



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

(21) **PI0711093-6 A2**

(22) Data de Depósito: 09/05/2007
(43) Data da Publicação: 23/08/2011
(RPI 2120)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 225/06 2006.01
A61K 31/395 2006.01
A61P 35/00 2006.01

(54) Título: **COMPOSTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO, MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA, E PARA A PRODUÇÃO DE UM COMPOSTO, CEPA ENGENHEIRADA, E USO DE UMA CEPA ENGENHEIRADA**

(30) Prioridade Unionista: 09/05/2006 GB 0609132.6, 22/08/2006 GB 0616637.5, 09/11/2006 GB 0622341.6, 09/11/2006 GB 0622341.6, 09/11/2006 GB 0622341.6, 22/08/2006 GB 0616637.5

(73) Titular(es): Biotica Technology Limited

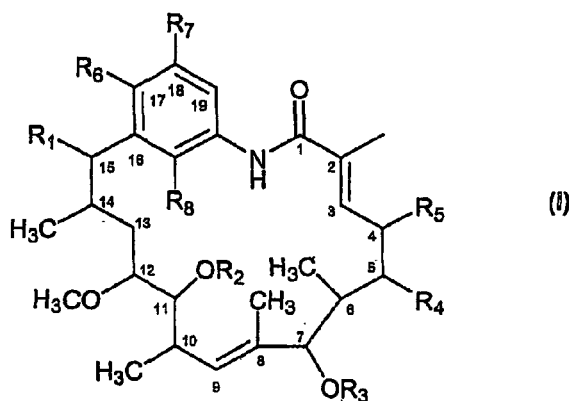
(72) Inventor(es): Christine Martin, Ming Zhang, Nigel Coates, Sabine Gaisser, Steven Moss, William Vousden

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007054476 de 09/05/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/128829 de 15/11/2007

(57) Resumo: COMPOSTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO, MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA, E PARA A PRODUÇÃO DE UM COMPOSTO, CEPA ENGENHEIRADA, E, USO DE UMA CEPA ENGENHEIRADA A presente invenção refere-se a análogos de 18,21- didesoximacbecina que são úteis, p. ex., no tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer. A presente invenção também proporciona métodos para a produção destes compostos e seu uso na medicina, em particular no tratamento e/ou profilaxia de câncer ou malignidades de células B.



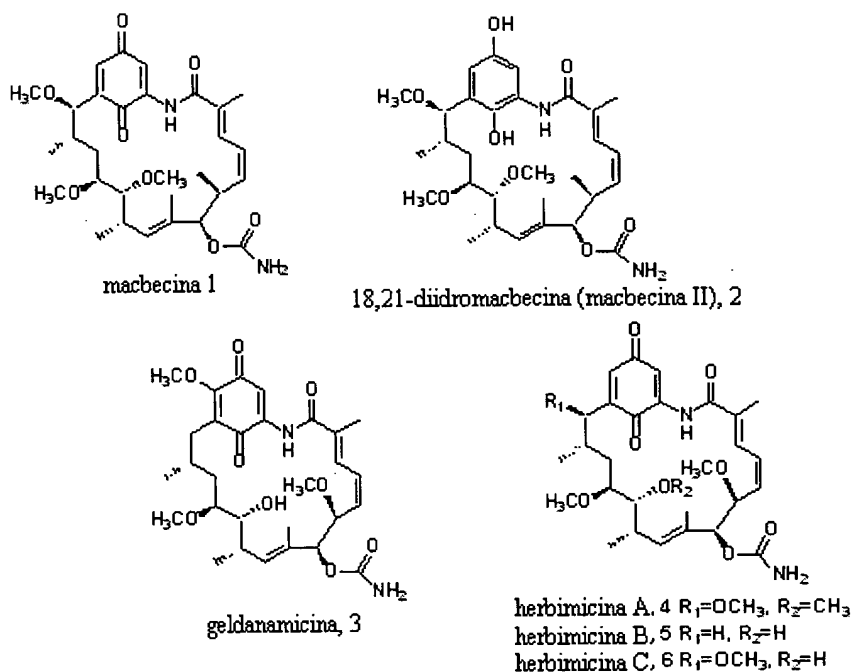
“COMPOSTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO, MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA, E PARA A PRODUÇÃO DE UM COMPOSTO, CEPA ENGENHEIRADA, E, USO DE UMA CEPA ENGENHEIRADA”

5 Fundamentos da invenção

A proteína de choque térmico de 90 kDa (Hsp90, 90 kDa) é uma guia molecular abundante envolvida na dobragem e montagem de proteínas, muitas das quais estão envolvidas em vias de transdução de sinal (para revisões ver Neckers, 2002; Sreedhar et al., 2004a; Wegele et al., 2004 e referências ali contidas). Desde que aproximadamente 50 destas assim-chamadas proteínas-clientes tenham sido identificadas e incluam receptores de esteróides, tirosina quinases não-receptoras, p. ex. família src, quinases dependentes de ciclina, p. ex., cdk4 e cdk6, o regulador de transmembrana cístico, óxido nítrico sintase e outros (Donzé e Picard, 1999; McLaughlin et al., 2002; Chiosis et al., 2004; Wegele et al., 2004; <http://www.picard.ch/downloads/Hsp90interactors.pdf>). Adicionalmente, Hsp90 desempenha um papel-chave na resposta ao estresse e proteção da célula contra os efeitos da mutação (Bagatell e Whitesell, 2004; Chiosis et al., 2004). A função da Hsp90 é complicada e envolve a formação de complexos de multi-enzimas dinâmicos (Bohen, 1998; Liu et al., 1999; Young et al., 2001; Takahashi et al., 2003; Sreedhar et al., 2004; Wegele et al., 2004). Hsp90 é um alvo para inibidores (Fang et al., 1998; Liu et al., 1999; Blagosklonny, 2002; Neckers, 2003; Takahashi et al., 2003; Beliakoff e Whitesell, 2004; Wegele et al., 2004) resultando na degradação de proteínas-clientes, desregulação do ciclo celular e apoptose. Mais recentemente, Hsp90 foi identificada como um importante mediador extracelular para invasão de tumor (Eustace et al., 2004). Hsp90 foi identificada como um novo alvo terapêutico importante para terapia de câncer que se reflete na pesquisa intensa e detalhada sobre a função da Hsp90 (Blagosklonny et al., 1996;

Neckers, 2002; Workman e Kaye, 2002; Beliakoff e Whitesell, 2004; Harris et al., 2004; Jez et al., 2003; Lee et al., 2004) e o desenvolvimento de ensaios de seleção de alta vazão (Carreras et al., 2003; Rowlands et al., 2004). Inibidores de Hsp90 incluem classes de compostos, como ansamicinas, macrólidos, purinas, pirazóis, antibióticos de cumarina e outros (para uma revisão ver Bagatell e Whitesell, 2004; Chiosis et al., 2004 e referências ali contidas).

As ansamicinas benzenóides são uma ampla classe de estruturas químicas caracterizadas por um anel alifático de comprimento variável conjugado de cada lado de uma estrutura de anel aromático. Ansamicinas naturalmente ocorrentes incluem: macbecina e 18,21-diidromacbecina (também conhecida como macbecina I e macbecina II, respectivamente) (1 & 2; Tanida et al., 1980), geldanamicina (3; DeBoer et al., 1970; DeBoer e Dietz, 1976; WO 03/106653 e referências ali contidas), e a família de herbimicinas (4; 5, 6, Omura et al., 1979, Iwai et al., 1980 e Shibata et al, 1986a, WO 03/106653 e referências ali contidas).



Ansamicinas foram identificadas originalmente com base em sua atividade antibacteriana e antiviral, no entanto, recentemente sua utilidade

potencial como agentes anticâncer tornou-se de maior importância (Beliakoff e Whitesell, 2004). Muitos inibidores de Hsp90 estão sendo avaliados correntemente em ensaios clínicos (Csermely e Soti, 2003; Workman, 2003). Em particular, a geldanamicina apresenta potência nanomolar e aparente
5 especificidade por células de tumor dependentes de proteína quinase aberrante (Chiosis et al., 2003; Workman, 2003).

Mostrou-se que tratamento com inibidores de Hsp90 acentua a indução de morte de células de tumor por meio de radiação e capacidades crescentes de eliminação de células (p. ex. câncer de mama, leucemia
10 mielóide crônica e câncer do pulmão de células não-pequenas) por meio de combinação de inibidores de Hsp90 com agentes citotóxicos também foi demonstrado (Neckers, 2002; Beliakoff e Whitesell, 2004). O potencial para atividade anti-angiogênica também é interessante: a proteína cliente Hsp90 HIF-1 α desempenha um papel-chave na progressão de tumores sólidos (Hur
15 et al., 2002; Workman e Kaye, 2002; Kaur et al., 2004).

Inibidores de Hsp90 também funcionam como imunossupressivos e estão envolvidos na lise induzida por complemento de vários tipos de células de tumor após inibição de Hsp90 (Sreedhar et al., 2004). Tratamento com inibidores de Hsp90 também pode resultar em
20 produção de superóxido induzida (Sreedhar et al., 2004a) associada com lise mediada por células imunes (Sreedhar et al., 2004). O uso de inibidores de Hsp90 como drogas potenciais anti-maláricas também foi discutido (Kumar et al., 2003). Adicionalmente, mostrou-se que a geldanamicina interfere com a formação de proteína de príon mamífera glicosilada complexa PrP^c
25 (Winklhofer et al., 2003).

Como descrito acima, ansamicinas são de interesse como compostos potencial anticâncer e anti-malignidade de células B, no entanto, as ansamicinas correntemente obteníveis apresentam baixas propriedades farmacológicas ou farmacêuticas, por exemplo, elas apresentam baixa

solubilidade em água, baixa estabilidade metabólica, baixa disponibilidade ou baixa capacidade de formulação (Goetz et al., 2003; Workman 2003; Chiosis 2004). Ambas, herbimicina A e geldanamicina, foram identificadas como candidatos fracos para ensaios clínicos devido a sua forte hepatotoxicidade (revisão Workman, 2003) e a geldanamicina foi retirada de ensaios clínicos de Fase I devido à hepatotoxicidade (Supko et al., 1995; WO 03/106653).

A Geldanamicina foi isolada de filtrados de cultura de *Streptomyces hygroscopicus* e mostra forte atividade in vitro contra protozários e fraca atividade contra bactérias e fungos. Em 1994 mostrou-se a associação da geldanamicina com Hsp90 (Whitesell et al., 1994). O aglomerado de genes biossintéticos para geldanamicina foi clonado e seqüenciado (Allen e Ritchie, 1994; Rascher et al., 2003; WO 03/106653). A seqüência de DNA é obténível sob o número de acesso do NCBI (Centro Nacional para Informação de Biotecnologia, ou National Center for Biotechnology Information) AY179507. O isolamento de cepas produtoras de geldanamicina manipuladas geneticamente derivadas de *S. hygroscopicus* subespécie *duamyceticus* JCM4427 e o isolamento de 4,5-diidro-7-O-descarbamoil-7-hidroxigeldanamicina e 4,5-diidro-7-O-descarbamoil-7-hidróxi-17-O-demetilgeldanamicina foram descritos recentemente (Hong et al., 2004). Introduzindo-se geldanamicina na cepa produtora de herbimicina *Streptomyces hygroscopicus* AM-3672 os compostos 15-hidroxigeldanamicina, o análogo de geldanamicina tricíclico KOSN-1633 e metil-geldanamicinato foram isolados (Hu et al., 2004). Os dois compostos 17-formil-17-demetóxi-18-O-21-O-diidrogeldanamicina e 17-hidroximetil-17-desmetoxigeldanamicina foram isolados de *S. hygroscopicus* K279-78. *S. hygroscopicus* K279-78 é *S. hygroscopicus* NRRL 3602 contendo cosmídeo pKOS279-78 que apresenta um inserto de 44 kbp que contém diversos genes da cepa produtora de herbimicina *Streptomyces hygroscopicus* AM-3672 (Hu et al., 2004). Substituições de domínios de aciltransferase foram realizadas em

quatro dos módulos da policetídeo sintase do aglomerado biossintético da geldanamicina (Patel et al., 2004). Substituições de AT foram realizados nos módulos 1, 4 e 5 levando aos análogos totalmente processados 14-desmetil-geldanamicina, 8-desmetil-geldanamicina e 6-desmetóxi-geldanamicina e a 4,5-diidro-6-desmetóxi-geldanamicina não totalmente processada. A substituição do módulo 7 AT leva à produção de três compostos 2-desmetila compostos, KOSN1619, KOSN1558 e KOSN1559, um dos quais (KOSN1559), um derivado de 2-dimetil-4,5-diidro-17-demetóxi-21-deóxi da geldanamicina, leva a Hsp90 com uma afinidade de ligação 4 vezes maior do que a geldanamicina e uma afinidade de ligação 8 vezes maiores do que 17-AAG. No entanto, isto não é refletivo em um aperfeiçoamento na medição de IC₅₀ usando SKBr3. Outro análogo, uma geldanamicina não-benzoquinóide inédita, denominada KOS-1806 apresenta uma estrutura monofenólica (Rascher et al., 2005). Não se forneceu dados de atividade para KOS-1806.

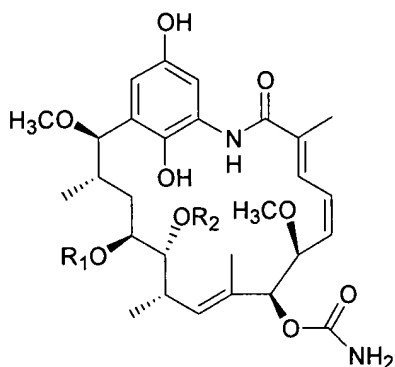
Em 1979 o antibiótico ansamicina herbimicina A foi isolado do caldo de fermentação da cepa de *Streptomyces hygroscopicus* nº AM-3672 e denominada de acordo com sua potente atividade herbicida. A atividade antitumor foi estabelecida usando-se células de uma linha de rim de rato infectada com uma quantidade, sensível a temperatura, de vírus do sarcoma de Rous (RSV, Rous sarcoma virus) para selecionar drogas que reverteram a morfologia transformada destas células (para uma revisão ver Uehara, 2003). Postulou-se que a herbimicina A atua primariamente através da ligação com proteínas de guia de Hsp90, mas a ligação direta com os radicais cisteína conservados e subsequente inativação de quinases também foi discutida (Uehara, 2003).

Derivados químicos foram isolados, e compostos com substituintes alterados em C19 do núcleo de benzoquinona e compostos halogenados na cadeia ansa apresentaram menos toxicidade e maiores atividades antitumor do que a herbimicina A (Omura et al., 1984; Shibata et

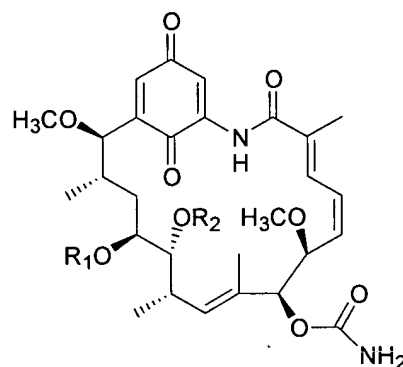
al., 1986b). A sequência do aglomerado de genes biossintéticos de herbimicina foi identificada no WO 03/106653 e em um documento recente (Rascher et al., 2005).

Os compostos de ansamicina macbecina (1) e 18,21-diidromacbecina (2) (C-14919E-1 e C-14919E-1), identificados por sua
5 atividade antifúngica e antiprotozoária, foram isolados dos sobrenadantes de cultura de *Nocardia* sp No. C-14919 (*Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum* ATCC 31280) (Tanida et al., 1980; Muroi et al., 1980; Muroi et al., 1981; US 4.315.989 e US 4.187.292). 18,21-Diidromacbecina é caracterizada
10 por conter a forma diidroquinona do núcleo. Ambas, macbecina e 18,21-diidromacbecina, mostraram possuir atividades antibacterianas e antitumor similares contra linhas de células de câncer, como a linhas de células de leucemia murina P388 (Ono et al., 1982). Atividades de transcriptase invertida e de desoxinucleotidil transferase terminal não foram inibidas pela
15 macbecina (Ono et al., 1982). A função inibidora de Hsp90 da macbecina foi reportada na literatura (Bohen, 1998; Liu et al., 1999). A conversão de macbecina e 18,21-diidromacbecina após adição de um caldo de cultura microbiana em um composto com um grupo hidróxi em lugar de um grupo metóxi numa determinada posição ou posições encontra-se descrita nas
20 patentes US 4.421.687 e US 4.512.975.

Durante uma seleção de uma ampla variedade de microorganismos do solo, os compostos TAN-420A a E foram identificados de cepas produtoras pertencentes ao gênero *Streptomyces* (7-11, EP 0 110 710).



TAN-420A, **7** $R_1=H$, $R_2=H$
 TAN-420C, **9** $R_1=H$, $R_2=CH_3$
 TAN-420E, **11** $R_1=CH_3$, $R_2=CH_3$



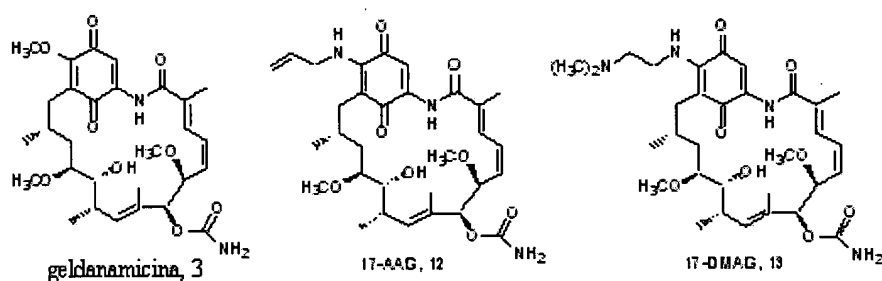
TAN-420B, **8** $R_1=H$, $R_2=H$
 TAN-420D, **10** $R_1=H$, $R_2=CH_3$

Em 2000 descreveu-se o isolamento do metabólito de ansamicina não-benzoquinona, relacionada com geldanamicina, reblastatina das culturas de células de *Streptomyces* sp. S6699 e seu valor terapêutico potencial no tratamento de artrite reumatóide (Stead et al., 2000).

- 5 Um inibidor de Hsp90 adicional, diferente das ansamicinas de benzoquinona quimicamente não-relacionadas é o Radicol (monorden) que foi descoberto originalmente em virtude de sua atividade antifúngica do fungo *Monosporium bonorden* (para uma revisão ver Uehara, 2003) e verificou-se que a estrutura é idêntica ao macrólido de 14 membros isolado de *Nectria radicola*. Adicionalmente a sua atividade antifúngica, antibacteriana, anti-protozoária e atividade citotóxica, ele foi identificado subsequentemente como um inibidor de proteínas de guia de Hsp90 (para uma revisão ver Uehara, 2003; Schulte et al., 1999). A atividade anti-angiogênica do radicol (Hur et al., 2002) e de seus derivados semi-sintéticos (Kurebayashi et al., 10 2001) também foi descrita.

Interesse recente focalizou derivados 17-amino da geldanamicina como uma nova geração de compostos anticâncer de ansamicina (Bagatell e Whitesell, 2004), por exemplo, 17-(alilamino)-17-desmetóxi geldanamicina (17-AAG, 12) (Hostein et al., 2001; Neckers, 2002; Nimmanapalli et al., 2003; Vasilevskaya et al., 2003; Smith-Jones et al., 2004) e 17-desmetóxi-17-N,N-dimetilaminoetilamino-geldanamicina (17-DMAG, 13) (Egorin et al., 2002; Jez et al., 2003). Mais recentemente, a

geldanamicina foi derivatizada na posição 17 para criar amidas de 17-geldanamicina, carbamatos, uréias e 17-arylgeddanamicina (Le Brazidec et al., 2003). Reportou-se acerca de uma biblioteca de mais do que sessenta análogos de 17-alkilamino-17-desmetoxigeldanamicina, que foi testada quanto a sua afinidade por Hsp90 e solubilidade em água (Tian et al., 2004). Uma abordagem adicional para reduzir a toxicidade da geldanamicina é a objetivação seletiva e o fornecimento de um composto ativo de geldanamicina em células malignas por meio de conjugação com um anticorpo monoclonal objetivador de tumor (Mandler et al., 2000).



Embora muitos destes derivados apresentem reduzida hepatotoxicidade, eles ainda apresentam apenas limitada solubilidade em água. Por exemplo, 17-AAG requer o uso de um veículo solubilizador (p. ex., Cremophore®, DMSO-lecitina de ovo) que, por si só, pode resultar em efeitos secundários em alguns pacientes (Hu et al., 2004).

A maior parte da classe ansamicina de inibidores de Hsp90 porta a porção estrutural comum: a benzoquinona que é um receptor de Michael que pode formar facilmente ligações covalentes com nucleófilos, como proteínas, glutathione, etc. A porção benzoquinona também sofre equilíbrio redox com diidroquinona, durante o qual formam-se radicais oxigênio, que dão origem a toxicidade não específica adicional (Dikalov et al., 2002). Por exemplo, tratamento com geldanamicina pode resultar em produção de superóxido induzida (Sreedhar et al., 2004a).

Portanto, permanece uma necessidade de identificar derivados de ansamicina inéditos, que podem apresentar utilidade no tratamento de

câncer e/ou de malignidades de células B, de preferência, referidas ansamicinas têm melhorado a solubilidade em água, um perfil farmacológico aperfeiçoado e/ou reduzido perfil de efeitos secundários para administração. A presente invenção revela análogos de ansamicina inéditos gerados por meio de biotransformação e opcionalmente manipulação genética da cepa produtora parental. Em particular, a presente invenção revela análogos de 18,21-didesoximacbecina inéditos, que geralmente apresentam propriedades farmacêuticas aperfeiçoadas em comparação com as ansamicinas presentemente obteníveis; em particular, espera-se que apresentem aperfeiçoamentos com relação a uma ou mais das propriedades a seguir: atividade contra diferentes subtipos de câncer, toxicidade, solubilidade em água, estabilidade metabólica, biodisponibilidade e capacidade de formulação. De preferência, os análogos de 18,21-didesoximacbecina apresentam biodisponibilidade aperfeiçoada.

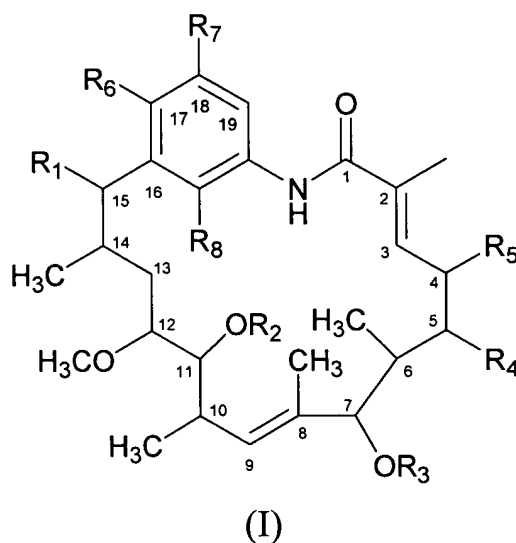
Sumário da invenção

Na presente invenção, unidades iniciadoras não naturais foram introduzidas em uma cepa produtora de macbecina, opcionalmente em combinação com deleção ou inativação objetivada dos genes responsáveis pelas modificações pós-PKS da macbecina para produzir análogos de macbecina inéditos formados por meio de incorporação de uma unidade iniciadora não natural. Especificamente, nós descrevemos análogos de macbecina inéditos formados por meio de incorporação de uma unidade iniciadora que resulta em uma porção de benzeno que, ou não é substituída nas posições 17, 18 e 21 ou que é substituída em parte de, ou em todas, estas posições por flúor. Opcionalmente os genes ou reguladores responsáveis pela biossíntese da unidade iniciadora podem ser manipulados por meio de deleção ou inativação objetivada ou modificados por outros meios, como exposição de células a radiação UV e seleção do fenótipo, indicando que a biossíntese da unidade iniciadora foi interrompida. A objetivação opcional dos genes pós-

PKS pode correr via uma variedade de mecanismos, p. ex., por meio de integração, deleção objetivada de uma região do aglomerado de macbecina incluindo todos ou alguns dos genes pós-PKS opcionalmente seguido de inserção de gene(s) outros métodos de tornar os genes pós-PKS ou suas enzimas codificadas não-funcionais, p. ex., inibição química, mutagênese dirigida para sítio ou mutagênese da célula, por exemplo, por meio do uso de radiação UV. Como um resultado, a presente invenção proporciona análogos de 18,21-didesoximacbecina, métodos para a preparação destes compostos, e métodos para o uso destes compostos na medicina ou como intermediários na produção de compostos adicionais.

Portanto, em um primeiro aspecto a presente invenção proporciona análogos de macbecina que não apresentam a unidade de partida usual, e que, ao invés, apresentam incorporada uma unidade iniciadora que resultados em análogos de 18,21-didesoximacbecina que, ou não são substituídos nas posições 17, 18 e 21 ou que são substituídos em algumas ou em todas estas posições por flúor.

Em um aspecto mais específico a presente invenção proporciona análogos de 18,21-didesoximacbecina de acordo com a fórmula (I) abaixo, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmos:



sendo que:

R_1 representa H, OH, OMe;

R₂ representa H ou Me;

R₃ representa H ou CONH₂;

R₄ e R₅ representam, ambos, H ou, em conjunto, representam uma ligação (i.e. de C4 a C5 é uma ligação dupla);

5 R₆ representa H ou F;

R₇ representa H ou F; e

R₈ representa H ou F.

10 Análogos de 18,21-didesoximacbecina também são referidos aqui como “compostos da invenção”, referidos termos são usados aqui de forma intercambiável.

A estrutura acima mostra um tautômero representativo e a invenção abrange todos os tautômeros dos compostos de fórmula (I), por exemplo, compostos ceto em que compostos enol são ilustrados e vice versa.

15 A invenção compreende todos os estereoisômeros dos compostos definidos pela estrutura (I) como mostrado acima.

Em um aspecto adicional, a presente invenção proporciona análogos de 18,21-didesoximacbecina, como compostos de fórmula (I) ou um sal farmacêuticamente aceitável dos mesmos, para uso como um farmacêutico.

20 Definições

Os artigos “um” e “uma” são usados aqui para referir a um ou mais do que um (i.e. pelo menos um) dos objetos gramaticais do artigo. A título de exemplo “um análogo” significa um análogo ou mais do que um análogo.

25 Como usado aqui o termo “análogo(s)” refere-se a compostos químicos que são estruturalmente similares entre si mas que diferem ligeiramente no que se refere à composição (como na substituição de um átomo por outro ou na presença ou ausência de um grupo particular).

Como usado aqui, o termo “homólogo(s)” refere-se a um

homólogo de um gene ou de uma proteína codificada por um gene aqui divulgado de, ou um aglomerado biossintético de macbecina alternativo de uma cepa diferente produtora de macbecina ou um homólogo de um aglomerado de genes biossintéticos de ansamicina alternativo, p. ex., de geldanamicina, herbimicina ou reblastatina. Referido(s) homólogo(s) codifica(m) uma proteína que realiza a mesma função ou pode realizar, ela própria, a mesma função que referido gene ou proteína na síntese de macbecina ou de um policetídeo de ansamicina relacionado. De preferência, referido(s) homólogo(s) apresenta(m) pelo menos 40 % de identidade de seqüências, de preferência, pelo menos 60 %, pelo menos 70 %, pelo menos 80 %, pelo menos 90 % ou pelo menos 95 % de identidade de sequência com a sequência do gene particular aqui divulgado (Tabela 3, SEQ ID NO: 11 que é uma sequência de todos os genes no aglomerado, de que as seqüências de genes particulares podem ser deduzidas). O percentual de identidade pode ser calculado usando-se um programa conhecido por uma pessoa com prática na arte, como BLASTn ou BLASTp, obténível no endereço da rede mundial de computadores (website) do NCBI.

Como usado aqui, o termo “câncer” refere-se a um novo crescimento de células, que pode ser benigno ou maligno, na pele ou em órgãos do corpo, por exemplo, mas sem limitação, mama, próstata, pulmão, rim, pâncreas, cérebro, estômago ou intestino. Um câncer tende a infiltrar-se no tecido adjacente e disseminar-disseminar-se (sofrer metástase) para órgãos distantes, por exemplo, para ossos, fígado, pulmão ou o cérebro. Como usado aqui, o termo câncer inclui tanto tipos de células de tumor metastático, como, embora sem limitação, melanoma, linfoma, leucemia, fibrossarcoma, rabdomiossarcoma, e mastocitoma e tipos de carcinoma dos tecidos, como, embora sem limitação, câncer colo-retal, câncer da próstata, câncer do pulmão de células pequenas e câncer do pulmão de células não-pequenas, câncer de mama, câncer pancreático, câncer da bexiga, câncer renal, câncer gástrico,

glioblastoma, câncer de fígado primário e câncer ovariano.

Como usado aqui o termo “malignidades de células B” inclui um grupo de distúrbios que incluem leucemia linfocítica crônica (CLL), mieloma múltiplo, e linfoma não-Hodgkin (NHL). Eles são doenças neoplásticas do sangue e órgãos formadores de sangue. Eles causam disfunção da medula óssea e do sistema imune, que torna o hospedeiro altamente suscetível a infecção e sangramento.

Como usado aqui, o termo “biodisponibilidade” refere-se ao grau em que, ou à taxa em que um medicamento ou outra substância é absorvida ou torna-se disponível no sítio de atividade biológica após administração. Esta propriedade é dependente de uma variedade de fatores incluindo a solubilidade do composto, taxa de absorção no intestino, a extensão da ligação de proteína e metabolismo etc. Vários testes para biodisponibilidade que poderiam ser familiares para uma pessoa com prática na arte são descritos, por exemplo, por Egorin et al. (2002).

O termo "solubilidade em água" como usado nesta aplicação refere-se à solubilidade em meio aquoso, p. ex., solução salina tamponada com fosfato (PBS) em pH 7,3. Um ensaio exemplar de solubilidade em água é apresentado nos Exemplos abaixo.

O termo "cepa produtora de macbecina" como usado nesta aplicação refere-se a cepas, por exemplo, cepas de tipo selvagem como exemplificado por A pretiosum e A mirum, que produzem macbecina quando cultivados em condições vantajosas, por exemplo, quando introduzidos na alimentação de partida natural de ácido 3-amino-5-hidroxibenzóico.

Como usado aqui, o termo “gene(s) pós-PKS” refere-se aos genes requeridos para modificações de pós-policetídeo sintase do policetídeo, por exemplo, mas sem limitação, monooxigenases, O-metiltransferases e carbamoiltransferases. Especificamente, no sistema de macbecina estes genes modificadores incluem mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450.

Como usado aqui, o termo “gene(s) de biossíntese da unidade iniciadora” refere-se aos genes requeridos para a produção da unidade iniciadora naturalmente incorporada, ácido 3-amino-5-hidroxibenzóico (AHBA). Especificamente, no sistema de macbecina estes genes de biossíntese da unidade iniciadora incluem AHk (AHBA quinase), Adh (aDHQ desidroquinase), AHs (AHBA sintase), OX (oxidorreductase), PH (fosfatase). Outras cepas que produzem AHBA também contêm genes de biossíntese de AHBA.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis de compostos da invenção, como os compostos de fórmula (I) incluem sais convencionais formados de bases ou ácidos orgânicos ou inorgânicos farmaceuticamente aceitáveis e também sais de adição de ácido de amônio quaternário. Exemplos mais específicos de sais de ácidos vantajosos incluem clorídrico, bromídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, perclórico, fumárico, acético, propiônico, succínico, glicólico, fórmico, láctico, maléico, tartárico, cítrico, palmóico, malônico, hidroximaléico, fenilacético, glutâmico, benzóico, salicílico, fumárico, toluenossulfônico, metanossulfônico, naftaleno-2-sulfônico, benzenossulfônico hidroxinaftóico, iodídrico, málico, esteróico, tânico e análogos. Outros ácidos, como oxálico, embora não sejam, eles próprios, farmaceuticamente aceitáveis, podem ser úteis na preparação de sais úteis como intermediários na obtenção dos compostos da invenção e seus sais farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos mais específicos de sais básicos vantajosos incluem sais de sódio, lítio, potássio, magnésio, alumínio, cálcio, zinco, N,N'-dibenziletlenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, N-metilglucamina e procaina. Referências a seguir a um composto de acordo com a invenção incluem tanto compostos de fórmula (I) como também seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Como usado aqui os termos “18,21-diidromacbecina” e “macbecina II” (a forma diidroquinona da macbecina) são usada de forma

intercambiável.

Breve descrição dos desenhos

Figura 1: Representação da biossíntese da macbecina mostrando o primeiro intermediário livre de enzima putativa, pré-macbecina e o processamento pós-PKS a macbecina. A lista de etapas de processamento de PKS na figura não se destina a representar a ordem de eventos. As abreviaturas a seguir são usadas para genes particulares no aglomerado: AL0 - domínio de carregamento AHBA; ACP – proteína de suporte de acila; KS - β -cetossinase; AT - acil transferase; DH - desidratase; ER - enoil redutase; KR - β -cetorreductase.

Figura 2: Ilustração dos sítios de processamento pós-PKS de pré-macbecina para dar macbecina.

Figura 3: Representação diagramática da geração da cepa engenheirada BIOT-3806 em que o plasmídeo pLSS308 foi integrado no cromossoma por meio de recombinação homóloga resultando em disrupção do gene mbcM.

Figura 4: Representação diagramática da construção da deleção na-matriz de mbcM descrita no exemplo 2.

Figura 5: A – mostra a sequência do produto de PCR PCRwv308, SEQ ID NO: 16

B – mostra a sequência do produto de PCR PCRwv309, SEQ ID NO: 19

Figura 6: A – mostra a sequência de DNA resultante da deleção na-matriz de 502 aminoácidos em mbcM como descrito no exemplo 3 (SEQ ID NO: 20 e 21),

Chave: 1-21 bp codifica ponta 3' da fosfatase da biossíntese do ácido 3-amino-5-hidroxibenzóico, 136-68 bp codifica a proteína de deleção de mbcM, 161-141 bp codifica ponta 3' de mbcF.

B: mostra a sequência de aminaturalmente ocorrentes da

proteína (SEQ ID NO: 22). A sequência de proteínas é gerada do filamento de complemento mostrado na Figura 6A.

Figura 7: Representação diagramática da geração de uma cepa de *Actinosynnema pretiosum* em que os genes *mbcP*, *mbcP450*, *mbcMT1* e *mbcMT2* foram deletados na matriz.

Figura 8: Sequência do produto de PCR amplificado 1+2a (SEQ ID NO: 25)

Figura 9: Sequência do produto de PCR amplificado 3b+4 (SEQ ID NO: 28)

Figura 10: Estruturas dos compostos (14-20) produzidos nos Exemplos.

Descrição da invenção

A presente invenção proporciona análogos de 18,21-didesoximacbecina, como indicado acima, métodos para a preparação destes compostos, métodos para o uso destes compostos na medicina e o uso destes compostos como intermediários ou modelos para derivatização semi-sintética adicional ou para derivatização por meio de métodos de biotransformação.

De maneira vantajosa R_1 representa H ou OH. Em uma concretização R_1 representa H. Em outra concretização R_1 representa OH.

De maneira vantajosa R_2 representa H.

De maneira vantajosa R_3 representa CONH_2 .

Em uma concretização, de maneira vantajosa, R_4 e R_5 representam, em conjunto, uma ligação.

Em outra concretização, de maneira vantajosa R_4 e R_5 , cada um, representam H.

Em um conjunto exemplar de compostos R_6 , R_7 e R_8 , todos, representam hidrogênio.

Em outro conjunto exemplar de compostos R_6 , R_7 e R_8 , todos, não representam hidrogênio.

Em uma concretização, R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 e R_4 e R_5 representam, cada um, H.

Em outra concretização, R_1 representa OH, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 e R_4 e R_5 representam, cada um, H.

5 Em uma concretização vantajosa da invenção R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 , R_7 e R_8 representam, cada um, H.

 Em uma concretização vantajosa da invenção R_1 representa OH, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 , R_7 e R_8 representam, cada um, H.
10

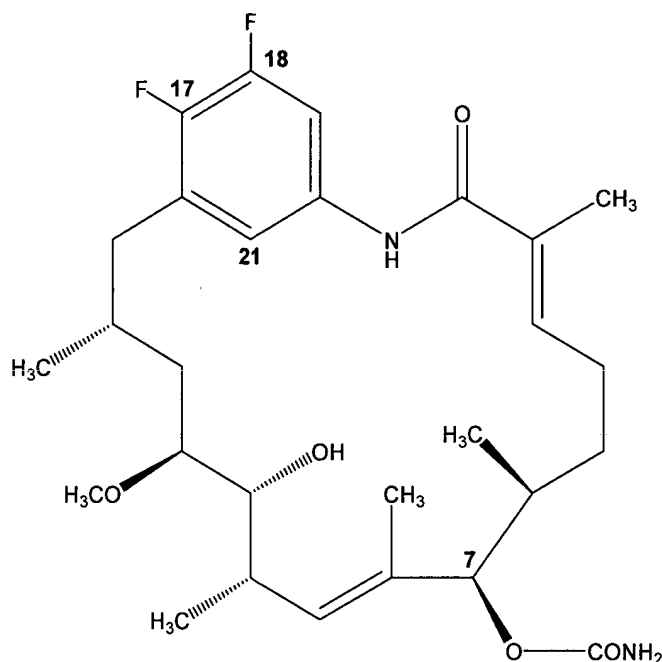
 Em uma concretização vantajosa da invenção R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 representa F e R_7 e R_8 representam, cada um, H.

 Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa OH, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 representa F e R_7 e R_8 representam, cada um, H.
15

 Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 representa H, R_7 representa F e R_8 representa H.

20 Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa OH, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 representa H, R_7 representa F e R_8 representa H.

 Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 e R_7 representam, cada um, F e R_8 representa H, por exemplo, como representado na estrutura a seguir,
25



Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa OH, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 e R_7 representam, cada um, F e R_8 representa H.

Em outra concretização vantajosa da invenção R_1 representa H, R_2 representa H, R_3 representa CONH_2 , R_4 e R_5 representam, cada um, H, R_6 , R_7 e R_8 representam, cada um, F.

A estereoquímica preferida das cadeias laterais não-hidrogênio com relação ao anel ansa é como mostrado nas Figuras 1 e 2 abaixo (ou seja, a estereoquímica preferida segue aquela da macbecina).

A presente invenção também proporciona o uso de um análogo de 18,21-didesoximacbecina como um substrato para modificação adicional seja por biotransformação ou por química sintética.

Em um aspecto, a presente invenção proporciona um análogo de 18,21-didesoximacbecina para uso como um medicamento. Em uma concretização adicional a presente invenção proporciona um análogo de 18,21-didesoximacbecina para uso no tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer.

Em outro aspecto, a presente invenção proporciona o uso de um análogo de 18,21-didesoximacbecina na fabricação de um medicamento. Em uma concretização adicional, a presente invenção proporciona o uso de um análogo de 18,21-didesoximacbecina na fabricação de um medicamento para o tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer.

Em uma concretização adicional, a presente invenção proporciona um método de tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou um pré-tratamento profilático para câncer, sendo que referido método compreende administrar a um paciente que disto necessita uma quantidade terapeuticamente eficaz de um análogo de 18,21-didesoximacbecina.

Como indicado acima, pode-se esperar que compostos da invenção sejam úteis no tratamento de câncer e/ou malignidades de células B. Compostos da invenção também podem ser efetivos no tratamento de outras indicações, por exemplo, embora sem limitação, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes, como artrite reumatóide ou como um pré-tratamento profilático para câncer.

Doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas incluem, embora sem limitação, mal de Alzheimer, mal de Parkinson, doença de Huntington, doenças de príon, atrofia muscular bulbar e espinhal (SBMA) e esclerose lateral amiotrófica (ALS).

Doenças dependentes de angiogênese incluem, embora sem limitação, degeneração macular relacionada com a idade, retinopatia diabética

e diversas outras distúrbios oftálmicas, aterosclerose e artrite reumatóide.

Doenças autoimunes incluem, embora sem limitação, artrite reumatóide, esclerose múltipla, diabetes de tipo I, lúpus eritematoso sistêmico e psoríase,

5 “Paciente” abrange sujeitos humanos e outros animais (particularmente mamíferos), de preferência, sujeitos humanos. Assim, os métodos e usos dos análogos de 18,21-didesoximacbecina da invenção são úteis na medicina humana e veterinária, de preferência, medicina humana.

10 Os compostos previamente indicados da invenção ou uma formulação dos mesmos podem ser administrados por meio de qualquer método convencional, por exemplo, mas sem limitação, eles podem ser administrados parenteralmente (incluindo administração intravenosa), oralmente, topicamente (incluindo administração bucal, sublingual ou transdérmica), via um dispositivo médico (p. ex., um stent), por meio de
15 inalação, ou via injeção (subcutânea ou intramuscular). O tratamento pode consistir de uma dose única ou uma pluralidade de doses ao longo de um determinado período.

 Embora seja possível administrar sozinho um composto da invenção, é preferível apresentá-lo como uma formulação farmacêutica,
20 juntamente com um ou mais veículos ou diluentes aceitáveis. Assim, proporciona-se uma composição farmacêutica compreendendo um composto da invenção juntamente com um ou mais veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis. O(s) diluente(s) ou veículo(s) precisa(m) ser “aceitáveis” no sentido de serem compatíveis com o composto da invenção e
25 não prejudiciais aos seus recipientes. Exemplos de veículos vantajosos são descritos mais detalhadamente abaixo.

Os compostos da invenção podem ser administrados sozinhos ou em combinação com outros agentes terapêuticos. A co-administração de dois (ou mais) agentes pode permitir usar doses significativamente menores

de cada um, reduzindo com isto os efeitos secundários observados. Ela também poderia permitir a ressensibilização de uma doença, como câncer, para os efeitos de uma terapia prévia à qual a doença se tornou resistente. Proporciona-se também uma composição farmacêutica compreendendo um composto da invenção e um agente terapêutico adicional juntamente com um ou mais veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis.

Em um aspecto adicional, a presente invenção proporciona o uso de um composto da invenção em terapia de combinação com um segundo agente, p. ex., um segundo agente para o tratamento de câncer ou malignidades de células B, como um agente citotóxico ou citostático.

Em uma concretização, um composto da invenção é coadministrado com outro agente terapêutico, p. ex., um agente terapêutico, como um agente citotóxico ou citostático para o tratamento de câncer ou malignidades de células B. Agentes exemplares adicionais incluem agentes citotóxicos, como agentes alquiladores e inibidores mitóticos (incluindo inibidores de topoisomerase II e inibidores de tubulina). Outros agentes exemplares adicionais incluem ligantes de DNA, antimetabólitos e agentes citostáticos, como inibidores de proteína quinase e bloqueadores de receptor de tirosina quinase. Agentes vantajosos incluem, embora sem limitação, metotrexato, leucovorina, prenisona, bleomicina, ciclofosfamida, 5-fluorouracila, paclitaxel, docetaxel, vincristina, vinblastina, vinorelbina, doxorubicina (adriamicina), tamoxifeno, toremifeno, acetato de megestrol, anastrozol, goserelina, anticorpo monoclonal anti-HER2 (p. ex., trastuzumab, nome comercial HerceptinTM), capecitabina, cloridrato de raloxifeno, inibidores de EGFR (p. ex., gefitinib, nome comercial Iressa[®], erlotinib, nome comercial TarcevaTM, cetuximab, nome comercial ErbituxTM), inibidores de VEGF (p. ex., bevacizumab, nome comercial AvastinTM) e inibidores de proteasoma (p. ex., bortezomib, nome comercial VelcadeTM). Agentes vantajosos adicionais incluem, embora sem limitação,

quimioterápicos convencionais, como cisplatina, citarabina, cicloexilcloroetilnitrosuréia, gemcitabina, Ifosfamida, leucovorina, mitomicina, mitoxantona, oxaliplatina, taxanos incluindo taxol e vindesina; terapias hormonais; terapias com anticorpos monoclonais, como cetuximab
5 (anti-EGFR); inibidores de proteína quinase, como dasatinib, lapatinib; inibidores de histona desacetilase (HDAC), como vorinostat; inibidores de angiogênese, como sunitinib, sorafenib, lenalidomida; inibidores de mTOR, como temsirolimus; e imatinib, nome comercial Glivec ®. Adicionalmente, um composto da invenção pode ser administrado em combinação com outras
10 terapias incluindo, embora sem limitação, radioterapia ou cirurgia.

As formulações podem ser apresentadas vantajosamente em forma de dosagem unitária e podem ser preparadas por meio de qualquer um dos métodos bem conhecidos na arte da farmácia. Referidos métodos incluem a etapa de colocar em associação o ingrediente ativo (composto da invenção)
15 com o veículo que constitui um ou mais ingredientes acessórios. De uma forma geral, as formulações são preparadas colocando-se em associação, de forma uniforme e íntima, o ingrediente ativo com veículos líquidos ou veículos sólidos finamente divididos, ou ambos, e, então, se necessário, modelando-se o produto.

20 Os compostos da invenção normalmente serão administrados oralmente ou por meio de qualquer via parenteral, na forma de uma formulação farmacêutica compreendendo o ingrediente ativo, opcionalmente em forma de um ácido inorgânico ou orgânico não-tóxico, ou base, sal de adição, em uma forma de dosagem farmacêuticamente aceitável. Dependendo
25 da desordem e do paciente a ser tratado, e também da via de administração, as composições podem ser administradas em doses variáveis.

Por exemplo, os compostos da invenção podem ser administrados oralmente, bucalmente ou por via sublingual em forma de tabletes, cápsulas, óvulos, elixires, soluções ou suspensões, que podem conter

agentes aromatizantes ou corantes, para aplicações de liberação imediata, retardada ou controlada.

Referidos tabletes podem conter excipientes, como celulose microcristalina, lactose, citrato de sódio, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio
5 dibásico e glicina, desintegrantes, como amido (de preferência, amido de milho, batata ou tapioca), amido glicolato de sódio, croscarmellose sódio e determinados silicatos complexos, e ligantes de granulação, como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidróxi-
propilcelulose (HPC), sacarose, gelatina e acácia. Adicionalmente, é possível
10 incluir agentes lubrificantes, como estearato de magnésio, ácido esteárico, beenato de glicerila e talco.

Também é possível empregar composições sólidos de um tipo similar como cargas em cápsulas de gelatina. Excipientes preferidos neste aspecto incluem lactose, amido, uma celulose, lactose ou polietileno glicóis
15 com alto peso molecular. Para elixires e/ou suspensões aquosas, os compostos da invenção podem ser combinados com diversos agentes aromatizantes ou adoçantes, material corante ou corantes, com agentes emulsificantes e/ou de suspensão e com diluentes, como água, etanol, propileno glicol e glicerina, e combinações dos mesmos.

20 É possível preparar um tablete por meio de compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Tabletes comprimidos podem ser preparados por meio de compressão do ingrediente ativo em uma máquina apropriada a uma forma de fluxo livre, como um pó ou grânulos, opcionalmente misturados com um ligante (p. ex., povidona, gelatina, hidroxipropilmetil celulose), lubrificante, diluente inerte,
25 conservante, z (p. ex., amido glicolato de sódio, povidona reticulada, carboximetil celulose de sódio reticulada), agente dispersante ou tensoativo. Tabletes moldados podem ser preparados por meio de moldagem, em uma máquina apropriada, de uma mistura do composto pulverizado umidificado

com um diluente líquido inerte. Opcionalmente, os tabletes podem ser revestidos ou ranhurados e podem ser formulados de forma a proporcionar liberação lenta ou controlada do ingrediente ativo, usando-se, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose em proporções variáveis para proporcionar o perfil de liberação desejado.

Formulações de acordo com a presente invenção vantajosas para administração oral podem ser apresentadas como unidades distintas, como cápsulas, cápsulas revestidas ou tabletes, cada um contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo; como um pó ou grânulos; como uma solução ou uma suspensão em um líquido aquoso ou um líquido não-aquoso ; ou como uma emulsão líquida óleo-em-água ou como uma emulsão líquida água-em-óleo. O ingrediente ativo também pode ser apresentado como um bolus, electuário ou pasta.

Formulações vantajosas para administração tópica na boca incluem losangos compreendendo o ingrediente ativo em uma base aromatizada, usualmente sacarose e acácia ou tragacanto; pastilhas compreendendo o ingrediente ativo em uma base inerte, como gelatina e glicerina, ou sacarose e acácia; e líquidos para limpeza bucal compreendendo o ingrediente ativo em um veículo líquido vantajoso.

Deve-se compreender que adicionalmente aos ingredientes particularmente mencionados acima as formulações desta invenção podem incluir outros agentes convencionais na arte considerando o tipo de formulação em questão, por exemplo, aqueles vantajosos para administração oral podem incluir agentes aromatizantes.

Composições farmacêuticas adaptadas para administração tópica podem ser formuladas como ungüentos, cremes, suspensões, loções, pós, soluções, pastas, géis, curativos impregnados, sprays, aerossóis ou óleos, dispositivos transdérmicos, pós para polvilhamento, e análogos. Estas composições podem ser preparadas via métodos convencionais contendo o

agente ativo. Assim, elas também podem compreender aditivos e veículos convencionais compatíveis, como conservantes, solventes para auxiliar a penetração da droga, emolientes em cremes ou ungentos e etanol ou álcool de oleíla para loções. Referidos veículos podem estar presentes de cerca de 1
5 % até cerca de 98 % da composição. Mais usualmente eles constituirão até cerca de 80 % da composição. Apenas como ilustração, prepara-se um unguento ou creme por meio de misturação de quantidades suficientes de material hidrofílico e água, contendo de cerca de 5 a 10 % em peso do composto, em quantidades suficientes para produzir um creme ou unguento
10 apresentando a consistência desejada.

Composições farmacêuticas adaptadas para administração transdérmica podem ser apresentadas como adesivos distintos destinados a permanecer em contato íntimo com a epiderme do recipiente durante um período prolongado. Por exemplo, o agente ativo pode ser fornecido a partir
15 do adesivo por meio de iontoforese.

Para aplicações em tecidos externos, por exemplo, na boca e na pele, as composições são aplicadas, de preferência, como um creme ou unguento tópico. Quando formulado em um unguento, o agente ativo pode ser empregado com uma base de unguento parafínica ou miscível em água.

20 Alternativamente, o agente ativo pode ser formulado em um creme com uma base de creme óleo-em-água ou uma base de creme água-em-óleo.

Para administração parenteral, prepara-se formas de dosagem unitária fluida empregando o ingrediente ativo e um veículo estéril, por
25 exemplo, mas sem limitação, água, alcoóis, polióis, glicerina e óleos vegetais, sendo que se prefere água. O ingrediente ativo, dependendo do veículo e concentração usados, pode ser suspenso ou dissolvido no veículo. Na preparação, o ingrediente ativo pode ser dissolvido em água para injeção e esterilizado por filtração antes do enchimento em um frasco ou ampola

vantajosa, e fechamento hermético.

De forma vantajosa, agentes, como anestésicos locais, conservantes e agentes tamponadores podem ser dissolvidos no veículo. Para incrementar a estabilidade, a composição pode ser congelada após enchimento
5 no frasco e a água removida em vácuo. O pó secado por liofilização é então fechado hermeticamente no frasco e é possível fornecer um frasco anexo com água para injeção para reconstituir o líquido antes do uso.

Suspensões parenterais são preparadas substancialmente da mesma maneira que soluções, exceto que o ingrediente ativo é suspenso no
10 veículo em lugar de ser dissolvido e a esterilização não pode ser realizada por meio de filtração. O ingrediente ativo pode ser esterilizado por meio de exposição a óxido de etileno antes de suspender no veículo estéril. De forma vantajosa, inclui-se um agente tensoativo ou agente umectante na composição para facilitar a distribuição uniforme do ingrediente ativo.

Os compostos da invenção também podem ser administrados usando-se dispositivos médicos conhecidos na arte. Por exemplo, em uma concretização, uma composição farmacêutica da invenção pode ser administrada com um dispositivo de injeção hipodérmica sem agulha, como os dispositivos divulgados nas Patentes dos Estados Unidos num. 5.399,163;
15 U.S. 5.383.851; U.S. 5.312.335; U.S. 5.064.413; U.S. 4.941.880; U.S. 4.790.824; ou U.S. 4.596.556. Exemplos de implantes e módulos bem conhecidos na presente invenção incluem: US 4.487.603, que revela uma bomba de micro-infusão implantável para fornecer droga numa taxa controlada; US 4.486.194, que revela um dispositivo terapêutico para
20 administrar drogas através da pele; US 4.447.233, que revela uma bomba para infusão de droga para fornecer droga numa taxa de infusão precisa; US 4.447.224, que revela um dispositivo de infusão implantável de fluxo variável para fornecimento contínuo de droga; US 4.439,196, que revela um sistema de fornecimento osmótico de droga apresentando compartimentos de

múltiplas câmaras; e US 4.475.196, que revela um sistema de fornecimento osmótico de droga. Aqueles com prática na arte conhecem muitos outros implantes, sistemas de fornecimento, e módulos do tipo referido.

5 A dosagem a ser administrada de um composto da invenção variará de acordo com o composto particular, a doença envolvida, o sujeito, e a natureza e gravidade da doença e da condição física do sujeito, e a via de administração selecionada. A dosagem apropriada pode ser facilmente determinada por uma pessoa versada na arte.

10 As composições podem conter de 0,1 % em peso, de preferência, de 5-60 %, mais preferivelmente, de 10 a 30 % em peso, de um composto da invenção, dependendo do método de administração.

15 Alguém com prática na arte poderá perceber que a quantidade e o espaçamento ótimos de dosagens individuais de um composto da invenção serão determinados pela natureza e extensão da condição que está sendo tratada, a forma, via e sítio de administração, e a idade e condição do sujeito particular que está sendo tratado, e que um médico determinará finalmente as dosagens apropriadas a serem usadas. Esta dosagem pode ser repetida tão freqüentemente como apropriado. Caso se desenvolvam efeitos colaterais, a quantidade e/ou freqüência da dosagem podem ser alteradas ou reduzidas, de
20 acordo com prática clínica normal.

Em um aspecto adicional a presente invenção proporciona métodos para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina.

25 Pode-se considerar biossintetizar a macbecina em dois estágios. No primeiro estágio os genes núcleo-PKS montam o núcleo de macrólido por meio da montagem repetida de precursores simples de ácido carboxílico dando uma cadeia de polietídeo que, então, é ciclizada para formar o primeiro intermediário livre de enzima “pré-macbecina”, ver Figura 1. No segundo estágio uma série de enzimas ajustadoras “pós-PKS” (p. ex., monooxigenases P450, metiltransferases, oxigenases dependentes de FAD e

uma carbamoiltransferase) atua adicionando os diversos grupos adicionais ao modelo pré-macbecina resultando na estrutura final do composto parental, ver Figura 2. Os análogos de 18,21-didesoximacbecina podem ser biossintetizados de uma maneira similar.

5 Esta produção biossintética pode ser explorada por meio de biotransformação combinada opcionalmente com manipulação genética de cepas produtoras vantajosas resultando na produção de compostos inéditos. Em particular, a presente invenção proporciona um método de produzir análogos de 18,21-didesoximacbecina, sendo que referido método
10 compreende:

 a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina ou um análogo quando cultivada em condições apropriadas

 b) introduzir um ácido de partida não-natural em referida cepa

15 c) cultivar referida cepa em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

 d) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

 O método pode compreender adicionalmente a etapa de:

 e) deletar ou inativar um ou mais dos genes da biossíntese da
20 unidade iniciadora, ou um homólogo dos mesmos, sendo que referida etapa ocorre usualmente antes da etapa c) e/ou o método pode compreender adicionalmente a etapa de:

 f) deletar ou inativar um ou mais genes pós-PKS, sendo que referida etapa ocorre usualmente antes da etapa c).

25 Na etapa (a) com "uma cepa hospedeira que produz macbecina ou um análogo da mesma" compreende-se uma cepa que produz macbecina ou aqueles análogos de macbecina, particularmente análogos de 18,21-didesoximacbecina, que são compreendidos pelas definições de R_1 - R_8 quando cultivada em condições apropriadas. Condições apropriadas (e condições

vantajosas na etapa (c)) incluem a provisão de uma alimentação de partida e um meio de crescimento apropriado, de composição vantajosa, (que serão conhecidos por uma pessoa versada na arte ou que podem ser determinados por meio de métodos conhecidos per se).

5 De maneira vantajosa, a alimentação de partida não-natural é um ácido benzóico substituído (não sendo um ácido 3-amino-5-hidróxi-benzóico que o ácido de partida natural). Da forma mais vantajosa, a alimentação de partida não-natural é ácido 3-amino-benzóico, sendo que o anel de benzeno é opcionalmente substituído por de um a três átomos de flúor.

10 Em uma concretização vantajosa a alimentação de ácido de partida não-natural é ácido 3-aminobenzóico.

Em outra concretização vantajosa a alimentação de ácido de partida não-natural é ácido 5-amino-2-fluorobenzóico.

15 Em outra concretização vantajosa a alimentação de ácido de partida não-natural é ácido 5-amino-3-fluorobenzóico.

Em outra concretização vantajosa a alimentação de ácido de partida não-natural é ácido 5-amino-2,3-di-fluorobenzóico.

Em outra concretização vantajosa a alimentação de ácido de partida não-natural é ácido 5-amino-2,3,6-tri-fluorobenzóico.

20 Alguém versado na arte perceberá que há unidades de partida alternativas não-naturais que poderiam ser introduzidas na cepa hospedeira para produzir o(s) mesmo(s) composto(s), por exemplo, embora sem limitação, o metil éster, o etil éster, o tioéster de N-acetil-cisteamina do ácido benzóico substituído e o análogo de dicetídeo do intermediário biossintético
25 ativado apropriadamente para incorporação, por exemplo, como o tioéster de N-acetil-cisteamina.

Em uma primeira concretização da invenção a cepa hospedeira é uma cepa produtora de macbecina.

Em uma concretização alternativa, a cepa hospedeira é uma

cepa engenheirada baseada numa cepa produtora de macbecina em que um ou mais dos genes biossintéticos de unidade iniciadora foram deletados ou inativados.

Em uma concretização adicional a cepa hospedeira é uma cepa engenheirada baseada numa cepa produtora de macbecina em que um ou mais dos genes pós-PKS foram deletados ou inativados. Por exemplo, a cepa hospedeira pode ser uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM e, opcionalmente, outros genes pós-PKS foram deletados ou inativados. Especificamente, a cepa hospedeira pode ser uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM foi deletado ou inativado. Alternativamente, a cepa hospedeira pode ser uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM, mbcMT1, mbcMT2, mbcP e mbcP450 foram deletados ou inativados.

De maneira vantajosa, o um ou mais genes biossintéticos de unidade iniciadora e/ou genes pós-PKS serão deletados ou inativados seletivamente.

Em uma concretização adicional, um ou mais genes biossintéticos de unidade iniciadora ou genes pós-PKS são inativados em referida cepa engenheirada por meio de integração do DNA no(s) gene(s/), de tal forma que a proteína funcional não seja produzida. Em uma concretização alternativa, um ou mais dos referidos genes de unidade iniciadora ou genes pós-PKS são deletados em referida cepa engenheirada por meio de preparação de uma deleção ou de deleções objetivadas. Em uma concretização adicional, um ou mais genes biossintéticos de unidade iniciadora ou genes pós-PKS são inativados em referida cepa engenheirada por meio de mutagênese dirigida para sítio. Em uma concretização adicional uma cepa hospedeira produtora de macbecina é submetida a mutagênese, química ou por UV, e seleciona-se uma cepa modificada em que uma ou mais das enzimas biossintéticas de unidade

iniciadora ou enzimas pós-PKS não são funcionais. A presente invenção também compreende mutações dos reguladores que controlam a expressão de um ou mais dos genes biossintéticos de unidade iniciadora ou genes pós-PKS, uma pessoa versada na arte perceberá que deleção ou inativação de um regulador pode ter o mesmo resultado que deleção ou inativação do gene.

Em uma concretização adicional uma cepa engenheirada em que um ou mais genes pós-PKS foram deletados ou inativados como acima, foi reintroduzida em um ou mais dos mesmos genes pós-PKS, ou seus homólogos de uma cepa alternativa produtora de macbecina.

Em uma concretização adicional uma cepa engenheirada em que um ou mais genes foi deletada ou inativada é complementada por um ou mais dos genes pós-PKS do aglomerado de PKS heterólogo incluindo, embora sem limitação, os aglomerados que dirigem a biossíntese da rifamicina, ansamitocina, geldanamicina ou herbimicina.

Um método de deletar ou inativar seletivamente um gene pós-PKS compreende:

(i) determinar oligos degenerados com base em homólogo(s) do gene de interesse (p. ex., dos aglomerados biossintéticos de rifamicina, geldanamicina ou herbimicina e/outras seqüências obteníveis) e isolar o fragmento interno do gene de interesse de uma cepa produtora de macbecina vantajosa por meio do uso destes iniciadores em uma reação de PCR,

(ii) integrar um plasmídeo contendo este fragmento na mesma, ou em uma cepa produtora diferente, de macbecina seguido de recombinação homóloga, o que resulta na disrupção do gene objetivado,

(iii) cultivar a cepa assim produzida em condições vantajosas para a produção dos análogos de macbecina, i.e. análogos de 18,21-didesoximacbecina.

Em uma concretização específica, a cepa produtora de macbecina na etapa (i) é *Actinosynnema mirum* (A. mirum). Em uma

concretização específica adicional, a cepa produtora de macbecina na etapa (ii) é *Actinosynnema pretiosum* (*A. pretiosum*).

Uma pessoa versada na arte perceberá que é possível obter uma cepa equivalente usando métodos alternativos àqueles descritos acima, p. ex.:

- Oligos degenerados podem ser usados para amplificar o gene de interesse de qualquer cepa produtora de macbecina por exemplo, embora sem limitação, *A. pretiosum*, ou *A. mirum*

- É possível projetar diferentes oligos degenerados que amplificarão com êxito uma região apropriada do gene pós-PKS, ou um homólogo do mesmo, de um produtor de macbecina, ou cepa produtora de um homólogo do mesmo.

- A sequência do gene da cepa de *A. pretiosum* pode ser usada para gerar os oligos que podem ser específicos para o gene de *A. pretiosum* e, então, o fragmento interno pode ser amplificado de qualquer cepa produtora de macbecina, p. ex., *A. pretiosum* ou *A. mirum*.

- A sequência do gene da cepa de *A. pretiosum* pode ser usada juntamente com a sequência de genes homólogos para gerar oligos degenerados para o gene de *A. pretiosum* e, então, o fragmento interno pode ser amplificado de qualquer cepa produtora de macbecina, p. ex., *A. pretiosum* ou *A. mirum*.

A Figura 2 mostra a atividade dos genes pós-PKS no aglomerado biossintético de macbecina. Assim, uma pessoa versada na arte poderia ser capaz de identificar quais genes pós-PKS adicionais poderia ser necessário deletar ou inativar para se chegar a uma cepa que produzirá o(s) composto(s) de interesse.

Pode-se observar nestes sistemas que quando se gera uma cepa em que um ou mais dos genes pós-PKS não funcionam como um resultado de um dos métodos descritos incluindo inativação ou deleção, é possível

produzir mais de um análogo de 18,21-didesoximacbecina. Há uma quantidade de razões possíveis para isto, e poderão ser compreendidas por aqueles versados na arte. Por exemplo, pode haver uma ordem preferida de etapas pós-PKS e a remoção de uma única atividade leva a que todas as etapas
5 subseqüentes podem ser realizadas sobre substratos que não são naturais para a enzimas envolvidas. Isto pode levar ao acúmulo de intermediários no caldo de cultura devido a uma menor eficiência no sentido dos substratos inéditos apresentados às enzimas pós-PKS, ou a produtos desviados [shunt] que não são mais substratos para as enzimas remanescentes possivelmente em virtude
10 da alteração da ordem de etapas.

Uma pessoa versada na arte perceberá que a relação de compostos observada em uma mistura pode ser manipulada por meio do uso de variações nas condições de crescimento.

Alguém versado na arte perceberá que em um aglomerado
15 biossintético alguns genes são organizados em óperons e a disrupção de um gene freqüentemente terá um efeito sobre a expressão de genes subseqüentes no mesmo óperon.

Quando se observa uma mistura de compostos, estes podem ser facilmente separados usando-se técnicas convencionais, sendo que
20 algumas destas encontram-se descritas nos exemplos a seguir.

Análogos de 18,21-didesoximacbecina podem ser selecionados por uma variedade de métodos, como descrito aqui, e no caso em que um composto simples mostra um perfil favorável, uma cepa pode ser manipulada para preparar este composto preferivelmente. No caso incomum em que isto
25 não é possível, é possível gerar um intermediário que, então, é biotransformado para produzir o composto desejado.

A presente invenção proporciona análogos de macbecina inéditos gerados pela seleção ou inativação selecionada de um ou mais genes pós-PKS do aglomerado de genes de PKS macbecina. Em particular, a

presente invenção refere-se a análogos de 18,21-didesoximacbecina inéditos produzidos por meio de introdução de uma unidade iniciadora não natural em uma cepa produtora de macbecina, opcionalmente combinada com a deleção ou inativação selecionada de um ou mais genes pós-PKS, do aglomerado de genes de PKS macbecina.

Uma pessoa versada na arte perceberá que um gene não precisa ser completamente deletado para que o produto gênico seja tornado não-funcional, conseqüentemente o termo “deletado ou inativado” como usado aqui compreende qualquer método por meio do qual o produto gênico é tornado não-funcional incluindo, embora sem limitação: deleção do gene integralmente, deleção de parte do gene, inativação por meio de inserção no gene-alvo, mutagênese dirigida para sítio que resulta no gene, ou não ser expresso ou ser expresso para produzir proteína nativa, mutagênese da cepa hospedeira que resulta no gene, ou não ser expresso ou ser expresso para produzir proteína nativa (p. ex., por meio de radiação ou exposição a químicos mutagênicos, fusão de protoplasto ou mutagênese de transpóson). Alternativamente, a função de um produto gênico pode ser prejudicada quimicamente com inibidores, por exemplo, metapirona (nome alternativo 2-metil-1,2-di(3-piridil-1-propanona), EP 0 627 009) e ancimidol são inibidores de oxigenases e estes compostos podem ser adicionados ao meio de produção para gerar análogos. Adicionalmente, sinefungina é um inibidor de metil transferase que pode ser usado de forma similar, menos para a inibição da atividade de metil transferase in vivo (McCammon e Parks, 1981).

Em uma concretização alternativa, todos os genes pós-PKS podem ser deletados ou inativados e, então, um ou mais dos genes podem ser reintroduzidos por meio de complementação (p. ex., em um sítio de ligação, em um plasmídeo auto-replicante ou por meio de inserção em uma região homóloga do cromossomo). Portanto, em uma concretização particular a presente invenção refere-se a métodos para a geração de análogos de 18,21-

didesoximacbecina, sendo que referido método compreende:

a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina quando cultivada em condições apropriadas

b) opcionalmente, deletar ou inativar seletivamente todos os genes pós-PKS,

c) introduzir uma unidade iniciadora não natural em referida cepa

d) cultivar referida cepa hospedeira modificada em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

e) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

Em uma concretização alternativa, um ou mais dos genes pós-PKS deletados são reintroduzidos. Em uma concretização adicional, 1 ou mais dos genes pós-PKS selecionados do grupo que consiste de mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450 são reintroduzidos. Em uma concretização adicional, 2 ou mais dos genes pós-PKS selecionados do grupo que consiste de mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450 são reintroduzidos. Em uma concretização adicional, 3 ou mais dos genes pós-PKS selecionados do grupo que consiste de mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450 são reintroduzidos. Em uma concretização adicional, 4 ou mais dos genes pós-PKS selecionados do grupo que consiste de mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450 são reintroduzidos. Em uma concretização alternativa adicional, 5 ou mais dos genes pós-PKS selecionados do grupo que consiste de mbcM, mbcN, mbcP, mbcMT1, mbcMT2 e mbcP450 são reintroduzidos. Opcionalmente genes de outros aglomerados biossintéticos de PKS, como embora sem limitação, as vias de geldanamicina ou herbimicina podem ser introduzidas de forma apropriada.

Adicionalmente, uma pessoa com prática na arte perceberá que um subconjunto dos genes pós-PKS, poderia ser deletado ou inativado e, opcionalmente, um subconjunto menor de referidos genes pós-PKS poderia

ser reintroduzido para se chegar a uma cepa que, quando introduzida em uma unidade iniciadora não natural, produz análogos de 18,21-didesoximacbecina.

Portanto, em uma concretização preferida, a presente invenção refere-se a métodos para a geração de análogos de 18,21-didesoximacbecina, sendo que referido método compreende:

a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina quando cultivada em condições apropriadas

b) deletar ou inativar seletivamente mbcM,

c) introduzir uma unidade iniciadora não natural em referida cepa

d) cultivar referida cepa hospedeira modificada em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

e) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

Em uma concretização preferida adicional a presente invenção refere-se a métodos para a geração de análogos de 18,21-didesoximacbecina, sendo que referido método compreende:

a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina quando cultivada em condições apropriadas

b) deletar ou inativar seletivamente mbcM e mbcP450

c) opcionalmente, deletar ou inativar seletivamente genes adicionais pós-PKS

d) introduzir uma unidade iniciadora não natural em referida cepa

e) cultivar referida cepa hospedeira modificada em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

f) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

Em uma concretização preferida adicional a presente invenção refere-se a métodos para a geração de análogos de 18,21-didesoximacbecina, sendo que referido método compreende:

a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina quando cultivada em condições apropriadas

b) deletar ou inativar seletivamente *mbcM*, *mbcMT1*, *mbcMT2*, *mbcP* e *mbcP450*

5 c) opcionalmente, deletar ou inativar seletivamente genes adicionais pós-PKS ou genes de biossíntese da unidade iniciadora

d) introduzir uma unidade iniciadora não natural em referida cepa

10 e) cultivar referida cepa hospedeira modificada em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

f) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

É de conhecimento geral por parte daqueles versados na arte que aglomerados de genes de policetídeo podem ser expressos em hospedeiros heterólogos (Pfeifer e Khosla, 2001). Assim, a presente invenção
 15 inclui a transferência do aglomerado de genes biossintéticos de macbecina, com ou sem genes reguladores e de resistência, sendo de outra forma completos ou contendo deleções, para um hospedeiro heterólogo. Alternativamente, o aglomerado completo biossintético de macbecina pode ser transferido para um hospedeiro heterólogo, com ou sem genes reguladores
 20 e de resistência, e pode então ser manipulado pelos métodos aqui descritos para deletar ou inativar um ou mais dos genes pós-PKS ou genes de biossíntese da unidade iniciadora. Métodos e vetores para a transferência como definido acima de referidas porções grandes de DNA são bem conhecidos na arte (Rawlings, 2001; Staunton e Weissman, 2001) ou são
 25 proporcionados aqui, nos métodos revelados. Neste contexto, uma cepa de células hospedeiras preferida seja um procarionte, mais preferivelmente, um actinomiceto ou *Escherichia coli*, ainda mais preferivelmente, incluem, embora sem limitação, *Actinosynnema mirum* (*A. mirum*), *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum* (*A. pretiosum*), *S. hygroscopicus*, *S.*

hygroscopicus sp., *S. hygroscopicus* var. *ascomyceticus*, *Streptomyces tsukubaensis*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces lividans*, *Saccharopolyspora erythraea*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces cinnamonensis*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces albus*,
 5 *Streptomyces griseofuscus*, *Streptomyces longisporoflavus*, *Streptomyces venezuelae*, *Streptomyces albus*, *Micromonospora* sp., *Micromonospora griseorubida*, *Amycolatopsis mediterranei* ou *Actinoplanes* sp. N902-109, Exemplos adicionais incluem *Streptomyces hygroscopicus* subespécie *geldanus* e *Streptomyces violaceusniger*.

10 Em uma concretização, todo o aglomerado biossintético é transferido. Em uma concretização alternativa, todo o PKS é transferido sem qualquer um dos genes de biossíntese da unidade iniciadora e/ou genes pós-PKS associados.

15 Em uma concretização adicional, todo o aglomerado biossintético de macbecina é transferido e, depois, manipulado de acordo com a descrição aqui.

20 Em um aspecto alternativo da invenção, o(s) análogo(s) de 18,21-didesoximacbecina da presente invenção podem ser processados adicionalmente por meio de biotransformação com uma cepa apropriada. A cepa apropriada pode ser uma cepa de tipo selvagem obtenível, por exemplo, embora sem limitação, *Actinosynnema mirum*, *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, *S. hygroscopicus*, *S. hygroscopicus* sp.. Alternativamente, uma cepa apropriada pode ser manipulada de forma a permitir biotransformação com enzimas particulares pós-PKS, por exemplo,
 25 embora sem limitação, aquelas codificadas por *mbcM*, *mbcN*, *mbcP*, *mbcMT2*, *mbcP450* (como definido aqui), *gdmN*, *gdmM*, *gdmL*, *gdmP*, (Rascher et al., 2003) a geldanamicina O-metila transferase, *hbmN*, *hbmL*, *hbmP*, (Rascher et al., 2005) herbimicina O-metil transferases e, também, herbimicina mono-oxigenases, *asm7*, *asm10*, *asm11*, *asm12*, *asm19* e *asm21*

(Cassady et al., 2004, Spiteller et al., 2003). Onde genes ainda restam por ser identificados ou as seqüências não se encontrem no domínio público é rotina, por parte daqueles com prática na arte, adquirir referidas seqüências por meio de métodos convencionais. Por exemplo, a seqüência do gene que codifica a geldanamicina O-metil transferase não é de domínio público, mas alguém com prática na arte será capaz de gerar uma sonda, seja uma sonda heteróloga usando uma O-metil transferase similar, ou uma sonda homóloga por meio de determinação de iniciadores degenerados dentre genes homólogos disponíveis para realizar Southern blotting em uma cepa produtora de geldanamicina e, assim, requerem este gene para gerar sistemas de biotransformação.

Em uma concretização particular, a cepa pode ter apresentado a deleção de um ou mais aglomerados de policetídeos nativos, seja separadamente ou em parte, ou de outra forma inativados, de forma a prevenir a produção do policetídeo produzido por referido aglomerados de policetídeo nativo. Referida cepa engenheirada pode ser selecionada do grupo que inclui, por exemplo, mas sem limitação, *Actinosynnema mirum*, *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, *S. hygroscopicus*, *S. hygroscopicus* sp., *S. hygroscopicus* var. *ascomyceticus*, *Streptomyces tsukubaensis*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces lividans*, *Saccharopolyspora erythraea*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces cinnamonensis*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces griseofuscus*, *Streptomyces longisporoflavus*, *Streptomyces venezuelae*, *Micromonospora* sp., *Micromonospora griseorubida*, *Amycolatopsis mediterranei* ou *Actinoplanes* sp. N902-109, Cepas possíveis adicionais incluem *Streptomyces hygroscopicus* subespécie *geldanus* e *Streptomyces violaceusniger*.

Embora o processo para a preparação dos análogos de 18,21-didesoximacbecina da invenção como descrito acima seja substancialmente ou totalmente biossintético, não se exclui a produção ou interconversão de análogos de 18,21-didesoximacbecina da invenção por meio de um processo

que compreende métodos químicos sintéticos convencionais.

Para permitir a manipulação genética do aglomerado de genes PKS de macbecina, primeiramente o aglomerado de genes foi seqüenciado de *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, no entanto, uma pessoa versada na arte perceberá que há cepas alternativas que produzem macbecina, por exemplo, mas sem limitação, *Actinosynnema mirum*. Os aglomerados de genes biossintéticos de macbecina destas cepas podem ser seqüenciados como descrito aqui para *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, e a formulação usada para gerar cepas equivalentes.

Aspectos adicionais da invenção incluem:

- Uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que *mbcM* e, opcionalmente, outros genes pós-PKS foram deletados ou inativados, particularmente uma cepa engenheirada do tipo referido em que *mbcM* foi deletado ou inativado ou uma cepa engenheirada do tipo referido em que *mbcM*, *mbcMT1*, *mbcMT2*, *mbcP* e *mbcP450* foram deletados ou inativados. De maneira vantajosa, a cepa produtora de macbecina é *A. pretiosum* ou *A. mirum*.

- Uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que *mbcM* e, opcionalmente, outros genes pós-PKS e/ou genes de biossíntese da unidade iniciadora foram deletados ou inativados, particularmente uma cepa engenheirada do tipo referido em que *mbcM* foi deletado ou inativado ou uma cepa engenheirada do tipo referido em que *mbcM*, *mbcMT1*, *mbcMT2*, *mbcP* e *mbcP450* foram deletados ou inativados. De maneira vantajosa, a cepa produtora de macbecina é *A. pretiosum* ou *A. mirum*.

- Uso de uma cepa engenheirada do tipo referido na preparação de um análogo de 18,21-didesoximacbecina.

Compostos da invenção são vantajosos pelo fato de que se pode esperar que os mesmos possuam uma ou mais das seguintes

propriedades: estreita ligação com Hsp90, rápida na taxa de ligação com Hsp90, boa atividade contra uma ou mais subtipos diferentes de câncer em comparação com o composto parental; bom perfil toxicológico, como bom perfil de hepatotoxicidade, boa nefrotoxicidade, boa segurança cardíaca; boa solubilidade em água; boa estabilidade metabólica; boa capacidade de formulação; boa biodisponibilidade; boas propriedades farmacocinéticas ou farmacodinâmicas, como estreita ligação com Hsp90, rápida on-rate de ligação com Hsp90 e/ou boa farmacocinética no cérebro; boa absorção de células; e baixa ligação a eritrócitos.

10 Exemplos

Métodos gerais

Fermentação de culturas

Condições usadas para o desenvolvimento das cepas bacterianas de *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum* ATCC 31280 (US 4.315.989) e *Actinosynnema mirum* DSM 43827 (KCC A-0225, Watanabe et al., 1982) foram descritas nas patentes US 4.315.989 e US 4.187.292. Métodos aqui usados foram adaptados destes e são como a seguir para cultivo de caldos em tubos ou frascos em incubadoras agitadas, variações dos protocolos publicados são indicadas nos exemplos. Cepas foram desenvolvidas em agar ISP2 (Meio 3, Shirling, E.B. e Gottlieb, D., 1966) a 28°C durante de 2 a 3 dias e usadas para inocular meio de semeadura (Meio 1, ver abaixo e US 4.315.989 e US 4.187.292). Em seguida, o meio de semeadura inoculado foi incubado com agitação entre 200 e 300 rpm com uma extensão da oscilação de 5 ou 2,5 cm a 28°C durante 48 h. Para a produção de macbecina, análogos de 18,21-diidromacbecina e macbecina, como análogos de 18,21-didesoximacbecina o meio de fermentação (Meio 2, ver abaixo e US 4.315.989 e US 4.187.292) foi inoculado com 2,5 % - 10 % da cultura de semeadura e incubado com agitação entre 200 e 300 rpm com uma extensão da oscilação de 5 ou 2,5 cm a 26 °C durante seis dias exceto

onde indicado de outra forma nos exemplos. A cultura foi então colhida para extração.

Meios

Meio 1 - Meio de semeadura

5 Em 1 l de água destilada

Glicose	20g
Amido de batata solúvel (Sigma)	30g
Licor de amido de milho secado por pulverização (Roquette Freres)	10g
Farinha de soja torrada 'Nutrisoy' (Archer Daniels Midland)	10g
Peptona de sólidos do leite (Sigma)	5g
NaCl	3g
CaCO ₃	5g
Ajustar o pH com NaOH	7,0

Esterilização por meio de autoclavagem a 121°C durante 20 minutos.

Adicionou-se apramicina quando apropriado após autoclavagem para dar uma concentração final de 50 mg/l.

10 Meio 2 - Meio de fermentação

Em 1 l de água destilada

Glicerol	50g
Licor de amido de milho secado por pulverização (Roquette Freres)	10g
'Bacto' extrato de levedura (Difco)	20g
KH ₂ PO ₄	20g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	5g
CaCO ₃	1g
Ajustar o pH com NaOH	6,5

Esterilização por meio de autoclavagem a 121°C durante 20 minutos.

Meio 3 – Meio ISP2

15 Em 1 l de água destilada

Extrato de malte	10g
Extrato de levedura	4g
Dextrose	4g
Agar	15g
Ajustar o pH com NaOH	7,3

Esterilização por meio de autoclavagem a 121°C durante 20 minutos.

Meio 4 - MAM

Em 1 l de água destilada

Amido de trigo	10g
Sólidos de milho macerados	2,5g
Extrato de levedura	3g
CaCO ₃	3g
Sulfato de ferro	0,3g
Agar	20g

Esterilização por meio de autoclavagem a 121°C durante 20 minutos.

5 Extração de caldos de cultura para análise de LCMS

Caldo de cultura (1 ml) e acetato de etila (1 ml) foram misturados vigorosamente durante de 15 a 30 min seguido de centrifugação durante 10 min. 0,5 ml desta camada orgânica foram recolhidos, evaporados à secura e, então, redissolvidos em 0,25 ml de metanol.

10 Procedimento de análise de LCMS

LCMS analítica foi realizada usando método 1 de LCMS em um sistema de HPLC Agilent HP1100 em combinação com um espectrômetro de massa por eletrospray Bruker Daltonics Esquire 3000+ operando em modo de íon positivo e/ou negativo. Método 1 de LCMS: cromatografia foi realizada em uma coluna Phenomenex Hyperclone (C₁₈ BDS, tamanho das partículas de 3 microns, 150 x 4,6 mm) eluindo a uma taxa de fluxo de 1 ml/min usando-se o seguinte processo de eluição de gradiente; T=0,10 % de B; T=2, 10 % de B; T=20, 100 % de B; T=22, 100 % de B; T=22,05, 10 % de B; T=25, 10 % de B. Fase móvel A = água + 0,1 % de ácido fórmico; fase móvel B = acetonitrilo + 0,1 % de ácido fórmico. Espectros de UV foram registrados entre 190 e 400 nm, com cromatogramas extraídos obtidos a 210, 254 e 276 nm. Espectros de massa foram registrados entre 100 e 1500 amu.

Métodos de elucidação de estrutura de RMN

Espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker Advance 500 a 298 K operando a 500 MHz e 125 MHz para ¹H e ¹³C respectivamente. Usou-se seqüências de pulso Standard Bruker para adquirir

espectros ^1H - ^1H COSY, APT, HMBC e HMQC. Espectros de RMN foram referidos às ressonâncias residual do próton ou padrão do carbono, dos solventes em que elas foram run/*.

Avaliação da pureza do composto

5 Compostos purificados foram analisados usando LCMS método 2 descrito. LCMS método 2: cromatografia foi realizada em uma coluna Phenomenex HyperClone C_{18} -BDS (4,6 x 150 mm, tamanho das partículas de 3 microns) eluindo com um gradiente de água + 0,1 % de ácido fórmico:acetonitrilo + 0,1 % de ácido fórmico, (90:10) a (0:100), a 1 ml/min
10 ao longo de 20 min. A pureza foi avaliada por meio de MS e com comprimentos de onda múltiplos (210, 254 & 276 nm). Todos os compostos foram >95 % puros em todos os comprimentos de onda. A pureza foi confirmada finalmente por meio de inspeção dos espectros de RMN do ^1H e ^{13}C .

15 Avaliação da solubilidade em água

Solubilidade em água pode ser testada como a seguir: Uma solução de consumo de 10 mM do análogo de 18,21-didesoximacbecina é preparado em 100 % de DMSO à temperatura ambiente. Prepara-se frações de 0,01 ml em triplicata até 0,5 ml com 0,1 M de PBS, solução a pH 7,3 ou 100
20 % de DMSO em frascos de cor âmbar. As soluções 0,2 mM resultantes são agitadas no escuro, à temperatura ambiente em um agitador IKA® vibrax VXR durante 6 horas, seguido de transferência das soluções ou suspensões resultantes para tubos de Eppendorf de 2 ml e centrifugação durante 30 min a 13200 rpm. Analisa-se então frações do fluido sobrenadante por meio do
25 método 1 de LCMS como descrito acima.

Ensaio biológico in vitro para determinação da atividade anticâncer

Avaliação in vitro de compostos quanto à atividade anticâncer em um grupo de linhas de células de tumor humanas em um ensaio de proliferação de monocamada foi realizada na Oncotest Testing Facility,

Institute for Experimental

Tabela 1 – Linhas de células de teste

nº	Linha de células	Características
1	CNXF 498NL	SNC
2	CXF HT29	colo
3	LXF 1121L	pulmão, câncer de células grandes
4	MCF-7	mama, padrão NCI
5	MEXF 394NL	melanoma
6	DU145	próstata - PTEN positivo

Oncology, Oncotest GmbH, Freiburg. As características das linhas de células selecionadas encontram-se resumidas na Tabela 1.

5 As linhas de células Oncotest foram estabelecidas a partir de enxertos exógenos de tumor humano como descrito por Roth et al., (1999). A origem dos enxertos exógenos doadores foi descrita por Fiebig et al., (1999). Outras linhas de células foram, ou obtidas do NCI (DU145, MCF-7) ou adquiridas da DSMZ, Braunschweig, Alemanha.

10 Todas as linhas de células, exceto se especificado de outra forma, foram desenvolvidas a 37°C em uma atmosfera umidificada (95 % de ar, 5 % de CO₂) em um meio mistura pronta 'ready-mix' contendo meio RPMI 1640, 10 % fetal calf serum, e 0,1 mg/ml gentamicina (PAA, Cölbe, Alemanha).

15 Usou-se um ensaio de iodeto de propídio modificado para avaliar os efeitos do(s) composto(s) de teste sobre o crescimento de linhas de células de tumor humano (Dengler et al., (1995)).

20 Em resumo, células foram colhidas de culturas de fase exponencial por meio de tripsinização, contadas e plaqueadas em placas de microtitulação de fundo plano e 96 poços com uma densidade de células dependente da linha de células (5 - 10.000 células viáveis/poço). Após uma recuperação de 24 horas para permitir que as células retomem o crescimento exponencial, adicionou-se nos poços 0,010 ml de meio de cultura (6 poços de controle por placa) ou meio de cultura contendo o análogo de 18,21-

didesoximacbecina. Cada concentração foi plaqueada em triplicata. Compostos foram aplicados em cinco concentrações (100; 10; 1; 0,1 e 0,01 µg/ml). Após 4 dias de exposição contínua, meio de cultura de células com ou sem composto de teste foi substituído por 0,2 ml de uma solução aquosa de iodeto de propídio (PI) (7 mg/l). Para medir a proporção de células vivas, células podem ser permeabilizadas por meio de congelamento das placas. Após descongelamento das placas, fluorescência foi medida usando-se a leitora de microplacas Cytofluor 4000 (excitação a 530 nm, emissão a 620 nm), dando uma relação direta com o número total de células viáveis. A inibição do crescimento pode ser expressa como tratadas/controle x 100 (% T/C). Isto pode ser plotado como um gráfico de % T/C contra a concentração do composto de teste aplicado, que então pode ser usado para calcular a concentração necessária para inibir o crescimento de células em 70 % (IC₇₀).

Exemplo 1 – Seqüenciamento do aglomerado de genes de PKS de macbecina

DNA genômico foi isolado de *Actinosynnema pretiosum* (ATCC 31280) e *Actinosynnema mirum* (DSM 43827, ATCC 29888) usando protocolos convencionais descritos por Kieser et al., (2000). Seqüenciamento de DNA foi realizado pela instalação de seqüenciamento do Biochemistry Department, University of Cambridge, Tennis Court Road, Cambridge CB2 1QW usando procedimentos padrão.

Iniciadores BIOSG104 5'-GGTCTAGAGGTCAGTGCCCCGCGTACCGTCGT-3' (SEQ ID NO: 1) e BIOSG105 5'-GGCATATGCTTGTGCTCGGGCTCAAC-3' (SEQ ID NO: 2) foram empregados para amplificar o gene codificante para carbamoiltransferase gdmN do aglomerado de genes biossintéticos de geldanamicina de *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 3602 (Número de acesso da sequência: AY179507) usando-se técnicas convencionais. Realizou-se experimentos de Southern blotting usando o DIG Reagents and Kits for Non-Radioactive Nucleic Acid Labelling and Detection [Reagentes e Kits

para Detecção e Marcação Não-Radioativa de Ácidos Nucleicos] de acordo com as instruções do fabricante (Roche). O fragmento de DNA de dgmN marcado com DIG foi usado como uma sonda heteróloga. Usando a sonda gerada de gdmN e DNA genômico isolado de *A. pretiosum* 2112 identificou-se um fragmento EcoRI de aproximadamente 8 kb por meio de análise de Southern blotting. O fragmento foi clonado em Litmus 28 aplicando-se procedimentos convencionais e transformantes foram identificados por meio de hibridização de colônias. O clone p3 foi isolado e o inserto de aproximadamente 7,7 kb foi seqüenciado. DNA isolado do clone p3 foi digerido com EcoRI e EcoRI/SacI e as bandas em torno de 7,7 kb e a cerca de 1,2 kb foram isoladas, respectivamente. Realizou-se reações de marcação de acordo com os protocolos dos fabricantes. Criou-se bibliotecas de cosmídeos das duas cepas indicadas acima usando o vetor SuperCos 1 e o kit de empacotamento Gigapack III XL (Stratagene) de acordo com as instruções do fabricante. Estas duas bibliotecas foram selecionadas usando-se protocolos convencionais e como uma sonda, usou-se os fragmentos marcados com DIG do fragmento EcoRI de 7,7 kb derivado do clone p3. O cosmídeo 52 foi identificado da biblioteca de cosmídeos de *A. pretiosum* e submetido para seqüenciamento na instalação de seqüenciamento do Departamento de Bioquímica da Universidade de Cambridge. De maneira análoga, cosmídeo 43 e cosmídeo 46 foram identificados da biblioteca de cosmídeos de *A. mirum*. Todos os três cosmídeos contêm o fragmento EcoRI de 7,7 kb como mostrado por meio de análise de Southern blotting.

um fragmento de aproximadamente 0,7 kbp da região de PKS do cosmídeo 43 foi amplificado usando iniciadores BIOSG124 5'-CCCGCCCGCGCGAGCGGCGCGTGGCCGCCCGAGGGC-3' (SEQ ID NO: 3) e BIOSG125 5'-GCGTCCTCGCGCAGCCACGCCACCAGCAGCTCCAGC-3' (SEQ ID NO: 4) aplicando-se protocolos convencionais, clonado e usado como uma

sonda para seleção da biblioteca de cosmídeo de *A. pretiosum* cosmídeo quando a clones que se superpõem. A formulação de seqüência do cosmídeo 52 também foi usada para criar sondas derivadas de fragmentos de DNA amplificados com iniciadores BIOSG130 5'-

5 CCAACCCCGCCGCGTCCCCGGCCGCGCCGAACACG-3' (SEQ ID NO: 5) e BIOSG131 5'-GTCGTCGGCTACGGGCCGGTGGGGCAGCTGCTGT-5' (SEQ ID NO: 6) e também BIOSG132 5'-GTCGGTGGACTGCCCTGCGCCTGATCGCCCTGCGC-3' (SEQ ID NO: 7) e BIOSG133 5'-

10 GGCCGGTGGTGCTGCCCCGAGGACGGGGAGCTGCGG-3' (SEQ ID NO: 8) que foram usados para seleção da biblioteca de cosmídeos de *A. pretiosum*. Cosmídeos 311 e 352 foram isolados e cosmídeo 352 foi enviado para seqüenciamento. Cosmídeo 352 contém uma superposição de aproximadamente 2,7 kb com o cosmídeo 52. Para selecionar cosmídeos

15 adicionais, um fragmento de PCR com aproximadamente 0,6 kb foi amplificado usando iniciadores BIOSG136 5'-CACCGCTCGCGGGGGTGGCGCGGCGCACGACGTGG CTGC-3' (SEQ ID NO: 9) e BIOSG 137 5'-CCTCCTCGGACAGCGCGATCAGCGCCGCGC ACAGCGAG-3' (SEQ

20 ID NO: 10) e cosmídeo 311 como modelo, aplicando-se protocolos convencionais. A biblioteca de cosmídeo de *A. pretiosum* foi selecionados e cosmídeo 410 foi isolado. Ele se sobrepõe em aproximadamente 17 kb com o cosmídeo 352 e foi enviado para seqüenciamento. A seqüência dos três cosmídeos que se sobrepõem (cosmídeo 52, cosmídeo 352 e cosmídeo 410)

25 foi montada. A região seqüenciada compreende cerca de 100 kbp e identificou-se 23 matrizes de leitura aberta constituindo potencialmente o aglomerado de genes biossintéticos de macbecina. A localização de cada uma das matrizes de leitura aberta na SEQ ID NO: 11 é mostrada na Tabela 3

Tabela 2 – Sumário dos cosmídeos

Cosmídeo	Cepa
Cosmídeo 43	<i>Actinosynnema mirum</i> ATCC 29888
Cosmídeo 46	<i>Actinosynnema mirum</i> ATCC 29888
Cosmídeo 52	<i>Actinosynnema pretiosum</i> ATCC 31280
Cosmídeo 311	<i>Actinosynnema pretiosum</i> ATCC 31280
Cosmídeo 352	<i>Actinosynnema pretiosum</i> ATCC 31280
Cosmídeo 410	<i>Actinosynnema pretiosum</i> ATCC 31280

Tabela 3 – Localização de cada uma das matrizes de leitura aberta para os genes pós-PKS e os genes de biossíntese da unidade iniciadora

Posição do nucleotídeo na SEQ ID NO: 11	Nome do gene	Função da proteína codificada
14925-17909*	mbcRII	regulador transcricional
18025-19074c	mbcO	amino-hidroquinato sintase
19263-20066c*	mbc?	desconhecido, biossíntese de AHBA
20330-40657	mbcAI	PKS
40654-50859	mbcAII	PKS
50867-62491*	mbcAIII	PKS
62500-63276*	mbcF	amida sintase
63281-64852*	mbcM	C21 monooxygenase
64899-65696c*	PH	fosfatase
65693-66853c*	OX	oxidoredutase
66891-68057c*	Ahs	AHBA sintase
68301-68732*	Adh	ADHQ desidratase
68690-69661c*	AHk	AHBA quinase
70185-72194c*	mbcN	carbamoiltransferase
72248-73339c	mbcH	via de metoximalonila ACP
73336-74493c	mbcI	via de metoximalonila ACP
74490-74765c	mbcJ	via de metoximalonila ACP
74762-75628c*	mbcK	via de metoximalonila ACP
75881-76537	mbcG	via de metoximalonila ACP
76534-77802*	mbcP	C4,5 monooxygenase
77831-79054*	mbcP450	P450
79119-79934*	mbcMT1	O-metiltransferase
79931-80716*	mbcMT2	O-metiltransferase

[Nota 1: c indica que o gene é codificado pelo filamento de

- 5 DNA de complemento; Nota 2: algumas vezes é o caso de se poder identificar mais do que um códon iniciador candidato potencial. Alguém versado na arte perceberá isto e será capaz de identificar códon iniciadores alternativos possíveis. Nós indicamos aqueles genes que apresentam mais do que um códon iniciador possível com um símbolo '*'. Nesta descrição nós indicamos
- 10 que acreditamos que se trata do códon iniciador, no entanto, uma pessoa versada na arte perceberá que pode ser possível gerar proteína ativa usando-se

um códon iniciador alternativo.]

Exemplo 2 – Geração da cepa BIOT-3806: uma cepa de Actinosynnema pretiosum em que o gdmM homólogo mcbM foi interrompido por meio de inserção de um plasmídeo.

5 Um resumo da construção do pLSS308 é mostrado na Figura 3.

2.1. Construção do plasmídeo pLSS308

As seqüências de DNA do gene gdmM do aglomerado de genes biossintéticos de geldanamicina de *Streptomyces hygroscopicus* cepa NRRL 3602 (AY179507) e orf19 do aglomerado de genes biossintéticos de rifamicina de *Amycolatopsis mediterranei* (AF040570 AF040571) foram alinhadas usando-se o programa de alinhamento de seqüências VectorNTI. Este alinhamento identificou regiões de homologia que foram vantajosas para o projeto de oligos degenerados que foram usados para amplificar um
10 fragmento do gene homólogo de *Actinosynnema mirum* (BIOT-3134; DSM43827; ATCC29888). Os oligos degenerados são:

FPLS1: 5': ccscgggcgcnycngsttcgacngygag 3'; (SEQ ID NO: 12)

FPLS3: 5': cgtcncggannccggagcacatgccctg 3'; (SEQ ID NO: 13)

em que N= G, A, T ou C; Y = C ou T; S = G ou C

20 O modelo para amplificação de PCR foi *Actinosynnema mirum* cosmídeo 43. A geração do cosmídeo 43 é descrita no Exemplo 1 acima.

Oligos FPLS1 e FPLS3 foram usados para amplificar o fragmento interno de um homólogo de gdmM de *Actinosynnema mirum* em uma reação PCR convencional usando o cosmídeo 43 como o modelo e Taq DNA polimerase. O produto de PCR resultante com 793 bp foi clonado em pUC19 que havia sido linearizado com SmaI, resultando no plasmídeo pLSS301. Postulou-se que a seqüência amplificada é do gene mcbM do aglomerado de macbecina de *A. mirum*. Plasmídeo pLSS301 foi digerido com
25

EcoRI/HindIII e o fragmento clonado no plasmídeo pKC1132 (Bierman et al., 1992) que havia sido digerido com EcoRI/HindIII. O plasmídeo resultante, denominado pLSS308, é resistente à apramicina e contém um fragmento interno do gene mbcM de *A. mirum*.

5 2.2 Transformação de *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*

Escherichia coli ET12567, abrigando o plasmídeo pUZ8002 foi transformado com pLSS308 por meio de eletroporação para gerar a cepa doadora de *E. coli* para conjugação. Esta cepa foi usada para transformar *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum* por meio de conjugação vegetativa (Matsushima et al., 1994). Exconjugantes foram plaqueados em Meio 4 e incubados a 28°C. Placas foram sobrepostas após 24 h com 50 mg/l de apramicina e 25 mg/l de ácido naldíxico. Como pLSS308 é incapaz de replicar em *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, antecipou-se quaisquer colônias resistentes à apramicina são transformantes que continham

10 plasmídeo integrado no gene mbcM do cromossomo por meio de recombinação homóloga via o fragmento interno mcbM portado por plasmídeo (Figura 3). Isto resulta em duas cópias truncadas do gene mbcM no cromossomo. Transformantes foram confirmados por meio de análise de PCR e o fragmento amplificado foi sequenciado.

20 Colônias foram aplicadas sobre Meio 4 (com 50 mg/l de apramicina e 25 mg/l de ácido naldíxico). Usou-se um tampão circular de 6 mm de cada emplastro/pedaco* para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml de meio de semeadura (variante do Meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de

25 farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio) mais 50 mg/l de apramicina. Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 2 dias a 28°C, 200 rpm com uma extensão da oscilação de 5 cm. Estes foram usados então para inocular (5 % v/v) meio de fermentação (Meio 2) e foram desenvolvidos a 28°C durante 24 horas e,

então, a 26°C durante mais 5 dias. Metabólitos foram extraídos destes de acordo com o protocolo convencional descrito acima. Amostras foram avaliadas para a produção de análogos de macbecina por meio de HPLC usando-se o protocolo convencional descrito acima.

5 O isolado produtivo selecionado foi denominado BIOT-3806.

2.3 Identificação de compostos de BIOT-3806

Amostras foram analisadas como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 1.

Tabela 4 – compostos identificados por LCMS

Composto	Tempo de retenção (min)	[M+Na] ⁺	[M-H] ⁻	Massa
14	11,4	525,2	501,2	502
15	9,7	541,1	517,1	518
A	8,6	506,1	482,1	483
B	9,3	539,2	515,1	516
C	10,9	543,1	519,2	520

10 Exemplo 3 – Geração de BIOT-3870: uma cepa de *Actinosynnema pretiosum* em que o homólogo de *gdmM*, *mbcM*, apresenta uma deleção na-matriz.

3.1 Clonagem de DNA homólogo à região flanqueadora a jusante de mbcM.

15 Oligos BV145 (SEQ ID NO: 14) e BV146 (SEQ ID NO: 15)
foram usados para amplificar uma região de 1421 bp de DNA de
Actinosynnema pretiosum (ATCC 31280) em uma reação PCR convencional
usando cosmídeo 52 (do exemplo 1) como o modelo e Pfu DNA polimerase.
Projetou-se uma extensão a 5' em cada oligo para introduzir sítios de restrição
20 para auxiliar a clonagem do fragmento amplificado (Figura 4). O produto de
PCR amplificado (PCRwv308, SEQ ID NO: 16, Figura 5A) codificou 33 bp
da ponta 3' de mbcM e mais 1368 bp de homologia a jusante. Este fragmento
de 1421 bp foi clonado em pUC19 que havia sido linearizado com SmaI,
resultando no plasmídeo pWV308.

BV145 ATATACTAGTCACGTCACCGGC GCGGTGTCCGCGGACTTCGTCAACG
 SpeI

(SEQ ID NO: 14)

BV146 ATATCCTAGGCTGGTGGCGGACCTGCGCGCGCGSTTGGGGTG
 AvrII

(SEQ ID NO: 15)

3.2 Clonagem de DNA homólogo à região de flanqueamento a jusante de mbcM.

Oligos BV147 (SEQ ID NO: 17) e BV148 (SEQ ID NO: 18) foram usados para amplificar uma região de DNA de 1423 bp de *Actinosynnema pretiosum* (ATCC 31280) em uma reação PCR convencional usando cosmídeo 52 (do exemplo 1) como o modelo e Pfu DNA polimerase. Projetou-se uma extensão a 5' em cada oligo para introduzir sítios de restrição para auxiliar a clonagem do fragmento amplificado (Figura 4). O produto de PCR amplificado (PCRwv309, SEQ ID NO: 19, Figura 5B) codificou 30 bp da ponta 5' do mbcM e mais 1373 bp de homologia a montante. Este fragmento de 1423 bp foi clonado em pUC19 que havia sido linearizado com *Sma*I, resultando no plasmídeo nWV309.

BV147 ATATCCTAGGCACCGTCGTGCTCGACCTCGCCCGCCACGC
 AprII

(SEQ ID NO: 17)

BV148 ATATTCTAGACGCTGTTTCGACGCGGGCGCGGTCACCACGGGC
 *Xba*I

(SEQ ID NO: 18)

Os produtos PCRwv308 e PCRwv309 foram clonados em pUC19 na mesma orientação para usar o sítio PstI no poliligante pUC19 para a próxima etapa de clonagem.

O fragmento de 1443 bp AvrII/PstI do pWV309 foi clonado no fragmento de 4073 bp AvrII/PstI do pWV308 para preparar pWV310. Portanto, pWV310 continha um fragmento SpeI/XbaI codificando DNA homólogo às regiões flancuadoras de mbcM fundidas em um sítio AvrII. Este fragmento de 2816 bp SpeI/XbaI foi clonada em pKC1132 (Bierman et al., 1992) que havia sido linearizado com SpeI para criar pWV320.

3.3 Transformação de *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*

Escherichia coli ET12567, abrigando o plasmídeo pUZ8002 foi transformado com pWV320 por meio de eletroporação para gerar a cepa doadora de *E. coli* para conjugação. Esta cepa foi usada para transformar *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum* por meio de conjugação vegetativa (Matsushima et al, 1994). Exconjugantes foram plaqueados em Meio 4 e incubados a 28°C. Placas foram sobrepostas após 24 h com 50 mg/l de apramicina e 25 mg/l de ácido naldíxico. Como pWV320 é incapaz de replicar em *Actinosynnema pretiosum* subespécie *pretiosum*, antecipou-se que colônias resistentes à apramicina são transformantes que continham plasmídeo pWV320 integrado no cromossomo por meio de recombinação homóloga via uma das regiões de homologia de flanqueamento de mbcM portadas pelo plasmídeo.

DNA genômico foi isolado de seis exconjugantes e foi digerido e analisado com Southern blotting. O manchamento mostrou que em quatro dos seis isolados havia ocorrido integração na região de homologia a montante e, em dois dos seis isolados, ocorrera integração homóloga na região a jusante. Uma cepa resultante de integração homóloga na região a montante (denominada BIOT-3831) foi selecionada para seleção de cruzamentos secundários. Uma cepa resultante de integração homóloga na região a jusante (BIOT-3832) também foi selecionada para seleção de cruzamentos secundários.

3.4 Seleção de cruzamentos secundários

Cepas foram aplicadas em pedaços sobre meio 4 (suplementado com 50 mg/l de apramicina) e desenvolvidas a 28°C durante quatro dias. Usou-se uma seção de 1 cm² de cada pedaço* para inocular 7 ml de ISP2 modificado (0,4 % de extrato de levedura, 1 % de extrato de malte, 0,4 % de dextrose em 1 litro de água destilada) sem antibiótico em um tubo falcon de 50 ml. Culturas foram desenvolvidas durante de 2 a 3 dias, depois subcultivadas em (5 % de inóculo) em mais 7 ml de ISP2 modificado (ver

acima) em um tubo falcon de 50 ml. Após de 4 a 5 gerações de subcultivo as culturas foram sonicadas, diluídas serialmente, plaqueadas sobre Meio 4 e incubadas a 28°C durante quatro dias. Em seguida, colônias simples foram plaqueadas em duplicata em Meio 4 contendo apramicina e sobre Meio 4 não contendo antibiótico e as placas foram incubadas a 28°C durante quatro dias. Pedacos que se desenvolveram sobre a placa sem antibiótico mas que não se desenvolveram sobre a placa de apramicina foram re-aplicadas sobre +/- placas de apramicina para confirmar que haviam perdido o marcador de antibiótico. A cepa mutante codifica uma proteína de mbcM com uma deleção na-matriz de 502 aminoácidos (Figura 6A, SEQ ID NOs: 20 e 21; Figura 6B mostra a seqüência de proteína codificada, SEQ ID NO: 22).

Mutantes de deleção de mbcM foram aplicados sobre Meio 4 e desenvolvidos a 28°C durante quatro dias. Usou-se um tampão circular de 6 mm de cada pedaço para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml meio de semeadura (adaptado de Meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 2 dias a 28°C, 200 rpm com uma extensão de oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Estes foram usados então para inocular (0,5 ml em 10 ml) meio de produção (meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de magnésio, 0,1 % de carbonato de cálcio) e foram desenvolvidos a 28°C durante 24 horas e, então, a 26°C durante mais 5 dias. Metabólitos secundários foram extraídos e analisados por meio de LCMS para a produção de análogos de macbecina como descrito em Métodos Gerais.

3.5 Identificação de 14 e 15 de BIOT-3872

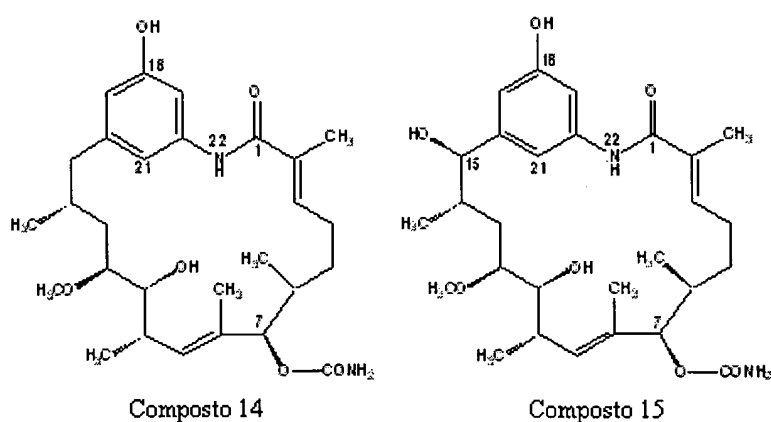
Extratos da fermentação descritos no Exemplo 3.4 foram gerados e analisados por meio de LCMS como descrito em Métodos Gerais

usando LCMS método 1. Não se observou macbecina e observou-se dois componentes novos importantes. Os compostos apresentaram as características físico-químicas mostradas na Tabela 5 abaixo:

Tabela 5 – compostos identificados por LCMS

Composto	Tempo de retenção (min)	$[M+Na]^+$	$[M-H]^-$	Massa
14	11,5	525,2	501,2	502
15	9,9	541,1	517,1	518

Mostrou-se que os compostos 14 e 15 são idênticos aos análogos de mabceína 7-O-carbamoil-pré-macbecina e 7-O-carbamoil-15-hidroxi-pré-macbecina que foram indicados previamente



Note-se que a remoção da função de MbcM, seja por integração em mbcM (Exemplo 2) ou deleção do gene mbcM produz os mesmos compostos; 14 e 15. Análise da relação entre as estruturas observadas e a via biossintética indica que uma quantidade de enzimas não funciona adicionalmente a MbcM. No caso do composto 15 estes são MbcP, MbcMT1 e MbcMT2 e, no caso do composto 14, também não se observa a função de MbcP450. Como descrito acima pode haver diversas razões porque estas proteínas podem não ser funcionais neste sistema, por exemplo, compostos 14 e 15 representam estruturas inéditas para estas enzimas e eles podem representar substratos fracos ou nenhum substrato.

3.6 Seleção de colônias individuais por meio de geração de protoplastos de

Protoplastos foram gerados de BIOT-3872 usando-se um

método adaptado de Weber e Losick 1988 com as seguintes alterações de meios; *Actinosynnema pretiosum* culturas foram desenvolvidas em placas ISP2 (meio 3) durante 3 dias a 28°C e usou-se um produto de raspagem de 5 mm² para inocular 40 ml de caldo de ISP2 suplementado com 2 ml de glicina estéril a 10 % (peso/volume) em água. Protoplastos foram gerados como descrito por Weber e Losick 1988 e, então, regenerados em placas R2 (receita R2 - sacarose 103 g, K₂SO₄ 0,25 g, MgCl₂•6H₂O 10,12 g, glicose 10 g, Difco Casaminoacids 0,1 g, Difco Bacto agar 22 g, água destilada a 800 ml, a mistura foi esterilizada por meio de autoclavagem a 121°C durante 20 minutos. Após autoclavagem, adicionou-se as seguintes soluções autoclavadas; KH₂PO₄ a 0,5 % 10 ml, CaCl₂•2H₂O a 3,68 % 80 ml, L-prolina a 20 % 15 ml, tamponador TES a 5,73 % (pH 7,2) 100 ml. Solução de traços de elementos (ZnCl₂ 40mg, FeCl₃•6H₂O 200 mg, CuCl₂•2H₂O 10 mg, MnCl₂•4H₂O 10 mg, Na₂B₄O₇•10H₂O 10 mg, (NH₄)₆Mo₇O₂₄•4H₂O 10 mg, água destilada a 1 litro) 2 ml, NaOH (1N) (não esterilizado) 5 ml).

80 colônias individuais foram aplicadas sobre placas MAM (meio 4) e analisadas quanto à produção de análogos de macbecina como descrito acima. A maior parte dos pedaços gerados de protoplastos produziram em níveis baixos similares à cepa parental. 15 das 80 amostras testadas produziram significativamente mais 14 e 15 do que a cepa parenteral. Observou-se que a melhor cepa produtora, BIOT-3870 (também denominada WV4a-33) produz 14 e 15 em níveis significativamente maiores do que a cepa parental e foi selecionada para uso em experimentos futuros.

Exemplo 4 - Introdução em WV4a-33 para gerar 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina

4.1 Biotransformação de ácido 3-amino-benzóico com WV4a-33 (BIOT-3870)

WV4a-33 foi aplicado sobre placas MAM (meio 4) e desenvolvidas a 28°C durante três dias. Usou-se um tampão circular de 6 mm

para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml meio de
 semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 %
 de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3
 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Estas culturas de
 5 semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma
 extensão de oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Estes foram usados então
 para inocular (1 ml em 10 ml) meio de produção modificado (adaptado de
 meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato
 de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de
 10 magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante
 de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e
 foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma
 solução de consumo de 200 mM (ácido 3-aminobenzóico dissolvido em
 metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração de alimentação final
 15 de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C. Em paralelo,
 usou-se culturas de semeadura para inocular meio 2. Análise destas culturas
 (ver abaixo) mostrou que compostos idênticos foram produzidos em ambos os
 tipos de meio de produção, porém observou-se titulações maiores quando se
 usa o meio modificado.

20 4.2 Identificação de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21- didesoximacbecina de culturas de WV4a-33 alimentadas com ácido 3- aminobenzóico

Extratos da fermentação descrita no exemplo 2,7 foram
 gerados e analisados por meio de LCMS como descrito em Métodos Gerais.
 25 Os compostos 14 e 15 foram produzidos como esperado. Adicionalmente,
 observou-se claramente um composto novo 16 que não pôde ser observado
 em extratos de quaisquer fermentações que não receberam alimentação de
 ácido 3-aminobenzóico. 16 eluiu mais tarde do que 14 ou 15 e apresentou as
 características físico-químicas como descrito na Tabela 6 abaixo.

Com base nos dados disponíveis 16 foi identificado como 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina.

Tabela 6 – compostos identificados por LCMS

Composto	Tempo de retenção (min)	[M+Na] ⁺	[M-H] ⁻	Massa
14	11,5	525,2	501,2	502
15	9,9	541,1	517,1	518
16	12,9	509,3	485,2	486

Exemplo 5 – Produção e Isolamento de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina (método alternativo)

5.1 Fermentação de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina de culturas de WV4a-33 alimentadas com ácido 3-aminobenzóico

WV4a-33 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se dois tampões circulares de 6 mm para inocular 250 ml de frascos de agitação cônicos contendo 30 ml de meio de semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Seis frascos foram inoculados. Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão da oscilação de 1 polegada (2,54 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) 170 tubos falcon, cada um contendo 10 ml de meio de produção modificado (adaptado de meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo 200 mM (ácido 3-aminobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de semeadura de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C. As culturas foram combinadas (aproximadamente 1,4 l) e os tubos falcon foram

lavados (cada um com 7 ml de água). O líquido de lavagem foi combinado (aproximadamente 1,4 l). As culturas combinadas e líquidos de lavagem foram usados para isolamento de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina (aproximadamente 3 l no total). Em paralelo, as

5 culturas de semeadura foram usadas para inocular 30 ml de meio de produção modificado (3 ml) seguido do mesmo regime de incubação e alimentação como descrito acima (concentração final de alimentação de 2 mM). Os frascos foram incubados em um agitador de extensão da oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Níveis de produção foram estimados por meio de LCMS como

10 sendo aproximadamente entre 50 % e 90 % daqueles medidos para as culturas de produção em tubos falcon.

5.2 Isolamento e caracterização de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesoximacbecina

O caldo de fermentação (3 l) foi extraído duas vezes com um

15 volume igual de acetato de etila (EtOAc). Os extratos orgânicos foram combinados e o solvente removido in vacuo a 40°C dando 1,2 g de um resíduo oleoso. Este resíduo foi então cromatografado em coluna de sílica-gel 60 (30 x 2,5 cm) com um gradiente escalonado de 100 % de CHCl₃ a CHCl₃:MeOH (97:3) e frações coletadas de aproximadamente 250 ml. As

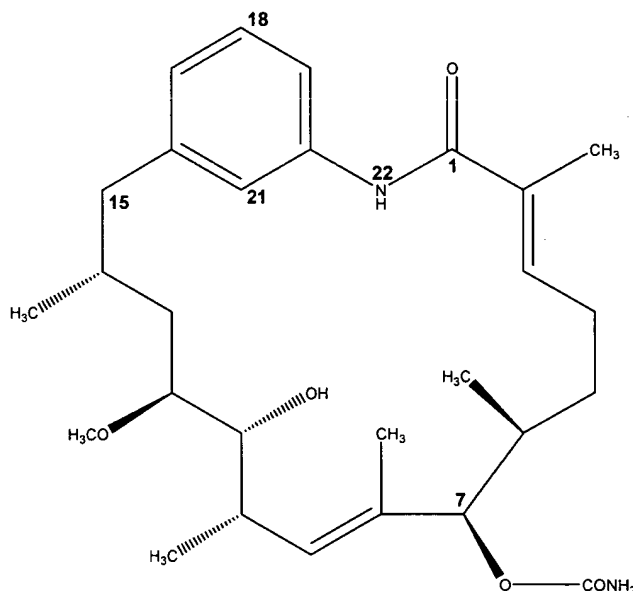
20 frações foram monitoradas por meio de HPLC analítica. Frações contendo 16 foram combinadas e solvente removido in vacuo a 40°C dando 435 mg de 16 semi-puro. Este material semi-puro foi purificado adicionalmente por meio de HPLC de fase invertida em uma coluna Phenomenex-Luna C₁₈-BDS (21,2 x 250 mm, tamanho de partículas de 5 microns) eluindo com um gradiente de

25 água:acetonitrilo, (77:23) a (20:80), ao longo de 25 min a uma taxa de fluxo de 21 ml/min. 16 eluiu a 17 min e as frações relevantes foram combinadas, o solvente foi removido a pressão reduzida dando 16 como um pó branco (125 mg).

A pureza de 16 foi confirmada por meio de LCMS usando-se

método 1 como descrito em Métodos Gerais. LCMS: 16, RT [tempo de retenção] = 12,9 min ($[M+Na]^+$, $m/z = 509,4$; $[M-H]^-$, $m/z = 485,5$).

Dados de RMN do próton coletados a 400 MHz foram consistentes com a estrutura mostrada.



5 Composto 16

Exemplo 6 Geração de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-17-fluoro-18,21-didesoximacbecina por meio de introdução de ácido 5-amino-2-fluorobenzóico a BIOT-3870

6.1 Biotransformação de ácido 5-amino-2-fluorobenzóico com BIOT-3870

10 BIOT-3870 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e isto foi desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se um tampão circular de 6 mm para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml de meio de
semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3
15 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão de oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) meio de produção modificado (adaptado de
meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato
20 de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de

magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo de alimentação 200 mM (ácido 5-amino-2-fluorobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de alimentação 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C.

6.2 Identificação de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-17-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 17

Análise foi realizada como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 1. Adicionalmente a 14 e 15, observou-se um composto novo com características de LCMS descritas na Tabela 7. Estes dados foram consistente com o composto titular.

Tabela 7.

Composto	Tempo de retenção (min)	[M+Na] ⁺ , m/z	[M-H] ⁻ , m/z	Massa
14	11,5	525,2	501,2	502
15	9,9	541,1	517,1	518
17	13,3	527,3	503,3	504

6.3 Produção e extração de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-17-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 17

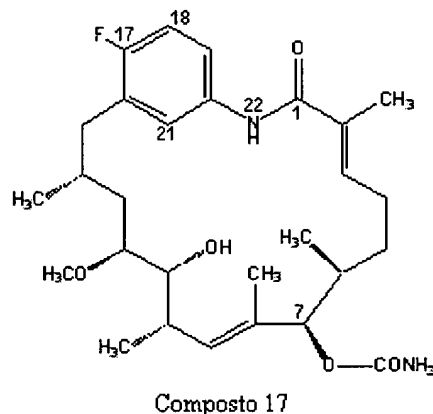
BIOT-3870 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se dois tampões circulares de 6 mm para inocular 250 ml de frascos de agitação cônicos contendo 30 ml de meio de semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Seis frascos foram inoculados. Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão de oscilação de 1 polegada (2,54 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) 170 tubos falcon cada um contendo 10 ml de meio de produção modificado (adaptado de meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2

% de extrato de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo de alimentação 200 mM (ácido 5-amino-2-fluorobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de alimentação de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C. As culturas foram combinadas (aproximadamente 1,4 l) e os tubos falcon foram lavados (cada um com 7 ml de água). O líquido de lavagem foi combinado (aproximadamente 1,4 l). As culturas combinadas e líquidos de lavagem foram usados para isolamento de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-17-fluoro-18,21-didesoximacbecina ver abaixo.

6.4 Purificação e caracterização de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-17-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 17

O caldo de fermentação (~3 l) foi extraído duas vezes com um volume igual de acetato de etila (EtOAc). Os extratos orgânicos foram combinados e o solvente removido in vacuo a 40°C dando 3,0 g de um resíduo oleoso. Este resíduo foi então cromatografado em coluna de sílica-gel 60 eluindo com 2 % de metanol em CHCl₃ e frações coletadas aproximadamente 250 ml. As frações foram monitoradas por meio de HPLC analítica. Frações contendo foram combinadas e o solvente removido in vacuo a 40°C. Este material semi-puro foi purificado adicionalmente por meio de HPLC de fase invertida numa coluna Phenomenex-Luna C₁₈-BDS (21,2 x 250 mm, tamanho de partículas de 5 microns) eluindo com um gradiente de água:acetonitrilo, (77:23) a (20:80), ao longo de 25 min a uma taxa de fluxo de 21 ml/min. 17 eluiu a 18 min e as frações relevantes foram combinadas e o solvente removido a pressão reduzida dando [] como um pó branco (54 mg). Dados de RMN adquiridos em d₆-acetona foram inteiramente consistentes com a estrutura reportada.

A pureza de 17 foi confirmada como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 2. Realizou-se medições com comprimentos de onda múltiplos e usando análise MS tanto em modo positivo como em modo negativo. LCMS: 17, RT [tempo de retenção] = 11,3 min ($[M-H]^-$, $m/z = 503,3$; $[M+Na]^+$, $m/z = 527,3$; $[2M+Na]^+$, $m/z = 1032,0$).



Exemplo 7 Geração de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18-fluoro-18,21-didesoximacbecina por meio de introdução de ácido 5-amino-3-fluorobenzóico em BIOT-3870

7.1 Biotransformação de ácido 5-amino-3-fluorobenzóico com BIOT-3870

BIOT-3870 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se um tampão circular de 6 mm para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml meio de semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão de oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) meio de produção modificado (adaptado de meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e

foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo 200 mM (ácido 5-amino-3-fluorobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de alimentação de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C.

5 7.2 Identificação de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi -18-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 18

10 Análise foi realizada como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 1. Adicionalmente a 14 e 15, observou-se dois novos compostos com características de LCMS descritas na Tabela 8. Estes dados foram consistentes com o composto titular, 18 e seu análogo C15-hidroxilado, 19.

Tabela 8.

Composto	Tempo de retenção (min)	[M+Na] ⁺ , m/z	[M-H] ⁻ , m/z	Massa
14	11,5	525,2	501,2	502
15	9,9	541,1	517,1	518
18	14,1	527,2	503,1	504
19	11,5	543,3	519,3	520

7.3 Produção e extração de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 18

15 BIOT-3870 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se dois tampões circulares de 6 mm para inocular 250 ml frascos de agitação cônicos contendo 30 ml de meio de semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Seis
20 frascos foram inoculados. Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão da oscilação de 1 polegada (2,54 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) 170 tubos falcon cada contendo 10 ml de meio de produção modificado
25 (adaptado do meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de

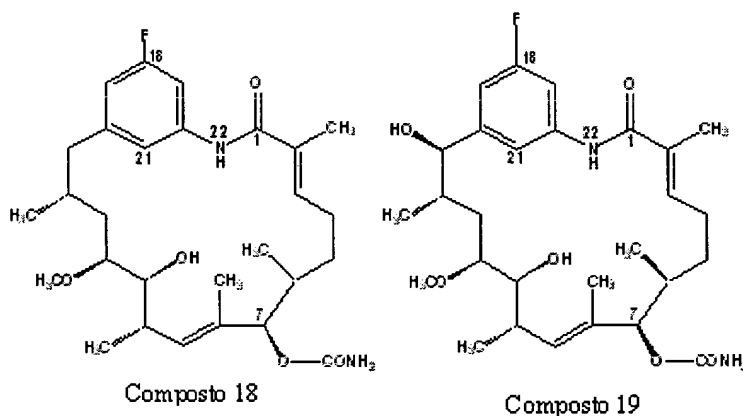
cloreto de magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo de alimentação 200 mM (ácido 5-amino-3-fluorobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de alimentação de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C. As culturas foram combinadas (aproximadamente 1,4 l) e os tubos falcon foram lavados (cada um com 7 ml de água). O líquido de lavagem foi combinado (aproximadamente 1,4 l). As culturas combinadas e líquidos de lavagem foram usados para isolamento de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18-fluoro-18,21-didesoximacbecina, ver abaixo.

7.4 Isolamento e caracterização de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18-fluoro-18,21-didesoximacbecina, 18

O caldo de fermentação (~3 l) foi extraído duas vezes com um volume igual de EtOAc. Os extratos orgânicos foram combinados e o solvente removido in vacuo a 40°C dando 3,4 g de um resíduo oleoso. Este resíduo foi então cromatografado sobre sílica-gel 60 (coluna de 30 x 2,5 cm) com um gradiente escalonado de 100 % de CHCl₃ a CHCl₃:MeOH (96:4) e coleta de frações de aproximadamente 250 ml. As frações foram monitoradas por meio de HPLC analítica. Frações contendo 18 foram combinadas e o solvente removido in vacuo a 40°C dando 528 mg de 18 semi-puro. Este material semi-puro foi purificado adicionalmente por meio de HPLC de fase invertida em uma coluna Phenomenex-Luna C₁₈-BDS (21,2 x 250 mm, tamanho de partículas de 5 microns) eluindo com um gradiente de água:acetonitrilo, (77:23) a (20:80), ao longo de 25 min a uma taxa de fluxo de 21 ml/min. 18 eluiu a 20 min e as frações relevantes foram combinadas, o solvente removido a pressão reduzida dando 18 como um pó branco (224 mg). Dados adquiridos em d₆-acetona foram inteiramente consistentes com a estrutura reportada.

A pureza de 18 foi confirmada como descrito em Métodos

Gerais usando LCMS método 2. Realizou-se medições com comprimentos de onda múltiplos e usando MS análise tanto em modo positivo como em modo negativo. LCMS: 18, RT [tempo de retenção] = 11,9 min ($[M-H]^-$, $m/z = 503,1$; $[M+Na]^+$, $m/z = 527,2$; $[2M+Na]^+$, 1031,5).



5 Exemplo 8 - Geração de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesóxi-17,18,21-trifluoromacbecina por meio de introdução de ácido 5-amino-2,3,6-tri-fluorobenzóico em BIOT-3870

8.1 Biotransformação de ácido 5-amino-2,3,6-tri-fluorobenzóico com BIOT-3870

10 BIOT-3870 foi aplicado em placas MAM (meio 4) e desenvolvido a 28°C durante três dias. Usou-se um tampão circular de 6 mm para inocular tubos falcon individuais de 50 ml contendo 10 ml meio de semeadura (adaptado de meio 1 - 2 % de glicose, 3 % de amido solúvel, 0,5 % de sólidos de milho macerados, 1 % de farinha de soja, 0,5 % de peptona, 0,3

15 % de cloreto de sódio, 0,5 % de carbonato de cálcio). Estas culturas de semeadura foram incubadas durante 65 horas a 28°C, 200 rpm com uma extensão de oscilação de 2 polegadas (5,08 cm). Estes foram usados então para inocular (1 ml em 10 ml) meio de produção modificado (adaptado de meio 2 - 5 % de glicerol, 1 % de sólidos de milho macerados, 2 % de extrato

20 de levedura, 2 % de diidrogênio fosfato de potássio, 0,5 % de cloreto de magnésio, 0,1 % de meio de carbonato de cálcio é deixado sedimentar durante de 2 a 60 dias e a camada de topo é tomada como o meio de produção) e

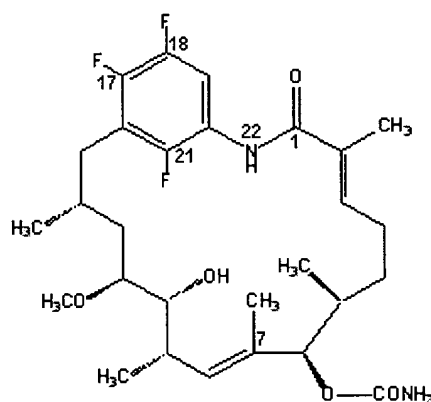
foram desenvolvidos a 26°C durante 24 horas. Adicionou-se 0,1 ml de uma solução de consumo de alimentação 200 mM (ácido 5-amino-2,3,6-trifluorobenzóico dissolvido em metanol) em cada tubo falcon dando uma concentração final de alimentação de 2 mM. Tubos foram incubados durante mais 6 dias a 26°C.

8.2 Identificação de 4,5-diidro-11-O-desmetil-15-desmetóxi-18,21-didesóxi-17,18,21-trifluoromacbecina, 20

Análise foi realizada como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 1. Adicionalmente a 14 e 15, observou-se um composto novo com características de LCMS descritas na Tabela 9. Estes dados foram consistentes com o composto titular.

Tabela 9.

Composto	Tempo de retenção (min)	[M+Na] ⁺ , m/z	[M-H] ⁻ , m/z	Massa
14	11,5	525,2	501,2	502
15	9,9	541,1	517,1	518
20	13,2	não observado	539,2	540



Composto 20

Exemplo 9 – Geração de uma cepa de *Actinosynnema pretiosum* em que mbcM apresenta uma deleção na-matriz e mbcMT1, mbcMT2, mbcP e mbcP450 foram deletados adicionalmente.

9.1 Clonagem de DNA homólogo à região flanqueadora a jusante de mbcMT2

Oligos Is4del1 (SEQ ID NO: 23) e Is4del2a (SEQ ID NO: 24) foram usados para amplificar uma região de DNA de 1595 bp de *Actinosynnema pretiosum* (ATCC 31280) em uma reação PCR convencional

usando cosmídeo 52 (do exemplo 1) como o modelo e Pfu DNA polimerase. Uma extensão a 5' foi projetada no oligo Is4del2a para introduzir um sítio AvrII para auxiliar a clonagem do fragmento amplificado (Figura 7). O produto de PCR amplificado (1+2a, Figura 8 SEQ ID NO: 25) codificou 196 bp da ponta 3' de mbcMT2 e mais 1393 bp da homologia a jusante. Este fragmento de 1595 bp foi clonada em pUC19 que havia sido linearizado com SmaI, resultando no plasmídeo pLSS1+2a.

Is4del1 (SEQ ID NO: 23)

5' - GGTCAC TGGCCGAAGCGCACGGTGTCA TGG - 3'

Is4del2a (SEQ ID NO: 24)

5' - CCTAGGCGACTACCCCGCACTACTACACCGAGCAGG - 3'

9.2 Clonagem de DNA homólogo à região de flanqueamento a jusante de mbcM.

Oligos Is4del3b (SEQ ID NO: 26) e Is4del4 (SEQ ID NO: 27) foram usados para amplificar uma região de DNA de 1541 bp de Actinosynnema pretiosum (ATCC 31280) em uma reação PCR convencional usando cosmídeo 52 (do exemplo 1) como o modelo e Pfu DNA polimerase. projetou-se uma extensão em 5' no oligo Is4del3b para introduzir um sítio AvrII para auxiliar a clonagem do fragmento amplificado (Figura 7). O produto de PCR amplificado (3b+4, Figura 9, SEQ ID NO: 28) codificou ~100 bp da ponta 5' de mbcP e mais ~1450 bp de homologia a montante. Este fragmento de ~1550 bp foi clonada em pUC19 que havia sido linearizado com SmaI, resultando no plasmídeo pLSS3b+4.

Is4del3b (SEQ ID NO: 26)

5' - CCTAGGAACGGGTAGGCGGGCAGGTCGGTG - 3'

Is4del4 (SEQ ID NO: 27)

5' - GTGTGCGGGCCAGCTCGCCCGAGCACGCCCCAC - 3'

Os produtos 1+2a e 3b+4 foram clonados em pUC19 para usar os sítios HindIII e BamHI no poliligante pUC19 para a próxima etapa de clonagem.

O fragmento AvrII/HindIII de 1621 bp de pLSS1+2a e o

fragmento AvrII/BamHI de 1543 bp de pLSS3b+4 foram clonados no fragmento HindIII/BamHI de 3556 bp do pKC1132 para preparar pLSS315. Portanto, pLSS315 continha um fragmento de HindIII/BamHI codificando DNA homólogo às regiões flangeadoras das quatro regiões de deleção de ORF desejadas em um sítio AvrII (Figura 7).

9.3 Transformação de BIOT-3870 com pLSS315

Escherichia coli ET12567, abrigando o plasmídeo pUZ8002 foi transformado com pLSS315 por meio de eletroporação para gerar a cepa doadora de *E. coli* para conjugação. Esta cepa foi usada para transformar BIOT-3870 por meio de conjugação vegetativa (Matsushima et al, 1994). Exconjugantes foram plaqueados em meio MAM (1 % de amido de trigo, 0,25 % de sólidos de milho macerados, 0,3 % de extrato de levedura, 0,3 % de carbonato de cálcio, 0,03 % de sulfato de ferro, 2 % de agar) e incubados a 28°C. Placas foram sobrepostas após 24 h com 50 mg/l de apramicina e 25 mg/l de ácido naldíxico. Como pLSS315 é incapaz de replicar em BIOT-3870, antecipou-se que colônias resistentes à apramicina são transformantes que continham plasmídeo integrado no cromossomo por meio de recombinação homóloga via as regiões de homologia portadas por plasmídeo.

9.4 Seleção de cruzamentos secundários

Três transformantes primários de BIOT-3870:pLSS315 foram selecionados para subcultivo visando selecionar cruzamentos secundários.

Cepas foram aplicadas sobre meio MAM (suplementado com 50 mg/l de apramicina) e desenvolvidas a 28°C durante quatro dias. Usou-se dois tampões circulares de 6 mm para inocular 30 ml de ISP2 (0,4 % de extrato de levedura, 1 % de extrato de malte, 0,4 % de dextrose, não suplementado com antibiótico) em um frasco cônico de 250 ml. Culturas foram desenvolvidas durante de 2 a 3 dias, depois subcultivadas (5 % de inóculo) em 30 ml de ISP2 em um frasco cônico de 250 ml. Após de 4 a 5 ciclos de subcultivo as culturas foram protoplastadas como descrito no

exemplo 3,6, os protoplastos foram diluídos serialmente, plaqueados em meio de regeneração (ver Exemplo 3.6) e incubados a 28°C durante quatro dias. Em seguida, colônias simples foram aplicadas em duplicata em meio MAM contendo apramicina e em meio MAM não contendo antibiótico e as placas foram incubadas a 28°C durante quatro dias. Sete pedaços derivados do clone nº 1 (nº de 32 a 37) e quatro pedaços derivados do clone nº 3 (nº de 38 a 41) que se desenvolveram na placa sem antibiótico, mas que não se desenvolveram sobre a placa de apramicina, foram re-aplicadas sobre placas de apramicina +/- para confirmar que haviam perdido o marcador de antibiótico.

Produção de análogos de macbecina foi realizada como descrito na seção de Métodos Gerais. A análise foi realizada como descrito em Métodos Gerais usando LCMS método 1. Composto 14 foi produzido com rendimentos comparáveis com a cepa parental BIOT-3870 e não se observou qualquer produção de composto 15 para pedaços 33, 34, 35, 37, 39 e 41. Este resultado mostra que as cepas mutantes desejadas apresentam uma deleção de 3892 bp do aglomerado de macbecina contendo os genes mbcP, mbcP450, mbcMT1 e mbcMT2 adicionalmente à deleção original de mbcM.

Exemplo 10 – Ligação a Hsp90

Determinações de K_d e calorimetria de titulação isotérmica.

Hsp90 de levedura foi dialisada contra 20 mM de Tris pH 7,5 contendo 1 mM de EDTA e 5 mM de NaCl e então diluída a 0,008 mM no mesmo tamponador, porém contendo 2 % de DMSO. Os compostos de teste foram dissolvidos em 100 % de DMSO a uma concentração de 50 mM e subsequentemente diluídos a 0,1 mM no mesmo tamponador como para Hsp90 com 2 % de DMSO. Calores de interação foram medidos a 30°C em um sistema MSC (Microcal), com um volume de células de 1,458 ml. 10 frações de 0,027 ml de 0,100 mM de cada composto de teste foram injetadas em 0,008 mM de Hsp90 de levedura. Calores de diluição foram determinados

em um experimento separado por meio de injeção do composto de teste no tamponador contendo 2 % de DMSO, e os dados corrigidos foram ajustados usando-se um algoritmo não-linear de menos quadrados para ajuste da curva (Microcal Origin) com três variáveis flutuantes: estequiometria, constante de
 5 ligação e alteração na entalpia de interação. Os resultados são mostrados abaixo na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores de Kd para ligação de Hsp90

	Kd (nM)
macbecina	240
16	20
17	19
18	23,5
Geldanamicina	1200

Exemplo 11 - Dados biológicos – avaliação in vitro da atividade anticâncer de análogos de 18,21-didesoximacbecina

10 Avaliação in vitro dos compostos de teste quanto à atividade anticâncer em um grupo de linhas de células de tumor humanas em um ensaio de proliferação de monocamada foi realizada como descrito em Métodos Gerais usando-se um ensaio modificado de iodeto de propídio.

Os resultados são apresentados na Tabela 11 abaixo, todos os
 15 valores de tratados/controle (% de T/C) mostrados são a média de pelo menos 3 experimentos separados. Tabela 12 mostra a IC₇₀ média para os compostos no grupo de linha de células testado, com a macbecina mostrada como uma referência (sendo que a média é calculada como a média geométrica de todas as replicatas).

20 Tabela 11 – Dados de linhas de células in vitro

	Teste/Controle (%) relativamente à concentração de droga (µg/ml)														
	Composto 16					Composto 17					Composto 18				
Linha de células	0,01	0,1	1	10	100	0,01	0,1	1	10	100	0,01	0,1	1	10	100
CNXF 498NL	100	19	8	8	6	97	22	7	8	7	64	9	9	11	9
CXF HT29	106	52	8	7	6	102	49	7	7	8	98	14	11	13	11
LXF	106	48	10	7	5	100	41	10	11	11	94	43	13	13	12

1121L															
MCF-7	83	21	10	11	10	86	20	10	10	8	77	27	12	12	8
MEXF 394NL	100	64	7	5	3	101	21	4	3	3	91	24	7	5	4
DU145	96	47	8	8	8	93	7	8	10	9	66	9	8	9	6

Tabela 12 – Valor médio de IC₇₀ do grupo de linha de células

	IC ₇₀ (µg/ml)
macbecina	0,21
16	0,193
17	0,106
18	0,077

Todas as referências incluindo patentes e pedidos de patentes referidos neste pedido são incorporados aqui por referência em sua extensão mais ampla possível.

- 5 Nesta descrição e nas reivindicações a seguir, exceto se o contexto o determinar de outra forma, a palavra ‘compreendem’, e variações, como ‘compreende’ e ‘compreendendo’, serão compreendidas como implicando a inclusão de um número inteiro ou etapa ou grupo de números inteiros indicado, mas sem excluir qualquer outro número inteiro ou etapa ou
- 10 grupo de números inteiros ou de etapas.

Referências

- Allen, I. W. and Ritchie, D.A. (1994) Cloning and analysis of DNA sequences from *Streptomyces hygroscopicus* encoding geldanamycin biosynthesis. *Mol. Gen. Genet.* 243: 593-599.
- 15 Bagatell, R. and Whitesell, L. (2004) Altered Hsp90 function in cancer: A unique therapeutic opportunity. *Molecular Cancer Therapeutics* 3: 1021-1030.
- Beliakoff, J. and Whitesell, L. (2004) Hsp90: an emerging target for breast cancer therapy. *Anti-Cancer Drugs* 15:651-662.
- 20 Bierman, M., Logan, R., O'Brien, K., Seno, ET., Nagaraja Rao, R. and Schoner, BE. (1992) “Plasmid cloning vectors for the conjugal transfer of DNA from *Escherichia coli* to *Streptomyces* spp.” *Gene* 116: 43-

49.

Blagosklonny, M.V. (2002) Hsp-90-associated oncoproteins: multiple targets of geldanamycin and its analogues. *Leukemia* 16:455-462.

Blagosklonny, M.V., Toretsky, J., Bohen, S. and Neckers, L. (1996) Mutant conformation of p53 translated in vitro or in vivo requires functional HSP90. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:8379-8383.

Bohen, S.P. (1998) Genetic and biochemical analysis of p23 and ansamycin antibiotics in the function of Hsp90-dependent signaling proteins. *Mol Cell Biol* 18:3330-3339.

Carreras, C.W., Schirmer, A., Zhong, Z. and Santi D.V. (2003) Filter binding assay for the geldanamycin-heat shock protein 90 interaction. *Analytical Biochemistry* 317:40-46.

Cassady, J.M., Chan, K.K., Floss, H.G. and Leistner E. (2004) Recent developments in the maytansinoid antitumour agents. *Chem. Pharm. Bull.* 52(1) 1-26.

Chiosis, G., Huezo, H., Rosen, N., Mimnaugh, E., Whitesell, J. and Neckers, L. (2003) 17AAG: Low target binding affinity and potent cell activity – finding an explanation. *Molecular Cancer Therapeutics* 2:123-129.

Chiosis, G., Vilenchik, M., Kim, J. and Solit, D. (2004) Hsp90: the vulnerable chaperone. *Drug Discovery Today* 9:881-888.

Csermely, P. and Soti, C. (2003) Inhibition of Hsp90 as a special way to inhibit protein kinases. *Cell.Mol.Biol.Lett.* 8:514-515.

DeBoer, C and Dietz, A. (1976) The description and antibiotic production of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus*. *J. Antibiot.* 29:1182-1188.

DeBoer, C., Meulman, P.A., Wnuk, R.J., and Peterson, D.H. (1970) Geldanamycin, a new antibiotic. *J. Antibiot.* 23:442-447.

Dengler W.A., Schulte J., Berger D.P., Mertelsmann R. and Fiebig HH. (1995) Development of a propidium iodide fluorescence assay for

proliferation and cytotoxicity assay. *Anti-Cancer Drugs*, 6:522-532.

Dikalov, s., Landmesser, U., Harrison, DG., 2002, Geldanamycin Leads to Superoxide Formation by Enzymatic and Non-enzymatic Redox Cycling, *The Journal of Biological Chemistry*, 277(28), pp25480-25485

Donzé O. and Picard, D. (1999) Hsp90 binds and regulates the ligand-inducible α subunit of eukaryotic translation initiation factor kinase Gcn2. *Mol Cell Biol* 19:8422-8432.

Egorin MJ, Lagattuta TF, Hamburger DR, Covey JM, White KD, Musser SM, Eiseman JL. (2002) "Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism of 17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin (NSC 707545) in CD2F1 mice and Fischer 344 rats. "Cancer Chemother Pharmacol, 49(1), pp7-19.

Eustace, B.K., Sakurai, T., Stewart, J.K., et al. (2004) Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for hsp90 α in cancer cell invasiveness. *Nature Cell Biology* 6:507-514.

Fang, Y., Fliss, A.E., Rao, J. and Caplan A.J. (1998) SBA1 encodes a yeast Hsp90 cochaperone that is homologous to vertebrate p23 proteins. *Mol Cell Biol* 18:3727-3734.

Fiebig H.H., Dengler W.A. and Roth T. Human tumor xenografts: Predictivity, characterization, and discovery of new anticancer agents. In: Fiebig HH, Burger AM (eds). *Relevance of Tumor Models for Anticancer Drug Development*. Contrib. Oncol. 1999, 54: 29 - 50.

Goetz, M.P., Toft, D.O., Ames, M.M. and Ehrlich, C. (2003) The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy. *Annals of Oncology* 14:1169-1176.

Harris, S.F., Shiau A.K. and Agard D.A. (2004) The crystal structure of the carboxy-terminal dimerization domain of htpG, the *Escherichia coli* Hsp90, reveals a potential substrate binding site. *Structure* 12: 1087-1097.

Hong, Y.-S., Lee, D., Kim, W., Jeong, J.-K. et al. (2004) Inactivation of the carbamoyltransferase gene refines post-polyketide synthase modification steps in the biosynthesis of the antitumor agent geldanamycin. *J. Am. Chem. Soc.* 126:11142-11143.

5 Hostein, I., Robertson, D., DiStefano, F., Workman, P. and Clarke, P.A. (2001) Inhibition of signal transduction by the Hsp90 inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytostasis and apoptosis. *Cancer Research* 61:4003-4009.

Hu, Z., Liu, Y., Tian, Z.-Q., Ma, W., Starks, C.M. et al. (2004)
10 Isolation and characterization of novel geldanamycin analogues. *J. Antibiot.* 57:421-428.

Hur, E., Kim, H.-H., Choi, S.M., et al. (2002) Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 α /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the
15 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol. *Molecular Pharmacology* 62:975-982.

Iwai Y, Nakagawa, A., Sadakane, N., Omura, S., Oiwa, H., Matsumoto, S., Takahashi, M., Ikai, T., Ochiai, Y. (1980) Herbimycin B, a new benzoquinoid ansamycin with anti-TMV and herbicidal activities. The
20 *Journal of Antibiotics*, 33(10), pp1114-1119.

Jez, J.M., Chen, J. C.-H., Rastelli, G., Stroud, R.M. and Santi, D.V. (2003) Crystal structure and molecular modeling of 17-DMAG in complex with human Hsp90. *Chemistry and Biology* 10:361-368.

Kaur, G., Belotti, D, Burger, A.M., Fisher-Nielson, K., Borsotti, P. et al. (2004) Antiangiogenic properties of 17-(Dimethylaminoethylamino)-17-Demethoxygeldanamycin: an orally bioavailable heat shock protein 90 modulator. *Clinical Cancer Research* 10:4813-4821.

Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F., and Hopwood, D.A. (2000) *Practical Streptomyces Genetics*, John Innes Foundation, Norwich

Kumar, R., Musiyenko, A. and Barik S. (2003) The heat shock protein 90 of *Plasmodium falciparum* and antimalarial activity of its inhibitor, geldanamycin. *J Malar* 2:30.

Kurebayashi, J., Otsuke, T., Kurosumi, M., Soga, S., Akinaga, S. and Sonoo, H. (2001) A radicicol derivative, KF58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts. *Jpn. J. Cancer Res.* 92:1342-1351.

Le Brazidec, J.-Y., Kamal, A., Busch, D., Thao, L., Zhang, L. et al. (2003) Synthesis and biological evaluation of a new class of geldanamycin derivatives as potent inhibitors of Hsp90. *J. Med. Chem.* 47: 3865-3873.

Lee, Y.-S., Marcu, M.G. and Neckers, L. (2004) Quantum chemical calculations and mutational analysis suggest heat shock protein 90 catalyzes trans-cis isomerization of geldanamycin. *Chem. Biol.* 11:991-998.

Liu, X.-D., Morano, K.A. and Thiele D.J. (1999); The yeast Hsp110 family member, Sse1, is an Hsp90 cochaperone. *J Biol Chem* 274:26654-26660.

Mandler, R., Wu, C., Sausville, E.A., Roettinger, A.J., Newman, D.J., Ho, D.K., King, R., Yang, D., Lippman, M.E., Landolfi, N.F., Dadachova, E., Brechbiel, M.W. and Waldman, T.A. (2000) Immunoconjugates of geldanamycin and anti-HER2 monoclonal antibodies: antiproliferative activity on human breast carcinoma cell lines. *Journal of the National Cancer Institute* 92:1573-1581.

Matsushima, P., M. C. Broughton, et al. (1994). Conjugal transfer of cosmid DNA from *Escherichia coli* to *Saccharopolyspora spinosa*: effects of chromosomal insertions on macrolide A83543 production. *Gene* 146(1): 39-45.

McLaughlin S. H., Smith, H.W. and Jackson S.E. (2002) Stimulation of the weak ATPase activity of human Hsp90 by a client protein. *J.*

Mol. Biol. 315: 787-798.

McCammon, M. T. and L. W. Parks (1981). Inhibition of sterol transmethylation by S-adenosylhomocysteine analogs. *J Bacteriol* 145(1): 106-12.

5 Muroi M, Izawa M, Kosai Y, Asai M. (1981) "The structures of macbecin I and II" *Tetrahedron*, 37, pp1123-1130.

Muroi, M., Izawa M., Kosai, Y., and Asai, M. (1980) Macbecins I and II, New Antitumor antibiotics. II. Isolation and characterization. *J Antibiotics* 33:205-212.

10 Neckers, L (2003) Development of small molecule Hsp90 inhibitors: utilizing both forward and reverse chemical genomics for drug identification. *Current Medicinal Chemistry* 9:733-739.

Neckers, L. (2002) Hsp90 inhibitors as novel cancer chemotherapeutic agents. *Trends in Molecular Medicine* 8:S55-S61.

15 Nimmanapalli, R., O'Bryan, E., Kuhn, D., Yamaguchi, H., Wang, H.-G. and Bhalla, K.N. (2003) Regulation of 17-AAG-induced apoptosis: role of Bcl-2, Bcl-x_L, and Bax downstream of 17-AAG-mediated down-regulation of Akt, Raf-1, and Src kinases. *Neoplasia* 102:269-275.

20 Omura, S., Iwai, Y., Takahashi, Y., Sadakane, N., Nakagawa, A., Oiwa, H., Hasegawa, Y., Ikai, T., (1979), Herbimycin, a new antibiotic produced by a strain of *Streptomyces*. *The Journal of Antibiotics*, 32(4), pp255-261.

25 Omura, S., Miyano, K., Nakagawa, A., Sano, H., Komiyama, K., Umezawa, I., Shibata, K, Satsumabayashi, S., (1984), "Chemical modification and antitumor activity of Herbimycin A. 8,9-epoxide, 7,9-carbamate, and 17 or 19-amino derivatives". *The Journal of Antibiotics*, 37(10), pp1264-1267.

Ono, Y., Kozai, Y. and Ootsu, K. (1982) Antitumor and cytotoxic activities of a newly isolated benzenoid ansamycin, Macbecin I. *Gann*. 73:938-

44.

Patel, K., M. Piagentini, Rascher, A., Tian, Z. Q., Buchanan, G. O., Regentin, R., Hu, Z., Hutchinson, C. R. And McDaniel, R. (2004). "Engineered biosynthesis of geldanamycin analogs for hsp90 inhibition." *Chem Biol* 11(12): 1625-33.

Pfeifer, B. A. and C. Khosla (2001). "Biosynthesis of polyketides in heterologous hosts." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 65(1): 106-118.

Rascher, A., Hu, Z., Viswanathan, N., Schirmer, A. et al. (2003) Cloning and characterization of a gene cluster for geldanamycin production in *Streptomyces hygroscopicus* NRRL 3602. *FEMS Microbiology Letters* 218:223-230.

Rascher, A., Z. Hu, Buchanan, G. O., Reid, R. and Hutchinson, C. R. (2005). Insights into the biosynthesis of the benzoquinone ansamycins geldanamycin and herbimycin, obtained by gene sequencing and disruption. *Appl Environ Microbiol* 71(8): 4862-71.

Rawlings, B. J. (2001). "Type I polyketide biosynthesis in bacteria (Part B)." *Natural Product Reports* 18(3): 231-281.

Roth T., Burger A.M., Dengler W., Willmann H. and Fiebig H.H. Human tumor cell lines demonstrating the characteristics of patient tumors as useful models for anticancer drug screening. In: Fiebig HH, Burger AM (eds). *Relevance of Tumor Models for Anticancer Drug Development*. *Contrib. Oncol.* 1999, 54: 145 - 156.

Rowlands, M.G., Newbatt, Y.M., Prodromou, C., Pearl, L.H., Workman, P. and Aherne, W. (2004) High-throughput screening assay for inhibitors of heat-shock protein 90 ATPase activity. *Analytical Biochemistry* 327:176-183

Schulte, T.W., Akinaga, S., Murakata, T., Agatsuma, T. et al. (1999) Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90

family of molecular chaperones. *Molecular Endocrinology* 13:1435-1488.

Shibata, K., Satsumabayashi, S., Nakagawa, A., Omura, S. (1986a) The structure and cytotoxic activity of herbimycin C. *The Journal of Antibiotics*, 39(11), pp1630-1633.

5 Shibata, K., Satsumabayashi, S., Sano, H., Komiyama, K., Nakagawa, A., Omura, S. (1986b) Chemical modification of Herbimycin A: synthesis and in vivo antitumor activities of halogenated and other related derivatives of herbimycin A. *The Journal of Antibiotics*, 39(3), pp415-423.

10 Shirling, E.B. and Gottlieb, D. (1966) *International Journal of Systematic Bacteriology* 16:313-340

Smith-Jones, P.M., Solit, D.B., Akhurst, T., Afroze, F., Rosen, N. and Larson, S.M. (2004) Imaging the pharmacodynamics of HER2 degradation in response to Hsp90 inhibitors. *Nature Biotechnology* 22:701-706.

15 Spiteller, P., Bai, L., Shang, G., Carroll, B.J., Yu, T.-W. and Floss, H. G. (2003). The post-polyketide synthase modification steps in the biosynthesis of the antitumor agent ansamitocin by *Actinosynnema pretiosum*. *J Am Chem Soc* 125(47): 14236-7

20 Sreedhar A.S., Nardai, G. and Csermely, P. (2004) Enhancement of complement-induced cell lysis: a novel mechanism for the anticancer effects of Hsp90 inhibitors. *Immunology letters* 92:157-161.

Sreedhar, A.S., Söti, C. and Csermely, P. (2004a) Inhibition of Hsp90: a new strategy for inhibiting protein kinases. *Biochimica Biophysica Acta* 1697:233-242.

25 Staunton, J. and K. J. Weissman (2001). "Polyketide biosynthesis: a millennium review." *Natural Product Reports* 18(4): 380-416.

Stead, P., Latif, S., Blackaby, A.P. et al. (2000) Discovery of novel ansamycins possessing potent inhibitory activity in a cell-based oncostatin M signalling assay. *J Antibiotics* 53:657-663.

Supko, J.G., Hickman, R.L., Grever, M.R. and Malspeis, L (1995) Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumor agent. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 36:305-315.

Takahashi, A., Casais, C., Ichimura K. and Shirasu, K. (2003) HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 20:11777-11782.

Tanida, S., Hasegawa, T. and Higashide E. (1980) Macbecins I and II, New Antitumor antibiotics. I. Producing organism, fermentation and antimicrobial activities. *J Antibiotics* 33:199-204.

Tian, Z.-Q., Liu, Y., Zhang, D., Wang, Z. et al. (2004) Synthesis and biological activities of novel 17-aminogeldanamycin derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 12:5317-5329.

Uehara, Y. (2003) Natural product origins of Hsp90 inhibitors. *Current Cancer Drug Targets* 3:325-330.

Vasilevskaya, I.A., Rakitina, T.V. and O'Dwyer, P.J. (2003) Geldanamycin and its 17-Allylamino-17-Demethoxy analogue antagonize the action of cisplatin in human colon adenocarcinoma cells: differential caspase activation as a basis of interaction. *Cancer Research* 63: 3241-3246.

Watanabe, K., Okuda, T., Yokose, K., Furumai, T. and Maruyama, H.H. (1982) *Actinosynnema mirum*, a new producer of nocardicin antibiotics. *J. Antibiot.* 3:321-324.

Weber, J.M., Losick, R. (1988) The use of a chromosome integration vector to a map erythromycin resistance and production genes in *Sacharopolyspora erythraea* (*Streptomyces erythraeus*) *Gene* 68(2), 173-180

Wegele, H., Müller, L. and Buchner, J. (2004) Hsp70 and Hsp90-a relay team for protein folding. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 151:1-44.

Wenzel, S.C., Gross, F, Zhang, Y., Fu, J., Stewart, A.F. and

Müller, R (2005) Heterologous expression of a myxobacterial natural products assembly line in Pseudomonads via Red/ET recombineering. *Chemistry & Biology* 12: 249-356.

Whitesell, L., Mimnaugh, E.G., De Costa, B., Myers, C.E. and Neckers, L.M. (1994) Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60^{v-src} heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: Essential role for stress proteins in oncogenic transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 8324-8328.

Winklhofer, K.F., Heller, U., Reintjes, A. and Tatzelt J. (2003) Inhibition of complex glycosylation increases the formation of PrP^{sc}. *Traffic* 4:313-322.

Workman P. (2003) Auditing the pharmacological accounts for Hsp90 molecular chaperone inhibitors: unfolding the relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Molecular Cancer Therapeutics* 2:131-138.

Workman, P. and Kaye, S.B. (2002) Translating basic cancer research into new cancer therapeutics. *Trends in Molecular Medicine* 8:S1-S9.

Young, J.C.; Moarefi, I. and Hartl, U. (2001) Hsp90: a specialized but essential protein folding tool. *J. Cell. Biol.* 154:267-273.

The application, of which this description and claims form part, may be used as a basis for priority in respect of any subsequent application. The claims of such subsequent application may be directed to any feature or combination of features described herein. They may take the form of product, composition, process, or use claims and may include, by way of example and without limitation, the following claims:

O pedido, do qual esta descrição e reivindicações fazem parte, pode ser usado como uma base para prioridade com relação a qualquer pedido subsequente. As reivindicações do referido pedido subsequente podem ser

dirigidas a qualquer característica ou combinação de características aqui descritas. Elas podem apresentar a forma de reivindicações de produto, composição, processo, ou de uso e podem incluir, a título de exemplo e sem limitação, as reivindicações a seguir:

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

<110> Biotica Technology Limited <120> NOVOS COMPOSTOS <130> IP0042-GB01 <160> 20 <170> PatentIn versão 3.2 <210> 1 <211> 33 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> Iniciador <400> 1 ggctctagagg tcagtgcgcc cgcgtagcgt cgt	33
<210> 2 <211> 26 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> Iniciador <400> 2 ggcatatgct tgtgctcggg ctcaac	26
<210> 3 <211> 36 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> Iniciador <400> 3 cccgcgcgcg cgagcggcgc gtggccgcc gagggc	36
<210> 4 <211> 36 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> Iniciador <400> 4 gcgtcctcgc gcagccacgc caccagcgc tccagc	36

<210> 5
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 5
 ccaaccccg cgcgtccccg gccgcgccga acacg 35

<210> 6
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 6
 gtcgtcggt acgggccggt ggggcagctg ctgt 34

<210> 7
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 7
 gtcggtggac tgccctgcgc ctgatgcgcc tgcgc 35

<210> 8
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 8
 ggccggtggt gctgcccag gacggggagc tgcgg 35

<210> 9
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 9
 caccgctcgc ggggggtggcg cggcgcacga cgtggctgc 39

<210> 10
 <211> 38
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Iniciador

<400> 10

cctcctcgga cagcgcgatc agcgccgcgc acagcgag

38

<210> 11

<211> 100588

<212> DNA

<213> Actinosynnema pretiosum

<400> 11

gatctggggc	gacgagccgc	ccgcccgggc	ggggccggcg	ttgcaggcgc	tcgctctccc	60
gctgcggcgg	gcgctcggcg	cgccggggcg	ggtcgcgctg	ggggtgggcg	ggtaccggct	120
cgtggcggac	gtggacgcgc	cgcggttcga	ggagctggcc	gcgcggggcg	gggaggacgc	180
gctgcgggag	gccgcccgcg	tgtggggcgc	gcgggtcggg	ggcgagccgc	cggtggtcgc	240
ggccgtcgcg	ccgcgggtgg	cgacccggct	ggcgcggtg	tcggtggagg	tgggtgctgga	300
cctggcggag	gtcgagctgg	cgctcggggc	caccggggcg	gccatcgggt	gggcgagcgc	360
ggtgctggcc	gagcaccgcg	cgacagagcg	ggccgcccgg	gtgctgggtg	acgcgctcgc	420
gggcgcggga	cggcaggccg	aggcgtggc	ggcctacgag	cgggtccgcg	cggcgctggc	480
cgacgagctg	ggcgccgacc	ccggcacggc	cctgcgcgag	cgccacctgc	ggctgctgcg	540
cgccaccccg	ccaccgctcc	cccggccgaa	cgcgctgccc	gcgcgggtga	cggtcttcc	600
cgcccgggac	gccgacctcg	cccgcgtcgc	cgacctgctg	gccgcggggc	ggctggtcac	660
cgctcgtcgg	cccggcgggg	tgggcaagac	ccggctggcc	gtggaggcgc	tgcgcgggga	720
ccgggacgcg	ctgctgggtg	acctcgcgcg	ggtcgcgag	ccctcggagg	tcgtcgccgc	780
cgctcgtcgc	gggatcgggc	tgcgcggcga	ccgcgaccgg	ccgggcgggg	acgcgacggc	840
gctgctggcc	gccgagctgg	cggcgcgag	gtcgggtgct	ctgctggaca	actgcgagca	900
cctggtcgac	gccgtggccc	acctggtcgc	gtcctgctc	ccccgctgcc	ccgagctgcg	960
cgctgctgcc	accagcgggg	aaccctggc	ggtcgacggg	gaggcgctgg	tcgcgctggg	1020
gccgctcgcg	ctgcccggaa	tcggggacgg	gcttgacgcc	gcggtcggca	cgccctcggt	1080
gcggttggtc	gccccacggg	cgctggcggg	gcgcccgggt	ttcgccgctg	acgccacgac	1140
gctgcgggac	gtggtgcgcc	tgggtcgggc	gctggacggg	ctgccgctgg	cgctggagct	1200
ggccgccgcc	cggttgccgc	ccctgccgct	gcccgaacct	gtggccgggt	tgtcggcgcg	1260
gttccgectg	ctggcgggcg	ggaaccgggc	cgcgcgcgcc	cggcaccgca	cgctgcgcgc	1320
ggtgatcgcg	tggagctggg	acctgctgga	cgggcccag	cgggccgtgg	ccgagcggat	1380
ctccgtgctg	cccggcgggg	tcaccccgga	gtcggccgcc	gccgtctgcg	cgggcgccgt	1440
gcccgcgcac	gaggtgccc	aactgctggc	cgcgctgggt	gaccggctgc	tgtgagcct	1500
ggtcgggggt	cggcggcgga	tgttgagac	ggtgcgcgcg	tacggggtcg	agcgccctgg	1560
cgccgcgggg	gacttgagcg	cggctccgca	cctggccgcc	gcgcacgtgg	cgggggtgct	1620
ggcggggcag	gacgcggtgc	tgcgcggggc	ggggcagcgc	gcggcggtgg	cggcgatcgc	1680
cgcgagacac	gacaacgcgg	tggccgcgct	gcaccaccgg	tgcgccaccg	gggacgcgga	1740
cggggcgctc	gcgctggcgc	tgtcgtgggt	ctggtactgg	caggtgttcg	gccgccagtc	1800
cgagggcgcg	cactggctcg	ggcgggcgct	ggcgggtgcc	ggcgggcgct	ccccggagcg	1860
ggactgcgcg	cgggccgccc	acctgctcgc	cctggccgac	ggcgggcacg	gggtgggtga	1920
tcgcggggag	gtgggggcgc	tcgcggaccg	ggtgctggcg	caccgggggc	tcgccggtca	1980
cctgcgggtg	ctcggggcgc	tctgctggt	cctgctgggg	cgcggcgagg	gggtgttccg	2040
ggagctgggc	gcgggcggcg	ggtggtgtc	cgggctggcg	cacctgttcc	tggccgagct	2100
ggcggaac	gcgggcgagc	tggaccgggc	gcgcgggcac	gcggagggtg	ccctggaccg	2160
gttccggggc	gccggggacg	ggtggggcgt	ggcgggggtg	ctgccgggtg	gggcgcgggc	2220
gcggcggtac	gacgacctgg	acgggacgtg	ggcgacctt	cgggaggcgc	gggcgctgga	2280
gggggagttc	ggggcgctga	gccccggtga	ccgggtgcgc	gcggacctgc	ggtgggtcga	2340
cctgcacgag	cggcgcggtg	acagcggggc	ggcgctggag	gtgctggccg	cggcccgtgc	2400
tcggggggag	caggtcgcgc	tgggtggacg	gcgggaggcc	gcgctgcggg	tgcggctcgc	2460
ggacctgggg	cgggcggtg	agctgctggc	cggggtgggt	ggggcggtgg	gcgacctggc	2520
gcggggccgc	tatcggtgg	cctcggggga	cctggcgggt	gcggagcggg	cggttgcggc	2580
ggcgcggtg	gtggcggtg	cgagcggggg	gctgcccgcg	ctggcccccg	tggcggtggg	2640
ggcgcggtg	ctggagcagg	cgcgggggcg	gtggcgggg	tcgggggtgc	tgtcgggac	2700
ggccgcgcgc	gtgcggggcg	cgacagaccg	caccgacccc	ctggtgcgcg	agctggctga	2760
ccggggggcg	gcggcggtg	gcgggagcgc	gttcgcggcg	gcgtacgcgc	gggggtggga	2820
ggcggagcgc	gacgtggcgc	cggcgttcgt	gctctgagcg	ccgggatcgc	gcgggcgggg	2880

tcaggcgggc	ggggtcatgt	gggcgggggc	aggcggggcca	ggtcacacgt	ccagggaacc	2940
cgcccagtc	gcgatcgctc	ggacttcggc	ctgcgtcggg	aagaccttct	cggtgagcac	3000
gcggtgcacc	tcggggtcgc	cgtccaggca	gccgtcggcc	aggacggtga	gctggaagt	3060
caggtcggcg	gcctggcgga	gggtggacag	gaccacggcg	ctggtcgcga	tgcgggtgag	3120
caccaggtgg	tcgacgcccc	gggcgcgcag	gacgaaggtc	aggtcgctgc	ccgcgaacgc	3180
gctgacgcgg	cgcttggtca	ccaccacctc	gtcgctcgagc	ggcgcggtct	cggggtggaa	3240
gtcgggtggc	ccggagcccc	tggggggccg	ggccaggcgg	ccgaacatct	tgttgcgcg	3300
gtggatctcc	gcgtagtcgg	ggcggaagcc	gacgccgacg	tggatcaccc	gcacggacgc	3360
ggcgcggggc	gcctcgagcg	cggtggcgag	cctggggagg	taggccgggt	cggggtagcg	3420
ggcgaccacg	gcgggctgga	cgtccatcac	cagcaggggc	ggggtgggga	tctcgggct	3480
cgtttcgggt	gtggcggcgc	ggggggccgc	ggtgggggtc	aggggtgcgg	gggtgccggg	3540
gtgagcaggc	tggtagcgg	gagcaggcgg	tcggcgagtt	cctcggggcg	cagcgggtcc	3600
tcggcgcgca	cgacccagtc	gtggacgata	gcgcgggtgc	cgtgggagat	cagcacggcc	3660
aggtcgcggg	cgccccgctc	gtccacctcg	cccaggccgg	cgcgaggggc	ctcggtggtg	3720
atgagggtgc	ggaagagctc	ggccaggggc	tccgccagcc	gccacgcgca	cgggccgggtg	3780
agcacggcgc	ggtagaagg	gcggtggtcg	gcgaagtggc	gggccacggc	caggaggcgg	3840
gcgtggcgcg	gggcccgcgg	gtcggccagg	tgcggcagga	gctcgcgcgg	caccaggtcc	3900
gccgcagcgg	cgacgaggag	cgtgtcgcg	tcgccgaagt	gctggtagag	cagctgcctg	3960
ctgacgtcgg	cggcctcggc	caggtcgggtc	accgggaccg	ccgcccccg	ctcggcgacc	4020
aggtcgacgg	cggcggccat	gagggcgggc	ctggagcggg	cgacccgggc	gtcggggcgg	4080
gtggtcacgg	gggtgaaact	agacagttgt	caataaatga	gcaagtgtcg	tgaacgcgc	4140
gcgcgggaat	ctccggtgcg	cgggggcccg	ccctggcagc	atgatcacgc	gatgaccgag	4200
gtgaggacgc	gcccgtacgc	cgggcccgcg	gacctgcgcg	cgatgcaggg	gttggcgcg	4260
cggatctgga	cgccgtcgag	ccggtggcac	gtcggcgacc	tggcctggca	gcgcaaccag	4320
cacaccgggc	gcgaggccga	gtggccgacc	gcgctgtggg	aggcgggagg	cgaggtggtg	4380
gcgtgggggt	gggcccagct	gccgggtgag	ctggcgctgc	tggtcgaccc	cgccccggcg	4440
gagcttgcg	gggcggtgct	cgactggttc	gcgggcgtgg	ccaccgcgcc	ccggcggtcg	4500
gtcaccgtgc	tggacgccga	accgcacctg	gtcgcgcgcg	tggaggctcg	cgggtagcag	4560
cggtgggcg	ggccgcactt	ccggcactcg	gtgcgcgcgc	tggacgacct	gcgcagccc	4620
gaactgccc	ccgggtaccg	ggtccgcgcc	gtgcggggcg	aggaggacgt	ggcggcgcg	4680
gtcgcggcgc	accgggcggc	ctggtggccg	tcgcgggtca	ccgaggagag	ctaccggggc	4740
gtgatgggg	cgtggccgta	ccggccgggg	ctggactggg	tggtagagg	gccggacggg	4800
cgttcgcgg	ccacctgcct	gatctggttc	gacgagcgca	acggcgtggg	cgagctggaa	4860
ccggtcgggg	tcgacccccg	tctgcggcgg	cgcgggctgg	ggcgggagg	gtgcctggcg	4920
gcgctgggg	cgctgcgcga	ggcgggagg	cgggcgggcg	tgggtgtacc	gctgcacggg	4980
caccccggac	accccgcgcc	cgcgccgctg	taccgggggc	tggggttccg	cgagcacgcc	5040
cgcacgatca	ccttcaccgc	gctggaggcg	cgcgggtagc	agcggccggg	cggggcgagc	5100
ggacccggtc	gacgagcggc	tccgctgtcg	gagcggctgt	cccagcgctg	ggacaccagt	5160
gccacgacca	gaccgcgccc	cgcttcgcgt	ggtcggctcg	ggggtcgacc	gcggtgaggc	5220
tctcgcggg	gtgggtgaac	cacgtcctgg	cgatggcctg	caccgcgagc	accgggtgcc	5280
gcccgtggcg	ctggacgtca	ccgacgcagc	cgccgtcgac	cgggccgggc	cgccgcgctt	5340
cgcccggtgc	gcccgcgcgg	ccgagtcgga	cgccagggtg	cgcccggtcc	ccgggtccgc	5400
ctggaactga	ccccgcgggc	ctccccgccc	gcccgtccgg	ccgggcggcg	aacccgcctc	5460
aggcgtgctc	gaccgcgcgc	accgatcccc	ccaccaccac	cggcacggg	acgtggtgca	5520
cggtcgtcgg	gctgcggtcg	cggcgggggc	gggacaggag	gagttccacg	gccatcgcg	5580
ccaggcgggt	gtgcggcagg	gcgacgggtg	tcaggcgcg	gcgcatccag	gcggccacgg	5640
ggtggtcgtc	gaagccgacc	acggagacgt	cgtccggcac	ggacaggccc	gcctccgcga	5700
gcgctgggca	cgcgccgaac	gccaggcgg	cgttgaagca	cagcagcgcg	cgagggcggt	5760
ggtgggacag	gaggtccagg	gtggcgcggt	agccgttctc	cggcacccac	tccacgcacg	5820
ggcgacgct	ctccacctcc	acccccgcgg	ccgcgaaggt	ctccagcgcg	ccggagaggc	5880
gggccacggc	ggcgatgtgg	cgcggttcga	tcgcttcggc	cgtggggccc	gtgccgatca	5940
ggtgcacgcc	ctcgcggtgc	ccggcgctcg	gcagcacgcg	cgccgcgcaa	cgccgcgcgc	6000
cgcggtcgtc	ggggagcacg	gcgtgcgcgg	ggaagtctgt	ggcgggcagc	acgttcagca	6060
gcacggacgg	cccgtcgcgc	agcccgctcg	ggacctccag	cagccggggg	aacctggccg	6120
cgaagaccac	gcccctccacc	tggcgggcgc	gcagcgaggc	caccagcgcc	gcctccacct	6180
cgcggtcgcc	gccgctctca	ccggcgaaac	gggtgaaccc	gtgccgggtg	gcggcgccga	6240
ccgcgccctc	gatcagctca	ccggacagct	tggccgaggc	cacggcgctc	gagacgaaac	6300
cgagggtctt	ggtgcgggag	gcggacagca	gcgtgtcgcg	gcggtagccg	agctgctcgg	6360
ccgtcgcccc	caccttgccg	tccaccgcgg	ccgagatgcg	cagctcccga	gcgcggccgg	6420
agagcaccag	ggaggcggtg	ggcaccgaca	cggcgcaggc	ggacgcgacg	tcggccagcg	6480
tgacgcgcgt	ccgcccgtct	tcgcggaac	ctgctcgcgg	gggtgtgccc	gtcaccctgt	6540
cctcccgtca	ccggtcgcgc	gacagccccg	cgcgagggtc	taccccatcg	tgcaggccgc	6600
gccgttcaag	gagaaccccc	aaggtggggc	cgcgcccccg	ccgtgggtga	cctggtagcc	6660

gatgetgact	ttgccaccgg	gtgggatcgc	cgcgtttag	cccgcgtcgc	gggcgggtcac	6720
ccggccccgag	ctgggcgcgt	acgaggcggt	ccagccggag	gtgatcacct	ggccccgcggg	6780
cagcgcgaac	tccagcgacc	agccctgcac	ctgcgtggtc	ccggtgttgg	tgatggcgag	6840
ctccgcgcgtc	aggccgttgc	cccaggcggt	gacggtggcc	gacacccggc	aggccccggg	6900
ctgcgggttcg	ccgggcgtgg	tgggtggtgt	ggtggtggtg	gtcgtggtcg	tgggtggtgct	6960
ggtcgggtcg	gggcccgttc	cggcgaactg	ggtgaagaac	cgccaggtct	cctcggggcgc	7020
ccacgtcctg	gtgccgctgt	cgcggggcgc	ggtgtcctgc	ggtgcggcga	tgtggccctc	7080
gtcgaacgcg	acccagcgca	ccgggtagcc	gtcgcggcag	ccggtgtagg	tgggtgccccg	7140
gtgggtcagg	ctgccctggg	acggttcggg	cgggttctgc	gcggcgacgc	cgttggttgcg	7200
cacgaaccgg	tcgcgcacgc	agcgcgccgc	ggagatgttc	aggacgctgt	cgcgcaggcc	7260
gtggatgccg	aggtaggcga	tgggtgcgt	gccgccggcg	cagccgctga	gcacgccgcc	7320
cgcgatgacc	gcgaccgcgc	ggaacaccgt	cggccgcgag	caggccaccg	agtaggacat	7380
cgcgccggcg	tagctgaagc	cgggtggcga	ccgctgggtg	gtgtccacgc	acagcccggc	7440
gtcgaagctgg	cggacgatgt	cgtcgacgag	ggtgatgtcc	tcgccgcctg	tgttggtcca	7500
gccgttgttg	aagccctgcg	gcgccacgaa	gatcgtgctg	ctgcccgcca	ggcgcttgag	7560
gccgtagtag	gaccagacgt	cccgtgcac	ggtctggccg	gtggcgacgt	cgttcgcggg	7620
gccgctgagc	cagtggaaag	cgaagacgac	gcgggtgggg	cggttccggg	cgtagccgtc	7680
cgggatcgac	aggatgtagg	tgcgggactt	gccgctgctg	gtgatcgtgc	gcgtgccgct	7740
ggtgagcgcg	ggcgcccttc	cgcagccctc	cgtcgtggcg	gacgcgcggg	gggcgcggga	7800
cgcgcggggc	gctccgggtc	cgttggtggt	gatcagcccc	gcggcgaggg	tgagcagcgc	7860
gatgcccgct	gccgcgagga	ccctgttgcg	cgccaaaggga	ttcgcccttc	ctgtggtggt	7920
tccggtgggt	gtggtcacgg	ggtggtgagg	tcgaagcggc	gggcgggtgac	ggagccggccg	7980
agcgcggcg	tggcgtggtt	gaagacggcg	aagcggtagc	ccatgaagaa	ccgccagtcg	8040
ttcttgagcg	tgaacgccgg	gccgaaggcg	gtgaagtga	cgcgcgtcgg	gctgtaggag	8100
aaccgggctt	gcctgccgtt	gccggggcg	atgtcggcgt	tggcgcgcaa	ccagatccgg	8160
gagccgcccc	ggtcggcgct	cgcgacctcg	tagccgggtc	cgggtggtgcg	ccaggagccg	8220
tccatggtca	ggccgggtgac	ggagacgac	cgggtgcggc	cgttgctcgcg	cttgacgcgg	8280
atccacgcgc	aggagtcgcg	cagcacggcc	agcccgggtc	ggtcgcgcgtc	gcgcataccc	8340
gacaggtcca	gttccacggg	gccgggtgag	gtcggggcct	ggatgcgggtg	ggtgaggtg	8400
ttgcggggcg	agtacaggtc	gttggtgacg	gtcgggtg	acaggcgaag	gccgttgttc	8460
acgctgtact	tggcggtgct	cgggttgtgg	ttccactccc	actgcggggc	gagcgcggcg	8520
ccggagaagg	tgtcggcgcc	gatcatgggt	ttgacctggc	gcggggggcgc	gggcagggttc	8580
ggcttcgggt	aggtcgcgcc	ccagccggcc	ttgacggtgg	tgacgcgcgg	ccagccgtcc	8640
gaggtccagg	tgatcggggc	gagcacccgg	acgcgcgccg	cggggtaggc	gtcgacgaac	8700
gccaggtagt	gccagtcgcc	gttctgggtc	tgacacaggc	cgccttggtg	cggcactccc	8760
ccgccctgga	tcggcgaggg	caggtcgagc	agcacctgct	ggatcgagta	cgggccgaac	8820
gggctggacg	acttgagcac	gtactggccg	ttcgcggggc	tggtagacca	gatgtagtag	8880
ttgccgccgc	gcttgtagaa	gcgcgccctt	tcgagggtgc	cgatgttcga	gggggtctgg	8940
aacacctgct	gggagcggac	ctccgacttc	ccgtcggcgg	agagctgggc	gacgctgatg	9000
ctggtgttgc	cgtaggcgac	gtacagggtg	tcgtcgtcgt	ccacgagcat	cccggcgctc	9060
tagtagcact	tgttgatggt	ggtgtgcttg	gaccactggc	cgtcgacggc	ggtcgcgggtg	9120
tacaggtgcg	tctgggcgaa	gtcgacgcag	ccgccccagt	agaaggtgcg	ggtgctcttg	9180
cgggtgcgca	ggaacgacgc	ccagatgccg	ttgacgtacg	cgcgggagcc	ggtgccccatg	9240
tcgtacttgg	ccccgaagtc	caggcgtggc	acggagtggc	cggcgaactc	ccagttgacc	9300
aggtcgtagg	agcgcagcac	gggcgcggcg	ggcgagtagt	gcattggtgga	ggccgagtag	9360
tagtaggtgt	cgtccacgcg	caggacgtcg	atgtcggcga	agtcctgcca	cagcacgggg	9420
ttggtgtagg	tcccggccgc	gcgggcgggg	tgggtggtgg	tggcggtcag	gctcgcggcc	9480
acgaggccga	gcacggccag	ggcgatgggc	gcccacgggc	ggtgacgggg	catcggtgtg	9540
cctctcctgg	tgtccgggag	ttggctctgg	gcgcggcggc	ggtggacttg	tcgggcgcgg	9600
cgggtggtcg	gggggtcagc	agggggagtt	ggtctgggtc	agcaggccca	gccgccaggg	9660
caggcggttg	tagtcgcggg	acgcgttggg	gtccaggccc	tggtagaggt	agctcagctt	9720
gcagggggtg	atctccatgg	tctggtcggg	cccgtgcgcg	accagctcgc	cgtggctgat	9780
gtcgcgcgtc	cactggccac	cggggaacgt	ggtgtgtgtg	gccctggcga	acgggttcga	9840
ctcgtctgct	gccagcgcg	tccacggtcc	ggcgatcgcc	ggggcggtcc	aggagcgga	9900
ccagcgggcg	ccgtccgagc	cgatcgccct	gtggagcatc	agccactggg	tcttgccggc	9960
gacctttag	atgttgagcg	cctcgaacaa	ccggttgccg	ttgctgtcct	gcattggcgat	10020
cacggtgttg	gtgaagccgt	tggggaactg	ggcgaggctg	gtctccgagc	ggtacaggtg	10080
gccgttgtcg	tccgaggaga	acaggtggca	cttggccgtg	tcgcagacgg	tccagaagtc	10140
gacccagtag	ccgttgccga	tgttgctccc	gatgatctgc	ggcatcccg	tggcgtagaa	10200
gttctcggc	gcggaccagg	acgcgggggt	ctcgatgtcg	gcggtcgtcg	agtacgaggc	10260
ggtggacccg	gtctggtaca	ccaggtacca	caggcggttg	ggggcgaggt	agaacacctg	10320
cggcgcgcc	cggtagcccc	tgccgatccc	ggagcggtcc	aggtagtgtg	gcggggcgga	10380
cgcggcctgg	gaccagtcgg	tgaagctggg	gtgcacgagg	ttgtagccgt	tgggtgtagac	10440

cgaggcgaac	acgtggtagc	ggccgttgtg	gcgaccacg	ctggggtcct	tgacggagac	10500
cgtggcgtgc	gaggagtccg	gcttgggtcc	gatcagcgcg	ccgctggagg	accaccggaa	10560
gctgctcggc	agcagagccg	ccggttgctg	cggggtcggt	gtggtgggcg	gcgtggtcgg	10620
gggcgtggtg	gtcgtgggcc	cgactcctcc	cgtgcacgtg	gtcccgttga	ggctgaacga	10680
ggtcgggtcg	gggttggaac	cggtggaggt	gcgggtgaac	ccgaactcga	cgcggccccc	10740
ggtggggatg	gcggcgttgt	aggaggcggt	cgcggcgctc	acctggccgc	cggactggga	10800
cacctcggcg	ttccaggcct	gcgcgacctg	ctggcccag	ccgtaggctc	aggtgagcgt	10860
ccagccgtcg	acggcgtcac	cgaggttggt	gatggcgacg	ctcgcggtga	aaccgccctg	10920
ccactgggag	gtcgcccgct	aggcgatcga	gcaccccggc	gccgcggcgg	cctgggggtg	10980
gagggcggcg	agcgcggcca	ccatggcgag	cgagggtgtg	gccatggcgc	cgatccgggc	11040
ccggcgcggg	gtgaacagcc	ttgcgaggag	catggtcgcc	cttcgtcgtc	gtcgacgggt	11100
ggtcggcgcg	gccgaccggg	agcggcgggg	gcgggctggt	actccccac	ttcctgcaat	11160
ctagccaggt	ggcacagggt	ggtcaaagct	aaaaagggcg	gacgcggttt	agcttcacgc	11220
gcaaaggttt	cgcgcgttct	ttcgcccggg	gggcaggtgg	atcggggcgg	gctcggggcg	11280
aggacggggc	tgggaatggg	gcgggggatg	gggcgggctc	ggggcggggg	tcgcccggag	11340
cccgccacgg	gtcagaggcg	cacgcggacg	acggtgaacg	ggaggttcgg	ctcgccgatc	11400
tggtactgga	agttgaccac	cagcaggtcg	tcgccgtcga	aggtcgcggt	ggacgggacg	11460
tccatgcccc	tgccgttgac	ccgcgcgacg	accgtggcgc	gggagtggtc	ctcgctcagc	11520
cgcaggacgc	tgatctcgcc	ctccgggtgg	aacaggctgg	tgacgctgta	gaggtcgttg	11580
ccgcgcagga	gcagcccgtc	cgagccgatg	tcgccacgc	cgcccaggtc	gatcgggggt	11640
acggcgccgg	tgccgggtgct	gatgcgggtg	aacgcctggg	agttggtgtc	ggcgagcagc	11700
acgtggcggc	cgtccggggg	gaccacgagg	ccgttgccgt	tgatgccctc	ctcgtagcgc	11760
accggggagt	cggcgaggtc	cacgaacgtc	ctcagtggct	ggtcgacctc	ggggctcgcc	11820
agctggcgcg	cggtgatccg	gtagaggacg	gggcggaacg	agtcgctgac	gtaggcgtcg	11880
ccgttcgggg	cgatggcgac	gtcgttgacc	aggccgtcgc	gggcgcggga	gtcgaacacg	11940
tgcaggagcg	cgccggtgcg	ggtgctgtgg	acgaagacct	tgccgggtgg	gcgcggcgcg	12000
atgaccagcc	tgccctcggt	gatcttcatg	ccgacggcgg	tggtgcggcc	gtgctgaccg	12060
gcgggcagga	acggctccag	ggcggggcgg	tcgacgtggc	cgcgccagat	ggtgccgtcg	12120
gtcgtgccgc	cgacgtagaa	gtgcggcggt	cccggtcgc	ggacgatgcc	ctccgggtag	12180
gcgcggtcgc	cggggaccac	gtagcgggtg	acggggtggt	gcgcggcggc	ggcgggtggc	12240
acggcgccgg	cgggtggcgc	ggcggcgccg	ggtggcgcg	cggcggggag	ggctggggcg	12300
agcgcggtga	ggagcagggt	cgcggtgagg	agggctcggg	tggtggtcac	ggaagggtc	12360
cgggggtcga	aggggtgtct	ggcggccagc	aagcgcttcg	tggcgcgggg	tggcagtggg	12420
cgttgtcgcg	gggtagttct	tacccccctt	tcggggcggg	gcggccgact	agggtgagcg	12480
gtgtgggcga	tcttgggcgg	caccgcgtgg	cgaaccgctc	cgacgtgcgg	gacttcctgg	12540
tcagcaggcg	cgcgagggtg	agtccggggc	gggcggggct	gcccgtgctc	ggcgggcggc	12600
gggtgccggg	ggtgcggcgg	gaggaggtcg	cgtgctcgc	cggggtcagc	gtggactggt	12660
acaccgcctt	ggagaagggg	cacatcggcg	gtgtctcgcg	ggaggtgctc	gacgcggtgg	12720
ccggggtgct	gcggctcgac	gccgaggagc	gggtctacct	gttcgacctg	gcgcgcgcgg	12780
cccggcgctc	ccgcgccgcc	gaggtggcgg	cggaggccgc	gctgcccgcg	acggcgcaat	12840
ggctgctgga	cagcatgacg	ctgtcgtcgg	cgatggtgac	cgggcggcgg	caggacgtgc	12900
tggcggtcaa	cccgtgggcc	cgcgcgctct	acgcgcgctt	gttcgccagc	gccaccaacg	12960
gggacggcgg	ccgggcgaac	ctcgcccgtt	accacttctt	cgacgcgggc	gcccgcgagt	13020
tctacgggga	ctgggcgggc	accgccgacg	tgctcgtcgc	cgcgctgcgc	gccgaggccg	13080
ggcgcgaccc	gcgcgacggg	gccacccgcg	agctggtggg	cgagctgacg	gccgcgagca	13140
ccgagttccg	ggcgcggtgg	agcgcgcacg	acgtgctgct	gcacccgcgc	ggcgccaaga	13200
ccttcgggca	ccccgaggcg	ggtgagctga	gectgagcta	ccactcgggt	gacctgccga	13260
tctccgccac	cgagaccccg	cacgtgtgcg	cgtgcaccgc	cgaacccggc	tcgaccgacg	13320
aggcgaggct	gcgcgcgctc	gtcgggtgag	ccgggggtgg	ccggccaccg	ccgtcgcgct	13380
cgcggcggcg	ggcgggggcc	gccggtcaga	gcgtgagcgc	catcccgatc	gagccgggcg	13440
cggtctcggt	gaagccgtgc	ttgaggtaca	gcgggcggcc	gggcgcgctg	gccaggaggg	13500
tcacgaacgc	gcccggcggg	gcggcctcgc	ggatgcgcgg	gagcagcgcg	tccatgatcg	13560
cgcgcgccag	gccccttccc	tggtgggtcg	gcagcacggc	catgtcgacg	acgtggaagt	13620
accagccgcc	gtcgccgagg	accgggccca	tgccgacggt	cccgcgctcc	gcgtgcgtga	13680
cgtggaagga	ggcccaggcg	ccgggcaggg	cggcgggcgc	ctgctcggcg	gtcttggggc	13740
acaggccgga	ctcggcgcgc	aggcggaggt	agtcggcgac	ggacggcggg	gtcgggtgga	13800
gctcgtagtc	ccggtgcacg	cggtcaggct	cccacggggc	cgggcggggc	cccggccgac	13860
ctgacgattt	ccccgtcggc	ggggatgcgg	gcgggcgctc	gcggattttc	gacatcccc	13920
ggccccggcg	gacgcggcgg	cgccgctgaa	aagagcgccg	tcgcgccctt	tcgcgccgcc	13980
cccgcacatc	cccgcgcggc	gaccggtcaa	tgcggtccac	gcctgggggt	ttccctcca	14040
cgtcgaacac	cgccaccacg	cgccacgcgc	ccgcgtcgac	caccccgacg	ccgagggaaca	14100
cctgttcacg	ggcacgggaa	gccgcagcgg	agggggaacc	gggaatggcc	gcagggcgatc	14160
gcggcacgac	gtccgcacat	caccgcgagc	agaatcgcg	ggcgttcacc	ggggcggcgg	14220

aggaagattc	cagcgccccct	ctcgaagaac	ctgcgggaag	ccctggaaga	aaacccggac	14280
ccgaaacgcg	acaaaattgc	ggacacccac	ccgtgaaaca	ccgggcgccc	ccaccaggtc	14340
acccgctgac	atcacgctca	gtcagtatcg	gcacgctccc	ccgccgaggc	ggagcgcgac	14400
accccgccca	accggggcacc	gagcgggcac	ctccactcgg	cccagcaccg	ccccaagatc	14460
gcacgtagca	ccgggttgaaa	ccgctcaagc	gcatctcaac	ccgttcggag	cagagtggcg	14520
cccgtcacgt	cccgaaccgt	cacggttggc	aacgggtcca	gtccacgcga	ggtggcatca	14580
agcgcacttg	ccccgatcac	acccgcccgt	gcaaccgaat	gcagcaggga	tatctttccc	14640
gagaactcgg	ccgttaaccg	ggagtggagc	caggcccacc	cctaagacgc	ttgccacat	14700
gccaacaat	ggtgaagatg	gaacggcgga	ccgcaccgcg	aacgcgaacc	gaactccgcg	14760
agagggcacg	gtgaacgata	ctggaacagc	tactgccgcg	tagctcaagg	gtggaacgcc	14820
cggctcgcgc	gcggcgagg	gaataacggc	ttttacgccc	tcgacaacag	cttgtcaacg	14880
aaacccgtgc	acccgagcgg	tccccgcgcg	caccgctcgc	gggggtggcg	cggcgcacga	14940
cgtggctgcc	cggcgtcgac	gacgacgcga	gttccccgac	cggccgcgaa	ggcggtcgcg	15000
gatcgccacg	acggggcacc	cggaccacgc	ctcccccgga	acagcgcgcc	cacgcgcggt	15060
tccgcgcg	gccgggaccg	ccgcacccgc	cggagcgccg	ccaccggccg	gggcccgtcc	15120
ccgcggaccg	ggtcgccctc	cggaccacca	ctccacggac	cacggaagg	accactcccc	15180
cagtggagct	tctgcgcgca	cccgaatcc	agtcggccgt	cgagcacctc	gcggtggacc	15240
tgccggaccg	ggcgggacgg	gcgttcctgg	tggacggacc	gcccgcctgc	ggcaagacga	15300
cggccctgcg	gcggctcgtc	gaccggatcg	cccacgagga	ccacctcgtg	ctcaccgcca	15360
cctgcacccc	gccggagacg	gagctgccgt	tcgggggtgt	caagcagctc	ctcgccctccc	15420
ccggcatggc	cagggctcgac	ccgcgcctgg	tcgccgacct	cggcgaagct	ctcgcccccg	15480
ccccgccgcc	cgccgacgac	tcggcgctcc	tcagctgta	ccactcgtcg	tgccggcgcg	15540
tgatcgcgct	gtccgaggag	gtgccgctgg	tcacgcgggt	ggacgacgtc	cgccacggcg	15600
acaccgcctc	gctgcacgtg	ctgctgcagc	tggtgcaccg	gctggacacg	gcgcgggtgc	15660
ggctgctgct	caccgacgac	ctgctgctgc	cggtagctt	cccgcgctg	cgctacgagc	15720
tgtgcgcct	gcgcgggctc	ggcctggtcc	gggtgcgcgc	gctgcctgcg	gccagggtgc	15780
gggaggaggc	ggtgcgggcg	gtcggcgcg	acgtcgcgaa	gcgggtcgac	ttcgccgcgc	15840
tgaccggcgg	caaccgcgtg	ctgctgcacg	cgtggcggt	ggacgtgctg	gcgcggcg	15900
agccgcgcga	gacgcgtac	ggcaactcgt	tccgtcctcg	cctgcaccgc	aacgaacccc	15960
tgttcctgga	caccgtgcgg	gcgctggccg	tgctggcgcg	cggctcggcg	tcggacctgg	16020
gcaggctgtc	cgggcaacgag	ccggagcagg	tcgccagggt	gctgaacgcc	ctgcgggagt	16080
cggggctgct	ggccgaggac	gggttcgggc	acgacgcggc	gcgcgcgcgc	gtcgtcgcg	16140
acaccccggt	cgccgagcac	gaggtgctgc	accgcgcgc	cgcgcggtcg	ctgcgcgacc	16200
agggcggcgc	ggtcacccgac	atcgccgacc	acctgctgcg	ggcgggcgcg	atcacccgacc	16260
cgtgggcggc	ggacctgctg	gtggacgcgg	cggagctggt	ggtgcagcgc	ggcgagccga	16320
cggcggcggt	ggcgtgctc	cagcgcgcgc	tcgactgcag	cccggaccgg	gagcgcagga	16380
cggccgtgca	ggcgcggctg	gccacggccg	agtggctggt	gaacccgtcg	acctcgga	16440
ggcaccacac	cgcgtgctg	gcggcggtcc	acgcgggcag	gttgctcggtg	cgcgacagcg	16500
cgacgctgat	gaagcacctg	cgctgggccc	ggaacaccgc	cgactcggac	gcggtgctcg	16560
cccggctgcg	gaccgacccg	cgcgccgcgc	aggacgtgcc	ggtgctggag	cactggctga	16620
ccagcaccta	ccccggcgcg	gcccggccca	ggaccgtgct	ggggcgggac	gtggactcgg	16680
cgcgacgag	ggcggacctg	gtgccgagg	cgaacgcgg	gctgctggac	gtgctggtgg	16740
ccggggacag	cgacgacgtg	gccgaccggg	cggaggcggt	gctgcgggag	ctgcggctgg	16800
cgcgggagtc	cgggtgctac	ggcggtgccg	ccgtgctggc	gctgtccgcg	ctgctctact	16860
cggaccgcgc	ggacgtggcc	gcctcgtggt	gcgagcagct	gctgtcggcg	cgggccgtgc	16920
cgtgctgcc	gatgccgcgc	gcgcaggtgc	tggcgtggc	ggccgagtcg	gcgctgcgcc	16980
ggggcgacca	cccgaagcgc	gacgagctgg	cgcgggaggc	gctgaccgtg	gtgtccccga	17040
ccgcgtgggg	ggtgtcggtg	gggctgccgc	tgagcaccag	ggtgctggcg	ctgaccagga	17100
tgggccccta	cgacgaggcg	gcggccgtgg	tggcgcagcc	ggtgccgaac	gggatgttcg	17160
ggcaccgcaa	cagcgtggac	tacctgtacg	cgcgcgggca	cttcttcctg	gcgcgggaac	17220
ggccgcgcgc	ggcgtgggc	gacttcctgc	tgtgcgggga	gcagctgacc	cggtagggcc	17280
tgggcagcgg	gtgcgcgcgc	gtgccgtggc	ggaccgcggc	ggcggaggcg	tggtggtgcg	17340
agggcaaccg	ggaccaggcg	cgggtgctga	tccacgagca	gctcggcagg	ccgggcacgc	17400
acagcccgcc	ggcgcgcggg	caggcgctgc	ggctgctcgc	ggcgaccagc	tcgggtgaagc	17460
ggcaccgcga	gctgctgcgg	gaggcggtgg	cgggtgttcga	ggccgtcgac	gacaagtacg	17520
agctggcgcg	gacctgcgc	gacctgggga	gggcgcagcg	ggcgtgggc	gagaacaagc	17580
tggcgcgccg	ggtgatccgg	cgggggtggc	acgtgcgccg	gatgtgcgag	gcggcgccgc	17640
tgtgcgagga	gctgatgccc	accgccgacg	ggctggtgcc	cgcgacgccc	gcgtcgcgcg	17700
cccgaggtc	ggacctggac	cggttgacca	gctcggagca	ccgggtggcc	gcgctcgcg	17760
cgtcggggct	gacgaaccgg	gagatcgcg	tgaagctgta	cgtcacgcac	agcacggtgg	17820
agcagcacct	gacgcgggtg	ttccgcaagc	tcgggatcaa	gcagcgggag	cagctgccgc	17880
cggagctgag	cgtcgaccgg	tcgaagtgac	gcggacgggg	cgggtcccgtg	gatctggggc	17940
cgccccgtcc	ggtcccgtgc	cgtccggtcc	cgccctgtcc	ggtcccgcgc	tgtccggtcc	18000

cgccccgtcc	ggtccccgtc	cgcctcaggc	tcggggcatc	gcggccaggg	tggtggcgac	18060
gacgtgctcg	tcgacgtcgc	gcaccagctc	ggcgccgcgc	gggcccgtcg	gcacgaacgc	18120
caggccgcgc	gtggacttct	tgctcgcgcg	catgaaccgc	agcagctcgt	cgtccggcac	18180
gcccggcgcg	agcgcgacgc	gcagcccgtg	gcccgcgacc	acggagtggg	gctcggccac	18240
ccgggtccggg	ccgatcccg	cgagcgcgcc	cgcgaggcg	ccggcgaa	ccgtgccgat	18300
cgcgacgccc	tcgcccgtgc	gcaccgcgaa	accgggtggc	agctccaggg	cgtggccgag	18360
ggtgtggccg	tagttgaggg	tgtgccgcag	gccggagtgc	cgctcgtcgg	cggccacgac	18420
gcgggcccctg	agggcgacgc	tcgcccgcac	ctggtccagc	agcggcagcc	ggtccaggcc	18480
cggcgcgcgc	atgaagtggc	agcgggagat	ctcgccgagg	ccgttgcgca	gctcgcgctc	18540
gggcagggtg	gcgagcaggt	cgaggtcgca	cagcacggcg	gcgggctgcc	agtaggcgcc	18600
gacgaggttc	ttgccctcgg	ggaggttgac	cgcctcttg	ccgccgacgc	tcgcgtcgac	18660
ctggggccagc	agcgaggtcg	gcacgtgcac	caccgggggtg	ccccgggtgg	agagcgaggc	18720
ggcgaggccg	accgcgtcgg	tggtggtgcc	gccgccgcag	gagacgacga	cgtcggcgcg	18780
ggtcaggccg	aactcggcga	accggctgca	caggtggg	acggtggcga	gggtcttg	18840
gtgctcgccg	tcgcggggcg	ggaggacgag	ggaggggacg	ccggggtcgg	gcgtctggtc	18900
cgcggggcg	gcggtgacca	cgacggcgcg	gcgcgcgcgc	agggcccgc	cgacgtccgg	18960
gagggcgcg	cgcacgcctg	gtccgatgtg	gacggtgtag	gcgcgctcgc	ccagctcgac	19020
ccggacctcg	cgggtggtgg	cggcggtggg	ggcggggtgg	gtggagctgg	gcaactgctt	19080
ctcctcgggt	gggcccggacg	gggggcgac	gggggacgcg	gaggggtgac	gggaaagcaa	19140
tcggggcagga	atgggaacgg	gtccgggggg	gaacgggcag	gaattcgaat	gggggcaagc	19200
gaccgggagc	gatcccagtg	gtggggcgga	agtgcggggc	gcggaaaggc	ggtcgtgctg	19260
cctcagccgc	cgcgcgcggc	gcccgtcacg	agcgtggtgc	gcagggtgag	cgcgcggccg	19320
gccgccacgg	ccgcgcggac	gccgaggcg	ttgtgggtca	gggtcgccg	ctcgaacagc	19380
accggcaggg	ccgggcggcg	gcggtccgcg	gcggcgcgca	gctgctccag	gtagcggccg	19440
cacgcgccc	ccgagccgac	cacgcgccc	ccgggcggcg	ccccctgcgc	ggcgacggcg	19500
gcctcggtgc	gctcgaccgg	gcggagcggc	ctgctccag	tctgccagca	gtggaacagg	19560
aacgcggggc	tggccgggtt	cggggccagc	gcgaccagtt	cggccagggtg	gtgcagcacc	19620
gtggcctg	cgcgcgactc	gccagggtcc	tcgcccac	ccgggctcac	caccgacgcg	19680
acgtccagg	ccagttcgct	ggacgcggtc	gcgaccagcg	gctcgaccgg	cccgcggcg	19740
agggccccc	ccggcagggc	ctcggccg	gggtcgacgc	gcaggtcg	ggccgcggcc	19800
tcggcgca	gcacggcgag	caccggggcc	cgcgcggcct	cggtcgtg	cagccacagc	19860
gccaccacc	ccgcccgcg	caggaacgac	cagtgcgcgc	ccgggtccg	cgcgcgcagc	19920
tcccgcacga	cggggggcag	cacctcgggc	accgagcggg	ctccaccg	tccagcgac	19980
cagcccgacc	aggacggggc	gcccgcgcgc	gggggtccgc	cgaggggcgc	tctcgcgga	20040
ccgggtccg	tcagtgtccac	caccacttcc	gccttggcga	gaacgggtcc	tgcgggatca	20100
ccgcgctgtt	ccgacgcgcg	cgacaatagc	gacgcgcaat	acgccgaatt	caccgccaaa	20160
tcaggtcagg	ggggttgagg	gggatgcctt	agggggcgag	tgcggcaaa	gcggaagaag	20220
aatcggaagc	acatgcagga	gcgacttcca	agctcaggcc	gcaggaccgg	gtccgcgtcg	20280
tcgcggacac	cccgggtcctg	cgcgtgcgcg	caccgaagga	cgtggtgaca	tgtctcgac	20340
cgacctgatc	cgcgggttc	ccgaactgct	cggggccaac	gcggatcgct	tcggcgacag	20400
gaccgcctac	tcggacggtc	gccgttcggg	cgggcacgc	gggctggaac	ggcgacgcg	20460
ccgcctcgcc	ggtcacctcg	ggcagttgcg	gctgcacccc	ggcgaccgg	cgatgatctg	20520
cctgggaaat	cgcgtcgaaa	tgatcgagag	ctatttcggc	gtgctccg	cggacgccgt	20580
ggcggtccc	gtgaaccgcg	gttccaccga	cgcggagctg	acccacctgc	tcgccgacag	20640
cggggcccgg	ctggtgatca	ccgacgcggc	gcgcgcgcag	cggttcgacc	ggttgcgcg	20700
cgagcggttc	ggcgacctga	ccgtgatcgc	caccagga	ggcccgtgc	ccgacggcgt	20760
catcgcttc	gagccgctgg	ccgccgagga	gccggagctg	ccgcgcgcg	acgggctcgg	20820
gctcgacgac	gtggcctgga	tgtctacac	ctccggcacg	accgggcgc	ccaagggcgt	20880
gctgtccacg	cagcgagct	gcctgtggtc	ggtggccgc	tgtacgtgc	cggtgccgga	20940
cctgcgcgc	gaggaccgcg	tgtgtggcc	gctgcgctg	ttccacagcc	tgtcgacat	21000
cacctgcctg	ctggccgcca	cggccgtggg	cgcgaccacg	cgcacgtgg	acggcacgtc	21060
cgcgcaggac	gtgctcgcg	cgctggagca	ggagcggctg	acgttcctgg	cggcgctgcc	21120
gacgtgtgac	cggtagctgg	tcgacgcgcg	ccgcgagcgc	gggttcaccg	ccccggacct	21180
gcgggtggc	ctggtcgggc	gggcggtgac	gacggcgag	ctgctgcgcg	cgttcgagga	21240
cacgttcggc	gtgccgctga	tcgacgccta	cggcagcacc	gagacgtgcg	ggcgatcgc	21300
ggtgaactgg	ccgaccgggg	cgcgcgtggc	gggtcgtg	gggtgccgg	tgccggggct	21360
gacggtgcg	ctggtggacc	cggagacgct	gctggacgtg	cccgcggggc	gggagggcga	21420
gttctgggtg	tcggggccga	gcgtgatgct	gggctaccac	aaccagccc	aggcgacggc	21480
cgaggtgctg	cgggacggct	ggtaccgcac	gggcgacctg	gggcgcgcg	acgagggcgg	21540
gttctgcacg	gtcaccgggc	ggatcaagga	gatgatcatc	cggggtggg	agaacgtgca	21600
ccccggcgag	gtcagggccg	tggtgcgggc	ggtgcgggg	gtggcgagc	tcgccgtcgt	21660
gggcaagccg	cacgacgtgc	tggcgaggt	gccggtggtg	ttcgtggtgc	cgggcgcggg	21720
cgggttcgac	ccggcgcg	tgtggcggc	gtgcgggag	gagctgtcgt	acttcaaggt	21780

gcccagaggag	gtctacgaga	tcgagcgggt	gccgcgcacg	gcgtcgggca	agaccacccg	21840
gcacgtgctg	ctggacctgc	ccgcccgggt	gcgggcgggc	tcgagcgggc	agttccagtc	21900
gctgctgcgg	ctggactggg	tgccgaggac	ggcgtgcgcg	ggtgaggagg	tcccggcgag	21960
ctgggtgctg	gtggacggcg	acccgctggg	gctcgcggac	gggttgcggg	ccacgggccc	22020
gcgggtgcgg	gtgggcgagc	cgggcgcgga	tgcgctgggc	gacggcggat	cggacgccga	22080
cgagccgggc	cgagcgagcg	cgggcgaaac	gggctcgggt	ggctcgggtg	agccgggctc	22140
gggtggctcg	ggcgaaaccg	gctcgggtga	accgggcgcg	agcagcgcg	gtgagccggg	22200
tgcggggtgag	ccgggcccgg	ccgaaccccc	gcaggtcgtg	ctggtcgcgc	cgggtccccg	22260
tgagcgtggt	gaggtcgcgc	gggacgtgga	ggcgtcgcgc	gacgggctcg	cgcggcggtc	22320
cgtcgggtgg	ctggccgacg	agcggttcgc	gggggcgcgc	ttcgtcgtgg	ccacctcggg	22380
cgcggtgctg	acctcccccg	gcgaggacct	gcgggagctg	cgggcggccc	cgtgtggggg	22440
tgtggtgcgg	tcggtgcagg	ccgcgttccc	cggtcgggtg	gtggcgggcc	acctggacgc	22500
gtccggcgac	gggcggggcg	cggcgttggc	tcgcgtcgtc	gcgggcgggc	acgaccaggt	22560
ggccgtgcgc	ggcgacgtgc	cgttggcgcc	ccggctggcc	aggggtgtcc	tgcggtccga	22620
cccgcccccc	gccccggcgc	tggacccgga	cgggctggtc	gtggtcaccg	gtggcgactc	22680
ggcgcgcggc	gcggccctcg	cgcggcacct	ggtggccgcg	cacggcgcg	ggcgcctgct	22740
gctggtctcc	cccagcgggc	tgcccagacca	ggccgcgcgc	gacctggagg	ccgggttcgc	22800
ggcggcgggc	gcgcgggccc	agtcgggtgg	gtgcgacctg	gccgacctgg	tcgcgctgcg	22860
cgcctctgct	gacgcgcagg	accgcccggg	cacggccgtg	gtgcacgtgc	agggcgggcg	22920
ggcgtgctg	gactcggcgc	gcgccctcgt	cgccctgcac	gagctgacct	gccaggcgcg	22980
accggcgctg	ttcgtcgtgg	tcacctcggt	ggccgggctg	ctgggctcgg	cgggcgacct	23040
ggcgcgcgcg	gcggccgacc	agttcgccga	ggcgtggtg	cgcaggcgcg	ccgaccgggg	23100
cctgccgggg	ctggccgtgg	cctggggctc	gctgccgggc	gagcccgcgc	aggcgggccc	23160
gggcgcgctg	ccgatggccg	aggcgtgac	cctggtcgac	gccgcgctcg	ccgccgacca	23220
gggcccgtg	gtggtgctcg	ggctcgacgc	ggtcgggtcg	cggcgcgcg	tgggcgcggt	23280
gccgcgggtg	ctgcacgacc	tggtcgacgg	cggtcgcgc	gcgcgggtcg	cgcgcggcgc	23340
ggtggccgag	ttcacgcgca	ggctcgcgga	ggcgggtggg	cagcggggcc	gacgcgtcgc	23400
gctggacctg	gtgcgcgagc	acgtcgcggc	ggcgtcggc	ctgcccagag	acaccccgtg	23460
gcgcgcgac	caggcgttcc	gcgacttcgg	cgtcacctcg	ctgacctgcg	tggcgctgcg	23520
cgaccggatc	aacgcgcgca	ccggcgcgct	cctgcccgcg	acggcggtgt	tcgaccacct	23580
gaccccggcc	gcgctcgcgc	accacctggt	gcgcgaggtc	accggcgacc	ggccgcacgt	23640
cgagcgggcg	cgggacgagc	gggcgcgcgc	gacctcgcgc	gcggacgagc	cggtggcgat	23700
cgtcgccatg	gggtgcaggc	tgcccggcgg	cgtggcctcg	ccggaggacc	tgtggcggtc	23760
ggtggacgag	ggcgtcgacg	cgatcgccc	gttcccgacc	gaccggggct	gggacctggc	23820
cacctgctc	gacggctcgg	actcgcggg	gaggtcctcc	gtggaccgcg	gtggtttcct	23880
gccgggcgcg	ggcgacttcg	acgccgggtt	cttcggcatc	tccccgcgcg	aggccctggc	23940
catggacccg	cagcagcggt	tgtctgtgga	ggtggtgtgg	gagaccgtgg	aacgcgcggg	24000
gatcgacccg	cgtcgtctgc	acggcgaaga	cgtcggcgtg	ttcagcgggc	tgatgtacca	24060
cgactacggg	accgaacccg	gttccgcgc	ggagggcctg	gaggggttcg	tcagcaccgg	24120
cagcgcgggc	agcgtggtct	ccggccgcgt	cgcctacgcg	ctcggcctga	ccggcccggc	24180
gctgaccgtg	gacacggcgt	gctcgtcgtc	gctggtggcg	atccacctgg	cggcgcaggc	24240
gctgcgctcg	ggcgagtgtc	cgatggcgct	cgcgggccc	gtcgcgggtg	tggggcagcc	24300
gacgtcgttc	gtggagtctc	cccggcagcg	cgggctcgcc	gccgacgggc	gctgcaagtc	24360
gttctccgac	gacgccgacg	gcacgaactg	ggccgagggc	gtgggcgtgc	tgtgtctgga	24420
gcggctctcg	gacgcgcgcc	gcgacgggca	cccggtgctg	gcggtgctgc	gcggcagcgc	24480
ggtgaaccag	gacggggcca	gcaacgggct	gaccgcgcc	agcggcccgg	cgcagcagcg	24540
ggtcatcagg	caggcgctgg	cgaacgcgg	gctgcgaccg	tcogaagtgg	acgccgtgga	24600
ggcgcacggc	accggcacca	ccctgggcga	ccgatcgag	gcgcaggcgc	tgtcgcac	24660
ctacgggcag	gaccgcgagc	agccgctgtg	gctgggctcg	ctcaagtcca	acctcgggca	24720
cgcgcaggcg	gcggcgggcg	tcgcgggcgt	gatcaagatg	gtgatggcgc	tgcggcacgg	24780
cgtctgccc	cgcacctgc	acgtcggcac	gccctcgtcc	aaggtcgact	ggtcggcggg	24840
cgcggtcgag	ctgctgacgg	aggccaggcc	gtggcgcgcg	aacgggcggc	cacgcggggc	24900
ggcgtgtctc	tcgttcgggg	tcagcggcac	gaacgcgcac	gtcgtggtgg	aggagcaccg	24960
ggaaccggcc	gccgcgcggg	tcgacccggg	ctcccccgcc	ctggcggtca	gcggcgcgct	25020
cgcgccgctg	gtgctgtccg	ggcgaccccg	ctcgcgcctc	gccgcgcagg	ccgcggccct	25080
gctggggcac	ctggccgacg	ggaccgacct	ggcgcgctg	ggccgcgcgc	tcgccaccac	25140
ccgcaccgcg	ttcgagcacc	gggcccgggt	cctcgcgcgc	gacgtcgacg	ccgcgcgcgc	25200
cggggtgcgc	gcgctcgcgc	aggaccggcc	cgcgcggaac	ctggtcaccg	ggcaggccga	25260
cgtggacggc	ccggtcgtgt	tcgtcttccc	cggccagggc	gcgcagtgga	ccggcatggg	25320
ccgggagctg	ctggagacct	cgcgggtgtt	cgcgcgcggg	ctgcgcgagt	gctcggaggc	25380
gctggagcgg	tggaccggct	ggtccctgct	cgacctgctc	gccgacgggg	cggagctgga	25440
ccgggtcgac	gtgctccagc	ccgcctcgtg	ggcggtgatg	gtggcgctgg	ccgcgctgtg	25500
ggagtctgtc	ggggtgcgcc	cggacgcgct	ggtcgggcac	tcgcaggcg	aggtggccgc	25560

cgcggtgcgcc	gccgggtggc	tgctcgctgga	cgacgcggcc	aggggtggtgg	cgctgcgcag	25620
ccgcgcgac	gccgagcacc	tggccgggcg	cggcggcatg	atgtccgtcg	ccgccggggc	25680
ggagcgggtg	gccgggctga	tcgccgaccg	gcagggccgg	gtgtcgggtg	ccgccgtgaa	25740
cgggccgtcc	gcgaccgtgg	tggccggggc	cgccgacgcg	ctgcccgagc	tggccgcgcg	25800
ctgcgagcgg	gagggcgctg	gggcccggtg	catcccggtg	gactacgcca	gccacaccga	25860
gcacgtggac	gcgctcgacg	gggtgctgca	ggaggtgctg	gcgggcgtca	ccgcgcaggc	25920
cgggcacgtg	ccgtggctgt	ccaccgtgga	cggcgagtgg	gtcgacggct	cggggctgga	25980
cgcggaactac	tggttccgga	acctgcgcgg	gaccgtgcgg	ttcgccgacg	cggtggcggc	26040
gctggcgggc	tccgggcacc	gggtgttcgt	ggaggtgtcc	agccaccggg	tgtcaccgcg	26100
cgcgaccggc	gaggtgctgg	aggccgcggg	ggtgcgcgac	gcgttgggtg	tcggctcgct	26160
gcggcgcgac	gacggtggcc	ccgagcgggt	cctcaccggg	ctcgccgagc	tgcacgcgcg	26220
cggcgctccc	gtggggctgg	aggcgggtgt	cgcgggcgcg	gacgggcggg	tggagctgcc	26280
gacgtacgcg	ttccagcacg	agcggtaactg	gctggcgcgc	ggcccggtgg	ccggggacgt	26340
gtccgggtcg	gggctggtgg	acgcggcgca	cccgtgtctc	ggggcggtcg	tgcgctgcc	26400
gggcacgggc	ggggtgctgc	tgtccggggc	gctctcgcac	cggcggcagc	cgtggctggc	26460
cgagcacgcg	gtggccggga	cgggtgctgct	gccgggcgcg	gcgacgtggt	agctggccgt	26520
gcgcgcgggc	gacgagaccg	ggtgcggggg	gctgcgggag	ctggtgatcg	ggcagccgct	26580
ggtggtgccg	ccggacgccg	aggtggacct	gcaggtgctc	gtcggcgggc	cggacgacgg	26640
gggcgtgcgg	gacctgcggc	tgtactcgcg	gaccggggcg	gcggcgaggt	gggtcgagca	26700
cgcggcaggc	gcgctcgccc	ccggcgggcg	ggtcggcggg	gcgcgaccgg	ccggggcgcg	26760
gacggccggg	gcgcgactgg	acggggcgcg	actggacgga	cagtggccac	ccgcggggcg	26820
ggaacccgtt	gcgctggaag	gcttctacga	gaacctggcg	gagctgggct	acgagtacgg	26880
gccgctgttc	cgggggctcg	cggcggcgtg	gacgcgcgac	ggcgaggtgt	tcgccgaggc	26940
cgtgctgccc	gaggaggcgt	tgtccgggca	ggcgttgtcc	gggcaggcgg	ggtccgggca	27000
ggcggggtcc	gggaacgggt	ccgggaacgg	gttcggcatc	caccgcggcc	tgttgacgg	27060
ggcgctgcac	gcgggcaacc	tgtgcgtgcc	gcccgcgcgc	ggccggacgc	tgttgccgtt	27120
cgcgtggaac	gaggtgcggc	tgcacgccac	cggggcgacg	gcggtgcggg	tgcgcgtgcg	27180
ggcgaccggc	gaggaactcc	tggagctgga	gctgtctcgac	gccgacggcg	cgcgcgtgcg	27240
gagcgtcggc	gggtgaccg	tgcgaccggc	ggtcacgggc	gcgcgcggcg	ccgagtcgct	27300
gcacgaggtg	gagtgaccg	aggtcgcggc	gggcgggttc	tggccggagg	tcgcgcgacac	27360
ccgcgactgg	gaggccggcg	ccgacctgcc	gacctggctg	cgcgagctgg	ccgcccgcg	27420
gctggaactg	gtgcaggacc	ggctggcggg	cgtggacggc	gcacctgctg	tgttgatcac	27480
cacgggcgcg	gtggcgggtg	ccgacgacgc	cgaggtcacc	gacctggccg	ccgcccgccg	27540
ctgggggctg	ctgcgctcgg	cgcagtcgga	gcacctcggc	cggttcgcg	tgttcgacgt	27600
cgacggcggc	gcggcggccg	aggtcgcggc	gctcgtgcc	ggcgacgagc	cgcagaccgc	27660
gctgcgcggc	gggtcgtgct	gggtcccgcg	cctgcgcggc	ctgcccccg	gtctcgtgcc	27720
gcccgcgggg	gcgcaactgg	acctggacgc	agtcaccacc	ggcacgctcg	acgggctcgc	27780
gctcgtggcc	tcggaaccgg	tcccgtgctg	ggccggggag	gtgcggatcg	aggtcagggc	27840
ggccgggcag	aacttcgggg	acgtgctggt	ggcgctggac	ggcgtcgcgg	gccaggaggg	27900
catcggcggc	gagggctccg	ggatcgtgac	cgaggtcggc	cccgaggtga	ccggattcgc	27960
cgcgggcgac	cgggtgatgg	ggctgttccc	gcgctcgttc	gggcgcgtgg	ccgtggccga	28020
cgcgcgcacg	gtggtgcggg	tgcgcgcggg	ctggtcgttc	accgacgcgg	cggccgtgcc	28080
ggtcgcgttc	ctgaccgcgc	tgcacggact	ccaggacgtc	gccgggctgc	gggcccggga	28140
gacggtgctg	gtgcacgcgg	cggcgggcg	cgtcgggcag	gccgcgctgc	agctcgccca	28200
ccacttcggc	gcgcgcgtgc	tggccaccgc	gcacctggcc	aagcacagcg	tgttgaccgc	28260
gctgggcgtg	ccgcgcgagc	ggctcgcctc	cagccgcgac	ctcggtacg	cgcggcgggt	28320
cggcgacgtc	gacgtggtgc	tgaactccct	ggtcggcgag	cacgtcgacg	cctcgctgcg	28380
gctgctgcgc	gcgggcggcc	ggttcgtgga	gatcggcaag	aacgacgtcc	gggacgccga	28440
ctcggtcggg	gacgtccgct	accgggtgtt	cgacctgggc	gcggacgcgg	ggccggaccg	28500
gatcggcgag	ctgctggagc	agctggtggg	cctgttcgag	tcgggcgcgc	tgcggccact	28560
gccggtgcgc	acgtgggacg	tcacctgcgc	ggcctcggcg	ttccgcgaga	tgagccgggg	28620
cgggcacacc	ggcaagatcg	tcctgacgat	ccgcgcggcg	ctcgaccccg	agggcacggt	28680
gctgatcacc	ggcggcggcg	gcacgtcgg	ggccaccgcc	gcccgcacc	tggtcaccgc	28740
gcacggcgcg	cggaaactgc	tgctggtcgg	caggcggggc	cccgacgcgc	ccgcgcgag	28800
cgagctggcg	gaggagctgc	gcgggctggg	cgcgacgtg	cgggtggcg	cgtgcgacgt	28860
cgcgcaccgg	gccgcgctcg	acgccctgct	cgcctcggtc	ccggccgggc	gcccgctgac	28920
ggcggtcgtg	cacgcggcg	gcgcgctcga	cgacggcacg	gtcacgcgc	tcaccccgga	28980
gcggttcgac	gcggtgttcc	gccccaaagg	ggacgcgac	gcgcacctgg	acgaggcgac	29040
ccgcgacgcc	gacctggccg	cgttcgtcgt	ctactcctcg	gcggcgggcg	tgtcggcaa	29100
cgcggggcag	ggcaactacg	cggcggcgaa	cgccgtgctg	gacgcgggtg	cccgcacccg	29160
gcacgcccgc	gccctcccgg	cgacctcgct	ggcctggggg	ttgtggagcg	acacgagcgc	29220
gctgaccgcg	acgatggacg	ggcgcgcggt	ggaccgcacg	cggcgcgcg	gcgtgctggg	29280
catgggcaac	gacgaggcgc	tggcggcgct	ggacgcgggc	ctggcgccg	ggctgcccgc	29340

gctggtggcc	gcccggatcg	acccggccgc	gctgcgcgac	cccgcgtcgg	ggtcgccgct	29400
gctgcgcggg	ctggtgcgcg	ccaccgcgcg	cacggccgcc	accgcgcacc	gggacgcgct	29460
gggcgggctg	gcccgaacgg	tggccggggt	gtcggccgcg	gagcaggacg	agctgctgct	29520
gggcctggtg	cgcagcgagg	ccgccgcgct	gctcggggcac	gcgagcgccg	agcgggtcga	29580
gccgcaggtg	gcgttccggg	acatgggggt	cgactcgctc	accgcgctgg	agctgcgcaa	29640
ccggctcgcg	gcggcgaccg	ggctgcgggc	gcccgcgacg	gcgacgttcg	accacccgac	29700
gcccgtgccc	ttcgccgcgc	tgctgcgggg	cgagctgctg	ggcgccgctg	tggtctcccg	29760
agccgtgacc	gcccgcgcgg	ctcccgtgac	cgccgcgcgc	cccgcgcgac	agccgatcgc	29820
gatcgtgtcg	atggcggtgc	ggctgcccgg	cggggtggtc	gaccgcggcg	ggctgtggga	29880
gctgctcacc	ggggagcggg	acgggatcgt	ggacttcccc	gacgaccggg	gctgggacct	29940
ggagtcgctc	taccacccgg	acgccgactc	ccccggcacc	tcctacgtgc	tgccgcgcg	30000
gttcctggac	gacgcgggcg	ggttcgacgc	cggttcttct	ggcatctccc	cgcgcgaggc	30060
cctggcgatg	gaccgcgagc	agcgggtgtt	cctggagacc	tgctgggagg	cgctcgagcg	30120
cgccgggatc	gaccgggtct	cggtgcgcgg	cagcgacacc	ggggtgttcg	ccgggatcat	30180
cgaccaggac	tacgggggtg	gcgcggggcac	ggcccccgag	gagctggagg	gctacctgct	30240
caccggcacc	gccacgtcgg	tggcgctccg	gcgggtggcc	tacctgttcg	ggctggaggg	30300
cccggcggtc	accgtggaca	cggcgtgctc	gtcgtcgctg	gtggccacgc	actgggcggt	30360
gcaggcgctg	cgccggggcg	agtgtctgat	ggcgctggcg	ggcggcgcga	ccgtgatggg	30420
gcggccgctg	gcgttcgtgg	agttctcccc	gcagcgcggg	ctggcgcggg	acgggaactg	30480
caaggcgttc	ggcgcggaag	cggacggcac	cggttcagc	gagggcgcg	gcgtgctgct	30540
gctggaagcg	ctctcggaag	cgccggcgcg	cgggcacccg	gtgctcgcg	tgatccgggg	30600
gtcggcgctg	aaccaggacg	ggcgctcgaa	cgggctgacc	gcgccagcg	gaccggcgca	30660
gcagcggtg	atccggggcg	cgctggccga	cgcgggcctg	cgcccgctcg	acgtggacgc	30720
ggtggaggcg	cacggcaccg	gcaccgcgct	cggcgaccg	atcgaggcg	gcgcgctgct	30780
ggcgacctac	ggcgcggaac	gggagggcg	ggaaccggtg	tggtgggggt	cgctcaagtc	30840
caacaccggg	cacacgctgg	cgccggcggg	cgtgtcgagc	gtgatcaaga	tggtgctggc	30900
gctgaaccac	ggcctgctgc	cccgtctgct	gcacgtgcgg	gagccgagcg	cgccgggtga	30960
ctgggagtcg	ggcggcgtgc	gcctgctgac	gagcgcccg	ccgtggccgg	agagcggcag	31020
gccccggcg	gcgggggtgt	cgctcgttcg	gatcagcggc	acgaacgcc	acctggtgct	31080
ggaagcccg	cctgcggagg	agggcgcggg	ggcgcgaggt	ggggcgggcg	cgccgggacc	31140
ggacaccggg	tcggcgccca	ccccggacgc	cccagcgggc	cccgtccaga	cctccggcgt	31200
gatccccctg	ccgttgtcgg	cccgtccgc	cgacgcactg	cccgcgcagg	ccgcgaagct	31260
ggccgcccac	gtcggggcgc	acgacgacct	ctcgccgctc	gacgtcggt	ggtccctcgc	31320
gaccaccgc	accgcgcacc	cgcaccgcgc	cgtgctcgct	ggcggcaccc	gcgaggcgct	31380
gctgtcgggc	gccgacgcgc	tcggggcgcg	cgaggccagc	caggccgtgc	tcaccggctc	31440
cgccgtcggg	tcgggttcgg	cgaagaccgt	gttcgtgttc	cccggccagg	gcgcgcagtg	31500
ggcgggcatg	ggccgtgagc	tgctggggtc	ctcgccgggt	ttcgccgcgc	ggctgcgcga	31560
gtgcgccgac	gcgtggcccc	cgcacaccga	ctgggacctc	ctggacgtgg	tgccgcggcg	31620
ggagggcgcg	ccgggggttc	agcgggtcga	cgtgctccag	cccacctcgt	gggcggtgat	31680
ggtggcgctg	gccgcgctgt	ggcgctcgtg	cggggtggag	ccgtccgcgc	tcgtcgggca	31740
ctcgcagggc	gaggtggccg	ccgccgtggt	cgccgggtac	ctggcgctgg	gcgacgcggc	31800
gcggctgatc	gcgcggcgca	gcagggccat	cgccgaggag	ctgaccgggc	gcggcgggat	31860
gctgtccgtg	ctcacctcgc	ccgagcggg	cgccgaactg	ctggagccgt	gggcccggaa	31920
gctgtggatc	gcggcggtca	acagccccgc	gtccgtctcg	gtgtccgggt	acgccgaggc	31980
gctgggcgag	ttcgtgcggg	tgctggccaa	ggcccggatc	aaccggtggc	ggctgcccgg	32040
cgtggacttc	gccgggcact	ccgggcacgt	cgacggcatc	gagggcgggc	tgccgcgagga	32100
gctggccgac	gtcaccgcgc	cggcgggcga	agtgccttgg	ctgtccaccg	tggaaggcg	32160
gtgggtggag	cgcaccaggc	tggacgccga	ctactggtac	cgaacctgc	gcgacgtggt	32220
ccgcttcgac	gagggcgctc	gcgcgctggt	ggacgcgggg	caccgggcgt	tcgtggaggt	32280
ctccacgcac	ccgtgctga	ccaccgcgat	cggcgaggtc	gccgacgagc	ggcaggacgt	32340
gcgggtcgcc	gtggcgggca	cgtgcgccg	cgacgacggc	ggcgcggaac	gggtcgtggg	32400
cgcgctcgcc	gaggtggccg	cctcgggcgt	ggcggtggac	tgggcgggcg	tggtcggcg	32460
gaccggggcc	gcgggtggtg	agctgccgac	gtacgcgttc	cgccacgagc	ggttctggct	32520
caccccgctc	ggcgcgagc	tgccgcgggt	ggggctgcgg	caggccgggc	acctgctgct	32580
gggcgcggtg	gtcagcgtcc	cggacaccgg	cgccgtgctg	ctgaccgggc	ggctgtcgct	32640
gtccgcgcag	ccgtggctgg	ccgaccacgc	gctgtccggc	gtgccgctgc	tgccggggac	32700
ggcgctggtg	gagctggcg	tgccgcgggg	tgacgagacc	ggcacgcggg	tggtggcgga	32760
gctggtgctg	ggcaggccgc	tcgtgctgcc	gcgcaccggg	tcggcgcagg	tgcaaggctc	32820
ggtgggcgag	gagggcgggg	acgggcggcg	gccggtcgcg	gtgtactcgc	gggcggggcg	32880
cgaccggccg	tggaccgagc	acgcctcggg	ctcgctcgcg	ccggacgagg	acgccgcgcc	32940
gggagcgggg	ggcgacgagt	ggccgcccgc	cgggggccgag	ccggtggacc	tcggcggttc	33000
ctacgacggc	ctcgccgaac	ggggctacga	ctacggcccg	gccttcgggg	gcctggtgct	33060
cggctgggtc	aggggcgacg	agggcttcgc	cgaggtcggg	ctgcccgcag	accagcacgg	33120

cgcggcggcc	cggttcgggc	tgcacccggc	gctgctggac	gcgccctgc	acgcggcctc	33180
gctgtgcgcg	ggccacggcc	ggggcacggc	gctgccgttc	acctggaccg	gcgtgcggct	33240
gcacgcggcc	ggggcgacgg	cgctgcgcgt	gcggctggag	gcggacgggc	cggagcgggt	33300
gtcgtgcgcg	gcgagcgatc	cggcggggac	gccgtgggtg	accgtcgggt	cgctgctgct	33360
gcgcgcgcgc	gacgcggacc	ggctgcgggc	gcacagcgcg	gcgacggcgg	cagcggcggc	33420
ggacgcaggc	ctgcacgcgc	tggagtggac	cccgcacccg	ctgcccaggg	agacgcaccg	33480
ttcccccgcc	gtcctggaca	ccagggcgctg	ggagctgccc	gagggcgctc	ggcggggccga	33540
ggcgatcacc	acgcgggtgc	tcgccgagct	ccaggccgag	ctcgacggga	cggcgaccct	33600
ggtcgtgggtg	acgcggggcg	cggtggccgt	gcatgacgac	gccgaggtca	ccgacccggc	33660
cgccgccgcg	gtgtgggggc	tgggtgcgcgc	cgcgcaggcc	gaggaacccg	gacgcgtcgc	33720
cgtggtcgac	gtcgacgacg	cctccgaggg	cgcgtggac	gccgcgcgcg	acgccgcggg	33780
cgcagaaccg	cagctcgccc	tgcgcggcgg	ggcggcgctc	gcgccgaggg	tggtcgaggg	33840
gtccggggcg	ctggccgtgc	cggacggggc	gtggcggtc	gacagcaccg	gccggggcac	33900
cctggagaac	ctggcgctcg	tgcccaaccc	cgcgcgggg	gcgccgctcg	cgcccgtca	33960
ggtgcggatc	gtggtgcggg	cgggcggcct	gaacttcggg	gacgtgctga	tcgcgctcga	34020
cgcctacgag	tcggagatcg	gcaccgaggg	cgcgggcgtg	gtcgtggagg	tcgcgccgga	34080
cgtaacccgc	gtggccgtgg	gcaccgcgtg	gatgggcatg	atccccggct	cgttcggggc	34140
gctggccgtg	gccgacgccc	gcacggtggg	gcgatgccg	cgcggctggg	cgttcaccga	34200
cgcggcgggc	gtgccggtcg	cgttcctgac	cgcctgtac	gggctgcgcg	acctcggcgg	34260
cctggcggag	ggcgagaccg	tgctggtgca	cgcggcggcg	ggcggcgctc	gcatggccgc	34320
cgtgcagctc	gcccggcact	tcggcgcgcg	cgtgctgggc	accgcgcacc	cggccaagca	34380
cgcgcgcgtg	gacctgcccg	ccgaccacct	ggcctccagc	cgggacctcg	cctacgcgca	34440
gcggttcggc	gacgtcgacg	tgggtgctgaa	ctccctgggtc	ggcgagcacg	tcgacgcctc	34500
gctgcggctg	ctgcgcgcgg	gcggccgggt	cgtggagatg	ggccggggcg	acctgcgcga	34560
cgcgcacgag	gtggcgcgcg	agcaccgccg	ccgcgcctac	ctcccgctcg	acctcggcgg	34620
cgacgcgcgg	ccggaccgga	tcgccgagct	gctggtggag	ctggtggccc	tgttcgagtc	34680
gggcgcgctc	cgcccgctgc	cgaccggcg	caccgacctg	gtgcgcgccc	ccgaggcggt	34740
ccgggccatg	agccaggggc	gccacgtcgg	caagctcgtg	ctcaccgccg	ccgcgcgcgt	34800
cgaccgcgac	ggcacggtcc	tgatcaccgg	cggcacggga	acctcgggcg	cggctctggc	34860
ccgccacctg	gtggacgcgc	acggcgctcc	gaacctgctg	ctggtcagcc	gcagcgccc	34920
caacgcgcgc	ggtgcggccg	acctggtcgc	ggagctggcc	gagcggggcg	cgaggggtcc	34980
ggtggccgcg	tcgcacgtgg	ccgagaagga	cgcgctcacc	gcgctgctcg	cctcgatccc	35040
caccggggcg	ccgctcaccg	gcgtcgtgca	cgcggcgggc	gcgctggacg	acgggggtgct	35100
caccgccttg	gacgccgacc	gggtcgcggc	ggtgctgcgc	cccaaggccg	acgccgccct	35160
gctgctgcac	gagggccaccg	aggacgccga	cctcgcgctg	ttcgccctgt	gctcgtcggt	35220
ggcggggcgtg	ctgggcaacg	cgggccaggc	gaactacgcc	gccgccaaca	cctacctgga	35280
cgcgctggcc	cagcaccggt	cggccgcggg	tctggccgcg	ctgtcgctgg	cctggggccg	35340
gtgggcgcag	accagcgcgc	tcaccgcaga	cctgcccgcg	cccggcggtc	gccgcgacct	35400
ggtgcgcccc	atggacaccg	cgcccgcgct	gcgctgctc	gacgcgcgcg	tcgcgaccgg	35460
acgctcgacg	gtcgtcgccg	ccgagctgga	cgtcacggcg	gccaccgcgg	cgaaccgggt	35520
gctgcgcggc	ctggtccggc	ccgcccgggc	cgcgctggcc	acgtccgcgc	gggacgagcg	35580
cggcgtggcg	gcggcgctgg	ccgggctggg	cgaggccgac	cggcgccggg	tcgtgctgga	35640
cctggtgcgc	tcgcacgccc	ccgtcgtgct	gggcctggcg	ggcaaggagg	ccgtggacgc	35700
cgagcgcgcg	ttcaccgaga	ccggttctga	ctcgctcacc	gccgtggagc	tgcgcaaccg	35760
gctcgccgcc	gcgaccgggc	ttcggtgcc	ctccacgctg	gtgttcgacc	acgccacccc	35820
gaccgcgctg	gccgcgcacc	tgccgcgcga	gctgaccggc	gacgacctgc	cgcaggcgcg	35880
ggcgcctgcc	gccacggcgg	gggcgcggga	cgacgaccgc	gtggtgatcg	tgtcggcgag	35940
ctgccgcctc	cccggcgggc	cggactcgcc	ggaggcgctg	tgggagctgc	tggagcgggg	36000
cagggacgcc	atcaccgccg	tcccgcgcga	ccggggctgg	gacctggagg	cgctctacga	36060
cgcgcacccg	gaccggccgg	gcaagagcta	cgtgcgcgac	ggcgggttcc	tcgccgacgc	36120
ggcggggttc	gacgccgagt	tcttcggcat	ctcccgcgcg	gaggcgctgg	ccaccgaccc	36180
gcagcagcgg	ctgctcgccg	agacctcctg	ggagctgttc	gaacgcgcgg	gcatcgcccc	36240
gacctcggtg	cgcggcagcg	acgtcggcgt	gttcgcgggc	gtgatcaacc	aggagtacgg	36300
cgtgcacagc	ggcacgaccc	ccgccgagct	ggaggggtac	gtgatgaccg	gctcgaccac	36360
cagcatcgcc	tccggccggg	tggcgtaacct	gctcgggctg	accggggccc	ccgtcaccgt	36420
ggacaccgcg	tgctcctcgt	cgctggtggc	gatccacctg	gcggcgaggg	cgctgcgctc	36480
gggcgagtgc	tcgatggcga	tcgcggggcg	cgcgacgggt	atcgcgaggg	cgggcgggtt	36540
cgtctcgctt	tcccggcagc	gcggcgcggc	ccccgacggg	cgtgcgaagg	cgctcggcga	36600
cggcgcgggc	ggcatggcgt	tcgccgaggg	cgtcggcctg	gtgctgctgg	agcggctctc	36660
ggacgcgcgc	cgcaacgggc	acccggtgct	ggcggtcgtg	cgcggcacgg	ccctgaacca	36720
ggacggcgcg	tccaacggcc	tgaccgcgcc	gaacggggcc	gcgcagcagc	gggtgatccg	36780
gcaggcgctg	gccaacggcg	ggctgtcccc	cgacgaggtg	gacgcggctg	acgcgcacgg	36840
caccggcacc	gcactcggcg	acccgatcga	ggcgacggcg	ctgctcgcca	cctacggggc	36900

ggaccgggac	ccgcggcggc	cgctgtggct	ggggtcgggt	aagtccaaca	tcgggcacac	36960
ccaggcggcg	gcgggcatcg	cgagcgtgct	caagatgggt	ctggcgatgc	agcggggcgt	37020
gctgcccgcg	accctgcacg	ccgacacccc	gacgacgaag	gtcgactggg	cctcgggcgc	37080
ggtggcgccg	ctgtcgcggg	cgcgggccgt	gcccggagacc	gggaggccgc	gcccggcggg	37140
cgtgtcctcg	ttcgggatct	ccggcaccaa	cgcgacagtg	ctgctggagc	aggccccgca	37200
ggacgcgccc	gccacgcggg	tcgccccgcg	gggcgcgggg	ctggtcgggg	cggtggcctg	37260
gccggtgtcc	gggcgcacgc	ccgcccgcgt	gcgcgcccag	gccgccaggc	tcgggacgca	37320
cctggcgggc	gcgcaggccg	gacccgccga	cgtgggctgg	tcgttgggcg	gcacgcggac	37380
ggcggttcgcg	cagcggggcg	tcgtggtggc	cgggacggcg	gagcaggccc	gtgacgggct	37440
ggcggcgctg	gccgaaggcc	gctcgtccgc	gctcgtgacg	accggtgagg	ccggggtcga	37500
cgggcgcggt	gtgttcgtgt	tccccggcca	aggggcgcag	tggatcggca	tgggcgcgga	37560
gctgatcgac	gcgtcgcccg	tattcgccga	gcggttgccg	gagtgcgcgg	aggcgtgga	37620
accgttcgtg	gacttcgacc	tgatcgaggt	gctgcgcgga	cgcggttcgc	tggagcgggt	37680
cgacgtgggt	cagcccgcg	cgtgggcggg	gatggtgtcg	ctggcagcgc	tctggcggtc	37740
gctgggcggt	gaaccggacg	ccgttgtcgg	gcactcgag	ggcgagatcg	cggcggcggc	37800
ggtcagcggg	gcgctcagcc	tgcccagcgc	cgacgcggtg	gtcgcgttgc	gcagcaaggc	37860
gatcgcccag	gacctggccg	ggctcggcgg	catgatgtcc	gtcgccctgc	ccgccgacga	37920
cgtcgacctg	agcgggtatc	ccggacgcct	gtgggtcgcc	gcgcacaacg	gccccacctc	37980
gaccgtgggt	gccggtgacg	tggacgcgct	gcgcgagctc	cacgcccact	acgagggcgc	38040
cgagggtccgg	gcccggatca	tccccgtcga	ctacgccagc	cacaccgggc	acgtcgacac	38100
catccgcgag	cggctcgccg	aggcactggc	gcacgtgcgg	ccgagggcgg	gcacgatccc	38160
gtggctgtcg	accgcgaccg	gcgagtgagc	caccggtgag	gacgcgcagc	ccgactactg	38220
gttccgcaac	ctgcgcggcg	cgtggggctt	ccacaccgcc	atcaccaccc	tcgccgagca	38280
gggccaccgg	gtgttcgtgg	aagtctccag	ccaccccggt	ctcaccaccg	ccatcgaggc	38340
cacgctcgaa	ggaaccggac	ccaccgccgt	caccggaacc	ctccgcgcgg	acgacggcgg	38400
ccccgaccgc	ctcctcacca	gcctcgccac	cctgcacgtg	cgcggcgtcc	acgctgactg	38460
ggacgcgggt	tacgcgggca	gcggcgcgca	ccgcacgagc	ctccccacct	acgcgttcca	38520
gcacgagcgc	tactggctca	ccgagccgga	cgcgcgcgag	gccgtcgcgg	acgccccgtt	38580
ctgggacgcc	gtggacagcg	gcgacgtggc	cgcgctcgcc	gggtccctgg	gcgtcgagcc	38640
cgccgcctcg	gagccggtgc	tgccggggct	gacgagctgg	cgggcccgcga	accgggacgg	38700
cgcgggccgtg	gacgactggg	cctaccggat	cggctgggag	cgggtggacg	tgcccgcgcg	38760
cccgtgttcc	gggacgtggc	tggctcgtgg	gcccagaggca	ctcgccgacg	acacctcggt	38820
cgccgaggtc	gcggcgggcg	tggccgcgcg	cggcgcgacg	ccgaggatcg	tggcggcggg	38880
cccggacctg	ggcccggacc	tgggtgacga	gccggacggg	gtgctgtcgc	tgttgccgtg	38940
ggacgaccgc	ccggccgggg	gcggcacgct	ctcgcgcggc	gtcgtggacg	cggtcgggct	39000
ggtgcgggag	gcggtgcggc	gcggttggtc	ggcccccgctg	tgggtgcgca	cgctcggcgc	39060
ggtcgccgtc	gccgaccccc	gcgaggtgac	ggccgagttc	gggcccgcagc	tgtggggcac	39120
gggcgtcgtg	ctgggcctgg	acctgccgga	cacctggggt	ggcctgggtcg	acctgccgcg	39180
gcggccggac	ggggtcgcgc	tggacctgct	gtgcgcgggt	gtcgcggggc	cgggcgacga	39240
ggaccagctg	gcggtgcgcc	cggccggggg	gttcgcgcgg	cgcatgaccc	gacgcccggg	39300
cgcgctcgcg	cccgcgtggc	gaccgcgcgg	gacggtgctg	gtcacccggc	gcaccggcgg	39360
cctcggcggc	tacgtcgccc	ggtgggcggc	ggagcggggc	gcgcgggacg	tggtgctgct	39420
ctcgcgcggc	ggcccggacg	cgccggggcg	ggacgcctcg	gtcgccgaca	tcacggcggc	39480
gggcgcccgc	tgcgcggtgc	tggcctgcga	cgtcacccgac	cgggacgcgc	tggccgaggt	39540
ggtcgcgaa	ctgccggacg	ggccgctgtc	ggtggtgcac	gccgcggggc	tggcgcgacc	39600
gggacggccg	ctggtggaga	ccacgccgga	ggagttcgcg	gccatcggcc	ggggcaaggt	39660
cgcgggcgcc	cgctgctgg	acgagctgct	gggcgaccgg	gagctggacg	cgttcgtgct	39720
gttctcctcg	ggcgggcgcg	cctggggcag	cggcgggcag	gccgggtacg	cgcggggcaa	39780
cgcttctctg	gacgggctcg	cgacgcgag	gcgcgcccga	gggctcgcgg	ccacctcggt	39840
ggcctggggc	gcgtggggcg	gcgtcgccac	ggtcgacgag	gtgctggggc	agcagtggcg	39900
gcgcgcgggg	ctgctcacca	tggacccgcg	cctggccacc	ctcgccctcg	cgcacgcccgt	39960
gggtctgggg	gaggcgacc	tgctcgtcgc	ggacgtcgac	tgggcccgtc	tcgccccgcg	40020
ctacgcgctg	gccaggccgc	gcccgcgtgct	ggcggcgctg	cccagggctg	ccgacgcgct	40080
ggcggtcgtg	gacgcgcccg	ccgacgcggg	ggggatcggg	gcgcgggctg	ccgggctgcc	40140
gcccgcggag	caggagcggc	tgctcaccca	gctggtgcag	gcggaggcgg	cgcccgctgct	40200
gggcctgggc	ggcatcaccc	gcgaccgggc	gttcggggag	gtcgggttcg	actcgctcac	40260
ggcgtgggag	ctgcgcaacc	ggctcggcgc	ggccacgggt	ctcacccctg	ccgcgacgct	40320
ggtgttcgac	cacccgcgcc	cgagcgccct	ggccgcgcac	ctcggttcg	cgctgggccc	40380
ggccgcggcg	ccggtggact	cggtggcggg	cgtgctggcc	gagctggacc	ggctggaggc	40440
ggccatcccc	gcgctgccgt	cgcccgagat	cgcccggtcc	cggtggagc	tgcggctgcg	40500
gcggttgagc	gcccgcgtcg	gcgagctggt	cgccgcgaac	ggcgagcggg	cgaacggcgg	40560
gcgcgcgaac	ggcgggcgcg	cgccggccga	cgagctggac	gacgcggggg	ccgaggacgt	40620
gctcgcgttc	atcgaccggg	agttcggggg	cgcgtgagcg	gccacacgag	ccccgacccc	40680

ggccccacc	gcggcccca	caacgacgac	cctggcgagg	aacagatggc	gaacgacgag	40740
aggtcctca	gctacctca	gcgggtcacc	gccgacctgc	accgcacgcg	ggagcggctg	40800
cgcgaggcg	agtccggggc	ggacgagccg	atcgcgatcg	tcggcatggc	ctgccgcttc	40860
cccggcgcg	tgcgcacccc	ggacgagctg	tgggagctgg	tggcgcccg	ccgcgacggc	40920
atcggcccgt	tcccggacga	ccggggctgg	gacctgggcg	cgctgttcga	ccggaccccc	40980
gacgccaccg	gccgctccta	cgtcaccgag	ggcgggttcc	tggacgacgc	ggccctgttc	41040
gacgcgggct	tcttcgggat	ctccccgcgc	gaggcgctgg	ccaccgaccc	gcagcagcgg	41100
gtgctgctgg	agaccgcgtg	ggagaccttc	gagcaggcgg	gcacgcaccc	gacctcgctg	41160
tccgggcagg	acgtgggcgt	gttcaccggg	gtcgccaacg	gggactacgc	gctgaccgtg	41220
gaccgggtgc	cggagggtct	cgagggtctac	ctgggcatcg	gcggggcggg	cagcatcgcc	41280
tccgggcgca	tctcgtaact	cctgggtctg	gagggtccgg	ccgtcacgct	ggacaccggc	41340
tgtcgtcgt	cgctggtcgc	gatgcactgg	gccgggcacg	cgctgcgggc	gcgggagtgc	41400
tcgctggcgc	tcgcgggcgg	cgtgatggtg	atggcgacgc	cgggtgggtt	cgctcgggtt	41460
tcccggcagc	gcgggctggc	ccgcgacggg	cggtgcaagt	cgttcggcga	cggcgcgga	41520
ggcacgtcgt	ggtcggaggg	cgtgggtctg	ctgctgctgg	agcggctgtc	ggacgcgcgg	41580
gccaacgggc	acgaggtgct	tgcggtggtg	cgcggttcgg	cgatcaacca	ggacggggcg	41640
tccaacgggc	tcaccgcgcc	caacggggcg	tcgcagcagc	gggtgatccg	cgcggcgctc	41700
gacgcggcgg	ggctcgggca	cgcggacgtc	gacgcggtgg	aggcgcacgg	caccgccacg	41760
gtgctcggcg	acccgatcga	ggcgcaggcg	ctgctgaaca	cctacggggc	gcaccgggac	41820
ggggcgacgc	cgctctacct	ggggtcggtc	aagtccaacc	tcgggcacac	ccaggcgggc	41880
gcgggcgtgg	ccgggggtgat	caaggcggtg	caggcgatgc	gccacggcgt	gctgccgccc	41940
accctcaacg	tcggcacgcc	caccaccaag	gtcgactggt	cctcggggcg	ggtggagggt	42000
ctggcgagg	cccggccgtg	gccggagacc	gggcgtccgc	gccgggtggg	cggtgctcg	42060
ttcggcgtga	gcggcaccaa	cgcgcacgtg	atcctggagc	aggcaccgga	gcacgagcca	42120
gcgccggagg	agccgggtgg	gcgcggggcg	gtggcgcgcg	gcggcgcgac	gccgtggacg	42180
ctgtccgggc	gcacgcccgc	cgcgctcgcc	gaccaggcgc	ggcggctggc	cgggcacgtg	42240
acggccgacc	tgcgggcgga	ggacgtcggg	ttctcgctgg	ccaccaccag	ggcgcacctg	42300
gagcaccggg	cggtggtggt	cggctcggac	gggtcggcgg	cgctggccga	aggcgcctcg	42360
tccgcagctg	tgacgaccgg	tgaggccggg	gtcgacgggc	gcgtggtggt	cggtgtcccc	42420
ggccaagggg	cgcagtggat	cggcatgggc	gcggagctga	tcgacgcgtc	gccggtattc	42480
ggcgagcgg	tgcgcgagt	cgcggaggcg	ctggaaccgt	tcgtggactt	cgacctgatc	42540
gaggtgctgc	gcggacgcgg	gtcgctggag	cgggtcgacg	tgggtgcagc	cgcgtcgtgg	42600
gcggtgatgg	tgtcgtggc	agcgtctgtg	cggtcgtgg	gcgtggaacc	ggacgccgtt	42660
gtcgggcact	cgcaggcgga	gatcgcggcg	gcggcggtca	gcggggcgct	cagcctgccc	42720
gacgccgcag	ccgtggtcgc	gttgcgcagc	aaggcgatcg	cccaggacct	ggccgggctc	42780
ggcggcatga	tgtccgtcgc	cctgcccgc	gacgacgtcg	acctgagcgg	gtatcccgga	42840
cgcctgtggg	tcgccgcgca	caacggcccc	acctcgaccg	tgggtggccg	tgacgtggac	42900
gcgctgcgcg	agctccacgc	ccactacgag	ggcgcggagg	tcggggcccg	gatcatcccc	42960
gtcgactacg	ccagccacac	cgggcacgtc	gacaccatcc	gcgagcggct	cgcgcaggca	43020
ctggcgacg	tgcggccgag	ggcgggcacg	atcccgtggc	tgtcgaccgc	gaccggcgag	43080
tggaccaccg	gtgaggacgc	cgacgccgac	tactggttcc	gcaacctgcg	cggcgcggtg	43140
ggcttccaca	ccgccatcac	caccctcgcc	gagcaggggc	accgggtggt	cgtggaagtc	43200
tccagccacc	ccgtgctcac	caccgccatc	gaggccacgc	tcgaaggaa	cggacccacc	43260
gccgtcaccg	gaaccctccg	ccgcgacgac	ggcgcccccg	accgcctcct	caccagcctc	43320
gccaccctgc	acgtgcgcgg	cgtccacgtc	gactggaagg	ccgtgttcgc	cggcacgggg	43380
gcgcgcgcg	tcccgtgccc	gacctacgcg	ttccagcacg	agcgtactct	gctggaccgg	43440
ggcgcggcg	ccggtgacgt	cacgggcgcg	ggcctggccg	acgcggcgca	cccgtgctg	43500
gccgcgctcg	cccagctgcc	cggcaccggc	ggggtgctgc	tgagcggggc	ggtgtcgcgg	43560
gcgacgcacc	cgtggctggc	cgagcacgtg	gtgaacggga	ccgcgctggt	gcccggcacg	43620
gccttggtgg	agctggcgct	gcgcgcgggc	gacgaggtgg	acgcgcccg	gctgcgcgag	43680
ctggtgatca	cccggccgat	gccggtgccg	gagcggggtt	tcctgcacgt	gcaggtggac	43740
gtcgcgggtg	cggcgacga	cgggtcgcgg	gcgggtcgga	tctggtcgcg	gcgcgaggac	43800
gcggcgacgc	agacggcccc	ctggaccgag	cacgccaccg	gctccctcgc	ccccgacgac	43860
gcggccccgc	ccgcgccgcg	gagcggcgcg	tggccgcccc	agggcgcggc	ggccgtggac	43920
gtggacgact	tctacgaccg	cctcgcgggc	gcgggctacg	agtacggggc	gctgttccag	43980
ggcctcaccg	ccgcgtgggc	cggggacggg	caggcgtggg	ccgaggtggt	gctgcccgg	44040
gaggcgggcg	ggttcggcgc	gcacccggcg	ctgctggacg	cggcgctgca	cgtgggcacg	44100
ttctgcctgc	ccggcggggc	ggggtcgcgc	acgtgctgct	cgttcgcgtg	gacgggcgtg	44160
cggctgcacg	ccaccggcgc	gacggcggtg	cgggtgcacg	cccgcgccac	cggcgacgac	44220
ggcctcgtcg	tggagctgcg	cgacgcggac	ggggaaccgg	tcgtgacggt	cgacgcgctc	44280
gtgctgcgcg	acgccgaccc	cgccgacgcg	caggccccgg	acgtcacggc	ggacgcggtg	44340
tggcgggtgc	ggtgggtcga	gcagccgccc	gcgcccgcgg	cgcgcggctg	ggtgctgctg	44400
ggcgggcccgt	ccgggcacgc	cgggttcgcc	gcctgcgcgg	tgttcgcccga	ccctgcggcc	44460

gtggcgggcg	tgcccagagg	cgaccggccc	gcggtggtcg	tcgtggacac	caccgcgtgt	44520
cgggagcccg	ggcgggacgt	gccgggggcg	gcgcggggcg	tcgtggtgcg	ggcgctggag	44580
ctgctggtgg	cgtggtgctg	cgaggacgcg	ctggccggga	cccactggt	gctagtcacc	44640
agcggcgcg	tgccggtgcg	cgcggacgcc	gaggtcaccg	accccgctgc	cgcggcggtg	44700
tggggtctgc	cgcgctcgcc	gcagtcggag	caccggacc	gggtgtggct	gctggacgtc	44760
gacgagcccg	gcgcggcgcc	gggcgcgctg	gcctcgccgg	agccgcagct	ggccgtcccg	44820
gcgggcgcg	ggttcgcgcc	ccggctcgcc	agggccgagg	ccgcgcccgg	cgcgctgccc	44880
gtcgacgggc	cggtgctggt	caccggcgcc	accggcacgc	tcggcgcgct	cgtggcccgg	44940
cacctggtca	ccgcgcacgg	cgcgcggaac	ctgcacctgg	tgagcaggcg	cggcccggac	45000
gcgtccggcg	ctcgagaact	cctggacgag	ctgcgcgggc	tgggtgccga	ggtcgagctg	45060
tcggcgctgc	acgtggccga	ccgggtggcg	ctgcgcggcc	tgctggggcg	cgtgcgcccc	45120
gccgccgtgg	tgacgcggc	gggcgcggtg	gacgacggcc	tgctcaccga	cctgaccgcc	45180
gaccggttcg	acgccgtgct	gcggcccaag	gtcgacgcgg	tcgcccacct	ggacgacct	45240
ctcggggacg	tgccgctggt	ggtgtttctc	tcgcgcaccg	gcacctcgg	cacccccggc	45300
caggcgaact	acgccgcggc	caacgcggtc	gccgacgcgc	tcgtgcagcg	ccgcgcgcgc	45360
cggggcctgc	cgggcgtgtc	gctggcgtgg	ggcctgtggt	cggacaccag	cgagctgacc	45420
gcgacctagg	acgccgccga	cgtggcccgc	acccgcgggg	gcggggtgct	cggcctggac	45480
gcggcgcgcg	gcctggcgct	gctcgacgcc	gcgctcggcg	cggacgacgc	gctgctcgtg	45540
ccgatccacc	tggacaccgc	cgcgctgcgc	cggggggccg	acccggctcc	gccgctgctg	45600
cgcggcctgg	tccgccgcgc	ccggcgcgcg	gcgggcggcg	cccggcaggc	cgcgctgccc	45660
ctggtggcg	gactggccgg	ggtggacgcg	gcggagcggc	ggcgggcgct	ggtggagctg	45720
gtgcgcgcgc	aggccgcgcg	cgtcctcggg	cacggcgggc	cggacggcat	cgggcaggac	45780
cagccgttcc	gggaggtcgg	gttcgactcg	ctcacggccg	tggagctgcg	caaccggctc	45840
ggcgcggcca	cgggtctcgc	gctgcccgcg	acggtggtgt	tcgaccaccc	gacgtccgcg	45900
cgggtcgccg	agcacctgcg	ggagctgctg	ttcggcgcg	agacggctca	ggcccccgcg	45960
cggcgggagg	tgggtggccga	cgacgacccg	atcgccgtgg	tgggcatggc	ctgccggttc	46020
atcggccccg	tcccgacga	ccggggtcgg	gacctgtcgg	cgtgttccga	cccggacccc	46080
gaccacgcgg	gcacctcgta	cgtgcgggaa	ggcgggttcc	tcgacggggc	gaccgggttc	46200
gacgcgccgt	tcttcggcat	ctccccgcgc	gaggcgctgg	ccatggaccc	gcagcagcgg	46260
ctgctgctgg	aggtggcgctg	ggagacgttc	gagcaggcgg	gcatacaacc	gcgctcggcg	46320
cacggcaccg	acaccggggg	gttcgcgggc	gtgatctacc	acgactacgg	cgaggcggcg	46380
ggcgagctgc	ccgagggcg	ggagacctac	cgcagcaccg	gcacgtcggg	cagcgtggtg	46440
tccggcccg	tcgcctacgc	gctgggcctg	accggcccgg	cgtgaccat	cgacacggcc	46500
tgctcgtcgt	cgtggtggc	gatccacctg	ggcgcgcggg	cgtgcgggc	gggcgagtg	46560
tcgatggcg	tggtcggcg	ggtgacggtg	atgtcgacgc	cgggcgggtt	cgtgagcttc	46620
tcgcggcagc	gcgggctggc	cccggacggg	cgggtgcaagt	cgttctcggg	gggcgcggac	46680
ggcaccgggt	tcagcgaggg	cgtcgggctg	gtgctgctgg	agcggctgtc	ggacgcgcgg	46740
gccaacgggc	acgaggtgct	tgcgggtggt	cgcgggtcgg	cgggtgaacca	ggacggggcg	46800
tccaacgggc	tcaccgcgc	caacgggccc	tcgcagcagc	gggtgatccg	cgcggcgctc	46860
gacgcggcg	ggttggggca	cgcggacgtg	gacgcggtgg	aggcgcacgg	cacgggcacc	46920
accctcggtg	acccgatcga	ggcgcaggcc	gtgctcgcca	cctacgggca	ggaccgcgag	46980
cagccgctgt	ggctgggcac	gctcaagtcc	aacctcgggc	acaccacagg	ggcggcgggc	47040
atcggcagcg	tgatcaagat	gatccaggcg	atgcggcacg	gcgtgctgcc	gcgcacctg	47100
cacgtcaccg	agccgaccac	ggcgtgggac	tggggcgcg	gcgcggtgga	gctgctgacg	47160
cgggcgcggg	agtggccgga	gaccgggctg	ccgcgcgggg	cgggggtgtc	gtcgttcggg	47220
gtgagcggca	cgaacgcgca	cgtgatcctg	gagcaggccc	ccgaaccggt	ggcgggtggg	47280
gcggcgccgg	aggcgggggt	gctgcgctgg	gtgctgtcgg	cccgcacgcc	cgaggcgctg	47340
cgggagcagg	ccgaccggct	cgtggcgcac	ctggggggtg	agtcgtcctc	ggcggccgtg	47400
gcccggtcgc	tgggtctggg	tcgggcggcc	ctggaggagc	gggcccgtgg	cgtgggcgac	47460
cgggcgcgcg	ccggggaggc	ggtgcgggcg	ctggccgagg	ggcgccctc	ccccgcgctc	47520
gtcaccgggc	ggaccggggt	cgaggggcgc	gtgggtgttc	tggtcccccg	tcagggcgcg	47580
cagtgggtcg	gcatggggcg	tgcgctgctg	gacgcctcgc	cgggtgttcg	cgaacgcctg	47640
cgcgagtgcg	cggcgccct	gcgcccgtac	acgactggg	acctggtcga	ggtgatcacc	47700
tcgggtggcg	cgtggacga	cgtggacgtc	gtgcagcccg	cgtcgtgggc	ggtgatggtg	47760
tccctcgcg	cgtgtggcg	ctcgtcggc	gtcgaaccgg	acgcggtgat	cgggcactcg	47820
cagggcgaga	tcgcgcgcgc	gaccgtcgcg	ggctggctca	gcctccagga	cggcgcgagg	47880
atcgtcgcgc	tgcgacgcca	gctgatcgac	gaggagctga	ccgggctggg	cggcatgatg	47940
tccgtcgccc	tgcccgcgga	ggacatcgac	ctgagcgggt	acgagggccg	ggtgtgggtc	48000
gcgacgggtca	acgggcccag	cgcgaccgtg	gtgcgcgggg	acaccggggc	actggaggag	48060
ctgcggcgcg	gctgcggcga	ggcgggtccg	acgcgggtga	tccccgtgga	ctacgccagc	48120
cacaccgggc	acgtcgacgc	catccgcgac	cagctcgccc	ggatgctcgc	cgacgtcacc	48180
ccgcggcccc	gcgagatccc	gtggctgtcc	acggtgacgc	gcgagtggat	cacccccggc	48240

gacgacgacg	ccgactactg	gttccacaac	ctccgcccga	ccgtccactt	cgccgacggg	48300
atcaccaccc	tgctcgacgc	cgggcaccgg	gtgttcgtgg	aggtctcttc	gcaccccggtg	48360
ctggcgccgg	cggtgcagga	gagcgccgag	gcggccgggg	acgcgcgggt	cgccgtgacc	48420
ggcacgctgc	gcccgcagca	cggcggctgg	gaccgggtcc	tgaccggcct	ggccgagctg	48480
cacgtgcgcg	gcgtggacgt	ggactggacg	cgggtgctgc	ccgaggcggg	gcgggcgcgcg	48540
ctgccgacgt	acgcgttcca	gcacgagcgc	tactggccgg	aaccgcgcgc	cccggccgcc	48600
gcgccggggc	gtggtgacga	cgcgctgtgg	gcggtgatcg	aggggtggtga	cgccggcgac	48660
ctggccgggg	agctggccgt	ggacgaggac	gagctggcgc	gggtgctgcc	cgccctgacc	48720
tcctggcgcc	ggcgagcccg	ggcaaggagc	gcgctcgacg	gctggcgcta	ccgggtcgac	48780
tgggtcccg	tccccacgag	cgggtctggg	ctgcccggcg	ggcaagcgct	gtccggcggg	48840
caggcgctgt	ccggcgggcc	gaggtcgtcc	ggcgggcgag	ggctctccgg	cggtcagggg	48900
acgccaggcg	ggtccgggtc	gcccggcgga	gcggcactgc	caggcgggcc	agggctcgccc	48960
ggcgagcgcg	cgctgcccgg	ccgggtggcc	gtggtggtgc	ccgcgaacga	cgagcgggcg	49020
cgggcggtcg	cgggcgggct	ggtcgcgcg	ggtgtggacg	tgaccgtcgt	ggcgcggtc	49080
gacgccaccc	gcgacgggct	ggcgaaggcg	ctgcccagac	gccccgacgc	cgtggtgtcg	49140
ctgctgtcct	gggacgcggg	ggccgacgag	ccgggcgcgc	ccggttcggc	cacggcccg	49200
ctggtgcagg	ccctggccga	ccggggtgcc	accgggcccgc	tgtggtgcgc	gaccgggggc	49260
gcggtgagcg	tcgcgggcga	ggacgcccgc	cccagccaag	ccgccgtgtg	ggggttgggc	49320
ggggtgctgg	ccctggacct	gccggaggcg	ttcggcgga	tggtcgacct	gccgcggcag	49380
cccaccgacg	ccgacctcga	cgcgttcgcc	gccgcgctga	ccgccccgg	cgccgaggac	49440
cagctcgcg	tgccgcagcg	ccgcctgctg	gcccgcgcgc	tggtcgcgga	cggggccga	49500
gcgccggagt	ggacgcccgc	cggcgcggtg	ctggtcaccg	gcggcacccg	cgccctcggc	49560
acgcacgtgg	cccgttggt	cgcccgtctc	ggggccgggc	acgtcgtgct	cgccagccgc	49620
tcgggccccg	ccgcccccg	cgcggccggg	ctggccgcgc	aggtggaggc	gctgggcgcg	49680
cggtgcagcg	tgggtggcct	ggacgtggcc	gaccgggacg	cggtggccgc	cgtgctcgcc	49740
gacgtcgagc	gggacgggcc	gctgaccgcc	gtggtgcacg	cggcgggcgc	gggactggcc	49800
ccgacgcggg	tgggtggagct	gaccgcggg	cgtacgcgg	acgtcgccgc	cgccaaggct	49860
gagggcgcg	gggtgctgga	cgaggtgctc	gccagccggg	cgtggagcgc	gttcgtgctg	49920
ttctcctccg	cgcgggccgt	gtggggcagc	ggcgggcagg	ccccgtacgc	ggcggccaac	49980
gcgttcctgg	acgggctggc	cgcccgcagg	cgggcgcgcg	ggctcgtggc	cacctcggtg	50040
gcgtggggcg	gctggggcg	cggcctcggc	atgatcggcg	acggggagcgc	ggagcggtgg	50100
gcccggctgg	gcatccgcac	gatggaccgc	gaggcgcgcg	tgccggcat	ggcgctggcg	50160
gtcggtccg	ggcgggccgc	gagcgtggtg	gcccagctcg	actgggccc	gttcgcccc	50220
ggctacgccc	tggcgcgga	gcgcccgtg	ctgcgcgggc	tgccggagg	ggtggcgctg	50280
ctggccgaac	cggacgagcc	cgccgcggcg	gtggacgcgc	ggggcgcgct	ggcgcccg	50340
ctgaccgggc	tggacgcggc	cgggcaggac	gagctgctcg	cggacctggt	gcgggcgcag	50400
gcggcgcgcg	tgctggggtt	cgccgacct	ggcgcggtcg	cggcggaccg	ggcgttcaag	50460
gacgcgggt	tcgactcggt	gaccgcctg	gagctgcgga	accggtggg	cgcggccacc	50520
gggctgcggc	tgccgcccgc	cgtggtgttc	gaccaccga	aaccctggc	tctggcgcg	50580
gtgctgcgcg	ccgagctggt	ccccagcg	ggggacgggg	tgacggcggc	gcaggtggcg	50640
caccgggagg	acgcgatccg	gcgggtgctg	gcgtcggtgc	cgctggccc	gttcgaggag	50700
ctgggcgtgc	tcggcgcgct	cgtggacctc	gtgcccgcgc	cgccaccggc	ggcgggcgcg	50760
gcgacagcg	agcgggacga	cctggcgga	ctggcggagc	tggacctgga	cggtctggtc	50820
cgcaggggca	tgccggcac	caccgcccgg	aacgactgag	gctttgatgc	ggagcggaga	50880
gagcatgagc	gcgggcacct	cgccggagag	cgtcgtccag	gccctgcgga	ccacgctggt	50940
ggacaacgag	cggctgcggc	gggagaacga	gcggctggtc	gccgaggccg	gtgagccggt	51000
ggcgatcgtg	tcgatggcgt	gccggtgcc	cggcggcgtc	accgaccgg	agtcgctgtg	51060
ggagctggtg	cgcgagggcc	gggacgccat	cgggcggttc	ccgaccgacc	ggggttgga	51120
cctggggtcg	ctgttcgacg	acgaccggga	cgcggcgggc	tcctcgta	tgccggagg	51180
cgggttcctg	gcgcgggcg	gcgggttcga	cgcgcggttc	tcggcatct	ccccgcgcga	51240
ggccctggcc	atggaccgc	agcagcggt	gctgctggag	gtggcggtgg	aggccgtgga	51300
gcgggcccgg	ctcgaccgc	gctcgctgga	gggcgggac	gtcgcggtgt	tcgcgggcg	51360
caaccgcag	ggctacggcg	gcggaccggg	tgacgcccc	gagggcctgg	agggttcct	51420
gggcgtcaac	gcctcgctcg	cgggtgatctc	cgggcgggtc	tcctacaccc	tgggcctgac	51480
cggcccggcc	gtcaccgtgg	acacggcggt	ctcgctcgct	ctggtggcga	tcacacctgg	51540
ggtgcggtcg	ctgcgctcg	gggagtgtc	gatggcgctc	gcgggcgggg	tgaccgtgat	51600
ggggcagccg	accgcgttcg	tggagtcttc	gcggcagcgc	gggctcgccc	cggacgggcg	51660
gtgcaagtgc	ttcggcgacg	gcgcggacgg	cacgtcgtgg	gccgaggcg	tcggcggtg	51720
gctgctggag	cggctctcgg	acgcgcggcg	cgacgggcac	gaggtgctgg	cggtgatccc	51780
cggctcgcg	gtgaaccagg	acggggcgctc	caatggcctg	accgcgccga	acggcccgtc	51840
ccaggagcgg	gtgatcgcg	cggccctggc	cgacgcgggt	ctcggcctgg	ccgacgtgga	51900
cctgctggag	gcgcacggca	ccggcaccag	gctgggcgac	ccgatcgagg	cgcgggcgct	51960
gctcaacacc	tacggccggg	gcaggccgca	ggaccggccg	ctgtggctgg	ggtcggtgaa	52020

gtcgaacctc	gggcacgccc	agtcggcgtc	gggggtggcg	ggcgtgatca	aggtggtgca	52080
ggcgatccgg	cacggcctga	tgccgcgcac	gctgcacgcc	gacgagccga	gctcgaacgt	52140
ggactggggc	gcgggggccc	tggagctgct	ggcgcgcgag	cgggagtggc	cggagaccgg	52200
gcggggcgcg	cggggcgcg	tgtcgctggt	cggggtgagc	ggcacgaacg	cgcacgtgat	52260
cgtggagcag	gcgcccagag	aggccgcgcg	cggggtcgcg	gcggcggggc	ggccccgcgc	52320
caggtcggcg	ggcgggagag	acgcgggat	cgcggcggtg	accgggcagg	ccgccccgcg	52380
cgctggcccc	gccaccgccc	aaccgcgcgc	gtcgggcgtc	gaggacggga	ccggcgtcgc	52440
ccccggcccc	gtcgcgaccg	gcggggtcgt	gccgtggggc	ctgtccgggc	ggaccgcgcg	52500
cgcgctggcc	gcccaggcgg	cccgggttgc	cgcgcacctc	gccgcgcacc	cgggcgcccc	52560
cccgggtggac	gtggcctggt	cgctggccac	gaccgcgtcg	gtgctggagc	accgggcccgt	52620
cgtgccccgc	gcctcgctcg	acgaggccct	ggcggggttg	gacgcgctcg	cctcgggccg	52680
cgcggaccgg	tcgggtggtcg	tcggcgaggc	ggcgccccgc	cgggtggcgg	tgtgtttcac	52740
cgggcagggc	agtcagcggg	ccggtgcggg	gcgcgagctg	cgggagcggg	tccccgtgtt	52800
cgcgcggggc	ttcgacgcgc	cgtgcgcgcg	cgtgggcgag	ctgccaccg	gcgacggcgg	52860
cgcgatcggg	ctcgccgagg	tggcgctggc	cgacccccgc	acgccccgcg	ccgcgctgct	52920
cgaccggacc	gcgttcaccc	agcccgccct	gttcgcgctg	gaggtcgcg	tgttcgggct	52980
ggtccagtcg	tggggcggtc	gcccggcggc	gctggccggg	cactcggtcg	gcgagatcgc	53040
cgcgcgcgac	gtggccgggg	tgtctctccct	cgcgcgacgc	gccgcgctgg	tgcgcgccag	53100
gggccccgtg	atgcaggagc	tgcccgaggg	cggcgcgatg	gtggcggtgg	aggcgggcca	53160
ggacgaggtc	gtgcccgtgc	tcggggaagg	ggtgtcgctg	gccgccgtca	acggccccgac	53220
ctcggtggtg	ctctccggcg	acgaggaggc	cgtaaccgcc	gtcgccgcga	ggctggcgca	53280
gcggggcagg	cgcaccaaga	ggctcgccgt	ctcgacgcgc	ttccactcgc	accgcgtgga	53340
cccggcgctg	gcgccttcc	gcgcgctggc	cgaggagctc	gcctacgcgc	ccccacgat	53400
cccgatcgtc	tcacccctca	ccggccgcgc	cgtaaccccc	gacgagctgc	gtcccccgca	53460
ctactgggtg	cggcacgcgc	gcggcgccgt	ccggttccgt	gacgccgtgc	gggcgctggg	53520
ggacgcgggc	gcgcgcacgt	tcctggagct	gggccccgag	ggcgtgctca	cggcggcggg	53580
cgcggactgc	ctgcggagcg	cgggtgttcgc	ggcgacgctg	cgcgcgcgac	tgccccgagg	53640
gcggggcggtg	ctgcgcgggg	tcgcgggccc	gcacgtgcgc	ggcgcgacag	tcgactgggg	53700
ttcgctgttc	acggggcgcg	acgcgcggcg	cgccccgctg	cccacctacg	cgttccagca	53760
cgaggaccac	tggctggtgc	gccgctccac	cgcgcgccgac	gtgggcgcgg	tcggccctgcg	53820
cgaggccggg	caccgcgtgc	tgggcgcggg	cgtcgcgctg	ccggagagcg	gcggggtgca	53880
gctgagcggg	cgggtgttcg	tggcggcgca	gccgtggctg	gccgagcacg	tcgtctccgg	53940
cacggcgctg	gtgcccggcg	cggcgctggg	ggagctggcg	gtgcccggcg	gcgacgagac	54000
cggcacgccc	gtgctggagg	agctggtgat	cggccgcccc	atgccgctgc	cggacggcgg	54060
cgcgctgagc	gtgcaggctg	tcgtcgccgc	ggacgagggc	gggcgcgggt	cgggtgcgct	54120
gtactcccgc	gcggacgggg	cgggtggactg	ggtcgagcac	gcggcggggg	cgctgaccgc	54180
gccggaggcc	gcgcgcagcc	ccgacgcggg	cccggtggcg	ccggagaaac	ccgaaccgct	54240
ggacacgcgg	ggcttctacg	acacccctgc	ggaggggcgc	tacgcctacg	gcccgcgtgtt	54300
ccggggcctg	acctcggcgt	ggcgcggcga	gggcgaggcg	tgggcggagg	tggcgctgcc	54360
cgggtgacgc	accgggttcg	gcacccaccc	ggccctgctc	gacgccgcgc	tgcacaccgc	54420
gcacttctgc	ctgcccaccg	ggaccgagcg	gcggggccggg	ctgctgccgt	tcgcctggac	54480
cggcgctgcg	ctgcacgcgg	gcggcgcgac	gaccgcgcgg	gtgcacgccc	gcgccaccgg	54540
cgacgacggc	gtgaccgtgc	gcctgctcga	cgggtgccgt	cagccggtcg	cggacgtggc	54600
cgccttgacc	ttccgcgcgc	cagccgacac	cccgctccgc	gaggtccccg	acgcgctgtg	54660
ggcgggtggg	tggaccgagc	acccgctgcc	cgcggacggg	accacccccg	cgggcggggac	54720
caccacggcc	gtggtggtcg	tggacacccg	gagcgtcgac	gcccccgacg	acggccccgc	54780
ccgcgccccg	gcgctgaccg	cccacgtcct	cgcgcgagctg	cagcggcacg	ccgacgacga	54840
ccggccgggtc	gtcgtggtca	cctcaggcgc	ggtcgccgtg	cgcgtcgacg	gcgaggtcac	54900
cgacccccgc	tcacccgcgc	tgtggggggt	ggtgcggggc	gcgcaggctc	agcacccgca	54960
ccgggtccgg	ctggtcgacg	tcgagccggg	ggccgacccg	gtgctcacct	cgcggcgacc	55020
gcaggtggcg	ctgcgcggcg	ggaccgcgca	cgtgcccagg	ctggtccgcg	cccgccgcgc	55080
cctcccgcg	ccgaccgcga	cgtcgtggcg	gctgggctcc	gaccgccccg	gcacgctgga	55140
ctccctcgcc	ctgctcccg	acgactccgg	cacggccccg	ctcgcccccg	gcgaggtgcg	55200
gatcgcggtc	cgcgcggcgg	gcctgaactt	ccgcgacgtg	ctggtcgcgc	tggggatgta	55260
ccccggtcgc	gcgggtgatcg	gcgcggaggg	cgcgggtgtg	gtcgtggagg	tcggccccgg	55320
ccccgacgac	accgacgcgc	gcgacacccg	ccccggcgac	accggctcgg	gcggcctggc	55380
cgtgggcgac	cgggtgatgg	gcctgttccc	cggcgcgctt	ggccccgctg	ccgtggccga	55440
ccaccgaatg	gtgaccgcga	tgcgggacgg	ctggtcgttc	accaccggcg	ccggcgctgc	55500
catecggttc	ctgaccgcgc	tctacgggct	gcgcgacctc	ggcgggctca	ccgcgggcga	55560
gaccgtgctg	gtgcacgcgg	cggcgggcgg	ggtcggcacg	gccgccgtgc	agctcgcgcg	55620
ggcggttcgg	gctcggtgct	tgggcacccg	gcacccggcc	aagcacgcgg	ccgtgaccgc	55680
cctggggcgt	cccaggtccc	acctgtcctc	cagccgcgac	accgcctacg	ccgacctgtt	55740
cggccccggtg	gacgtggtgc	tgaactcgct	caccggcgag	cacgtggacg	cctcgctggg	55800

gtctgctg	cgccgctg	gctgctg	gctgctg	gctgctg	gctgctg	55860
cgaggtg	aaaggcgc	ccggcgtc	ctaccgccc	ttcgacctg	gcgccgagg	55920
gcccgcgag	cgcgctcg	agctgctgg	cgagctggt	gcgctgttc	aggcgggcc	55980
catccaccg	ctgcccacc	cggcctggg	gatcaccgc	gcgcccggg	cgttcggctg	56040
gatgagccg	gcccggcac	tgggcaagat	cgtgctgac	ctccccgc	gccccgacc	56100
ggacggcac	gtgctggtc	ccggcggcac	cggctcgct	ggcgcggtc	cgccccggc	56160
cctggtcac	gcgcacggg	cccggccact	gctgctcg	tcccgaacg	gcgagcagg	56220
ccccggcgc	gcggagctg	ccgacgggt	gcgggggtg	ggcgcgagc	tgcgggtgc	56280
ggcgtg	gtcgccgac	gggacgcgt	cgccgcgct	ctcgccacg	tccccgcgc	56340
gcacccgct	accgcgctg	tgcacacgg	gggctgtct	gacgacggg	tgtctgcgc	56400
gcagacccc	gagcgcttg	acgcggtgt	ccgccccaa	gtcgacgcg	tgcgaacct	56460
gcacgagct	accggcgac	cggccctgt	cgcggtgtac	tcttcggct	ccggcggtg	56520
cggcggcgc	ggccagacca	actacggcg	cgcaaacgc	tggctcgac	gcctcgcca	56580
cgtccggcg	gcggcgggc	tggccgcg	ctcgctggc	tggggcctg	gggcgagg	56640
cggcggcat	acggcgggc	tggcgggcg	accggcggg	ccggcgggg	gggcccgcg	56700
gggagccgt	gcgcgctgt	ccaccacga	gggcatggc	ctgttcgac	cggcgctgc	56760
ctcgggcgc	ccgctcctg	ccccgatca	gctcgaccc	ggcgcgctc	ccgcgacgg	56820
cgcgacggc	cccgcgctg	tggcgggct	ggcccgc	accgcgcga	ccgcgctgc	56880
ggccaccac	gacgacggc	tgcggggcg	gctcgccgc	ctcgacggc	ccggcaggc	56940
gcggctgct	gtggagctg	tgcgggagc	ggccgcgc	gtgctgggt	tgcgacccc	57000
ggacgcgct	tgcggggc	gggcttccg	ggacctggg	ttcgactcg	tgcggcgct	57060
ggagctg	aaccgcctt	ccgcggcc	cggctgcca	ctgcccgca	ccaccgtgt	57120
cgaccaccg	accccgctg	acgcggcgc	ccacctgct	gacgcgtgg	gcgtcgccc	57180
cgcgcccgc	ccggccacc	cggtcgtg	ggcgcgcg	gacgacgac	cgttcgggt	57240
cgtcgccat	ggctgccc	tggccggcg	cgtgtcttc	ccggaggac	tgtggcggt	57300
gctcgacgc	ggcgctgac	ccatcgccc	gttcccgac	gaccggggt	gggacctgg	57360
gtcgctgtt	gacgacgac	ccgacgcgt	cggcaagt	tacgtgcgc	aggcggggt	57420
cctggcggg	gcggcgggg	tgcagccgc	gttcttcgc	atctcccc	gcgaggcgt	57480
cgccatgg	ccgcagcag	ggctgctgt	ggaggtggc	tgggagacc	tgcagcggg	57540
cgggatcg	ccgacctgt	tgcgcggcg	ggacgtcgc	gtgttcgcg	gggcgggcg	57600
gcagaact	ggcagcggc	ccggcccgt	gcccgagg	ctggagggt	acctggggt	57660
gggcgcgcg	acgagcgtg	tgtccggcg	cgttctct	acgctcgcc	tcaccgggc	57720
cgcgctgac	atcgacacc	cgtgctctc	gtcgctggt	gcgatccac	tggcggtgc	57780
gtcgctg	tccggcgag	gctcgatgg	cctggcggt	ggggtcgcg	tgatgggca	57840
gcccgcggc	ttcgtggag	tctcccgca	gcgcgggtc	gcccgggac	ggcggtgca	57900
gtcgttcgc	gcggaggcg	acggcacg	gtgggccc	ggcggggac	tgggtgctg	57960
ggagcggtt	tccgtggcg	gggcgcgcg	gcacgaggt	ctggcggtg	tgcgcgggt	58020
ggcggtca	caggacggg	cgtccaacg	cctgacgcg	ccgaacggc	cgttcgagg	58080
gcgggtgat	cgggcgccc	tggccgacg	ggggatcac	ccggacgcg	tggacgggt	58140
ggagcgcac	ggcaccggc	ccacctcgg	tgaccgatc	gaggcgagg	ccgtgctgg	58200
gacctacgg	caggaccgc	agcagccgt	gtggctggg	tgcgtgaag	cgaacatcg	58260
gcacgcgag	gcggcgcg	gcgtcgcg	cgtgatca	tccgtgctg	cgtgggccc	58320
gggctgctg	ccccgctcc	tgcacgcc	caccccgac	ccgcaggtc	actggtctc	58380
ggggcggtg	gagctgctg	cgcgggcg	ggagtggcc	gagaccggg	gtccgcgcg	58440
gatcggggt	tctcgttcg	gggtgagcg	caccaacgc	cacgtggtc	tggagcagg	58500
ccccgagcg	gaaccgcgc	gggagcgga	accgcgcgc	gagtccgcg	cagggcggg	58560
gtcgttcgc	ccgctgacc	gggccacgc	gtggctgct	tccgccgct	cccccgagg	58620
gctggcgga	caggccgcc	ggctggtga	cgccgtgcc	gccgagtgg	gggctccga	58680
cgtgggctg	tgcgtggca	ccacgcggg	cccgtggag	cagcgggcg	tggctgtgg	58740
gcgggacac	gcgcgcggg	tgcggccgc	gtccgcgct	gccgcggac	gccccgacc	58800
gcacgtggt	accgggacc	ccgacgtga	cggcaggac	gccttcgtt	tccccggca	58860
gggcgcgag	tgggcggga	tggggcgga	actcctgg	gcctcgccg	tgttcgcca	58920
acgcctg	gagtgcgcg	cggccctgc	cccgtacac	gactgggac	tggctgagg	58980
gatcacctg	ggtggcggc	tggaggacg	ggacgtcgt	cagccacca	gctggggat	59040
catggtgct	ctggccgcg	tgtggcgct	gctcggcgt	cacccggag	cgggtgatc	59100
gcactcgag	ggcgagatc	ccgcggcc	cgtcggggc	tggctcagc	tccaggacg	59160
cgcaagatc	gtcgcgctg	gcagccagc	gatcgacg	cacctgacc	ggctcggcg	59220
catgatgtc	gtcgccctg	ccgcggagg	catcgacct	accggtacc	aggccgggt	59

cgacggggtc	accaccctgc	tcgacgcccg	gcaccggggc	ttcgctcgag	tctccacgca	59640
ccccgtgctc	accccgggcg	tgacggaggc	cgccgaggcg	aacccggcgc	tgcgcacctg	59700
cgccgtgggc	accctgcgcc	gcgcggacgg	cggcgccggg	cgggtggtgg	cgggcctggc	59760
cgagctgctg	gcgcgcgggg	tgcccggtga	cccggcgggc	gtgttccccg	gtcgagggcg	59820
ggtcgcgctg	ccgacgttcg	cgttccggca	cgagacgttc	tggctctcgc	gggcgctgcc	59880
cgacgcgcgg	ccggtgccgc	agggcgggca	ccgctgggcc	ccggtggtgg	tgagcgatcc	59940
gggcacgggc	ggggtgatcc	tgtccggccg	gatctccgcg	gccacccacc	cgtggctgct	60000
cgaccacgcc	gtcgcggggc	cggtgctgct	gcccggcgcg	gcgctggccg	agctggcggg	60060
gcggggccggc	gacgagaccg	ggacgcccac	cctggaggag	ctggtgatcg	gcaggccggg	60120
ggtgctgccc	gaggacgggg	agctgcggct	ccaggtgggt	gtgggcgcgc	aggacggggc	60180
gcgcgcgcgag	gtgcgcgcct	actcccgcgc	cgacgacgcc	gcgcgcgtga	ccgagcacgc	60240
gagcggcacg	ctgtcggcga	agtctctcgt	gcccgcgcgac	gtcccggccg	ccccgtggcc	60300
gcccgcgggc	gcggagccga	tcgcgctgga	cgggtttctac	gagggccatg	cagggggccg	60360
ttacgggtac	gggcccgcgt	tccgggggct	gcgcgcggcc	tggcgcgacg	gggacgacgt	60420
ggtcgcgcgag	gtggccgtgc	cgccggcgca	ggagcaggtg	gcgggcccgt	tcggcatcca	60480
cccggcgctg	ctggacgccg	ccctgcacgc	cgggaacttc	tgcttccccg	cgcaggacgg	60540
cgagcggggc	acgatgctgc	cgttcagctg	ggacgacgtg	cggttgcaag	ccaccggcgc	60600
gacgtcgggt	cggtgcccgg	cccgcgcggg	gggcggccct	ggcgcgcccc	cgtgaccgtg	60660
ggcgatcacc	gacccgagcg	gggtgccggg	ggccgggggt	ggcgcgctcg	ggatgcgcgc	60720
ggtcagcccc	gagcagctgg	gcgcgcgggg	cgtcggcggt	gacgcgctgc	gggtgctgga	60780
gtggggccgag	gtggcggtcg	aggcgggcga	ccggtggggc	gtgctgggct	ccgagcggga	60840
cccggacgtg	gacgcctacg	cggccgaccc	ggaccggccg	ggggcgctgc	tggtggacgt	60900
gggcgcctgg	ctgggcggcg	acgacgccgt	ggcccgcgcg	cacgcgctga	ccagcgcggc	60960
gctggagctg	gtgcgggact	gggcgacccg	cggggacctg	ggcgggtgag	ggctggtgct	61020
ggtcacgacc	ggggccgagg	acgtgcgcga	caccgcgcgc	cgcgaccggg	cgcaggccgc	61080
cgtgtggggc	ctggcgcgct	cggcccgcct	ggagcaccgg	gaccgggtcg	cgtggtcgca	61140
cgcgagacag	cggtcaccgg	cgacgctcgc	cctggcgccc	gggtcggcgt	tcccggaggt	61200
ggtcctgcgc	ggcgagcggg	cgcacgcgcc	gaggtggcg	cgggcccgtc	ccgycagggc	61260
ggtggcgctg	gacccggagc	gcacggccct	gatcaccggc	ggcaccggcg	ccctgggcgc	61320
gctcgcgcgc	cggcacctgg	tgaccgcgca	cggcgtgcgg	cgcctgctgc	tcaccggccg	61380
ccggggggcg	gacgcccccg	gcgcggcgga	gctggccgag	gagctgcgcg	ggctgggcgc	61440
ggacgtgcgg	gtggaggcgt	gcgacgtcgc	cgaccgggac	gcgctcgccg	cgtgctcgc	61500
gtcgatcccc	gcccggcgcc	cgtcaccgcg	cgtcgtgcac	gcggcgggcg	cgtcgcgacg	61560
cgccccgggt	accgacctga	cccggagcgc	gctgtccgcc	gtgctggccc	cgaaggtcga	61620
cgcgctggcc	aacctggacg	agctggtcgg	ggacggggcc	gcggtgttcg	cgttctactc	61680
ctcggcgctc	ggggtgctcg	gcacggccgg	gcaggcgggc	tacgcggcgc	ccaacacctt	61740
cgcggacgcg	ctggtgcgcc	gacgcggggc	cgaggggcgc	gcgggcgtgt	cgttggcgtg	61800
gggcctgtgg	gcaggcgcca	gcgagctgac	cggcgacctg	gccgggtgac	ggctcgcgcc	61860
cacccgcggg	ggcgggctgg	tgccgctgac	cgcgcggcgc	ggcatggcgc	tgctcgacgc	61920
gggcgcgggt	accacggggc	gcccggcgct	ggtcgtgccg	ctgcgcgctg	acctggcggc	61980
gctgcgcgcc	tccgcgcgcg	acgaggcggg	gcccgcgctg	ctgcgcgcgc	tcgtccccgc	62040
cgcgcggcgc	tcgctctccc	ccgccaccgg	gcaggccgcg	cccccgggcg	ggttgccggc	62100
gcgcctggcc	gggtgttcgg	gcgacgagca	ggaggccgtg	ctcaccgagc	tggtccgcga	62160
cctggccgcc	gccgtgctcg	ggcacggcga	gaagggcgcg	gtgggcccgc	acgacgcgtt	62220
cttcgagatc	ggcttcgact	ccatgacggc	cgtgcagctg	cggaaaccgg	tgaacaccgc	62280
caccgggctg	cgctgcccgc	ccgcgctgct	gttcgaccag	ccgacgcccg	cgatcgccgc	62340
cgaggcgtg	cgcgagcgac	tggccgcgca	gcaatcgggc	tcaggggcaat	cgggcgcagg	62400
gcagccgggc	gcagggcatt	caggcgcagg	gcagtcgagc	gcagggcgat	caggcgcagg	62460
gcagtcaccc	gacccgacgc	acgagaggtg	agcaccagca	tgatcgacgt	ggccgagtac	62520
ctgcgcgcga	tcggcggtga	gggcggcggt	ccgagcccga	cgtggagtc	gttgcgggcg	62580
ctgcacaagc	ggcacctgat	gtccgtgccc	tacgacaaag	gcggcgcggc	cgaccgggtg	62640
ccgcgaacc	gggggctcgc	ggagatcccc	ctgccccgtg	tgcttcgcga	cgtggtgacc	62700
ggccgcaacg	gcggggctct	ctacgagctc	aaccggctct	tccacgccct	gctcaccgcg	62760
ctgggctacg	aggtgctgat	ggtcgcggcg	gcgatccggc	tggccgacga	ccggttcggg	62820
ccggacgagg	agcactcggt	caacctgggt	cgctggagc	ggcggaacct	gctggtggac	62880
gtgggggttc	tcggcccgtc	ctacctggag	ccgctggagc	tgctggcggt	cgcgaggag	62940
cagtacggct	gcgcctaccg	ggtcgtggag	cgcggggacg	cgcacgtggt	ggagcgcagg	63000
cccaggggac	gggcgtggca	ggcgggtgtac	cggttccggc	cggggcgggc	ggaccgggac	63060
ggctgggagg	cggtgcgggt	ggacgggctg	gacgactacg	cgcgggactc	ggtgctggcg	63120
ggcaccacgt	tccggggctg	ggcgggcgag	aacgggcagc	acgtgctgat	cggccgcgcg	63180
tacttcaccg	tgctggacgg	ggtggagacg	acgcgggtgc	tcgtgaagaa	ggacgagttc	63240
gcccgcgtca	ccgagtcgat	catgatcggg	gggtgagcgc	gtggcgggcg	aggtcgagca	63300
cgacgtggtg	gtcgtcggct	acgggcccgt	ggggcagctg	ctgctcggtg	tgctggcgca	63360

gcgcggctgg	cgggtgctgg	tgctggagcg	ctggccgacg	ccgttcgggc	tgccgcgcgc	63420
ggtcgggttc	gacagcgagg	cgaccccgct	gctggcctcg	gccgggctcg	ggcccgcgct	63480
ggccgagttc	ggggagcccc	cgggcgacta	cgagtggcgc	accgcgtccg	gggagacgct	63540
gacgcggttc	accgtgcggg	aggaggggca	ctgcggctgg	cccagaggca	cctcggccta	63600
ccagccccgc	ctggagagcg	cgctgatcgc	gcgcggcgag	gcgctgccgg	gggttcagggt	63660
gcggcgcggc	tgggaggtga	ccgggctgac	cgaccggggc	gaccacgtgc	gggtggtggc	63720
caccgacccc	ggcggggcgc	gcgtgaggct	gacggcgcg	ttcgcggtcg	gctgcgacgg	63780
ggcgaacagc	gtggtgcggg	ccgcacccgg	cacgcacgtg	accgacctgg	acttctcgca	63840
cgactggctg	gtgtgcgacg	tgcggtgca	cgaccggcgc	ccggtgacgc	cgaacaacct	63900
ccagggtgtg	gacccggcca	ggccacgcac	cgcggtgtcg	gcggggccag	ggcaccggcg	63960
gtacgagttc	atgcgggtgc	ccggcgacga	cccggagcgg	ttcggcacgc	cggagagggc	64020
gtgggagctg	ctggcgctgt	tcggcgctcg	gcgcggcgac	ggggtgctgg	accggctggc	64080
cgtgtacacg	ttccaggcgc	ggtgggcgcg	gcgggtggcg	gcgggcccga	tgctgctggc	64140
cggggacgcc	gcgcacctga	tgccgcgctt	cgccgggcag	ggcatgacct	ccgggttcgc	64200
ggacgcggcg	aacctggcgt	ggaagctgga	cctggtgctg	cgcggcgagg	ccgggtcggc	64260
gctgctggac	agctacacgc	tggagcgcg	cgagcacgtg	cggcacgccc	tgacgatctc	64320
ggtgggcctg	gggcgggtgg	tgtgctggc	cgacccggcg	gtggctgccc	accgggacgc	64380
ggcgatgctg	gcggcgcgcg	agcgcgagct	gacacccggc	gcgtcggccc	ggtcgggtgt	64440
caagccccct	gaggacgggg	tgctgcaccc	ggacggcgac	ggcgccctcg	cgccgcacgc	64500
gggggcccgt	ggcccgcagt	ggcggttggg	gcgcggcggg	cggttcgggc	tggtcgacga	64560
cgtggtgggg	accgggttcg	cgctgctcac	caggggcggg	ctggtggcgg	ggccggaggt	64620
gcgggcgcgg	ctggacgggc	tgggcgcgcg	ctacgcgcac	ctggtgcccg	ccggggcggc	64680
ggcggaacgg	ccggacgacg	tggtcgacgt	gagcgggaac	tacctgacgt	ggctggagga	64740
gctggacgcg	gcggcggtgc	tgctgcgacc	ggacttctac	gtgttcggcg	cggccgggga	64800
cgcggcgggg	ttggccgggc	tgggtggcgga	cctgcgcgcg	cgttggggtg	gacgccccgc	64860
aggccccggc	acgtgcgcgc	ccggggcctg	ctcgcgcgtc	acgtccgggtc	tgccggcgagg	64920
tgggccaggc	accagtcgag	cacctgcgag	ggcttgcgga	ccaccgcgtc	cggttccgcc	64980
gccagcagct	cgccctcgtc	cgtctcgccc	cacagcgcg	ccagcgccgg	gtagcccgcg	65040
gcgcggggcg	tggccaggtc	cgtcaggggc	tcgcccacca	tcaccaccgg	gtcgcccggg	65100
acgtcgagca	ggccgggtgg	cagcaggagc	atgtccggcg	cggtcttggg	gttcgcgacc	65160
tcgtcggagc	cgatgatatg	gtcgaacagc	cccgccatgc	cgagggtggg	cagcagcgac	65220
cgggcgcgcg	gcccgcctct	gcccgtgacc	acggcggtgc	cgaagccgtg	ctgccgcagg	65280
tcgcccagca	gctccggcgc	gcccctcgaa	acctccacct	caccgcgccg	ccggtagctc	65340
tcgcggaaga	acggaccctc	catctccagc	ggcagggtcca	tgatccgcac	gatgtccggg	65400
aagtaccgcc	ccagggtgcc	gttgtactcc	tcgaacggcg	cgggcccgtc	gccgacgacc	65460
tcggcgtagg	cgatctcgaa	cgccctgccg	atgacggcga	agctgttgac	cagcaccccc	65520
tcgaggtcga	acagcacggc	ccggctcgtag	gtcgcgcccg	ggacgtgccg	gtggggcgcg	65580
ggggtcggcg	gggcgagggg	gcgcggggcc	gcgggcgccc	gaaccgcggg	cgcgggcccgc	65640
tcgtccccgg	ctcggggccc	cacgactcgg	gggttgggtc	gtccgggtgg	catcacgggg	65700
ctcccgtcgg	gacgaggtcg	accggcgcg	gtcgtcggtc	ggcgacccgc	acggtgtcgg	65760
cggcgcggta	gacccgttcg	atcgcgcccc	cgatccagcg	cgccccggac	gcgcgctcgc	65820
cgcgcggtgg	ggggtcggcc	aggcggtggg	gcaggctcgc	gagctggggc	tcgtactcgg	65880
cgccccaccg	ctcggcgggc	agctcgaccg	gggtggtgcg	gccgtcggtg	gtgagcagga	65940
gccgcgacgg	gcccctcgcg	ttcgggctga	agccgaaggt	gcagcgagc	tcgcgctg	66000
cgccgctgcc	ctccacgcgc	acgaccgtgg	tgtccagcgc	ctggtgcgag	gcccaggccc	66060
cgcgaccccc	gatcgagatc	cccgaaccgg	tgacgaggaa	ccccctggcg	gtgtcctcca	66120
cgctcgccgac	caccgggtcc	accggcgccc	cgctcgccgc	ccaggcgggc	cggaaccgct	66180
ggtcggttgac	gaagtccgcg	gacaccgcgc	cggtgacgtg	ctccagctcc	gcgccctccg	66240
ggtcgccggg	ggcgccgcgc	agcagcacgc	ggcggtgtgc	gagcaggtgc	cagccgaggt	66300
cgaccagcgc	ggcgccgcgc	gagcggtg	ggttgggtgaa	ccagccgccc	cggtccggga	66360
tggcccttga	ccgcacccag	gacacgtcga	cgtgcccag	cgccccagc	gacgcggcca	66420
cctggcgagc	cgccccgacg	tcggccccgt	gccgggcggc	gctcccgcgc	agcagcaccg	66480
cgccaccggc	ctgctcgggc	gcggtgagcg	cggcggcctc	ggcggaaccc	aggcacagcg	66540
gcttctccag	gaacaccggg	acgccccgcc	gcagcagacc	ggacgcgacc	ggcgcggtga	66600
ggtggttcgg	cacggcgacc	acggccagg	cgacctcgtc	gcggcgaggg	tcctccaccc	66660
gctccagcgc	ggtgatcccc	cgggagccgg	gcacggcggc	gcgggcctgc	gcggacggct	66720
cgaccacggc	gacgacccgg	aaggcggggc	tgcccagcaa	ccggggcagc	cacacctccc	66780
gcgccaccca	cccagagccc	accaccgcga	ccgcacccgg	accaccgctc	ccggccctcg	66840
gcccgtcgct	cacaccacca	ccccgcctcc	ccgcgcccgc	caccccgcg	tcacgcgccc	66900
gcgaccacgt	cggccacgac	ggcggaagc	cggtgcagct	gctcctcggt	gcccagcagc	66960
accgggtggg	gcagccacac	gcagtgcgcg	gtgatctcct	ccgacaccgg	gcaccggggc	67020
gccagctcct	cggtggtcag	gtcgggcgcg	ccggtctccc	agaacgcctg	ggtgcggtag	67080
accgcccggg	acgccatgaa	cgccggggtc	ccgcgcgcga	ccagctcgtc	caccaccgcg	67140

ttgcgcgcgt	cctcgggtgac	gccggggcatc	cggaaacatcg	ccatgtagct	cgggttgccg	67200
tcgctgcgcg	ggtcgacggg	ctgcgggcacg	acgcgcgcga	tccccgccag	cagcgccgac	67260
agcaccggcc	agcgggacctg	cctgggtcgcg	atctgcgagt	ccagcctgcc	gagctgggcg	67320
cgcagcacgg	cggcgagaga	ctcgttcac	cggaaagtccg	agcccagagt	gaggtggaag	67380
tagccgcggt	gcgccctggg	cctgcgcgag	ctgtgcagga	cgaacgcctt	ctcccactgg	67440
gcctcgctcct	cgaacagcac	ggccccgcgc	tgcgccgcg	tcacagctt	gcccgttctgg	67500
aagctgaacg	tggcgatcga	cccagctcg	cgcacccgct	tgcgcgcga	gtgggcgcgc	67560
tgggcgtggg	cggcgctcctg	caggacccggc	acgcgcggtg	tcgtggacag	cttgtccagc	67620
cgggtccatgt	cggcgaaactg	gcccgcctatg	tgcacgggca	tgatcgccga	ggtgcgggag	67680
gtgacggcgg	cctcggcgcc	ggcgacgtcc	aggcagtagg	tgtcggggtc	gacgtccacg	67740
ggcacggcga	cgcgcgcgag	gcgctgcacg	gcctgcgagg	acgagatgaa	ggtgaaggcg	67800
ggcacgatca	cctcggcgcc	ggggcccacg	tcgagcacct	ggagcgccag	ctccagcgcg	67860
tgcgtcccg	tgggtgacggc	gagcgcgtgg	cccgcgcgct	ggtactcggc	gaactcgcg	67920
tcgaactcgt	cgaacctcgt	gcccgcgacc	cgcacccact	ggccctggtc	cagcgcgcg	67980
agcagggcgc	tgcgctcggc	gtcgtcgtgc	tgcggccagg	ccgggaactc	gatgcctgcg	68040
tccggagaat	tgtcatgag	ccctgtccc	gtcgttcgcg	gaaatggcgc	gggggaattc	68100
gcccgcgcct	gctttcgga	ttcgacgcta	ccgattccgc	agatcccagc	caacccccctt	68160
gacctcccc	taatcccccc	tgttcccagg	ccatcacccgc	agcacgcggg	cacagcggca	68220
cagccgtgcg	cacaatgggg	gcgaacggga	accggggcgt	ccgcgcgcgc	cggcggcgct	68280
ttcggggaaa	ggtgtcaggc	gtgggcgagc	tgtgtcgtgt	gaacgggccc	aacctcggca	68340
tccgtggggcg	ccgcgaggtg	tcgggtgtacg	ggaccgacac	gctcgcggac	gtcgagaagg	68400
cgggtcggcga	ggaggtcgc	gggcgcggt	ggtcgttccg	ctcgtgtcag	cgaacggcg	68460
agggccagct	cgtggacgag	atcgaggcgt	cctacgacac	ggtgggcgcg	atcgtgaacc	68520
ccggcgcgct	gatgatggcg	ggctggagcc	tgcgggacgc	gctggcgaac	taccgcgcgc	68580
cgtggatcga	ggtgcacctg	tcgaacgtgt	gggcgcgcga	gagcttcggg	cacgagtcgg	68640
tgttggcgc	gctggcgagc	ggtctcatcg	cgggcctggg	cgcgcgcggc	taccggttgg	68700
ccgcccgcgc	gctgctggac	ctggtggact	gaccgcgctc	gcgcgcgagc	ccggccgcgt	68760
gcacggcccc	gcgcgagcag	gacaggccgc	cgcagcgcgc	gggcgcgacg	gggcgcggtc	68820
ggtggccggg	ccgggcgagt	gcgggcgcgc	ggtcgcgcgc	cgcgtcgacg	tatccgggca	68880
cggcgccggc	gaacccgcgc	ccgaccacgc	acagcgaggg	ccgcgccagc	tcgcgcgacg	68940
cgcagagcgc	ggcgccagc	gcccgggccc	cccgcctgac	cgcggccgcg	gcccacccgc	69000
gcccgtcgc	gagcgcgcgc	accaggtcct	ccccggtgac	cggcgccgcg	ccgagcctgg	69060
cggcctcgc	gagcacggcc	ggtccggacg	cgaacgcctg	cacgcacccg	gcccgcgcgc	69120
acgggcaggg	cggcccgtcg	agcgcaccca	cgcagtgccc	cagctcgcag	gacccgcgct	69180
cgggtccggg	gaacggcagc	ccaccggaca	cgcgcgcgc	gccgacgcgc	gtccccacgc	69240
ccgcgtagac	caggtcggcg	caccgcgtgg	cacgggcctc	ggcgagcgcg	gcgaggtcgc	69300
cgtcgtccgc	gacgagcacc	ggggcgcgca	gcccgcgcgag	gaaccccgcg	aggtcgacgc	69360
cgaacccacc	cggacggctg	ggccaggccg	tgacgacccc	gccgtcgacg	gtgcccggga	69420
acgcgatccc	gaccccgctg	agcggcgccc	cggcccgcgc	ggcgaggtcg	gcgacggcgc	69480
ggccgagcag	gtcgaggtcg	gcgcgcggat	caccgtcccc	aggccacccg	aagccctccc	69540
gcagcaccag	cggcccgcgt	tcgagccgca	gcgccacctt	ggtcccgcgc	acgtccaccc	69600
cgcagcgcgc	cccgcctaca	ccccgacctc	ccgcgcctcg	cacccctcgc	cgcacccacca	69660
cccgcgcggg	ccgcgcgcca	cgcagccgc	cgcacacccg	ataccgcgcg	ggtcctcgt	69720
cacgacgcgc	ccacaccacc	accgcacggg	cctgcggtca	cgcagccgc	acacctccac	69780
ccagcgcacc	accacccgcg	cgggcgcgcg	ctcacgagc	caccgctcac	gacgcgcgcg	69840
cccgcgaggc	cgcacccgc	tcggcccgc	gggcgtcgcc	gctctccacc	agcgcgaacc	69900
ggatcgcccc	cgtggccgcg	ttcgcgcct	gcagcgcctc	gtgcgcgcgc	ggctcggggt	69960
cgtcgcgc	ggtcgcacc	tcggtgatgc	tgcgcgcgc	ctccaggcac	gccaggcagg	70020
ccgcgacgta	cgcgtccgc	ccgcctccgc	cgcgcgccag	cttctccagc	agccgcgtca	70080
cgtcggcgtg	cacctcgcgc	acggcgtcct	ccaccgcgc	cgcgcggggt	ggtgtgcccg	70140
ggatgggggt	caccgctgcc	tcccgtgtgc	tgacgcggac	ccggtcagcc	gagggccggg	70200
atgagttcga	cgaaccgacc	ctgccacaac	cggcgagct	cgcgcgtcaa	ctcctcggac	70260
ggcgcgccgc	cgcacagctc	cgcaggggtc	gtcacgcgct	ccaccgcggt	gagcagcgcg	70320
tgcgcctgcg	cgggtgtggc	ggtgacgggc	ccgtggtcgt	actccagcga	cacctcgtgc	70380
accggtcgc	ccgcgcgcgc	gctgcccggc	gcgggcgcgc	tgcgcacggc	caggcgggtc	70440
accgggcgca	gcctgggcac	cagcgcgcgc	aggtcctgct	cggggcgggc	ccgcaccagg	70500
aagccctcca	cgcacaggcc	gtccaggtcg	gtggtcagga	agctggtgag	cacgtcgtcc	70560
aggctctgcg	cgatcggtc	ggcgttgttg	ttgaacgagg	tgttgagcag	caccggggtg	70620
ccggtcagct	cgcgaaccg	cgcaccagc	cgggtgaagc	gctctcccga	ctcgggcgtg	70680
acgacctgca	cgcgcgcgct	gccgtccacg	tgcgtgaccg	cgcacagctc	ggcccgcctg	70740
gcgggcagca	ccggcaccac	gaacgacatg	aactcgtggt	gccccagcgc	cccgacagg	70800
tcgaaccagt	cccgcgcgcg	ctcggcggtg	accacgggcg	cgaacggccg	gaagctctcc	70860
cgttcttca	ccatggcgtt	gatccgcgtc	tggttctcgc	cgggcggggc	gtcggcgatg	70920

atgctgcggt	gcccagagcg	gcgcggcccc	aactcggagc	ggccgtgcgc	ccagcccagc	70980
acctcgccgt	cggcgagcag	cttcgcccgc	gtctccaccg	ggtccaccag	cggcgtcacc	71040
tccaccaccg	gcgaccagtc	cgcgagccgc	gcggcgacct	gctcgctccg	gccgaggtcc	71100
ggccccgagc	ccgcgcagac	cagccgcgcc	gacggccgct	ccagcacgcc	cagcgcgggc	71160
gctgcggcgt	cgcggcgccc	ctcgcgggcg	cccgcgctgt	gcgaggcggg	gtggatgaac	71220
acctcgctga	acagcccggc	cttgaggatg	cggccgttga	gcgtggagtt	gtgggcgacg	71280
ccgcccgcga	acgcgagcgt	gcgcagcccc	gtgacctcgg	cccagtgcgc	gagcacgtgc	71340
agcgcgatct	tctcggtcgc	ctcctgcagc	gcggcgggcg	agtcccgggtg	cgccctggctg	71400
aacggctcgt	ccttgcggcg	cggccgggaa	ccggcgggcg	ccagcgcggg	ggtgaccagg	71460
ttcggaacct	tgggtgttgc	gatcaggctc	tactcgccct	tgtcgcgcag	cgcgtgcagc	71520
ccggagaaga	cctcgcggta	ggtcgacggg	tgcgcggacg	ggcgagcccc	catgaccttg	71580
tactcgctgc	cgaagccgta	gccgagcagg	aacgtggcgt	tcaggtacag	cccgcgcagg	71640
gactttctca	ccgggtagtc	gtgcagcttc	tccaggtgcg	cgccacgcgc	gtggtagacc	71700
gtgcgggagt	tgtcctcgcc	ccggccgtcg	aagatcacca	ccagcgccct	gtccgcgccc	71760
gagtgcagg	aggacgagta	ggcgtgcgcc	tcgtggtgcg	gaacgtagac	gagcttgtcg	71820
tcgggcagct	cccagccgag	gtcctcgccg	agccgctgct	tgatcagctc	gcgggagaa	71880
cgcagcgga	ccctcggtg	ctcggtgtag	acgtggttga	gcaccaggtc	gaggtggtcc	71940
tcggggaagt	agtagccgac	cgcgtcgacg	tcgtccaccg	tcgcgcccgc	gagcgccagg	72000
cactcgcgga	tggcggtgga	cgggaacttg	gtcgtcttct	tgacgcggtt	gagccgttcc	72060
tcctccaccg	cggccacagag	ctcgcgcgtc	cgcaccaggg	acgctgccgc	gtcgtggaag	72120
aacagctccg	acatcgacgg	gacgaggtcg	gtctcggcgg	gcgagaagtt	cccgttgatc	72180
ccgagcacga	gcatgtggca	tcaccttgat	ccgggaggcg	agggtggggg	cgcggagggg	72240
gtcgccgtca	ggcgcggggc	gcgacggcgg	caggttcggg	cgaggtcagc	cgcagcgcg	72300
tgggcgcggg	cttcgcggtc	ggcacgaggt	ggaagcgctc	cacgcctctc	tcgggtggcg	72360
cgggcagctc	ggcggcgcag	gcgcagtcgg	cgggggcgaa	cccggcgaa	cggtagcgca	72420
tctccatcat	ccggttgccg	tcgggtgcgc	ggaagtcggc	gaccaggtgc	gcgcccgcgc	72480
gcgcgcctg	gtcgggtgagc	caggtcagca	cgctcgaccc	ggcgccgagc	gagacgacgc	72540
ggcacgaggt	ggccagcagc	ttgaggtgcc	acaccgcgcg	gcgcgcctcc	agcagcacga	72600
tggcgagggc	gccgtgcggc	ccgaaccggg	cggacatggc	cacgaccagc	acctcgctgc	72660
cggggtcggc	gagcaggccg	cgcagcgccc	ggtcgtcgta	atgcacgcgc	gtggcggtca	72720
tctggcttgt	gcgcagggtc	agctcctcga	cgcgggtcag	gtccgcctcg	cccgcgcgcg	72780
cgacgaccac	ctccagggtc	agggtgcgca	ggaactcctc	gtcggggccc	gtgaagccct	72840
cgcggctggc	gtcgcgctcg	aagcctgcgc	ggtacatcag	ccgcccgtgc	cgcgagtcgg	72900
cggtgaccac	ggcggggctg	aactcggggc	gctcgggcag	ggaggcgacg	tcggcctcgg	72960
tgtacaggcg	cacctcgggc	agggcgcggg	ccacctcggc	gcgctcgacg	gggctgtcgt	73020
cgacgaacgc	gatcgtgcgg	tgggcgaagc	cgagccggtc	ggcgatggcg	cgcaccgacg	73080
ccgacttggc	gccccagccg	atctgcggca	gcacgaagta	gtcggcaagg	cccaggcggt	73140
cgagcacggg	ccaggcggtg	tcgtggtcgt	tgcggctggc	cacggactgc	aggacgccgc	73200
gcccgtcgag	cgcgggtgatc	acctcgcgga	cccgtctgaa	cgggacgacg	tcggcgctct	73260
ccaggagggt	gccgcgccac	agggtgttgt	ccagggtccca	gaccaggcac	ttgaccgtcg	73320
gtgcgggggt	ctcggteacg	gctgctgctc	cctgagcgga	gttcggctgc	gctggtcaag	73380
tccgcgcggg	gcccggctgc	gcacgtgctg	ggcgagcacg	agctggcaga	tctcggaggt	73440
gccctcgatg	atctccatga	gcttcgcgtc	ccggtgcgcc	cgcgccacca	cgtgcccgct	73500
gctggcgccc	gcggagccga	gcagctgcac	cgcgcgcccg	gaccggcgcg	cggcctcgcg	73560
cgaggccagg	tacttggcct	gcaccgccgc	caccgccagg	tcgggcgagt	tcgcgtccca	73620
cagcgcgctg	gcgtgctcgc	tcgcgcgggc	ggcgacctgc	tcgccgacgt	gcaactcggc	73680
caggtgccgg	gcgacgagct	ggtggtcggc	cagcacgcgc	ccgcctgct	cgcgggtcgt	73740
ggtgtgctcg	acggcggcgg	ccaggcaggc	gcgcaggatg	ccgacgcagc	cccacgccac	73800
cgacacccgc	ccgtagggtca	gcgcggcggt	gaccaccagc	ggcagcggca	gcccgggtgc	73860
gcccaggacg	tcggcggcgg	gcacccgcac	cccgtccagg	gtgatcccgg	agtgcccggc	73920
ggcccggcac	ccgctggggg	tcggcacctc	ctccaccgcg	acgcggggcg	cgtcggcggg	73980
cacgacgacc	gcgctcgccc	cgcggcggtg	gtgcccgaag	accaccagca	ggtccgcgta	74040
gtgggcggcg	gtgatccacg	acttgcggcc	ggtcaccacc	acctcgccgt	cgcgggtgtc	74100
ggtgatggtc	gtggtcatcg	cggacaggtc	gctgcccgcg	cccggctcgc	tgaacccgac	74160
cgccgccagc	ccgcccgagg	tgagcctgcg	caggaaaccg	tcgcgctgct	cggcggtccc	74220
gagcctgcgc	gcggtccacg	ccgccatgcc	ctgggaggtc	atgacgctgc	gcagcgagcc	74280
gcacagctcc	cccaccgacg	cggtcagctc	gccgttctcc	cggctgccc	gcccagggcc	74340
gccgtgcggg	gcgccgacct	gggcgcacag	cacccccagc	ccgccagct	ccaccagcag	74400
ctcgcgcggc	agctcgcccc	ccagggtccc	cccggcgggc	cggtcgccc	cgcgctcggc	74460
gaccagcccc	gccagtgcga	cggcgtcgct	caccgccccg	cctcccgcag	ccgcagcacc	74520
agcgtggtca	tgggtgttac	ggtgcggaag	ctgtccaggc	ccagggtccg	cccgtcgatc	74580
acgacgtcga	aggtcgactc	caggtgcacc	acgagctcca	tcgcgaacat	cgaggtgacg	74640
gtgccggacg	cgaacaggtc	ggtgtccggc	tcccagggtc	gcttggtgcg	ctcggcgagg	74700

aacgcctgca	cccgcctcggc	caccgcgtcg	gcggtgagcg	cgccgggctg	ggaggaggtc	74760
gtcacagctg	tgccttcccc	tagtcgtaga	agccccgccc	ggacttgccg	ccgaggtgcc	74820
cgtcgcggac	cttgccgagc	agcagctcgc	agggcgcgga	gcgggggctg	ccggtgcgct	74880
cggccagcac	gcgcagcgag	tcggccaggt	tgccagggcc	gatcaggtcg	gccgtgagca	74940
gcggtcccgt	gcggtggccg	aggcagtcct	gcattgaggg	gtccacggcc	tcgacggagg	75000
ccgtgccctc	ctggacgacg	cggatcgcg	cgttgatcat	cgggtggacg	atccggctgg	75060
tcacgaagcc	ggggccgtcg	ccgacgacga	ccggtgtgcg	ggccagctcg	cccagcacgc	75120
ccacgaggg	ctccagcgcg	tccgcgccgg	tgccgcgcgc	ccggaacgac	tcgaccgtgg	75180
ggatcaggta	cggcggttcc	atgaagtgcg	tgccgatcag	ccgcgcgggg	tcggggacgt	75240
gccccggccag	ctcgctcgatc	gggatcgagg	aggtgttgga	caccagcggc	acgcgcggcc	75300
cgggtgagcg	ggcgcccccg	gccagcacct	cggccttgac	cggcagctcc	tcggtgaccg	75360
cctccaccac	cagcgagacg	tccgcgacgt	cggcgagcga	ggtggtggtg	agcagctcgc	75420
cccgcctcgc	gtcctcgggc	agcgcgccga	tcagcctggc	catgcgcagc	tgggcggcca	75480
ccgcctcccc	cgccccggcg	accttgggcc	ggtcgggtctc	gaccagcacc	accggcacgc	75540
cgtgcccag	ggccagggag	gtgatcccca	ggcccatcgt	gcccgcgcgc	agaacggcga	75600
gcaccgtcct	gccgtcctgc	tctcccacgt	cgtccccccg	ccgcggccac	cgcgcccgcc	75660
gtccgggtcc	cgcgcgcgtc	cggcacgcgc	attccaccct	cgatcgtgtg	ccgggaaagg	75720
cgcgcccag	cccctgacct	gccccccctg	acccccctca	acggaaccgg	aaatcgaatg	75780
tcccgaacgc	gccgtcaaat	cgtcgattga	cagccgcaga	actgttcata	gactgtggcg	75840
gcagtaccga	tctccgaatt	ccacggaaga	gtcctcccc	atggctcagc	agatcagcgc	75900
cacctcgga	atcctcgact	acgtccgcgc	gacctcgttg	cgcgacgacg	acgtgctcgc	75960
cggctctgcg	gagcggaccg	cggttctccc	ggccgcgtcc	gcgctgcagg	tggccccgga	76020
ggaggggag	ctgctcggcc	tgctggtgcg	cctggtcggc	gcgcgctcgg	tgctggaggt	76080
cggcacctac	accgggtaca	gcacgctgtg	catggcccgc	gccctcccgc	ccggcggacg	76140
tgctgtgacc	tgcgacgtcg	tcgcgaagtg	gccggacatg	ggcaggccgt	tctgggagcg	76200
ggcgggctc	gcggaccgca	tcgacgtccg	cgtcggcgac	gcccgcgcca	ccctggccgg	76260
cctgcacgcc	gagcacgccg	tgctcgacct	ggtgttcac	gacgcgaaca	agtcggatta	76320
cgtccactac	tacgagcgcg	cgtgacgtc	gctgcgcacc	ggcggcctgg	tcgtcgtgga	76380
caacacgctc	tttttcgggc	gggtcgccga	tccgtccgcg	accgatccgg	acaccaccgc	76440
cgtgcgcgag	ctgaacgcgc	tgctgcacgc	cgacgagcgg	gtcgacatgt	gcctgctgcc	76500
gatcgcggac	ggaatcacgc	tcgccgtgaa	gcggtgaacc	cgcccgaaat	gcgccgaatt	76560
cccccgaga	gaaaggccgc	cgcagtgttc	accgaggacg	tggccaccga	cctgcccggc	76620
tacccgttcc	tgcgggaccg	gggcgactgc	ccgttcgcgc	cacccccgcg	ctacggccaa	76680
ttacgggagg	agcagcccgt	caccagggtc	cgctgtggg	acggcagcac	cccgttctctg	76740
ctcaccggtc	acgaggtgtg	ccgcaccgcc	ctgaccgacc	cgcgcttcag	ctccgacggc	76800
gccaaccgcg	cccagccgcg	cttcgtgaag	ttcgacatcc	cggacgacgt	gttcaacttc	76860
ggcaagatgg	acgaccggga	gcacgcgagg	ctgcgcgcga	tggtcgcccg	gcacttcgcg	76920
agccgccccg	tggaggcgat	gcgccccgcg	atcaccacga	tctgccacgc	ccagctgcgc	76980
cagctcgtgc	aggcgggctc	ccccgccgac	ctggtggccc	actacgcgtt	ccgatcccg	77040
tccctggtga	tcggcggcgt	gctcggcggt	gcgggccccg	gcctggacga	gttcgcgcgc	77100
gactcgacgc	gcgcccgtga	cccgtccctg	tccgccgagg	agatggggcg	cgccatcaac	77160
tcgatggctg	ggttcgtgga	cgacctgtgc	gcggccaagc	gggcccggcc	cggcgacgac	77220
ctgatcagcc	gcctggtgct	ggacttcgag	cgcaccggcg	agctgacccg	gaagcagctc	77280
gtcgccaccg	tgatggctgt	gctgctggcg	ggctacgaga	ccaccgcgaa	catgatcgcg	77340
ctgggcacga	ccgcgctcct	gcgcgacccc	gagcagctgg	ccttccctgcg	cgccgagccc	77400
gccggtttcg	ccaacgccgt	cgaggagctg	ctgcgctggc	acaccatcgt	ccaggacggc	77460
accggccgcg	tggccctgga	cgacgtcgag	ctggacggcg	tgctcgttcc	cgcgggctcc	77520
ggcgtgatcg	tcaacctgcc	cgcggccaac	cgcgaccccg	acgtcttccc	cgatcccagc	77580
cgctcgcag	tgaccaggca	caacgcccg	cggcaattcg	cgttcggcta	cggcgtccac	77640
cagtgcgtgg	gcatgacgct	ggcgcgcgtc	gagctgcaga	tcgcgctgga	gacctgtgtg	77700
tgcggcctgc	cgggcctggc	gcctgccacg	ccgttcgagg	acctggactt	cgcctggag	77760
tccatgaacc	tcggcctgcg	ctcgtgcgcg	gtcacgtggt	gagcaccgac	cgtccaccag	77820
gggagagccg	atgacccgca	ccacccccac	ccccgacctg	gccccggagt	tcccgatgcc	77880
caggtcgccc	gagcacccgt	tcgacccgcc	ccctcgactc	cgcgaggcgc	aggaggcggg	77940
cggcctgtcg	cgggtgcgcc	tgtgggacgg	cagcaccccg	tggctgatca	ccaagcacgc	78000
ccaccagcgc	gagctgctgc	gcgacccccg	cctcagcgcg	gaattcctgc	gccctggcta	78060
ccccagcccc	attcgcatcg	aggacaagtc	gacgttcac	agcagcttcc	cgtcatgga	78120
cgacccccgag	cacaaccggc	agcgcgggat	ggtcctgggc	ccgttcaccg	tccgcaaggt	78180
ggaacgcctg	cgcccgcttc	tcgacgggat	cgtcgacgag	aagatcgacg	aactcctcgc	78240
gggccccaac	ccggtcgacc	tggtcaccgc	gttcgcgctg	cccatcccgt	ccctcgcgat	78300
cagcgcgcgt	ctgggcctgc	cctactccga	ccacgaggtc	ttcgagcgca	acagcgcctg	78360
gctgatccgc	caggacgtgc	ccccgcagga	acgggcccag	gccagcgagg	agctccagca	78420
ccacctcgac	cgcgtcctgg	gcgacaagat	gaccgacccc	gccgacgacc	tctctccga	78480

cctgggcgca	cgggtgctgg	caggcgagat	cagcaggccg	gaggcggtcg	acatgaccgt	78540
cctggtgctg	gcgggcgggc	acgagaccac	cgcgaacatg	atcgcgctcg	gcaccctcgc	78600
gctgctccgg	caccccgacc	agctggcgct	gctccaggcg	ggcgacgacc	ccgccctcgc	78660
cgagaccgcc	gtcggaggagc	tgatgcgcta	cctgacgata	tcgcacaccg	ggatgcgccc	78720
cgtggcgacc	gaggagctgg	agatcgacgg	ccaggtgata	cgcgcggggc	agggcggtgt	78780
gctggcgacc	tcgatcggca	accgcgaccc	cgacgtctac	gacggcgacc	cgcacgtgct	78840
ggacctgcgc	aggccggtga	agcagcaact	cgcgttcagc	ttcggcacc	accagtgcct	78900
gggccagtcg	ctggcccgcg	tggagctgca	ggtcgtcgtg	aacaccctct	accgcgcgt	78960
cccgcacttg	cgaactggcg	ccgcgctgga	gcgcatcccg	ttcaagcacg	acgggatcgt	79020
ctacggcgct	tacgagctgc	ccgtcacctg	gtgaccccg	cccaccagac	ctcctgccac	79080
gcagacctcc	cgcaagccga	ccccgaaagg	ccgttcccat	gagcgacacc	acgtgttccg	79140
tggccgtccc	cgaggaggtc	ggcaagctct	acgaccagat	cctgaaggac	gagcacacct	79200
acgagcagtt	cgagaagttc	aaccaccagc	tgcacatcgg	ctactgggac	gacccgacct	79260
cggacgtgcc	catgcgcgag	gccgtggtgc	gcctgaccga	gctgatggtc	gagcgccctg	79320
gggtggacgc	cgaggaccgc	gtgctggacc	tgggctgcgg	catcggcggc	ccggcgaccc	79380
agatcgtgcg	caccaccggc	gcacgcgtcg	tcggcggtgag	catcagcgag	gagcaggtca	79440
agctcgccac	caggctggcc	accgaggcgg	gcgtggggcg	ccgcgccacc	ttccagcgcg	79500
ccgacgccat	gcggctgccc	ttcgaggacg	agtccttcga	cgcggtgatg	gccttgaggt	79560
cgatcctgca	catgccgtcc	agggagcagg	tcctgtccga	ggcgcgccgg	gtcctgcgcc	79620
ccggaggccg	cctggtcctc	accgacttct	tcgaacgcgc	accccgcacg	ccggggatgc	79680
accccgcgat	cgagggtctc	tgccgaaccg	cgatgacgac	gatggccgac	gtggacgact	79740
acgtgccgat	gctgcaccgg	gtgggcctgc	gcgtgcggga	gctgctggac	atcaccgagc	79800
agaccatgga	acgcacttgg	cgggagaccc	tggagatcgt	cagccagaac	gaccgcccgg	79860
tcgacttcga	cctggcgagg	ctgttcggcg	tggacgagtt	cggctgcctg	ctggtcgccg	79920
cagaccgccc	gtgaggcccc	tccccgaggg	cgtgggcccg	ctgtacgacg	acctgctgga	79980
ggccgagctg	gagggggggc	cagccgaccc	gaacctgcac	atcggctact	gggacgcgcc	80040
ggactcgcca	accgacgcg	cggaggcggg	agtgcgcttc	accgacgaac	acgtccgcgc	80100
cctgcacgtg	accacggcg	accgagtgct	ggacgtgggc	tgcggcgtag	gcggcccagc	80160
cctgcgcgcg	gtggacctga	ccggcgcccc	cgtgaccgga	atcagcatca	gcgcgcacca	80220
gatcaccac	gcgacccacc	tggccaagtc	cgcggggccac	gcggacaaca	ccaagtctct	80280
ccacgcagac	gcgatggccc	tcccgttccc	ggactcctcg	ttcgacgcgg	tcatggcgat	80340
cgagtccctg	atccacatgc	ccgaccgcga	gcgggtcctg	aacgaggcaa	gacgcgtact	80400
gcgcccaggc	gggcgactgg	tcctcaccga	actgttcgaa	cgcgccccaa	gacccacccg	80460
cagacaccca	gcgataaccg	agttctgccc	agcatcgatg	gtgtccctgc	ccaacgcaga	80520
cgactacccc	gcactactac	accgagcagg	cctacgccta	cgggaactcc	tggacatcac	80580
cgaccacacc	gtccaacgca	acttcgcgga	actggccgat	ctggtaggcg	acgcgaagg	80640
cctgctgttc	cacccacgcg	acctggtggg	cgtcccagaa	ttcggctgct	tcctagcagt	80700
agccgaacac	ccgtaaccac	gcggtggcgt	ccccacgga	cgccaccgcc	tcgcgggctg	80760
cggggcgagc	gcagcgagcc	cgcgcagccc	cactcccgcg	tccctcttct	ccgtgtggcc	80820
tggcgcatgt	caaattccca	ctgactgcca	acagatcatg	tgcggttga	gcaggtcagc	80880
gacttgctgc	gcttcgggtg	cttaaggccg	agctgggatg	ggggcactgt	ttccggactg	80940
agcggggcag	cttggaaagg	ggagttcggg	gagcagaggc	agcaegtccc	gtcgcacgta	81000
gaggtggttg	tacacgcggg	ggcgggacct	gcgcagtagg	ccgtatccg	caagctgctc	81060
caagatcagg	agtgcggcgc	ggtgcgtata	gccgagttcg	gcggtcagca	tgggtgctgt	81120
gagcagtggt	gcgacgagca	gcggggcggg	aagcgcttgg	accttccctc	gcccgggtgc	81180
catcgcccag	gtgggcgata	gcgcgagcct	cacggatcgc	ggtcacctca	tgcaggtcgg	81240
cgtcaacct	ggaacgcgcg	actgtttcgt	ccagacgtgc	cagggcggtg	taggcgtgca	81300
acaaggtctt	gctggtttcg	gagcgcagtc	tgagccggga	ccaggacgac	aactccgcga	81360
tcctcgcgga	cggggggcgg	ctcgtgtctt	caccgtggt	agttgacctg	cgcggggcgg	81420
aggtgcccta	ttgctgcccg	gacgaggtca	tccccgggag	cagtttctca	gcacgccgtg	81480
aatcgagatc	cggggcgctg	agcgcggtga	acgcctcgtc	cagcgagtcg	cacgcgcacg	81540
tcgtcctgac	atcgggccgc	gcatggcccc	aggtggtcag	cggtgagcgg	gaaggcgcg	81600
caggggtgtg	gcgagacact	ccgggactcc	gtgcagaagg	tcgatcaggc	gaaaggggtg	81660
aactgcgaat	cgcaaagcgg	cccggccgca	aaggggtcgg	gccgcctcgc	acgattgggt	81720
acgtgctgc	ggcgcggtcc	cgccggaact	gcttgccgag	caggtcgatc	cgccttctgt	81780
gatcttctgc	cagcgctccc	agaaccgaga	gcagtcgtcg	ggcgtgcagt	gcatggccaa	81840
taccatcgtc	gcgtacccca	gaggggtgct	ctcccgttca	ggggcgacca	tttcccacgc	81900
ccgcttgccc	tccttgggcg	cccggccaag	atcgccgagc	atcaggtagg	tggccgacaa	81960
cccgaaca	ctgcctgcca	acgcggcttc	cggcaccccc	cgcgcctcgt	cggcttccaa	82020
cgccgaaca	ccgtgccaca	gcacggcccc	cgcgttgccc	tcgctcgtct	ccagccatcc	82080
catgacaccg	tgcgcttcgg	ccagtgacca	cgatcggtcg	tcgggatcgg	tgttgacaaa	82140
cgccagctcc	agcgtcgttt	cagcagcgtt	accgaccaca	gcgcggcgcc	gatgtccagc	82200
acttcttgcc	ggtacccgcc	cacgagtgcg	gcggtgcgct	gcacggccac	gacttcccgc	82260

cgatgcacga	tcagccactt	gtacgccgccc	aaggcggtgt	cgaacagcgg	cttcgccccg	82320
acctcgaagc	cgctcgacgaa	cacctcgcg	aaatcaccga	gcagtttccc	tgcgggccaag	82380
gtgcgcccga	gcaggtacct	gcccgaagcg	tccaactctt	gcgggaactc	ctgctgcaca	82440
gcccatacgca	gcagtgccctg	ggcttggctt	gtctcctgcg	cgcgatggcg	accggccagc	82500
cggtaacgcg	aggaggtgaa	ctcgggggtg	gtgatgttcg	ggtgaagttc	agtccacgaa	82560
ggctgcgtca	gcaccagcac	gccctggttc	acccagtccc	gcgcgtgttg	ggcgggtctcc	82620
tcgacgggtga	ttcccagcat	cgcgggccaac	gacgaggtcg	agaccacggg	gtccggcagc	82680
aggtccagca	atctcagctc	ttgcggaatg	ggcacaagag	tgttgatcat	cgatgccctt	82740
cccgaggagac	ggcgatgatt	ggagtggcga	acagaagggg	aaacgccagt	tcgcccgggtt	82800
ccggcggtcc	acgcgccttc	ggccggccac	ttggactccg	acgggcagaa	gttcaccggc	82860
aaggactctg	gtgacgggtg	agcgggtcac	gcccatacgt	tcggccaagg	cgtagtcgct	82920
gtggtaaacca	gcgaactgag	ctagctttcg	catcttgctg	ccgcgcaccc	cgacgacctt	82980
cttgatcttt	tcggtctcgc	tgctggtgtc	gtcgacatgt	ccgccgtccg	gcgctgacac	83040
cgttctcctt	gagatcgccg	agctgaatgg	gggatgcttc	gacgtaaggc	gttgcgatg	83100
cgcaacaggt	caggcgccgt	cgagtctccc	cattaccgag	gtttcgcttg	atcgccgaag	83160
gggcccgcct	cgaagaagtc	caatcgagct	ggcatcccct	tcgattgatc	aatagcgaga	83220
cggggtgtcgc	tcgacatcgc	cccaccgcct	gctcctgacg	tgccacgagc	agggaggagc	83280
gacctccctc	gggactgcac	cgaccgttcc	tccctgtccg	ccgattcagt	tgcatctccg	83340
cacgctaggt	gcccggatgcg	ggccgaaggg	acaacgaagg	gacaagtcga	acagcccagg	83400
tgcgaggtat	cttgaaatag	cccgaatcct	ccgtcgcgaa	gcaggtcgcc	atgcccactg	83460
acgaacagtc	cgagggtgtc	ggagagcgca	tagccgtcca	acgcaaaactg	gctggccttga	83520
ctcagcaagc	tctggcgaag	cgcgcacacg	tcagcctcag	cctcatcaaa	gggggtggaac	83580
aggggaaggat	tcccgcctct	cccgcgctcg	tgtcccagggt	ctcgcggggcg	ctcaaggctcg	83640
aggcgacgat	cttgctgggg	cagccgtacc	gccccgagga	tcggagcagt	cttcgcgttc	83700
actccgtcat	ccccgggtctg	cgccgagcct	tggcgcccta	ccggttgccc	gctgatgagg	83760
gcatcagccc	tcgcggggtac	gacgagctgg	cgccgggtgt	agccgccgcg	tcgaagatgc	83820
gccacgcgcg	gcagctggac	gtcctggggg	ctgaactccc	cgccctgctc	gacgagatcc	83880
gctcggccat	gcagcaggct	cggggagttg	agcggcagcg	cctgttcagc	ttgctggcag	83940
aggcatacgc	agccgctgggt	caagtcgcgt	ggaagctggg	ttacgcggac	ctgtcctccc	84000
tggcgacgga	gcgcgtggag	tgggcggcca	aagagtcggg	cgatccgctc	gcgatgggcg	84060
cagcggactt	ctacatcgcc	ggtgagctga	tcgcagcagc	ggagtggcgc	ggcgccctct	84120
cctacctcga	cggtcccgt	cgccgcctgg	agcacgtggt	gcgcaaggac	gacgaggccg	84180
ccttgctgat	ctacggagtc	ctgcacctga	agtcggggct	cgcggcggca	cgggccggga	84240
aagccgacga	atccgacgcg	cacctcgctg	aagcccgtgg	catcgcgga	aggggtgccg	84300
tgggcagtgga	ccactaccgg	ctcgcgttcg	accgggactc	ggtcaacatc	tggaacctgg	84360
ggctggcagt	ggagcgcgat	gacggcacgg	aagccgtcaa	acgagcccac	gggatgcgct	84420
tcagcaagac	caccccgcgt	gaacgcgtgg	gccaccaacta	catcgatctg	gcgcgcggct	84480
accagctgca	cggagaccgt	gaccgcgccc	tgcaacacct	tcagatcgcc	aggcgaacct	84540
caccgcagca	ggtgcgctac	cacccgcagg	tcagggaaac	ccttctcagc	ctcgcggaac	84600
aggaccgcag	gcgctcggt	tccctggcag	ggctcgcgcg	ctggatcggg	atgccggtgt	84660
gacaggacgg	cgagctgacg	tcgctggtga	ggggcagccc	cccatcgccc	gcccctcaac	84720
agcaggtgcc	ggtacgtccc	tcacagcgcg	acgtgacga	tcaggctggc	gaacatggcc	84780
acggccagcg	cgatcatctg	cttgggcgcg	ccgccgaaga	agagggaacc	cacccaccgc	84840
agtggtaaac	cggcaccgag	caccaacggc	caccggccgg	cagagcccgt	ccccctcttt	84900
tttgagggtc	tgccccgcgg	gcgaggcggt	cccttcagct	ctcaagctct	ccactctcga	84960
tcttggtggt	cgaacacccc	ccgcaccccc	actacgatcc	ccccatgggg	gctctgatca	85020
tcgcggtagt	gctgctgctc	gtcttctctg	tgcaactcaa	gcgggaacc	agacgactgg	85080
gcaacggcgt	ctacctgctg	atgagcctgg	cgttcttcgc	cctctggctg	ctcaccctcg	85140
ccacccccca	gaccaggacg	ctgggtgtag	gcgcggtagt	cctgatcgcc	ccgggtattcg	85200
tcacogtgat	cgccctgttc	ctcatcgcca	acggcgctcac	cctgctgcgc	cgcgaggggcg	85260
tcaaaccagg	caacgccttc	tccttcggcg	caggcacccg	catcctgtgc	gtcgtagggcg	85320
gocgtgctct	ggtcctgctc	tccgccttgc	gcgaaggctc	ccccgacccc	tggtgtgctgg	85380
cagcagccgg	ttccctgggt	ctcctggccg	gctacctggg	cttcgccttc	accctcttcc	85440
tgctctactc	cgtgctctac	ggccgagctc	gcaagcgcac	cggccacacc	gcgatcatcg	85500
tcctggggcg	ggcggtcccc	ggcgggccgag	tgaccccgct	cctggcaggc	cgcttgacc	85560
gcgcccgtga	gctctaccgc	cgcgcgcgag	ccaagggcgc	ttcccccggt	gtagtcgcct	85620
ctggcgggcca	aggcccagac	gaaccagcct	ccgaagccga	ggtcatggcc	aactacctcc	85680
gcgaacgcgg	catcccggac	gaggccctcc	tggaagagcg	cgagtccacc	tcgacctggg	85740
agaacctccg	cctctcctcc	gccctgctcg	ccgaacgcgg	cgtgaccggc	agactcctgg	85800
tcgtcaccag	cagctaccac	gtcccccgag	ccgcgatcct	ctcccgccgc	gcaggcctga	85860
aggcagacgt	ccgcggcggc	cgaaccgcct	ggtacttcgt	gccgaacgcc	ttcctccgcg	85920
agttcgccgc	cctcctgggt	cagtaccgca	ccctcaacgc	cctggcagcc	tgaccgcac	85980
tctccgtctt	cccgtcctg	gcctacggcg	tctgaaaage	acgaccggcg	cgaccggaca	86040

ccgcgtcaca	gatccagcgg	cgccgacccg	aagggcacgt	tgaaccggtc	gcaccacacc	86100
acgacgtgc	gcagccccga	caggtccacg	tcctccggaa	tcaggtagtt	ctggttgccg	86160
tcggtggcct	tcatgggacc	gagcggcagg	tagcgcccat	cgtcgtactt	gccccactcc	86220
ccaccgcgg	tcgcgtccga	gagccagatg	tgcaagtcgg	gcccgtccga	ggtggagaac	86280
ccatccagcc	gcagcacgcg	cgcgggcccc	ctgcgcagca	cgggtggcgg	gccccgcgtc	86340
tcgtgctcct	gggtgacgaa	cccacccggt	gccagcaccc	tcggctggtc	ggcggtcgcc	86400
gacgacgtcc	caccggggcgt	cgtggcaccc	ctgcccgcgc	ccgccccggg	gctcgacgcc	86460
ccagccccgg	tgctcaccac	cgcacccggt	gagacgtga	actcggcggg	cagcgctcgc	86520
tccgcctcgc	tgcgcgctcca	caaccgccac	ggctggaaca	cccacagccc	gacgaccgca	86580
gccaccacca	caacccccga	caccgcccac	accgctctcc	tgcgcaccca	accgcgcacc	86640
acgtcccttc	ccgttctccg	cagacgacct	gccaccatgc	cacgggtcgc	gcccgatgac	86700
cacgaccacc	gcgccacacc	cgccccacgc	agcgactagg	ctgcccaccg	gggtcgccag	86760
ccgatcccga	gcgggttgag	caggcagccc	accgcagttc	gcgctagtgg	gatggaggga	86820
gcggggccgg	gtccgagctg	gatgcagccg	cgggtggcac	ggtgggttcc	gacgtggtgc	86880
gcgggggtgcc	cgtgctgcgc	gtcgccgggg	agatcgacac	caacgtcgcc	gacgaggtcc	86940
gccggggcgt	gctgccctgg	ctggacgggt	tgcgcgggcc	aggggtgctc	gacctgaccg	87000
gggtgaggtt	catggcctcc	accgggttgt	cgctgctgat	cgaggccgcc	cggcgccagg	87060
cggcgaagct	ggtgctggcc	accgcccagc	gcggcgtgct	ccggccgctg	cagctgaccg	87120
ggatgagcgc	gctgctcccg	acgcacccca	ccgtggacct	ggcctgggac	gcccagctcg	87180
gggcccgcct	ggccgggatg	cccagcacgg	cctgaccacc	ctcgggtccac	gggcggcctg	87240
cccgcggacc	acccgcacgg	cgccctgggg	ggacgagatc	acagctggtg	gaagacgcga	87300
tcctggtccg	cgcgcccgca	cgccgggtgg	cgcgggcgct	cccgccacgg	cggcggaccc	87360
gcccccggtc	cccaccacgg	ctccgggcacc	ggccccgaca	ccgacaccga	ccccagcccc	87420
gccccctggc	acgaccacac	caccaacccc	ggtcctgggc	gcaggtgtcg	ccaccgccac	87480
cgccctgacg	ctggcactcg	ccggggccgc	agccccagcc	gacaacagcg	cgggaaaggc	87540
ggccatcatg	gacgaggtgg	acgccccaac	caccccaccc	accccggccg	cgctggacct	87600
cacgccccgc	ccacccttgg	ccgaggtgcg	ccgttggaac	ggcgcgctgc	tgatcgacgc	87660
cgacgagaaa	gcacgggacg	acgtgctgct	cgtggtcaac	gagctggtcg	ccaacgccta	87720
cgaccacacc	acctccccac	tcgccctgcg	cctcaccacc	acccccgagc	acgtgcgcgt	87780
ggaggtcgag	gacgggtccc	ccgacccacc	acgcccggac	ctcaccgcgg	gcctgcgcca	87840
gatcggcacg	cgcgagcgcg	gcctgctgct	gatccgccag	ctgaccgata	gctggggcag	87900
cacgccccac	cccggcgcca	agaccgtgtg	ggcgagagct	ccgaacgtcc	cggcgacctg	87960
agccccgacg	cccaccaacg	aggccacggc	ggatctcacg	ggaagagcgc	ggcggggcac	88020
tcggggcgcg	ttggacgcgc	gcgcactccc	cggtaggggg	tcggggcgcg	gagtggatga	88080
gcgtggcggc	gagcagggcc	ggtccggcgc	acgagacggc	catcagcagc	ccgccgaccg	88140
gggcccgcag	gcgtcgggcg	cgggcgcgca	gcctgcccg	caccgggccc	accacggagc	88200
tgacgccgag	gacggcggtg	caggcgccga	gcgcgcgcct	gcggggccgc	ccctcgaagc	88260
gcacctggac	ggcggtcagc	gccccggaga	ccatgagcgc	cgcgcccgcg	ccctggacca	88320
cccgcgcggc	caccagcgcc	gggcccgttg	gggtgaggcc	gcaggccggg	gaggcggcgg	88380
tgaaggtggc	gggcccagcg	aggtgggccc	agcggcggcc	ccggatctcg	ccgaggtggg	88440
ccccggtgat	cagcaggacg	gcgagctgcg	gcaggacacc	gacacgggca	cgaccgcgtc	88500
gatgtgcgtc	gcggcggcgc	agggcgcgga	gacgggcgcg	ggcgagcgct	gagggcccg	88560
ccggcgccac	tccccgctca	cacctcccgc	cgcagcatat	cctcctccgt	ctcccgcgcg	88620
accagcacc	gcgccactcc	gtcgcgcacg	cccaccacag	ggggcctgcc	cacggcggtg	88680
tagttcgacg	ccagcgcgtg	gtggtaggcg	ccggtcaccc	gcaccgccag	caggtccccc	88740
gcgcgcacgt	ccgcgggcag	cggcacgtcc	tcggcgagca	cgtcaccgcg	ctcgcagtgc	88800
ctgccacca	ccgtcaccgg	cgcgcgccgc	ccgccccggc	cgaccaggcg	caccgcgtac	88860
cggctcccgt	acagcgcggg	cctgggggtg	tcgtcatgc	ccccgtccac	ggccacgaac	88920
acccgcctca	ccccgcgctt	gacggcagcc	acccggtaca	gcgtcacacc	agcgcccgcg	88980
acgaccgacc	gccccggctc	gatcagcagc	ctcggcaccc	gcacgcgcgc	cagcgccgac	89040
tcgtggctca	gcgccacccg	caccgggtgc	gcgaaccgcg	caaggtcgaa	ctccccctcc	89100
cccggcaggt	agggcaccgc	gaaccgcgcg	ccgaggtcca	gctgctcgat	ccgcaccccc	89160
cacgaggcga	tcagcccgcg	catccgcgcg	gccgcctcct	cgtacaccgc	gacgtgtcgc	89220
acctgcgacc	cgacgtggca	gtgcagcccc	accagcctca	gcgacggctg	ctcgaccacc	89280
cgcagcaccg	cctccagcgc	gtccccaccc	gccagggaga	agccgaactt	ctggctcctc	89340
accccggtcg	ccaccgcccc	gtgggtgcgc	gggtcgacgc	cgggggtgac	ccggaccagc	89400
acgtcctgcg	gccccctggc	cagcgcgcgc	agctgctcga	tctcgtcgaa	cgagtccacc	89460
accacccgcc	cgaccccgta	cccagggggc	gccttgagg	cctcggggcg	cttgacgttg	89520
ccgtgcagca	gaatccgctc	cgccgggaac	ccgaccgacc	gcgcgatcgc	cagctccccc	89580
gccgagcaca	cgtccagcga	cagcccctcg	tccgccaccc	accggtacac	ctcgcggcac	89640
ggcagcgctt	tgcccgcgaa	caccacctca	gcctccggca	gcacctcccg	gaaccgcgcg	89700
gcccgcgccc	ggaccgtgcc	ctcgtcgagc	acctggcagg	gcgtgccgaa	ccgggcggcg	89760
agctcggctg	cgggcacccc	gccgagcagc	agctccccc	gctccagccg	ggtcccccag	89820

ggccacagcc	ccgcctccag	ggccgggttcg	ccggtcatgc	cgacgctggg	cagcaactcc	89880
gcgagtgtca	tgcccgccag	cacacgcccg	aaccggccgg	ggcgacagcg	gcgcgaacgc	89940
gtccctgacg	gcgtgcccgg	cgggattgac	gccggccctga	cccgaaccg	ccagcccgcgt	90000
ctcgaaccgg	gcggaagcac	ccccgaaacg	cgccggaaac	ccgcccgcgc	attccccga	90060
acgcctacct	cacggcgatt	ttgatgcttt	ttttacgccg	ggacgcccgc	atattcactc	90120
ctccgagccg	cgcggggacg	ttgacttctc	atgcccagcg	acgtgatcga	ggagagaccc	90180
cgaatgtccg	aaacaccggg	tttcgccgtt	ccaccagggg	tggaaagccc	ggtacgcccg	90240
gccgcgcccg	ccaaccgggt	ggggcgctgg	ctgctggagc	accgggtgca	accggcgggg	90300
cccgcgggca	ccgaccagca	cagcacgccc	caggcggtgt	ggaaggtcat	gtgcctgacc	90360
ggcgctgact	acttctcgac	cctgtcctac	ctgccgggca	tcgcggcgct	ggcgcccggg	90420
gcggtctcgc	cgctggcgac	gctgctgac	gtcgcgctga	ccctgttcgg	gatgctgccg	90480
atgtaccgcc	gggtggcgca	cgagtcgccc	cacgggcagg	gctcggtggc	gatgctggag	90540
gacctgctgc	cgttctggcg	cggcaagctg	ttcgtgctgg	tgctgctggg	tttcgtggcc	90600
acctcgtgga	tcacacgat	caccctgtcg	gcggccgacg	cgtcggtgca	cgcgctggag	90660
aaccgcacg	cgcccgcgtt	cctgcacggg	cacgaggtgc	tggtcaccgt	ggtgctgctg	90720
ctcgtgctgg	gcggggtgtt	cctgctgggc	ttcaccgagg	cggtcagcgt	ggccatcccg	90780
ctggtcgcgg	tgttcctgct	gctcaacgcg	gtggtcgtgg	tcgccggcgt	gctggagggtg	90840
atcgcgaaac	cggacgtgct	ggacggctgg	ttcgccggcg	tgacctccac	cgccggcggc	90900
ggggtgctgg	gcgtggtcgg	cccggccctg	ctggcgcttc	cgctgctcgt	gctcggcctg	90960
tccgggttcg	agaccggggg	gagcatgatg	ccgctggtcg	aggcgaaggg	cgccgacgac	91020
gccgaacgcc	tggcgaaccg	cgcccgcaac	acccgcaagc	tgctcaccac	cgccgcgctg	91080
atcatgtcgg	tgtacctggt	ggccaccagc	ttcgtgacca	cctgctcgt	gcccgtcgag	91140
cagttccgcc	ccggcggcga	ggccaacggg	cgggcgctgg	cctacctggc	gcacgagctg	91200
ctcggcgagt	gggtcggcac	ggcctacgac	atcagcagcg	tgctgacct	gtgggttcgcc	91260
ggcgcgctcc	cgatggccgg	gctgatcaac	atcgtgcgcg	gctacctgcc	cgcgtacggc	91320
atggccccgg	actggacgcg	cgccgtccga	ccggtcgtgc	tggctctaac	ggtgatctgc	91380
gtcggcatca	cggtgatctt	ccaggccgac	gtggacgccc	aggccggcgc	gtacgcgacc	91440
ggcatcctgg	cgatgatggt	gtcggcgctc	gtggcggtga	ccctgtcggg	ggcgcgcgcc	91500
gggcggcggg	gcgcggcctc	ggcgcttcgc	gtgctgacct	tgatcctggg	gtacgcgctg	91560
gtggagaacg	tgatcgagaa	gccggacggc	atcacgatct	cgcttcgtgt	catcgtcggc	91620
atcatcgccg	tctcgtggtt	ctcgcggatc	tcgcgcacca	ccgagctgcg	cgtggagcac	91680
atcgagttcg	acgagaccgc	gcgcaggctc	atcaccgact	cgatcgccca	cgacggcgcg	91740
ctgaccgtga	tcgcgaaccg	caggcaggcc	ggtgacgtgg	ccgagtacgc	ggacaaggag	91800
gccgagcagc	gcgggggtgaa	cccggtgccg	gggcaggcgg	acgtgctggt	cctggagatc	91860
gacgtggtgg	acccgtcgga	cttcagcgac	gtgctggagg	tgccgcggcg	ggagggtggc	91920
ggccaccggg	tgctgcgcgc	ggacagcccg	gcggcgccga	acgcgatcgc	cgcgatactg	91980
ctggcgctgc	gcgactgcac	cgggggtgcg	ccgcaactgc	acttcgcgtg	gagcgagggc	92040
agcccgtggt	ggcacctggt	ccgctacctg	ctgggtgggg	gcggcgacac	ggcgccgggtg	92100
gtgcgggaga	tcacccgggc	gcacgagtc	gacccggagc	gcaggccggg	catccacgtg	92160
ggggcctgag	cgggcacgac	ggcggggtgg	tccaggcagg	cagcgtgggc	caggccagtg	92220
gggtgctccc	ggccagcaac	gtgctcccgg	ccggtggggg	ctccagggcg	ctgcggcggc	92280
cgatcgcgcg	ggcgtggtcg	gcgaaccgct	cgagtgctc	gctgagcagg	gccgcgtcga	92340
cggcgcgctc	ctcaacgccg	cgcagcacgg	ccagcacgga	ccggggcact	caccaaagcg	92400
gaagagccac	accaactggg	cttcggcggtg	ggaggcgcg	tgacgcgggt	tgtggtctcg	92460
cgctgcccgc	cggcgcgggg	gactgggtcg	cgagcagcac	ctggccgcgg	tgccgcgcgg	92520
cgccccgcgc	caggtcgcac	acggcgccca	ggtccggcac	cggcgcgctc	cgcgggtcgt	92580
ggaacacgtc	gcgcacgcgc	ctctccctcg	gaggatcgga	tcggaaggcc	ctgatcccaa	92640
ccgggcgcgc	accccggcga	caagccctca	cccgccgaac	ttgcgctttc	cttcgccccc	92700
gacccccgcc	cgtcacaac	ccccgtcacc	ccgcgctcac	ttttgtgat	gacgatcagg	92760
aaacagtagt	agcccattcg	tgacctgcac	tgacgcgacg	atcacccac	ccgtcaacga	92820
aacgtaaaac	cgccctggta	ccccgtcaaa	gacccgtcag	caccccgctc	acggcggttt	92880
ccccgttgca	cccttttggc	gtcgcgggtc	ccacgaacgg	gggcccgtcg	gagtcgggaa	92940
gggagcacgc	tcattggccga	cctggcctac	gcgtcgctgc	tcacgcgtgt	gttcggactg	93000
ctcgtcctcg	gcattcgcg	actggggcgg	ctctgatggg	cggcacggga	gtcgtggcca	93060
acgcgctcgg	tggcggtgctg	gccctgctgc	tcacgggta	cctgttcgtc	gcgctgatca	93120
ggccggagaa	gttctgatgt	cctcgaccac	ggcgggcctg	ctccaggtcg	ccctgctcat	93180
cgcgcgctg	gcgcgcgct	accggccgtt	cggcgactac	atggcccgcg	tctacaccga	93240
cgccaagcac	accaaggtcg	agcgcctgct	ctaccgcgca	gcccgcgtcg	accccgactc	93300
gcagcagcgc	tggggcacct	acgcgcagg	cgtgctcggc	ttctccctcg	tcggcggtgg	93360
cctgctgtac	ctgatgcagc	gagtgcagcc	ctggctgcgc	ttcgaccacg	accggggcgc	93420
ggtctcgccc	ggcatggcgt	tcaacaccgc	cgcctcgttc	gtggccaaca	cgaactggca	93480
gtcctacgtc	ccggagaccg	tcctcgcca	caccgtgcag	atggccgggc	tgaccgtgca	93540
gaacttcgtc	tccggcgcg	tcggcatggc	cgtcgcgcgtg	gcgctggtgc	gcggcttcac	93600

ccgcgagggc	tccgaccggc	tcggcaactt	ctgggtcgac	ctcaccaggg	gcaccctgcg	93660
cgtcctgctg	cccgtgtcgt	tcgtgttcgc	catcgtgctg	gtcgcgaccg	gcgtcgtgat	93720
gagtctgaag	gcgggctggt	acgtggacgg	ccagcaggtc	gccatcgccc	cggccgcctc	93780
gcaggagggc	atcaaggagc	tcggcaccaa	cggcgcgggc	atcttcaacg	ccaactccgc	93840
ccaccctgtc	gagaacccca	acggctggtc	gaacctggtc	gagatcttcc	tgatcctgct	93900
gatcccggtc	tcgctcacc	gcaccttcgg	caccttggtc	ggcaaccgca	agcagggcta	93960
cgtgctgctc	agcgtcatgg	gcgtgctgtg	gaccgcgatg	ctcgcgggtc	tctgggcggc	94020
cgaggcgcac	ggcctgcgcc	ccctggaggg	caaggagctg	cggttcggcg	tccccggcag	94080
cgccctgttc	gccaacacca	ccaccgccac	ctccaccggc	gcgggtcaacg	ccatgcacga	94140
cagcctcacc	ggcctggggc	gcggcgcgac	gctgctgaac	atgctgttcg	gcgagatgac	94200
gccgggcggc	gtcggcaccg	gcctgtacag	catcctgggtg	atggcgatca	tcgcgatgtt	94260
cctggccggt	ctgatggtcg	ggcgaccccc	ggagtacctg	ggcaagaagc	tgggccggcg	94320
cgaggtgacc	tgcgccgcgc	tgtccatcct	ggcgatgcc	gcgctgggtg	tggtcggcgc	94380
cgggatctcg	gcggtgctgc	cgtcgacggc	cgggtacctg	aacaaccccc	gcgagcacgg	94440
cctgtccgag	atcctctacg	cctacgcgtc	ggcctcgaac	aacaacggca	gcgcgttcgc	94500
gggcatcacc	gtgaccagcg	actggttcca	gtcctcgctc	ggcgtctgca	tgttgctcgg	94560
ccggttcgtc	ccgatcatcg	cgggtgctgtg	cctggccgggt	tcgctcgccc	ggcagaagcg	94620
cgccccgcgg	accgcgggca	cgtgccccac	ggacagcccc	ctgttcgcct	cgtgctggt	94680
cggcgcgatc	gtgctcgtcg	ccgccctcac	cttcgtcccc	gccctcgccc	tcggccccat	94740
cgcgagggca	ctgctgtgac	caccaccgac	acccgccagc	ccgcccccca	ggacacgggc	94800
gcgcggcccc	cggccaagcc	cgtcccgtcg	ggcgtgttcg	ccccgcgcca	gctgctcacg	94860
tccttgccgg	acgcgctgcg	caagctccac	ccccgccacc	agctgcgcaa	ccccgtgatg	94920
ttcgtgggtg	gggcggggtc	ggtcctgggtc	acggtcttcg	ccgtcaccga	cccgaacccg	94980
ttcacgatcg	cggtcgcgct	gtggctgtgg	ttcaccgccc	tgttcgcca	cctcgccgag	95040
gccgtcgccg	aggggcgcgg	caaggcgtag	gccgagtcgc	tgcgcaggac	taagaccgac	95100
gcgctggccc	gcctgaccga	cggccgcacc	gtgcccggca	ccgagctgaa	ggtcggcgac	95160
ctggctgtgg	tcgaggccgg	tgagggtgatc	cccgcgcagc	gcgacgtggt	cgagggcatc	95220
gccaccgtcg	acgagtcggc	gatcacccgc	gagtcgcgcg	ccgtgggtgcg	cgagtccggc	95280
ggcgaccgtg	gcgcggtcac	cggcggcacc	accgtgctgt	cggaccggat	cgtcgtgcgc	95340
gtcaccagga	agccgggcca	gacgttcgtg	gaccggatga	tcgcgctggt	cgagggcgcg	95400
cagcggcgaga	agacgccgaa	cgagatcgcg	ctgacgatcc	tgtgttccac	gctcacgatc	95460
atcttcctgc	tcgcgggtgt	cgcgtccacg	ccgttcgcgg	tgtactccgg	cggcgagcag	95520
tcggtgatcg	tgctgaccgc	gctgctgggtg	tgctgatcc	ccaccacgat	cggcgcgctg	95580
ctgtccgcga	tcggcatcgc	gggcatggac	cgctggtgc	agcgcaacgt	gctggccacc	95640
tcggggccgg	ccgtcgaggc	ggccggtgac	gtggacacgc	tgtgctgga	caagaccggc	95700
accatcacct	ggggcaaccg	ccgcgccacc	gagctgatcc	ccgcgcccgg	cgtcacgctg	95760
gacgagctgg	tgagcgccgc	ccggttgtcg	tcgctggcgg	acggcaccac	cgagggccgc	95820
agcgtggctg	agctgtgcgc	gaccgggcac	ggccgctccc	ccgagccccc	cgacgcggag	95880
aagaccggcg	agttcgtgcc	gttcaccgcc	cagaccggga	tgagcggcat	cgacctggac	95940
ggccgcagcg	tccgcaaggg	cgcgcgcgac	gcgttcaccc	tcaccgactc	ggtcaagtcc	96000
acggtggacg	agatcagcgg	cgacggcggc	accccgctgg	tggtcgcccga	cggcgagcgg	96060
gtgctcggcg	tgatccggct	gtccgacgtg	gtcaagcccc	gcatgaagga	gcggttcgcc	96120
gagctgcgcg	ccatgggcat	ccgcacggtc	atggtcaccc	gcgacaaccc	gctgaccgcc	96180
agggcgatcg	cggccgaggc	gggggtcgac	gactacctcg	ccgaggccaa	gcccgaggac	96240
aagatggccc	tgatccgcaa	ggagcaggag	ggcggaagc	tggtcgcat	gaccggcgac	96300
ggcacciaacg	acgcgcgggc	gctggcccag	tcgacgtgg	gcgtggccat	gaacaccggc	96360
acctcgcccg	ccaaggaggc	cgggaacatg	gtggacctgg	actccgaccc	caccaagctc	96420
atcgagatcg	tgagatcgcg	caagcagctg	ctgatcacgc	ggggcgcgct	gacgacgttc	96480
tcggtcgcca	acgacctggc	gaagtacttc	gcgatectgc	ccgccatgtt	cgccgcgatc	96540
caccgcgagc	tggaacaagc	caacgtcatg	ggcctggcca	cgcgcgagtc	ggcgatcctg	96600
tcggcggtca	tcttcaacgc	gctgatcatc	gtgggtgctga	tcccgtggc	gctgcgcggc	96660
gtgcgtacga	agccctccag	cgcgagctcg	ctgctgcggc	gcaacctgct	ggtgtacggc	96720
gtcggcgcca	tcatcacgcc	gttcgtcggc	atctgggtca	tcgacctgct	cgtccgcctc	96780
atccccggaa	tcgggtgaac	tccgtgaacg	cgttcgtgaa	gcaggccctg	gccggtctgc	96840
gcgtcctgct	ggtgctgacc	gtcatcaccc	gcgtgctcta	ccccgcgcgc	gtctggctcg	96900
tctcgcgggt	gcccggcctg	cacgccaacg	ccgaggccac	cggcaccgag	ctggctcgtg	96960
cgccgcgcga	gggcgacggc	tggttccagc	cgcgcccgtc	gatggcgacg	ctgcccgcgt	97020
cgggcgggtc	caacaagggc	gagcgcaacg	ccgactacga	cgcggtgatc	gccgagcgcc	97080
gcaccgagat	cgcccgcgcc	gagggcggtg	cggaggacgc	cgtgcccgag	gacgcggtga	97140
ccgcctcggc	ctccgggctg	gacccgctga	tcagcgccga	gtacgcggcg	atccaggtgc	97200
cgcgcggtgc	gcgggagcgc	ggggtgtcgg	aggacgccgt	gcgggcgctg	gtcgccgagg	97260
cgtcggtggg	ccgctcgctc	gggttcgtgg	gcgagccggg	cgtcaacgct	accgccctca	97320
accgggcccgt	cgacgcggcg	gagtgagacc	gaccgggggc	cgtcctcgcg	gcggcccccg	97380

gttttcccca	tttctctgat	ctcgggagcg	ggcgggaccg	tggacaagcg	caagcgcgcg	97440
gaactgcgca	tctacctggg	cgcgggcgccg	ggcgtcggca	agaccttcgc	gatgctcggc	97500
gaggcgcacc	gcccgcgggg	gcgcggcgcg	gacgtcgtcg	tcgccctggt	cgagacgcac	97560
ggccgcgagc	gcaccgccac	catggtcgac	ggcctggagg	tgctgccccg	caaggaggtc	97620
cagcaccggg	ggaccacgat	caccgagatg	gacgtggagc	cggtgctggc	ccgcgcgccc	97680
gagatcgccg	tggtggacga	gctggcgcac	accaacgccc	ccggctcccg	caacgccaaag	97740
cgctggcagg	acgtcgagga	gctgctggac	gccggcatcg	acgtgctgtc	cacgctcaac	97800
atccagcacc	tggagtcgct	caacgacgtg	gtgcgcgcga	tcaccgcgct	cgagcagcgc	97860
gagaccatcc	ccgacgaggt	ggtgcgcgcg	gccgagcagg	tggagctggt	cgacctgacc	97920
ccggaggcgc	tgcgccgcgg	cctggcgcac	ggcaacgtct	acgccgcgca	caagatcgac	97980
gcccgcgtgg	gcaactactt	ccgggtcggg	aacctgaccg	cgctgcgcga	gctggcgctg	98040
ctgtgggtgg	ccgaccaggt	ggacgtggcg	ctccagcggt	accgcaccga	gcagcgcac	98100
accgacacct	gggaggcccg	cgagcgggtc	gtggtcgcgg	tgaccggcgg	cgcgagagac	98160
gagaccctga	tccgcagggc	ccgcgcgcatc	gccgcgcgcg	ccggggcgga	gctgctggtg	98220
gtgcacacca	tgcgcggcga	cggcctcgcg	ggttcgcgcg	cggagtcgat	ccggaccgcg	98280
gtcgggctca	ggtgctcgac	ggtgctcttc	aacgtggtct	cctcgtaacg	ggacgtgcgg	98340
aacaccccg	agcgcggcgg	gtcggggcgg	tgacgggatt	cgcctgagtc	taggcgaggg	98400
cgcccccg	cggggtggca	ccccgcgacc	gggtggttca	cgtgcgggtg	cgcgcgcccc	98460
gcgcggcgcg	cgcggtgcga	gaggtggggc	gtccggcggc	gcgcggtttt	ccgacatggc	98520
gcgcgcacga	aatagttttc	ggcgggtcgg	gcgccgtcga	atcgactcgg	ggtcgggttt	98580
tccgcgccac	cccggaaagcg	gacgaaccgg	gcgggcgaac	cgggcggggc	gtgcgcggac	98640
aacgggcgcg	accgccgcgg	tgcgccggtt	tgggcagcct	ttaccgccct	ccaggtcacc	98700
cattccgcgg	ttgcggggaa	catccgcgta	ccagtggccc	ccggcggaca	cgcgggccag	98760
caccgcctag	gccgttcgca	ggacgtcgtg	gtgcaccggg	agcgtgaaac	cgaacgtaac	98820
cggacagcgg	cgggctcaag	tgggtaaca	ctggcgccgc	agcgcactct	taccacacag	98880
gacgaacgcg	gcggaacgct	accctttaca	ggtgaagtga	ggccattcgg	agcaccgggt	98940
cgcagaaaac	tttcacgccc	ggagatgact	ccactcgccg	tagtccatta	gtgtgggatt	99000
ccggtaccgt	tgcgccgcag	gccgcaagaa	ggcggccagg	aaagacgatt	aactcatccg	99060
ggcgcgccgc	cgtcgtgcac	gtgaacgcga	cgggcgaccg	ggaacggaac	gagcgagaca	99120
tgtcatcgcg	ctctttacca	cctaccagaa	aaggtgccga	tgaccccgat	gaagaccatt	99180
ccgcgcgatt	ccccgaacac	gcgggctcc	gcccgtccgc	cgtcgggga	accgcacgac	99240
gggcttgccg	gccaccggga	acccagggc	ccggccgcga	ggcgatggtg	acccgacccc	99300
cggccaccag	ccgggacagg	ccgaccaccg	ccacgcgcgg	aacccacggc	gaaccgcctc	99360
tcgccgtgat	ccaccacgga	ccgttgggga	gttccatgga	gacccgtcaa	cttctggcgt	99420
tcaccacagt	ggtgcagacc	ggcagcttca	cgaaggccgc	cgccacgctg	aactgctctc	99480
agcccacgat	caccaccagg	atcaaggcgc	tggaggagac	cctcggcgct	gcctgttcc	99540
gcaggttgcc	gcgcggcatc	cagatgacct	ccgcgggggt	cgagctgctg	ccgttcgcgc	99600
gcaacatcat	cacgctcacc	gacaaggccc	gcaaggcgat	caccatgaac	ggggagccgc	99660
acgggcacct	cgtgataggc	agcgcggcga	gcctcaccga	ctaccggctc	ttaccctga	99720
tcgagtacat	gtgctggcgc	taccgagcg	tccagatctc	gctgcaactc	cgaacaaccc	99780
ggtcgaacct	ggccgcgctg	cgcgagggca	ggttggaact	cgcgttcttc	atcgggcccg	99840
tcgagcagcg	ggacggtctg	gagacgacgg	tgctgtgccc	cgaaccgctg	gtgatggtcg	99900
cgggcccccg	ccacgcgctg	gcgcggtcgg	gcgcggtcac	cgaggcggac	ctgcggggca	99960
gcacgctggt	cagggccgag	aacggggcga	gctaccacga	gcagttcgag	cgggcgctcg	100020
ggctgcacga	ggccgagtcg	cgatcgccgg	tgctggccct	ggactcggtc	gacgcggcca	100080
agcgggcggg	cgctcggggg	ctgggcatct	cgctgggtgc	ggaggtcaag	gtcgccgcgg	100140
agctggcgga	cggcaggctc	agccgcacgc	gctggacccc	gccgttcggg	gtgttcaccc	100200
agttcgcggt	gcgccaggac	aactcggcga	acccgtcggt	gaccgcgctg	gtctcgcgcg	100260
cggcgaggtg	ggtgagcgag	caggtggccg	cgacaccgcg	gtagggcgtc	gacgtgcagg	100320
gtcgtggatg	cggagcggcc	ccctcgtgct	gcgcagaggg	ggccgagacc	gtcggggcga	100380
caggatttga	acctgcgacc	ccccgctccc	aaagcgggtg	cgtacccaaa	ctgcgccacg	100440
ccccggtcac	caggagctta	gcgcgacgcg	ctaagctggt	ttcagcacc	acccggtggg	100500
cgctgcgcgg	gtgtagctca	atggtagagc	ccagccttc	caagctggtc	atgcgggttc	100560
gattcccgtc	acccgctcca	ccagatcc				100588

<210> 12

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Iniciador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> s é g ou c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> n é g, a, t ou c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> y é c ou t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> n é g, a, t ou c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> s é g ou c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> n é g, a, t ou c

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> y é c ou t

<400> 12
 ccscgggcgn ycngsttcga cngygag

27

<210> 13
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> n é a, c, g ou t

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(11)
 <223> n é a, c, g ou t

<400> 13
 cgtcncggan nccggagcac atgccctg

28

<210> 14
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 14
 atatactagt cacgtcaccg gcgcggtgtc cgcggacttc gtcaacg 47

<210> 15
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 15
 atatcctagg ctggtggcgg acctgcgcgc gcggttgggg tg 42

<210> 16
 <211> 1421
 <212> DNA
 <213> Actinosynnema pretiosum

<400> 16
 atatactagt cacgtcaccg gcgcggtgtc cgcggacttc gtcaacgacc acgcgttccg 60
 ggccgccttg cgcggcgacg gggcgccggt ggacccggtg gtcggcgacg tggaggacac 120
 cgccaggggg ttctctgtca cccggtcggg gatctcgatc ggggtgcgcg cggcctgggc 180
 ctgcgaccag gcgctggaca ccacggtcgt gcgcgtggag ggcagcggcg gcacggcgga 240
 gctgcgtgc accttcgggt tcagcccgaa ccgcgagggc ccgtcgcggc tctgtctac 300
 caccgacggc cgcaccaccc cggtcgagct gcccgcgag ccggtgggcg ccgagtacga 360
 cgcccagctc gcgagcctgc ccaccgcct ggccgacccc gccacgcgcg gcgaggcggc 420
 gtccggggcg cgctggatcg cgggcgcgat cgaacgggtc taccgcgccg ccgacaccgt 480
 gcggtgcgcc gaacgacgac acgcgcgggt cgacctcgtc ccgacgggag ccccgatgatg 540
 accaccggac agaccaaccc ccgagtcgtg cgggcccag cgggggacga gcggggccgcg 600
 accgcggttc cggcgcccgc ggccccgcgc cccctcgccc cgccgacccc cgcgccccac 660
 cggcacgtcc ccggcgcgac ctacgaccgg gccgtgctgt tcgacctga cggggtgctg 720
 gtcaacagct tcgccgtcat gcggcaggcg ttcgagatcg cctacgccga ggtcgtcggc 780
 gacggggccc cgccgttcga ggagtacaac cggcaccttg ggcggtaact cccggacatc 840
 atgcggatca tggacctgcc gctggagatg gaggttcgt tcgtccgcga gagctaccgg 900
 ctggcgggtg aggtggaggt gttcgagggc gcgcgggagc tgctggcgga cctgcggcag 960
 cacggcttcg gcaccgccgt ggtcaccggc aagagcgggc cgcgcgcccg gtcgctgctg 1020
 accaccctcg gcatggcggg gctgttcgac catatcatcg gctccgacga ggtcgcgaac 1080
 cccaagccc cgccggacat gtcctgctg gccaccggcc tgctcgacgt cccggccgac 1140
 cgggtggtga tgggtgggca cgccctgacg gacctggcca gcgccgcgc cgcgggctac 1200
 ccggcgctgg ccgcgctgtg gggcgagacg gacgaggcgg agctgctggc ggcgaacccg 1260
 gacgcggtgg tccgcaagcc ctgcgaggtg ctgcactggt gcctggccca cctcgccgac 1320
 gaccggacgt gacgcgcgag caggccccg cgcggcacgt gccggggcct gcggggcgctc 1380
 accccaaccg cgcgcgcagg tccgccacca gcctaggata t 1421

<210> 17
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 17
 atatacctagg caccacgtcg tgctcgacct cgcccgccac gc 42

<210> 18
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 18
 atattctaga cgctgttcga cgcgggcgcg gtcaccacgg gc 42

<210> 19
 <211> 1423
 <212> DNA
 <213> Actinosynnema pretiosum

<400> 19
 atatacctagg caccacgtcg tgctcgacct cgcccgccac gcgctcacc cccgatcatg 60
 atcgactcgg tgacgcgggc gaactcgtcc ttcttcacga gcaccccggt cgtctccacc 120
 ccgtccagca cgggtgaagta gcggcgggcg atcagcacgt gctgcccgtt ctccgcccgc 180
 cgaccccgga acgtggtgcc cgccagcacc gagtcccgcg cgtagtcgtc cagcccgtcc 240
 aaccgcaccg cctcccagcc gtcccgggcc gcccgccccg gccggaaccg gtacaccgcc 300
 tgccacgccc cgtccctggg cctgcgctcc accacgtgcg cgtccccgcg ctccacgacc 360
 cggtaggcgc agccgtactg ctccgtctcg accgcccaca gctccagcgg ctccaggtag 420
 gacgggcccga cgaacccac gtccaccagc caggtccgcc cgtccaggcg caccagggtg 480
 aacgagtgtc cctcgtccgg cccgaaccgg tcgtcggcca gccggatcgc cgccgcgacc 540
 atcagcacct cgtagcccag cgcggtgagc agggcggtga agagccggtt gagctcgtag 600
 cagaccccg cgttgccggc ggtcaccacg tcgcggaaca cacggggcag cgggatctcc 660
 gcgagccccc ggttcggcgg caaccggctg gccgcgcgc cgttggtcgt gggcacggac 720
 atcaggtgcc gcttggtcag cgcgcgaac gactccagcg tcgggctcgg cagcccgcgc 780
 tccacgccga tcgcgcgag gtactcggcc acgtcgatca tgctggtgct cacctctcgt 840
 cggtcgggtc ggtggactgc cctgcgcctg atgcgcctgc gctcgactgc cctgcgcctg 900
 aatgccctgc gcccggtgc cctgcgcctg attgccctga gcccgattgc tcggcgggca 960
 gtcgctcgcg cagcgctcgc gcggcgatcg cgggcgtcgg ctggtcgaac agcagcgcg 1020
 cgggcaggcg cagcccgggt gcggtgttca gccggttccg cagctgcacg gccgtcatgg 1080
 agtcgaagcc gatctcgaag aacgcgtcgt ccggggccac cgcgccttc tcgcccgtgc 1140
 cgagcacggc ggcgccagc tcgcggaaca gctcggtag cagggcctcc tgctcgtcgc 1200
 ccgacagccc ggccaggcgc gcccgcaacc cggccggggg cgcggcctgc ccggtggcgg 1260
 gggagagcga gcgcgcgcgc gcggggacga gcgcgcgcag cagcgcgggc accgcctcgt 1320
 cgcgcgcgga ggcgcgagc gccgccaggt ccagcggcag cggcacgacc agcggcgggc 1380
 cgcccgtggt gaccgcgccc gcgtcgaaca gcgtctagaa tat 1423

<210> 20
 <211> 161
 <212> DNA
 <213> Actinosynnema pretiosum

<400> 20
 ctgcgccgacg accggacgtg acgcgcgagc aggccecggc gcggcacgtg ccggggcctg 60
 cggggcgtca cccaaccgc gcgcgcaggt ccgccaccag cctaggcacc acgtcgtgct 120
 cgacctcgcc cgccacgcgc tcaccccccg atcatgatcg a 161

<210> 21
 <211> 161
 <212> DNA

<213> Actinosynnema pretiosum

<400> 21

tcgatcatga	tcgggggggtg	agcgcggtggc	gggcgaggtc	gagcacgacg	tggtgcctag	60
gctgggtggcg	gacctgcgcg	cgcggttggg	gtgacgcccc	gcaggccccg	gcacgtgccg	120
cgccggggcc	tgctcgcgcg	tcacgtcccg	tcgtcggcga	g		161

<210> 22

<211> 22

<212> PRT

<213> Actinosynnema pretiosum

<400> 22

Val	Ala	Gly	Glu	Val	Glu	His	Asp	Val	Val	Pro	Arg	Leu	Val	Ala	Asp
1				5				10						15	

Leu	Arg	Ala	Arg	Leu	Gly
			20		

<210> 23

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Iniciador

<400> 23

ggtcactggc	cgaagcgac	ggtgtcatgg	30
------------	-----------	------------	----

<210> 24

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Iniciador

<400> 24

cctaggcgac	taccccgac	tactacaccg	agcagg	36
------------	-----------	------------	--------	----

<210> 25

<211> 1595

<212> DNA

<213> Actinosynnema pretiosum

<400> 25

cctaggcgac	taccccgac	tactacaccg	agcaggccta	cgcctacggg	aactcctgga	60
catcaccgac	cacaccgtcc	aacgcaactt	ccgcgaactg	gccgatcttg	taggcgacgc	120
gaagggcctg	ctgttccacc	cacgcgacct	ggtgggcgtc	ccagaattcg	gctgcttcct	180
agcagtagcc	gaacacccgt	aaccacgcgg	tggcgtcccc	cacggacgcc	accgcctcgc	240
gggctgcggg	gcgagcgag	cgagcccgcg	cagccccact	cccgcgtccc	tcttctccgt	300

gtggcctggc gcatgtcaaa ttccactga ctgccaacag atcatgtgcc gtttgagcag 360
 gtcagcgact tgtcgcgctt cgggtgcctta aggccgagct gggatggggg cactgtttcc 420
 ggactgagcg gggcagcttg gaaggtggag ttcggtgagc agaggcagca cgtcccgtcg 480
 cacgtagagg tggttgtaca cgcggtggcg ggacctgcgc agtaggccgc tatccgcaag 540
 ctgctccaag atcaggagtg cggcgcggtg cgtatagccg agttcggcgg tcagcatggt 600
 gctgttgagc agtggggcga cgagcagcgg ggcgggaagc gctttgacct tcctccgccc 660
 ggtgcgcata gccaggtgg gcgatcgcgc gaggctcacg gatcgcggtc acctcatgca 720
 ggctggcgct caacctggaa cgcgcgactg tttcgtccag acgtgccagg gcggtgtagg 780
 cgtgcaacaa ggtcttgctg gtttcggagc gcagtctgag ccgggaccag gacgacaact 840
 ccgcgatact cgcggacggg ggcggcctcg tgtcttcacc ggtggtagtt gacctgcgcg 900
 gggcggaggt gccctattgc tgccgggacg aggtcatccc ccggagcagt ttctcagcac 960
 gccgtgaatc gagatccggg gcgctgagcg cggatgaacgc ctggtccagc gagtcgcacg 1020
 cgcacgtcgt cctgacatcg ggccgcgcat ggcccagagt ggtcagcggg gagcgggaag 1080
 gcgcggcagg gtgtgtgcga gacactccgg gactccgtgc agaaggtcga tcaggcgaaa 1140
 gggttgaact gcgaatcgca aagcggcccg gccgcaaagg ggtcggggccg cctgcgacga 1200
 ttggtcacgc tgctgcggcg cggccccgcg ggaactgctt gccgagcagg tcgatccgcc 1260
 ccttgtgatc ttctgccagc gcctccagaa ccgagagcag tcgtcgggcg tgcatgcat 1320
 ggccaatacc atcgtcgcgt accccagagg gtgtcgctcc cgttcagggg cgaccatttc 1380
 ccacgcccgc ttggcctcct tggcggcccg gccagatcg ccgagcatca ggtagggtgcc 1440
 cgacaacccg acaaccctgc ctgccaacgc ggcttcgggc accccgcgcg cctcgtcggc 1500
 ttccaacgcc cgaacaccgt gccacagcac ggcccgcgcg ttgccctcgc tcgtctccag 1560
 ccatcccatg acaccgtgcg cttcggccag tgacc 1595

<210> 26
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Iniciador

<400> 26
 cctaggaacg ggtaggcggg caggtcggtg 30

<210> 27
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>

<223> Iniciador

<400> 27

gtgtgcgggc cagctcgccc agcacgcca c

31

<210> 28

<211> 1541

<212> DNA

<213> Actinosynnema pretiosum

<400> 28

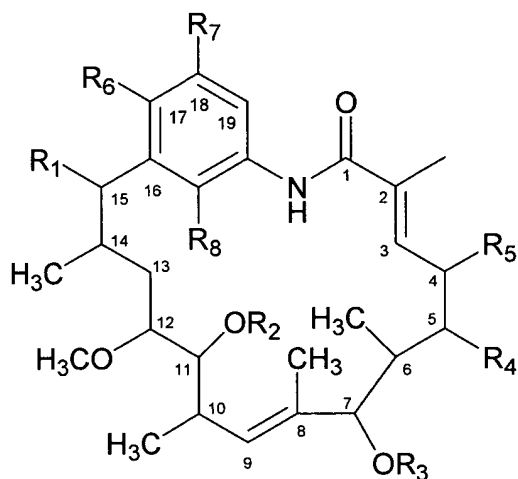
gtgtgcgggc cagctcgccc agcacgcca cgagggtctc cagcgcgctcc gcgccggtgc	60
gcgcgccccg gacgacctcg accgtgggga tcaggtacgg cgggttcatg aagtgcgtgc	120
cgatcagccg cgccgggtcg gggacgtgcc cggccagctc gtcgatcggg atcgaggagg	180
tgttgacac cagcggcacg cgcgccccg tgagcgcggc ggccccggcc agcacctcgg	240
ccttgaccgg cagctcctcg gtgaccgcct ccaccaccag cgagacgtcc gcgacgtcgg	300
cgagcgaggt ggtggtgagc agctcgcccc gctcgcggtc ctcgggcagc gcccgcatca	360
gcctggccat gcgcagctgg gcggccaccg cctcccgcgc ccgcccgacc ttggcccggc	420
cggctctgac cagcaccacc ggcacgccgt gcccgacggc cagggagggtg atccccaggc	480
ccatcgtgcc cgcgccgaga acggcgagca ccgtcctgcc gtccctgctct cccatcgcgc	540
tccccgcgc cggccaccgc ggccgcccgc cggctccgcgc gccgtcccgg cagcgccatt	600
ccaccctcga tcgtgtgccg ggaaaggcgc gcccgacccc ctgacctgcc cccctgaacc	660
cccctcaacg gaaccgaaa tcgaatgtcc cgaacgcgc gtcaaatacgt cgattgacag	720
ccgcagaact gttcatagac tgtggcgga gtaccgatct ccgaattcca cggaagagtc	780
ctcccccatg gtcagcaga tcagcgccac ctcgaaaatc ctcgactacg tccgcgcgac	840
ctcgttgcgc gacgacgacg tgctcgccg tctgcgggag cggaccgcgg ttctcccggc	900
cgcgtccgcg ctgcaggtgg ccccgaggga ggggcagctg ctcggcctgc tggcgcgcct	960
ggtcggcgcg cgctcggcgc tggaggtcgg cacctacacc gggtagagca cgctgtgcat	1020
ggccccgcgc ctcccggccg gcggacgtgt cgtgacctgc gacgtcgtcg cgaagtggcc	1080
ggacatgggc aggccgttct gggagcgggc gggcgtcgcg gaccgcatcg acgtccgcgt	1140
cggcgacgcc cgcgccaccc tggccggcct gcacgccgag cacgccgtgt tcgacctggt	1200
gttcatcgac gcgaacaagt cggattacgt ccaactactac gagcgcgcg tgacgctgct	1260
gcgcaccggc ggccctggtcg tcgtggacaa cagctctttt ttccggcggg tcgccgatcc	1320
gtccgcgacc gatccggaca ccaccgccgt gcgcgagctg aacgcgctgc tgcacgccga	1380
cgagcgggtc gacatgtgcc tgctgccgat cgcggacgga atcacgctcg ccgtgaagcg	1440
gtgaaccgc ccgaatcgcg ccgaattccc ccggagagaa aggccgccgc agtggttcacc	1500

gaggacgtgg ccaccgacct gcccgacctac ccgttcctag g

1541

REIVINDICAÇÕES

1. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, o composto caracterizado pelo fato de que é de acordo com a fórmula (I) abaixo:



(I)

sendo que:

R_1 representa H, OH, OMe;

R_2 representa H ou Me

R_3 representa H ou CONH_2 ;

R_4 e R_5 representam, ambos, H ou, em conjunto, representam uma ligação (i.e. de C4 a C5 é uma ligação dupla).

R_6 representa H ou F;

R_7 representa H ou F; e

R_8 representa H ou F.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R_1 representa H.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R_1 representa OH.

4. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, caracterizado pelo fato de que R_2 representa H.

5. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 4, caracterizado pelo fato de que R_3 representa CONH_2 .

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, caracterizado pelo fato de que R₄ e R₅ em conjunto, representam uma ligação.

5 7. Composto de acordo com a reivindicação de 1 a 5, caracterizado pelo fato de que R₄ e R₅ representam, cada um, H.

8. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, caracterizado pelo fato de que R₆, R₇ e R₈ representam, todos, H.

9. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, caracterizado pelo fato de que R₆, R₇ e R₈ não representam, todos, H.

10 10. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H e R₃ representa CONH₂ e R₄ e R₅ representam, cada um, H.

15 11. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa OH, R₂ representa H e R₃ representa CONH₂ e R₄ e R₅ representam, cada um, H.

12. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆, R₇ e R₈ representam, cada um, H.

20 13. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa OH, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆, R₇ e R₈ representam, cada um, H.

25 14. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ representa F e R₇ e R₈ representam, cada um, H.

15. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa OH, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ representa F e R₇ e R₈ representam, cada um, H.

16. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ representa H, R₇ representa F e R₈ representa H.

5 17. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa OH, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ representa H, R₇ representa F e R₈ representa H.

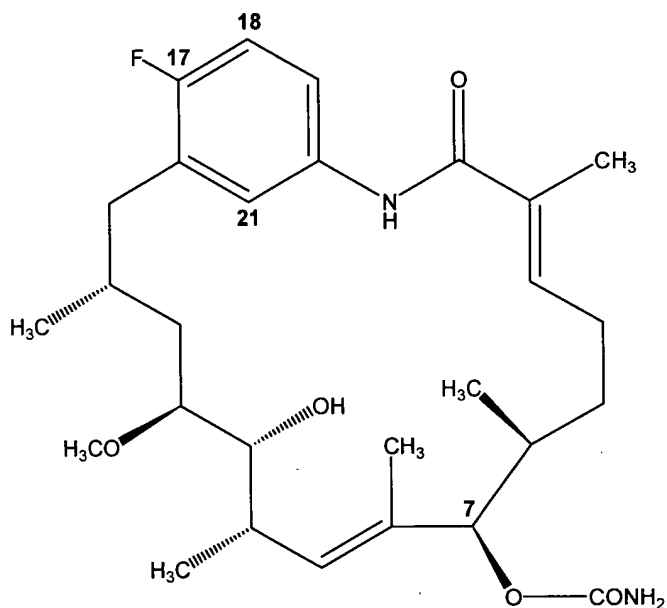
10 18. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ e R₇ representam, cada um, F e R₈ representa H.

15 19. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa OH, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆ e R₇ representam, cada um, F e R₈ representa H.

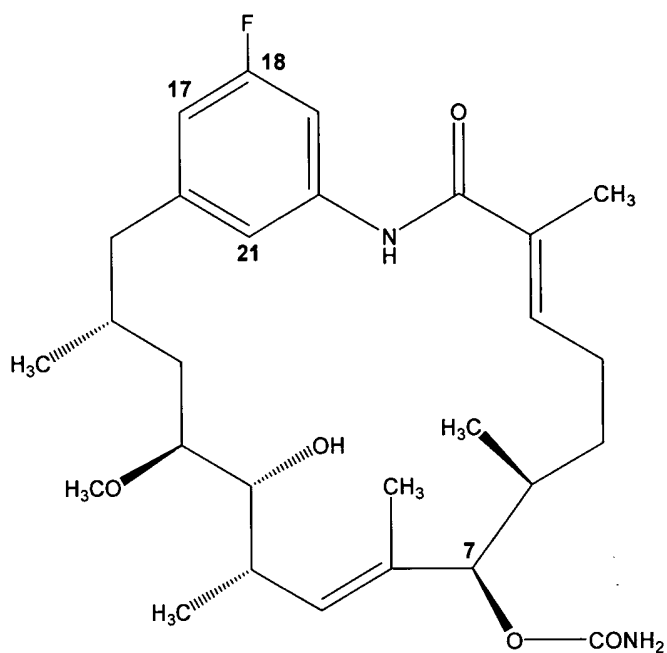
20 20. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R₁ representa H, R₂ representa H, R₃ representa CONH₂, R₄ e R₅ representam, cada um, H, R₆, R₇ e R₈ representam, cada um, F.

21. Composto de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que é

22. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado
pelo fato de que é

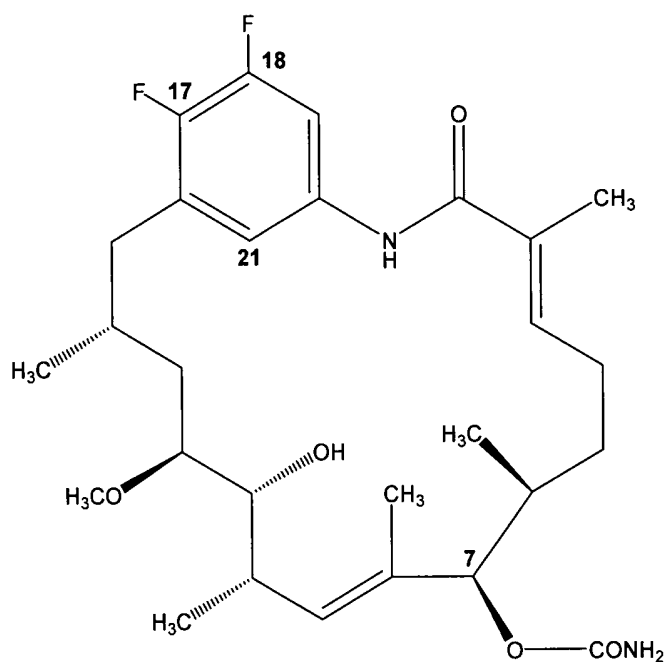


5 23. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado
pelo fato de que é



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

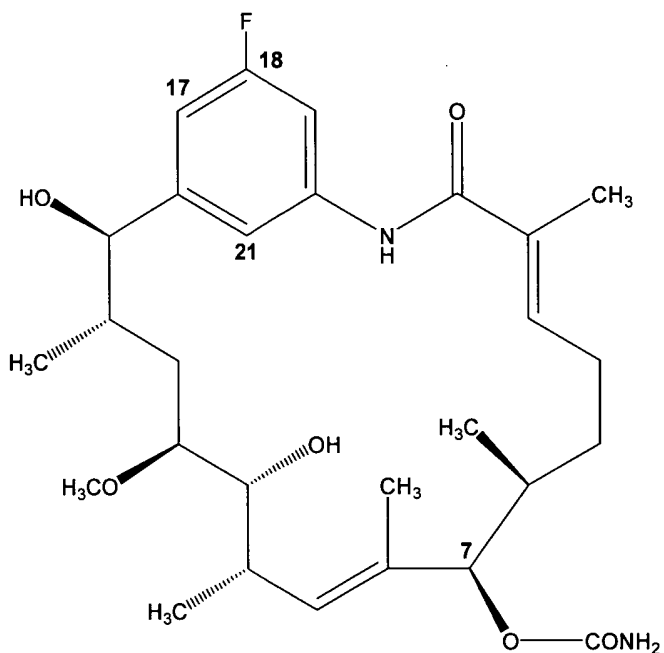
24. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

25. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é

26. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado que é



5 27. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que
compreende um análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal
farmaceuticamente aceitável da mesma como definida em qualquer uma das
reivindicações de 1 a 26, juntamente com um ou mais veículos ou diluentes
farmaceuticamente aceitáveis.

28. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 26, caracterizado pelo fato de que é para uso como um medicamento.

5 29. Uso de um composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 26, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento para o tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema
10 nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer.

30. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo de acordo com qualquer uma
15 das reivindicações de 1 a 26, caracterizado pelo fato de que é para uso como um medicamento para o tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer.

20 31. Método para o tratamento de uma doença sendo câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer, caracterizado pelo fato de que compreende administrar a um
25 paciente que disto necessita uma quantidade eficaz de um análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 26.

32. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, composição, uso ou método

de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 31, caracterizados pelo fato de que o análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo é administrado em combinação com outro tratamento.

5 33. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, composição, uso ou método de acordo com a reivindicação 32, caracterizados pelo fato de que o outro tratamento é selecionado do grupo que consiste de: metotrexato, leucovorina, prenisona, bleomicina, ciclofosfamida, 5-fluorouracila, paclitaxel, docetaxel, 10 vincristina, vinblastina, vinorelbina, doxorubicina, tamoxifeno, toremifeno, acetato de megestrol, anastrozol, goserelina, anticorpo monoclonal anti-HER2 (p. ex., HerceptinTM), capecitabina, cloridrato de raloxifeno, inibidores de EGFR, inibidores de VEGF, inibidores de proteasoma (p. ex., VelcadeTM), radioterapia e cirurgia.

15 34. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, composição, uso ou método de acordo com a reivindicação 32, caracterizados pelo fato de que o outro tratamento é selecionado do grupo que consiste de: bleomicina, capecitabina, 20 cisplatina, citarabina, ciclofosfamida, doxorubicina, 5-fluorouracila, gemcitabina, leucovorina, metotrexato, mitoxantona, os taxanos incluindo paclitaxel e docetaxel, vincristina, vinblastina e vinorelbina; as terapias hormonais, anastrozol, goserelina, acetato de megestrol, prenisona, tamoxifeno e toremifeno; as terapias com anticorpos monoclonais, como trastuzumab (ani-Her2), cetuximab (ant-EGFR) e bevacizumab (anti-VEGF); 25 e inibidores de proteína quinase, como imatinib, dasatinib, gefitinib, erlotinib, lapatinib, temsirolimus; os inibidores de proteasoma, como bortezomib; inibidores de histona desacetilase (HDAC), como vorinostat; inibidores de angiogênese, como sunitinib, sorafenib, lenalidomida, radioterapia e cirurgia.

35. Composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou

um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, composição, uso ou método de acordo com a reivindicação 32, caracterizados pelo fato de que o outro tratamento é selecionado do grupo que consiste de quimioterápicos convencionais, como cisplatina, citarabina, cicloexilcloroetilnitrosuréia, ciclofosfamida, gemcitabina, ifosfamida, leucovorina, mitomicina, mitoxantona, oxaliplatina e taxanos incluindo taxol e vindesina; terapias hormonais, como anastrozol, goserelina, acetato de megestrol e prenisona; terapias com anticorpos monoclonais, como cetuximab (anti-EGFR); inibidores de proteína quinase, como dasatinib, lapatinib; inibidores de histona desacetilase (HDAC), como vorinostat; inibidores de angiogênese, como sunitinib, sorafenib, lenalidomida; inibidores de mTOR, como temsirolimus; e imatinib.

36. Método para a produção de um composto sendo análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como definido em qualquer uma das reivindicações de 1 a 26, caracterizado pelo fato de que referido método compreende:

a) proporcionar uma primeira cepa hospedeira que produz macbecina ou um análogo do mesmo quando cultivada em condições apropriadas

b) alimentar uma unidade iniciadora não natural em referida cepa

c) cultivar referida cepa hospedeira em condições vantajosas para a produção de análogos de 18,21-didesoximacbecina; e

d) opcionalmente, isolar os compostos produzidos.

37. Método de acordo com a reivindicação 36 caracterizado pelo fato de que o método adicional compreende a etapa de:

e) deletar ou inativar um ou mais dos genes da biossíntese da unidade iniciadora, ou um homólogo dos mesmos, sendo que referida etapa ocorre usualmente antes da etapa c).

38. Método de acordo com a reivindicação 36 ou reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o método adicional compreende a etapa de:

f) deletar ou inativar um ou mais genes pós-PKS, sendo que referida etapa ocorre usualmente antes da etapa c).

5 39. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 38, caracterizado pelo fato de que a unidade iniciadora não natural da etapa b) é ácido 3-amino-benzóico.

10 40. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 38, caracterizado pelo fato de que a unidade iniciadora não natural da etapa b) é ácido 5-amino-2-fluorobenzóico.

41. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 38, caracterizado pelo fato de que a unidade iniciadora não natural da etapa b) é ácido 5-amino-3-fluorobenzóico.

15 42. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 38, caracterizado pelo fato de que a unidade iniciadora não natural da etapa b) é ácido 5-amino-2,3-di-fluorobenzóico.

43. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 38, caracterizado pelo fato de que a unidade iniciadora não natural da etapa b) é ácido 5-amino-2,3,6-tri-fluorobenzóico.

20 44. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 43, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa produtora de macbecina.

25 45. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 44, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que um ou mais dos genes de biossíntese da unidade iniciadora foram deletados ou inativados.

46. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 36 a 45, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa

engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que um ou mais dos genes pós-PKS foram deletados ou inativados.

47. Método de acordo com a reivindicação 46, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM e, opcionalmente, outros genes pós-PKS foram deletados ou inativados.

48. Método de acordo com a reivindicação 47, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM foi deletado ou inativado.

49. Método de acordo com a reivindicação 47, caracterizado pelo fato de que na etapa (a) a cepa é uma cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina em que mbcM, mbcMT1, mbcMT2, mbcP e mbcP450 foram deletados ou inativados.

50. Cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina, caracterizada pelo fato de que mbcM e, opcionalmente, outros genes pós-PKS foram deletados ou inativados.

51. Cepa engenheirada baseada em uma cepa produtora de macbecina, caracterizada pelo fato de que mbcM e, opcionalmente, outros genes pós-PKS e/ou genes de biossíntese da unidade iniciadora foram deletados ou inativados.

52. Cepa engenheirada de acordo com a reivindicação 50 ou 51, caracterizada pelo fato de que mbcM foi deletado ou inativado.

53. Cepa engenheirada de acordo com a reivindicação 50 ou 51, caracterizada pelo fato de que mbcM, mbcMT1, mbcMT2, mbcP e mbcP450 foram deletados ou inativados.

54. Cepa engenheirada de acordo com qualquer uma das reivindicações de 50 a 53, caracterizada pelo fato de que a cepa produtora de macbecina é *A pretiosum* ou *A mirum*.

55. Uso de uma cepa engenheirada como definida em qualquer

uma das reivindicações de 50 a 54 caracterizado pelo fato de que é na preparação de um análogo de 18,21-didesoximacbecina ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

56. Uso de acordo com a reivindicação 55, caracterizado pelo
- 5 fato de que o análogo de 18,21-didesoximacbecina é definido por qualquer uma das reivindicações de 1 a 26.

Figura 1

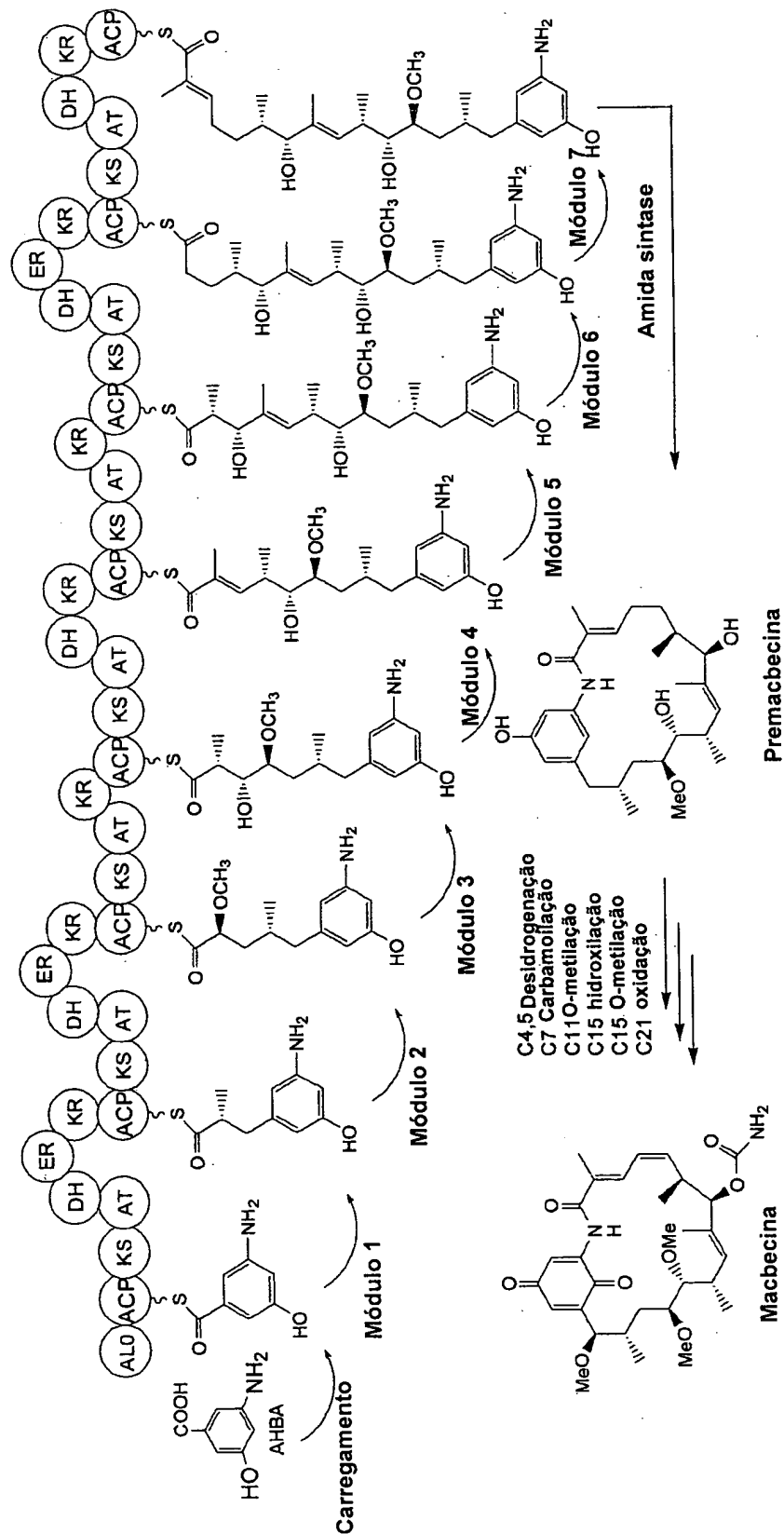


Figura 2

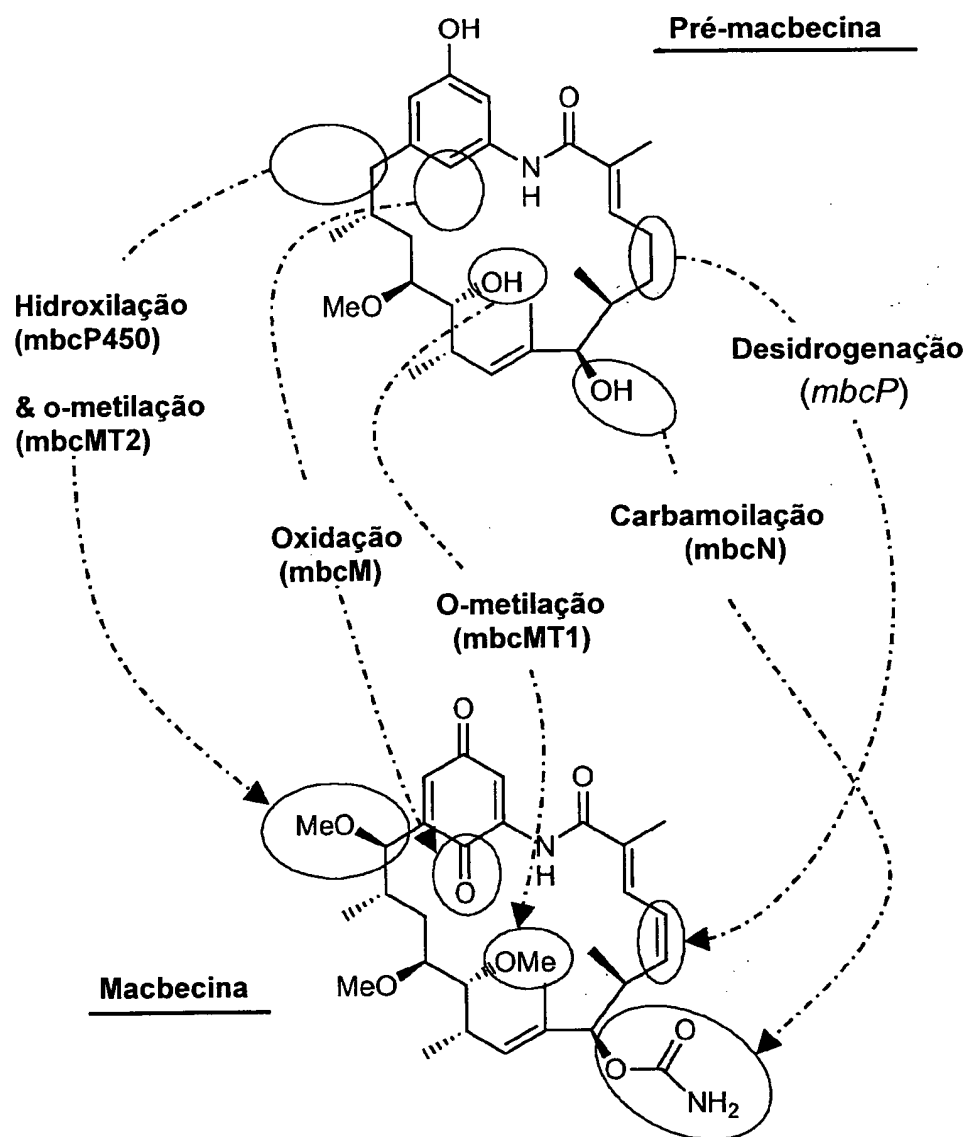


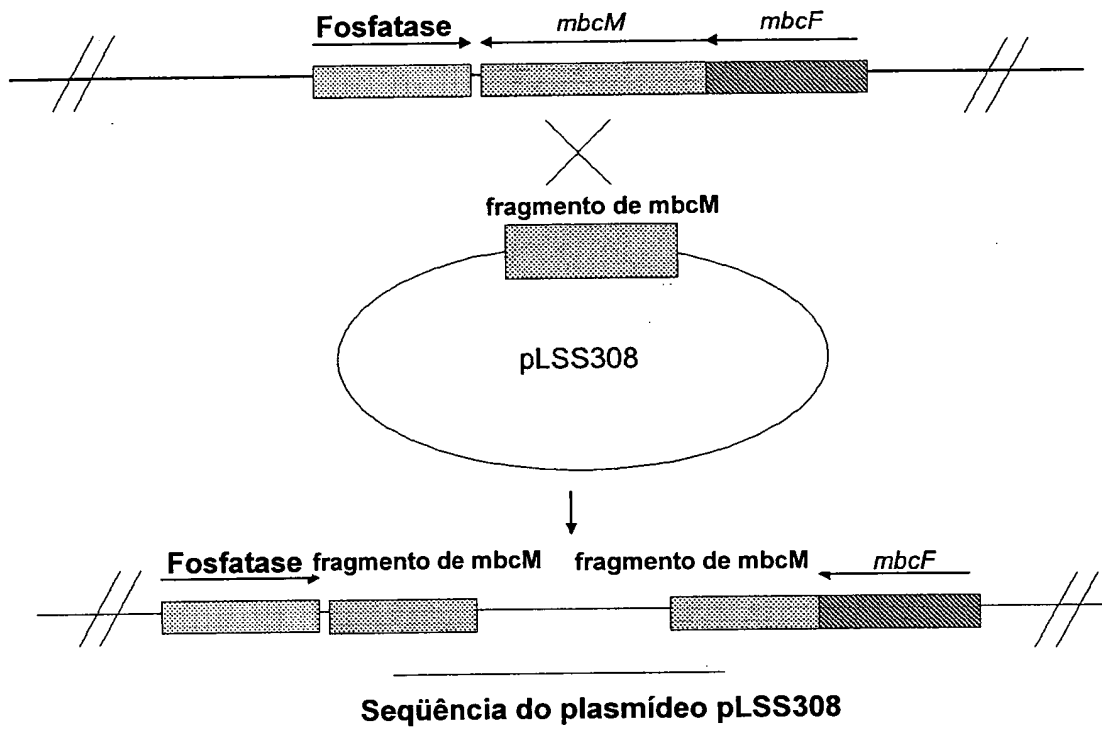
Figura 3

Figura 4

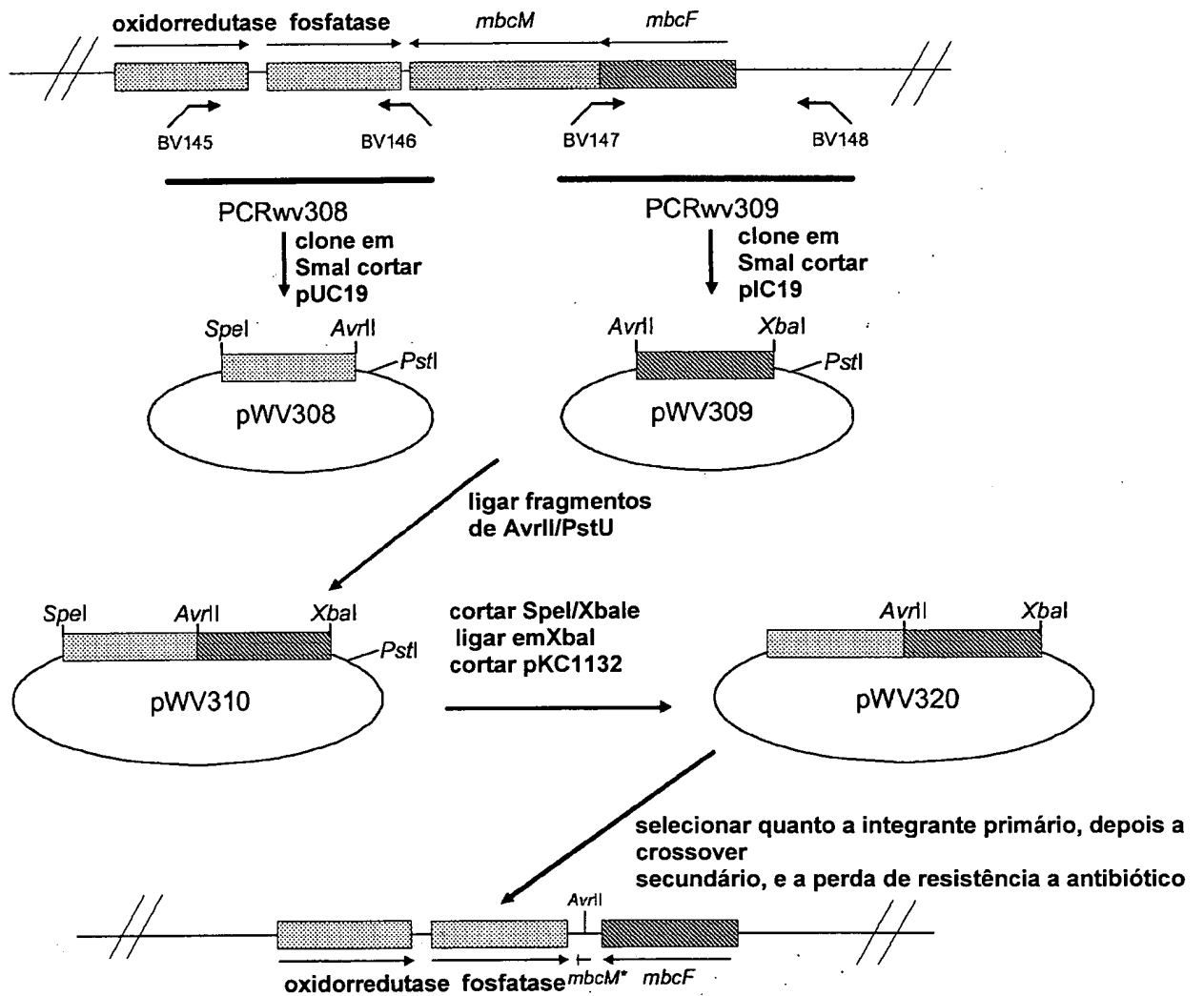


Figura 5A

```

1 ATATACTAGT CACGTCACCG GCGCGGTGTC CGCGGACTTC GTCAACGACC ACGCGTTCCG
61 GGCCGCCTGG CGCGGCGACG GGGCGCCGGT GGACCCGGTG GTCGGCGACG TGGAGGACAC
121 CGCCAGGGGG TTCTTCGTCA CCCGTCGGG GATCTCGATC GGGGTGCGCG CGGCCTGGGC
181 CTCGCACCAG GCGCTGGACA CCACGGTCGT GCGCGTGGAG GGCAGCGGCG GCACGGCGGA
241 GCTGCGCTGC ACCTTCGGCT TCAGCCCGAA CCGCGAGGGC CCGTCGCGGC TCCTGCTCAC
301 CACCGACGGC CGCACCACCC CGGTCGAGCT GCGCGCCGAG CCGGTGGGCG CCGAGTACGA
361 CGCCAGCTC GCGAGCCTGC CCACCCGCT GGCCGACCCC GCCACGCGCG GCGAGGCGGC
421 GTCCGGGGCG CGCTGGATCG CGGGCGCGAT CGAACGGGTC TACCGCGCCG CCGACACCGT
481 GCGGTGCGCC GAACGACGAC ACGCGCCGGT CGACCTCGTC CCGACGGGAG CCCCGTGATG
541 ACCACCGGAC AGACCAACCC CCGAGTCGTG CGGGCCCGAG CCGGGGACGA GCGGGCCGCG
601 ACCGCGGTTT CGGCGCCCGC GGCCCGCGCG CCCCTCGCCC CGCCGACCCC CGCGCCCCAC
661 CGGCACGTCC CCGGCGCGAC CTACGACCGG GCCGTGCTGT TCGACCTCGA CGGGGTGCTG
721 GTCAACAGCT TCGCCGTCAT GCGGCAGGCG TTCGAGATCG CCTACGCCGA GGTGCTCGGC
781 GACGGGCCCC CGCCGTTCGA GGAGTACAAC CGGCACCTGG GGCGGTACTT CCCGGACATC
841 ATGCGGATCA TGGACCTGCC GCTGGAGATG GAGGGTCCGT TCGTCCGCGA GAGCTACCGG
901 CTGGCGGGTG AGGTGGAGGT GTTCGAGGGC GCGCCGGAGC TGCTGGCGGA CCTGCGGCAG
961 CACGGCTTCG GCACCGCCGT GGTACCCGGC AAGAGCGGGC CGCGCGCCCG CTCGCTGCTG
1021 ACCACCTCG GCATGGCGGG GCTGTTTCGAC CATATCATCG GCTCCGACGA GGTGCGGAAC
1081 CCCAAGCCCG CGCCGGACAT GCTCCTGCTG GCCACCGGCC TGCTCGACGT CCCGCGCGAC
1141 CGGGTGGTGA TGGTGGGCGA CGCCCTGACG GACCTGGCCA GCGCCCGCGC CGCGGGCTAC
1201 CCGGCGCTGG CCGGCGCTGT GGGCGAGACG GACGAGGCGG AGCTGCTGGC GGCGAACCCG
1261 GACGCGGTGG TCCGCAAGCC CTCGCAGGTG CTCGACTGGT GCCTGGCCCA CCTCGCCGAC
1321 GACCGGACGT GACGCGCGAG CAGGCCCGCG CGCGGCACGT GCCGGGGCCT GCGGGGCGTC
1381 ACCCAACCG CGCGCGCAGG TCCGCCACCA GCCTAGGATA T

```

Figura 5B

```

1 ATATCCTAGG CACCACGTCG TGCTCGACCT CGCCCCCCAC GCGCTCACCC CCCGATCATG
61 ATCGACTCGG TGACGCGGGC GAACCTCGTC TTCTTCACGA GCACCCGCGT CGTCTCCACC
121 CCGTCCAGCA CGGTGAAGTA GCGGCGGGCG ATCAGCACGT GCTGCCCGTT CTCGCCCGCC
181 CGACCCCGGA ACGTGGTGCC CGCCAGCACC GAGTCCCGCG CGTAGTCGTC CAGCCCGTCC
241 AACCGCACCG CCTCCAGCC GTCCCGGTCC GCGCGCCCCG GCCGGAACCG GTACACCGCC
301 TGCCACGCCC CGTCCCTGGG CCGTGGCTCC ACCACGTGCG CGTCCCCGCG CTCCACGACC
361 CGGTAGGCGC AGCCGTAATG CTCCTGCTCG ACCGCCGACA GCTCCAGCGG CTCCAGGTAG
421 GACGGGCCGA CGAACCCAC GTCCACCAGC CAGGTCCGCC CGTCCAGGCG CACCAGGTG
481 AACGAGTGCT CCTCGTCCGG CCCGAACCGG TCGTCGGCCA GCCGATCGC CGCCGCGACC
541 ATCAGCACCT CGTAGCCAG CGCGGTGAGC AGGGCGTGGA AGAGCCGGTT GAGCTCGTAG
601 CAGACCCCGC CGTTGCGGCC GGTACCCAGC TCGCGGAACA CACGGGGCAG CGGGATCTCC
661 GCGAGCCCCC GGTTCGGCGG CACCCGGTCG GCCGCGCCGC CGTTGTCTGA GGGCACGGAC
721 ATCAGGTGCC GCTGTGTCAG CGCCCGCAAC GACTCCAGCG TCGGGCTCGG CACGCCCGCC
781 TCCACGCCGA TCGCCCGCAG GTACTCGGCC ACCTCGATCA TGCTGGTGCT CACCTCTCGT
841 CGTCCGGGTC GGTGGACTGC CCTGCGCCTG ATCGCCCTGC GCTCGACTGC CCTGCGCCTG
901 AATGCCCTGC GCCCGGCTGC CCTGCGCCCG ATTGCCCTGA GCCCGATTGC TCGGCGGCCA
961 GTCGCTCGCG CAGCGCCTCG GCGGCGATCG CGGGCGTCCG CTGGTCAAC AGCAGCGCGG
1021 CGGGCAGGCG CAGCCCGGTG GCGGTGTTCA GCCGGTCCG CAGCTGCACG GCCGTATGG
1081 AGTCGAAGCC GATCTCGAAG AACCGCTCGT CCGGGCCAC CGCGCCCTTC TCGCCGTGCC
1141 CGAGCACGGC GCGGCGCAGG TCGCGGACCA GCTCGGTGAG CACGGCCTCC TGCTCGTCGC
1201 CCGACAGCCC GCGCAGGCGC GCCGCAACC CGGCCGGGGG CGCGGCCTGC CCGGTGGCGG
1261 GGGAGAGCGA GCGCGCGCG GCGGGGACGA GCGCGCGCAG CAGCGCGGGC ACCGCTCTGT
1321 CGCGCGCGGA GCGCGCGCAG GCCGCCAGGT CCAGCGGCAG CGGCACGACC AGCGCCGGGG
1381 CCGCCGTGGT GACCGCGCCC GCGTCGAACA GCGTCTAGAA TAT

```

Figura 6A

```

1      ctgcccacgaccggacgtgacgcgcgagcaggccccggcgcgacgtg
      gagcggctgctggcctgcactgcgcgctcgtccggggccgcgcgtgcac

51     ccggggcctgcggggcgctaccccaaccgcgcgcgcaggtccgccaccag
      ggccccggacgccccgcagtggggttggcgcgcgctccaggcggtggtc
              stop

      AvrII
101    cctaggcaccacgtcgtgctcgacctcgcccgccacgcgctcacccccg
      ggatccgtggtgcagcacgagctggagcgggcggtgcgcgagtggggggc
              start

151    atcatgatcga
      tagtactagct

```

Figura 6B

```

1      VAGEVEHDVV PRLVADLRAR LG *

```

22

Figura 7

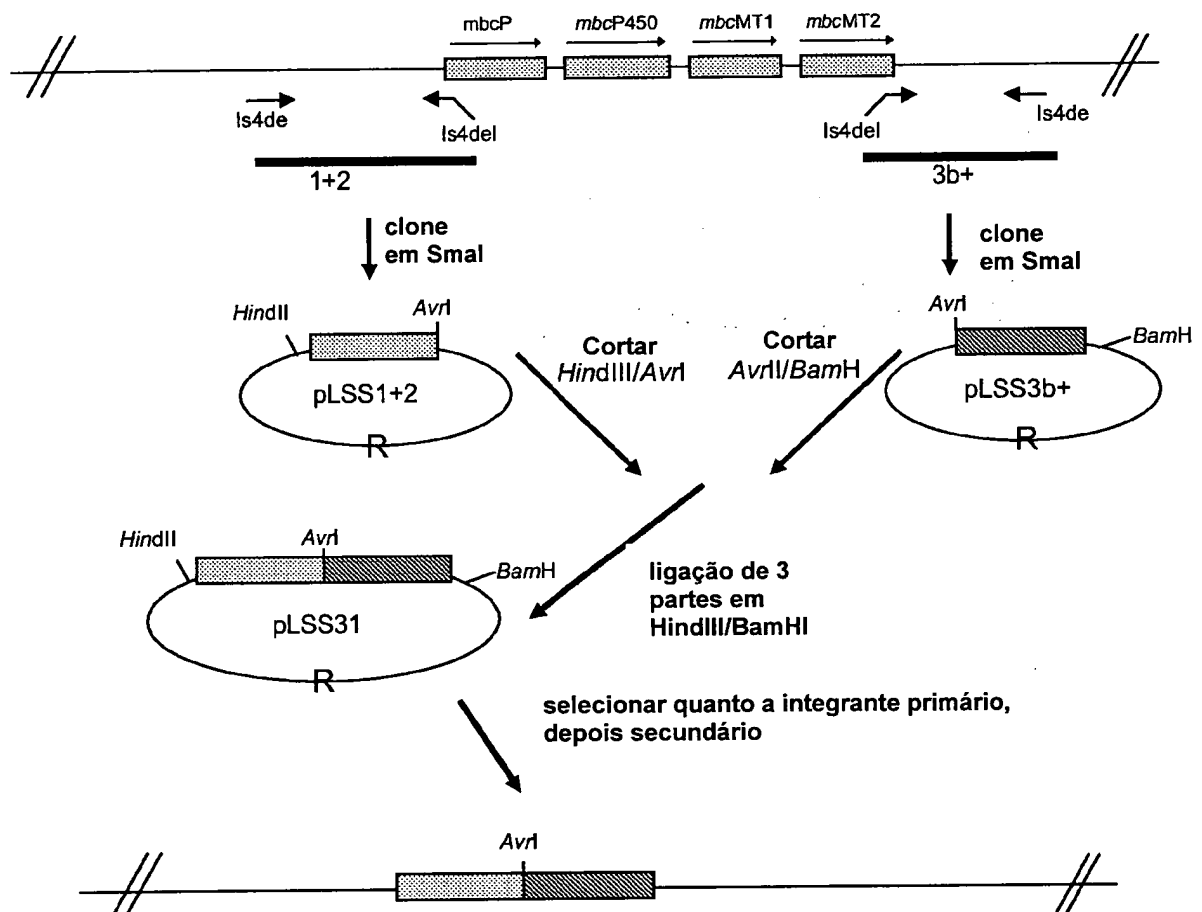


Figura 8

```

1 CCTAGGCGAC TACCCCGCAC TACTACACCG AGCAGGCCTA CGCCTACGGG AACTCCTGGA
61 CATCACCGAC CACACCGTCC AACGCAACTT CCGCGAACTG GCCGATCTGG TAGGCGACGC
121 GAAGGGCCTG CTGTTCCACC CACGCGACCT GGTGGGCGTC CCAGAATTCTG GCTGCTTCCT
181 AGCAGTAGCC GAACACCCGT AACCACGCGG TGGCGTCCCC CACGGACGCC ACCGCCCTCGC
241 GGGCTGCGGG GCGAGCGCAG CGAGCCCGCG CAGCCCCACT CCCGCGTCCC TCTTCTCCGT
301 GTGGCCTGGC GCATGTCAA AAA TTCCCACTGA CTGCCAACAG ATCATGTGCC GTTTGAGCAG
361 GTCAGCGACT TGTGCGCCTT CGGTGCCTTA AGGCCGAGCT GGGATGGGGG CACTGTTTCC
421 GGA CTGAGCG GGGCAGCTTG GAAGGTGGAG TTCGGTGAGC AGAGGCAGCA CGTCCCCTCG
481 CACGTAGAGG TGGTTGTACA CGCGGTGGCG GGACCTGCGC AGTAGGCCGC TATCCGCAAG
541 CTGCTCCAAG ATCAGGAGTG CGGCGCGGTG CGTATAGCCG AGTTCGGCGG TCAGCATGGT
601 GCTGTTGAGC AGTGGGGCGA CGAGCAGCGG GCGGGGAAGC GCTTTGACCT TCCTCCGCC
661 GGTGCGCATC GCCCAGGTGG GCGATCGCGC GAGCCTCACG GATCGCGGTC ACCTCATGCA
721 GGCTGGCGCT CAACCTGGAA CGCGCGACTG TTTGCTCCAG ACGTGCCAGG GCGGTGTAGG
781 CGTGCAACAA GGTCTTGCTG GTTTCGGAGC GCAGTCTGAG CCGGGACCAG GACGACAACT
841 CCGCGATCCT CGCGGACGGG GCGGCGCTCG TGTCTTACC GGTGGTAGTT GACCTGCGCG
901 GGGCGGAGGT GCCCTATTGC TGCCGGGACG AGGTCATCCC CCGGAGCAGT TTCTCAGCAC
961 GCCGTGAATC GAGATCCGGG GCGCTGAGCG CGGTGAACGC CTCGTCCAGC GAGTCGCACG
1021 CGCACGTCGT CCTGACATCG GCGCGCGCAT GGCCCGAGGT GGTACGCGGT GAGCGGGAAG
1081 GCGCGGCAGG GTGTGTGCGA GACACTCCGG GACTCCGTGC AGAAGGTGCA TCAGGCGAAA
1141 GGGTTGAACT GCGAATCGCA AAGCGGCCCC GCGCAAAAGG GTCGCGGCGG CCGTCCGACGA
1201 TTGGTACAGC TGCTGCGGCG CGGTCCCGCC GGAAGTGTCTT GCGGAGCAGG TCGATCCGCC
1261 CCTTGTGATC TTCTGCCAGC GCCTCCAGAA CCGAGAGCAG TCGTCGGGCG TGCA GTGCAT
1321 GGCCAATACC ATCGTCGCGT ACCCCAGAGG GTGTGCTCTC CGTTCAGGGG CGACCATTTC
1381 CCACGCCCCG TTGGCCTCCT TGGCGGCCCC GCCAAGATCG CCGAGCATCA GGTAGGTGCC
1441 CGACAACCCG ACAACCTGCG CTGCCAACGC GGCTTCCGGC ACCCGCGCGG CCTCGTCGGC
1501 TTCCAACGCC CGAACACCGT GCCACAGCAC GGCCCGCGCG TTGCCCTCGC TCGTCTCCAG
1561 CCATCCCATG ACACCGTGCG CTTCGGCCAG TGACC

```

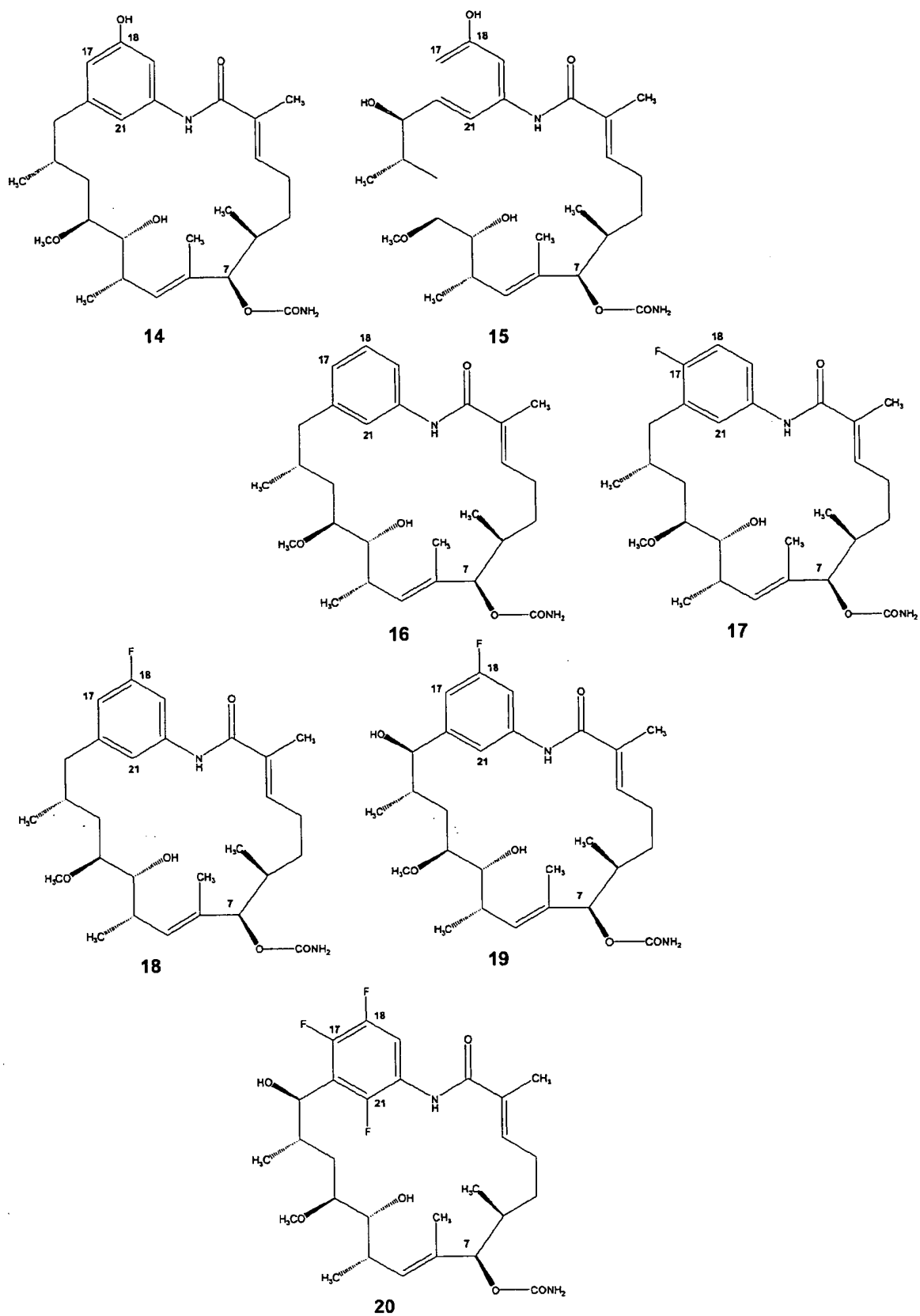
Figura 9

```

1 GTGTGCGGGC CAGCTCGCCC AGCACGCCCCA CGAGGGTCTC CAGCGCGTCC GCGCCGGTGC
61 GCGCGCCCCG GACGACCTCG ACCGTGGGGA TCAGGTACGG CCGGTTTCATG AAGTGCGTGC
121 CGATCAGCCG CGCCGGGTCTG GGGACGTGCC CCGCCAGCTC GTCGATCGGG ATCGAGGAGG
181 TGTGGACAC CAGCGGCACG CGCGGCCCCG TGAGCGCGGC GGCCCCGGCC AGCACCTCGG
241 CCTTGACCGG CAGTCTCTCG GTGACCGCCT CCACCACCAG CGAGACGTCG GCGACGTCGG
301 CGAGCGAGGT GGTGGTGAGC AGCTCGCCCC GCTCGCGGTC CTCGGGCGAG GCGCGCATCA
361 GCCTGGCCAT GCGCAGCTGG GCGGCCACCG CCTCCGCGC CCGCCCGACC TTGGCCCGGT
421 CGGTCTCGAC CAGCACCACC GGCACGCGCT GCGCGACGGC CAGGGAGGTG ATCCCCAGGC
481 CCATCGTGCC CGCGCCGAGA ACGGCGAGCA CCGTCTTGCC GTCCTGCTCT CCCATCGCGC
541 TCCCCCGCCG CGGCCACCGC GGCCGCGGTC CGGTCCGCGC GCGTCCCGG CACGCGCATT
601 CCACCCTCGA TCGTGTGCCG GGAAGGCGC GCGCGACCCC CTGACCTGCC CCCCTGAACC
661 CCCCTCAACG GAACCGGAAA TCGAATGTCC CGAACGCGCC GTCAAATCGT CGATTGACAG
721 CCGCAGAACT GTTCATAGAC TGTGGCGGCA GTACCGATCT CCGAATTCCA CGGAAGAGTC
781 CTCCCCATG GCTCAGCAGA TCAGCGCCAC CTCGGAAATC CTCGACTACG TCCGCGCGAC
841 CTCGTTGCGC GACGACGACG TGCTCGCCGG TCTGCGGGAG CGGACCGCGG TTCTCCCGGC
901 CGCGTCCGCG CTGCAGGTGG CCGCGGAGGA GGGGCGAGTG CTCGGCCTGC TGGTGGCGCT
961 GGTGCGCGCG CGCTCGGTGC TGGAGGTCCG CACCTACACC GGGTACAGCA CGTGTGCAT
1021 GGCCCGCGCC CTCCCGCCCG GCGGACGTGT CGTGACCTGC GACGTGCTCG CGAAGTGGCC
1081 GGACATGGGC AGGCCGTTCT GGGAGCGGGC GGGCGTCGCG GACCGCATCG ACGTCCCGCT
1141 CCGCGACGCC CGCGCCACCC TGGCCGGCCT GCACGCGGAG CAGCGCGTGT TCGACCTGGT
1201 GTTCATCGAC GCGAACAAGT CGGATTACGT CCACTACTAC GAGCGCGCGC TGACGCTGCT
1261 GCGCACCGGC GGCCTGGTCG TCGTGGACAA CACGCTCTTT TTCGGGCGGG TCGCCGATCC
1321 GTCCGCGACC GATCCGGACA CCACCGCCGT GCGCGAGCTG AACGCGCTGC TGCACGCCGA
1381 CGAGCGGGTC GACATGTGCC TGCTGCCGAT CGCGGACGGA ATCAGCTCG CCGTGAAGCG
1441 GTGAACCCGC CCGAATCGCG CCGAATTCCC CCGGAGAGAA AGGCCGCGC AGTGTTCACC
1501 GAGGACGTGG CCACCGACCT GCCCGCCTAC CCGTTCTCTAG G

```

Figura 10



RESUMO

“COMPOSTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DE UM COMPOSTO, MÉTODOS PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA, E PARA A PRODUÇÃO DE UM COMPOSTO, CEPA ENGENHEIRADA, 5 E, USO DE UMA CEPA ENGENHEIRADA”

A presente invenção refere-se a análogos de 18,21-didesoximacbecina que são úteis, p. ex., no tratamento de câncer, malignidades de células B, malária, infecção fúngica, doenças do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas, doenças dependentes de 10 angiogênese, doenças autoimunes e/ou como um pré-tratamento profilático para câncer. A presente invenção também proporciona métodos para a produção destes compostos e seu uso na medicina, em particular no tratamento e/ou profilaxia de câncer ou malignidades de células B.