OE1	GLU	A	10	10.488	-11.440	20.635	1.00	48.22
ATOM	55	OE2	GLU	A	10	8.323	-11.643	21.471	1.00	52.39
ATOM	56	N	SER	A	11	12.822	-13.334	25.688	1.00	29.58
ATOM	57	CA	SER	A	11	12.993	-14.455	26.645	1.00	35.25
ATOM	58	C	SER	A	11	13.403	-14.012	28.047	1.00	39.86
ATOM	59	O	SER	A	11	13.688	-14.790	28.919	1.00	43.72
ATOM	60	CB	SER	A	11	14.053	-15.364	25.983	1.00	33.73
ATOM	61	OG	SER	A	11	15.275	-14.620	25.928	1.00	46.98
ATOM	62	N	GLY	A	12	13.467	-12.802	28.456	1.00	41.40
ATOM	63	CA	GLY	A	12	13.841	-12.332	29.752	1.00	45.34
ATOM	64	C	GLY	A	12	12.673	-12.562	30.694	1.00	47.62
ATOM	65	O	GLY	A	12	11.485	-12.335	30.335	1.00	50.76
ATOM	66	N	SER	A	13	12.969	-12.900	31.936	1.00	48.09
ATOM	67	CA	SER	A	13	11.974	-13.158	32.995	1.00	45.26
ATOM	68	C	SER	A	13	11.509	-11.933	33.772	1.00	39.53
ATOM	69	O	SER	A	13	12.563	-11.204	33.992	1.00	36.30
ATOM	70	CB	SER	A	13	12.708	-14.006	34.101	1.00	51.20
ATOM	71	OG	SER	A	13	12.006	-13.947	35.338	1.00	57.14
ATOM	72	N	ALA	A	14	10.256	-11.785	34.214	1.00	35.22
ATOM	73	CA	ALA	A	14	10.068	-10.530	34.964	1.00	34.78
ATOM	74	C	ALA	A	14	10.574	-10.620	36.417	1.00	37.51
ATOM	75	O	ALA	A	14	10.809	-9.584	37.113	1.00	38.41
ATOM	76	CB	ALA	A	14	8.714	-9.915	34.903	1.00	32.71
ATOM	77	N	ASN	A	15	11.039	-11.834	36.737	1.00	38.85
ATOM	78	CA	ASN	A	15	11.715	-12.086	37.963	1.00	43.49
ATOM	79	C	ASN	A	15	13.073	-11.411	37.953	1.00	46.45
ATOM	80	O	ASN	A	15	13.453	-11.022	39.022	1.00	52.50
ATOM	81	CB	ASN	A	15	12.088	-13.533	38.207	1.00	53.08
ATOM	82	CG	ASN	A	15	10.772	-14.226	38.553	1.00	71.86
ATOM	83	OD1	ASN	A	15	9.837	-13.535	38.998	1.00	71.73
ATOM	84	ND2	ASN	A	15	10.866	-15.523	38.267	1.00	77.71
ATOM	85	N	ALA	A	16	13.712	-11.305	36.812	1.00	46.73
ATOM	86	CA	ALA	A	16	14.915	-10.470	36.743	1.00	41.22
ATOM	87	C	ALA	A	16	15.031	-9.286	35.798	1.00	36.70
ATOM	88	O	ALA	A	16	16.027	-9.254	35.075	1.00	37.67
ATOM	89	CB	ALA	A	16	15.903	-11.545	36.301	1.00	41.80
ATOM	90	N	CYS	A	17	14.300	-8.227	35.843	1.00	30.62
ATOM	91	CA	CYS	A	17	14.614	-7.093	34.997	1.00	31.78
ATOM	92	C	CYS	A	17	16.024	-6.579	35.149	1.00	32.94
ATOM	93	O	CYS	A	17	16.744	-6.850	36.113	1.00	39.10
ATOM	94	CB	CYS	A	17	13.679	-5.881	35.138	1.00	28.00
ATOM	95	SG	CYS	A	17	12.048	-6.583	34.858	1.00	24.72

ATOM	96	N	PRO	A	18	16.529	-5.910	34.092	1.00	30.49
ATOM	97	CA	PRO	A	18	17.994	-5.626	33.971	1.00	22.04
ATOM	98	C	PRO	A	18	18.178	-4.138	34.241	1.00	20.15
ATOM	99	O	PRO	A	18	17.085	-3.459	34.370	1.00	17.83
ATOM	100	CB	PRO	A	18	18.353	-6.003	32.559	1.00	19.20
ATOM	101	CG	PRO	A	18	17.044	-6.595	32.101	1.00	20.16
ATOM	102	CD	PRO	A	18	15.903	-5.936	32.792	1.00	24.35
ATOM	103	N	ASP	A	19	19.428	-3.652	34.011	1.00	14.85
ATOM	104	CA	ASP	A	19	19.451	-2.168	34.226	1.00	16.59
ATOM	105	C	ASP	A	19	18.739	-1.367	33.156	1.00	20.42
ATOM	106	O	ASP	A	19	18.311	-0.242	33.430	1.00	23.84
ATOM	107	CB	ASP	A	19	20.896	-1.818	34.485	1.00	27.25
ATOM	108	CG	ASP	A	19	21.433	-2.389	35.793	1.00	42.30
ATOM	109	OD1	ASP	A	19	21.162	-3.549	36.297	1.00	53.52
ATOM	110	OD2	ASP	A	19	22.251	-1.719	36.543	1.00	54.02
ATOM	111	N	ALA	A	20	18.646	-1.780	31.895	1.00	20.18
ATOM	112	CA	ALA	A	20	18.066	-1.036	30.809	1.00	17.43
ATOM	113	C	ALA	A	20	17.713	-2.087	29.703	1.00	16.06
ATOM	114	O	ALA	A	20	18.334	-3.172	29.860	1.00	9.45
ATOM	115	CB	ALA	A	20	18.975	-0.048	30.100	1.00	12.07
ATOM	116	N	ILE	A	21	16.814	-1.602	28.829	1.00	8.47
ATOM	117	CA	ILE	A	21	16.657	-2.583	27.753	1.00	9.23
ATOM	118	C	ILE	A	21	16.952	-1.745	26.486	1.00	14.77
ATOM	119	O	ILE	A	21	16.681	-0.473	26.403	1.00	12.01
ATOM	120	CB	ILE	A	21	15.208	-2.984	27.837	1.00	16.28
ATOM	121	CG1	ILE	A	21	14.851	-3.898	28.956	1.00	15.55
ATOM	122	CG2	ILE	A	21	14.689	-3.671	26.514	1.00	13.71
ATOM	123	CD1	ILE	A	21	13.401	-3.879	29.372	1.00	6.12
ATOM	124	N	LEU	A	22	17.432	-2.451	25.391	1.00	12.24
ATOM	125	CA	LEU	A	22	17.665	-1.774	24.087	1.00	11.27
ATOM	126	C	LEU	A	22	16.849	-2.517	23.038	1.00	14.60
ATOM	127	O	LEU	A	22	16.908	-3.781	22.850	1.00	9.78
ATOM	128	CB	LEU	A	22	19.087	-1.865	23.693	1.00	10.96
ATOM	129	CG	LEU	A	22	19.493	-1.543	22.257	1.00	10.32
ATOM	130	CD1	LEU	A	22	19.311	-0.081	21.900	1.00	4.72
ATOM	131	CD2	LEU	A	22	20.990	-1.842	22.156	1.00	7.42
ATOM	132	N	ILE	A	23	16.038	-1.815	22.242	1.00	15.13
ATOM	133	CA	ILE	A	23	15.298	-2.459	21.115	1.00	18.06
ATOM	134	C	ILE	A	23	15.916	-1.771	19.901	1.00	17.42
ATOM	135	O	ILE	A	23	16.117	-0.519	19.795	1.00	19.31
ATOM	136	CB	ILE	A	23	13.820	-2.194	21.392	1.00	18.16
ATOM	137	CG1	ILE	A	23	13.208	-3.076	22.447	1.00	14.23
ATOM	138	CG2	ILE	A	23	12.787	-2.167	20.247	1.00	13.19
ATOM	139	CD1	ILE	A	23	12.142	-2.065	22.976	1.00	20.41
ATOM	140	N	PHE	A	24	16.218	-2.548	18.940	1.00	14.59
ATOM	141	CA	PHE	A	24	16.859	-2.159	17.671	1.00	11.72
ATOM	142	C	PHE	A	24	16.347	-2.719	16.353	1.00	7.25
ATOM	143	O	PHE	A	24	16.095	-3.998	16.161	1.00	3.47

ATOM	144	CB	PHE	A	24	18.195	-2.855	17.658	1.00	12.61
ATOM	145	CG	PHE	A	24	19.015	-2.150	16.716	1.00	10.72
ATOM	146	CD1	PHE	A	24	19.457	-0.844	16.913	1.00	13.08
ATOM	147	CD2	PHE	A	24	19.325	-2.852	15.558	1.00	6.61
ATOM	148	CE1	PHE	A	24	20.232	-0.187	15.983	1.00	4.86
ATOM	149	CE2	PHE	A	24	20.061	-2.218	14.545	1.00	7.61
ATOM	150	CZ	PHE	A	24	20.550	-0.823	14.804	1.00	8.78
ATOM	151	N	ALA	A	25	16.037	-1.700	15.449	1.00	6.32
ATOM	152	CA	ALA	A	25	15.662	-2.158	14.068	1.00	7.18
ATOM	153	C	ALA	A	25	16.851	-1.976	13.055	1.00	8.59
ATOM	154	O	ALA	A	25	17.518	-1.000	13.133	1.00	5.95
ATOM	155	CB	ALA	A	25	14.488	-1.402	13.562	1.00	8.27
ATOM	156	N	ARG	A	26	17.174	-3.032	12.325	1.00	8.84
ATOM	157	CA	ARG	A	26	18.134	-3.278	11.277	1.00	4.04
ATOM	158	C	ARG	A	26	17.691	-2.694	9.894	1.00	7.67
ATOM	159	O	ARG	A	26	16.527	-2.361	9.525	1.00	9.36
ATOM	160	CB	ARG	A	26	18.581	-4.659	10.756	1.00	6.06
ATOM	161	CG	ARG	A	26	17.705	-5.741	10.439	1.00	5.08
ATOM	162	CD	ARG	A	26	18.069	-7.224	10.382	1.00	6.73
ATOM	163	NE	ARG	A	26	17.000	-8.053	9.708	1.00	9.04
ATOM	164	CZ	ARG	A	26	15.724	-8.206	9.912	1.00	7.06
ATOM	165	NH1	ARG	A	26	15.085	-7.535	10.895	1.00	22.93
ATOM	166	NH2	ARG	A	26	14.809	-8.825	9.346	1.00	7.89
ATOM	167	N	GLY	A	27	18.761	-2.539	9.092	1.00	7.71
ATOM	168	CA	GLY	A	27	18.537	-1.888	7.782	1.00	5.34
ATOM	169	C	GLY	A	27	18.063	-2.896	6.862	1.00	4.70
ATOM	170	O	GLY	A	27	18.155	-4.139	7.075	1.00	13.14
ATOM	171	N	SER	A	28	17.562	-2.612	5.765	1.00	11.82
ATOM	172	CA	SER	A	28	17.108	-3.325	4.615	1.00	14.72
ATOM	173	C	SER	A	28	18.214	-4.327	4.142	1.00	7.74
ATOM	174	O	SER	A	28	19.286	-3.973	4.083	1.00	6.71
ATOM	175	CB	SER	A	28	16.460	-2.352	3.538	1.00	6.38
ATOM	176	OG	SER	A	28	16.819	-0.978	3.833	1.00	28.10
ATOM	177	N	THR	A	29	17.942	-5.634	4.241	1.00	4.79
ATOM	178	CA	THR	A	29	18.562	-6.763	3.914	1.00	8.71
ATOM	179	C	THR	A	29	19.500	-7.271	4.985	1.00	14.00
ATOM	180	O	THR	A	29	20.162	-8.326	4.713	1.00	17.68
ATOM	181	CB	THR	A	29	19.454	-6.680	2.617	1.00	14.90
ATOM	182	OG1	THR	A	29	20.736	-6.066	2.595	1.00	14.00
ATOM	183	CG2	THR	A	29	18.785	-5.888	1.561	1.00	15.59
ATOM	184	N	GLU	A	30	19.740	-6.599	6.105	1.00	14.52
ATOM	185	CA	GLU	A	30	20.677	-7.266	7.056	1.00	14.10
ATOM	186	C	GLU	A	30	20.092	-8.513	7.647	1.00	13.07
ATOM	187	O	GLU	A	30	18.916	-8.726	7.705	1.00	19.98
ATOM	188	CB	GLU	A	30	21.228	-6.371	8.072	1.00	15.45
ATOM	189	CG	GLU	A	30	21.166	-4.945	7.709	1.00	8.37
ATOM	190	CD	GLU	A	30	22.073	-4.143	8.637	1.00	23.08
ATOM	191	OE1	GLU	A	30	21.395	-3.328	9.284	1.00	19.26

ATOM	192	OE2	GLU	A	30	23.317	-4.327	8.712	1.00	19.71
ATOM	193	N	PRO	A	31	20.875	-9.479	7.918	1.00	13.09
ATOM	194	CA	PRO	A	31	20.477	-10.818	8.402	1.00	14.56
ATOM	195	C	PRO	A	31	20.167	-10.698	9.895	1.00	18.27
ATOM	196	O	PRO	A	31	20.148	-9.636	10.392	1.00	20.45
ATOM	197	CB	PRO	A	31	21.690	-11.692	8.215	1.00	10.95
ATOM	198	CG	PRO	A	31	22.790	-10.664	8.455	1.00	11.24
ATOM	199	CD	PRO	A	31	22.350	-9.316	7.864	1.00	13.71
ATOM	200	N	GLY	A	32	19.612	-11.689	10.472	1.00	18.99
ATOM	201	CA	GLY	A	32	19.205	-11.774	11.816	1.00	13.53
ATOM	202	C	GLY	A	32	18.133	-10.808	12.188	1.00	16.62
ATOM	203	O	GLY	A	32	17.345	-10.294	11.411	1.00	17.01
ATOM	204	N	ASN	A	33	18.055	-10.528	13.468	1.00	16.15
ATOM	205	CA	ASN	A	33	17.290	-9.346	13.823	1.00	14.74
ATOM	206	C	ASN	A	33	18.294	-8.273	14.230	1.00	15.46
ATOM	207	O	ASN	A	33	17.774	-7.184	14.575	1.00	15.90
ATOM	208	CB	ASN	A	33	16.241	-9.663	14.867	1.00	17.42
ATOM	209	CG	ASN	A	33	16.827	-10.201	16.127	1.00	17.97
ATOM	210	OD1	ASN	A	33	16.112	-10.395	17.089	1.00	19.05
ATOM	211	ND2	ASN	A	33	18.074	-10.460	16.112	1.00	13.29
ATOM	212	N	MET	A	34	19.633	-8.378	14.282	1.00	14.22
ATOM	213	CA	MET	A	34	20.282	-7.171	14.751	1.00	12.97
ATOM	214	C	MET	A	34	21.142	-6.663	13.611	1.00	19.02
ATOM	215	O	MET	A	34	21.654	-5.512	13.713	1.00	26.04
ATOM	216	CB	MET	A	34	21.202	-7.329	15.859	1.00	13.39
ATOM	217	CG	MET	A	34	20.579	-7.713	17.163	1.00	9.02
ATOM	218	SD	MET	A	34	20.175	-6.316	18.069	1.00	9.13
ATOM	219	CE	MET	A	34	21.481	-5.121	18.095	1.00	4.11
ATOM	220	N	GLY	A	35	21.259	-7.446	12.550	1.00	19.99
ATOM	221	CA	GLY	A	35	22.071	-7.135	11.418	1.00	14.30
ATOM	222	C	GLY	A	35	23.511	-7.340	11.764	1.00	17.58
ATOM	223	O	GLY	A	35	23.965	-7.724	12.842	1.00	12.78
ATOM	224	N	ILE	A	36	24.450	-6.839	10.950	1.00	20.63
ATOM	225	CA	ILE	A	36	25.833	-7.029	11.277	1.00	17.71
ATOM	226	C	ILE	A	36	26.609	-5.714	11.280	1.00	16.15
ATOM	227	O	ILE	A	36	27.865	-5.618	11.662	1.00	20.30
ATOM	228	CB	ILE	A	36	26.412	-8.070	10.327	1.00	30.19
ATOM	229	CG1	ILE	A	36	26.088	-7.448	8.959	1.00	31.16
ATOM	230	CG2	ILE	A	36	25.944	-9.490	10.543	1.00	15.68
ATOM	231	CD1	ILE	A	36	26.922	-8.149	7.958	1.00	34.10
ATOM	232	N	THR	A	37	25.905	-4.589	11.040	1.00	13.00
ATOM	233	CA	THR	A	37	26.825	-3.396	11.141	1.00	9.67
ATOM	234	C	THR	A	37	26.587	-2.513	12.350	1.00	15.44
ATOM	235	O	THR	A	37	27.040	-3.055	13.410	1.00	20.20
ATOM	236	CB	THR	A	37	26.592	-2.679	9.818	1.00	14.13
ATOM	237	OG1	THR	A	37	25.241	-2.212	9.503	1.00	22.62
ATOM	238	CG2	THR	A	37	26.949	-3.739	8.800	1.00	2.29
ATOM	239	N	VAL	A	38	25.733	-1.493	12.249	1.00	11.92

ATOM	240	CA	VAL	A	38	25.237	-0.800	13.411	1.00	15.22
ATOM	241	C	VAL	A	38	24.588	-1.455	14.612	1.00	14.68
ATOM	242	O	VAL	A	38	24.906	-1.185	15.733	1.00	15.89
ATOM	243	CB	VAL	A	38	24.124	0.180	12.855	1.00	14.13
ATOM	244	CG1	VAL	A	38	23.663	0.897	14.167	1.00	13.55
ATOM	245	CG2	VAL	A	38	24.570	1.025	11.670	1.00	6.75
ATOM	246	N	GLY	A	39	23.745	-2.410	14.677	1.00	14.24
ATOM	247	CA	GLY	A	39	23.135	-3.151	15.746	1.00	11.03
ATOM	248	C	GLY	A	39	24.096	-3.586	16.791	1.00	13.34
ATOM	249	O	GLY	A	39	24.131	-3.181	17.934	1.00	15.13
ATOM	250	N	PRO	A	40	25.067	-4.340	16.352	1.00	14.70
ATOM	251	CA	PRO	A	40	26.094	-5.025	17.171	1.00	13.44
ATOM	252	C	PRO	A	40	27.010	-3.909	17.589	1.00	11.81
ATOM	253	O	PRO	A	40	27.346	-3.871	18.764	1.00	12.79
ATOM	254	CB	PRO	A	40	26.723	-6.111	16.279	1.00	8.43
ATOM	255	CG	PRO	A	40	25.873	-6.243	14.950	1.00	4.84
ATOM	256	CD	PRO	A	40	25.198	-4.902	14.995	1.00	12.36
ATOM	257	N	ALA	A	41	27.226	-2.979	16.695	1.00	7.41
ATOM	258	CA	ALA	A	41	28.066	-1.962	17.278	1.00	11.03
ATOM	259	C	ALA	A	41	27.378	-1.206	18.439	1.00	14.87
ATOM	260	O	ALA	A	41	28.028	-0.503	19.274	1.00	14.26
ATOM	261	CB	ALA	A	41	28.579	-0.905	16.313	1.00	7.17
ATOM	262	N	LEU	A	42	26.135	-0.811	18.237	1.00	11.87
ATOM	263	CA	LEU	A	42	25.487	-0.048	19.300	1.00	12.36
ATOM	264	C	LEU	A	42	25.337	-0.856	20.624	1.00	11.94
ATOM	265	O	LEU	A	42	25.423	-0.397	21.730	1.00	8.33
ATOM	266	CB	LEU	A	42	24.036	0.168	18.811	1.00	13.24
ATOM	267	CG	LEU	A	42	23.272	1.160	19.676	1.00	6.90
ATOM	268	CD1	LEU	A	42	24.108	2.419	19.962	1.00	6.62
ATOM	269	CD2	LEU	A	42	21.991	1.580	18.943	1.00	7.11
ATOM	270	N	ALA	A	43	24.905	-2.095	20.482	1.00	10.88
ATOM	271	CA	ALA	A	43	24.761	-3.027	21.553	1.00	12.37
ATOM	272	C	ALA	A	43	26.106	-3.136	22.252	1.00	15.45
ATOM	273	O	ALA	A	43	25.958	-2.743	23.433	1.00	20.80
ATOM	274	CB	ALA	A	43	24.148	-4.324	21.002	1.00	9.60
ATOM	275	N	ASN	A	44	27.263	-3.440	21.636	1.00	16.91
ATOM	276	CA	ASN	A	44	28.454	-3.434	22.439	1.00	20.33
ATOM	277	C	ASN	A	44	28.717	-2.044	23.113	1.00	17.66
ATOM	278	O	ASN	A	44	29.019	-1.991	24.301	1.00	17.06
ATOM	279	CB	ASN	A	44	29.756	-3.695	21.625	1.00	35.48
ATOM	280	CG	ASN	A	44	29.564	-5.115	21.138	1.00	58.23
ATOM	281	OD1	ASN	A	44	30.013	-5.403	20.034	1.00	79.77
ATOM	282	ND2	ASN	A	44	28.908	-5.945	21.921	1.00	70.10
ATOM	283	N	GLY	A	45	28.682	-0.988	22.297	1.00	14.39
ATOM	284	CA	GLY	A	45	29.015	0.221	22.976	1.00	11.65
ATOM	285	C	GLY	A	45	28.175	0.255	24.234	1.00	14.30
ATOM	286	O	GLY	A	45	28.529	0.582	25.385	1.00	10.77
ATOM	287	N	LEU	A	46	26.861	0.099	24.065	1.00	16.88

ATOM	288	CA	LEU	A	46	25.968	0.248	25.207	1.00	16.29
ATOM	289	C	LEU	A	46	26.395	-0.651	26.346	1.00	13.48
ATOM	290	O	LEU	A	46	26.579	-0.325	27.462	1.00	7.75
ATOM	291	CB	LEU	A	46	24.608	-0.243	24.847	1.00	19.46
ATOM	292	CG	LEU	A	46	23.642	0.551	25.664	1.00	13.97
ATOM	293	CD1	LEU	A	46	24.089	1.994	25.563	1.00	13.99
ATOM	294	CD2	LEU	A	46	22.275	0.465	25.038	1.00	32.18
ATOM	295	N	GLU	A	47	26.523	-1.890	25.882	1.00	15.90
ATOM	296	CA	GLU	A	47	26.910	-2.886	26.909	1.00	24.03
ATOM	297	C	GLU	A	47	28.140	-2.500	27.702	1.00	24.14
ATOM	298	O	GLU	A	47	28.722	-3.203	28.500	1.00	27.24
ATOM	299	CB	GLU	A	47	27.147	-4.206	26.204	1.00	33.33
ATOM	300	CG	GLU	A	47	27.386	-5.254	27.245	1.00	51.29
ATOM	301	CD	GLU	A	47	27.661	-6.560	26.524	1.00	68.40
ATOM	302	OE1	GLU	A	47	26.741	-7.007	25.777	1.00	66.37
ATOM	303	OE2	GLU	A	47	28.856	-6.921	26.830	1.00	78.70
ATOM	304	N	SER	A	48	28.992	-1.626	27.215	1.00	27.50
ATOM	305	CA	SER	A	48	30.331	-1.518	27.789	1.00	25.23
ATOM	306	C	SER	A	48	30.108	-0.555	28.926	1.00	26.91
ATOM	307	O	SER	A	48	31.124	-0.058	29.462	1.00	33.39
ATOM	308	CB	SER	A	48	31.116	-0.990	26.621	1.00	21.90
ATOM	309	OG	SER	A	48	31.294	0.422	26.483	1.00	27.87
ATOM	310	N	HIS	A	49	28.826	-0.101	28.995	1.00	25.04
ATOM	311	CA	HIS	A	49	28.542	0.955	29.956	1.00	19.72
ATOM	312	C	HIS	A	49	27.480	0.461	30.950	1.00	22.55
ATOM	313	O	HIS	A	49	27.186	1.089	31.898	1.00	27.93
ATOM	314	CB	HIS	A	49	28.094	2.197	29.463	1.00	16.13
ATOM	315	CG	HIS	A	49	28.806	3.036	28.520	1.00	39.79
ATOM	316	ND1	HIS	A	49	29.564	4.058	28.953	1.00	45.66
ATOM	317	CD2	HIS	A	49	28.776	3.070	27.197	1.00	46.91
ATOM	318	CE1	HIS	A	49	30.028	4.750	27.979	1.00	45.87
ATOM	319	NE2	HIS	A	49	29.544	4.139	26.934	1.00	50.84
ATOM	320	N	ILE	A	50	27.009	-0.703	30.715	1.00	18.34
ATOM	321	CA	ILE	A	50	25.874	-1.129	31.415	1.00	19.89
ATOM	322	C	ILE	A	50	25.917	-2.629	31.146	1.00	26.29
ATOM	323	O	ILE	A	50	25.322	-3.023	30.168	1.00	25.33
ATOM	324	CB	ILE	A	50	24.527	-0.535	31.008	1.00	10.50
ATOM	325	CG1	ILE	A	50	24.340	0.906	31.292	1.00	4.97
ATOM	326	CG2	ILE	A	50	23.466	-1.298	31.697	1.00	12.96
ATOM	327	CD1	ILE	A	50	23.413	1.845	30.602	1.00	16.65
ATOM	328	N	ARG	A	51	26.707	-3.256	32.066	1.00	31.77
ATOM	329	CA	ARG	A	51	26.887	-4.714	32.107	1.00	29.06
ATOM	330	C	ARG	A	51	25.457	-5.331	32.170	1.00	32.68
ATOM	331	O	ARG	A	51	25.396	-6.363	31.512	1.00	37.16
ATOM	332	N	ASN	A	52	24.380	-4.817	32.788	1.00	28.48
ATOM	333	CA	ASN	A	52	23.284	-5.767	32.832	1.00	26.39
ATOM	334	C	ASN	A	52	22.176	-5.178	31.993	1.00	27.75
ATOM	335	O	ASN	A	52	21.333	-4.488	32.636	1.00	26.68

ATOM	336	CB	ASN	A	52	22.750	-5.884	34.232	1.00	34.86
ATOM	337	CG	ASN	A	52	21.637	-6.879	34.271	1.00	39.54
ATOM	338	OD1	ASN	A	52	20.781	-6.541	35.095	1.00	54.31
ATOM	339	ND2	ASN	A	52	21.611	-7.954	33.503	1.00	48.82
ATOM	340	N	ILE	A	53	22.127	-5.699	30.800	1.00	24.42
ATOM	341	CA	ILE	A	53	21.261	-5.092	29.772	1.00	20.15
ATOM	342	C	ILE	A	53	20.585	-6.151	28.912	1.00	17.63
ATOM	343	O	ILE	A	53	21.020	-7.349	28.917	1.00	18.01
ATOM	344	CB	ILE	A	53	22.245	-4.297	28.880	1.00	14.09
ATOM	345	CG1	ILE	A	53	21.682	-3.257	27.936	1.00	22.91
ATOM	346	CG2	ILE	A	53	22.907	-5.321	27.946	1.00	16.37
ATOM	347	CD1	ILE	A	53	22.877	-2.315	27.622	1.00	38.17
ATOM	348	N	TRP	A	54	19.447	-5.880	28.383	1.00	15.19
ATOM	349	CA	TRP	A	54	18.804	-6.889	27.567	1.00	17.96
ATOM	350	C	TRP	A	54	18.803	-6.230	26.151	1.00	19.82
ATOM	351	O	TRP	A	54	18.340	-5.059	25.985	1.00	18.37
ATOM	352	CB	TRP	A	54	17.364	-7.046	27.998	1.00	23.18
ATOM	353	CG	TRP	A	54	16.949	-7.932	29.100	1.00	24.57
ATOM	354	CD1	TRP	A	54	17.757	-8.727	29.895	1.00	24.46
ATOM	355	CD2	TRP	A	54	15.595	-8.164	29.603	1.00	30.21
ATOM	356	NE1	TRP	A	54	17.004	-9.372	30.858	1.00	25.87
ATOM	357	CE2	TRP	A	54	15.692	-9.039	30.700	1.00	24.92
ATOM	358	CE3	TRP	A	54	14.358	-7.633	29.243	1.00	36.26
ATOM	359	CZ2	TRP	A	54	14.611	-9.442	31.432	1.00	19.75
ATOM	360	CZ3	TRP	A	54	13.316	-8.042	30.009	1.00	32.94
ATOM	361	CH2	TRP	A	54	13.451	-8.916	31.068	1.00	23.02
ATOM	362	N	ILE	A	55	19.063	-7.152	25.204	1.00	15.21
ATOM	363	CA	ILE	A	55	19.178	-6.655	23.838	1.00	12.41
ATOM	364	C	ILE	A	55	18.091	-7.215	22.962	1.00	11.40
ATOM	365	O	ILE	A	55	17.955	-8.378	22.680	1.00	7.34
ATOM	366	CB	ILE	A	55	20.546	-6.962	23.201	1.00	16.44
ATOM	367	CG1	ILE	A	55	21.939	-6.409	23.702	1.00	8.75
ATOM	368	CG2	ILE	A	55	20.384	-6.460	21.750	1.00	21.77
ATOM	369	CD1	ILE	A	55	21.767	-5.582	24.863	1.00	16.23
ATOM	370	N	GLN	A	56	17.226	-6.412	22.390	1.00	9.67
ATOM	371	CA	GLN	A	56	16.161	-7.016	21.619	1.00	10.90
ATOM	372	C	GLN	A	56	16.432	-6.621	20.143	1.00	13.08
ATOM	373	O	GLN	A	56	16.402	-5.393	19.953	1.00	10.32
ATOM	374	CB	GLN	A	56	14.786	-6.542	22.014	1.00	11.49
ATOM	375	CG	GLN	A	56	13.653	-7.256	21.316	1.00	23.47
ATOM	376	CD	GLN	A	56	13.789	-8.741	21.351	1.00	24.88
ATOM	377	OE1	GLN	A	56	13.610	-9.379	20.324	1.00	9.56
ATOM	378	NE2	GLN	A	56	14.119	-9.221	22.544	1.00	17.94
ATOM	379	N	GLY	A	57	16.288	-7.645	19.216	1.00	6.84
ATOM	380	CA	GLY	A	57	16.174	-7.019	17.841	1.00	16.15
ATOM	381	C	GLY	A	57	14.740	-7.085	17.267	1.00	13.72
ATOM	382	O	GLY	A	57	14.124	-8.016	17.752	1.00	12.70
ATOM	383	N	VAL	A	58	14.068	-6.264	16.525	1.00	12.73

ATOM	384	CA	VAL	A	58	12.739	-6.308	16.070	1.00	11.16
ATOM	385	C	VAL	A	58	12.715	-7.246	14.893	1.00	14.85
ATOM	386	O	VAL	A	58	13.234	-6.891	13.849	1.00	18.64
ATOM	387	CB	VAL	A	58	12.262	-4.984	15.352	1.00	6.54
ATOM	388	CG1	VAL	A	58	10.894	-4.974	14.731	1.00	5.89
ATOM	389	CG2	VAL	A	58	12.650	-3.840	16.331	1.00	5.86
ATOM	390	N	GLY	A	59	12.209	-8.465	15.008	1.00	21.96
ATOM	391	CA	GLY	A	59	12.120	-9.385	13.874	1.00	17.81
ATOM	392	C	GLY	A	59	10.645	-9.561	13.550	1.00	23.35
ATOM	393	O	GLY	A	59	9.919	-8.579	13.249	1.00	27.99
ATOM	394	N	GLY	A	60	10.166	-10.805	13.623	1.00	18.75
ATOM	395	CA	GLY	A	60	8.841	-11.142	13.285	1.00	11.46
ATOM	396	C	GLY	A	60	8.550	-10.833	11.851	1.00	14.56
ATOM	397	O	GLY	A	60	9.160	-11.439	11.003	1.00	16.32
ATOM	398	N	PRO	A	61	7.505	-10.103	11.612	1.00	12.10
ATOM	399	CA	PRO	A	61	7.123	-9.774	10.250	1.00	14.70
ATOM	400	C	PRO	A	61	8.230	-8.941	9.570	1.00	22.17
ATOM	401	O	PRO	A	61	8.143	-8.758	8.344	1.00	25.74
ATOM	402	CB	PRO	A	61	5.911	-8.860	10.332	1.00	14.30
ATOM	403	CG	PRO	A	61	5.880	-8.514	11.784	1.00	13.62
ATOM	404	CD	PRO	A	61	6.723	-9.417	12.576	1.00	12.29
ATOM	405	N	TYR	A	62	9.162	-8.257	10.292	1.00	21.56
ATOM	406	CA	TYR	A	62	9.973	-7.242	9.674	1.00	17.07
ATOM	407	C	TYR	A	62	11.133	-7.907	9.047	1.00	18.73
ATOM	408	O	TYR	A	62	12.132	-8.213	9.691	1.00	22.39
ATOM	409	CB	TYR	A	62	10.504	-6.401	10.803	1.00	17.51
ATOM	410	CG	TYR	A	62	11.461	-5.421	10.236	1.00	15.23
ATOM	411	CD1	TYR	A	62	11.343	-4.920	9.032	1.00	17.79
ATOM	412	CD2	TYR	A	62	12.465	-4.971	10.969	1.00	19.09
ATOM	413	CE1	TYR	A	62	12.206	-3.997	8.506	1.00	19.28
ATOM	414	CE2	TYR	A	62	13.438	-4.101	10.490	1.00	25.40
ATOM	415	CZ	TYR	A	62	13.327	-3.571	9.186	1.00	20.95
ATOM	416	OH	TYR	A	62	14.320	-2.649	8.791	1.00	14.70
ATOM	417	N	ASP	A	63	10.998	-8.419	7.816	1.00	19.47
ATOM	418	CA	ASP	A	63	12.137	-9.011	7.081	1.00	17.52
ATOM	419	C	ASP	A	63	13.027	-7.973	6.453	1.00	17.97
ATOM	420	O	ASP	A	63	13.628	-8.442	5.512	1.00	14.94
ATOM	421	CB	ASP	A	63	11.474	-9.873	6.015	1.00	17.16
ATOM	422	CG	ASP	A	63	10.563	-9.136	5.096	1.00	27.75
ATOM	423	OD1	ASP	A	63	10.049	-8.030	5.281	1.00	34.11
ATOM	424	OD2	ASP	A	63	10.300	-9.635	4.002	1.00	44.13
ATOM	425	N	ALA	A	64	13.089	-6.685	6.584	1.00	15.36
ATOM	426	CA	ALA	A	64	14.054	-5.725	6.098	1.00	17.14
ATOM	427	C	ALA	A	64	14.118	-5.780	4.589	1.00	21.10
ATOM	428	O	ALA	A	64	15.193	-5.861	3.968	1.00	23.12
ATOM	429	CB	ALA	A	64	15.458	-5.861	6.646	1.00	20.45
ATOM	430	N	ALA	A	65	12.946	-6.009	4.006	1.00	22.21
ATOM	431	CA	ALA	A	65	12.817	-6.072	2.565	1.00	21.81

ATOM	432	C	ALA	A	65	13.143	-4.857	1.745	1.00	21.76
ATOM	433	O	ALA	A	65	12.855	-3.801	2.229	1.00	23.60
ATOM	434	CB	ALA	A	65	11.384	-6.390	2.364	1.00	17.31
ATOM	435	N	LEU	A	66	13.401	-4.866	0.402	1.00	21.48
ATOM	436	CA	LEU	A	66	13.763	-3.581	-0.216	1.00	13.20
ATOM	437	C	LEU	A	66	12.469	-2.913	-0.452	1.00	13.90
ATOM	438	O	LEU	A	66	12.548	-1.767	-0.197	1.00	11.85
ATOM	439	CB	LEU	A	66	14.593	-3.602	-1.470	1.00	3.92
ATOM	440	CG	LEU	A	66	15.891	-4.308	-1.191	1.00	9.05
ATOM	441	CD1	LEU	A	66	16.509	-4.725	-2.438	1.00	12.78
ATOM	442	CD2	LEU	A	66	16.569	-3.119	-0.580	1.00	13.44
ATOM	443	N	ALA	A	67	11.413	-3.625	-0.801	1.00	14.94
ATOM	444	CA	ALA	A	67	10.253	-2.759	-1.277	1.00	12.42
ATOM	445	C	ALA	A	67	9.626	-1.879	-0.224	1.00	14.21
ATOM	446	O	ALA	A	67	9.218	-0.818	-0.643	1.00	14.29
ATOM	447	CB	ALA	A	67	9.089	-3.588	-1.781	1.00	3.90
ATOM	448	N	THR	A	68	9.494	-2.409	1.006	1.00	12.11
ATOM	449	CA	THR	A	68	8.780	-1.647	1.997	1.00	11.77
ATOM	450	C	THR	A	68	9.242	-0.214	2.219	1.00	13.05
ATOM	451	O	THR	A	68	8.597	0.683	2.766	1.00	11.13
ATOM	452	CB	THR	A	68	8.892	-2.488	3.241	1.00	13.93
ATOM	453	OG1	THR	A	68	10.145	-3.150	3.224	1.00	27.44
ATOM	454	CG2	THR	A	68	7.783	-3.459	3.087	1.00	13.39
ATOM	455	N	ASN	A	69	10.450	-0.057	1.808	1.00	7.59
ATOM	456	CA	ASN	A	69	11.020	1.236	1.791	1.00	8.76
ATOM	457	C	ASN	A	69	10.095	2.165	1.047	1.00	10.28
ATOM	458	O	ASN	A	69	9.950	3.345	1.305	1.00	5.30
ATOM	459	CB	ASN	A	69	12.461	1.251	1.231	1.00	5.54
ATOM	460	CG	ASN	A	69	13.374	1.207	2.398	1.00	15.08
ATOM	461	OD1	ASN	A	69	13.307	2.124	3.275	1.00	31.90
ATOM	462	ND2	ASN	A	69	14.048	0.099	2.360	1.00	4.51
ATOM	463	N	PHE	A	70	9.390	1.656	0.079	1.00	19.09
ATOM	464	CA	PHE	A	70	8.552	2.619	-0.631	1.00	21.80
ATOM	465	C	PHE	A	70	7.157	2.836	-0.123	1.00	23.36
ATOM	466	O	PHE	A	70	6.509	3.717	-0.724	1.00	25.74
ATOM	467	CB	PHE	A	70	8.547	2.386	-2.082	1.00	17.38
ATOM	468	CG	PHE	A	70	9.870	2.360	-2.770	1.00	15.72
ATOM	469	CD1	PHE	A	70	10.080	3.430	-3.576	1.00	5.15
ATOM	470	CD2	PHE	A	70	10.702	1.245	-2.497	1.00	7.61
ATOM	471	CE1	PHE	A	70	11.268	3.330	-4.191	1.00	16.05
ATOM	472	CE2	PHE	A	70	11.913	1.267	-3.168	1.00	22.23
ATOM	473	CZ	PHE	A	70	12.199	2.314	-4.016	1.00	9.57
ATOM	474	N	LEU	A	71	6.765	2.246	1.034	1.00	25.53
ATOM	475	CA	LEU	A	71	5.506	2.725	1.599	1.00	24.24
ATOM	476	C	LEU	A	71	5.649	4.037	2.343	1.00	27.91
ATOM	477	O	LEU	A	71	6.694	4.521	2.750	1.00	28.86
ATOM	478	CB	LEU	A	71	5.150	1.635	2.535	1.00	19.99
ATOM	479	CG	LEU	A	71	5.003	0.342	1.873	1.00	16.09

ATOM	480	CD1	LEU	A	71	4.879	-0.764	2.885	1.00	18.12
ATOM	481	CD2	LEU	A	71	3.786	0.546	1.000	1.00	18.24
ATOM	482	N	PRO	A	72	4.535	4.663	2.529	1.00	33.01
ATOM	483	CA	PRO	A	72	4.389	5.888	3.311	1.00	34.96
ATOM	484	C	PRO	A	72	4.865	5.590	4.778	1.00	32.90
ATOM	485	O	PRO	A	72	4.619	4.512	5.331	1.00	28.55
ATOM	486	CB	PRO	A	72	2.983	6.453	3.095	1.00	32.98
ATOM	487	CG	PRO	A	72	2.224	5.189	2.827	1.00	30.36
ATOM	488	CD	PRO	A	72	3.188	4.093	2.380	1.00	33.56
ATOM	489	N	ARG	A	73	5.601	6.610	5.221	1.00	27.54
ATOM	490	CA	ARG	A	73	6.325	6.547	6.408	1.00	25.42
ATOM	491	C	ARG	A	73	7.613	5.755	6.321	1.00	21.78
ATOM	492	O	ARG	A	73	8.360	5.950	7.304	1.00	29.61
ATOM	493	CB	ARG	A	73	5.469	5.978	7.549	1.00	24.29
ATOM	494	CG	ARG	A	73	4.575	6.998	8.155	1.00	23.47
ATOM	495	CD	ARG	A	73	3.818	6.793	9.360	1.00	29.73
ATOM	496	NE	ARG	A	73	3.222	5.460	9.392	1.00	36.30
ATOM	497	CZ	ARG	A	73	2.891	5.312	10.713	1.00	42.26
ATOM	498	NH1	ARG	A	73	3.145	6.288	11.555	1.00	26.57
ATOM	499	NH2	ARG	A	73	2.320	4.144	10.883	1.00	39.03
ATOM	500	N	GLY	A	74	7.868	4.909	5.326	1.00	8.42
ATOM	501	CA	GLY	A	74	9.120	4.291	5.332	1.00	5.06
ATOM	502	C	GLY	A	74	9.243	2.858	5.508	1.00	12.74
ATOM	503	O	GLY	A	74	10.256	2.286	5.317	1.00	16.46
ATOM	504	N	THR	A	75	8.145	2.321	5.906	1.00	12.82
ATOM	505	CA	THR	A	75	8.036	0.869	6.008	1.00	11.14
ATOM	506	C	THR	A	75	6.625	0.428	6.134	1.00	10.64
ATOM	507	O	THR	A	75	5.757	1.231	5.949	1.00	9.36
ATOM	508	CB	THR	A	75	8.843	0.398	7.219	1.00	6.97
ATOM	509	OG1	THR	A	75	8.938	-0.950	7.125	1.00	5.64
ATOM	510	CG2	THR	A	75	8.108	0.865	8.603	1.00	6.30
ATOM	511	N	SER	A	76	6.409	-0.858	6.259	1.00	10.07
ATOM	512	CA	SER	A	76	5.061	-1.384	6.354	1.00	13.33
ATOM	513	C	SER	A	76	4.405	-1.163	7.747	1.00	21.87
ATOM	514	O	SER	A	76	5.228	-1.102	8.679	1.00	24.22
ATOM	515	CB	SER	A	76	5.030	-2.832	6.083	1.00	4.81
ATOM	516	OG	SER	A	76	5.327	-3.664	7.107	1.00	16.98
ATOM	517	N	GLN	A	77	3.082	-1.100	7.911	1.00	24.90
ATOM	518	CA	GLN	A	77	2.454	-1.020	9.166	1.00	23.85
ATOM	519	C	GLN	A	77	2.643	-2.236	10.015	1.00	19.58
ATOM	520	O	GLN	A	77	2.908	-2.140	11.203	1.00	15.15
ATOM	521	CB	GLN	A	77	0.983	-0.703	9.217	1.00	32.64
ATOM	522	CG	GLN	A	77	0.567	-0.580	10.642	1.00	49.56
ATOM	523	CD	GLN	A	77	0.689	0.785	11.194	1.00	65.91
ATOM	524	OE1	GLN	A	77	0.956	0.869	12.356	1.00	66.06
ATOM	525	NE2	GLN	A	77	0.481	1.750	10.350	1.00	68.91
ATOM	526	N	ALA	A	78	2.754	-3.376	9.402	1.00	15.90
ATOM	527	CA	ALA	A	78	3.071	-4.577	10.073	1.00	19.47

ATOM	528	C	ALA	A	78	4.381	-4.332	10.819	1.00	24.48
ATOM	529	O	ALA	A	78	4.389	-4.729	11.983	1.00	26.91
ATOM	530	CB	ALA	A	78	3.390	-5.808	9.336	1.00	17.23
ATOM	531	N	ASN	A	79	5.350	-3.863	10.093	1.00	21.58
ATOM	532	CA	ASN	A	79	6.602	-3.576	10.774	1.00	20.62
ATOM	533	C	ASN	A	79	6.480	-2.673	11.969	1.00	20.93
ATOM	534	O	ASN	A	79	6.975	-2.944	13.053	1.00	15.52
ATOM	535	CB	ASN	A	79	7.474	-3.069	9.670	1.00	24.79
ATOM	536	CG	ASN	A	79	7.933	-4.238	8.824	1.00	28.76
ATOM	537	OD1	ASN	A	79	7.867	-5.439	9.091	1.00	25.30
ATOM	538	ND2	ASN	A	79	8.488	-3.891	7.660	1.00	24.90
ATOM	539	N	ILE	A	80	5.731	-1.611	11.936	1.00	15.93
ATOM	540	CA	ILE	A	80	5.586	-0.574	12.924	1.00	17.00
ATOM	541	C	ILE	A	80	4.925	-1.187	14.118	1.00	20.63
ATOM	542	O	ILE	A	80	5.234	-0.939	15.264	1.00	18.79
ATOM	543	CB	ILE	A	80	4.756	0.629	12.436	1.00	11.98
ATOM	544	CG1	ILE	A	80	5.627	1.124	11.297	1.00	9.50
ATOM	545	CG2	ILE	A	80	4.379	1.728	13.354	1.00	16.27
ATOM	546	CD1	ILE	A	80	5.007	2.071	10.424	1.00	8.15
ATOM	547	N	ASP	A	81	4.017	-2.019	13.708	1.00	19.21
ATOM	548	CA	ASP	A	81	3.304	-2.778	14.728	1.00	15.15
ATOM	549	C	ASP	A	81	4.147	-3.711	15.510	1.00	15.77
ATOM	550	O	ASP	A	81	4.084	-3.697	16.695	1.00	15.82
ATOM	551	CB	ASP	A	81	2.291	-3.438	13.868	1.00	26.36
ATOM	552	CG	ASP	A	81	1.065	-2.530	13.790	1.00	23.71
ATOM	553	OD1	ASP	A	81	1.105	-1.355	14.226	1.00	14.33
ATOM	554	OD2	ASP	A	81	0.061	-3.125	13.222	1.00	33.05
ATOM	555	N	GLU	A	82	5.148	-4.447	15.096	1.00	16.07
ATOM	556	CA	GLU	A	82	5.984	-5.318	15.882	1.00	14.77
ATOM	557	C	GLU	A	82	6.839	-4.355	16.667	1.00	19.33
ATOM	558	O	GLU	A	82	7.315	-4.708	17.752	1.00	23.58
ATOM	559	CB	GLU	A	82	6.998	-6.031	15.064	1.00	13.20
ATOM	560	CG	GLU	A	82	7.792	-7.239	15.476	1.00	23.09
ATOM	561	CD	GLU	A	82	6.767	-8.114	16.185	1.00	29.68
ATOM	562	OE1	GLU	A	82	5.666	-7.670	16.403	1.00	26.63
ATOM	563	OE2	GLU	A	82	7.273	-9.181	16.411	1.00	33.08
ATOM	564	N	GLY	A	83	7.228	-3.227	16.199	1.00	16.79
ATOM	565	CA	GLY	A	83	8.033	-2.428	17.140	1.00	17.32
ATOM	566	C	GLY	A	83	7.238	-2.018	18.366	1.00	17.54
ATOM	567	O	GLY	A	83	7.561	-2.103	19.528	1.00	15.06
ATOM	568	N	LYS	A	84	6.093	-1.408	18.114	1.00	18.72
ATOM	569	CA	LYS	A	84	5.050	-1.146	19.096	1.00	16.90
ATOM	570	C	LYS	A	84	4.893	-2.337	20.057	1.00	17.74
ATOM	571	O	LYS	A	84	4.962	-2.265	21.295	1.00	14.31
ATOM	572	CB	LYS	A	84	3.799	-0.872	18.307	1.00	14.62
ATOM	573	CG	LYS	A	84	3.535	0.565	18.291	1.00	19.30
ATOM	574	CD	LYS	A	84	2.787	1.013	17.044	1.00	34.24
ATOM	575	CE	LYS	A	84	1.568	1.902	17.337	1.00	37.70

ATOM	576	NZ	LYS	A	84	0.346	1.226	16.827	1.00	48.42
ATOM	577	N	ARG	A	85	4.617	-3.506	19.519	1.00	18.50
ATOM	578	CA	ARG	A	85	4.583	-4.705	20.280	1.00	19.04
ATOM	579	C	ARG	A	85	5.677	-4.733	21.308	1.00	19.63
ATOM	580	O	ARG	A	85	5.442	-5.192	22.383	1.00	19.24
ATOM	581	CB	ARG	A	85	4.740	-5.979	19.464	1.00	14.74
ATOM	582	CG	ARG	A	85	3.843	-7.094	19.887	1.00	8.85
ATOM	583	CD	ARG	A	85	4.146	-8.554	19.705	1.00	7.20
ATOM	584	NE	ARG	A	85	5.483	-8.898	19.194	1.00	20.30
ATOM	585	CZ	ARG	A	85	6.170	-9.705	19.899	1.00	18.19
ATOM	586	NH1	ARG	A	85	5.627	-10.161	21.040	1.00	34.03
ATOM	587	NH2	ARG	A	85	7.345	-9.979	19.555	1.00	15.36
ATOM	588	N	LEU	A	86	6.901	-4.586	20.956	1.00	22.21
ATOM	589	CA	LEU	A	86	8.006	-4.792	21.873	1.00	20.94
ATOM	590	C	LEU	A	86	8.044	-3.637	22.803	1.00	20.73
ATOM	591	O	LEU	A	86	8.155	-3.970	23.925	1.00	22.18
ATOM	592	CB	LEU	A	86	9.333	-4.932	21.168	1.00	6.67
ATOM	593	CG	LEU	A	86	9.358	-6.241	20.282	1.00	11.45
ATOM	594	CD1	LEU	A	86	10.546	-6.054	19.287	1.00	18.60
ATOM	595	CD2	LEU	A	86	9.362	-7.516	21.020	1.00	5.17
ATOM	596	N	PHE	A	87	7.700	-2.446	22.529	1.00	16.79
ATOM	597	CA	PHE	A	87	7.850	-1.416	23.492	1.00	18.21
ATOM	598	C	PHE	A	87	6.939	-1.805	24.618	1.00	26.51
ATOM	599	O	PHE	A	87	7.082	-1.565	25.839	1.00	30.36
ATOM	600	CB	PHE	A	87	7.498	-0.118	22.846	1.00	15.81
ATOM	601	CG	PHE	A	87	8.661	0.503	22.128	1.00	22.72
ATOM	602	CD1	PHE	A	87	9.625	1.163	22.795	1.00	25.90
ATOM	603	CD2	PHE	A	87	8.800	0.446	20.774	1.00	24.19
ATOM	604	CE1	PHE	A	87	10.699	1.781	22.220	1.00	26.46
ATOM	605	CE2	PHE	A	87	9.871	0.991	20.153	1.00	29.24
ATOM	606	CZ	PHE	A	87	10.827	1.669	20.849	1.00	20.81
ATOM	607	N	ALA	A	88	5.862	-2.422	24.266	1.00	29.15
ATOM	608	CA	ALA	A	88	4.772	-2.699	25.195	1.00	22.92
ATOM	609	C	ALA	A	88	5.186	-3.837	26.068	1.00	22.03
ATOM	610	O	ALA	A	88	4.974	-3.879	27.284	1.00	27.02
ATOM	611	CB	ALA	A	88	3.551	-2.803	24.299	1.00	22.13
ATOM	612	N	LEU	A	89	5.649	-4.897	25.531	1.00	19.16
ATOM	613	CA	LEU	A	89	6.188	-6.032	26.208	1.00	19.29
ATOM	614	C	LEU	A	89	7.250	-5.507	27.133	1.00	22.06
ATOM	615	O	LEU	A	89	7.449	-6.050	28.177	1.00	20.49
ATOM	616	CB	LEU	A	89	7.021	-6.863	25.221	1.00	18.41
ATOM	617	CG	LEU	A	89	7.477	-8.167	25.834	1.00	20.45
ATOM	618	CD1	LEU	A	89	6.326	-8.707	26.627	1.00	17.22
ATOM	619	CD2	LEU	A	89	8.060	-9.057	24.769	1.00	18.83
ATOM	620	N	ALA	A	90	8.124	-4.644	26.722	1.00	22.80
ATOM	621	CA	ALA	A	90	9.027	-4.137	27.701	1.00	24.14
ATOM	622	C	ALA	A	90	8.237	-3.488	28.849	1.00	23.63
ATOM	623	O	ALA	A	90	8.414	-3.835	30.071	1.00	22.73

ATOM	624	CB	ALA	A	90	10.080	-3.253	27.139	1.00	7.74
ATOM	625	N	ASN	A	91	7.457	-2.445	28.732	1.00	25.45
ATOM	626	CA	ASN	A	91	6.665	-1.979	29.870	1.00	27.25
ATOM	627	C	ASN	A	91	5.847	-2.996	30.656	1.00	30.97
ATOM	628	O	ASN	A	91	5.346	-2.884	31.768	1.00	27.64
ATOM	629	CB	ASN	A	91	5.560	-1.206	29.125	1.00	29.14
ATOM	630	CG	ASN	A	91	4.946	-0.345	30.216	1.00	31.73
ATOM	631	OD1	ASN	A	91	3.845	-0.692	30.645	1.00	46.76
ATOM	632	ND2	ASN	A	91	5.641	0.629	30.643	1.00	29.03
ATOM	633	N	GLN	A	92	5.369	-4.008	29.969	1.00	35.37
ATOM	634	CA	GLN	A	92	4.702	-5.141	30.591	1.00	35.55
ATOM	635	C	GLN	A	92	5.619	-6.072	31.352	1.00	34.28
ATOM	636	O	GLN	A	92	5.227	-6.519	32.440	1.00	39.47
ATOM	637	CB	GLN	A	92	3.866	-5.903	29.573	1.00	54.94
ATOM	638	CG	GLN	A	92	2.689	-6.698	30.142	1.00	78.63
ATOM	639	CD	GLN	A	92	2.806	-8.167	29.805	1.00	93.87
ATOM	640	OE1	GLN	A	92	3.597	-8.840	30.475	1.00	96.99
ATOM	641	NE2	GLN	A	92	2.083	-8.696	28.824	1.00	97.81
ATOM	642	N	LYS	A	93	6.859	-6.403	31.050	1.00	31.97
ATOM	643	CA	LYS	A	93	7.675	-7.204	31.972	1.00	25.22
ATOM	644	C	LYS	A	93	8.381	-6.298	33.015	1.00	24.68
ATOM	645	O	LYS	A	93	8.716	-6.793	34.075	1.00	32.13
ATOM	646	CB	LYS	A	93	8.673	-7.980	31.148	1.00	10.86
ATOM	647	CG	LYS	A	93	8.225	-8.963	30.159	1.00	24.26
ATOM	648	CD	LYS	A	93	9.362	-9.966	29.986	1.00	21.96
ATOM	649	CE	LYS	A	93	9.093	-10.718	28.658	1.00	23.78
ATOM	650	NZ	LYS	A	93	10.084	-11.805	28.300	1.00	25.87
ATOM	651	N	CYS	A	94	8.752	-5.096	32.774	1.00	16.62
ATOM	652	CA	CYS	A	94	9.752	-4.412	33.480	1.00	18.95
ATOM	653	C	CYS	A	94	9.512	-2.936	33.537	1.00	24.83
ATOM	654	O	CYS	A	94	10.184	-2.017	33.150	1.00	26.80
ATOM	655	CB	CYS	A	94	11.147	-4.691	32.911	1.00	3.14
ATOM	656	SG	CYS	A	94	11.618	-6.437	32.882	1.00	25.28
ATOM	657	N	PRO	A	95	8.403	-2.561	34.086	1.00	26.08
ATOM	658	CA	PRO	A	95	7.891	-1.202	33.878	1.00	26.11
ATOM	659	C	PRO	A	95	8.960	-0.259	34.299	1.00	27.32
ATOM	660	O	PRO	A	95	8.776	0.966	34.108	1.00	29.08
ATOM	661	CB	PRO	A	95	6.609	-1.090	34.747	1.00	20.75
ATOM	662	CG	PRO	A	95	6.587	-2.421	35.322	1.00	19.04
ATOM	663	CD	PRO	A	95	7.363	-3.461	34.509	1.00	22.55
ATOM	664	N	ASN	A	96	9.836	-0.776	35.193	1.00	31.44
ATOM	665	CA	ASN	A	96	10.559	0.274	35.966	1.00	35.38
ATOM	666	C	ASN	A	96	11.891	0.476	35.353	1.00	33.83
ATOM	667	O	ASN	A	96	12.599	1.359	35.684	1.00	33.31
ATOM	668	CB	ASN	A	96	10.558	-0.099	37.429	1.00	53.70
ATOM	669	CG	ASN	A	96	9.238	0.342	38.026	1.00	61.69
ATOM	670	OD1	ASN	A	96	8.758	1.432	37.706	1.00	64.33
ATOM	671	ND2	ASN	A	96	8.676	-0.526	38.861	1.00	67.25

ATOM	672	N	THR	A	97	12.287	-0.409	34.507	1.00	30.32
ATOM	673	CA	THR	A	97	13.519	-0.367	33.794	1.00	22.83
ATOM	674	C	THR	A	97	13.404	0.493	32.534	1.00	22.44
ATOM	675	O	THR	A	97	12.446	0.779	31.816	1.00	21.14
ATOM	676	CB	THR	A	97	13.835	-1.851	33.705	1.00	25.87
ATOM	677	OG1	THR	A	97	14.602	-1.915	32.528	1.00	38.91
ATOM	678	CG2	THR	A	97	12.769	-2.901	33.621	1.00	24.22
ATOM	679	N	PRO	A	98	14.393	1.415	32.408	1.00	20.59
ATOM	680	CA	PRO	A	98	14.513	2.292	31.254	1.00	18.15
ATOM	681	C	PRO	A	98	14.882	1.494	29.978	1.00	16.07
ATOM	682	O	PRO	A	98	15.622	0.462	29.934	1.00	17.19
ATOM	683	CB	PRO	A	98	15.563	3.339	31.676	1.00	14.55
ATOM	684	CG	PRO	A	98	16.270	2.646	32.699	1.00	12.29
ATOM	685	CD	PRO	A	98	15.735	1.331	33.046	1.00	12.02
ATOM	686	N	VAL	A	99	14.322	2.107	28.940	1.00	13.81
ATOM	687	CA	VAL	A	99	14.225	1.544	27.632	1.00	14.02
ATOM	688	C	VAL	A	99	14.956	2.407	26.663	1.00	10.66
ATOM	689	O	VAL	A	99	14.716	3.679	26.712	1.00	6.90
ATOM	690	CB	VAL	A	99	12.673	1.343	27.335	1.00	2.87
ATOM	691	CG1	VAL	A	99	12.666	1.272	25.872	1.00	17.40
ATOM	692	CG2	VAL	A	99	12.442	-0.111	27.744	1.00	5.75
ATOM	693	N	VAL	A	100	15.885	1.776	25.861	1.00	6.45
ATOM	694	CA	VAL	A	100	16.525	2.755	24.900	1.00	9.61
ATOM	695	C	VAL	A	100	16.389	2.159	23.561	1.00	10.79
ATOM	696	O	VAL	A	100	16.256	0.973	23.477	1.00	9.11
ATOM	697	CB	VAL	A	100	17.877	3.260	25.197	1.00	8.05
ATOM	698	CG1	VAL	A	100	17.824	4.252	26.336	1.00	6.05
ATOM	699	CG2	VAL	A	100	18.853	2.053	25.591	1.00	6.68
ATOM	700	N	ALA	A	101	16.277	2.928	22.511	1.00	13.14
ATOM	701	CA	ALA	A	101	16.127	2.266	21.183	1.00	15.67
ATOM	702	C	ALA	A	101	17.065	2.747	20.053	1.00	12.08
ATOM	703	O	ALA	A	101	17.261	4.042	19.907	1.00	11.16
ATOM	704	CB	ALA	A	101	14.685	2.609	20.812	1.00	6.57
ATOM	705	N	GLY	A	102	17.218	1.787	19.099	1.00	7.53
ATOM	706	CA	GLY	A	102	17.949	2.415	17.939	1.00	7.10
ATOM	707	C	GLY	A	102	17.477	1.803	16.744	1.00	7.27
ATOM	708	O	GLY	A	102	17.102	0.621	16.878	1.00	10.83
ATOM	709	N	GLY	A	103	17.706	2.407	15.648	1.00	7.80
ATOM	710	CA	GLY	A	103	17.446	1.745	14.356	1.00	5.33
ATOM	711	C	GLY	A	103	18.303	2.211	13.180	1.00	7.56
ATOM	712	O	GLY	A	103	18.785	3.340	13.227	1.00	6.88
ATOM	713	N	TYR	A	104	18.490	1.387	12.139	1.00	7.09
ATOM	714	CA	TYR	A	104	19.392	1.682	11.069	1.00	5.99
ATOM	715	C	TYR	A	104	18.705	1.614	9.705	1.00	9.47
ATOM	716	O	TYR	A	104	18.115	0.638	9.441	1.00	6.46
ATOM	717	CB	TYR	A	104	20.592	0.797	11.079	1.00	5.40
ATOM	718	CG	TYR	A	104	21.436	1.078	9.876	1.00	8.05
ATOM	719	CD1	TYR	A	104	21.708	2.302	9.352	1.00	5.91

ATOM	720	CD2	TYR	A	104	21.961	-0.044	9.172	1.00	6.85
ATOM	721	CE1	TYR	A	104	22.447	2.513	8.186	1.00	5.61
ATOM	722	CE2	TYR	A	104	22.751	0.052	8.072	1.00	7.49
ATOM	723	CZ	TYR	A	104	22.972	1.377	7.608	1.00	11.08
ATOM	724	OH	TYR	A	104	23.795	1.509	6.479	1.00	14.32
ATOM	725	N	SER	A	105	18.939	2.975	8.852	1.00	18.39
ATOM	726	CA	SER	A	105	18.190	2.854	7.601	1.00	9.66
ATOM	727	C	SER	A	105	16.763	2.370	7.722	1.00	6.10
ATOM	728	O	SER	A	105	16.090	3.304	8.077	1.00	5.63
ATOM	729	CB	SER	A	105	19.124	2.159	6.607	1.00	8.55
ATOM	730	OG	SER	A	105	18.553	1.685	5.463	1.00	24.30
ATOM	731	N	GLN	A	106	16.241	1.405	7.079	1.00	9.93
ATOM	732	CA	GLN	A	106	14.759	1.316	7.002	1.00	8.25
ATOM	733	C	GLN	A	106	14.453	1.089	8.473	1.00	8.51
ATOM	734	O	GLN	A	106	13.470	1.683	8.862	1.00	6.31
ATOM	735	CB	GLN	A	106	14.239	0.393	5.940	1.00	7.45
ATOM	736	CG	GLN	A	106	13.184	-0.528	6.465	1.00	18.04
ATOM	737	CD	GLN	A	106	12.228	-1.220	5.581	1.00	16.87
ATOM	738	OE1	GLN	A	106	11.024	-1.180	5.492	1.00	17.59
ATOM	739	NE2	GLN	A	106	12.643	-2.032	4.713	1.00	8.32
ATOM	740	N	GLY	A	107	15.269	0.310	9.172	1.00	7.13
ATOM	741	CA	GLY	A	107	15.190	0.159	10.606	1.00	4.61
ATOM	742	C	GLY	A	107	15.048	1.472	11.356	1.00	8.27
ATOM	743	O	GLY	A	107	14.219	1.511	12.290	1.00	6.52
ATOM	744	N	ALA	A	108	15.653	2.637	11.033	1.00	6.44
ATOM	745	CA	ALA	A	108	15.266	3.864	11.641	1.00	7.41
ATOM	746	C	ALA	A	108	13.813	4.346	11.471	1.00	11.76
ATOM	747	O	ALA	A	108	13.150	4.914	12.298	1.00	12.64
ATOM	748	CB	ALA	A	108	16.121	5.006	11.170	1.00	13.93
ATOM	749	N	ALA	A	109	13.321	4.312	10.267	1.00	9.78
ATOM	750	CA	ALA	A	109	12.056	4.685	9.861	1.00	10.47
ATOM	751	C	ALA	A	109	11.093	3.858	10.727	1.00	12.32
ATOM	752	O	ALA	A	109	10.016	4.391	11.035	1.00	14.67
ATOM	753	CB	ALA	A	109	12.035	4.173	8.456	1.00	10.24
ATOM	754	N	LEU	A	110	11.259	2.690	11.077	1.00	4.34
ATOM	755	CA	LEU	A	110	10.458	1.760	11.783	1.00	11.71
ATOM	756	C	LEU	A	110	10.305	2.253	13.203	1.00	15.26
ATOM	757	O	LEU	A	110	9.298	2.672	13.685	1.00	18.07
ATOM	758	CB	LEU	A	110	11.031	0.319	11.634	1.00	7.52
ATOM	759	CG	LEU	A	110	10.247	-0.801	12.258	1.00	8.41
ATOM	760	CD1	LEU	A	110	10.685	-2.233	11.862	1.00	7.17
ATOM	761	CD2	LEU	A	110	10.278	-0.659	13.783	1.00	5.25
ATOM	762	N	ILE	A	111	11.397	2.373	13.907	1.00	15.77
ATOM	763	CA	ILE	A	111	11.510	2.860	15.246	1.00	12.22
ATOM	764	C	ILE	A	111	11.027	4.255	15.234	1.00	9.39
ATOM	765	O	ILE	A	111	10.404	4.636	16.241	1.00	12.54
ATOM	766	CB	ILE	A	111	12.977	2.814	15.685	1.00	15.55
ATOM	767	CG1	ILE	A	111	13.222	1.279	15.805	1.00	14.19

ATOM	768	CG2	ILE	A	111	13.195	3.465	17.005	1.00	4.64
ATOM	769	CD1	ILE	A	111	12.410	0.887	17.002	1.00	14.88
ATOM	770	N	ALA	A	112	11.309	5.170	14.341	1.00	11.00
ATOM	771	CA	ALA	A	112	10.792	6.528	14.427	1.00	12.45
ATOM	772	C	ALA	A	112	9.266	6.455	14.308	1.00	15.59
ATOM	773	O	ALA	A	112	8.728	7.131	15.154	1.00	18.13
ATOM	774	CB	ALA	A	112	11.334	7.505	13.486	1.00	5.70
ATOM	775	N	ALA	A	113	8.575	5.572	13.587	1.00	12.85
ATOM	776	CA	ALA	A	113	7.167	5.512	13.557	1.00	15.39
ATOM	777	C	ALA	A	113	6.475	5.093	14.861	1.00	18.21
ATOM	778	O	ALA	A	113	5.498	5.750	15.226	1.00	14.59
ATOM	779	CB	ALA	A	113	6.678	4.562	12.500	1.00	17.63
ATOM	780	N	ALA	A	114	6.937	3.948	15.303	1.00	16.02
ATOM	781	CA	ALA	A	114	6.483	3.218	16.412	1.00	16.43
ATOM	782	C	ALA	A	114	6.578	4.114	17.643	1.00	22.20
ATOM	783	O	ALA	A	114	5.673	4.321	18.426	1.00	18.94
ATOM	784	CB	ALA	A	114	7.474	2.084	16.565	1.00	4.69
ATOM	785	N	VAL	A	115	7.722	4.836	17.744	1.00	22.46
ATOM	786	CA	VAL	A	115	7.855	5.499	19.064	1.00	20.88
ATOM	787	C	VAL	A	115	6.670	6.469	19.007	1.00	22.71
ATOM	788	O	VAL	A	115	6.136	6.761	20.057	1.00	22.05
ATOM	789	CB	VAL	A	115	9.279	6.090	19.137	1.00	19.61
ATOM	790	CG1	VAL	A	115	9.396	7.259	20.122	1.00	8.35
ATOM	791	CG2	VAL	A	115	10.245	5.016	19.562	1.00	13.91
ATOM	792	N	SER	A	116	6.467	7.085	17.828	1.00	23.59
ATOM	793	CA	SER	A	116	5.539	8.172	17.736	1.00	23.68
ATOM	794	C	SER	A	116	4.169	7.647	18.120	1.00	23.77
ATOM	795	O	SER	A	116	3.333	8.523	18.399	1.00	27.35
ATOM	796	CB	SER	A	116	5.522	8.865	16.376	1.00	25.21
ATOM	797	OG	SER	A	116	5.168	8.043	15.277	1.00	28.05
ATOM	798	N	GLU	A	117	3.859	6.397	18.004	1.00	18.83
ATOM	799	CA	GLU	A	117	2.491	6.020	18.238	1.00	22.21
ATOM	800	C	GLU	A	117	2.461	5.474	19.653	1.00	30.46
ATOM	801	O	GLU	A	117	1.487	4.773	19.863	1.00	35.72
ATOM	802	CB	GLU	A	117	1.977	4.902	17.343	1.00	21.63
ATOM	803	CG	GLU	A	117	2.167	5.219	15.897	1.00	26.41
ATOM	804	CD	GLU	A	117	1.560	4.424	14.814	1.00	34.01
ATOM	805	OE1	GLU	A	117	0.912	3.440	15.046	1.00	32.59
ATOM	806	OE2	GLU	A	117	1.750	4.833	13.659	1.00	44.62
ATOM	807	N	LEU	A	118	3.438	5.570	20.512	1.00	34.45
ATOM	808	CA	LEU	A	118	3.326	5.006	21.812	1.00	33.64
ATOM	809	C	LEU	A	118	2.681	6.110	22.633	1.00	41.75
ATOM	810	O	LEU	A	118	2.594	7.267	22.370	1.00	39.90
ATOM	811	CB	LEU	A	118	4.600	4.668	22.392	1.00	29.44
ATOM	812	CG	LEU	A	118	5.628	3.891	21.645	1.00	26.36
ATOM	813	CD1	LEU	A	118	6.921	3.840	22.379	1.00	27.53
ATOM	814	CD2	LEU	A	118	5.110	2.520	21.536	1.00	20.69
ATOM	815	N	SER	A	119	2.076	5.794	23.726	1.00	48.86

ATOM	816	CA	SER	A	119	0.910	5.647	24.476	1.00	52.44
ATOM	817	C	SER	A	119	1.212	6.063	25.866	1.00	52.57
ATOM	818	O	SER	A	119	1.485	5.258	26.735	1.00	55.54
ATOM	819	CB	SER	A	119	0.550	4.132	24.488	1.00	70.55
ATOM	820	OG	SER	A	119	1.393	3.091	23.908	1.00	66.80
ATOM	821	N	GLY	A	120	1.532	7.307	26.024	1.00	52.95
ATOM	822	CA	GLY	A	120	1.910	7.761	27.382	1.00	53.35
ATOM	823	C	GLY	A	120	2.944	7.109	28.291	1.00	49.09
ATOM	824	O	GLY	A	120	4.086	7.617	28.358	1.00	49.66
ATOM	825	N	ALA	A	121	2.526	6.129	29.102	1.00	42.97
ATOM	826	CA	ALA	A	121	3.477	5.574	30.022	1.00	40.72
ATOM	827	C	ALA	A	121	4.587	4.772	29.326	1.00	44.20
ATOM	828	O	ALA	A	121	5.749	4.803	29.711	1.00	45.42
ATOM	829	CB	ALA	A	121	2.965	4.542	30.903	1.00	36.34
ATOM	830	N	VAL	A	122	4.122	4.035	28.312	1.00	41.15
ATOM	831	CA	VAL	A	122	5.090	3.269	27.548	1.00	33.41
ATOM	832	C	VAL	A	122	5.870	4.168	26.652	1.00	28.48
ATOM	833	O	VAL	A	122	7.084	4.019	26.872	1.00	27.69
ATOM	834	CB	VAL	A	122	4.424	2.056	26.952	1.00	30.22
ATOM	835	CG1	VAL	A	122	2.924	1.997	27.098	1.00	28.03
ATOM	836	CG2	VAL	A	122	4.891	1.836	25.551	1.00	23.22
ATOM	837	N	LYS	A	123	5.424	5.310	26.177	1.00	23.16
ATOM	838	CA	LYS	A	123	6.354	6.314	25.661	1.00	23.11
ATOM	839	C	LYS	A	123	7.403	6.783	26.661	1.00	25.28
ATOM	840	O	LYS	A	123	8.524	7.224	26.449	1.00	29.01
ATOM	841	CB	LYS	A	123	5.561	7.502	25.100	1.00	23.54
ATOM	842	CG	LYS	A	123	6.171	8.573	24.277	1.00	26.71
ATOM	843	CD	LYS	A	123	5.400	9.775	23.888	1.00	43.07
ATOM	844	CE	LYS	A	123	4.953	9.783	22.461	1.00	59.59
ATOM	845	NZ	LYS	A	123	3.518	9.637	22.099	1.00	67.50
ATOM	846	N	GLU	A	124	6.977	6.991	27.918	1.00	27.95
ATOM	847	CA	GLU	A	124	7.845	7.700	28.863	1.00	27.29
ATOM	848	C	GLU	A	124	8.910	6.706	29.243	1.00	25.21
ATOM	849	O	GLU	A	124	9.993	7.165	29.769	1.00	21.21
ATOM	850	CB	GLU	A	124	6.986	8.351	29.927	1.00	40.13
ATOM	851	CG	GLU	A	124	7.588	8.609	31.295	1.00	57.40
ATOM	852	CD	GLU	A	124	8.530	9.814	31.247	1.00	66.99
ATOM	853	OE1	GLU	A	124	9.619	9.751	31.902	1.00	70.44
ATOM	854	OE2	GLU	A	124	7.949	10.652	30.502	1.00	73.84
ATOM	855	N	GLN	A	125	8.656	5.393	29.058	1.00	19.93
ATOM	856	CA	GLN	A	125	9.761	4.509	29.546	1.00	17.98
ATOM	857	C	GLN	A	125	10.865	4.556	28.521	1.00	24.28
ATOM	858	O	GLN	A	125	11.964	4.107	28.815	1.00	21.47
ATOM	859	CB	GLN	A	125	9.225	3.178	29.844	1.00	9.13
ATOM	860	CG	GLN	A	125	9.901	2.001	30.299	1.00	9.05
ATOM	861	CD	GLN	A	125	9.211	0.719	30.129	1.00	19.33
ATOM	862	OE1	GLN	A	125	8.190	0.703	29.466	1.00	28.52
ATOM	863	NE2	GLN	A	125	9.662	-0.396	30.684	1.00	13.34

ATOM	864	N	VAL	A	126	10.593	5.188	27.319	1.00	25.30
ATOM	865	CA	VAL	A	126	11.738	5.124	26.361	1.00	22.55
ATOM	866	C	VAL	A	126	12.546	6.334	26.614	1.00	17.55
ATOM	867	O	VAL	A	126	12.109	7.408	26.329	1.00	12.79
ATOM	868	CB	VAL	A	126	11.227	4.560	25.022	1.00	23.76
ATOM	869	CG1	VAL	A	126	9.706	4.686	24.946	1.00	23.77
ATOM	870	CG2	VAL	A	126	11.795	5.081	23.743	1.00	23.81
ATOM	871	N	LYS	A	127	13.726	6.233	27.264	1.00	16.41
ATOM	872	CA	LYS	A	127	14.462	7.494	27.639	1.00	18.18
ATOM	873	C	LYS	A	127	15.239	8.063	26.488	1.00	18.49
ATOM	874	O	LYS	A	127	15.812	9.103	26.680	1.00	18.99
ATOM	875	CB	LYS	A	127	15.401	7.148	28.792	1.00	20.81
ATOM	876	CG	LYS	A	127	14.770	6.110	29.713	1.00	21.99
ATOM	877	CD	LYS	A	127	13.435	6.726	30.064	1.00	33.86
ATOM	878	CE	LYS	A	127	12.779	6.612	31.399	1.00	32.17
ATOM	879	NZ	LYS	A	127	12.279	7.863	31.993	1.00	45.34
ATOM	880	N	GLY	A	128	15.522	7.281	25.416	1.00	20.56
ATOM	881	CA	GLY	A	128	16.280	7.948	24.306	1.00	20.72
ATOM	882	C	GLY	A	128	16.358	7.104	23.063	1.00	17.71
ATOM	883	O	GLY	A	128	16.168	5.901	23.226	1.00	16.66
ATOM	884	N	VAL	A	129	16.451	7.725	21.892	1.00	16.16
ATOM	885	CA	VAL	A	129	16.497	6.872	20.691	1.00	13.82
ATOM	886	C	VAL	A	129	17.519	7.371	19.719	1.00	8.35
ATOM	887	O	VAL	A	129	17.602	8.553	19.556	1.00	3.85
ATOM	888	CB	VAL	A	129	15.192	6.426	20.054	1.00	11.02
ATOM	889	CG1	VAL	A	129	14.007	7.041	20.726	1.00	6.50
ATOM	890	CG2	VAL	A	129	15.051	6.729	18.571	1.00	10.03
ATOM	891	N	ALA	A	130	18.455	6.398	19.363	1.00	8.05
ATOM	892	CA	ALA	A	130	19.430	6.845	18.344	1.00	7.55
ATOM	893	C	ALA	A	130	19.078	6.293	16.958	1.00	11.17
ATOM	894	O	ALA	A	130	18.755	5.145	16.849	1.00	15.74
ATOM	895	CB	ALA	A	130	20.781	6.391	18.603	1.00	5.89
ATOM	896	N	LEU	A	131	18.911	6.953	15.892	1.00	7.36
ATOM	897	CA	LEU	A	131	18.635	6.625	14.553	1.00	7.70
ATOM	898	C	LEU	A	131	19.876	6.908	13.661	1.00	12.02
ATOM	899	O	LEU	A	131	20.436	8.033	13.604	1.00	6.80
ATOM	900	CB	LEU	A	131	17.604	7.713	14.102	1.00	8.40
ATOM	901	CG	LEU	A	131	16.160	7.830	14.575	1.00	6.67
ATOM	902	CD1	LEU	A	131	15.391	8.957	13.981	1.00	4.49
ATOM	903	CD2	LEU	A	131	15.481	6.488	14.324	1.00	5.12
ATOM	904	N	PHE	A	132	20.271	6.009	12.802	1.00	11.56
ATOM	905	CA	PHE	A	132	21.422	6.183	11.908	1.00	10.44
ATOM	906	C	PHE	A	132	20.965	6.013	10.478	1.00	8.46
ATOM	907	O	PHE	A	132	20.175	5.101	10.097	1.00	11.04
ATOM	908	CB	PHE	A	132	22.217	4.931	12.282	1.00	10.56
ATOM	909	CG	PHE	A	132	22.693	4.830	13.714	1.00	16.38
ATOM	910	CD1	PHE	A	132	21.951	4.029	14.542	1.00	13.36
ATOM	911	CD2	PHE	A	132	23.860	5.489	14.213	1.00	15.12

ATOM	912	CE1	PHE	A	132	22.342	3.911	15.889	1.00	14.91
ATOM	913	CE2	PHE	A	132	24.176	5.323	15.513	1.00	18.02
ATOM	914	CZ	PHE	A	132	23.426	4.530	16.403	1.00	15.09
ATOM	915	N	GLY	A	133	21.431	6.876	9.580	1.00	7.35
ATOM	916	CA	GLY	A	133	21.026	6.893	8.148	1.00	5.86
ATOM	917	C	GLY	A	133	19.503	6.919	8.061	1.00	12.25
ATOM	918	O	GLY	A	133	18.890	5.926	7.593	1.00	9.03
ATOM	919	N	TYR	A	134	18.926	8.070	8.532	1.00	9.85
ATOM	920	CA	TYR	A	134	17.455	8.022	8.838	1.00	7.40
ATOM	921	C	TYR	A	134	16.647	8.365	7.584	1.00	10.61
ATOM	922	O	TYR	A	134	16.785	9.513	7.131	1.00	5.85
ATOM	923	CB	TYR	A	134	17.161	9.128	9.836	1.00	7.27
ATOM	924	CG	TYR	A	134	15.842	9.393	10.391	1.00	7.89
ATOM	925	CD1	TYR	A	134	14.889	8.437	10.312	1.00	6.65
ATOM	926	CD2	TYR	A	134	15.661	10.651	10.948	1.00	11.44
ATOM	927	CE1	TYR	A	134	13.657	8.690	10.821	1.00	9.05
ATOM	928	CE2	TYR	A	134	14.408	10.928	11.467	1.00	12.89
ATOM	929	CZ	TYR	A	134	13.428	9.923	11.423	1.00	14.22
ATOM	930	OH	TYR	A	134	12.146	10.110	11.975	1.00	12.41
ATOM	931	N	THR	A	135	15.811	7.398	7.139	1.00	11.51
ATOM	932	CA	THR	A	135	15.229	7.581	5.789	1.00	7.71
ATOM	933	C	THR	A	135	14.082	8.530	5.825	1.00	10.36
ATOM	934	O	THR	A	135	13.845	8.878	4.727	1.00	11.26
ATOM	935	CB	THR	A	135	14.772	6.394	4.967	1.00	12.02
ATOM	936	OG1	THR	A	135	13.821	5.399	5.398	1.00	22.81
ATOM	937	CG2	THR	A	135	15.828	5.332	4.712	1.00	14.88
ATOM	938	N	GLN	A	136	13.632	9.105	6.928	1.00	15.28
ATOM	939	CA	GLN	A	136	12.596	10.134	6.968	1.00	16.48
ATOM	940	C	GLN	A	136	13.102	11.418	7.646	1.00	17.46
ATOM	941	O	GLN	A	136	12.292	12.231	8.035	1.00	12.82
ATOM	942	CB	GLN	A	136	11.336	9.671	7.701	1.00	5.71
ATOM	943	CG	GLN	A	136	11.178	8.191	7.263	1.00	13.60
ATOM	944	CD	GLN	A	136	10.504	8.264	5.932	1.00	14.65
ATOM	945	OE1	GLN	A	136	9.587	9.102	5.986	1.00	23.99
ATOM	946	NE2	GLN	A	136	10.852	7.529	4.914	1.00	14.68
ATOM	947	N	ASN	A	137	14.421	11.532	7.566	1.00	18.52
ATOM	948	CA	ASN	A	137	14.953	12.752	8.141	1.00	18.16
ATOM	949	C	ASN	A	137	14.301	13.929	7.458	1.00	19.79
ATOM	950	O	ASN	A	137	13.895	14.802	8.157	1.00	12.28
ATOM	951	CB	ASN	A	137	16.481	12.573	8.239	1.00	14.17
ATOM	952	CG	ASN	A	137	17.247	13.740	8.812	1.00	19.75
ATOM	953	OD1	ASN	A	137	17.821	14.341	7.934	1.00	14.52
ATOM	954	ND2	ASN	A	137	17.390	14.130	10.042	1.00	17.43
ATOM	955	N	LEU	A	138	14.180	14.062	6.141	1.00	27.31
ATOM	956	CA	LEU	A	138	13.640	15.270	5.553	1.00	25.53
ATOM	957	C	LEU	A	138	12.190	15.332	5.971	1.00	22.45
ATOM	958	O	LEU	A	138	11.710	16.281	6.549	1.00	25.13
ATOM	959	CB	LEU	A	138	13.632	15.269	4.056	1.00	41.28

ATOM	960	CG	LEU	A	138	13.713	16.582	3.303	1.00	31.76
ATOM	961	CD1	LEU	A	138	14.641	17.503	4.012	1.00	51.09
ATOM	962	CD2	LEU	A	138	14.207	16.573	1.958	1.00	46.20
ATOM	963	N	GLN	A	139	11.378	14.403	5.569	1.00	20.48
ATOM	964	CA	GLN	A	139	10.034	14.390	6.037	1.00	19.98
ATOM	965	C	GLN	A	139	9.846	14.749	7.471	1.00	22.85
ATOM	966	O	GLN	A	139	8.791	15.282	7.528	1.00	26.66
ATOM	967	CB	GLN	A	139	9.517	12.969	5.899	1.00	18.37
ATOM	968	CG	GLN	A	139	9.684	12.643	4.450	1.00	22.02
ATOM	969	CD	GLN	A	139	10.984	11.983	4.110	1.00	22.69
ATOM	970	OE1	GLN	A	139	10.674	10.980	3.477	1.00	35.62
ATOM	971	NE2	GLN	A	139	12.195	12.405	4.410	1.00	31.70
ATOM	972	N	ASN	A	140	10.454	14.072	8.427	1.00	26.14
ATOM	973	CA	ASN	A	140	10.215	14.183	9.848	1.00	19.06
ATOM	974	C	ASN	A	140	10.941	15.429	10.293	1.00	16.99
ATOM	975	O	ASN	A	140	11.040	15.654	11.454	1.00	18.05
ATOM	976	CB	ASN	A	140	10.581	12.910	10.541	1.00	17.20
ATOM	977	CG	ASN	A	140	9.465	11.998	10.210	1.00	16.28
ATOM	978	OD1	ASN	A	140	8.615	12.565	9.563	1.00	23.57
ATOM	979	ND2	ASN	A	140	9.460	10.756	10.630	1.00	22.65
ATOM	980	N	ARG	A	141	11.457	16.162	9.397	1.00	19.20
ATOM	981	CA	ARG	A	141	12.170	17.350	9.790	1.00	26.25
ATOM	982	C	ARG	A	141	13.219	17.090	10.818	1.00	25.06
ATOM	983	O	ARG	A	141	13.365	17.928	11.649	1.00	27.60
ATOM	984	CB	ARG	A	141	11.123	18.299	10.271	1.00	37.72
ATOM	985	CG	ARG	A	141	10.083	18.974	9.372	1.00	49.61
ATOM	986	N	GLY	A	142	14.110	16.165	10.920	1.00	19.42
ATOM	987	CA	GLY	A	142	14.997	15.778	11.902	1.00	14.21
ATOM	988	C	GLY	A	142	14.652	15.066	13.158	1.00	19.42
ATOM	989	O	GLY	A	142	15.547	14.759	13.971	1.00	23.74
ATOM	990	N	GLY	A	143	13.354	14.851	13.569	1.00	14.09
ATOM	991	CA	GLY	A	143	13.210	14.075	14.757	1.00	11.80
ATOM	992	C	GLY	A	143	12.203	12.972	14.555	1.00	16.69
ATOM	993	O	GLY	A	143	11.760	12.787	13.481	1.00	19.57
ATOM	994	N	ILE	A	144	11.668	12.386	15.590	1.00	19.71
ATOM	995	CA	ILE	A	144	10.494	11.589	15.667	1.00	20.13
ATOM	996	C	ILE	A	144	9.313	12.315	16.296	1.00	27.00
ATOM	997	O	ILE	A	144	9.298	13.026	17.268	1.00	26.75
ATOM	998	CB	ILE	A	144	10.973	10.583	16.692	1.00	16.84
ATOM	999	CG1	ILE	A	144	12.363	9.956	16.348	1.00	5.60
ATOM	1000	CG2	ILE	A	144	9.882	9.636	16.775	1.00	14.01
ATOM	1001	CD1	ILE	A	144	12.437	9.156	17.562	1.00	2.75
ATOM	1002	N	PRO	A	145	8.249	12.380	15.499	1.00	32.77
ATOM	1003	CA	PRO	A	145	6.959	12.993	15.779	1.00	29.89
ATOM	1004	C	PRO	A	145	6.484	12.588	17.180	1.00	27.78
ATOM	1005	O	PRO	A	145	6.475	11.446	17.537	1.00	26.07
ATOM	1006	CB	PRO	A	145	5.957	12.384	14.784	1.00	26.51
ATOM	1007	CG	PRO	A	145	6.887	12.059	13.668	1.00	25.85

ATOM	1008	CD	PRO	A	145	8.174	11.563	14.234	1.00	31.33
ATOM	1009	N	ASN	A	146	5.796	13.462	17.878	1.00	27.07
ATOM	1010	CA	ASN	A	146	5.454	13.274	19.230	1.00	28.59
ATOM	1011	C	ASN	A	146	6.526	12.605	20.045	1.00	29.25
ATOM	1012	O	ASN	A	146	6.087	11.995	20.996	1.00	35.51
ATOM	1013	CB	ASN	A	146	4.285	12.364	19.230	1.00	41.13
ATOM	1014	CG	ASN	A	146	3.300	12.568	18.120	1.00	48.43
ATOM	1015	OD1	ASN	A	146	3.134	13.721	17.788	1.00	49.24
ATOM	1016	ND2	ASN	A	146	2.763	11.437	17.695	1.00	47.79
ATOM	1017	N	TYR	A	147	7.791	12.799	19.885	1.00	23.88
ATOM	1018	CA	TYR	A	147	8.689	12.339	20.969	1.00	21.90
ATOM	1019	C	TYR	A	147	9.583	13.495	21.285	1.00	22.57
ATOM	1020	O	TYR	A	147	9.777	14.399	20.494	1.00	26.53
ATOM	1021	CB	TYR	A	147	9.309	11.098	20.498	1.00	21.16
ATOM	1022	CG	TYR	A	147	10.285	10.471	21.349	1.00	20.45
ATOM	1023	CD1	TYR	A	147	9.882	9.720	22.384	1.00	24.28
ATOM	1024	CD2	TYR	A	147	11.608	10.564	21.189	1.00	17.96
ATOM	1025	CE1	TYR	A	147	10.681	9.029	23.273	1.00	24.55
ATOM	1026	CE2	TYR	A	147	12.509	9.948	21.983	1.00	20.73
ATOM	1027	CZ	TYR	A	147	12.022	9.184	23.030	1.00	24.61
ATOM	1028	OH	TYR	A	147	12.891	8.536	23.887	1.00	24.80
ATOM	1029	N	PRO	A	148	9.893	13.858	22.507	1.00	22.86
ATOM	1030	CA	PRO	A	148	10.817	14.916	22.769	1.00	21.77
ATOM	1031	C	PRO	A	148	12.127	14.882	21.957	1.00	22.49
ATOM	1032	O	PRO	A	148	13.007	14.004	22.117	1.00	22.31
ATOM	1033	CB	PRO	A	148	11.185	14.694	24.251	1.00	23.23
ATOM	1034	CG	PRO	A	148	10.324	13.576	24.719	1.00	23.39
ATOM	1035	CD	PRO	A	148	9.677	12.889	23.590	1.00	25.33
ATOM	1036	N	ARG	A	149	12.432	15.980	21.250	1.00	25.45
ATOM	1037	CA	ARG	A	149	13.735	16.138	20.567	1.00	22.54
ATOM	1038	C	ARG	A	149	14.910	16.018	21.499	1.00	21.28
ATOM	1039	O	ARG	A	149	15.860	15.477	21.015	1.00	16.61
ATOM	1040	CB	ARG	A	149	13.829	17.346	19.727	1.00	31.02
ATOM	1041	CG	ARG	A	149	12.837	17.750	18.719	1.00	58.26
ATOM	1042	CD	ARG	A	149	13.452	18.605	17.658	1.00	80.58
ATOM	1043	NE	ARG	A	149	13.769	17.798	16.491	1.00	92.05
ATOM	1044	CZ	ARG	A	149	13.315	18.154	15.320	1.00	91.85
ATOM	1045	NH1	ARG	A	149	12.586	19.213	15.165	1.00	86.98
ATOM	1046	NH2	ARG	A	149	13.544	17.488	14.242	1.00	91.61
ATOM	1047	N	GLU	A	150	14.813	16.282	22.825	1.00	28.09
ATOM	1048	CA	GLU	A	150	15.950	16.171	23.735	1.00	25.55
ATOM	1049	C	GLU	A	150	16.272	14.736	24.020	1.00	21.12
ATOM	1050	O	GLU	A	150	17.372	14.443	24.371	1.00	24.39
ATOM	1051	CB	GLU	A	150	15.753	17.040	24.917	1.00	38.73
ATOM	1052	CG	GLU	A	150	14.328	17.370	25.359	1.00	67.27
ATOM	1053	CD	GLU	A	150	14.252	17.185	26.899	1.00	85.05
ATOM	1054	OE1	GLU	A	150	15.005	17.890	27.657	1.00	90.70
ATOM	1055	OE2	GLU	A	150	13.454	16.321	27.373	1.00	91.68

ATOM	1056	N	ARG	A	151	15.396	13.807	23.727	1.00	19.70
ATOM	1057	CA	ARG	A	151	15.752	12.424	23.844	1.00	19.52
ATOM	1058	C	ARG	A	151	16.163	11.779	22.531	1.00	19.28
ATOM	1059	O	ARG	A	151	16.373	10.586	22.480	1.00	14.55
ATOM	1060	CB	ARG	A	151	14.548	11.796	24.412	1.00	23.06
ATOM	1061	CG	ARG	A	151	13.853	12.432	25.516	1.00	22.24
ATOM	1062	CD	ARG	A	151	13.200	11.451	26.393	1.00	33.40
ATOM	1063	NE	ARG	A	151	12.609	11.893	27.633	1.00	46.53
ATOM	1064	CZ	ARG	A	151	11.796	11.028	28.275	1.00	52.87
ATOM	1065	NH1	ARG	A	151	11.428	9.823	27.930	1.00	51.02
ATOM	1066	NH2	ARG	A	151	11.203	11.278	29.416	1.00	59.98
ATOM	1067	N	THR	A	152	16.360	12.526	21.505	1.00	14.12
ATOM	1068	CA	THR	A	152	16.629	11.925	20.253	1.00	15.05
ATOM	1069	C	THR	A	152	17.995	12.249	19.745	1.00	17.30
ATOM	1070	O	THR	A	152	18.282	13.373	19.965	1.00	21.34
ATOM	1071	CB	THR	A	152	15.680	12.408	19.158	1.00	13.91
ATOM	1072	OG1	THR	A	152	14.423	12.256	19.858	1.00	23.92
ATOM	1073	CG2	THR	A	152	15.737	11.934	17.759	1.00	6.77
ATOM	1074	N	LYS	A	153	18.704	11.336	19.121	1.00	15.49
ATOM	1075	CA	LYS	A	153	19.930	11.725	18.450	1.00	17.73
ATOM	1076	C	LYS	A	153	19.893	11.035	17.073	1.00	18.41
ATOM	1077	O	LYS	A	153	19.866	9.800	17.121	1.00	16.04
ATOM	1078	CB	LYS	A	153	21.112	11.260	19.338	1.00	14.55
ATOM	1079	CG	LYS	A	153	22.523	11.508	18.933	1.00	11.95
ATOM	1080	CD	LYS	A	153	22.883	12.882	19.403	1.00	40.35
ATOM	1081	CE	LYS	A	153	24.358	13.093	19.079	1.00	62.12
ATOM	1082	NZ	LYS	A	153	24.930	14.235	19.863	1.00	73.03
ATOM	1083	N	VAL	A	154	19.910	11.962	16.136	1.00	15.86
ATOM	1084	CA	VAL	A	154	20.031	11.508	14.730	1.00	15.79
ATOM	1085	C	VAL	A	154	21.406	11.481	14.040	1.00	13.11
ATOM	1086	O	VAL	A	154	21.958	12.460	13.675	1.00	13.51
ATOM	1087	CB	VAL	A	154	19.095	12.257	13.674	1.00	5.90
ATOM	1088	CG1	VAL	A	154	19.276	11.765	12.247	1.00	8.45
ATOM	1089	CG2	VAL	A	154	17.672	12.091	14.117	1.00	7.14
ATOM	1090	N	PHE	A	155	22.039	10.448	13.605	1.00	13.75
ATOM	1091	CA	PHE	A	155	23.263	10.473	12.843	1.00	10.67
ATOM	1092	C	PHE	A	155	22.906	10.406	11.402	1.00	11.64
ATOM	1093	O	PHE	A	155	22.505	9.367	10.893	1.00	15.09
ATOM	1094	CB	PHE	A	155	23.955	9.120	13.304	1.00	5.38
ATOM	1095	CG	PHE	A	155	24.396	9.266	14.739	1.00	16.52
ATOM	1096	CD1	PHE	A	155	23.678	8.642	15.696	1.00	23.70
ATOM	1097	CD2	PHE	A	155	25.503	9.950	15.107	1.00	11.27
ATOM	1098	CE1	PHE	A	155	24.037	8.702	17.011	1.00	23.25
ATOM	1099	CE2	PHE	A	155	25.888	9.994	16.372	1.00	7.37
ATOM	1100	CZ	PHE	A	155	25.139	9.384	17.357	1.00	16.13
ATOM	1101	N	CYS	A	156	23.205	11.255	10.511	1.00	12.38
ATOM	1102	CA	CYS	A	156	22.847	11.443	9.114	1.00	11.64
ATOM	1103	C	CYS	A	156	24.057	12.027	8.461	1.00	10.08

ATOM	1104	O	CYS	A	156	24.385	13.174	8.378	1.00	13.73
ATOM	1105	CB	CYS	A	156	21.575	12.391	8.917	1.00	6.30
ATOM	1106	SG	CYS	A	156	20.137	11.470	8.287	1.00	10.60
ATOM	1107	N	ASN	A	157	24.814	11.147	7.918	1.00	16.95
ATOM	1108	CA	ASN	A	157	26.229	11.665	7.576	1.00	19.16
ATOM	1109	C	ASN	A	157	26.197	12.367	6.310	1.00	17.70
ATOM	1110	O	ASN	A	157	25.368	12.330	5.469	1.00	20.91
ATOM	1111	CB	ASN	A	157	27.115	10.714	8.300	1.00	30.34
ATOM	1112	CG	ASN	A	157	27.733	9.498	7.932	1.00	34.95
ATOM	1113	OD1	ASN	A	157	28.011	8.573	8.606	1.00	44.28
ATOM	1114	ND2	ASN	A	157	27.965	9.541	6.660	1.00	54.18
ATOM	1115	N	VAL	A	158	26.849	13.501	6.313	1.00	25.65
ATOM	1116	CA	VAL	A	158	26.825	14.483	5.192	1.00	28.21
ATOM	1117	C	VAL	A	158	26.768	13.893	3.758	1.00	24.85
ATOM	1118	O	VAL	A	158	25.732	14.266	3.111	1.00	30.96
ATOM	1119	CB	VAL	A	158	27.954	15.512	5.217	1.00	27.87
ATOM	1120	CG1	VAL	A	158	28.751	14.595	4.238	1.00	40.51
ATOM	1121	CG2	VAL	A	158	27.791	16.704	4.399	1.00	34.39
ATOM	1122	N	GLY	A	159	27.483	12.956	3.016	1.00	5.94
ATOM	1123	CA	GLY	A	159	26.713	12.774	1.732	1.00	6.20
ATOM	1124	C	GLY	A	159	25.734	11.797	1.487	1.00	4.00
ATOM	1125	O	GLY	A	159	25.732	10.704	0.848	1.00	4.06
ATOM	1126	N	ASP	A	160	25.052	11.441	2.643	1.00	8.53
ATOM	1127	CA	ASP	A	160	24.106	10.302	2.828	1.00	11.97
ATOM	1128	C	ASP	A	160	22.755	10.698	2.177	1.00	14.44
ATOM	1129	O	ASP	A	160	21.928	11.398	2.692	1.00	10.21
ATOM	1130	CB	ASP	A	160	24.037	9.829	4.277	1.00	12.43
ATOM	1131	CG	ASP	A	160	23.126	8.629	4.261	1.00	20.99
ATOM	1132	OD1	ASP	A	160	22.525	8.408	3.179	1.00	33.03
ATOM	1133	OD2	ASP	A	160	22.956	7.840	5.216	1.00	10.13
ATOM	1134	N	ALA	A	161	22.455	10.402	0.961	1.00	12.33
ATOM	1135	CA	ALA	A	161	21.318	10.743	0.269	1.00	11.01
ATOM	1136	C	ALA	A	161	19.961	10.317	0.848	1.00	15.22
ATOM	1137	O	ALA	A	161	18.969	11.034	0.594	1.00	9.50
ATOM	1138	CB	ALA	A	161	21.365	10.334	-1.172	1.00	13.68
ATOM	1139	N	VAL	A	162	19.915	9.468	1.840	1.00	14.54
ATOM	1140	CA	VAL	A	162	18.653	9.014	2.287	1.00	9.86
ATOM	1141	C	VAL	A	162	18.235	10.063	3.258	1.00	13.50
ATOM	1142	O	VAL	A	162	17.094	10.458	3.377	1.00	20.47
ATOM	1143	CB	VAL	A	162	18.596	7.778	3.117	1.00	7.34
ATOM	1144	CG1	VAL	A	162	18.931	6.592	2.259	1.00	6.50
ATOM	1145	CG2	VAL	A	162	19.514	7.858	4.210	1.00	18.46
ATOM	1146	N	CYS	A	163	19.198	10.733	3.719	1.00	13.44
ATOM	1147	CA	CYS	A	163	18.864	11.811	4.720	1.00	11.26
ATOM	1148	C	CYS	A	163	18.256	12.963	4.042	1.00	15.57
ATOM	1149	O	CYS	A	163	18.219	13.857	4.880	1.00	14.09
ATOM	1150	CB	CYS	A	163	20.144	12.145	5.570	1.00	18.70
ATOM	1151	SG	CYS	A	163	20.748	10.705	6.581	1.00	13.38

ATOM	1152	N	THR	A	164	18.100	13.014	2.696	1.00	21.82
ATOM	1153	CA	THR	A	164	17.603	14.283	2.171	1.00	23.08
ATOM	1154	C	THR	A	164	16.597	14.022	1.098	1.00	23.39
ATOM	1155	O	THR	A	164	16.517	14.727	0.137	1.00	33.37
ATOM	1156	CB	THR	A	164	18.463	15.341	1.454	1.00	23.25
ATOM	1157	OG1	THR	A	164	19.486	14.707	0.674	1.00	23.21
ATOM	1158	CG2	THR	A	164	18.958	16.261	2.491	1.00	37.71
ATOM	1159	N	GLY	A	165	15.802	13.085	1.309	1.00	24.23
ATOM	1160	CA	GLY	A	165	14.606	12.783	0.579	1.00	26.69
ATOM	1161	C	GLY	A	165	14.699	11.814	-0.515	1.00	28.56
ATOM	1162	O	GLY	A	165	13.680	11.775	-1.124	1.00	39.76
ATOM	1163	N	THR	A	166	15.661	11.044	-0.736	1.00	25.80
ATOM	1164	CA	THR	A	166	16.006	10.220	-1.774	1.00	25.53
ATOM	1165	C	THR	A	166	16.195	8.866	-1.175	1.00	25.35
ATOM	1166	O	THR	A	166	16.913	8.760	-0.206	1.00	30.91
ATOM	1167	CB	THR	A	166	17.406	10.657	-2.230	1.00	31.57
ATOM	1168	OG1	THR	A	166	17.105	11.788	-2.982	1.00	24.13
ATOM	1169	CG2	THR	A	166	18.061	9.559	-2.983	1.00	34.67
ATOM	1170	N	LEU	A	167	15.734	7.833	-1.817	1.00	19.63
ATOM	1171	CA	LEU	A	167	16.219	6.552	-1.465	1.00	16.11
ATOM	1172	C	LEU	A	167	17.395	6.044	-2.300	1.00	19.87
ATOM	1173	O	LEU	A	167	17.265	4.869	-2.612	1.00	21.38
ATOM	1174	CB	LEU	A	167	15.086	5.624	-1.555	1.00	23.45
ATOM	1175	CG	LEU	A	167	14.123	5.773	-0.401	1.00	33.91
ATOM	1176	CD1	LEU	A	167	12.969	4.908	-0.793	1.00	42.10
ATOM	1177	CD2	LEU	A	167	14.776	5.385	0.903	1.00	25.86
ATOM	1178	N	ILE	A	168	18.534	6.726	-2.507	1.00	21.67
ATOM	1179	CA	ILE	A	168	19.608	6.051	-3.170	1.00	23.38
ATOM	1180	C	ILE	A	168	20.675	5.585	-2.189	1.00	20.47
ATOM	1181	O	ILE	A	168	21.139	6.541	-1.581	1.00	18.08
ATOM	1182	CB	ILE	A	168	20.254	6.835	-4.297	1.00	23.50
ATOM	1183	CG1	ILE	A	168	21.232	7.874	-3.800	1.00	13.71
ATOM	1184	CG2	ILE	A	168	19.445	7.627	-5.276	1.00	18.16
ATOM	1185	CD1	ILE	A	168	20.908	8.938	-4.804	1.00	26.95
ATOM	1186	N	ILE	A	169	21.396	4.478	-2.394	1.00	18.32
ATOM	1187	CA	ILE	A	169	22.554	4.448	-1.536	1.00	13.25
ATOM	1188	C	ILE	A	169	23.924	4.662	-1.967	1.00	11.95
ATOM	1189	O	ILE	A	169	24.615	3.942	-2.539	1.00	20.35
ATOM	1190	CB	ILE	A	169	22.503	3.351	-0.499	1.00	21.07
ATOM	1191	CG1	ILE	A	169	23.398	2.181	-0.655	1.00	11.06
ATOM	1192	CG2	ILE	A	169	21.122	2.801	-0.533	1.00	7.02
ATOM	1193	CD1	ILE	A	169	22.581	1.266	-1.587	1.00	32.83
ATOM	1194	N	THR	A	170	24.570	5.586	-1.296	1.00	17.16
ATOM	1195	CA	THR	A	170	25.883	6.217	-1.397	1.00	13.01
ATOM	1196	C	THR	A	170	26.722	5.719	-0.240	1.00	10.14
ATOM	1197	O	THR	A	170	26.334	5.036	0.758	1.00	9.98
ATOM	1198	CB	THR	A	170	25.623	7.713	-1.344	1.00	15.02
ATOM	1199	OG1	THR	A	170	26.466	7.947	-0.255	1.00	23.39

ATOM	1200	CG2	THR	A	170	24.389	7.914	-0.452	1.00	41.10
ATOM	1201	N	PRO	A	171	28.000	5.738	-0.469	1.00	10.12
ATOM	1202	CA	PRO	A	171	29.012	5.066	0.339	1.00	11.88
ATOM	1203	C	PRO	A	171	28.897	5.492	1.765	1.00	9.74
ATOM	1204	O	PRO	A	171	28.904	4.682	2.646	1.00	9.54
ATOM	1205	CB	PRO	A	171	30.414	5.207	-0.286	1.00	7.15
ATOM	1206	CG	PRO	A	171	30.017	5.603	-1.654	1.00	7.18
ATOM	1207	CD	PRO	A	171	28.667	6.233	-1.601	1.00	6.90
ATOM	1208	N	ALA	A	172	28.725	6.718	1.980	1.00	6.71
ATOM	1209	CA	ALA	A	172	28.247	7.315	3.169	1.00	8.62
ATOM	1210	C	ALA	A	172	27.075	6.631	3.892	1.00	10.99
ATOM	1211	O	ALA	A	172	27.037	6.755	5.165	1.00	16.49
ATOM	1212	CB	ALA	A	172	27.904	8.812	3.040	1.00	2.86
ATOM	1213	N	HIS	A	173	26.287	5.815	3.278	1.00	6.36
ATOM	1214	CA	HIS	A	173	25.133	5.468	4.081	1.00	5.29
ATOM	1215	C	HIS	A	173	25.685	4.314	4.888	1.00	10.58
ATOM	1216	O	HIS	A	173	25.082	3.598	5.668	1.00	9.36
ATOM	1217	CB	HIS	A	173	24.081	4.883	3.216	1.00	8.41
ATOM	1218	CG	HIS	A	173	22.815	4.403	3.791	1.00	7.30
ATOM	1219	ND1	HIS	A	173	22.066	5.327	4.565	1.00	8.48
ATOM	1220	CD2	HIS	A	173	22.148	3.264	3.670	1.00	7.83
ATOM	1221	CE1	HIS	A	173	20.932	4.657	4.861	1.00	17.36
ATOM	1222	NE2	HIS	A	173	20.945	3.423	4.379	1.00	5.29
ATOM	1223	N	LEU	A	174	26.823	3.947	4.326	1.00	8.03
ATOM	1224	CA	LEU	A	174	27.344	2.623	4.682	1.00	8.06
ATOM	1225	C	LEU	A	174	28.171	2.787	5.930	1.00	13.06
ATOM	1226	O	LEU	A	174	28.609	1.648	6.151	1.00	19.88
ATOM	1227	CB	LEU	A	174	28.078	2.118	3.488	1.00	2.76
ATOM	1228	CG	LEU	A	174	27.560	0.902	2.847	1.00	13.35
ATOM	1229	CD1	LEU	A	174	26.024	1.017	2.796	1.00	18.01
ATOM	1230	CD2	LEU	A	174	27.913	0.740	1.421	1.00	21.70
ATOM	1231	N	SER	A	175	28.290	3.989	6.447	1.00	12.43
ATOM	1232	CA	SER	A	175	29.230	4.052	7.553	1.00	18.01
ATOM	1233	C	SER	A	175	28.872	4.811	8.847	1.00	19.89
ATOM	1234	O	SER	A	175	28.968	6.047	9.120	1.00	14.61
ATOM	1235	CB	SER	A	175	30.516	4.606	6.847	1.00	20.11
ATOM	1236	OG	SER	A	175	30.834	5.907	7.293	1.00	27.73
ATOM	1237	N	TYR	A	176	28.479	3.978	9.815	1.00	17.89
ATOM	1238	CA	TYR	A	176	28.092	4.530	11.133	1.00	12.54
ATOM	1239	C	TYR	A	176	28.530	3.671	12.272	1.00	11.16
ATOM	1240	O	TYR	A	176	27.949	3.770	13.257	1.00	7.63
ATOM	1241	CB	TYR	A	176	26.511	4.283	11.053	1.00	9.13
ATOM	1242	CG	TYR	A	176	25.831	5.525	10.029	1.00	5.03
ATOM	1243	CD1	TYR	A	176	25.874	6.923	10.425	1.00	2.75
ATOM	1244	CD2	TYR	A	176	25.152	5.022	8.980	1.00	2.18
ATOM	1245	CE1	TYR	A	176	25.287	7.754	9.633	1.00	4.25
ATOM	1246	CE2	TYR	A	176	24.649	5.981	8.085	1.00	6.77
ATOM	1247	CZ	TYR	A	176	24.658	7.329	8.399	1.00	6.22

ATOM	1248	OH	TYR	A	176	24.074	8.375	7.635	1.00	5.76
ATOM	1249	N	THR	A	177	29.430	2.685	12.167	1.00	10.72
ATOM	1250	CA	THR	A	177	29.797	1.854	13.284	1.00	13.31
ATOM	1251	C	THR	A	177	30.516	2.659	14.320	1.00	12.46
ATOM	1252	O	THR	A	177	30.311	2.436	15.475	1.00	13.12
ATOM	1253	CB	THR	A	177	30.658	0.683	12.798	1.00	3.49
ATOM	1254	OG1	THR	A	177	31.361	1.247	11.870	1.00	32.08
ATOM	1255	CG2	THR	A	177	29.675	-0.149	12.083	1.00	6.42
ATOM	1256	N	ILE	A	178	31.409	3.474	13.920	1.00	10.48
ATOM	1257	CA	ILE	A	178	32.203	4.246	14.783	1.00	15.25
ATOM	1258	C	ILE	A	178	31.180	5.045	15.632	1.00	16.95
ATOM	1259	O	ILE	A	178	31.092	4.774	16.851	1.00	22.68
ATOM	1260	CB	ILE	A	178	33.338	5.121	14.357	1.00	25.11
ATOM	1261	CG1	ILE	A	178	34.701	4.496	14.056	1.00	25.05
ATOM	1262	CG2	ILE	A	178	33.599	6.205	15.392	1.00	27.60
ATOM	1263	CD1	ILE	A	178	34.553	3.006	14.071	1.00	55.86
ATOM	1264	N	GLU	A	179	30.218	5.799	15.178	1.00	16.34
ATOM	1265	CA	GLU	A	179	29.290	6.610	15.985	1.00	16.94
ATOM	1266	C	GLU	A	179	28.324	5.713	16.692	1.00	14.79
ATOM	1267	O	GLU	A	179	27.683	6.012	17.716	1.00	19.20
ATOM	1268	CB	GLU	A	179	28.555	7.637	15.169	1.00	21.16
ATOM	1269	CG	GLU	A	179	28.790	7.283	13.691	1.00	50.37
ATOM	1270	CD	GLU	A	179	29.933	7.701	12.851	1.00	61.82
ATOM	1271	OE1	GLU	A	179	30.163	8.890	12.697	1.00	77.56
ATOM	1272	OE2	GLU	A	179	30.627	6.854	12.309	1.00	75.83
ATOM	1273	N	ALA	A	180	28.240	4.418	16.412	1.00	8.00
ATOM	1274	CA	ALA	A	180	27.353	3.520	17.042	1.00	14.34
ATOM	1275	C	ALA	A	180	28.048	2.991	18.280	1.00	19.53
ATOM	1276	O	ALA	A	180	27.397	3.142	19.265	1.00	21.17
ATOM	1277	CB	ALA	A	180	26.843	2.437	16.128	1.00	11.97
ATOM	1278	N	ARG	A	181	29.317	2.547	18.287	1.00	21.89
ATOM	1279	CA	ARG	A	181	29.992	1.982	19.398	1.00	16.48
ATOM	1280	C	ARG	A	181	30.296	3.106	20.367	1.00	19.44
ATOM	1281	O	ARG	A	181	30.243	3.104	21.639	1.00	28.53
ATOM	1282	CB	ARG	A	181	31.310	1.408	19.143	1.00	12.43
ATOM	1283	CG	ARG	A	181	31.954	0.432	20.052	1.00	45.44
ATOM	1284	CD	ARG	A	181	32.596	-0.688	19.242	1.00	66.21
ATOM	1285	NE	ARG	A	181	33.333	-0.030	18.164	1.00	85.83
ATOM	1286	CZ	ARG	A	181	33.306	-0.321	16.895	1.00	91.35
ATOM	1287	NH1	ARG	A	181	32.551	-1.320	16.530	1.00	96.98
ATOM	1288	NH2	ARG	A	181	34.023	0.400	16.095	1.00	92.83
ATOM	1289	N	GLY	A	182	30.387	4.262	19.847	1.00	13.94
ATOM	1290	CA	GLY	A	182	30.553	5.404	20.728	1.00	7.40
ATOM	1291	C	GLY	A	182	29.741	6.574	20.960	1.00	7.95
ATOM	1292	O	GLY	A	182	29.171	6.512	22.083	1.00	12.73
ATOM	1293	N	GLU	A	183	29.725	7.622	20.138	1.00	6.42
ATOM	1294	CA	GLU	A	183	28.816	8.775	20.405	1.00	10.04
ATOM	1295	C	GLU	A	183	27.421	8.369	20.645	1.00	14.41

ATOM	1296	O	GLU	A	183	26.846	8.530	21.749	1.00	15.43
ATOM	1297	CB	GLU	A	183	29.053	9.791	19.402	1.00	21.24
ATOM	1298	CG	GLU	A	183	28.079	10.638	18.725	1.00	62.21
ATOM	1299	CD	GLU	A	183	28.248	12.103	19.141	1.00	81.34
ATOM	1300	OE1	GLU	A	183	28.850	12.243	20.232	1.00	95.85
ATOM	1301	OE2	GLU	A	183	27.791	13.027	18.430	1.00	90.85
ATOM	1302	N	ALA	A	184	26.766	7.605	19.808	1.00	15.56
ATOM	1303	CA	ALA	A	184	25.444	7.083	20.117	1.00	14.54
ATOM	1304	C	ALA	A	184	25.549	6.382	21.464	1.00	13.62
ATOM	1305	O	ALA	A	184	24.575	6.533	22.215	1.00	16.75
ATOM	1306	CB	ALA	A	184	25.019	6.015	19.089	1.00	9.58
ATOM	1307	N	ALA	A	185	26.428	5.396	21.774	1.00	9.42
ATOM	1308	CA	ALA	A	185	26.219	4.677	23.031	1.00	7.48
ATOM	1309	C	ALA	A	185	26.330	5.715	24.100	1.00	12.30
ATOM	1310	O	ALA	A	185	25.761	5.503	25.179	1.00	9.50
ATOM	1311	CB	ALA	A	185	27.138	3.475	23.260	1.00	4.60
ATOM	1312	N	ARG	A	186	27.271	6.673	24.090	1.00	15.54
ATOM	1313	CA	ARG	A	186	27.352	7.507	25.300	1.00	13.57
ATOM	1314	C	ARG	A	186	26.085	8.286	25.561	1.00	11.49
ATOM	1315	O	ARG	A	186	25.421	8.267	26.573	1.00	8.74
ATOM	1316	CB	ARG	A	186	28.484	8.460	25.043	1.00	30.29
ATOM	1317	CG	ARG	A	186	29.869	7.851	25.240	1.00	37.15
ATOM	1318	CD	ARG	A	186	30.983	8.826	24.813	1.00	42.36
ATOM	1319	NE	ARG	A	186	31.902	7.942	24.064	1.00	51.82
ATOM	1320	CZ	ARG	A	186	32.324	8.346	22.870	1.00	50.20
ATOM	1321	NH1	ARG	A	186	31.924	9.538	22.424	1.00	47.65
ATOM	1322	NH2	ARG	A	186	33.115	7.476	22.318	1.00	39.90
ATOM	1323	N	PHE	A	187	25.565	8.774	24.434	1.00	8.37
ATOM	1324	CA	PHE	A	187	24.195	9.370	24.426	1.00	13.48
ATOM	1325	C	PHE	A	187	23.187	8.476	25.182	1.00	15.92
ATOM	1326	O	PHE	A	187	22.379	8.916	25.995	1.00	14.81
ATOM	1327	CB	PHE	A	187	23.667	9.791	23.087	1.00	11.81
ATOM	1328	CG	PHE	A	187	22.282	10.323	23.032	1.00	14.64
ATOM	1329	CD1	PHE	A	187	21.984	11.586	23.391	1.00	8.47
ATOM	1330	CD2	PHE	A	187	21.186	9.599	22.564	1.00	18.34
ATOM	1331	CE1	PHE	A	187	20.698	12.134	23.353	1.00	12.89
ATOM	1332	CE2	PHE	A	187	19.895	10.026	22.485	1.00	17.42
ATOM	1333	CZ	PHE	A	187	19.661	11.322	22.924	1.00	3.70
ATOM	1334	N	LEU	A	188	23.033	7.232	24.803	1.00	15.17
ATOM	1335	CA	LEU	A	188	21.908	6.427	25.324	1.00	18.43
ATOM	1336	C	LEU	A	188	22.207	6.221	26.775	1.00	19.67
ATOM	1337	O	LEU	A	188	21.280	6.512	27.461	1.00	18.17
ATOM	1338	CB	LEU	A	188	21.703	5.088	24.552	1.00	18.72
ATOM	1339	CG	LEU	A	188	21.116	5.375	23.136	1.00	9.96
ATOM	1340	CD1	LEU	A	188	20.950	4.066	22.601	1.00	7.86
ATOM	1341	CD2	LEU	A	188	19.849	6.206	23.168	1.00	4.70
ATOM	1342	N	ARG	A	189	23.333	5.805	27.230	1.00	17.48
ATOM	1343	CA	ARG	A	189	23.798	5.812	28.547	1.00	18.41

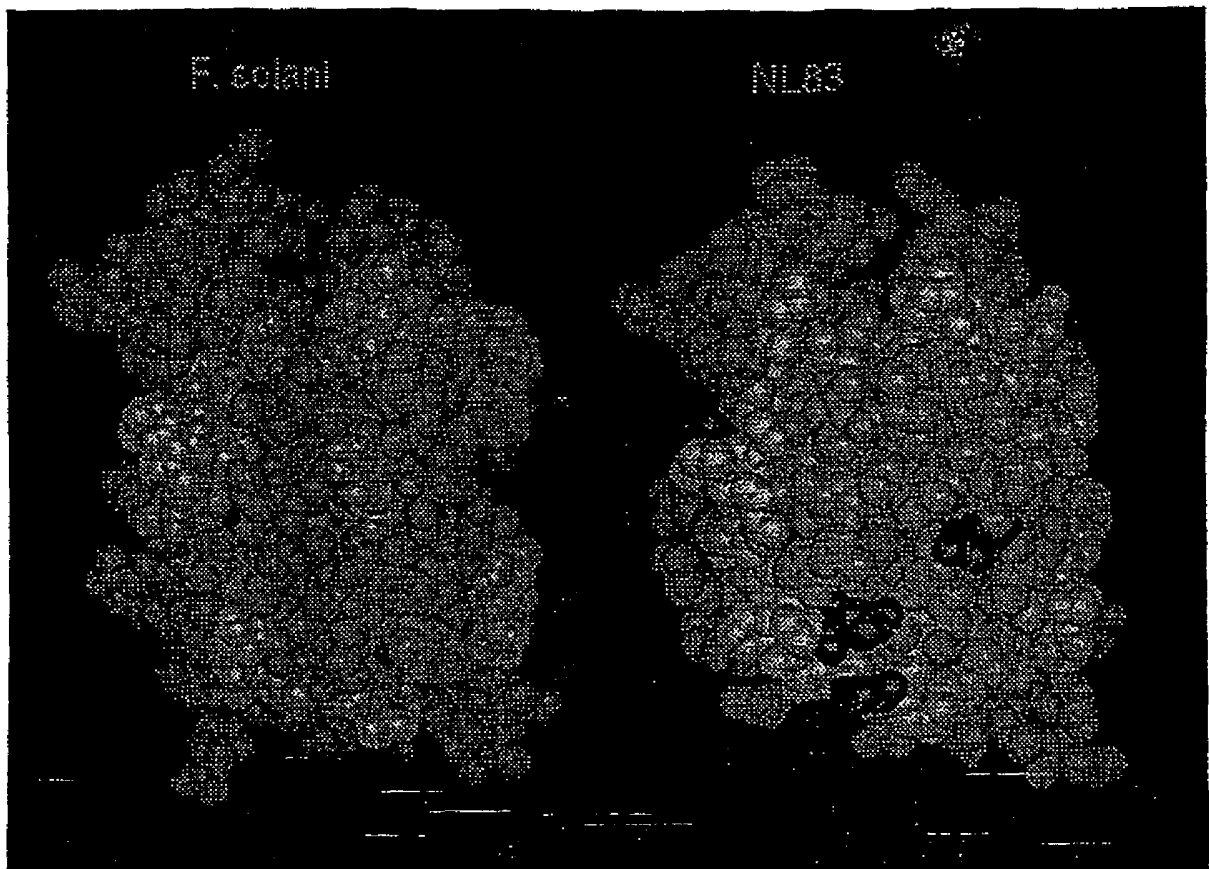
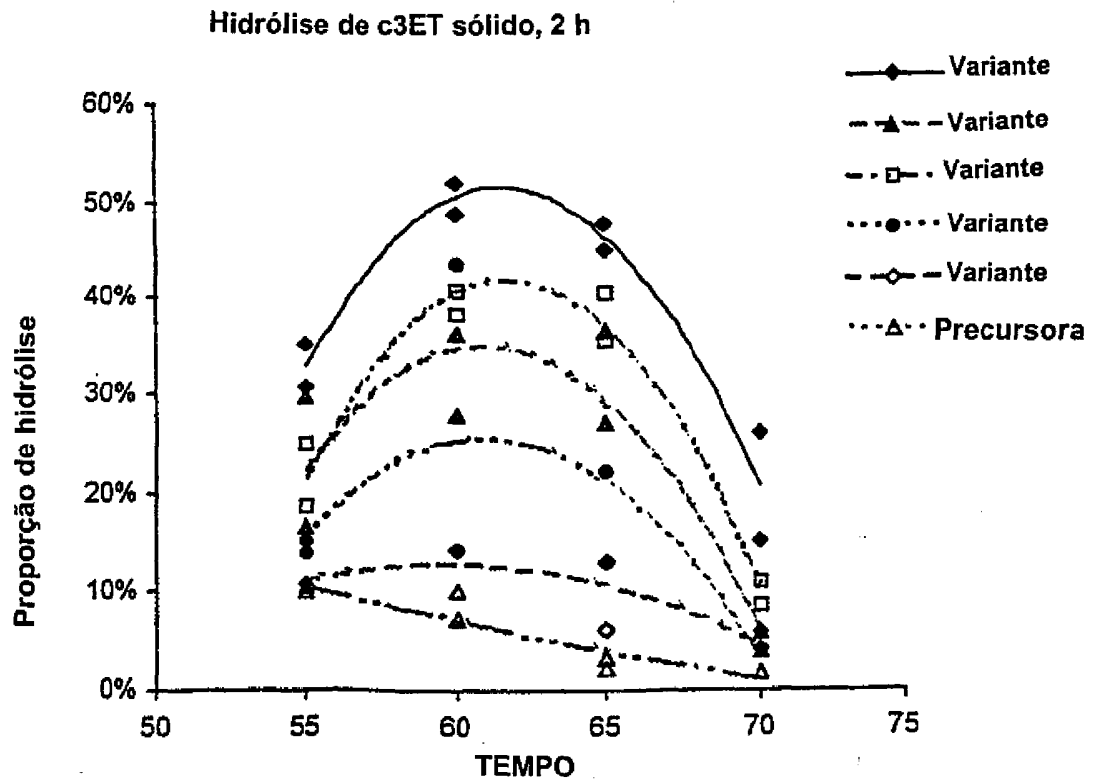
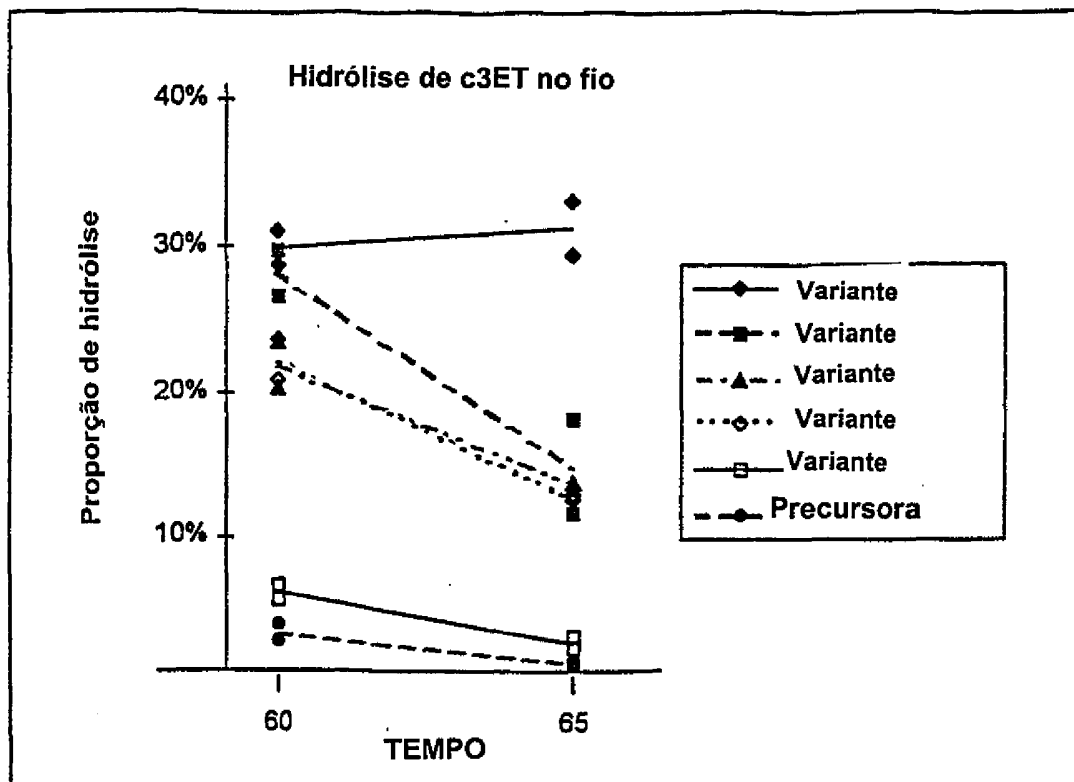


Fig. 2

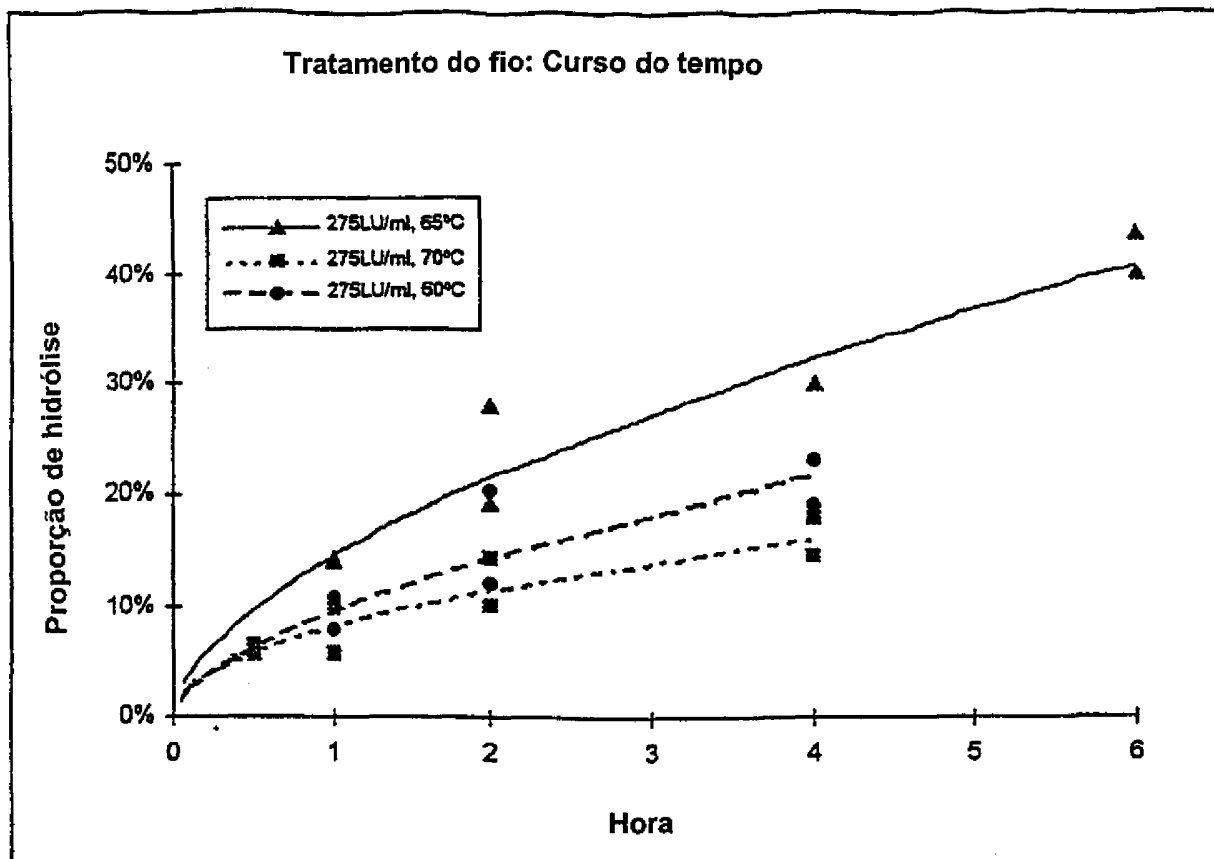
Estrutura 3D de cutinases de *F. solani pisi* (esquerda) e *H. insolens* (direita)

**Fig. 3**

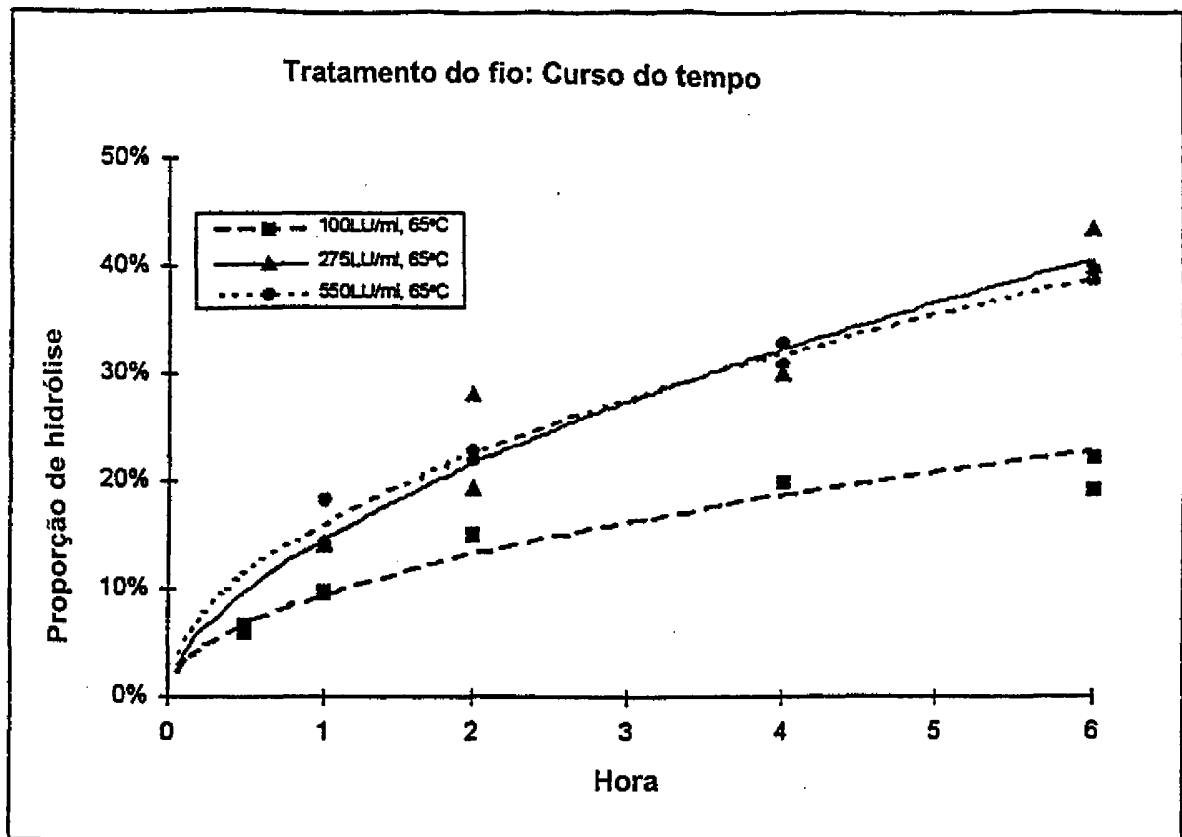
Hidrólise de c3ET sólido, 2 h

**Fig. 4**

Hidrólise de c3ET no fio, 17 h

**Fig. 5**

Tratamento do fio: Curso do tempo

**Fig. 6**

Tratamento do fio: Curso do tempo

RESUMO

"VARIANTE DE UMA CUTINASE DE CEPA DSM 1800 DE *HUMICOLA INSOLENS* PRECURSORA, SEQUÊNCIA DE DNA, VETOR, CÉLULA HOSPEDEIRA MICROBIANA TRANSFORMADA, PROCESSOS PARA
5 PRODUZIR UMA VARIANTE, PARA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE UM OLIGÔMERO CÍCLICO DE POLI(ETILENO TEREFALATO), PARA TINGIR PANO OU FIO DE POLIÉSTER, PARA MELHORAR O ACABAMENTO FUNCIONAL DE UM FIO OU PANO CONTENDO PET, E, COMPOSIÇÃO DETERGENTE".

10 As variantes de cutinases fúngicas melhoraram a termoestabilidade. As variantes compreendem a substituição de um ou mais resíduos amino-ácidos próximos do N-terminal da seqüência de aminoácidos ou da estrutura tridimensional da cutinase.