

**ÖZET****SERİN PROTEAZ VARYANTLARINI İÇEREN BİLEŞİMLER VE YÖNTEMLER**

Mevcut buluş, serin proteaz varyantları, daha spesifik olarak bunlardan üretilen subtilisin varyantlarını sağlar. Spesifik olarak mevcut buluş, bir referans proteaz ile karşılaştırıldığında bir veya daha fazla süstitüsyona sahip serin proteaz varyantlarını, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarını sağlar. Ek olarak mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarını, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarını içeren bileşimleri sağlar. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarının, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarının en az birini içeren temizlik bileşimlerini sağlar.

## İSTEMLER

1. Bir izole subtilisin varyantı olup, özelliği subtilisin varyantının proteolitik aktiviteye sahip olgun bir formda olmasıdır, burada söz konusu subtilisin varyantı:
  - (i) aşağıdakilerden seçilen pozisyonlarda amino asit süstitüsyonlarının bir kombinasyonunu içeren bir amino asit dizisini içerir:
 

T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H,

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H,

T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-T260M,

T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R,

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-P239G-Q245R,

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-T260K-L267N,

T022R-S101G-S 103A-V104I-S128A-A232V-Q245R,

T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-V121F-A232V-Q245R,

T022R-S078N-S101G-S103A-V104I-N116L-A232V-Q245R,

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-P239G-Q245R-E271I,

T022R-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-Q109G-N116L-S128A-A232V-Q245R,

T022R-S024G-S078N-S101G-S 103A-V104I-N116L-S128A-A232V-Q245R,

T022R-G097S-S101G-S 103A-V104I-S128A-A232V-Q245R,

T022R-S024G-S078N-G097A-S101G-S 103A-V104I-N116L-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-S024G-S078N-G097S-S101G-S 103A-V104I-Q109N-N116L-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-S024G-S101G-S103A-V104I-N116L-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-S024G-G097A-S101G-S 103A-V104I-Q109G-N116L-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109G-N116L-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-S024G-S078N-G097A-S101G-S 103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R,

T022R-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R,

- T022R-G097S-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R,  
T022R-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R,  
T022R-S101G-S 103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R,  
5 T022R-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R,  
T022R-S101G-S 103A-V104I-A232V-Q245R-E271A,  
R010A-T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-L267N-E271H,  
10 T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271F,  
T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H,  
T022R-S078N-G097S-S101G-S 103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R, ve  
T022R-S101G-S103A-V104I-M222S-A232V-Q245R-E271H,  
15 burada subtilisin varyantının amino asit pozisyonları, SEQ ID NO:1'de gösterilen *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin BPN' amino asit dizisinde karşılık gelen amino asit pozisyonlarının numaralandırmasına göre numaralandırılır, ve burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2 ile en az %80 amino asit dizi özdeşliğine sahiptir ve burada subtilisin varyantı SEQ ID NO: 2'ye ait  
20 subtilisin ile karşılaştırıldığında artmış yıkama performansına sahiptir, veya  
(ii) sadece sübstitüsyonların aşağıdaki kombinasyonu ile SEQ ID NO: 2'nin amino asit dizisinden farklılaşan subtilisin varyantıdır: T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R.
- 25 2. İstem 1'e göre izole subtilisin varyantı olup, özelliği söz konusu subtilisin varyantının SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 preteazı ile en az %90 amino asit özdeşliğine sahip olmasıdır.
- 30 3. Bir izole nükleik asit olup, özelliği İstem 1 veya İstem 2'de sağlanan subtilisin varyantını kodlayan bir polinükleotid dizisini içermesidir.
4. Bir *Bacillus* subtilisin'e ait en az bir subtilisin varyantının üretilmesine yönelik bir yöntem olup, özelliği aşağıdaki adımları içermesidir:

- a) transforme edilmiş bir konakçı hücre üretmek üzere İstem 1 veya İstem 2'ye göre en az bir subtilisin varyantını kodlayan en az bir nükleik asidi içeren bir ifade vektörü ile bir konakçı hücrenin transforme edilmesi; ve
- 5 b) en az bir subtilisin varyantı üretmek üzere en az bir subtilisin varyantının üretilmesi için uygun koşullar altında transforme edilmiş konakçı hücrenin yetiştirilmesi.
- 10 5. İstem 1 veya İstem 2'ye göre en az bir subtilisin varyantını içeren bir bileşim olup, özelliği söz konusu bileşimin bir kumaş ve ev bakım ürünü olmamasıdır.
- 15 6. İstem 5'e göre bileşim olup, özelliği bileşimin ayrıca hemiselülazlar, selülazlar, peroksidazlar, proteazlar, metalloproteazlar, ksilanazlar, lipazlar, fosfolipazlar, esterazlar, perhidrolazlar, kutinazlar, pektinazlar, pektat liyazlar, mannanazlar, keratinazlar, redüktazlar, oksidazlar, fenoloksidazlar, lipoksijenazlar, ligninazlar, pullulanazlar, tannazlar, pentozanazlar, malanazlar,  $\beta$ -glukanazlar, arabinozidazlar, hiyaluronidazlar, kondroitinazlar, lakkazlar ve amilazlar veya herhangi bir kombinasyonundan seçilen en az bir ek enzimi içermesidir.
- 20 7. Bir temizleme yöntemi olup, özelliği İstem 1 veya İstem 2'ye göre en az bir subtilisin varyantını içeren bir temizleme bileşimi ile bir yüzey veya bir maddenin temas ettirilmesini içermesidir.



## TARİFNAME

### SERİN PROTEAZ VARYANTLARINI İÇEREN BİLEŞİMLER VE YÖNTEMLER

#### BULUŞ SAHASI

5

Mevcut buluş, serin proteaz varyantlarını sağlar. Spesifik olarak mevcut buluş, referans serin proteaz ile karşılaştırıldığında bir veya birkaç sübstitüsyona sahip serin proteaz varyantlarını sağlar. Ayrıca mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarını içeren bileşimleri sağlar. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarından, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarından en az birini içeren temizlik bileşimlerini sağlar.

10

#### BULUŞUN ALT YAPISI

15

Serin proteazların endüstriyel enzimler tekniğinde uzun süredir bilinmesine rağmen belirli durumlar ve kullanımlar için uygun geliştirilmiş proteazlara gereksinim vardır. WO 2004/041979, yıkama performansı içeren özelliklerinde parent subtilaza göre değişiklikler sergileyen yeni subtilaz varyantları ile ilgilidir. WO 2007/006305 ayrıca yıkama performansı içeren özelliklerinde parent subtilaza göre değişiklikler sergileyen yeni diğer subtilaz varyantları ile ilgilidir.

20

#### BULUŞUN KISA AÇIKLAMASI

Mevcut buluş, istem 1’de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantı sağlar.

25

Bazı düzenlemelerde, istemlerde tanımlandığı üzere izole subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2’de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteaz ile en az %90 amino asit özdeşliğine sahiptir.

30

İkinci bir açıda mevcut buluş, istem 1’de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan bir nükleik asit sağlar. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, buluşa ait subtilisin varyantının üretilmesine yönelik bir ifade vektörü, konakçı hücre ve yöntem sağlar, bunun koşulu söz konusu vektör, hücre veya yöntemin istemlerde tanımlanan şekilde olmasıdır.

35

Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, istemlerde tanımlanan şekilde bir varyantı veya varyantı kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada varyantın toplam net yükü, *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazın toplam net yüküne göre 0, +1, +2, +3, +4, +5, -1, -2, -3, -4, veya -5'tir.

5

Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, istemlerde tanımlandığı üzere en az bir varyanta sahip bir bileşim sağlar, burada söz konusu bileşim bir kumaş ve ev bakım ürünü değildir. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş istemlerde tanımlana şekilde bir temizleme yöntemi sağlar.

10

### **ŞEKİLLERİN KISA AÇIKLAMASI**

Şekil 1, BPN' (SEQ ID NO:1) ve GG36'yı (SEQ ID NO:2) içeren olgun referans proteazların hizalamasını sağlar. Her soğuk su proteaz varyantı da dahil burada açıklanan her proteaz varyantının, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarının her amino asit pozisyonu, *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin proteaz BPN' amino asit dizisi ile proteaz varyantı amino asit dizisinin hizalanması yoluyla belirlendiği üzere Şekil 1'de gösterildiği şekilde *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin proteaz BPN' (SEQ ID NO:1) amino asit dizisindeki karşılık gelen amino asit pozisyonunun numarasına göre numaralandırılır. Dolayısıyla aksi belirtilmedikçe sübstitüsyon pozisyonları BPN' ile ilişkili olarak verilir.

15

20

### **BULUŞUN AÇIKLAMASI**

Mevcut buluş, serin proteaz varyantları, daha spesifik olarak subtilisin varyantları sağlar. Spesifik olarak mevcut buluş, referans serin proteazlar ile karşılaştırıldığında bir veya daha fazla sübstitüsyona sahip serin proteaz varyantları, daha spesifik olarak subtilisin varyantları sağlar. Ek olarak mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarını, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarını içeren bileşimleri sağlar. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, bu serin proteaz varyantlarının, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarının en az birini içeren temizlik bileşimlerini sağlar.

25

30

### **Tanımlar**

Aksi belirtilmedikçe mevcut buluşun uygulaması, teknikte uzman kişinin bilgisi dahilinde olan moleküler biyoloji, protein mühendisliği, mikrobiyoloji ve rekombinant DNA'da yaygın olarak kullanılan klasik teknikleri içerir. Bu tür teknikler teknikte uzman kişilerce bilinir ve teknikte uzman kişilerce iyi bilinen birçok metin ve referans çalışmada  
5 açıklanır.

Burada aksi belirtilmedikçe burada kullanılan tüm teknik ve bilimsel terimler, bu buluşun ait olduğu teknikte uzman kişi tarafından yaygın olarak anlaşılanla aynı anlama sahiptir. Teknikte uzman kişilerce birçok teknik sözlük bilinmektedir. Burada açıklananlara  
10 benzer veya eşdeğer olan her türlü yöntemin ve materyalin mevcut buluş uygulamasında kullanılmasına rağmen bazı uygun yöntemler ve materyaller burada açıklanır. Buna bağlı olarak hemen aşağıda tanımlanan terimler, bir bütün olarak Spesifikasyona referans ile tamamen açıklanmaktadır. Aynı zamanda burada kullanıldığı üzere "bir," tek" ve "bu" tekil terimleri, bağlam aksini net şekilde  
15 belirtmedikçe çoğul referansı da içerir. Sayısal aralıklar, aralığı belirleyen sayıları da içerir. Aksi belirtilmedikçe sırasıyla nükleik asitler, 5' ile 3' yönünde soldan sağa yazılır; amino asit dizileri, amino ile karboksi yönünde soldan sağa yazılır. Bu buluşun, bunların teknikte uzman kişilerce kullanılan bağlama bağlı olarak değişmesi nedeniyle açıklanan özel yöntem, protokol ve reaktifler ile sınırlandırılmadığı anlaşılabacaktır.

20 Mevcut buluşun uygulaması aksi belirtilmedikçe, tümünün teknikte uzman kişilerce bilindiği protein saflaştırması, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, rekombinant DNA teknikleri ve protein dizilemesine ilişkin klasik teknikleri kullanır.

25 Ayrıca, burada verilen başlıklar, tarifnamenin bir bütün olarak referans alınması suretiyle buluşun çeşitli açıları veya düzenlemeleri için bir sınırlama değildir. Dolayısıyla, aşağıdaki paragraflarda tanımlanan terimler, tarifname bir bütün olarak referans alındığında daha ayrıntılı olarak tanımlanır. Öte yandan, birtakım terimlerin tanımları buluşun anlaşılmasını kolaylaştırmak için aşağıda verilmektedir.

30 Burada kullanıldığı üzere "proteaz" ve "proteinaz" terimleri diğer proteinleri parçalama becerisine sahip bir enzim proteindir. Bir proteaz, proteini oluşturan bir peptit veya polipeptit zincirinde amino asitleri birbirine bağlayan peptit bağlarının hidrolizi üzerinden protein katabolizmasını başlatan proteolizi yürütme becerisine sahiptir. Bir proteazın bir  
35 protein sindirici enzim olarak sergilediği bu aktivite "proteolitik aktivite" olarak refere

edilir. Proteolitik aktivitenin ölçülmesine yönelik iyi bilinen birçok prosedür mevcuttur (*Bakınız örneğin*, Kalisz, "Microbial Proteinases," In: Fiechter (ed.), *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, (1988)). Proteolitik aktivite örneğin ilgili proteazın bir ticari substratı hidrolize etme becerisini analiz eden karşılaştırma analizleri aracılığıyla belirlenebilir. Proteaz veya proteolitik aktivite analizinde faydalı temsili substratlar, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla di-metil kazein (Sigma C-9801), bovin kollajen (Sigma C-9879), bovin elastin (Sigma E-1625) ve bovin keratini (ICN Biomedical 902111) kapsar. Bu substratların kullanıldığı kolorimetri analizleri ilgili teknikte iyi bilinir (bkz. örneğin WO 99/34011 ve U.S. Patent No. 6,376,450,). Gradyanlı ayırıştırma esnasında toplanan fraksiyonlar için aktif enzim konsantrasyonunu belirleyen pNA analizi (bkz. örneğin Del Mar vd., *Anal. Biochem.* 99:316-320 [1979]) de kullanıma sahiptir. Bu analiz, çözünür sentetik süksinil-alanin-alanin-prolin-fenilalanin-p-nitroanilid (suc-AAPF-pNA) substratı enzim tarafından hidrolize edilirken p-nitroanilin salım hızını ölçer. Hidroliz reaksiyonunda sarı rengin oluşma hızı bir spektrofotometrede 410 nm'de ölçülür ve aktif enzim konsantrasyonu ile orantılıdır. Ayrıca, toplam protein konsantrasyonunu belirlemek için 280 nanometrede (nm) soğurum ölçümleri kullanılabilir. Aktif enzim/toplam protein oranı enzim saflığını verir.

Burada kullanıldığı haliyle, "subtilisin" terimi, MEROPS - The Peptidase Database (*Bakınız Rawlings vd., MEROPS: the peptidase database, Nucl. Acids Res.* 34 Database issue, D270-272 [2006]) veritabanında açıklandığı üzere S8 serin proteaz ailesinin herhangi bir üyesini ifade eder. Bu referansta açıklandığı üzere, peptidaz ailesi S8, serin endopeptidaz subtilisini ve homologlarını kapsar (Rawlings and Barrett, *Biochem J.*, 290:205-218, [1993]). Subtilaz ailesi olarak da bilinen S8 ailesi, serin peptidazların en büyük ikinci ailesidir. S8 ailesinin birkaç üyesi için tersiyer yapılar belirlenmiştir. Tipik bir S8 protein yapısı, iki sarmal tabakasının arasında bir yedi iplikli  $\beta$  yaprağı olmak üzere üç tabakadan oluşur. Subtilisin (S08.001), SB (SB) klanı için tip yapısıdır. Farklı yapılarına rağmen, subtilisinin ve kimotripsinin (S01.001) aktif bölgelerinin örtüşmesi, benzerliğin ıraksak evrim yerine yakınsak evrimden kaynaklandığını gösterir.

Burada kullanıldığı üzere "proteaz varyantı", "varyant proteaz", "varyant serin proteaz", "serin proteaz varyantı", "subtilisin varyantı", "mutant proteaz" terimleri, özellikle fonksiyonları bakımından referans proteaz (doğal suş subtilisin proteazı olabilen) ile benzer olan ancak amino asit dizilerinde bunları doğal suş proteaz veya varyant

proteazın derive edildiği herhangi bir başlangıç referans proteazdan (yani, "parent" proteaz) farklı olmalarını sağlayan mutasyonlara sahip olan proteazlara ilişkin olarak kullanılır. Bazı düzenlemelerde mevcut buluş, "GG36 varyantlarını" (veya "GG36 subtilisin varyantlarını") sağlar, burada mutasyonlar, SEQ ID NO:2'de verilen olgun GG36 dizisinde bulunur. Ancak referans proteazın, belirli herhangi bir amino asit dizisi ile sınırlandırılması amaçlanmaz. Ayrıca terimin, parent proteaz dizisinin, SEQ ID NO:2'deki amino asit dizisi ile en az %90, en az %95, en az %96, en az %97, en az %98, en az %99 veya %100 özdeş olduğu parent proteazın varyantlarını kapsaması amaçlanır.

10

Burada açıklandığı üzere "soğuk su proteaz varyantı" terimi, bir proteaz varyantı, daha spesifik olarak bir parent proteazının subtilisin varyantlarını ifade eder, burada *B. lentus* subtilisin GG36 proteazı, SEQ ID NO:2'ye ait amino asit dizisine sahiptir, burada söz konusu proteaz varyantı, daha spesifik olarak subtilisin varyantları aşağıdaki karakteristiklerin bir veya daha fazlasına sahiptir: a) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 5 olan bir Test Yöntemi 2 performans indeksi; b) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 5 olan bir Test Yöntemi 3 performans indeksi; c) en az 1.0, en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.0 ile yaklaşık 5 olan bir Test Yöntemi 4 performans indeksi; ve/veya d) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.0 ile yaklaşık 5 olan bir Test Yöntemi 6 performans indeksi; ve/veya, e) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 15, 1.1 ile yaklaşık 10, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 7 olan bir Test Yöntemi 7 performans indeksi. Test Yöntemi 2, Test Yöntemi 3, Test Yöntemi 4, Test Yöntemi 6, ve Test Yöntemi 7, "Test Yöntemleri" başlıklı Örnek 1 bölümünde *altta* açık bir şekilde açıklanır. Ek olarak terimin bir parent proteazın varyantlarını kapsamını tasarlanır burada parent proteaz dizisi, SEQ ID NO:2'nin amino asit dizisine en az %80, en az %85, en az %90, en az %95, en az %96, en az %97, en az %98, en az %99, veya %100 özdeşdir.

30

Mevcut buluşun bazı düzenlemelerinde parent proteaz (yani, "referans" veya "başlangıç" proteazı), bunlarla sınırlı olmamak üzere SAVINASE®, POLARZYME®, KANNASE®, LIQUINASE®, LIQUINASE ULTRA®, SAVINASE ULTRA®, OVOZYME®, (Novozymes A/S tarafından); MAXACAL®, PROPERASE®, PURAFECT®, FN3®, FN4® and PURAFECT OXP®, PURAFAST™, PURAFECT® PRIME, PURAMAX® (Danisco US, Genencor Division) markaları ile satılan proteazlar ve Henkel/ Kemira'dan temin edilenler diğer bir deyişle BLAP (aşağıdaki mutasyonlara sahip olmak üzere US 5,352,604'teki Şekil 29'da gösterilen dizi S99D + S101 R + S103A + V104I + G159S, buradan sonra BLAP olarak refere edilir) ve BLAP X (S3T + V4I + V205I içeren BLAP) de dahil ticari olarak temin edilebilir bir proteazdır.

Burada kullanıldığı üzere "varyant polipeptit" terimi, parent veya referans polipeptidin (bunlarla sınırlı olmamak üzere doğal suş polipeptitler de dahil) amino asit dizisinden en az bir amino asit kalıntısı bakımından farklılık gösteren bir amino asit dizisini içeren polipeptide refere eder.

Burada kullanıldığı haliyle "*Bacillus* cinsi", ilgili tekniğin uzmanlarınca bilindiği üzere, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. lentus*, *B. brevis*, *B. stearothermophilus*, *B. alkalophilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. clausii*, *B. halodurans*, *B. megaterium*, *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. lautus* ve *B. Thuringiensis* de dahil olmak üzere *Bacillus* cinsine ait tüm türleri kapsar. *Bacillus* cinsinin taksonomik düzenlemesinin devam ettiği anlaşılmalıdır. Dolayısıyla bu cinsin, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, artık "*Geobacillus stearothermophilus*" olarak adlandırılan *B. stearothermophilus* gibi organizmalar da dahil olmak üzere yeniden sınıflandırılan türleri kapsamı amaçlanmaktadır. Oksijen varlığında dirençli endosporların üretimi *Bacillus* cinsinin belirleyici bir özelliği olarak düşünülür, ancak bu karakteristik son zamanlarda adlandırılan *Alisiklobacillus*, *Amphibacillus*, *Aneurinibacillus*, *Anoxybacillus*, *Brevibacillus*, *Filobacillus*, *Gracilibacillus*, *Halobacillus*, *Paenibacillus*, *Salibacillus*, *Thermobacillus*, *Ureibacillus* ve *Virgibacillus* için de geçerlidir.

Burada birbirlerinin yerine kullanılan "polinükleotit" ve "nükleik asit" terimleri, bir zincirde kovalent olarak bağlı nükleotit monomerlerinin herhangi bir uzunluktaki bir polimerini ifade eder. Deoksiribonükleotitler içeren bir polinükleotit olan DNA (deoksiribonükleik asit) ve bir ribonükleotit polimeri olan RNA (ribonükleik asit), farklı biyolojik fonksiyonlara sahip polinükleotitlerin veya nükleik asitlerin örnekleridir.

Polinükleotitler veya nükleik asitler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, tek, çift veya üç iplikli bir DNA, genomik DNA, cDNA, RNA, DNA-RNA hibriti veya pürin ve pirimidin bazlarına ya da doğal, kimyasal olarak değiştirilmiş, biyokimyasal olarak değiştirilmiş, doğal olmayan veya türetilmiş diğer nükleotit bazlarına sahip bir polimeri kapsar.

- 5 Polinükleotitlerin sınırlandırıcı olmayan örnekleri şunlardır: genler, gen fragmanlar, kromozomal fragmanlar, ifade edilmiş dizi işareti (işaretleri) (EST (EST'ler)), eksonlar, intronlar, mesajcı RNA (mRNA), transfer RNA'sı (tRNA), ribozomal RNA (rRNA), ribozimler, komplementer DNA (cDNA), rekombinant polinükleotitler, dallanmış polinükleotitler, plazmitler, vektörler, herhangi bir diziye sahip izole edilmiş DNA, 10 herhangi bir diziye sahip izole edilmiş RNA, nükleik asit problemleri ve primerler. Bazı düzenlemelerde polinükleotitler, değiştirilmiş nükleotitler, örneğin metillenmiş nükleotitler ve nükleotit analogları, urasil, başka şekerler ve bağlantı grupları, örneğin flororiboz ve tioat ve nükleotit dalları içerir. Belirli bir düzenlemede, bir nükleotit dizisi, nükleotit harici bileşenler ile kesintiye uğrar.

15

Burada kullanıldığı üzere "mutasyon" terimi, başlangıç amino asit veya nükleik asit dizisinde yapılan değişikliklere refere eder. Bu terimin, süstitüsyonlar, insersiyonlar ve delesyonları kapsamı amaçlanır.

- 20 Burada kullanıldığı haliyle "vektör" terimi, nükleik asidi (asitleri) veya polinükleotidi (polinükleotitleri) bir hedef hücrenin veya dokunun içine yerleştirmek veya aktarmak için kullanılan bir nükleik asit konstraktını veya polinükleotit konstraktını ifade eder. Bir vektör tipik olarak yabancı DNA'nın başka bir hücreye veya dokuya yerleştirilmesi için kullanılır. Bir vektör genel olarak bir transgen olan bir DNA dizisine ve vektörün 25 "omurgası" olarak işlev gören daha büyük bir polinükleotit dizisine sahiptir. Vektör tipik olarak eklentinin hedef hücrede veya dokuda izole edilmesini, çoğaltılmasını veya ifade edilmesini sağlamak üzere genetik bilgiyi, örneğin yerleştirilen transgeni, bir hedef hücreye veya dokuya aktaracak şekilde işlev görür. Vektörler plazmitler, klonlama vektörleri, bakteriyofajlar, virüsler (örneğin viral vektör), kozmitler, ifade vektörleri, 30 mekik vektörleri, kasetler ve benzerlerini kapsar. Bir vektör tipik olarak bir replikasyon orijini, bir çoklu klonlama bölgesi ve bir seçilebilir belirteç içerir. Bir vektörü bir hedef hücreye yerleştirme işlemi genelde transfeksiyon olarak adlandırılır. Bir hücrenin bir viral vektör ile transfeksiyonu genelde transdüksiyon olarak adlandırılır. Burada DNA dizisinin uygun bir konakçıda ifade edilmesini sağlayabilen uygun bir prodiziye (örneğin

sekretuar, sinyal peptit dizisi vs.) operatif şekilde bağı bir varyant proteazı kodlayan bir DNA dizisine sahip bir vektör açıklanır.

- Burada kullanıldığı haliyle, "ifade kaseti", "ifade plazmidi" veya "ifade vektörü" terimi,
- 5 ilgili bir nükleik asidin (örneğin bir yabancı nükleik asidin veya transgenin) bir hedef hücrede ifadesi için rekombinant olarak veya sentetik olarak üretilen bir nükleik asit konstraktını veya vektörünü ifade eder. İlgili nükleik asit tipik olarak ilgili bir proteini ifade eder. Bir ifade vektörü veya ifade kaseti tipik olarak yabancı nükleik asidin ifadesini kontrol eden veya destekleyen bir promotör nükleotit dizine sahiptir. İfade
- 10 vektörü veya kaseti ayrıca tipik olarak belirli bir nükleik asidin bir hedef hücrede transkripsiyonunu sağlayan diğer belirli nükleik asit unsurları içerir. Bir rekombinant ifade kaseti bir plazmitin, kromozomun, mitokondriyal DNA'nın, plastit DNA'nın, virüsün veya nükleik asit fragmanının içine dahil edilebilir. Bazı ifade vektörleri, heterolog DNA fragmanlarını bir konakçı hücreye dahil etme ve burada ifade etme becerisine sahiptir.
- 15 Birçok prokaryotik ve ökaryotik ifade vektörü piyasadan temin edilebilir. Uygun ifade vektörlerinin seçimi ilgili tekniğin uzmanlarının bilgisi dahilindedir. Bir proteinin ifade vektörüne dahil edilen bir nükleik asit dizisinden ifade edilmesine yönelik uygun ifade vektörlerinin seçimi ilgili tekniğin uzmanlarının bilgisi dahilindedir.
- 20 Bir DNA konstraktı, bir hedef hücrenin veya dokunun içine yerleştirilebilecek yapay olarak üretilmiş bir nükleik asit segmentidir. Bir DNA konstraktı tipik olarak bir vektöre alt klonlanmış ilgili bir proteini kodlayan bir nükleotit dizisine sahip bir DNA eklentisi içerir. Vektör, bakterilerde büyüme için bakteriyel direnç genlerine ve ilgili proteinin bir organizmada ifadesi için bir promotöre sahip olabilir. DNA *in vitro* olarak PCR veya ilgili
- 25 tekniğin uzmanlarınca bilinen uygun başka bir teknik (teknikler) ile üretilir. Bazı düzenlemelerde DNA konstraktı, ilgili bir nükleik asit dizisini içerir. Bazı düzenlemelerde dizi, kontrol unsurları (örneğin promotörler vs.) gibi ilave unsurlara operatif şekilde bağlanır. DNA konstraktı ilaveten bir seçilebilir belirteç içerebilir ve ilaveten homolog kutuları ile çevrili bir gelen dizi içerebilir. Konstrakt, uçlara eklenmiş homolog olmayan
- 30 başka diziler (örneğin dolgu dizileri veya komşu diziler) içerebilir. Bazı düzenlemelerde dizinin uçları, DNA konstraktının kapalı bir halka oluşturmasını sağlayacak şekilde kapatılır. İlgili alanda iyi bilinen tekniklerle DNA konstraktına dahil edilen ilgili nükleik asit dizisi bir yabancı tip, mutant veya değiştirilmiş nükleik asit olabilir. Bazı düzenlemelerde DNA konstraktı, konakçı hücre kromozomu ile homolog olan bir veya
- 35 daha fazla nükleik asit dizisi içerir. Diğer düzenlemelerde DNA konstraktı, homolog



olmayan bir veya daha fazla nükleotit dizisi içerir. DNA kontraktı *in vitro* olarak birleştirildiğinde örneğin 1) heterolog dizilerin bir konakçı hücrede arzu edilen bir hedef diziye yerleştirilmesi ve/veya 2) konakçı hücre kromozomundaki bir bölgenin mutasyona uğratılması (yani bir endojen dizinin bir heterolog dizi ile ikame edilmesi); 3) hedef genlerin eksilmesi ve/veya 4) bir replikasyon plazmitinin konakçıya yerleştirilmesi için kullanılabilir. Burada "DNA kontraktı" ve "ifade kaseti" birbirlerinin yerine kullanılır.

Burada kullanıldığı haliyle, bir "plazmit", kromozomal DNA'dan bağımsız olarak replikasyona uğrayabilen bir ekstrakromozomal DNA molekülünü ifade eder. Bir plazmit çift ipliklidir (ds) ve dairesel olabilir ve genelde bir klonlama vektörü olarak kullanılır.

Burada bir nükleik asit dizisinin bir hücreye dahil edilmesi bağlamında kullanıldığı haliyle, "dahil etmek" terimi, nükleik asit dizisinin hücrenin içine aktarılması için uygun herhangi bir yöntemi ifade eder. Dahil etme için kullanılan bu tip yöntemler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, protoplast füzyonu, transfeksiyon, transformasyon, elektroporasyon, konjügasyon ve transdüksiyonu kapsar (bkz. örneğin Ferrari vd., "Genetics", Hardwood vd. (eds.), Bacillus, Plenum Publishing Corp., pp. 57-72 [1989]).

Transformasyon, bir hücrede genetik materyalin (örneğin DNA) alımından, genomik katılımından ve ifadesinden kaynaklanan genetik değişikliği ifade eder.

Burada kullanıldığı haliyle, bir nükleik asit, başka bir nükleik asit dizisi ile fonksiyonel bir ilişki içerisinde bulunduğu durumlarda bu nükleik asit dizisine "operatif şekilde bağlıdır". Örneğin bir promotör veya hızlandırıcı, bir nükleotit kodlayıcı dizinin transkripsiyonunu sağladığı sürece bu kodlayıcı diziye operatif şekilde bağlıdır. Bir ribozom bağlanma bölgesi, bir kodlayıcı dizinin translasyonunu kolaylaştıracak şekilde konumlandırıldığında bu kodlayıcı diziye operatif şekilde bağlı olabilir. "Operatif şekilde bağlı" DNA dizileri tipik olarak bitişiktir. Ancak hızlandırıcıların bitişik olması gerekmez. Bağlanma, uygun restriksiyon bölgelerinde ligasyon yoluyla gerçekleştirilir. Bu tip bölgelerin bulunmadığı durumlarda, konvansiyonel uygulamalar doğrultusunda sentetik oligonükleotit adaptörler veya bağlantılar kullanılabilir.

Burada kullanıldığı haliyle "gen" terimi, bir polipeptidi kodlayan ve kodlayıcı bölgelerin önünde ve arkasında bölgeler ve ayrıca ayrı kodlayıcı segmentlerin (eksonlar) arasında ara diziler (intronlar) içeren bir polinükleotidi (örneğin bir DNA segmentini) ifade eder.

5 Burada kullanıldığı haliyle, bir hücre ile bağlantılı olarak kullanılan "rekombinant" terimi tipik olarak hücrenin bir heterolog nükleik asit dizisi dahil edilerek değiştirildiğini veya hücrenin bu şekilde değiştirilen bir hücreden türetildiğini ifade eder. Örneğin bir rekombinant hücre, hücrenin naif (rekombinant olmayan) formunda özdeş formda bulunmayan bir gen içerebilir ya da bir rekombinant hücre, hücrenin naif formunda  
10 bulunan ve ancak değiştirildikten sonra hücrenin içine yeniden yerleştirilen bir naif gen içerebilir. Bir rekombinant hücre, nükleik asit hücreden uzaklaştırılmadan değiştirilen hücreye endojen bir nükleik asit içerebilir; bu tip değişiklikler gen ikamesi, bölgeye özgü mutasyon ve alanın uzmanlarınca bilinen ilgili teknikler ile elde edilenleri kapsar. Rekombinant DNA teknolojisi, rekombinant DNA'nın in vitro olarak üretimine ve  
15 rekombinant DNA'nın bir rekombinant polipeptit oluşturmak üzere ifade edilebileceği veya çoğaltılabileceği hücrelere aktarılmasına yönelik teknikleri içerir. Polinükleotitler veya nükleik asitler ile birlikte kullanılan "rekombinasyon", "rekombine olmak" ve "rekombine edilmiş" terimleri genel olarak iki veya daha fazla nükleik asit veya polinükleotit ipliğinin veya fragmanının yeni bir polinükleotit veya nükleik asit  
20 oluşturmak üzere birleştirilmesini ifade eder. Rekombinant polinükleotit veya nükleik asit bazı durumlarda bir kimera olarak adlandırılır. Bir nükleik asit veya polipeptit, yapay veya genetik olarak değiştirilmiş olduğunda ya da yapay veya genetik olarak değiştirilmiş bir proteinden veya nükleik asitten türetildiğinde "rekombinant" olarak nitelendirilir.

25

Burada kullanıldığı haliyle, nükleik asit veya gen "amplifikasyonu" terimi, spesifik DNA dizilerinin are orantısız düzeyde replikasyona uğramasını ve böylece amplifikasyona uğrayan nükleik asidin veya genin başlangıçta genomda mevcut olandan daha yüksek bir kopya sayısında bulunmasını sağlayan bir süreci ifade eder. Bazı düzenlemelerde,  
30 hücrelerin bir ilaç (örneğin inhibe edilebilir bir enzimin bir inhibitörü) varlığında büyütülerek seleksiyona uğratılması, ilacın varlığında büyüme içine gerekli gen ürününü kodlayan endojen genin amplifikasyonuna ve/veya bu nükleik asidi veya gen ürününü veya her ikisini kodlayan ekzojen dizilerin (yani giriş dizilerinin) amplifikasyonuna neden olur.

35

"Amplifikasyon", nükleik asit replikasyonunun şablon spesifisitesini kapsayan özel bir durumdur. Spesifik olmayan şablon replikasyonunun (yani şablona bağımlı olan ancak spesifik bir şablona bağımlı olmayan replikasyon) tersidir. Şablon spesifisitesi burada replikasyonun doğruluğundan (yani doğru polinükleotit dizisinin sentezi) ve nükleotit (ribo- veya deoksiribo-) spesifisitesinden ayrılır. Şablon spesifisitesi sıklıkla "hedef" spesifisitesi cinsinden ifade edilir. Hedef diziler, diğer nükleik asitlerden ayıklanması istenen "hedeflerdir". Amplifikasyon teknikleri öncelikli olarak bu ayıklama işlemi için tasarlanmıştır.

- 10 Burada kullanıldığı haliyle, "primer" teriminden kasıt, bir saflaştırılmış restriksiyon kesiminde olduğu gibi doğal yoldan meydana gelen ya da sentetik olarak üretilen, bir nükleik asit ipliğinin komplementeri olan bir primer uzama ürününün sentezinin uyarıldığı şartlar altında (yani nükleotitlerin ve DNA polimeraz gibi bir uyarıcı ajanın varlığında ve uygun bir sıcaklık ve pH seviyesinde) sentez başlangıç noktası olarak işlev görme kapasitesine sahip olan bir oligonükleotittir (nükleotit kalıntılarından bir polimeridir). Bir primer, maksimum amplifikasyon verimine yönelik olarak tercihen tek ipliklidir, ancak alternatif olarak çift iplikli de olabilir. Primer, çift iplikli olması halinde, uzama ürünlerini hazırlamak için kullanılmadan önce ipliklerini ayırmak için muamele edilir. Bazı düzenlemelerde primer, bir oligodeoksiribonükleotittir. Primer, uyarıcı ajanın varlığında uzama ürünlerinin sentezini uyarmak için yeterince uzun olmalıdır. Bir primerin tam uzunluğu sıcaklık, primer kaynağı ve yöntemin kullanım şekli de dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak değişir.

- 25 Burada kullanıldığı haliyle "prob" terimi, bir saflaştırılmış restriksiyon kesiminde olduğu gibi doğal yoldan meydana gelip gelmediğinden ya da sentetik olarak, rekombinant olarak veya PCR amplifikasyonu ile üretilmiş olup olmadığından bağımsız olarak genelde ilgili başka bir oligonükleotit ile hibritleşme kapasitesine sahip olan bir oligonükleotidi ifade eder. Bir prob tek iplikli veya çift iplikli olabilir. Problar, belirli gen dizilerinin tayini, belirlenmesi ve izolasyonunda faydalıdır. Mevcut buluşta kullanılan herhangi bir probun, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla enzim tabanlı (örneğin ELISA ve ayrıca enzim tabanlı histokimya analizleri), floresan, radyoaktif ve lüminesan sistemler de dahil olmak üzere herhangi bir saptama sisteminde saptanabilmesini sağlayan herhangi bir "raportör molekül" ile işaretlenmesi öngörülmektedir. Mevcut buluşun belirli herhangi bir saptama sistemi veya işareti ile sınırlı olmaması amaçlanır.

Burada kullanıldığı haliyle, polimeraz zincir reaksiyonu ile bağlantılı olarak kullanıldığında "hedef" terimi, polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerlerin bağlandığı nükleik asit bölgesini ifade eder. Dolayısıyla "hedefin" diğer nükleik asit dizilerinden ayıklanması amaçlanır. Bir nükleotit "segmenti", bir nükleik asidin, hedef  
5 nükleik asit dizisinin içinde kalan bir bölgesidir.

Burada kullanıldığı haliyle, "polimeraz zincir reaksiyonu" (PCR) terimi, U.S. Patent No. 4,683,195 4,683,202 ve 4,965,188'de tarif edilen yöntemleri ifade eder ve bir genomik DNA karışımında bir hedef dizinin bir segmentinin konsantrasyonunu klonlama veya  
10 saflaştırma olmadan artırmaya yönelik yöntemleri içerir. Hedef dizinin amplifikasyonuna yönelik bu proses ilgili teknikte iyi bilinir.

Burada kullanıldığı haliyle, "amplifikasyon reaktifleri" terimi, primerler, nükleik asit şablonu ve amplifikasyon enzimi dışında amplifikasyon için gerekli olan reaktifleri  
15 (örneğin deoksiribonükleotit trifosfatlar, tampon vs.) ifade eder. Amplifikasyon reaktifleri tipik olarak diğer reaksiyon bileşenleri ile birlikte bir reaksiyon kabının (test tüpü, mikrogöz vs.) içine yerleştirilir.

Burada kullanıldığı haliyle, "restriksiyon endonükleazı" veya "restriksiyon enzimi" terimi, çift iplikli veya tek iplikli DNA'yı at veya near restriksiyon bölgesi olarak bilinen spesifik  
20 bir nükleotit dizisinde veya bu dizinin yakınında kesime uğratabilen bir enzimi (örneğin bakteriyel enzim) ifade eder. Restriksiyon bölgesini içeren nükleotit dizisi belirli bir restriksiyon endonükleazı veya restriksiyon enzimi tarafından tanınır ve kesime uğratılır ve çoğu kez DNA fragmanlarının eklendiği bölgedir. Bir restriksiyon bölgesi, bir ifade  
25 vektörünün veya DNA konstraktının içine yerleştirilebilir.

"Homolog rekombinasyon", DNA fragmanlarının özdeş veya neredeyse özdeş nükleotit dizilerine sahip bölgede iki DNA molekülü veya eşleşmiş kromozom arasında paylaşılmasını ifade eder. Bazı düzenlemelerde kromozomal entegrasyon, homolog  
30 rekombinasyondur.

Bir nükleik asidin veya polinükleotidin, naif durumunda veya ilgili tekniğin uzmanlarınca bilinen yöntemlerle manipüle edildiğinde, bir polipeptidi veya bir fragmanını üretmek üzere transkripsiyona ve/veya translasyona uğrayabildiği durumlarda bu polipeptidi

"kodladığı" söylenir. Böylesi bir nükleik asidin anti-sens ipliğinin de diziyi kodladığı söylenir.

İlgili teknikte bilindiği üzere bir DNA dizisi, bir RNA dizisi üretmek üzere bir RNA polimeraz tarafından transkripsiyona uğratılabilir, öte yandan bir RNA dizisi, bir DNA dizisi üretmek üzere ters transkriptaz tarafından ters transkripsiyona uğratılabilir.

"Konakçı suş" veya "konakçı hücre", ilgili bir DNA dizisini içeren bir ifade vektörü için uygun bir konakçıyı ifade eder. İlgili DNA dizisi konakçı suşta veya konakçı hücrede ilgili bir proteini ifade edebilir.

Bir "protein" veya "polipeptit", amino asit kalıntılarının polimerik dizisini içerir. "Protein" ve "polipeptit" terimleri burada birbirinin yerine kullanılır. Bu tarifnamede Biyokimya Bilimsel İsimlendirme Müşterek Komisyonu (JCBN) ile uyumlu olarak tanımlanan amino asitlere yönelik tek ve 3 harfli kod kullanılır. Tek harf (X), yirmi amino asitten herhangi birine refere eder. Aynı zamanda bir polipeptidin, genetik kodun dejenerasyonu nedeniyle birden fazla nükleotid dizisi ile kodlanabildiği anlaşılır. Mutasyonlar, parent amino aside yönelik tek harfli kod, akabinde gelen üç veya iki haneli pozisyon numarası ve sonrasında gelen varyant amino aside yönelik tek harfli kod ile isimlendirilir. Örneğin glisin (G) 97. pozisyonda serin (S) olarak mutasyona uğratılması, "G087S" veya "G87S" olarak temsil edilir. Birçok mutasyon, mutasyonlar arasına "-" eklenmesi ile gösterilir. 87 ve 90. pozisyonlardaki mutasyonlar, "G087S-A090Y" veya "G87S-A90Y" veya "G87S + A90Y" veya "G087S + A090Y" olarak gösterilir. Delesyonlar için tek harfli kod "Z" kullanılır. Parent diziyeye göre bir insersiyon için tek harfli kod "Z", pozisyon numarasının sol tarafındadır. Delesyon için tek harfli kod "Z", pozisyon numarasının sağ tarafındadır. İnsersiyonlar için pozisyon numarası, eklenen amino asitten(asitlerden) önceki pozisyon numarası artı her amino asit için 0.01'dir. Örneğin 87 ve 88 pozisyonları arasına alanin (A), serin (S) ve tirozin (Y) olmak üzere üç amino asit insersiyonu, "Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y" olarak gösterilir. Dolayısıyla yukarıdaki tüm mutasyonların ve 100. pozisyonundaki delesyonun kombinasyonu "G087S- Z087.01A-Z087.02S-Z087.03Y-A090Y-A100Z" olarak gösterilir.

Bir "prodizi" veya "propeptit dizisi", proteazın sekresyonu için gerekli olan sinyal peptit dizisi ile olgun proteaz dizisi arasında yer alan bir amino asit dizisini ifade eder. Prodizinin veya propeptit dizisinin kesimi, olgun bir aktif proteaz ile sonuçlanır.

"Sinyal dizisi" veya "sinyal peptidi", bir proteinin olgun veya öncül formunun sekresyonuna veya doğrudan taşınımına katılabilen bir amino asit kalıntı dizisini ifade eder. Sinyal dizisi tipik olarak öncül veya olgun protein dizisinin N terminal kısmında yer alır. Sinyal dizisi endojen veya ekzojen olabilir. Bir temsili ekzojen sinyal dizisi, *Bacillus subtilis* kökenli subtilisin sinyal dizisinin ilk yedi amino asit kalıntısını, *Bacillus lentus* (ATCC 21536) kökenli subtilisin sinyal dizisinin geriye kalanına kaynaşık halde içerir. Normalde olgun proteinde bir sinyal dizisi mevcut değildir. Bir sinyal dizisi tipik olarak protein taşındıktan sonra bir sinyal peptidazı tarafından proteinden kesilir.

10

"Hibrit sinyal dizisi" terimi, dizinin bir kısmı ifade konakçısından elde edilmiş ve ifade edilecek genin sinyal dizisine kaynaştırılmış olan sinyal dizilerini ifade eder. Bazı düzenlemelerde sentetik diziler kullanılır.

15 Bir proteinin, polipeptidin veya peptidin "olgun" formu, proteinin, polipeptidin veya peptidin sinyal peptit dizisini ve propeptit dizini içermeyen fonksiyonel formunu ifade eder.

Bir proteinin veya peptidin "öncül" formu, proteinin amino veya karbonil terminusuna operatif şekilde bağlı bir prodiziye sahip bir olgun formunu ifade eder. Öncül ayrıca prodizinin amino terminusuna operatif şekilde bağlı bir "sinyal" dizisine sahip olabilir. Öncül ayrıca post-translasyonel aktiviteye dahil olan ilave polinükleotidlere (örneğin bir proteinin veya peptidin olgun formunu bırakmak üzere kesilen polinükleotidlere) sahip olabilir.

25

Bir amino asit dizisi veya nükleik asit dizisi ile bağlantılı olarak kullanılan "yabanıl tip" terimi, amino asit dizisinin veya nükleik asit dizisinin naif veya doğal yoldan meydana gelen bir dizi olduğunu ifade eder. Burada kullanıldığı haliyle "doğal yoldan meydana gelen" terimi, doğada bulunan (yani, rekombinant yöntemler ile manipüle edilmemiş olan) herhangi bir şeye (örneğin proteinler, amino asitler veya nükleik asit dizileri) refere eder.

Burada kullanıldığı üzere "doğal yoldan meydana gelmeyen" terimi, doğada bulunmayan herhangi bir şeye (örneğin laboratuvarı üretilen rekombinant nükleik asitler) refere eder.

35

Burada amino asit kalıntı pozisyonları ile bağlantılı olarak kullanıldığı haliyle, "karşılık gelen" veya "karşılık gelir" veya "karşılık gelmek" terimi, bir proteinde veya peptitte numaralandırılan pozisyonda yer alan bir amino asit kalıntısını ya da bir proteinde veya peptitte numaralandırılmış bir kalıntı ile analog, homolog veya eşdeğer bir amino asit kalıntısını ifade eder. Burada kullanıldığı haliyle, "karşılık gelen bölge" genel olarak ilgili proteinler veya bir referans protein boyunca bir analog pozisyonu ifade eder.

"Kökenli/türetilen" ve "elde edilen" terimleri, ilgili organizmanın bir suşu tarafından üretilen veya üretilen bir proteazın yanı sıra, bu suştan izole edilen bir DNA dizisi tarafından kodlanan ve bu DNA dizisini içeren bir konakçı organizmada üretilen bir proteazı da ifade eder. Terim ilaveten sentetik ve/veya cDNA kökenli bir DNA dizisi tarafından kodlanan ve ilgili proteazın belirleyici karakteristiklerine sahip olan bir proteazı ifade eder. Örnek olarak, "*Bacillus* kökenli proteazlar", *Bacillus* tarafından doğal olarak üretilen proteolitik aktiviteye sahip enzimleri ve ayrıca *Bacillus* kaynakları tarafından üretilenlere benzeyen ve ancak genetik mühendislik teknikleri aracılığıyla serin proteazları kodlayan bir nükleik asit ile transformasyona uğratılmış *Bacillus* harici organizmalar tarafından üretilen serin proteazları ifade eder.

İki nükleik asit veya polipeptit dizisi bağlamında "özdeş" terimi, aşağıdaki dizi karşılaştırma veya analiz algoritmalarından biri ile ölçüldüğü üzere maksimum benzerlik için hizalandığında iki dizide aynı olan kalıntıları ifade eder.

Burada kullanıldığı haliyle "homolog genler", farklı, ancak genel olarak alakalı türlerden elde edilen ve birbirlerine karşılık gelen ve birbirleriyle özdeş veya çok benzer olan bir çift geni ifade eder. Terim, türleşme (yani yeni türlerin gelişimi) sonucunda ayrılan genleri (örneğin ortolog genleri) ve ayrıca genetik duplikasyon sonucunda ayrılan genleri (örneğin paralog genler) kapsar.

Burada kullanıldığı haliyle "homoloji", dizi benzerliğini veya özdeşliğini ifade eder, burada özdeşlik tercih edilir. Homoloji, ilgili alanda bilinen standart tekniklerle belirlenebilir (bkz. örneğin Smith ve Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981); Needleman ve Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970); Pearson ve Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988); Wisconsin Genetics Yazılım Paketinde yer alan GAP, BESTFIT, FASTA ve TFASTA gibi yazılım programları (Genetics Computer Grup,

- Madison, WI) ve Devereux vd., Nucl. Asit Res. 12:387-395 (1984)). Bir faydalı algoritma örneği PILEUP'dir. PILEUP, progresif ikili hizalamalardan faydalanarak bir ilgili diziler grubundan çoklu dizi hizalaması üretir. Ayrıca, hizalamayı üretmek için kullanılan kümelenme ilişkilerini gösteren bir ağaç grafiği de oluşturabilir. PILEUP;
- 5 Feng ve Doolittle (Feng ve Doolittle, J. Mol. Evol. 35:351-360, 1987) tarafından bildirilen progresif hizalama yönteminin sadeleştirilmiş halini kullanır. Yöntem, Higgins ve Sharp tarafından tarif edilen yöntemle benzer (Bakınız Higgins ve Sharp, CABIOS 5:151-153 (1989)). Faydalı PILEUP parametreleri 3.00'lık bir varsayılan boşluk ağırlığı, 0.10'luk bir varsayılan boşluk uzunluk ağırlığı ve ağırlıklandırılmış uç boşlukları kapsar.
- 10 Başka bir faydalı algoritma örneği, Altschul vd. tarafından tarif edilen BLAST algoritmasıdır (Bakınız Altschul vd., J. Mol. Biol. 215:403-410, (1990); ve Karlin ve Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787 (1993)). WU-BLAST-2 programı (Bakınız Altschul vd., Meth. Enzymol. 266:460-480 (1996)) özellikle faydalı bir BLAST programıdır. WU-BLAST-2, birçoğu varsayılan değerlere ayarlı olan birtakım tarama
- 15 parametreleri kullanır. Ayarlanabilir parametrelere şu değerler verilir: örtüşme aralığı = 1, örtüşme kesri = 0.125, sözcük eşiği (T) = 11. HSP S ve HSP S2 parametreleri dinamik değerlerdir ve belirli dizinin bileşimine ve ilgili dizinin taratıldığı spesifik veritabanının bileşimine bağlı olarak programın kendisi tarafından belirlenir. Ancak değerler hassasiyeti artıracak şekilde ayarlanabilir.
- 20
- Bir referans dizi ile ilgili bir test dizisi arasındaki dizi özdeşlik yüzdesi ilgili tekniğin uzmanlarınca kolayca belirlenebilir. Polinükleotit veya polipeptit dizileri arasındaki özdeşlik yüzdesi, dizi bilgisinin moleküller arasında dizileri hizalayarak doğrudan karşılaştırılması ve özdeşliğin ilgili teknikte bilinen yöntemlerle saptanması yoluyla
- 25 belirlenebilir. Dizi benzerliğinin belirlenmesi için uygun bir algoritma örneği BLAST algoritmasıdır (Bakınız Altschul vd., J. Mol. Biol., 215:403-410 [1990]). BLAST analizini gerçekleştirmeye yönelik yazılımlar, National Center for Biotechnology Information üzerinden kamuya açılmıştır. Bu algoritma, ilk olarak, yüksek skor veren dizi çiftlerinin (HSP'ler), sorgu dizisinde bulunan W uzunluğundaki kısa sözcüklerin belirlenmesi
- 30 yoluyla tespit edilmesini içerir, bu sözcükler ise, bir veritabanı dizisinde aynı uzunluktaki bir sözcük ile hizalandığı zaman bir pozitif değerli eşik skoru (T) ile eşleşir veya bir dereceye kadar uyum gösterir. Bu ilk komşu sözcük eşleşmeleri, bunları kapsayan daha uzun HSP'leri bulmak için başlangıç noktası olarak işlev görür. Sözcük eşleşmeleri, karşılaştırılan iki sekansın her biri boyunca her iki yönde kümülatif
- 35 hizalama skorunun yükseltilebileceği kadar genişletilir. Sözcük eşleşmelerinin



uzatılması, kümülatif hizalanma skoru elde edilen maksimum değere göre X miktarı kadar düştüğünde; kümülatif skor sıfıra veya altına düştüğünde ya da sekanslardan herhangi birinin ucuna ulaşıldığında durdurulur. W, T ve X ile gösterilen BLAST algoritma parametreleri hizalamanın hassasiyetini ve hızını belirler. BLAST

5 programında varsayılan olarak sözcük uzunluğu (W) = 11, BLOSUM62 skorlama matrisi hizalamaları (B) = 50 (bakınız Henikoff ve Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915 [1992], beklenti değeri (E) = 10, M'5, N'-4 ve her iki ipliğin bir hizalaması kullanılır.

- 10 BLAST algoritması akabinde iki dizi arasındaki benzerliğin istatistiksel analizini yapar (*Bakınız, örneğin Karlin ve Altschul, yukarıda yer almaktadır*). BLAST algoritması ile sağlanan bir benzerlik ölçütü, iki nükleotit veya amino asit sekansı arasındaki bir eşleşmenin şans eseri meydana gelme olasılığını gösteren en düşük toplam olasılığıdır (P(N)). Örneğin bir nükleik asidin, test nükleik asidi ile buluş konusu bir serin proteaz
- 15 nükleik asidi arasındaki karşılaştırmada en düşük toplam olasılığı yaklaşık 0.1'den düşük, daha çok tercih edildiği haliyle yaklaşık 0.01'den düşük ve en çok tercih edildiği haliyle yaklaşık 0.001'den düşük ise, bir serin proteaz nükleik asidine benzer olduğu kabul edilir. Test nükleik asidi bir serin proteaz polipeptidini kodladığında, karşılaştırmının yaklaşık 0.5'ten ve daha çok tercih edildiği haliyle yaklaşık 0.2'den
- 20 düşük bir en küçük toplam olasılığı ile sonuçlanması halinde belirli bir serin proteaz nükleik asidine benzer olduğu kabul edilir.

- İki veya daha fazla nükleik asit veya polipeptit dizisi bağlamında kullanılan "özdeş" veya "özdeşlik" yüzdesi, bir dizi karşılaştırma algoritması kullanılarak veya gözle
- 25 incelenerek belirlendiği üzere, maksimum benzerlik için karşılaştırıldığı veya hizalandığı zaman aynı olan ya da sırasıyla aynı nükleik asit kalıntılarının veya amino asit kalıntılarının belirlenmiş bir yüzdesini sergileyen iki veya daha fazla sekansı ifade eder. Bir hedef amino asit dizisi ile bir referans (yani sorgu) amino asit dizisi arasındaki "dizi özdeşlik yüzdesi" veya "özdeşlik yüzdesi (%)" veya "dizi özdeşlik yüzdesi (%)"
- 30 veya "amino asit dizisi özdeşlik yüzdesi (%)", hedef amino asit dizisinin, diziler optimal düzeyde hizalandığında bir karşılaştırma uzunluğu boyunca sorgu amino asit dizisi ile belirli bir yüzde oranında (yani amino asit bazında) özdeş olduğu anlamına gelir. Dolayısıyla, iki amino asit dizisi bağlamında %80 oranında amino asit dizisi özdeşliği veya %80 oranında özdeşlik, optimal düzeyde hizalanmış iki amino asit dizisinde amino
- 35 asit kalıntılarının %80'inin özdeş olduğu anlamına gelir.

Bir hedef nükleik asit dizisi ile bir referans (yani sorgu) nükleik asit dizisi arasındaki "dizi özdeşlik yüzdesi" veya "özdeşlik yüzdesi (%)" veya "dizi özdeşlik yüzdesi (%)" veya "nükleotit dizisi özdeşlik yüzdesi (%)", hedef nükleik asit dizisinin, diziler optimal düzeyde hizalandığında bir karşılaştırma uzunluğu boyunca sorgu dizisi ile belirli bir yüzde oranında (yani nükleotit bazında) özdeş olduğu anlamına gelir. Dolayısıyla, iki nükleik asit dizisi bağlamında %80 oranında nükleotit dizisi özdeşliği veya %80 oranında özdeşlik, optimal düzeyde hizalanmış iki nükleik asit dizisinde nükleotit kalıntılarının %80'inin özdeş olduğu anlamına gelir.

10

Bazı düzenlemelerde, bir hedef dizi ile bir sorgu dizisi arasındaki "dizi özdeşlik yüzdesi" veya "dizi özdeşlik %'si" veya "özdeşlik %'si", iki dizinin optimal düzeyde hizalanması ve optimal düzeyde hizalanmış iki dizinin karşılaştırma uzunluğu boyunca karşılaştırılması yoluyla hesaplanabilir. Optimal hizalamada her iki dizide de özdeş kalıntıların gözlemlendiği pozisyonların sayısı belirlenir ve böylece eşleşen pozisyonların sayısı elde edilir, akabinde eşleşen pozisyonların sayısı, karşılaştırma uzunluğundaki (aksi belirtilmedikçe, sorgu dizinin uzunluğudur) pozisyonların toplam sayısına bölünür. Elde edilen sayı, hedef dizi ile sorgu dizisi arasındaki dizi özdeşlik yüzdesini vermek üzere 100 ile çarpılır.

20

"Optimal hizalama" veya "optimal düzeyde hizalanmış", iki (veya daha fazla) dizinin en yüksek özdeşlik yüzdesi skorunu verecek şekilde hizalanmasını ifade eder. Örneğin iki protein dizisi arasında optimal hizalama, dizilerin, her bir dizide maksimum sayıda özdeş amino asit kalıntısının hizalanmasını sağlayacak şekilde manüel olarak hizalanması ya da burada tarif edilen veya ilgili teknikte bilinen yazılım programlarının veya prosedürlerin kullanılması suretiyle başarılabilir. İki nükleik asit dizisi arasında optimal hizalama, dizilerin, her bir dizide maksimum sayıda özdeş nükleotit kalıntısının hizalanmasını sağlayacak şekilde manüel olarak hizalanması ya da burada tarif edilen veya ilgili teknikte bilinen yazılım programlarının veya prosedürlerin kullanılması suretiyle başarılabilir.

30

Bazı düzenlemelerde, iki polipeptit dizisi için olası en yüksek benzerlik skorunu elde etmek üzere tanımlı parametreler, örneğin belirli bir amino asit substitüsyon matrisi, boşluk ceza puanı (boşluk açma ceza puanı olarak da anılır) ve boşluk uzatma ceza puanı ile hizalandıklarında bu dizi çifti "optimal düzeyde hizalanmış" sayılır. Polipeptit

35

dizisi hizalama algoritmalarında (örneğin BLASTP) varsayılan skorlama sübstitüsyon matrisi olarak çoğu kez BLOSUM62 skorlama matrisi kullanılır (Bakınız Henikoff ve Henikoff, *yukarıda yer almaktadır*). Boşluk açma ceza puanı, hizalı dizilerden birine tek bir amino asit boşluğunun yerleştirilmesi için gereklidir, boşluk uzatma ceza puanı ise boşluktaki her bir kalıntı pozisyonu için gereklidir. Kullanılan örnek hizalama parametreleri şunlardır: BLOSUM62 skorlama matrisi, boşluk açma ceza puanı = 11 ve boşluk uzatma ceza puanı = 1. Hizalama skoru, her bir dizide hizalamanın başladığı ve bittiği amino asit pozisyonları (örneğin hizalama penceresi) ve isteğe bağlı olarak olası en yüksek benzerlik skorunu elde etmek üzere dizilerden birine veya ikisine bir boşluğun veya çok sayıda boşluğun yerleştirilmesi ile tanımlanır.

İki veya daha fazla dizi arasındaki optimal hizalama, görsel inceleme yoluyla manüel olarak ya da bir bilgisayar yardımıyla, örneğin bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla amino asit dizileri için BLASTP programı ve nükleik asit dizileri için BLASTN programı ile belirlenebilir (bkz. örneğin Altschul vd., *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402 (1997); bkz. ayrıca National Center for Biotechnology Information (NCBI) website).

İlgili bir polipeptidin, bir referans polipeptidin amino asit dizisi ile en az yaklaşık %70, en az yaklaşık %75, en az yaklaşık %80, en az yaklaşık %85, en az yaklaşık %90, en az yaklaşık %91, en az yaklaşık %92, en az yaklaşık %93, en az yaklaşık %94, en az yaklaşık %95, en az yaklaşık %96, en az yaklaşık %97, en az yaklaşık %98, en az yaklaşık %99 veya en az yaklaşık %99.5 oranında dizi özdeşliği sergileyen bir amino asit dizisine sahip olduğu durumlarda ilgili polipeptidin referans polipeptit ile "büyük ölçüde özdeş" olduğu söylenebilir. Bu tip iki polipeptit arasındaki özdeşlik yüzdesi, optimal düzeyde hizalanmış iki polipeptit dizisinin incelenmesi suretiyle manüel olarak ya da standart parametrelerin kullanıldığı yazılım programları veya algoritmaları (örneğin BLAST, ALIGN, CLUSTAL) ile belirlenebilir. İki polipeptidin büyük ölçüde özdeş olduğunun bir göstergesi, birinci polipeptidin immünolojik olarak ikinci polipeptit ile çapraz reaksiyona girmesidir. Tipik olarak, konzervatif amino asit sübstitüsyonları bakımından farklı olan polipeptitler immünolojik olarak çapraz reaksiyona girer. Dolayısıyla bir polipeptit ile ikinci bir polipeptit, örneğin iki peptidin sadece bir konzervatif amino asit sübstitüsyonu veya bir veya daha fazla konzervatif amino asit sübstitüsyonu bakımından farklı olduğu durumlarda büyük ölçüde özdeştir.

İlgili bir nükleik asidin, bir referans nükleik asidin nükleotit dizisi ile en az yaklaşık %70, en az yaklaşık %75, en az yaklaşık %80, en az yaklaşık %85, en az yaklaşık %90, en az yaklaşık %91, en az yaklaşık %92, en az yaklaşık %93, en az yaklaşık %94, en az yaklaşık %95, en az yaklaşık %96, en az yaklaşık %97, en az yaklaşık %98, en az yaklaşık %99 veya en az yaklaşık %99.5 oranında dizi özdeşliği sergileyen bir nükleotit dizisine sahip olduğu durumlarda ilgili nükleik asidin referans nükleik asit ile "büyük ölçüde özdeş" olduğu söylenebilir. Bu tip iki nükleik asit arasındaki özdeşlik yüzdesi, optimal düzeyde hizalanmış iki nükleik asit dizisinin incelenmesi suretiyle manüel olarak ya da standart parametrelerin kullanıldığı yazılım programları veya algoritmaları (örneğin BLAST, ALIGN, CLUSTAL) ile belirlenebilir. İki nükleik asit dizisinin büyük ölçüde özdeş olduğunun bir göstergesi, iki nükleik asit molekülünün kesinlik koşulları altında (örneğin orta ila yüksek kesinlik aralığında) hibritleşmesidir.

Bir nükleik asit veya polinükleotit, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin diğer proteinler, nükleik asitler, hücreler ve benzerleri de dahil diğer bileşenlerden kısmen veya tamamen ayrıldığı durumlarda "izole edilmiş" sayılır. Benzer bir şekilde, bir polipeptit, protein veya peptit, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin diğer proteinler, nükleik asitler, hücreler ve benzerleri de dahil diğer bileşenlerden kısmen veya tamamen ayrıldığında "izole edilmiş" sayılır. Mol esasında, izole edilmiş bir tür bir bileşimde diğer türlerden daha bol miktarda bulunur. Örneğin izole edilmiş bir tür, mevcut tüm makromoleküler türlerin en az yaklaşık %50 yaklaşık %70, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %91, yaklaşık %92, yaklaşık %93, yaklaşık %94, yaklaşık %95, yaklaşık %96, yaklaşık %97, yaklaşık %98, yaklaşık %99 veya yaklaşık %100'ünü (mol esasında) oluşturabilir. Tercih edildiği haliyle, ilgili tür, esas homojenlik düzeyine kadar saflaştırılır (yani bileşimde kirlenici türler konvansiyonel saptama yöntemleriyle saptanamaz). Saflık ve homojenlik, ilgili alanda iyi bilinen birtakım tekniklerle, örneğin bir protein veya nükleik asit numunesinin agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezine tabi tutulması ve akabinde boyama ile görüntülenmesi yoluyla belirlenebilir. Arzu edildiği takdirde, materyalin saflaştırılması için yüksek ayırıştırma kapasiteli bir teknik, örneğin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) veya benzer bir yöntem kullanılabilir.

Nükleik asitler veya polipeptitler için geçerli olan "saflaştırılmış" terimi genel olarak ilgili alanda iyi bilinen analiz teknikleri ile belirlendiği üzere diğer bileşenlerden büyük ölçüde arındırılmış olan bir nükleik asidi veya polipeptidi ifade eder (örneğin bir saflaştırılmış

polipeptit veya polinükleotit, bir elektroforetik jelde, kromatografik ayrıştırma ürününde ve/veya yoğunluk aşamalı santrifüje tabi tutulan bir ortamda ayrı bir bant/katman oluşturur). Örneğin bir elektroforetik jelde esasen tek bir bant veren bir nükleik asit veya polipeptit "saflaştırılmış" sayılır. Bir saflaştırılmış nükleik asit veya polipeptit, en az

5 yaklaşık %50 oranında ve genellikle en az yaklaşık %75, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %91, yaklaşık %92, yaklaşık %93, yaklaşık %94, yaklaşık %95, yaklaşık %96, yaklaşık %97, yaklaşık %98, yaklaşık %99, yaklaşık %99.5, yaklaşık %99.6, yaklaşık %99.7, yaklaşık %99.8 veya daha yüksek bir oranda saftır (örneğin mol esasında ağırlıkça yüzde cinsinden). İlişkili bir anlamda ayrıca buluşa ait bir veya

10 daha fazla polipeptit veya polinükleotid gibi buluşa ait bir veya daha fazla moleküle yönelik bileşimlerin zenginleştirilme yöntemleri açıklanır. Bir bileşim, bir saflaştırma veya zenginleştirme tekniğinin uygulanmasından sonra molekül konsantrasyonunda önemli bir artış olduğunda bir molekül için zenginleştirilir. Buluşun büyük ölçüde saf bir polipeptidi veya polinükleotidi (örneğin buluşun bir varyant proteazını kodlayan büyük

15 ölçüde saf varyant proteaz veya polinükleotit) tipik olarak belirli bir bileşimde tüm makromoleküler türleri ağırlıkça (mol esasında) en az yaklaşık %55, yaklaşık %60, yaklaşık %70, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %91, yaklaşık %92, yaklaşık %93, yaklaşık %94, yaklaşık %95, yaklaşık %96, yaklaşık %97, yaklaşık %98, yaklaşık %99, yaklaşık %99.5 veya daha yüksek oranda içerecektir.

20 İlişkili bir anlamda ayrıca buluşa ait bir veya daha fazla polipeptit (örneğin buluşa ait bir veya daha fazla varyant proteaz) veya buluşa ait bir veya daha fazla nükleik asit (örneğin buluşa ait bir veya daha fazla varyant proteazı kodlayan bir veya daha fazla nükleik asit) gibi buluşa ait bir veya daha fazla moleküle yönelik bileşimlerin

25 zenginleştirilmesi yöntemleri açıklanır. Bir bileşim, bir saflaştırma veya zenginleştirme tekniğinin uygulanmasından sonra molekül konsantrasyonunda önemli bir artış olduğunda bir molekül için zenginleştirilir. Büyük ölçüde saf bir polipeptit veya polinükleotid tipik olarak belirli bir bileşimde ağırlıkça en az yaklaşık %55, yaklaşık %60, yaklaşık %70, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %91, yaklaşık

30 %92, yaklaşık %93, yaklaşık %94, yaklaşık %95, yaklaşık %97, yaklaşık %98, yaklaşık %99, yaklaşık %99.5 veya daha fazla tüm makromoleküler türü içerecektir.

Burada kullanıldığı haliyle, "kombinatoriyal mutagenез", bir referans nükleik asit dizisinin nükleik asit varyantlarının kütüphanelerinin üretildiği yöntemleri ifade eder. Bu

35 kütüphanelerde varyantlar, önceden belirlenmiş bir mutasyonlar kümesinden seçilen bir

veya birkaç mutasyon içerir. Yöntemler ayrıca önceden belirlenmiş mutasyonlar kümesinin bir elemanı olmayan rastgele mutasyonların dahil edilmesine yönelik yollar sağlar. Bu yöntemlerin bazıları, U.S. Patent No. 6,582,914'te belirtilen yöntemleri kapsar. Bu tip bazı kombinatorial mutagenез yöntemleri, piyasadan temin edilebilen

5 kitlerde (örneğin QUIKCHANGE® Çoklu Bölgeye Yönlendirilmiş Mutagenез Kiti (Stratagene), PCR füzyonu/uzatma PCR'si) yapılandırılan yöntemleri içerir ve/veya kapsar.

Burada kullanıldığı haliyle, bir varyant proteaz ile bağlantılı olarak kullanılan

10 "iyileştirilmiş özelliklere sahip" ifadesi, karşılık gelen referans proteaza (örneğin yabancıl tip veya doğal yoldan meydana gelen proteaza) kıyasla iyileştirilmiş veya artırılmış yıkama veya temizleme performansına ve/veya isteğe bağlı olarak yıkama veya temizleme performansının korunması kaydıyla iyileştirilmiş veya artırılmış stabiliteye sahip bir varyant proteazı ifade eder. Bir varyant proteazın iyileştirilmiş özellikleri,

15 iyileştirilmiş yıkama veya temizleme performansını ve/veya iyileştirilmiş stabiliteyi kapsayabilir. Buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere artmış yıkama performansı sergileyen varyant proteazlarını sağlar.

Burada kullanıldığı haliyle, "fonksiyonel analiz" terimi, bir proteinin aktivitesini gösteren

20 bir analizi ifade eder. Bazı düzenlemelerde terim, bir proteinin mutata kapasitesinde işlev görme becerisi için analiz edildiği analiz sistemlerini ifade eder. Örneğin, enzimler söz konusu olduğunda bir fonksiyonel analiz, enzimin bir reaksiyonu katalizleme etkinliğini belirlemeyi içerir.

Burada kullanıldığı haliyle "hedef özellik", değiştirilecek olan başlangıç geninin özelliğini ifade eder. Mevcut buluşun belirli herhangi bir hedef özellik ile sınırlı olmaması amaçlanır. Ancak bazı düzenlemelerde hedef özellik bir gen ürününün stabilitesidir (örneğin denatürasyona, proteolize veya diğer yıkıcı faktörlere karşı direncidir), başka düzenlemelerde ise bir üretim konakçısında üretim düzeyi değiştirilir.

30

Bir nükleik asit bağlamında "özellik" terimi veya bu terimin dilbilgisel eşdeğerleri, burada kullanıldığı haliyle, bir nükleik asidin seçilebilen veya saptanabilen herhangi bir karakteristiğini veya özelliğini ifade eder. Bu özellikler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, bir polipeptide bağlanmayı sağlayan bir özellik, belirli bir nükleik asidi içeren

35 bir hücrenin kazandığı bir özellik, gen transkripsiyonunu sağlayan bir özellik (örneğin

promotör gücü, promotör tanıma, promotör regülasyonu, hızlandırıcı fonksiyonu), RNA işlemlerini gerçekleştiren bir özellik (örneğin RNA splayı, RNA stabilitesi, RNA konformasyonu ve post-transkripsiyonel modifikasyon), translasyonu sağlayan bir özelliği (örneğin mRNA düzeyi, mRNA regülasyonu, mRNA'nın ribozomal proteinlere bağlanması, post-translasyonel modifikasyon) kapsar. Örneğin bir nükleik asitte bir transkripsiyon faktörü, polimeraz, regülatör faktör ve benzerlerine yönelik bir bağlanma bölgesi, arzu edilen karakteristikleri elde etmek veya istenmeyen karakteristikleri belirlemek için değiştirilebilir.

- 10 Bir polipeptit (proteinler dahil) bağlamında "özellik" terimi veya bu terimin dilbilgisel eşdeğerleri, burada kullanıldığı haliyle, bir polipeptidin seçilebilen veya saptanabilen herhangi bir karakteristiğini veya özelliğini ifade eder. Bu özellikler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla oksidatif stabilite, substrat spesifisitesi, katalitik aktivite, enzimatik aktivite, termal stabilite, alkali stabilitesi, pH aktivite profili, proteolitik yıkıma karşı
- 15 direnç,  $K_M$ ,  $k_{cat}$ ,  $k_{cat}/K_M$  oranı, protein katlanması, bir immün yanıtı uyarma, bir liganda bağlanma becerisi, bir reseptöre bağlanma becerisi, salgılanma becerisi, bir hücrenin yüzeyinde sunulma becerisi, oligomerleşme becerisi, sinyal iletme becerisi, hücre proliferasyonunu uyarma becerisi, hücre proliferasyonunu inhibe etme becerisi, apoptozu uyarma becerisi, fosforilasyon veya glikosilasyon ile değişme becerisi
- 20 ve/veya hastalığı tedavi etmek becerisi ve benzerlerini kapsar.

Burada kullanıldığı haliyle "tarama" terimi ilgili alandaki mutata anlamına sahiptir. Örnek bir tarama prosesinde, bir mutant nükleik asit veya bundan kodlanan varyant polipeptit sağlanır ve sırasıyla mutant nükleik asidin veya varyant polipeptidin bir özelliği değerlendirilir veya belirlenir. Mutant nükleik asidin veya varyant polipeptidin belirlenen özelliği, sırasıyla karşılık gelen öncül (ana) nükleik asidin bir özelliği ya da karşılık gelen ana polipeptidin özelliği ile karşılaştırılabilir.

Değiştirilmiş bir özelliğe sahip bir nükleik asidin veya proteinin elde edilmesine yönelik tarama prosedürünün, mutant nükleik asidin üretiminin modifikasyonunu kolaylaştırması amaçlanan başlangıç materyalinin özelliğine bağlı olduğu ilgili tekniğin uzmanlarına aşikar gelecektir. Belirli herhangi bir özelliğe yönelik tarama yöntemleri ilgili teknikte genel olarak tarif edilmektedir. Örneğin bağlanma, pH, spesifisite ve benzerleri mutasyondan önce ve sonra ölçülebilir, burada bir değişim, değişikliğe işaret eder. Taramalar tercihen yüksek verimli bir şekilde gerçekleştirilir ve bunlarla sınırlı

olmamak kaydıyla çipler, faj sunumu ve çoklu substratlar ve/veya belirteçlerin kullanıldığı analizler de dahil olmak üzere çok sayıda numunenin eşzamanlı olarak taranmasını kapsar.

- 5 Burada kullanıldığı haliyle bir tarama prosesi, ilgili varyantların bir varyant popülasyonundan zenginleştirildiği bir veya daha fazla seleksiyon adımını kapsar. Bu tarifnamenin örnekleri, konakçı organizmaya bir büyüme avantajı kazandıran varyantların seleksiyonunu ve ayrıca faj sunumunu ya da herhangi bir diğer sunum yöntemini içerir, burada varyantlar bir varyant popülasyonundan bağlanma veya
- 10 katalitik özelliklerine göre yakalanabilir. Burada açıklandığı üzere, bir varyant kütüphanesi strese (örneğin ısı, denatürasyon ve benzeri) maruz bırakılır ve akabinde hala sağlam olan varyantlar bir taramada belirlenir veya seleksiyon yöntemiyle zenginleştirilir. Terimin uygun herhangi bir seleksiyon yöntemini kapsaması amaçlanır. Aslında mevcut buluşun belirli herhangi bir tarama yöntemi ile sınırlı olmaması
- 15 amaçlanmaktadır.

- Burada birbirlerinin yerine kullanılan "değiştirilmiş nükleik asit dizisi" ve "değiştirilmiş gen" terimleri, doğal yoldan meydana gelen (yani yabanıl tip) nükleik asit dizisinde bir eksilme, ekleme veya kesinti içeren bir nükleik asit dizisini ifade eder. Burada
- 20 açıklandığı üzere, değiştirilmiş nükleik asit dizisinin ifade ürünü, bir budanmış proteindir (örneğin değişikliğin dizide bir eksilme veya kesinti olduğu durumlarda). Burada açıklandığı üzere budanmış protein biyolojik aktivitesini korur. Burada açıklandığı üzere, değiştirilmiş nükleik asit dizisinin ifade ürünü bir uzamış proteindir (örneğin nükleik asit dizisine bir ekleme içeren değişiklikler). Burada açıklandığı üzere, nükleik
- 25 asit dizisine bir nükleotit eklenmesi bir budanmış protein ile sonuçlanır (örneğin ekleme bir durdurma kodonunun oluşmasına yol açtığında). Dolayısıyla bir ekleme, ifade ürünü olarak bir budanmış protein veya bir uzamış protein ile sonuçlanabilir.

- Bir "mutant" nükleik asit dizisi tipik olarak bir konakçı hücrenin yabanıl tip dizisinde en
- 30 az bir kodonda bir değişiklik içeren bir nükleik asit dizisini ifade eder, burada mutant nükleik asit dizisinin ifade ürünü, yabanıl tip proteine kıyasla değiştirilmiş bir amino asit dizisine sahip bir proteindir. İfade ürünü değiştirilmiş bir fonksiyonel kapasiteye (örneğin artmış enzimatik aktiviteye) sahip olabilir.



Burada kullanıldığı haliyle, "substrat spesifisitesinde değişiklik" ifadesi, bir enzimin substrat spesifisitesindeki değişimleri ifade eder. Burada açıklandığı üzere, substrat spesifisitesinde bir değişim, enzim mutasyonlarından veya reaksiyon koşullarının değişmesinden kaynaklandığı üzere belirli bir substrata yönelik  $k_{cat}$  ve/veya  $K_m$  değerlerinde bir değişim olarak tanımlanır. Bir enzimin substrat spesifisitesi, farklı substratlar ile sergilediği katalitik etkinliklerin karşılaştırılması yoluyla saptanır. Bu saptamalar özellikle mutant enzimlerin etkinliği değerlendirilirken kullanılır, çünkü genel olarak ilgili substratlar için daha yüksek  $k_{cat}/K_m$  oranları sergileyen varyant enzimlerin üretilmesi arzu edilir. Ancak mevcut buluşun belirli herhangi bir substrat bileşimi veya substrat spesifisitesi ile sınırlı olmaması amaçlanır.

Burada kullanıldığı haliyle "yüzey özelliği", elektrostatik yük ve ayrıca bir proteinin yüzeyinde gözlemlenen hidrofobiklik ve hidrofilitiklik gibi özellikler ile bağlantılı olarak kullanılır.

15

Burada kullanıldığı üzere "net yük" terimi, bir molekülde bulunan tüm yüklerin toplamı olarak tanımlanır. "Net yük değişimleri", parent protein molekülünde parent molekülünden farklı olan net yüke sahip (yani varyant, parent molekülünki ile aynı olmayan net yüke sahiptir) bir varyantı sağlamak amacıyla yapılır. Örneğin nötral bir amino asidin negatif yüklü amino asit ile veya pozitif yüklü amino asidin nötral amino asit ile süstitüsüyonu, parent moleküle göre -1 olan net yük ile sonuçlanır. Pozitif yüklü bir amino asidin negatif yüklü amino asit ile süstitüsüyonu, parent moleküle göre -2 olan net yük ile sonuçlanır. Nötral amino asidin pozitif yüklü amino asit ile veya negatif yüklü amino asidin nötral amino asit ile süstitüsüyonu, parent moleküle göre +1 olan net yük ile sonuçlanır. Negatif yüklü amino asidin pozitif yüklü amino asit ile süstitüsüyonu, parent moleküle göre +2 olan net yük ile sonuçlanır. Parent proteinin net yükü aynı zamanda, yüklü amino asitlerin delesyonu ve/veya insersiyonu ile değiştirilebilir.

30

"Termal olarak stabil" ve "termostabil" ve "termostabilite" terimleri, buluş konusu proteolitik, hidrolitik, temizleyici veya başka tip prosesler, değiştirilmiş sıcaklıklara maruziyet esnasında geçerli koşullar altında belirli bir süre boyunca belirli sıcaklıklara maruz kaldıktan sonra enzimatik aktivitenin belirli bir miktarını koruyan proteazları ifade eder. "Değiştirilmiş sıcaklıklar", yüksek veya düşük sıcaklıkları kapsar. Bazı düzenlemelerde proteazlar, belirli bir süre boyunca, örneğin en az yaklaşık 60 dakika,

35

yaklaşık 120 dakika, yaklaşık 180 dakika, yaklaşık 240 dakika, yaklaşık 300 dakika vs. boyunca değiştirilmiş sıcaklıklara maruz kaldıktan sonra proteolitik aktivitenin en az yaklaşık %50, yaklaşık %60, yaklaşık %70, yaklaşık %75, yaklaşık %80, yaklaşık %85, yaklaşık %90, yaklaşık %92, yaklaşık %95, yaklaşık %96, yaklaşık %97, yaklaşık %98 veya yaklaşık %99'unu korur.

Bir yükseltgen, şelatlayıcı, termal ve/veya pH stabil proteaz bağlamında "artmış stabilite", diğer proteazlara (örneğin subtilisin proteazlar) ve/veya yabancı tip enzimlere kıyasla proteolitik aktivitenin zaman içerisinde daha yüksek düzeyde korunduğunu ifade eder.

Bir yükseltgen, şelatlayıcı, termal ve/veya pH stabil proteaz bağlamında "azalmış stabilite", diğer proteazlara (örneğin subtilisin proteazlar) ve/veya yabancı tip enzimlere kıyasla proteolitik aktivitenin zaman içerisinde daha düşük düzeyde korunduğunu ifade eder.

"Temizlik aktivitesi", buluş konusu proteolitik, hidrolitik, temizleyici veya başka tip prosesler esnasında geçerli koşullar altında bir varyant proteaz veya referans proteaz ile sağlanan temizlik performansını ifade eder. Bazı düzenlemelerde, bir varyant proteaz veya referans proteazın temizlik performansı, bir eşya veya yüzey üzerinde çeşitli bir veya daha fazla enzime duyarlı lekenin (örneğin yemek, çim, kan, mürekkep, süt, yağ ve/veya yumurta proteininden kaynaklanan bir lekenin) temizlenmesine yönelik çeşitli analizler ile belirlenebilir. Bir varyant veya referans proteazın temizlik performansı, eşya veya yüzey üzerindeki lekenin bir standart yıkama koşuluna (koşullarına) maruz bırakılması ve lekenin çıkma düzeyini çeşitli kromatografik, spektrofotometrik veya diğer nicel metodolojilerle değerlendirilmesi yoluyla belirlenebilir. Örnek temizlik analizleri ve yöntemleri, teknikte bilinir ve bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, WO 99/34011 ve U.S. Patent 6,605,458'de tarif edilenleri ve ayrıca aşağıda verilen Örneklerle dahil edilen temizlik analizlerini ve yöntemlerini kapsar.

Bir varyant proteazın veya referans proteazın "etkili temizlik miktarı", spesifik bir temizlik bileşiminde arzu edilen düzeyde enzimatik aktivite sağlayan proteaz miktarını ifade eder. Bu etkili miktarlar ilgili tekniğin uzmanlarınca kolay bir şekilde belirlenebilir ve kullanılan belirli proteaz, temizlik uygulaması, temizlik bileşiminin spesifik bileşimi ve

sıvı veya katı (örneğin granül, tablet, çubuk) bir bileşimin gerekli olup olmadığı gibi birtakım faktörlere bağlı olarak değişir.

"Ek temizlik materyali" terimi, buluş konusu bir varyant proteaz dışında temizlik bileşimine dahil edilen herhangi bir sıvı, katı veya gaz materyali ifade eder. Burada 5 açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri, bir veya daha fazla ek temizlik materyali içerebilir. Her bir ek temizlik materyali tipik olarak temizlik bileşiminin belirli tipine ve formuna (örneğin sıvı, granül, toz, çubuk, macun, sprey, tablet, jel, köpük veya başka bir bileşim) göre seçilir. Tercih edildiği haliyle, her bir ek temizlik materyali 10 bileşimde kullanılan proteaz enzimi ile uyumludur.

Temizlik aktivitesi bağlamında "artmış performans", standart bir yıkama çevriminden ve/veya çok sayıda yıkama çevriminden sonra mutad değerlendirme yoluyla belirlendiği 15 üzere, yumurta, süt, çim, mürekkep, yağ ve/veya kan lekesi gibi belirli enzime duyarlı lekelerde enzim ile artmış veya daha yüksek bir temizlik aktivitesini ifade eder.

Temizlik aktivitesi bağlamında "azalmış performans", standart bir yıkama çevriminden sonra mutad değerlendirme yoluyla belirlendiği üzere, yumurta, süt, çim veya kan lekesi 20 gibi belirli enzime duyarlı lekelerde enzim ile azalmış veya daha düşük bir temizlik aktivitesini ifade eder.

Buluşun bir varyant proteazının temizlik aktivitesi bağlamında "karşılaştırılabilir performans", bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin OPTIMASE™ proteazı (Genencor), PURAFECT™ proteaz ürünleri (Genencor), SAVINASE™ proteazı 25 (Novozymes), BPN' varyantları (bkz. örneğin U.S. Patent No. Re 34,606), RELEASE™, DURAZYME™, EVERLASE™, KANNASE™ proteazı (Novozymes), MAXACAL™, MAXAPEM™, PROPERASE™ proteazları (Genencor; bkz. ayrıca U.S. Patent No. Re 34,606 ve U.S. Patent No. 5,700,676; 5,955,340; 6,312,936; ve 6,482,628) ve B. *lentus* varyant proteaz ürünleri (örneğin WO 92/21760, WO 95/23221 ve/veya WO 30 97/07770'da tarif edilenler) de dahil olmak üzere bir karşılaştırma proteazının veya referans proteazın (örneğin piyasadan temin edilebilen proteazlar) temizlik aktivitesinin en az yaklaşık %60, en az yaklaşık %70, en az yaklaşık %75, en az yaklaşık %80, en az yaklaşık %85, en az yaklaşık %90'ı, en az yaklaşık %91, en az yaklaşık %92, en az yaklaşık %93, en az yaklaşık %94, en az yaklaşık %95, en az yaklaşık %96, en az 35 yaklaşık %97, en az yaklaşık %98, en az yaklaşık %99, en az yaklaşık %99.5'ini ifade

eder. Temizlik performansı, mevcut buluşun varyant proteazları ile referans subtilisin proteazlarının, standart yıkama çevrimi koşullarından sonra mutlak spektrofotometri veya analiz metodolojileri ile belirlendiği üzere, çim, kan veya süt lekesi gibi enzime duyarlı lekeler ile ilgili çeşitli temizlik analizlerinde karşılaştırılması yoluyla belirlenebilir.

5

[Burada kullanıldığı üzere “tüketici ürünü” terimi, kumaş ve ev bakım ürünü anlamına gelir. Burada kullanıldığı üzere “kumaş ve ev bakım ürünü” veya “kumaş ve ev tipi bakım ürünü” terimi, genel olarak satıldıkları formda kullanılması veya tüketilmesi amaçlanan ve kumaşlar, sert yüzeyler ve diğer her türlü yüzeyin işlenmesine yönelik olan ürünleri ve cansız yüzeylerin bakımına ve temizlenmesine yönelik temizleme sistemlerinin yanı sıra kumaş parlaticı ürünler ve spesifik olarak kumaş bakımı ve korunması için tasarlanmış diğer ürünler ve hava temizleyicileri ve koku dağıtma sistemleri de dahil hava bakım ürünleri, araba bakımı, evcil hayvan bakımı, çiftlik hayvanı bakımı, kişisel bakım, mücevher bakımı, bulaşık yıkama, kumaş parlatma (yumuşatma ve temizleme de dahil), çamaşır deterjanı, çamaşır ve parlaticı ve/veya bakım, ön işleme temizlik bileşenleri, sert yüzey temizleme ve/veya döşeme ve klozet temizleyicileri, cam temizleyicileri ve/veya işlemleri, karo temizleyicileri ve/veya işlemleri, seramik temizleyicileri ve/veya işlemleri ve tüketici veya kurumsal kullanıma yönelik diğer temizleme ürünlerini içerir. Bazı düzenlemelerde kumaş ve ev bakım ürünleri, yaralar ve/veya cilt üzerinde kullanıma uygundur. “Kumaş ve ev bakım ürünü”, tüketici ve kurumsal ürünleri içerir.

Burada kullanıldığı üzere “kumaş dışı ve ev bakım ürünleri” terimi, bir kumaş ve ev bakım ürünü olabilen son ürünü üretmek üzere diğer bileşimlere eklenen bileşimlere refere eder.

Burada kullanıldığı üzere “kurumsal temizlik bileşimi” terimi, bunlarla sınırlı olmamak üzere okullar, hastaneler, fabrikalar, depolar, şirketler, binalar, restoranlar, ofis kompleksleri ve binaları, işleme ve/veya üretim tesisleri, hayvan hastaneleri, fabrika tarlaları, fabrika çiftlikleri ve benzeri de dahil kurumlarda kullanıma uygun ürünlere refere eder.

Burada kullanıldığı üzere “temizlik ve/veya işlem bileşimi” terimi, aksi belirtilmedikçe eşyaların temizlenmesine ve/veya işlenmesine uygun bileşimleri içeren kumaş ve ev bakım ürünlerinin bir alt grubudur. Bu tür ürünler, bunlarla sınırlı olmamak üzere hava

bakımı, örneğin hava temizleyiciler ve koku dağıtma sistemleri, araba bakımı, bulaşık yıkama, kumaş parlatma (yumuşatma ve/veya temizleme de dahil), çamaşır deterjanı, çamaşır ve parlaticı ve/veya bakımı, sert yüzey temizleme ve/veya işleme, örneğin döşeme ve klozet temizleyicileri, granüler veya toz formundaki çok amaçlı veya "ağır iş" 5 yıkama maddeleri, özellikle temizleme deterjanları; sıvı, jel veya macun formundaki çok amaçlı yıkama maddeleri, özellikle ağır iş sıvı türler; sıvı ince kumaş deterjanları; elde bulaşık yıkama maddeleri veya hafif iş bulaşık yıkama maddeleri, özellikle yüksek oranda köpüren türdekiler; örneğin evde ve kurumlarda kullanıma yönelik makinede bulaşık yıkama maddeleri, çeşitli tablet, granüler, sıvı ve parlaticı türleri; araba ve halı 10 şampuanları, banyo temizleyicileri, örneğin klozet temizleyicileri ve temizlik yardımcı maddeleri örneğin ağartıcı katkı maddeleri ve "leke çıkarıcı çubuk" veya ön işlem türleri, substrat yüklü ürünler örneğin kurutucu eklenmiş levhalar da dahil kumaşların, sert yüzeylerin ve kumaş ve ev bakımı alanında diğer yüzeylerin işlenmesine yönelik ürünleri içerir.

15

Burada kullanıldığı haliyle, buluşun "temizlik bileşimi" veya "temizlik formülasyonu", bir bileşiği (örneğin istenmeyen bir bileşiği) bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin bir kumaş, kumaş eşya, sofrta takımı eşyası, yemek takımı eşyası, züccaciye eşyası, kontakt lens, başka bir katı substrat, saç (şampuan) (insan veya hayvan saçı dahil), cilt 20 (sabun ve/veya krem), diş (gargaralar, diş macunları), bir eşyanın veya nesnenin yüzeyi (örneğin sert yüzeyler, örneğin bir masa, masa üstü, duvar, mobilya eşyası, zemin, tavan, sofrta takımı harici bir eşya, yemek takımı harici bir eşya ve benzerlerinin sert yüzeyleri), filtreler, membranlar (örneğin bunlarla sınırlı olmamak üzere ultrafiltrasyon membranları da dahil filtrasyon membranları) ve benzerleri de dahil 25 olmak üzere temizlenecek bir nesneden, eşyadan veya yüzeyden çıkarmak veya yok etmek için faydalı olan buluşun herhangi bir bileşimini ifade eder. Terim, bileşimin proteaz ve bileşimde kullanılan diğer enzimler ile uyumlu olması kaydıyla, arzu edilen belirli temizlik bileşimi türü ve ürün formu (örneğin sıvı, jel, granül, spreya veya diğer bir bileşim) için seçilen herhangi bir materyali ve/veya ilave bileşiği kapsar. Temizlik 30 bileşimi materyallerinin spesifik seçimi, temizlenecek yüzey, nesne, eşya veya kumaş ve kullanım esnasında temizlik koşulları için arzu edilen bileşim formu dikkate alınarak kolayca yapılabilir.

Temizlik bileşimleri ve temizlik formülasyonları, herhangi bir nesneyi, eşyayı ve/veya 35 yüzeyi temizlemek, ağartmak, dezenfekte etmek ve/veya sterilize etmek için uygun

herhangi bir bileşimi kapsar. Bu tip bileşimler ve formülasyonlar, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin sıvı ve/veya katı bileşimleri, mesela temizlik veya deterjan bileşimleri (örneğin sıvı, tablet, jel, çubuk, granül ve/veya katı çamaşır yıkama veya deterjan bileşimleri ve ince kumaş deterjan bileşimleri; örneğin cam, ahşap, seramik ve metal tezgahlara ve pencerelere yönelik olan sert yüzey temizlik bileşimleri ve formülasyonları; halı temizleyiciler; fırın temizleyiciler; kumaş temizleyiciler; kumaş yumuşatıcılar; ve tekstil, performans artırıcı çamaşır yıkama veya deterjan bileşimleri, ek çamaşır yıkama bileşimleri ve ön leke çıkarıcı çamaşır yıkama bileşimleri; bulaşık yıkama bileşimleri, elde veya manüel bulaşık yıkama bileşimleri (örneğin "elde" veya "manüel" bulaşık yıkama deterjanları) ve otomatik bulaşık yıkama bileşimlerini (örneğin "otomatik bulaşık yıkama deterjanları") kapsar.

Temizlik bileşimleri veya temizlik formülasyonları, burada kullanıldığı haliyle, aksi belirtilmedikçe, granüler veya toz formunda çok amaçlı veya ağır hizmet tipi yıkama maddeleri, özellikle temizlik deterjanları; sıvı, granüler, jel, katı, tablet veya macun formunda çok amaçlı yıkama maddeleri, özellikle ağır hizmet tipi sıvı (HDL) deterjan veya ağır hizmet tipi toz deterjan (HDD) türleri; sıvı ince kumaş deterjanları; bol köpürenler de dahil olmak üzere elde veya manüel bulaşık yıkama maddeleri; elde veya manüel bulaşık yıkama, otomatik bulaşık yıkama ya da sofrta takımı veya yemek takımı yıkama maddeleri, mesela evsel ve kurumsal kullanıma yönelik çeşitli tablet, toz, katı, granüler, sıvı, jel ve parlaticı türleri; sıvı temizlik ve dezenfeksiyon maddeleri, örneğin antibakteriyel el yıkama türleri, kalıp temizlik ürünleri, gargaralar, takma diş temizleyiciler, araba şampuanları, halı şampuanları, banyo temizleyiciler; insanlar ve diğer hayvanlar için saç şampuanları ve/veya saç durulama ürünleri; duş jelleri ve köpük banyoları ve metal temizleyiciler ve ayrıca yardımcı temizlik maddeleri, örneğin ağartıcı katkı maddeleri ve "leke giderici roll-on" veya ön işlem tiplerini kapsar. Burada açıklandığı üzere granüler bileşimler "kompakt" formdadır; sıvı bileşimler "konsantre" formdadır.

Burada kullanıldığı haliyle, "kumaş temizleme bileşimleri", ek çamaşır yıkama bileşimleri ve lekeli kumaşların (örneğin kıyafetler, çamaşırlar ve diğer tekstil materyalleri) suda bekletilmesi ve/veya ön yıkamaya tabi tutulmasında kullanılmaya uygun bileşimler de dahil olmak üzere elde ve makinede çamaşır yıkama deterjanı bileşimlerini kapsar.

Burada kullanıldığı haliyle, "kumaş harici temizleme bileşimleri", bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin elde veya manüel veya otomatik bulaşık yıkama deterjanı bileşimleri, oral temizlik bileşimleri, takma diş temizleme bileşimleri ve kişisel temizlik bileşimleri de dahil olmak üzere tekstil dışı (yani kumaş dışı) yüzey temizleme bileşimlerini kapsar.

Burada kullanıldığı üzere "kumaş ve/veya sert yüzey temizleme ve/veya işleme bileşimi" terimi, aksi belirtilmedikçe granüler veya toz formundaki çok amaçlı "ağır iş" yıkama maddeleri, özellikle temizleme deterjanları; sıvı, jel veya macun formundaki çok amaçlı yıkama maddeleri, özellikle ağır işe yönelik sıvı türleri; sıvı ince kumaş deterjanları; elde bulaşık yıkama maddeleri veya hafif iş bulaşık yıkama maddeleri, özellikle yüksek oranda köpüren türdekiler; makidene bulaşık yıkama maddeleri, örneğin evde ve kurumda kullanıma yönelik çeşitli tablet, granüler, sıvı ve parlaticı türleri; sıvı temizleme ve dezenfekte etme maddeleri, araba veya halı şampuanları, banyo temizleyicileri, örneğin klozet temizleyicileri; kumaş parlatma ürünleri örneğin sıvı, katı ve/veya kurutucu levha formunda olabilen yumuşatıcı ve/veya temizleyici ve temizlik yardımcı maddeleri örneğin ağartıcı katkı maddeleri ve "leke çıkarıcı çubuk" veya ön işlem türleri, substrat yüklü ürünler örneğin kurutucu eklenmiş levhaları içeren temizlik ve işleme bileşimlerinin bir alt grubudur. Kullanılabilen bu tür ürünlerin tamamı, bu ürünler bazı açılarda aköz olmadığı sürece standart, konsantre veya yüksek oranda konsantre formda bulunabilir.

Burada kullanıldığı haliyle, "deterjan bileşimi" veya "deterjan formülasyonu" terimi, belirli kumaş ve/veya kumaş dışı nesneler veya eşyalar da dahil olmak üzere lekeli veya kirli nesnelerin temizlenmesine yönelik bir yıkama ortamında kullanılması amaçlanan bir bileşim ile bağlantılı olarak kullanılır. Mevcut buluşun bu bileşimleri, belirli herhangi bir deterjan bileşimi veya formülasyonu ile sınırlı değildir. Aslında, bazı düzenlemelerde buluşun deterjanları, buluşun en az bir varyant proteazının yanı sıra bir veya daha fazla yüzey aktif, transferaz, hidrolitik enzim, oksido redüktaz, yapıcı madde (örneğin bir yapıcı tuz), ağartıcı madde, ağartma aktivatörü, çivitleme maddesi, floresan boya, topaklanma inhibitörü, maskeleyici, enzim aktivatörü, antioksidan ve/veya çözündürücü içerir. Bazı durumlarda bir yapıcı tuz, bir silikat tuzu ile bir fosfat tuzunun bir karışımıdır, burada tercihen silikat (örneğin sodyum metasilikat) miktarı fosfat (örneğin sodyum tripolifosfat) miktarından yüksektir. Buluşun bazı bileşimleri,

örneğin bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla temizlik bileşimleri veya deterjan bileşimleri, herhangi bir fosfat (örneğin fosfat tuzu veya fosfat yapıcı madde) içermez.

5 Burada kullanıldığı haliyle "ağartma" terimi, bir materyalin (örneğin kumaş, çamaşır, kağıt hamuru vs.) veya yüzeyin, materyalin beyazlamasını ve/veya temizlenmesini sağlamak üzere yeterli bir süre boyunca ve/veya uygun pH ve/veya sıcaklık koşulları altında muamele edilmesini ifade eder. Ağartma için uygun kimyasalların örnekleri bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin  $\text{ClO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , perasitler,  $\text{NO}_2$  ve benzerlerini kapsar.

10

Burada kullanıldığı haliyle, bir proteazın (örneğin buluşun bir varyant proteazının) "yıkama performansı", bileşime bir varyant proteaz ilavesi içermeyen bir deterjana ile karşılaştırıldığında deterjana ilave temizlik performansı sağlayan varyant proteazın yıkamaya katkısını ifade eder. Yıkama performansı ilgili yıkama koşulları altında 15 karşılaştırılır. Bazı test sistemlerinde, deterjan bileşimi, köpük konsantrasyonu, su sertliği, yıkama mekanikleri, süre, pH ve/veya sıcaklık gibi ilgili diğer faktörler, belirli bir pazar diliminde ev uygulamalarına (örneğin elde veya manüel bulaşık yıkama, otomatik bulaşık yıkama, sofrta takımı temizleme, yemek takımı temizleme, kumaş temizleme vs.) yönelik tipik koşulun (koşulların) taklit edilmesini sağlayacak şekilde kontrol 20 edilebilir.

"İlgili yıkama koşulları" terimi burada esasen evlerde elde bulaşık yıkama, otomatik bulaşık yıkama işlemlerinde veya çamaşır deterjanı pazar diliminde kullanılan özellikle yıkama sıcaklığı, süresi, yıkama mekanikleri, sud konsantrasyonu, deterjan tipi ve su 25 sertliği gibi koşulları ifade etmek için kullanılır.

"İyileştirilmiş yıkama performansı" terimi, karşılık gelen yabanıl tip veya başlangıç ana proteaza kıyasla ilgili yıkama koşulları altında leke gideriminde daha iyi bir nihai sonucun elde edildiğini veya aynı nihai sonucu elde etmek için ağırlık esasında daha 30 az miktarda varyant proteaza ihtiyaç duyulduğunu ifade etmek için kullanılır.

Burada kullanıldığı haliyle, "dezenfekte etme" terimi, kirleticilerin yüzeylerden uzaklaştırılmasını ve ayrıca ürünlerin yüzeylerindeki mikropların inhibe edilmesini veya öldürülmesini ifade eder. Mevcut buluşun belirli herhangi bir yüzey, eşya veya 35 giderilecek kirleticiler veya mikroplar ile sınırlı olmaması amaçlanır.



Burada temizlik bileşimlerinin "kompakt" formunu en iyi yoğunluk ve bileşim açısından inorganik dolgu tuzunun miktarı yansıtır. İnorganik dolgu tuzları, toz formundaki deterjan bileşimlerinin konvansiyonel terkip maddeleridir. Konvansiyonel deterjan bileşimlerinde dolgu tuzları anlamlı miktarlarda ve tipik olarak toplam bileşimin ağırlığı  
5 esasında yaklaşık %17 ila yaklaşık %35 oranında bulunur. Öte yandan, kompakt bileşimlerde dolgu tuzu toplam bileşimin yaklaşık %15'ini aşmayan miktarlarda bulunur. Bazı düzenlemelerde dolgu tuzu, bileşimin ağırlığı esasında yaklaşık %10'u veya daha çok tercih edildiği haliyle yaklaşık %5'i aşmayan miktarlarda bulunur. Burada  
10 açıklandığı üzere inorganik dolgu tuzları, sülfatların ve klorürlerin alkali ve toprak alkali metal tuzlarından seçilir.

Belirli bir amino asit dizisinde bir amino asit kalıntısının pozisyonu burada tipik olarak using the numbering of the SEQ ID NO:1'de gösterilen *B. amyloliquefaciens* subtilisin  
15 BPN' amino asit dizisinde karşılık gelen amino asit kalıntısının pozisyonunun numarasına göre numaralandırılır. Dolayısıyla, SEQ ID NO:1 ile gösterilen *B. amyloliquefaciens* subtilisin BPN' amino asit dizisi, bir referans dizi olarak işlev görür. Belirli bir amino asit dizisi, örneğin burada tarif edilen bir varyant proteaz amino asit dizisi burada tarif edildiği üzere bir hizalama algoritması kullanılarak BPN' dizisi (SEQ  
20 ID NO:1) ile hizalanabilir ve verilen amino asit dizisinde BPN' dizisindeki bir amino asit kalıntısı ile hizalanan (tercihen optimal düzeyde hizalanan) bir amino asit kalıntısı, subtilisin BPN' dizisinde karşılık gelen amino asit kalıntısı referans alınarak uygun bir şekilde numaralandırılabilir. Alternatif olarak, subtilisin varyant proteaz dizilerinin amino asit kalıntı pozisyonlarının, GG36 amino asit dizisindeki (SEQ ID NO:2) amino asit  
25 kalıntı pozisyonlarının asıl numaralarına göre ve hizalamadan sonra BPN' dizisinde karşılık gelen amino asit pozisyonları referans alınmadan numaralandırılması halinde, subtilisin varyant proteazı, SEQ ID NO:2'de gösterilen GG36 proteazın, bir varyant proteazı olarak tanımlanabilir.

30 Genel olarak, burada kullanılan nomenklatür ve aşağıda tarif edilen hücre kültürü, moleküler genetik, moleküler biyoloji, nükleik asit kimyası ve protein kimyası alanındaki laboratuvar prosedürlerinin birçoğu ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilinir ve yaygın olarak kullanılır. Rekombinant nükleik asit yöntemleri, nükleik asit sentezi, hücre kültürü yöntemleri ve transgen yerleştirme yöntemlerinin (örneğin, transfeksiyon,  
35 elektroporasyon) üretimine ve manipülasyonuna yönelik yöntemler teknikte uzman

kişilerce bilinir ve çeşitli standart metinlerde açıklanır. Oligonükleotit sentezi ve saflaştırma adımları tipik olarak belirtilen şartlara göre gerçekleştirilir. Teknikler ve prosedürler genel olarak ilgili teknikte iyi bilinen konvansiyonel yöntemlere ve bu dokümanda verilen çeşitli genel referanslara göre uygulanır. Bu referanslarda yer alan prosedürlerin ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilindiği kabul edilmektedir ve bunlar okuyucuya faydalı olması amacıyla sunulmaktadır.

### **Buluşa ait Polipeptitler**

10 Mevcut buluş, birlikte "buluşa ait polipeptitler" olarak refere edilebilen yeni polipeptitleri sağlar, bunun koşulu söz konusu polipeptitlerin istemlerde tanımlanan şekilde subtilisin varyantları olmasıdır. Buluşa ait polipeptitler izole, rekombinant, büyük ölçüde saf veya doğal olarak meydana gelmeyen varyant bir proteaz polipeptitleri içerir, bunlar enzimatik aktiviteye (örneğin proteolitik aktiviteye) sahip subtilisin varyant polipeptitlerdir ve istem 1'de tanımlanan şekildedir. SEQ ID NO:2'ye ait diziye sahip GG36 varyantları olan buluş polipeptitleri, SEQ ID NO:2 dizisine sahip parent GG36 proteaz ile karşılaştırıldığında gelişmiş temizleme performansına sahiptir, bunun koşulu söz konusu varyantların istem 1'de tanımlanan şekildedir. Bazı düzenlemelerde buluşa ait polipeptitler, temizleme uygulamalarında faydalıdır ve temizlenmesi gereken bir madde veya bir yüzeyin (örneğin bir madde yüzeyi) temizlenmesi yöntemlerinde faydalı olan temizleme bileşimlerine eklenebilir.

Burada bir "varyant subtilisin" açıklanır. Burada bir "*Bacillus sp.* varyant proteaz" açıklanır. Burada bir "*Bacillus sp.* varyant subtilisin" açıklanır. Burada bir izole subtilisin varyantı açıklanır. Burada *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazın izole subtilisin varyantı açıklanır, burada söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteaz, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içerir.

Burada proteolitik aktiviteye sahip izole, rekombinant, büyük ölçüde saf veya doğal olarak meydana gelmeyen varyant bir proteaz açıklanır, bu polipeptit, burada sağlanan varyant proteazları kodlayan amino asit dizileri ile yaklaşık en az %80, yaklaşık en az %85, yaklaşık en az %86, yaklaşık en az %87, yaklaşık en az %88, yaklaşık en az %89, yaklaşık en az %90, yaklaşık en az %91, yaklaşık en az %92, yaklaşık en az %93, yaklaşık en az %94, yaklaşık en az %95, yaklaşık en az %96, yaklaşık en az

%97, yaklaşık en az %98, yaklaşık en az %99, yaklaşık en az %99.5 veya %100 dizi özdeşliğine sahip bir polipeptit dizisini içerir.

- Yukarıda belirtildiği üzere, buluşun varyant proteaz polipeptitleri enzimatik aktivitelere (örneğin proteolitik aktivitelere) sahiptir ve dolayısıyla temizlik uygulamalarında, örneğin bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla sofrta takımı eşyalarının, yemek takımı eşyalarının, kumaşların ve sert yüzeylere sahip eşyaların (örneğin bir masa, masa üstü, duvar, mobilya eşyası, zemin, tavan ve benzerlerinin sert yüzeyi) temizlenmesine yönelik yöntemlerde faydalıdır. Buluşun bir veya daha fazla varyant proteaz polipeptidini içeren örnek temizlik bileşimleri ilerleye kısımlarda açıklanmaktadır. Buluşun bir varyant proteaz polipeptidinin enzimatik aktivitesi (örneğin proteaz aktivitesi) ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilinen prosedürlere göre kolayca belirlenebilir. İlerleyen kısımlarda verilen Örnekler, enzimatik aktivite, temizlik performansı ve/veya yıkama performansının değerlendirilmesine yönelik yöntemleri açıklar. Buluşun varyant proteazlarının lekelerin (örneğin proteinli bir leke) çıkarılmasında, sert yüzeylerin temizlenmesinde veya çamaşır, sofrta takımı veya yemek takımı eşyasını (eşyaları) temizlemedeki performansı, ilgili teknikte iyi bilinen prosedürlere ve/veya Örnekler kısmında tarif edilen prosedürlere göre kolayca belirlenebilir.
- Buluşun bir polipeptidi, örneğin bu tip değişimlerin polipeptidin enzimatik aktivitesini büyük ölçüde etkilemediği durumlarda örneğin konzervatif veya konzervatif olmayan bir veya daha fazla amino asit eklemesi, eksilmesi ve/veya sübstitüsyonu gibi çeşitli değişikliklere maruz bırakılabilir, bunun koşulu söz konusu polipeptidin istem 1'de tanımlanan şekilde bir subtilisin varyantı olmasıdır. Benzer bir şekilde, buluşun bir nükleik asidi de örneğin bir veya daha fazla kodonda bir veya daha fazla nükleik asidin bir veya daha fazla sübstitüsyonu gibi çeşitli değişikliklere maruz bırakılabilir, böylece belirli bir kodonun aynı veya farklı bir amino asidi kodlaması ve sonuç olarak bir sessiz varyasyon (örneğin bir nükleotit dizisindeki mutasyon örneğin kodlanan amino asidin nükleik asit mutasyonundan dolayı değişikliğe uğramadığı durumlarda amino asit dizisinde bir sessiz mutasyon ile sonuçlanabilir) veya sessiz olmayan varyasyon, dizide bir veya daha fazla nükleik asidin (veya kodonun) bir veya daha çok kez eksilmesi, diziye bir veya daha fazla nükleik asidin (veya kodonun) bir veya daha çok kez eklenmesi veya katılımı ve/veya dizide bir veya daha fazla nükleik asidin (veya kodonun) bir veya daha çok kez budanması sağlanabilir, bunun koşulu söz konusu nükleik asidin istemlerde tanımlandığı üzere bir subtilisin varyantını kodlamasıdır.

Nükleik asit dizisindeki bu tip değişikliklerin birçoğu orijinal nükleik asit dizisi tarafından kodlanan varyant proteaza kıyasla elde edilen kodlanmış varyant proteazın enzimatik aktivitesini esasen değiştirmeyebilir. Buluşun bir nükleik asidi ayrıca bir ifade sisteminde (örneğin bakteriyel ifade sisteminde) optimum ifadeyi sağlayan bir veya  
5 daha fazla kodonu dahil etmek üzere değiştirilebilir ve aynı zamanda, arzu edildiği takdirde, bahsedilen bir veya daha fazla kodon hala aynı amino asidi (asitleri) kodlayabilir.

Burada, burada tarif edilen amino asit sübstitüsyonlarının yanı sıra bir veya daha  
10 fazla ilave amino asit sübstitüsyona, örneğin konzervatif ve konzervatif olmayan sübstitüsyonlara sahip dizileri içeren, arzu edilen enzimatik aktiviteyi (örneğin proteaz aktivitesi veya temizlik performansı aktivitesi) sergileyen varyant proteaz polipeptitlerini içeren polipeptitlerin bir cinsi açıklanır, burada polipeptit, arzu edilen enzimatik aktiviteyi (örneğin varyant proteazın temizlik aktivitesinde veya performansında gözlemlendiği  
15 üzere proteaz aktivitesi veya subtilisin aktivitesi) sergiler, korur veya yaklaşık olarak idame ettirir. Buluşa göre amino asit sübstitüsyonları bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla bir veya daha fazla konzervatif olmayan sübstitüsyonu ve/veya bir veya daha fazla konzervatif amino asit sübstitüsyonu kapsayabilir. Bir konzervatif amino asit kalıntısı sübstitüsyonu tipik olarak bir fonksiyonel amino asit kalıntı sınıfına ait bir kalıntının,  
20 aynı fonksiyonel sınıfın bir üyesi ile ikame edilmesini içerir (fonksiyonel homoloji yüzdesi hesaplanırken özdeş amino asit kalıntıları fonksiyonel olarak benzer veya korunmuş olarak düşünülür). Bir konzervatif amino asit sübstitüsyonu tipik olarak bir amino asit dizisindeki bir amino asidin fonksiyonel olarak benzer bir amino asit ile sübstitüsyonunu kapsar. Örneğin alanin, glisin, serin ve treonin fonksiyonel olarak  
25 benzerdir ve dolayısıyla birbirleri için konzervatif amino asit sübstitüsyonu işlevine sahip olabilir. Aspartik asit ve glutamik asit birbirleri için konzervatif sübstitüsyon işlevine sahip olabilir. Asparagin ve glutamin birbirleri için konzervatif sübstitüsyon işlevine sahip olabilir. Arginin, lizin ve histidin birbirleri için konzervatif sübstitüsyon işlevine sahip olabilir. İzolösin, lösin, metionin ve valin birbirleri için konzervatif  
30 sübstitüsyon işlevine sahip olabilir. Fenilalanin, tirozin ve triptofan birbirleri için konzervatif sübstitüsyon işlevine sahip olabilir.

Diğer konzervatif amino asit sübstitüsyon grupları da öngörülebilir. Örneğin amino asitler benzer fonksiyona veya kimyasal yapıya veya bileşime (örneğin asidik, bazik,  
35 alifatik, aromatik, kükürt içeren) göre gruplanabilir. Örneğin bir Alifatik gruplama şunları

içerebilir: Glisin (G), Alanin (A), Valin (V), Lösin (L), İzolösin (I). Birbirleri için konzervatif süstitüsyon olarak düşünölen amino asitleri içeren diğör gruplar şunları kapsar: Aromatik: Fenilalanin (F), Tirozin (Y), Triptofan (W); Kükürtlü: Metionin (M), Sistein (C); Bazik: Arginin (R), Lizin (K), Histidin (H); Asidik: Aspartik asit (D), Glutamik asit (E);

5 Apolar yüksüz kalıntılar, Sistein (C), Metionin (M) ve Prolin (P); Hidrofilik Yüksüz Kalıntılar: Serin (S), Treonin (T), Asparagin (N) ve Glutamin (Q). Amino asitlerin ek gruplamaları teknikte uzman kişilerce iyi bilinir ve çeşitli standart ders kitaplarında açıklanır. Burada yukarıdaki süstitüsyon grupları ile birlikte bir polipeptit dizisinin listelenmesi, konzervatif olarak süstitüe edilmiş tüm polipeptit dizilerinin açık bir

10 listesini sağlar.

Daha konzervatif süstitüsyonlar, yukarıda açıklanan amino asit kalıntısı sınıflarında bulunur, bunlar aynı zamanda veya alternatif olarak uygun olabilir. Daha konzervatif olan süstitüsyonlara yönelik konservasyon grupları: valin-lösin-izolösin, fenilalanin-tirozin, lizin-arjinin, alanin-valin ve asparagin-glutamini içerir. Dolayısıyla örneğın bazı

15 düzenlemelerde buluş, proteolitik aktiviteye sahip izole veya rekombinant varyant proteaz polipeptidini (örneğin varyant subtilisin) sağlar, söz konusu varyant proteaz polipeptidi, SEQ ID NO:2'deki amino asit dizisi ile yaklaşık en az %90, yaklaşık %95, yaklaşık %96, yaklaşık %97, yaklaşık %98, yaklaşık %99 veya yaklaşık %99.5 dizi

20 özdeşliğı içerir. Bir amino asidin buluşun varyant proteazındaki bir başka amino asit ile konzervatif süstitüsyonunun, varyant proteazın enzimatik aktivitesini veya temizlik performansı aktivitesini önemli ölçüde değıştirmesi beklenmez. Elde edilen proteazın enzimatik aktivitesi veya temizlik performansı aktivitesi, standart analizler ve burada açıklanan analizler kullanılarak kolay bir şekilde belirlenebilir.

25

Buluşa ait bir polipeptit dizisinin (örneğin buluşun varyant proteazının) konzervatif olarak süstitüe edilmiş varyasyonları, polipeptit dizisindeki amino asitlerin düşük yüzdeli bir kısmının, bazı durumlarda polipeptit dizisindeki amino asitlerin yaklaşık %25, yaklaşık %20, yaklaşık %15, yaklaşık %14, yaklaşık %13, yaklaşık %12, yaklaşık

30 %11, yaklaşık %10, yaklaşık %9, yaklaşık %8, yaklaşık %7 veya yaklaşık %6'sından düşük bir kısmının veya polipeptit dizisindeki amino asitlerin yaklaşık %5, yaklaşık %4, yaklaşık %3, yaklaşık %2 veya yaklaşık %1'inden düşük bir kısmının, aynı konzervatif süstitüsyon grubuna ait konzervatif olarak seçilmiş bir amino asit ile süstitüsyonlarını içerir.

35

Burada sağlanan Örneklerde ve daha detaylı olarak burada başka yerde açıklandığı üzere tarifnamenin polipeptitleri, bilinen subtilisinler de dahil bilinen proteazlar ile karşılaştırılabilen temizlik kapasitelerine sahiptir. Örnek niteliğindeki bilinen subtilisin proteazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere örneğin *B. lentus* subtilisin GG36, *B. amyloliquefaciens* subtilisin BPN', *B. amyloliquefaciens* subtilisin BPN'-Y217L, and *B. clausii* PB92'yi içerir. Olgun *B. lentus* subtilisin GG36 proteininin amino asit dizisi aşağıdaki gibidir:

```
AQSVTPWGSRVQAPAAHNRLTGSGVKVAVLDTGISTHPDENIRGGASIVPGEPTQDGNHGHT
HVAGTIAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGASGSGSVSSIAQGLEWAGNNGMHVANLSLGSPS
PSATLEQAVNSATSRGVTVVAASGNSGAGSISYPARYANAMAVGATDQNNRASI SQYGAGLD
IVAPGVNVQSTYPGSTYASINGTSMATPHVAGAAALVKQKNPSWSNVQIRNHI
KNTATSLGSTNLYGSGLVNAEAATR (SEQ ID NO:2)
```

10

Olgun *B. amyloliquefaciens* subtilisin BPN' proteininin amino asit dizisi aşağıdaki gibidir:

```
AQSVTPYGVSTQIKAPALHSQGYTGSNVAVVIDSGIDSSHPIDKVAGGASMVPSEINPEQDNNSH
GTHVAGTVAALNNSIGVLGVAPSAELYAVKVLGADGSGQYSWIINGIEWAIAANNMDVINMSLG
GPSGSAALKAADVAKAVASGVVVVAAAGNLTSGSSSTVGYPGKYPSVIYVGAVDSSNQRALES
SVGPETDVMAPGVSIQSTIPGNKYGAYNGTSMASPHVAGAAALHSHKHPNWTNTQVRSSI
ENTTTKLQDSFYFGKGLINVAQAAQ (SEQ ID NO:1)
```

15

Mevcut buluş, istem 1'e göre bir izole subtilisin varyantı sağlar.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantı sağlar, burada subtilisin varyantı *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazın bir proteaz varyantıdır, burada söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içerir.

20

Mevcut buluş ayrıca istem 1'e göre *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının izole subtilisin varyantını sağlar burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %90 amino asit özdeşliğine sahiptir.

25

Mevcut buluş ayrıca istem 1'e göre *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının izole subtilisin varyantını sağlar burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %95 amino asit özdeşliğine sahiptir.

5

Mevcut buluş ayrıca istem 1'e göre *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının izole subtilisin varyantını sağlar burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %98 amino asit özdeşliğine sahiptir.

10

Mevcut buluş ayrıca istem 1'e göre *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının izole subtilisin varyantını sağlar burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %99 amino asit özdeşliğine sahiptir.

15

Mevcut buluşa ayrıca istem 1'e göre izole subtilisin varyantlarının herhangi birini sağlar, burada varyantın toplam net yükü, *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının toplam net yüküne göre 0, +1, +2, +3, +4, +5, -1, -2, -3, -4, veya -5'tir.

- 20 Bazı düzenlemelerde yukarıda listelenen izole subtilisin varyantlarının herhangi biri, düşük iyonik güce veya düşük deterjan konsantrasyonuna sahip bir yıkama çözeltisi yapmak üzere suya ekleme için uygun bir deterjan bileşimine eklenebilir. Dolayısıyla buluşun tercih edilen bir açısında bu varyantlar, iletkenliğin yaklaşık 0.1 mS/cm ile yaklaşık 3 mS/cm, yaklaşık 0.3 mS/cm ile yaklaşık 2.5 mS/cm veya hatta yaklaşık 0.5
- 25 mS/cm ile yaklaşık 2 mS/cm olduğu bir yıkama çözeltisi oluşturmak üzere tipik olarak bir yıkama makinesinde, elle yıkama veya makinede yıkama prosesi için suya eklenen bir deterjan bileşimi parçasını oluşturacaktır. Düşük iyonik güçte veya düşük deterjan konsantrasyonunda kullanıma yönelik tercih edilen varyantlar, liste 9, 14, 15 veya 16'nın herhangi birinde, tercihen liste 14 veya 15'te, en çok tercih edildiği üzere
- 30 yukarıdaki liste 15'teki varyantlardan seçilir.

- Teoriye bağlı kalınmamak üzere istenen net yükü elde etmek üzere yapılan bu mutasyonların, düşük iyonik güç koşulları veya düşük deterjan konsantrasyonu içeren yıkama çözeltileri için optimal molekül yükünün sağlanması ile toplam proteaz
- 35 performansında artış sağladığına inanılır - sadece bunlar arasından tercih edilen bazı

mutasyonların dikkatli kombinasyonu aracılığıyla gerçekleşir, böylece tercih edilen proteazlar elde edilebilir.

Bazı düzenlemelerde yukarıda listelenen izole subtilisin varyantlarının herhangi biri, yüksek iyonik güce veya yüksek deterjan konsantrasyona sahip bir yıkama çözeltisi yapmak üzere suya ekleme için uygun bir deterjan bileşimine eklenebilir. Dolayısıyla buluşun tercih edilen bir açısında bu varyantlar, iletkenliğin yaklaşık 3 mS/cm üzerinde 5 ila yaklaşık 30 mS/cm, yaklaşık 3.5 mS/cm ila yaklaşık 20 mS/cm, veya hatta yaklaşık 4mS/cm ila yaklaşık 10 mS/cm olduğu bir yıkama çözeltisi oluşturmak üzere tipik olarak bir yıkama makinesinde, elle yıkama veya makinede yıkama prosesi için suya eklenen 10 bir deterjan bileşimi parçasını oluşturacaktır. Yüksek iyonik güçte veya yüksek deterjan konsantrasyonunda kullanıma yönelik tercih edilen varyantlar, liste 1 veya 17, 18 veya 19'un herhangi birinde, tercihen liste 17 veya 18'de, en çok tercih edildiği üzere yukarıdaki liste 17'deki varyantlardan seçilir.

15 Teoriye bağlı kalınmamak üzere istenen net yükü elde etmek üzere yapılan bu mutasyonların, yüksek iyonik güç koşulları veya yüksek deterjan konsantrasyonu içeren yıkama çözeltileri için optimal molekül yükünün sağlanması ile toplam proteaz performansında artış sağladığına inanılır - sadece bunlar arasından tercih edilen bazı 20 mutasyonların dikkatli kombinasyonu aracılığıyla gerçekleşir, böylece tercih edilen proteazlar elde edilebilir.

Tercihen bu proteazlar, iletkenliğinin yaklaşık 3 mS/cm üzerinde bir değer ila yaklaşık 30 mS/cm, yaklaşık 3.5 mS/cm ila yaklaşık 20 mS/cm veya yaklaşık 4mS/cm ila 25 yaklaşık 10 mS/cm olduğu bir yıkama çözeltisi oluşturmak üzere tipik olarak yıkama makinesi içinde makinede veya elde yıkama prosesinde suya eklenen bir deterjan bileşiminin bir parçasını oluşturur.

Teoriye bağlı kalınmamak üzere istenen net yükü elde etmek üzere yapılan bu 30 mutasyonların, yüksek iyonik güç veya yüksek deterjan konsantrasyonu koşullarında toplam proteaz performansında artış sağladığına inanılır – sadece bunlar arasından tercih edilen bazı mutasyonların dikkatli kombinasyonu aracılığıyla gerçekleşir, böylece tercih edilen proteazlar elde edilebilir.



Burada ayrıca, aşağıdaki karakteristiklerden bir veya birkaçına sahip yukarıda listelenen izole varyantları açıklanır: a) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8 veya 1.1 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 2 performans İndeksi; b) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8 veya 1.1 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 3 performans İndeksi; c) en az 1.0, en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8 veya 1.0 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 4 performans İndeksi ve/veya d) en az 1.0, en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8 veya 1.0 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntem 6 performans İndeksi ve/veya e) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 15, 1.1 ile yaklaşık 10, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 7 olan Test Yöntemi 7 performans indeksi. Test Yöntemi 2, Test Yöntemi 3, Test Yöntemi 4, Test Yöntemi 6 ve Test Yöntemi 7, aşağıdaki "Test Yöntemleri" başlıklı Örnek 1 bölümünde açık bir şekilde açıklanır.

### **Buluşun Nükleik Asitleri**

Buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere buluşun polipeptitlerini kodlayan, birlikte "buluşun nükleik asitleri" veya "buluşun polinükleotitleri" olarak adlandırılabilir izole edilmiş, doğal yoldan meydana gelmeyen veya rekombinant nükleik asitler (burada "polinükleotitler" olarak da anılır) sağlar. Aşağıda açıklananların tamamı dahil buluşun nükleik asitleri, tipik olarak ilgili polipeptidi veya fragmanını kodlayan bir dizi içeren bir plazmit ifade vektörünün ifadesi üzerinden buluşa ait polipeptitlerin rekombinant üretiminde (örneğin ifadesinde) faydalıdır. Yukarıda ele alındığı üzere polipeptitler, varyant subtilisin polipeptitleri de dahil olmak üzere, temizliğe ihtiyaç duyan bir eşyanın veya bir yüzeyin (örneğin bir ürünün yüzeyinin) temizlenmesine yönelik temizlik uygulamalarında ve temizlik bileşimlerinde faydalı olan enzimatik aktiviteye (örneğin proteolitik aktiviteye) sahip varyant proteaz polipeptitlerini kapsar.

Bazı düzenlemelerde buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere herhangi bir polipeptidi (herhangi bir füzyon proteini, vb. dahil) kodlayan bir nükleotid dizisini içeren izole, rekombinant, büyük ölçüde saf, doğal olarak meydana gelmeyen bir nükleik asit sağlar.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %85 amino asit özdeşliğine sahiptir.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %90 amino asit özdeşliğine sahiptir.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %95 amino asit özdeşliğine sahiptir.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %98 amino asit özdeşliğine sahiptir.

Mevcut buluş, istem 1'de tanımlandığı üzere izole bir subtilisin varyantını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada söz konusu subtilisin varyantı, SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içeren söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı ile en az %99 amino asit özdeşliğine sahiptir.

Mevcut buluşa ayrıca istem 1'de tanımlandığı üzere izole subtilisin varyantlarını kodlayan nükleik asitleri sağlar, burada varyantın toplam net yükü, *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının toplam net yüküne göre 0, +1, +2, +3, +4, +5, -1, -2, -3, -4, veya -5'tir.

Burada uygun soğuk proteaz varyantları açıklanır veya subtilisin varyantları bir parent proteazın varyantlarıdır, söz konusu parent proteazın dizisi, SEQ ID NO:1'e ait amino asit dizisi ile en az %97, en az %99 veya %100 özdeştir, söz konusu proteaz varyantı aşağıdaki karakteristiklerden bir veya daha fazlasına sahiptir:

- a) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 2 performans indeksi; b) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 10, 1.1 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 3 performans indeksi; c) en az 1.0, en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.0 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 4 performans indeksi; ve/veya d) en az 1.0, en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.0 ile yaklaşık 10, 1.0 ile yaklaşık 8, veya hatta 1.0 ile yaklaşık 5 olan Test Yöntemi 6 performans indeksi; ve/veya e) en az 1.1, en az 1.2, en az 1.3, en az 1.4, en az 1.5, en az 1.6, en az 1.7, en az 1.8, en az 1.9, en az 2, 1.1 ile yaklaşık 15, 1.1 ile yaklaşık 10, veya hatta 1.1 ile yaklaşık 7 olan Test Yöntemi 7 performans indeksi. Test Yöntemi 2, Test Yöntemi 3, Test Yöntemi 4, Test Yöntemi 6, ve Test Yöntemi 7, "Test Yöntemleri" başlıklı Örnek 1 bölümünde *altta* açık şekilde açıklanır. Burada refere edilen tüm mutasyonlar, Şekil 1'de gösterilen BPN' numaralandırma şemasını kullanır. Bazı düzenlemelerde burada refere edilen varyantlar, BPN' numaralandırma şeması kullanılarak SEQ ID NO:2'ye ait amino asit dizisi ile karşılaştırılan amino asit dizilerine sahip varyantlara refere eder.

Burada açıklandığı üzere yukarıdaki yüksek iyonik güçteki soğuk su proteaz varyantları, daha spesifik olarak subtilisin varyantları iletkenliğinin, yaklaşık 3 mS/cm üzerindeki bir değer ile yaklaşık 30 mS/cm, yaklaşık 3.5 mS/cm ile yaklaşık 20 mS/cm veya 4mS/cm ile yaklaşık 10 mS/cm olduğu, bir çamaşır deterjanı yıkama çözeltisini oluşturmak üzere tipik olarak çamaşır yıkama makinesinde su içinde seyreltilen deterjan bileşiminin bir parçasını oluşturur.

Soğuk su proteaz varyantlarının, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarının yükü, SEQ ID NO:2'deki amino asit dizisine sahip *B. lentus* subtilisin GG36 proteazına göre ifade edilir. Tek bir negatif yük veren amino asitler, D ve E'dir ve tek bir pozitif yük veren amino asitler, R, H ve K'dır. Bir yük değiştiren, SEQ ID NO:2'ye karşı herhangi bir amino asit değişimi, soğuk su proteaz varyantının yükünü hesaplamak amacıyla kullanılır. Örneğin doğal suş nötral pozisyonundan negatif yüklü bir mutasyonun

eklenmesi, soğuk su proteaz varyantına -1 olan net yük eklerken doğal suş pozitif amino asit kalıntısından (R, H veya K) negatif yüklü bir mutasyonun eklenmesi, -2 olan net yükü ekleyecektir. SEQ ID NO:2'deki amino asit dizisine sahip *B. lentus* subtilisin GG36 proteaz doğal suşuna karşı soğuk su proteaz varyantı için farklı olan tüm amino asit kalıntılarından elde edilen yük değişimlerinin toplamı, soğuk su proteaz varyantının yük değişimini verir. Teoriye bağlı kalınmamak üzere iletkenliği düşük olan çamaşır deterjanı solüsyonlarında kullanılacak soğuk su proteazları için tercih edilen yük aralığının, -5, -4, -3, -2, -1, 0, özellikle -2, -1 olduğuna; iletkenliği yüksek olan çamaşır deterjanı solüsyonlarında kullanılacak soğuk su proteazları için tercih edilen yük aralığının +5, +4, +3, +2, +1, 0, özellikle +2, +1 olduğuna inanılmaktadır. Yükün doğru bir şekilde seçilmesi yoluyla soğuk suda temizleme performansının beklenmedik ölçüde yüksek seviyeleri elde edilebilir. "İletkenliği düşük olan çamaşır deterjanı solüsyonları", yaklaşık 0.1 mS/cm ile yaklaşık 3 mS/cm, yaklaşık 0.3 mS/cm ile yaklaşık 2.5 mS/cm veya yaklaşık 0.5 mS/cm ile yaklaşık 2 mS/cm olan bir iletkenliğe sahip şekilde tanımlanır. "İletkenliği yüksek olan çamaşır deterjanı solüsyonları", yaklaşık 3 mS/cm ile yaklaşık 30 mS/cm, yaklaşık 3.5 mS/cm ile yaklaşık 20 mS/cm veya yaklaşık 4 mS/cm ile yaklaşık 10 mS/cm olan iletkenliğe sahip şekilde tanımlanır. Yukarıdaki örneklerin sınırlayıcı olmaması amaçlanır. Mutasyonlar, soğuk su performansını optimize etmek üzere kombine edildiğinde enzim yükü aynı zamanda diğer pozisyonlardaki mutasyonlar ile dengelenebilir.

Bazı düzenlemelerde buluş, buluş istem 1'de tanımlandığı üzere izole, rekombinant, büyük ölçüde saf veya doğal olarak meydana gelmeyen varyant proteazı (örneğin varyant subtilisin) sağlar, söz konusu varyant proteaz, n fazla 50, en fazla 45, en fazla 40, en fazla 35, en fazla 30, en fazla 25, en fazla 20, en fazla 19, en fazla 18, en fazla 17, en fazla 16, en fazla 15, en fazla 14, en fazla 13, en fazla 12, en fazla 11, en fazla 10, en fazla 9, veya en fazla 8 amino asit kalıntısı kadar SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisinden farklılaşan bir amino asit dizisini içerir, burada amino asit pozisyonları, *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin BPN' amino asit dizisi ile varyant proteaz amino asit dizisinin hizalanması ile belirlendiği üzere SEQ ID NO:1'de gösterilen *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin BPN' amino asit dizisindeki karşılık gelen amino asit pozisyonlarının numaralandırmasına göre numaralandırılır.

Buluşun nükleik asitleri, uygun herhangi bir sentez, manipülasyon ve/veya izolasyon tekniği veya bunların kombinasyonları ile üretilir. Örneğin buluşun bir polinükleotidi,

standart nükleik asit sentezi teknikleri, örneğin ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilinen katı faz sentezi teknikleri ile üretilebilir. Bu tip tekniklerde tipik olarak 50 veya daha fazla nükleotit bazı içeren fragmanlar sentezlenir ve akabinde esasen arzu edilen herhangi bir kesintisiz nükleik asit dizisini meydana getirmek üzere birleştirilir (örneğin enzimatik veya kimyasal ligasyon yöntemleri veya polimeraz aracılı rekombinasyon yöntemleriyle). Buluşun nükleik asitlerinin sentezi ayrıca, klasik fosforamidit yöntemine (Bakınız örneğin, Beaucage et al. Tetrahedron Letters 22:1859-69 [1981]) ya da örneğin otomatik sentez yöntemlerinde tipik olarak uygulandığı üzere Matthes vd. tarafından tarif edilen yöntemine (See, Matthes et al., EMBO J. 3:801-805 [1984]) göre bununla sınırlı olmamak üzere kimyasal sentez de dahil teknikte bilinen uygun herhangi bir yöntem ile kolaylaştırılabilir (veya alternatif olarak başarılabılır). Buluşun nükleik asitleri ayrıca bir otomatik DNA sentezleyici ile üretilebilir. Özelleştirilmiş nükleik asitler çeşitli ticari kaynaklardan sipariş edilebilir (örneğin, The Midland Certified Reagent Company, the Great American Gene Company, Operon Technologies Inc. ve DNA2.0). Nükleik asitlerin sentezine yönelik diğer teknikler ve ilgili ilkeler teknikte bilinir (Bakınız örneğin, Itakura et al., Ann. Rev. Biochem. 53:323 [1984]; ve Itakura et al., Science 198:1056 [1984]).

Yukarıda belirtildiği üzere nükleik asitlerin modifikasyonunda faydalı rekombinant DNA teknikleri ilgili alanda iyi bilinir. Örneğin restriksiyon endonükleaz kesimi, ligasyon, ters transkripsiyon ve cDNA üretimi ve polimeraz zincir reaksiyonu (örneğin PCR) gibi teknikler ilgili tekniğin uzmanlarınca bilinmektedir ve kolayca kullanılabilir. Buluşun nükleotitleri ayrıca cDNA kütüphanelerinin (örneğin burada tarif edilenler de dahil olmak üzere ilgili alanda yaygın olarak kullanılan mutagenез teknikleri ile üretilen cDNA kütüphaneleri) buluşun bir varyant proteaz polipeptidini (polipeptitlerini) kodlayan polinükleotitler ile hibritleşebilen veya bunları PCR'de amplifiye edebilen bir veya daha fazla oligonükleotit probu kullanılarak taranması yoluyla elde edilebilir. cDNA klonlarının taranmasına ve izolasyonuna yönelik prosedürler ve PCR amplifikasyon prosedürleri ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilinir ve teknikte uzman kişilerce bilinen standart referanslarda açıklanır. Buluşun bazı nükleik asitleri, doğal yoldan meydana gelen bir polinükleotit omurgasının (örneğin bir enzimi veya ana proteazı kodlayan bir polinükleotit omurgasının) örneğin bilinen bir mutagenез prosedürüne (örneğin bölgeye yönlendirilmiş mutagenез, bölge doymunlaştırma mutagenезi ve *in vitro* rekombinasyon) göre değiştirilmesi yoluyla elde edilebilir.

### **Buluşun Değiştirilmiş Varyant Proteazlarının Yapım Yöntemleri**

Bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin bölge doygunlaştırma mutagenezi, tarama mutagenezi, ekleme mutagenezi, eksiltme mutagenezi, rastgele mutagenez, bölgeye  
 5 yönlendirilmiş mutagenez ve yönlendirilmiş evrim ve ayrıca çeşitli diğer rekombinasyon yaklaşımları da dahil olmak üzere, buluşun varyant proteazlarını kodlayan buluşun değiştirilmiş polinükleotitlerini üretmek için uygun çeşitli yöntemler ilgili teknikte bilinir. Değiştirilmiş polinükleotitlerin ve proteinlerin (örneğin varyant proteazlar) yapımına yönelik yöntemler, DNA karma metodolojileri, genlerin homolog olmayan  
 10 rekombinasyonunu esas alan ITCHY (Bakınız Ostermeier vd., 7(10):2139-44 (1999)), SCRACHY (Bakınız Lutz vd. 98(20):11248-53 (2001)), SHIPREC (Bakınız Sieber vd., 19(5):456-60 (2001)) ve NRR (Bakınız Bittker vd., 20(10):1024-9 (2001); Bittker vd., 101(18):7011-6 (2004)) gibi yöntemler ve rastgele ve hedefli mutasyonları, eksilmeleri ve/veya eklemeleri dahil etmek için oligonükleotitlerin kullanımına dayanan yöntemleri  
 15 (Bakınız Ness *et al.*, 20:1251-5 [2002]; Coco *et al.*, 20:1246-50 [2002]; Zha *et al.*, 4:34-9 [2003]; Glaser *et al.*, 149:3903-13 [1992]) kapsar.

### **Buluşun Varyant Proteazlarının Üretimine yönelik Vektörler, Hücreler ve Yöntemler**

20 Burada, burada tarif edilen buluşun en az bir polinükleotidini (örneğin burada tarif edilen buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir polinükleotit) içeren izole edilmiş veya rekombinant vektörler, buluşun en az bir nükleik asidini veya polinükleotidini içeren izole edilmiş veya rekombinant ifade vektörleri veya ifade kasetleri, buluşun en  
 25 az bir nükleik asidini veya polinükleotidini içeren izole edilmiş, büyük ölçüde saf veya rekombinant DNA konstraktları, buluşun en az bir polinükleotidini içeren izole edilmiş veya rekombinant hücreler, buluşun en az bir polinükleotidini içeren hücreleri ihtiva eden hücre kültürleri, buluşun en az bir nükleik asidini veya polinükleotidini içeren hücre kültürleri ve bu tip vektörlerin, nükleik asitlerin, ifade vektörlerinin, ifade  
 30 kasetlerinin, DNA konstraktlarının, hücrelerin, hücre kültürlerinin veya bunların herhangi bir kombinasyonu veya karışımının bir veya daha fazlasını içeren bileşimler açıklanır.

Burada buluşun en az bir nükleik asidini veya polinükleotidini içeren buluşun en az bir  
 35 vektörünü (örneğin ifade vektörü veya DNA konstraktı) ihtiva eden rekombinant

hücreler açıklanır. Bu tip bazı rekombinant hücreler, böylesi en az bir vektör ile transformasyona veya transfeksiyona uğratılır. Bu tip hücreler genelde konakçı hücre olarak adlandırılır. Bu tip bazı hücreler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla *Bacillus sp.* hücreleri, mesela *B. subtilis* hücreleri de dahil olmak üzere bakteri hücrelerini kapsar.

- 5 Buluş ayrıca buluşun en az bir varyant proteazını içeren rekombinant hücreler (örneğin rekombinant konakçı hücreler) sağlar.

- Burada, buluşun bir nükleik asidini veya polinükleotidini içeren bir vektör açıklanır. Burada açıklandığı üzere vektör, buluşun bir varyant proteazını kodlayan buluşun bir polinükleotit dizisinin, etkili gen ifadesi için gerekli bir nükleik asit segmentine veya ilave nükleik asit segmentlerine (örneğin buluşun bir varyant proteazını kodlayan buluşun polinükleotidine operatif şekilde bağlı bir promotör) operatif şekilde bağlandığı bir ifade vektörü veya ifade kasetidir. Bir vektör, bir transkripsiyon terminatörüne ve/veya bir seleksiyon genine, örneğin plazmit ile enfekte edilmiş konakçı hücrelerin antimikrobiyal içeren ortamlarda büyüme yoluyla sürekli kültürel idamesini sağlayan bir antibiyotik direnç genine sahip olabilir.

- Bir ifade vektörü, plazmitten veya viral DNA'dan türetilir ya da alternatif düzenlemelerde her ikisine ait öğeler içerir. Temsili vektörler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla pXX, pC194, pJH101, pE194, pHP13'ü (Bakınız Harwood and Cutting [eds.], Chapter 3, Molecular Biological Methods for Bacillus, John Wiley & Sons [1990]; suitable replicating plasmids for *B. subtilis* include those listed on p.92; See also, Perego, Integrational Vectors for Genetic Manipulations in Bacillus subtilis, in Sonenshein et al., [eds.] Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology and Molecular Genetics, American Society for Microbiology, Washington, D.C. [1993], pp. 615-624) kapsar.

- İlgili bir proteinin (örneğin varyant proteaz) bir hücrede ifadesi ve üretimi için hücre, proteazın ifadesi için uygun koşullar altında, değiştirilmiş proteazı kodlayan bir polinükleotidin en az bir kopyasını ve tercihen çok sayıda kopyasını içeren en az bir ifade vektörü ile transformasyona uğratılır. Mevcut buluşun bazı düzenlemelerinde, varyant proteazı kodlayan bir polinükleotit dizisi (ve ayrıca vektöre dahil edilen diğer diziler) konakçı hücrenin genomuna entegre edilir, diğer düzenlemelerde ise varyant proteazı kodlayan bir polinükleotit dizisini içeren bir plazmit vektörü, hücrenin içinde bir otonom ekstrakromozomal öge olarak kalır. Buluş, hem ekstrakromozomal nükleik asit

- öğelerini hem de konakçı hücre genomuna entegre edilen gelen nükleotit dizilerini kapsar. Burada tarif edilen vektörler, buluşun varyant proteazlarının üretimi için faydalıdır. Burada açıklandığı üzere varyant proteazı kodlayan bir polinükleotit kontraktı, varyant proteazı kodlayan polinükleotidin bakteri kromozomuna
- 5 entegrasyonunu ve isteğe bağlı olarak amplifikasyonunu sağlayan bir entegrasyon vektöründe bulunur. Entegrasyona yönelik bölgelerin örnekleri ilgili tekniğin uzmanlarınca iyi bilinir. Bazı düzenlemelerde, buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir polinükleotidin transkripsiyonu, seçilen öncül proteaz için yabancı tip promotör olan bir promotör ile sağlanır. Burada açıklandığı üzere promotör, öncül proteaz için
- 10 heterologtur, ancak konakçı hücrede fonksiyoneldir. Daha özel bir ifadeyle, bakteriyel konakçı hücrelerde kullanımı uygun promotörlerin örnekleri, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin amyE, amyQ, amyL, pstS, sacB, pSPAC, pAprE, pVeg, pHpall promotörlerini ve *B. stearothermophilus* maltojenik amilaz geni, *B. amyloliquefaciens* (BAN) amilaz geni, *B. subtilis* alkali proteaz geni, *B. clausii* alkali proteaz geni, *B.*
- 15 *pumilis* ksilosidaz geni, *B. thuringiensis* cryIIIA geni ve *B. licheniformis* alfa-amilaz geninin promotörünü kapsar. İlave promotörler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, A4 promotörünü ve ayrıca faj Lambda P<sub>R</sub> veya P<sub>L</sub> promotörlerini ve *E. coli* lac, trp veya tac promotörlerini kapsar.
- 20 Mevcut buluşun varyant proteazları, bakteriler ve mantarlar da dahil olmak üzere uygun herhangi bir Gram-pozitif mikroorganizmanın konakçı hücrelerinde üretilebilir. Örneğin bazı düzenlemelerde varyant proteaz mantar ve/veya bakteriyel kökenli konakçı hücrelerde üretilir. Bazı düzenlemelerde konakçı hücreler *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Escherichia* sp. veya *Aspergillus* sp. kökenlidir. Bazı düzenlemelerde varyant
- 25 proteazlar, *Bacillus* sp. konakçı hücreleri tarafından üretilir. Buluşun varyant proteazlarının üretiminde kullanıma sahip *Bacillus* sp. konakçı hücrelerinin örnekleri, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla *B. licheniformis*, *B. lentus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. lentus*, *B. brevis*, *B. stearothermophilus*, *B. alkalophilus*, *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. pumilis*, *B. thuringiensis*, *B. clausii* ve *B. megaterium* ve
- 30 ayrıca *Bacillus* cinsine ait diğer organizmaları kapsar. Bazı düzenlemelerde, varyant proteazların üretimi için *B. subtilis* konakçı hücreleri kullanılır. U.S. Patent No. 5,264,366 ve 4,760,025 (RE 34,606), buluşun varyant proteazlarını üretmek için kullanılabilecek çeşitli *Bacillus* konakçı suşlarını açıklar, ancak diğer uygun suşlar da kullanılabilir.



Buluşun varyant proteazlarını üretmek için kullanılabilecek birtakım endüstriyel bakteri suşları, rekombinant olmayan (yani yabancı tip) *Bacillus* sp. suşlarını ve ayrıca doğal yoldan meydana gelen suşların ve/veya rekombinant suşların varyantlarını kapsar.

- 5 Bazı düzenlemelerde konakçı suş bir rekombinant suştur, burada ilgili bir polipeptidi kodlayan bir polinükleotit konakçının içine dahil edilmiştir. Bazı düzenlemelerde konakçı suş bir *B. subtilis* konakçı suşudur ve özellikle bir rekombinant *Bacillus subtilis* konakçı suşudur. Bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin 1A6 (ATCC 39085), 168 (1A01), SB19, W23, Ts85, B637, PB1753 ila PB1758, PB3360, JH642, 1A243 (ATCC 10 39,087), ATCC 21332, ATCC 6051, MI113, DE100 (ATCC 39,094), GX4931, PBT 110 ve PEP 211 suşu da dahil olmak üzere çeşitli *B. subtilis* suşları bilinmektedir (bkz. örneğin Hoch vd., Genetics 73:215-228 (1973)) (bkz. ayrıca U.S. Patent No. 4,450,235 ve 4,302,544 ve EP 0134048). *B. subtilis*'in bir ifade konakçı hücresi olarak kullanımı ilgili teknikte iyi bilinir (bkz. örneğin Palva et al., Gene 19:81-87 [1982]; Fahnestock and 15 Fischer, J. Bacteriol., 165:796-804 [1986]; and Wang et al., Gene 69:39-47 [1988]).

- Bazı düzenlemelerde *Bacillus* konakçı hücresi, *degU*, *degS*, *degR* ve *degQ* genlerinin en az birinde bir mutasyon veya eksilme içeren bir *Bacillus* sp. hücresidir. Mutasyon tercihen bir *degU* genindedir ve mutasyon daha çok tercih edildiği haliyle *degU(Hy)*32 20 olmaktadır. Bkz. örneğin Msadek vd., J. Bacteriol. 172:824-834 (1990) ve Olmos vd., Mol. Gen. Genet. 253:562-567 (1997)). Uygun bir konakçı suş, bir *degU32(Hy)* mutasyonuna sahip bir *Bacillus subtilis* suşudur. Bazı düzenlemelerde *Bacillus* konakçısı, *scoC4* (bkz. örneğin Caldwell vd., J. Bacteriol. 183:7329-7340 (2001)); *spoII*E (bkz. örneğin Arigoni vd., Mol. Microbiol. 31:1407-1415 (1999)) ve/veya *oppA* ya 25 da *opp* operonunun diğer genlerinde bir mutasyon veya eksilme içerir (bkz. örneğin Perego vd., Mol. Microbiol. 5:173-185 (1991)). Aslında, *oppA* genindeki bir mutasyon ile aynı fenotipe yol açan *opp* operonundaki herhangi bir mutasyonun, buluşun değiştirilmiş *Bacillus* suşunun bazı düzenlemelerinde kullanıma sahip olması öngörülmektedir. Bazı düzenlemelerde bu mutasyonlar tek başına bulunur, diğer 30 düzenlemelerde mutasyon kombinasyonları mevcuttur. Bazı düzenlemelerde, buluşun bir varyant proteazını üretmek için kullanılabilecek bir değiştirilmiş *Bacillus* konakçı hücre suşu, yukarıda belirtilen genlerin bir veya daha fazlasında halihazırda bir mutasyon içeren bir *Bacillus* konakçı suşudur. Ayrıca, endojen proteaz genlerinde mutasyon (mutasyonlar) ve/veya eksilmeler içeren *Bacillus* sp. konakçı hücreleri de 35 kullanıma sahiptir. Bazı düzenlemelerde *Bacillus* konakçı hücresi, *aprE* ve *nprE*

genlerinde bir eksilme içerir. Diğer düzenlemelerde, *Bacillus* sp. konakçı hücresi 5 proteaz geninde bir eksilme içerir, diğer düzenlemelerde ise *Bacillus* sp. konakçı hücresi 9 proteaz geninde bir eksilme içerir (bkz. örneğin U.S. Patent Başvurusu Yayın No. 2005/0202535).

5

Konakçı hücreler, ilgili teknikte bilinen uygun herhangi bir yöntemle göre buluşun en az bir varyant proteazını kodlayan en az bir nükleik asit ile transformasyona uğrattılır. Nükleik asit, bir vektöre dahil edilip edilmediğine veya plazmit DNA'sının varlığı olmadan kullanılıp kullanılmadığına bağlı olarak genelde bir mikroorganizmanın, bazı düzenlemelerde tercihen bir *E. coli* hücresinin veya bir kompetan *Bacillus* hücresinin içine dahil edilir. Bir nükleik asidin (örneğin DNA) *Bacillus* hücrelerine veya *E. coli* hücrelerine plazmit DNA konstraktları veya vektörler kullanılarak dahil edilmesine ve bu tip hücrelerin bu plazmit DNA konstraktları veya vektörler ile transformasyona uğratılmasına yönelik yöntemler iyi bilinir. Burada açıklandığı üzere plazmitler akabinde *E. coli* hücrelerinden izole edilir ve *Bacillus* hücreleri bunlarla transformasyona uğrattılır. Ancak, *E. coli* gibi müdahaleci mikroorganizmaların kullanılması gerekli değildir ve bazı düzenlemelerde bir DNA konstraktı veya vektör bir *Bacillus* konakçısına doğrudan dahil edilir.

- 20 İlgili tekniğin uzmanları, buluşun nükleik asit veya polinükleotit dizilerinin *Bacillus* hücrelerine dahil edilmesine yönelik uygun yöntemlerin oldukça farkındadır (bkz. örneğin Ferrari vd., "Genetics," in Harwood vd. (eds.), *Bacillus*, Plenum Publishing Corp. (1989), pp. 57-72; Saunders vd., *J. Bacteriol.* 157:718-726 (1984); Hoch vd., *J. Bacteriol.* 93:1925 -1937 (1967); Mann vd., *Current Microbiol.* 13:131-135 (1986) ve
- 25 Holubova, *Folia Microbiol.* 30:97 (1985); Chang vd., *Mol. Gen. Genet.* 168:11-115 (1979); Vorobjeva vd., *FEMS Microbiol. Lett.* 7:261-263 (1980); Smith vd., *Appl. Env. Microbiol.* 51:634 (1986); Fisher vd., *Arch. Microbiol.* 139:213-217 (1981) ve McDonald, *J. Gen. Microbiol.* 130:203 (1984)). Aslında, protoplast transformasyonu ve konkresyonu da dahil olmak üzere transformasyon, transdüksiyon ve protoplast
- 30 füzyonu gibi yöntemler iyi bilinmektedir ve mevcut buluşta kullanılmaya uygundur. Transformasyon yöntemleri, mevcut buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir nükleik asidi içeren bir DNA konstraktının veya vektörün bir konakçı hücreye dahil edilmesi için kullanılır. İlgili teknikte *Bacillus* hücrelerini transformasyona uğratmaya yönelik olarak bilinen yöntemler, bir donör plazmitin kısmen homolog bir yerleşik plazmit ihtiva eden
- 35 kompetan hücrelere alımını içeren plazmit belirteç kurtarma transformasyonu gibi

yöntemleri kapsar (Contente vd., Plasmid 2:555-571 (1979); Haima vd., Mol. Gen. Genet. 223:185-191 (1990); Weinrauch vd., J. Bacteriol. 154:1077-1087 (1983) ve Weinrauch vd., J. Bacteriol. 169:1205-1211 (1987)). Bu yöntemde gelen donör plazmit, kromozomal transformasyonu taklit eden bir süreçte yerleşik "yardımcı" plazmitin homolog bölgesiyle birleşir.

Burada açıklandığı üzere, yaygın olarak kullanılan yöntemlere ek olarak, konakçı hücreler doğrudan buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir nükleik asidi içeren bir DNA konstraktı veya vektör ile transformasyona uğratılır (yani konakçı hücreye dahil edilmeden önce DNA konstraktını veya vektörü amplifiye etmek veya aksi takdirde işleme tabi tutmak için bir ara hücre kullanılmaz). Buluşun DNA konstraktının veya vektörünün konakçı hücreye dahil edilmesi, bir nükleik asit dizisini (örneğin DNA dizisini) bir plazmite veya vektöre yerleştirilmeksizin bir konakçı hücreye dahil etmeye yönelik olarak ilgili teknikte bilinen fiziksel ve kimyasal yöntemleri içerir. Bu tip yöntemler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla kalsiyum klorür presipitasyonu, elektroporasyon, çıplak DNA, lipozomlar ve benzerlerini kapsar. Burada açıklandığı üzere, DNA konstraktları veya vektör, plazmitin içine yerleştirilmeden bir plazmit ile birlikte transformasyona uğratılır. Burada açıklandığı üzere, ilgili teknikte bilinen yöntemlere göre değiştirilmiş *Bacillus* suşundan bir seçici belirteç eksiltir (bkz. Stahl vd., J. Bacteriol. 158:411-418 (1984) ve Palmeros vd., Gen 247:255 -264 (2000)).

Burada açıklandığı üzere, mevcut buluşun transformasyona uğratılmış hücreleri konvansiyonel besi ortamlarında kültürlenir. Sıcaklık, pH ve benzeri uygun spesifik kültür koşulları ilgili tekniğin uzmanlarınca bilinir ve bilimsel literatürde açıklanır. Bazı düzenlemelerde buluş, buluşun en az bir varyant proteazını veya en az bir nükleik asidini içeren bir kültür (örneğin hücre kültürü) sağlar. Burada, buluşun en az bir nükleik asidini, vektörünü veya DNA konstraktını içeren bileşimler açıklanır.

Burada açıklandığı üzere, buluşun en az bir varyant proteazını kodlayan en az bir polinükleotit dizisi ile transformasyona uğratılmış konakçı hücreler uygun bir besi ortamında mevcut proteazın ifadesini sağlayan koşullar altında kültürlenir, akabinde elde edilen proteaz kültürden geri kazanılır. Hücreleri kültürlemek için kullanılan ortam, konakçı hücreleri büyütmek için uygun olan herhangi bir konvansiyonel ortamı, örneğin uygun takviye maddelerini içeren minimal veya kompleks ortamları kapsar. Uygun ortamlar ticari tedarikçilerden temin edilebilir ya da yayımlanmış (Bakınız örneğin

Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu katalogları) tariflere göre hazırlanabilir. Burada açıklandığı üzere, hücreler tarafından üretilen proteaz, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin konakçı hücrelerin ortamdan santrifüj veya filtreleme yoluyla ayrılması, süpernatanın veya filtreleme ürününün proteinli bileşenlerinin bir tuz (örneğin amonyum sülfat) yardımıyla çökeltilmesi, kromatografik saflaştırma (örneğin iyon değiştirme, jel filtreleme, afinite vs.) de dahil olmak üzere konvansiyonel prosedürlere göre kültür ortamından geri kazanılır. Varyant proteazın geri kazanılmasına veya saflaştırılmasına yönelik uygun herhangi bir yöntem mevcut buluşta kullanılabilir.

- 10 Burada açıklandığı üzere, bir rekombinant konakçı hücre tarafından üretilen bir varyant proteaz kültür ortamına salgılanır. Çözünür proteinlerin saflaştırılmasını kolaylaştırmak için saflaştırmayı destekleyici bir domeni kodlayan bir nükleik asit dizisi kullanılabilir. Bir varyant proteazı kodlayan bir polinükleotit dizisini içeren bir vektör veya DNA konstraktı, ilaveten, varyant proteazın saflaştırılmasını kolaylaştırmak üzere
- 15 saflaştırmayı destekleyici bir domeni kodlayan bir nükleik asit dizisine sahip olabilir (bkz. örneğin Kroll, D.J. vd., DNA Cell Biol. 12:441-53 (1993)). Bu saflaştırmayı destekleyici domenler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin sabitlenmiş metaller üzerinde saflaştırma sağlayan histidin-triptofan modülleri (Porath J., Protein Expr. Purif. 3:263-281 (1992)) gibi metal kelatlayıcı peptitleri, sabitlenmiş immünglobülin üzerinde
- 20 saflaştırma sağlayan protein A domenlerini ve FLAGS uzatma/afiniteli saflaştırma sisteminde kullanılan domeni (örneğin Immunex Corp., Seattle, WA'dan temin edilen protein A domenleri) kapsar. Saflaştırma domeni ile heterolog proteinin arasına Faktör XA veya enterokinaz (örneğin Invitrogen, San Diego, CA'dan temin edilen diziler) gibi bir kesilebilir bağlantı dizisinin yerleştirilmesi de saflaştırmayı kolaylaştırmak için
- 25 kullanılabilir.

- Bir enzimin, örneğin buluşun bir varyant proteazının enzimatik aktivitesini saptamaya ve ölçmeye yönelik analizler iyi bilinir. Proteazların, örneğin buluşun varyant proteazlarının aktivitesini saptamaya veya ölçmeye yönelik çeşitli analizler de ilgili
- 30 tekniğin uzmanlarınca bilinir. Daha özel bir ifadeyle, proteaz aktivitesini ölçmeye yönelik olarak, 280 nm'de soğurum olarak veya teknikte uzman kişilerce iyi bilinen Folin yöntemine göre kolorimetrik olarak ölçüldüğü üzere asitte çözünebilen peptitlerin kazeinden veya hemoglobinden salımını esas alan analizler mevcuttur. Diğer örnek analizler, kromojenik substratların çözünürleştirilmesini içerir (bkz. örneğin Ward,
- 35 "Proteinases," in Fogarty (ed.), Microbial Enzymes and Biotechnology, Applied

Science, London, (1983), pp. 251-317). Diğer örnek analizler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla süksinil-Ala-Ala-Pro-Phe-para nitroanilid analizini (suc-AAPF-pNA) ve 2,4,6-trinitrobenzen sülfonat sodyum tuzu analizini (TNBS analizi) kapsar. İlgili tekniğin uzmanlarınca bilinen çeşitli ilave referanslar uygun yöntemleri sağlar (Wells vd.,  
 5 Nucleic Acids Res. 11:7911-7925 (1983); Christianson vd., Anal. Biochem. 223:119 - 129 (1994) ve Hsia vd., Anal Biochem. 242:221-227 (1999)).

Bir olgun proteazın (örneğin buluşun olgun varyant proteazlarının) bir konakçı hücrede üretim düzeyini saptamak için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu tip yöntemler, bunlarla  
 10 sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin proteaza spesifik poliklonal veya monoklonal antikorların kullanıldığı yöntemleri kapsar. Örnek yöntemler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin enzime bağlı immünsorban analizleri (ELISA), radyo immün analizler (RIA), floresan immün analizler (FIA) ve floresans ile aktiveleşen hücre sınıflandırmasını (FACS) kapsar. Bu ve diğer analizler ilgili teknikte iyi bilinir (bkz. örneğin Maddox vd., J.  
 15 Exp. Med. 158:1211 (1983)).

Burada buluşun bir olgun varyant proteazının yapımına veya üretimine yönelik yöntemler açıklanır. Bir olgun varyant proteaz, bir sinyal peptidine veya bir propeptit dizisine sahip değildir. Bazı yöntemler, buluşun bir varyant proteazının bir *Bacillus sp.*  
 20 hücresi gibi (örneğin *Bacillus sp.* hücresi) bir rekombinant bakteriyel konakçı hücrede yapımını veya üretimini içerir. Bazı düzenlemelerde buluş, buluşun bir varyant proteazının üretimine yönelik bir yöntem sağlar, yöntem, varyant proteazın üretimini destekleyen koşullar altında buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir nükleik aside sahip bir rekombinant ifade vektörünü içeren bir rekombinant konakçı hücrenin  
 25 kültürlenmesini içerir. Bu tip bazı yöntemler, ilaveten, varyant proteazın kültürden geri kazanılmasını içerir.

Burada, buluşun bir varyant proteazının üretimine yönelik yöntemler açıklanır, yöntemler, (a) buluşun bir varyant proteazını kodlayan bir nükleik aside sahip bir  
 30 rekombinant ifade vektörünün bir hücre popülasyonuna (örneğin bakteri hücreleri, örneğin *B. subtilis* hücreleri) dahil edilmesini ve (b) hücrelerin bir kültür ortamında ifade vektörü tarafından kodlanan varyant proteazın üretimini destekleyen koşullar altında kültürlenmesini içerir. Bu tip bazı yöntemler, ilaveten, (c) varyant proteazın hücrelerden veya kültür ortamından izole edilmesini içerir.

### Kumaş ve ev bakım ürünleri

Bazı düzenlemelerde mevcut buluşa ait proteaz varyantları, daha spesifik olarak subtilisin varyantları yardımcı bir materyal ve bir proteaz varyantı içeren bileşimlerde kullanılabilir, burada bileşim bir kumaş ve ev bakım ürünüdür.

Mevcut buluş ayrıca istem 1'de tanımlandığı üzere yukarıdaki izole subtilisin varyantlarının herhangi birini sağlar, burada subtilisin varyantı *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazın bir proteaz varyantıdır, burada söz konusu *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazı SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisini içerir.

Bazı düzenlemelerde kumaş ve ev bakım ürünü bileşimleri, istem 1'de tanımlandığı üzere izole subtilisin varyantlarının herhangi birini içerir, burada varyantın toplam net yükü, *Bacillus lentus* subtilisin GG36 proteazının toplam net yüküne göre 0, +1, +2, +3, +4, +5, -1, -2, -3, -4, veya -5'tir.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü bileşimlerinin subtilisin varyantı, ticari olarak temin edilebilir parent bir subtilisinden türetilir (örneğin SAVINASE®, POLARZYME®, KANNASE®, LIQUINASE®, LIQUINASE ULTRA®, SAVINASE ULTRA®, veya OVOZYME® (Novozymes A/S tarafından); MAXACAL®, PROPERASE®, PURAFECT®, FN3®, FN4® ve PURAFECT OXP®, PURAFECT™, PURAFECT® PRIME, veya PURAMAX® (Genencor International tarafından) ve BLAP olarak adlandırılan Henkel/ Kemira'dan temin edilebilenler (buradan sonra BLAP olarak refere edilen aşağıdaki mutasyonlar S99D + S101 R + S103A + V104I + G159S ile US 5,352,6042e ait Şekil 29'da gösterilen dizi) ve BLAP X (BLAP with S3T + V4I + V205I).

Bazı düzenlemelerde kumaş ve ev bakım ürün bileşimleri, istem 1'de tanımlandığı üzere en az bir proteaz varyantı içerir, burada varyant proteazı by en fazla 50, en fazla 40, en fazla 35, en fazla 30, en fazla 25, en fazla 20, en fazla 19, en fazla 18, en fazla 17, en fazla 16, en fazla 15, en fazla 14, en fazla 13, en fazla 12, en fazla 11, en fazla 10, en fazla 9, veya en fazla 8 amino asit kalıntısı ile SEQ ID NO:2'de gösterilen amino asit dizisinden farklılaşan bir amino asit dizisini içerir, burada aminı asit pozisyonları *Bacillus amyloliquefaciens* subtilisin BPN' amino dizisi ile varyant proteaz amino asit dizisinin hizalanması ile belirlendiği üzere SEQ ID NO:1'de gösterilen *Bacillus*

*amyloliquefaciens subtilisin BPN'* amino asit dizisinde karşılık gelen amino asit pozisyonlarının numaralandırmasına göre numaralandırılır.

### **Temizlik ev/veya İşlem Bileşimleri**

5

Burada açıklandığı üzere, kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimini içeren tüketici ürünü, en az bir proteaz varyantı, özellikle bir subtilisin varyantı ve en az bir yardımcı materyal içerir. Burada açıklandığı üzere bu yardımcı maddeler, örneğin parfümler, renklendiriciler, boyalar veya benzeri ile olduğu durumdaki gibi

10 temizlik bileşiminin estetiğini modifiye etmek üzere veya temizlenecek alt katman işlemine yönelik olarak temizleme performansına yardım etmek veya bunu arttırmak üzere eklenir. Bu tür yardımcı maddelerin, mevcut buluşa ait varyant proteazlarına ilave olduğu anlaşılır. Bu ek bileşenlerin hassas yapısı ve bunların eklenme seviyeleri, bileşimin fiziksel formuna ve bunun için kullanılacak temizleme işleminin yapısına bağlı

15 olacaktır. Temizleme ve/veya işlem yardımcı materyalleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere aşağıdakileri içeren listeden bir veya daha fazlasından seçilebilir: sürfaktanlar, yapıcı maddeler, ağartıcılar, ağartma aktivatörleri, ağartma katalizörleri, diğer enzimler, enzim stabilize edici sistemler, şelantlar, toprak salgılama polimerleri, boya transfer ajanları, dağıtıcılar, köpük baskılayıcılar, boyalar, parfümler, renklendiriciler, dolgu

20 maddesi tuzları, hidrotroplar, foto aktivatörler, floresan maddeler, kumaş şartlandırıcılar, kumaş yumuşatıcılar, hidrolize olabilen yüzey aktifler, koruyucular, koruyucular, antioksidanlar, çekmeyi önleyici maddeler, buruşma önleyici maddeler, germisitler, fungusitler, renk benekleri, gümüş bakım maddesi, kararma önleyici ve/veya korozyon önleyici maddeler, alkalilik kaynakları, çözündürücü maddeler,

25 taşıyıcılar, yardımcı işlem maddeleri, pigmentler ve pH kontrol ajanları, bir parfüm içeren bir enkapsülat, bir renklendirme ajanı, sürfaktanlar, yapıcı maddeler, şelatlayıcı ajanları, boya transferini inhibe edici ajanlar, dağıtıcılar, ek enzimler, enzim stabilizörleri, katalitik materyaller, ağartma aktivatörleri, hidrojen peroksit, hidrojen peroksit kaynakları, önceden oluşturulmuş preasitler, polimerik dağıtma ajanları, killi

30 toprak uzaklaştırma/yeniden birikmeyi önleyici ajanlar, parlaticılar, köpük baskılayıcılar, boyalar, parfümler, yapı elastikleştirici ajanlar, kumaş yumuşatıcıları, hidrotroplar, solventler ve karışımları (*Bakınız* örneğin U.S. Patent No. 6,610,642, 6,605,458, 5,705,464, 5,710,115, 5,698,504, 5,695,679, 5,686,014 and 5,646,101). Temizlik ve/veya işlem yardımcı materyallerinin temizlik bileşimlerinde mevcut

35 buluşa ait varyant proteazlar ile uyumlu olduğu düzenlemelerde proteaz(lar) ve

temizliğe yardımcı materyallerin iki bileşenin kombinasyonu uygun olana kadar ayrı (diğer bir ifadeyle birbiri ile temas içinde olmayan) tutulmasına yönelik uygun yöntemler kullanılır. Bu tür ayırma yöntemleri teknikte bilinen uygun herhangi bir yöntemi (örneğin jelkaplar, kapsülleme, tabletler, fiziksel ayırma vb.) içerir.

5

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi en az bir proteaz varyantı içerir ayrıca subtilisinler (EC 3.4.21.62); tripsin benzeri veya kemotripsin benzeri proteazlar; metalloproteazlar ve karışımlarından seçilen en az bir ek immüno eşdeğer olmayan proteaz içerir.

10

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir ayrıca aşağıdakilerden seçilen en az bir ek immüno eşdeğer olmayan proteaz içerir: *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* ve *B. gibsonii*'den türetilen subtilisinler (EC 3.4.21.62); *Cellulomonas*'dan türetilen tripsin proteazları ve/veya kemotripsin proteazları; *Bacillus amyloliquefaciens*'dan türetilen metalloproteazlar ve karışımları.

15

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir ayrıca, hemiselülazlar, peroksidazlar, proteazlar, selülazlar, sellobiyoz, dehidrojenazlar, ksiloglukanazlar, ksilanazlar, lipazlar, fosfolipazlar, esterazlar, kutinazlar, pektinazlar, mannanazlar, pektat liyazlar, keratinazlar, redüktazlar, oksidazlar, fenoloksidazlar, lipoksijenazlar, ligninazlar, pullulanazlar, tannazlar, pentozanazlar, likenazlar, glukanaazlar, arabinozidazlar, hiyaluronidazlar, kondroitinazlar, lakkazlar, amilazlar ve karışımlarından seçilen en az bir ek enzimi içerir.

20

25

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir ayrıca, ilk yıkama lipazları; alfa-amilazlar; bakteriyel temizleme selülazları ve karışımlarından seçilen en az bir ek enzimi içerir.

30

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir ayrıca, aşağıdakilerden en az birini içerir: parfüm mikro kapsülünü içeren parfümü içeren enkapsülant; bazik, asit, hidrofobik, direkt ve polimerik boyalar ve 550 nm ila 650 nm'lik pik absorpsiyon dalga boyuna sahip boya konjugatları ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren renk maddesi; anyonik

35



temizleyici sürfaktanlar, iyonik olmayan temizleyici sürfaktan, katyonik temizleyici sürfaktanlar, zwitter iyonik temizleyici sürfaktanlar ve amfoterik temizleyici sürfaktanlar ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren temizleyici bir sürfaktan; zeolitler, fosfatlar ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren geliştirici madde; sodyum silikat, potasyum silikat ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren silikat tuzu; 5 soğuk suda çözünür parlaticılar ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren parlatici; maleat/akrilat rastgele polimeri veya poliakrilat homopolimeri ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren karboksilat polimeri; tereftalat ko-polimerleri ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren kir çıkarma polimeri; alkil selüloz, alkil alkoksialkil selüloz, 10 karboksialkil selüloz, alkil karboksialkil selüloz ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren selülozik polimer; iminyum katyonları, iminyum poliiyonları; iminyum zwitter iyonları; modifiye aminler; modifiye amin oksitler; N-sülfonil iminler; N-fosfonil iminler; N-asil iminler; tiyadiazol dioksitler; perfloroiminler; siklik şeker ketonları ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren ağartma katalizörü; dodekanoil oksibenzen 15 sülfonat, dekanoil oksibenzen sülfonat, dekanoil oksibenzoik asit veya tuzları, 3,5,5-trimetil hekzanoiloksibenzen sülfonat, tetraasetil etilen diamin (TAED), nonanoiloksibenzen sülfonat (NOBS) ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren ağartma aktivatörü; inorganik perhidrat tuzları, örneğin alkali metal tuzları örneğin perboratın sodyum tuzları (genellikle mono- veya tetra-hidrat), perkarbonat, persülfat, 20 perfosfat, persilikat tuzları ve karışımlarından seçilen bir materyali içeren hidrojen peroksit kaynağı; DTPA (dietilen triamin pentaasetik asit), HEDP (hidroksietan difosfonik asit), DTPMP (dietilen triamin penta(metilen fosfonik asit)), etilendiamindisüksinik asit (EDDS), 1,2-dihidroksibenzen-3,5-disülfonik asit disodyum tuzu hidratı, söz konusu şelantların deriveleri ve karışımlarından seçilen bir materyali 25 içeren bir şelant.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir, boyalar; en az bir katyonik-bazik boya ve smektit kil içeren boya-kil konjugatları ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen bir kumaş 30 renklendirme maddesini içerir.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantı içerir, küçük molekülü boyalar ve polimerik boyalar ve isteğe bağlı olarak smektit kil ile karışımlarından seçilen en az bir kumaş renklendirme 35 maddesi içerir.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizleme ve/veya işlem bileşimi tek veya çok bölmeli birim dozları halinde sağlanan en az bir proteaz varyantı içerir. Bazı düzenlemelerde bileşim, çok bölmeli bir birim dozdur, burada proteaz varyantı herhangi bir hidrojen peroksit ve/veya şelant ve/veya ek enzim kaynağından farklı bir bölmededir.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi, en az bir proteaz varyantını içerir, aşağıdaki bileşenlerden birini veya birkaçını (toplam bileşim ağırlığına göre) içerir: ağırlıkça yaklaşık %0.0005 ila ağırlıkça yaklaşık %0.1, ağırlıkça yaklaşık %0.001 ila ağırlıkça yaklaşık %0.05 veya ağırlıkça yaklaşık %0.002 ila ağırlıkça yaklaşık %0.03 söz konusu soğuk su proteaz varyantı ve aşağıdakilerden bir veya birkaçı: ağırlıkça yaklaşık %0.00003 ila ağırlıkça yaklaşık %0.1 kumaş renklendirme maddesi; ağırlıkça yaklaşık %0.001 ila ağırlıkça yaklaşık %5 parfüm kapsülleri; ağırlıkça yaklaşık %0.001 ila ağırlıkça yaklaşık %1 soğuk suda çözünür parlaticı; ağırlıkça yaklaşık %0.00003 ila ağırlıkça %yaklaşık 0.1 ağartma katalizörleri; ağırlıkça yaklaşık %0.00003 ila ağırlıkça yaklaşık %0.1 ilk yıkama lipazları; ağırlıkça yaklaşık %0.00003 ila ağırlıkça yaklaşık %0.1 bakteriyel temizleme selülozları ve/veya ağırlıkça yaklaşık %0.05 ila ağırlıkça yaklaşık %20 Guerbet iyonik olmayan sürfaktanları.

Burada açıklandığı üzere kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimi bir sıvı çamaşır deterjanı, bir bulaşık yıkama deterjanıdır.

Kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşiminin sıvı veya aktı dahil uygun herhangi bir formda sağlanması tasarlanır. Kumaş ve ev bakım ürünü gibi bir temizlik ve/veya işlem bileşimi, özellikle sıvı bir formda olduğunda bir birim doz poşet formunda olabilir ve tipik olarak kumaş ve ev bakım ürünü gibi bir temizlik ve/veya işlem bileşimi en azından kısmen veya hatta tamamen suda çözünür bir poşet ile çevrelenir. Ek olarak en az bir varyantı içeren kumaş ve ev bakım ürünü gibi bir temizlik ve/veya işlem bileşimi, kumaş ve ev bakım ürünü gibi bir temizlik ve/veya işlem bileşimi yukarıda detaylı şekilde açıklanan parametreler ve/veya karakteristiklerin herhangi bir kombinasyonuna sahip olabilir. Aksi belirtilmedikçe, burada verilen tüm bileşen veya bileşim düzeyleri bu bileşenin veya bileşimin aktif düzeyine atıf yapar ve piyasadan temin edilebilen kaynaklarda mevcut olabilen safsızlıkları, örneğin kalıntı solventleri

veya yan ürünleri kapsamaz. Enzim bileşen ağırlıkları toplam aktif proteini esas alır. Tüm yüzdeler ve oranlar aksi belirtilmedikçe ağırlık esasında hesaplanır. Tüm yüzdeler ve oranlar aksi belirtilmedikçe toplam bileşime göre hesaplanır. Örnek olarak verilen deterjan bileşimlerinde enzim düzeyleri toplam bileşimin ağırlığı esasında saf enzim

5 cinsinden ifade edilir ve deterjan terkip maddeleri aksi belirtilmedikçe toplam bileşimin ağırlığı esasında ifade edilir.

Mevcut buluşun temizlik bileşimleri, örneğin çamaşır uygulamaları, sert yüzey temizlemesi, bulaşık yıkama uygulamaları ve protez dişler, diş, saç ve cilt gibi kozmetik

10 uygulamalar için avantajlı bir şekilde kullanılır. Ayrıca düşük sıcaklıklı solüsyonlardaki artmış etkinliğin özel avantajları nedeniyle mevcut buluşun enzimleri ideal olarak çamaşır uygulamalarına uygundur. Ayrıca mevcut buluşun enzimleri, granüler ve sıvı bileşimlerinde kullanılır.

15 Mevcut buluşa ait varyant proteazları ayrıca temizlik katkı maddesi ürünlerinde kullanılır. Burada açıklandığı üzere düşük sıcaklık solüsyonlu temizlik uygulamaları kullanım bulur. Burada açıklandığı üzere mevcut buluş, ek ağartma etkinliği istendiğinde bir yıkama prosesine dahil etme için ideal şekilde uygun olan mevcut buluşa ait en az bir enzimi temizlik katkı maddesi ürünlerini sağlar. Bu tür örnekler

20 bunlarla sınırlı olmamak üzere düşük sıcaklık solüsyonlu temizlik uygulamalarını içerir. Burada açıklandığı üzere katkı ürünü, en basit formunda bir veya daha fazla proteazdır. Burada açıklandığı üzere katkı maddesi, bir temizlik prosesine eklemekten önce dozaj formda paketlenir. Burada açıklandığı üzere katkı maddesi, bir temizlik prosesine ekleme için dozaj formda paketlenir burada bir peroksijen kaynağı kullanılır ve artmış

25 ağartma etkinliği istenir. Uygun herhangi bir tekli dozaj birim formu, bunlarla sınırlı olmamak üzere haplar, tabletler, jelkaplar veya diğer tekli dozaj birimleri örneğin önceden ölçülmüş tozlar veya sıvılar dahil mevcut buluş ile kullanım bulur. Bazı düzenlemelerde dolgu madde veya taşıyıcı materyaller, bu tür bileşimlerin hacmini arttırmak üzere dahil edilir. Uygun dolgu maddesi veya taşıyıcı materyaller bunlarla

30 sınırlı olmamak üzere çeşitli sülfat, karbonat ve silikat tuzlarını ve ayrıca talk, kil ve benzerini içerir. Sıvı bileşimler için uygun dolgu maddesi veya taşıyıcı materyaller bunlarla sınırlı olmamak üzere polioller ve dioller dahil su veya düşük moleküler ağırlıklı primer ve sekonder alkollerini içerir. Bu tür alkollerin örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere metanol, etanol, propanol ve izopropanol içerir. Burada açıklandığı üzere

35 bileşimler, bu tür materyallerin yaklaşık %5'i ila yaklaşık %90'nını içerir. Asidik dolgu

maddeleri, pH değerini azaltmak üzere kullanım bulur. Alternatif olarak burada açıklandığı üzere temizleme katkı maddesi aşağıda tamamen açıklandığı üzere yardımcı bileşenleri içerir.

- 5 Mevcut temizleme bileşimleri ve temizleme katkıları, tek başına veya diğer proteazlar ve/veya ek enzimler ile kombinasyon halinde burada sağlanan proteaz varyantlarından, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarından en az birinin etkili miktarını gerektirir. Enzimin gerekli miktarı, mevcut buluşun bir veya birkaç proteaz varyantının, daha spesifik olarak subtilisin varyantının eklenmesi ile sağlanabilir. Tipik olarak mevcut
- 10 temizlik bileşimleri, yaklaşık en az ağırlıkça yüzde 0.0001, yaklaşık ağırlıkça yüzde 0.0001 ila yaklaşık 10, yaklaşık 0.001 ila yaklaşık 1 veya yaklaşık 0.01 ila yaklaşık 0.1 mevcut buluşun varyant proteazlarından en az birini içerir.

- Buradaki temizlik bileşimleri tipik olarak, aköz temizleme işlemlerinde kullanım
- 15 esnasında yıkama suyu, yaklaşık 5.0 ila yaklaşık 11.5 veya yaklaşık 7.5 ila yaklaşık 10.5 olan bir pH değerine sahip olacak şekilde formüle edilir. Sıvı ürün formülasyonları tipik olarak, yaklaşık 3.0 ila yaklaşık 9.0 veya yaklaşık 3 ila yaklaşık 5 olan saf bir pH değerine sahip olacak şekilde formüle edilir. Granüler çamaşır ürünleri tipik olarak, yaklaşık 9 ila yaklaşık 11 olan bir pH değerine sahip olacak şekilde formüle edilir.
- 20 Önerilen kullanım seviyelerinde pH değerinin kontrol edilmesine yönelik yöntemler, tampon, alkali, asit ve benzerlerinin kullanımını içerir ve teknikte uzman kişilerce iyi bilinir.

- Uygun “düşük pH seviyeli temizlik bileşimleri” tipik olarak yaklaşık 3 ila yaklaşık 5
- 25 arasında bir katkısız pH seviyesine sahiptir ve tipik olarak bu tip bir pH ortamında hidrolize olan yüzey aktiflerden yoksundur. Bu tip yüzey aktifler, en az bir etilen oksit grubuna sahip olan ve hatta yaklaşık 1 ila yaklaşık 16 mol etilen oksit içeren sodyum alkil sülfat yüzey aktifleri kapsar. Bu tip temizlik bileşimleri tipik olarak temizlik bileşiminin yaklaşık 3 ila yaklaşık 5 arasında bir katkısız pH seviyesine sahip olmasını
- 30 sağlamak üzere yeterli miktarda bir pH değiştirici, örneğin sodyum hidroksit, monoetanolamin veya hidroklorik asit içerir. Bu tip bileşimler tipik olarak aside dayanıklı en az bir enzim içerir. Bazı düzenlemelerde bileşimler sıvıdır, diğer düzenlemelerde ise katıdır. Bu sıvı bileşimlerin pH seviyesi genelde bir katkısız pH olarak ölçülür. Bu katı bileşimlerin pH seviyesi bahsedilen bileşimin %10'luk katı solüsyonu olarak ölçülür,

burada solvent olarak damıtık su kullanılır. Burada açıklandığı üzere tüm pH ölçümleri aksi belirtilmedikçe 20°C'de yapılır.

burada açıklandığı üzere, buluşun varyant proteazının (proteazlarının) bir granüler veya sıvı bileşimde kullanıldığı durumlarda, depolama esnasında varyant proteazı granüler bileşimin diğer bileşenlerinden korumak amacıyla varyant proteazın bir kapsüllenmiş partikül formunda olması arzu edilebilir. Kapsülleme ayrıca temizleme işlemi esnasında varyant proteazın mevcudiyetini kontrol etmeye yönelik bir yöntemdir. Burada açıklandığı üzere kapsülleme varyant proteazın (proteazların) ve/veya ilave enzimlerin performansını artırır. Bu bağlamda, mevcut buluşun varyant proteazları ilgili teknikte bilinen uygun herhangi bir kapsülleyici materyal ile kapsülendir. Burada açıklandığı üzere kapsülleyici materyal tipik olarak mevcut buluşun varyant proteazına (proteazlarına) yönelik katalizörün en azından bir kısmını kapsüller. Kapsülleyici materyal tipik olarak suda çözünebilir ve/veya suda dağılılabılır. Burada açıklandığı üzere, kapsülleyici materyal 0°C veya daha yüksek bir cam geçiş sıcaklığına (Tg) sahip olabilir. Cam geçiş sıcaklığı WO 97/11151'de daha ayrıntılı olarak tarif edilir. Kapsülleyici materyal tipik olarak karbonhidratlar, doğal veya sentetik zamlar, kitin, kitosan, selüloz ve selüloz türevleri, silikatlar, fosfatlar, boratlar, polivinil alkol, polietilen glikol, parafin vakslar ve bunların kombinasyonlarından oluşan gruptan seçilir. Bir karbonhidrat olması halinde kapsülleyici materyal tipik olarak monosakkaritler, oligosakkaritler, polisakkaritler ve bunların kombinasyonları arasından seçilir. Burada açıklandığı üzere kapsülleyici materyal bir nişastadır (bkz. örneğin EP 0 922 499; US 4,977,252; US 5,354,559 ve US 5,935,826). Burada açıklandığı üzere kapsülleyici materyal, termoplastikler, akrilonitril, metakrilonitril, poliakrilonitril, polimetakrilonitril ve bunların karışımları gibi plastikten mamul bir mikroküredir; piyasadan temin edilebilen kullanıma sahip mikroküreler bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla EXPANCEL® (Stockviksverken, İsveç) tarafından tedarik edilenleri ve PM 6545, PM 6550, PM 7220, PM 7228, EXTENDOSPHERES®, LUXSIL®, Q-CEL® ve SPHERICEL® (PQ Corp., Valley Forge, PA) ürünlerini kapsar.

30

Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun varyant proteazları özellikle, bunlarla sınırlı olmamak üzere çamaşır ve bulaşık deterjanları da dahil temizlik endüstrisinde kullanılır. Bu uygulamalar enzimleri çeşitli çevresel streslere sokar. Mevcut buluşun varyant proteazları, çeşitli koşullar altındaki stabiliteleri nedeniyle halihazırda kullanılan birçok enzime göre avantaj sağlar.

35

Aslında, yıkamaya dahil olan proteazların maruz kaldığı değişken deterjan formülasyonları, yıkama suyu hacimleri, yıkama suyu sıcaklıkları ve yıkama süresi uzunluklarını içeren çeşitli yıkama koşulları mevcuttur. Ayrıca, farklı coğrafi bölgelerde

5 kullanılan deterjan formülasyonları, yıkama suyunda bulunan ilgili bileşenleri farklı konsantrasyonlarda içermektedir. Örneğin Avrupa deterjanları tipik olarak yıkama suyunda yaklaşık 4500-5000 milyonda kısım (ppm) deterjan bileşeni içerir, Japon deterjanları ise tipik olarak yıkama suyunda yaklaşık 667 ppm deterjan bileşeni içerir. Kuzey Amerika'da ve özellikle de ABD'de deterjanlar tipik olarak yıkama suyunda

10 yaklaşık 975 ppm deterjan bileşeni içerir.

Düşük deterjan konsantrasyonlu bir sistem, yıkama suyunda yaklaşık 800 ppm'den düşük oranda deterjan bileşeni içeren deterjanları kapsar. Japon deterjanları genelde düşük deterjan konsantrasyonlu sistemler olarak kabul edilir, çünkü yıkama suyunda

15 yaklaşık 667 ppm deterjan bileşeni içerir.

Bir orta deterjan konsantrasyonu, yıkama suyunda yaklaşık 800 ppm ile yaklaşık 2000 ppm arasında deterjan bileşeni içeren deterjanları kapsar. Kuzey Amerika deterjanları genelde orta deterjan konsantrasyonlu sistemler olarak kabul edilir, çünkü yıkama

20 suyunda yaklaşık 975 ppm deterjan bileşeni içerir. Brezilya'da yıkama suyunda tipik olarak yaklaşık 1500 ppm deterjan bileşeni bulunur.

Yüksek deterjan konsantrasyonlu bir sistem, yıkama suyunda yaklaşık 2000 ppm'den yüksek oranda deterjan bileşeni içeren deterjanları kapsar. Avrupa deterjanları genelde

25 yüksek deterjan konsantrasyonlu sistemler olarak kabul edilir, çünkü yıkama suyunda yaklaşık 4500-5000 ppm deterjan bileşeni içerir.

Latin Amerika deterjanları genel olarak bol köpüklü fosfat yapıcı deterjanlardır ve Latin Amerika'da kullanılan deterjanların aralığı hem orta hem de yüksek deterjan konsantrasyon düzeylerinin kapsamına girebilir, çünkü yıkama suyunda 1500 ppm ile 6000 ppm deterjan bileşeni içerir. Yukarıda belirtildiği üzere, Brezilya'da tipik olarak yıkama suyunda yaklaşık 1500 ppm deterjan bileşeni bulunur. Ancak diğer Latin Amerika ülkeleri ile sınırlı olmayan bol köpüklü fosfat yapıcı deterjan kullanan diğer coğrafyalar, yıkama suyunda yaklaşık 6000 ppm kadar deterjan bileşeni içeren yüksek

35 deterjan konsantrasyonlu sistemlere sahip olabilir.

Yukarıda anlatılanlar doğrultusunda, dünya genelinde tipik yıkama solüsyonlarında deterjan bileşimlerinin konsantrasyonlarının yaklaşık 800 ppm'den düşük deterjan bileşimi oranlarından ("düşük deterjan konsantrasyonlu coğrafyalar") (örneğin Japonya'da yaklaşık 667 ppm) yaklaşık 800 ppm ile yaklaşık 2000 ppm'lik oranlara ("orta deterjan konsantrasyonlu coğrafyalar") (örneğin ABD'de yaklaşık 975 ppm ve Brezilya'da yaklaşık 1500 ppm) ve yaklaşık 2000 ppm'den yüksek oranlara ("yüksek deterjan konsantrasyonlu coğrafyalar") (örneğin Avrupa'da yaklaşık 4500 ppm ile yaklaşık 5000 ppm ve bol köpüklü fosfat yapıcı madde kullanılan coğrafyalarda yaklaşık 6000 ppm) kadar değiştiği açıktır.

Tipik yıkama solüsyonlarının konsantrasyonları ampirik olarak belirlenir. Örneğin ABD'de tipik bir çamaşır makinesi yaklaşık 64.4 L yıkama solüsyonu hacmine sahiptir. Dolayısıyla, yıkama solüsyonunda yaklaşık 975 ppm'lik bir deterjan konsantrasyonu elde etmek için 64.4 L yıkama solüsyonuna yaklaşık 62.79 g deterjan bileşiminin eklenmesi gerekir. Bu miktar, tüketici tarafından deterjan ile birlikte verilen ölçü kabı ile ölçülerek yıkama suyuna ilave edilen tipik miktardır.

Başka bir örnek olarak, farklı coğrafyalarda farklı yıkama sıcaklıkları kullanılır. Japonya'da kullanılan yıkama suyu sıcaklığı tipik olarak Avrupa'dan düşüktür. Örneğin Kuzey Amerika'da ve Japonya'da yıkama suyu sıcaklığı tipik olarak yaklaşık 10 ila yaklaşık 30°C arasındadır (örneğin yaklaşık 20°C'dir), Avrupa'da yıkama suyu sıcaklığı ise tipik olarak yaklaşık 30 ila yaklaşık 60°C arasındadır (örneğin yaklaşık 40°C'dir). Ancak enerji tasarrufu bakımından birçok tüketici soğuk suda yıkamaya geçmektedir. Bunların yanı sıra bazı bölgelerde çamaşır ve ayrıca bulaşık yıkama uygulamalarında tipik olarak soğuk su kullanılmaktadır. Bazı düzenlemelerde, mevcut buluşa göre "soğuk suyla yıkamada", yaklaşık 10°C ila yaklaşık 40°C veya yaklaşık 20°C ila yaklaşık 30°C veya yaklaşık 15°C ila yaklaşık 25°C arasındaki sıcaklıklarda ve ayrıca yaklaşık 15°C ila yaklaşık 35°C arasındaki tüm diğer kombinasyonlar ve 10°C ila 40°C arasındaki tüm diğer kombinasyonlarda yıkamaya uygun "soğuk su deterjanını" kullanır.

Başka bir örnek olarak, farklı coğrafyalar tipik olarak farklı su sertliklerine sahiptir. Su sertliği genellikle birim galonda bulunan karışık  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  taneleri cinsinden ifade edilir. Sertlik, sudaki kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) ve magnezyum ( $Mg^{2+}$ ) miktarının bir ölçüsüdür.

ABD'deki suların çoğu serttir, ancak sertlik derecesi değişkenlik gösterir. Orta derecede sert (60-120 ppm) ila sert (121-181 ppm) su, 60 ila 181 milyonda kısım sertlik minerali içerir (milyonda kısmın tane/ABD galonu birimine dönüştürölmüş hali, ppm değerinin 17.1'e bölünmesi yoluyla elde edilen tane/galon eşdeğeridir).

5

| Su                 | Tane/galon   | Milyonda kısım |
|--------------------|--------------|----------------|
| Yumuşak            | <1.0         | <17            |
| Hafif sert         | 1.0 ila 3.5  | 17 ila 60      |
| Orta derecede sert | 3.5 ila 7.0  | 60 ila 120     |
| Sert               | 7.0 ila 10.5 | 120 ila 180    |
| Çok sert           | >10.5        | >180           |

Avrupa su sertliği tipik olarak yaklaşık 10.5 (örneğin yaklaşık 10.5 ila yaklaşık 20.0) tane/galon karışık  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  seviyesinden yüksektir (örneğin yaklaşık 15 tane/galon karışık  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ). Kuzey Amerika su sertliği tipik olarak Japon su sertliğinden yüksektir, ancak Avrupa su sertliğinden düşüktür. Örneğin Kuzey Amerika su sertliği yaklaşık 3 ila yaklaşık 10 tane/galon, yaklaşık 3 ila yaklaşık 8 tane/galon veya yaklaşık 6 tane/galon olabilir. Japon su sertliği tipik olarak Kuzey Amerika su sertliğinden küçüktür ve genellikle yaklaşık 4, örneğin yaklaşık 3 tane/galon karışık  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  seviyesinden düşüktür.

15

Dolayısıyla burada, en az bir yıkama koşulu kümesinde (örneğin su sıcaklığı, su sertliği ve/veya deterjan konsantrasyonu) şaşırtıcı yıkama performansı sergileyen istem 1'de tanımlanan varyant proteazlar açıklanır. Burada mevcut buluşun varyant proteazlarının diğer subtilisin proteazları ile yıkama performansı bakımından karşılaştırılabilir olduğu açıklanır. Burada mevcut buluşun varyant proteazlarının, halihazırda piyasadan temin edilebilen subtilisin proteazlara kıyasla daha yüksek bir yıkama performansı sergilediği açıklanır. Burada artmış oksidatif stabilite, artmış termal stabilite, çeşitli koşullar altında artmış temizleme kapasiteleri ve/veya artmış şelatlayıcı stabilitesi sergileyen varyant proteazlar açıklanır. Ayrıca, mevcut buluşun varyant proteazları, deterjan içermeyen temizlik bileşimlerinde tek başına veya yapıcı maddeler ve stabilizörler ile kombinasyon halinde kullanıma sahiptir.

25



Burada açıklandığı üzere temizlik bileşimi, mevcut buluşun en az bir varyant proteazını bileşimin ağırlığı esasında yaklaşık %0.00001 ile yaklaşık %10'luk bir düzeyde içeren ve geriye kalanında (örneğin bileşimin ağırlığı esasında yaklaşık %99.999 ile yaklaşık %90.0 oranında) bileşimin ağırlığı esasında ek temizlik materyali ihtiva eder. Burada

5 açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri, bileşimin ağırlığı esasında yaklaşık %0.0001 ile yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %5, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %2 veya yaklaşık %0.005 ile yaklaşık %0.5'lik bir düzeyde içeren ve geriye kalanında (örneğin ağırlıkça yaklaşık %99.9999 ile yaklaşık %90.0, yaklaşık 99.999 % ile yaklaşık %98, yaklaşık %99.995 ile yaklaşık %99.5 oranında) ek temizlik materyali

10 ihtiva eder.

Burada açıklandığı üzere temizlik bileşimleri, temizlik performansı ve/veya kumaş bakımı ve/veya bulaşık yıkama faydaları sağlayan bir veya birkaç ek deterjan enzimini içerir. Uygun enzimlerin örnekleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere hemiselülazlar,

15 selülazlar, peroksidazlar, proteazlar, ksilanazlar, lipazlar, fosfolipazlar, esterazlar, kutinazlar, pektinazlar, pektat liyazlar, mannanazlar, keratinazlar, redüktazlar, oksidazlar, fenoloksidazlar, lipoksijenazlar, ligninazlar, pullulanazlar, tannazlar, pentozanazlar, malanazlar,  $\beta$ -glukanazlar, arabinozidazlar, hiyaluronidazlar, kondroitinazlar, lakkazlar ve amilazlar veya her türlü kombinasyonları veya

20 karışımlarını içerir. Bazı düzenlemelerde amilaz ile birlikte proteaz, lipaz, kutinaz ve/veya selülaz gibi klasik olarak uygulanabilen enzimleri içeren enzim kombinasyonu (yani bir kokteyl) kullanılır.

Burada sağlanan proteaz varyantlarına, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarına ek

25 olarak mevcut buluşun bileşimlerinde uygun her türlü proteaz kullanılır. Uygun proteazlar, hayvansal, bitkisel veya mikrobiyal kökenli olanları içerir. Burada açıklandığı üzere mikrobiyal proteazlar kullanılır. Burada açıklandığı üzere kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar dahil edilir. Burada açıklandığı üzere proteaz, bir serin proteaz, tercihen mikrobiyal proteaz veya tripsin benzeri proteazdır. Alkali

30 proteazların örnekleri, subtilisinler, özellikle *Bacillus*'tan derive edilenleri (örneğin, subtilisin, *lentus*, *amyloliquefaciens*, subtilisin Carlsberg, subtilisin 309, subtilisin 147 ve subtilisin 168) içerir. Ek örnekler, U.S. Patent No. RE 34,606, 5,955,340, 5,700,676, 6,312,936 ve 6,482,628'de açıklanan mutant proteazları içerir. Ek proteaz örnekleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere tripsin (örneğin domuz veya

35 sığır kökenli) ve WO 89/06270'te açıklanan *Fusarium* proteazını içerir. Bazı

düzenlemelerde mevcut buluşta kullanılan ticari olarak temin edilebilir proteaz enzimleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere MAXATASE®, MAXACAL™, MAXAPEM™, OPTICLEAN®, OPTIMASE®, PROPERASE®, PURAFECT®, PURAFECT® OXP, PURAMAX™, EXCELLASE™ ve PURAFAST™ (Genencor); ALCALASE®, SAVINASE®, PRIMASE®, DURAZYM™, POLARZYME®, OVOZYME®, KANNASE®, LIQUANASE®, NEUTRASE®, RELEASE® ve ESPERASE® (Novozymes); BLAP™ ve BLAP™ varyantları (Henkel Kommanditgesellschaft auf Aktien, Duesseldorf, Almanya) ve KAP'yi (*B. alkalophilus subtilisin*; Kao Corp., Tokyo, Japan) içerir. Çeşitli proteazlar WO95/23221, WO 92/21760, U.S. Patent Yayın No. 2008/0090747 ve U.S. Patent No. 5,801,039, 5,340,735, 5,500,364, 5,855,625, US RE 34,606, 5,955,340, 5,700,676, 6,312,936 ve 6,482,628 ve diğer çeşitli patentlerde açıklanır. Burada açıklandığı üzere bunlarla sınırlı olmamak üzere WO 07/044993'te açıklanan nötral metalloproteaz da dahil metalloproteazlar mevcut buluşta kullanılır.

Ayrıca mevcut buluşta uygun herhangi bir lipaz kullanılır. Uygun lipazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar mevcut buluş tarafından kapsanır. Faydalı lipazların örnekleri, *Humicola lanuginosa* lipazı (Bakınız örneğin EP 258 068 ve EP 305 216), *Rhizomucor miehei* lipazı (Bakınız örneğin EP 238 023), *Candida* lipazı, örneğin *C. antarctica* lipazı (örneğin *C. antarctica* lipazı A veya B; Bakınız örneğin EP 214 761), *Pseudomonas* lipazları örneğin *P. alcaligenes* lipazı ve *P. pseudoalcaligenes* lipazı (Bakınız örneğin EP 218 272), *P. cepacia* lipazı (Bakınız örneğin EP 331 376), *P. stutzeri* lipazı (Bakınız örneğin GB 1,372,034), *P. fluorescens* lipazı, *Bacillus* lipazı (örneğin, *B. subtilis* lipazı [Dartois et al., Biochem. Biophys. Acta 1131:253-260 [1993]]); *B. stearothermophilus* lipazı [Bakınız örneğin JP 64/744992] ve *B. pumilus* lipazını [Bakınız örneğin WO 91/16422]) içerir.

Ayrıca bununla sınırlı olmamak üzere *Penicillium camembertii* lipazı (Bakınız Yamaguchi et al., Gene 103:61-67 [1991]), *Geotricum candidum* lipazı (Bakınız Schimada et al., J. Biochem., 106:383-388 [1989]) ve çeşitli *Rhizopus* lipazları örneğin *R. delemar* lipazı (Bakınız Hass et al., Gene 109:117-113 [1991]), *R. niveus* lipazı (Kugimiya et al., Biosci. Biotech. Biochem. 56:716-719 [1992]) ve *R. oryzae* lipazı da dahil klonlanmış birkaç lipaz mevcut buluşun bazı düzenlemelerinde kullanılır.

Bunlarla sınırlı olmamak üzere *Pseudomonas mendocina*'dan (Bakınız WO 88/09367) derive edilen kutinaz ve *Fusarium solani pisi* (Bakınız WO 90/09446) derive edilen kutinaz da dahil kutinazlar gibi lipolitik enzimlerin diğer türleri de mevcut buluşun bazı düzenlemelerinde kullanılır.

5

Uygun ek lipazlar, M1 LIPASE™, LUMA FAST™ ve LIPOMAX™ (Genencor); LIPEX®, LIPOLASE® ve LIPOLASE® ULTRA (Novozymes) ve LIPASE P™ "Amano" (Amano Pharmaceutical Co. Ltd., Japonya) gibi ticari olarak temin edilebilen lipazları içerir.

- 10 Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri ayrıca, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ila yaklaşık %10 ek lipaz seviyesinde lipaz içerir ve geri kalan kısım bileşimin ağırlığına göre yardımcı temizlik materyalleridir. Mevcut buluşun diğer bazı düzenlemelerinde mevcut buluşun temizlik bileşimleri aynı zamanda bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ila yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ila yaklaşık %5, 15 yaklaşık %0.001 ila yaklaşık %2, yaklaşık %0.005 ila yaklaşık %0.5 lipaz seviyesinde lipazlar içerir.

- Burada açıklandığı üzere uygun herhangi bir amilaz mevcut buluşta kullanılır. Bazı düzenlemelerde alkali solüsyonlarda kullanılmaya uygun herhangi bir amilaz (örneğin 20 alfa ve/veya beta) kullanılır. Uygun amilazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Bazı düzenlemelere kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar dahil edilir. Mevcut buluşta kullanılan amilazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere *B. licheniformis*'ten (Bakınız örneğin, GB 1,296,839) elde edilen  $\alpha$ -amilazları içerir. Mevcut buluşta kullanılan ticari olarak temin edilebilir amilazlar, 25 bunlarla sınırlı olmamak üzere DURAMYL®, TERMAMYL®, FUNGAMYL®, STAINZYME®, STAINZYME PLUS®, STAINZYME ULTRA® ve BAN™ (Novozymes) ve POWERASE™, RAPIDASE® ve MAXAMYL® P'yi (Genencor) içerir.

- Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri ayrıca, bileşimin ağırlığına 30 göre yaklaşık %0.00001 ila yaklaşık %10 ek amilaz seviyesinde amilazlar içerir ve geri kalan kısım, bileşiğin ağırlığına göre yardımcı temizlik materyalleridir. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri aynı zamanda, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ila yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ila yaklaşık %5, yaklaşık %0.001 ila yaklaşık %2, yaklaşık %0.005 ila yaklaşık %0.5 amilaz seviyesinde 35 amilazlar içerir.

- Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimlerinde uygun herhangi bir selüloz kullanılır. Uygun selülozlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Bazı düzenlemelere kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar dahil edilir. Uygun selülozlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere *Humicola insolens* selülozlarını (*Bakınız örneğin*, U.S. Patent No. 4,435,307) içerir. Özellikle uygun selülozlar, renk bakım faydalarına sahip selülozlardır (*Bakınız örneğin*, EP 0 495 257). Mevcut buluşta kullanılan ticari olarak temin edilebilir selülozlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere CELLUZYME®, CAREZYME® (Novozymes) ve KAC-500(B)<sup>TM</sup>'yi (Kao Corporation) içerir. Burada açıklandığı üzere selülozlar, olgun doğal suş veya varyant selülozların parçaları veya fragmanları olarak eklenir, burada N-terminalin bir parçası silinir (*Bakınız örneğin* U.S. Patent No. 5,874,276). Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri ayrıca, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ile yaklaşık %10 ek selüloz seviyesinde selülozlar içerir ve geri kalan kısım, bileşimin ağırlığına göre yardımcı temizlik materyalleridir. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri aynı zamanda, yaklaşık %0.0001 ile yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %5, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık 52, yaklaşık %0.005 ile yaklaşık %0.5 selüloz seviyesinde selülozlar içerir.
- 20 Deterjan bileşimlerinde kullanılmaya uygun herhangi bir mannanaz da mevcut buluşta kullanılır. Uygun mannanazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Bazı düzenlemelere kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar dahil edilir. Mevcut buluşta kullanılan çeşitli mannanazlar bilinir (*Bakınız örneğin* U.S. Patent No. 6,566,114, U.S. Patent No.6,602,842 ve US Patent No. 6,440,991). Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri ayrıca, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ile yaklaşık %10 ek mannanaz seviyesinde mannanazlar içerir ve geri kalan kısım, bileşimin ağırlığına göre yardımcı ek materyallerdir. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri aynı zamanda, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.0001 ile yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %5, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %2, yaklaşık %0.005 ile yaklaşık %0.5 mannanaz seviyesinde mannanazlar içerir.

- Burada açıklandığı üzere peroksidazlar, mevcut buluşun bileşimlerinde hidrojen peroksit veya bir kaynağı (örneğin perkarbonat, perborat veya persülfat) ile kombinasyon halinde kullanılır. Burada açıklandığı üzere oksidazlar, oksijen ile

kombinasyon halinde kullanılır. Enzimlerin her iki türü, tercihen bir geliştirme maddesi (Bakınız örneğin WO 94/12621 ve WO 95/01426) ile birlikte "solüsyon ağartma" (yani, kumaşlar yıkama çözeltisinde birlikte yıkandığında tekstil boyasının boyalı bir kumaştan bir başka kumaşa transferini önlemek amacıyla) amacıyla kullanılır. Uygun

5 peroksidazlar/oksidazlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere bitkisel, bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Kimyasal veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar burada açıklanır. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri ayrıca, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.00001 ile yaklaşık %10 ek peroksidaz ve/veya oksidaz seviyesinde peroksidaz ve/veya oksidaz enzimlerini içerir ve geri kalan kısım, bileşimin

10 ağırlığına göre yardımcı temizlik materyalleridir. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun temizlik bileşimleri aynı zamanda, bileşimin ağırlığına göre yaklaşık %0.0001 ile yaklaşık %10, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %5, yaklaşık %0.001 ile yaklaşık %2, yaklaşık %0.005 ile yaklaşık %0.5 peroksidaz ve/veya oksidaz enzimleri seviyesinde peroksidaz ve/veya oksidaz enzimlerini içerir.

15

Burada açıklandığı üzere bunlarla sınırlı olmamak üzere perhidrolazlar da dahil (Bakınız örneğin, WO 05/056782) ek enzimler kullanılır. Ayrıca burada açıklandığı üzere yukarıda bahsedilen enzimlerin karışımları, özellikle bir veya birkaç ek proteaz, amilaz, lipaz, mannanaz ve/veya en az bir selüloz burada kapsanır. Aslında, bu

20 enzimlerin çeşitli karışımlarının mevcut buluşta kullanılması öngörülür. Aynı zamanda varyant proteazın(proteazların) ve bir veya birkaç ek enzimin değişen seviyelerinin bağımsız olarak, yaklaşık %10'a kadar çıkabilen bir aralıkta olabileceği, temizlik bileşiminin geri kalan kısmının yardımcı temizlik materyalleri olduğu öngörülür. Yardımcı temizlik materyallerinin spesifik seçimi, temizlenecek yüzey, eşya veya

25 kumaşın ve kullanım esnasında temizlik koşullarına yönelik istenen bileşim formunun (örneğin yıkama deterjanı kullanılarak) dikkate alınması ile kolay bir şekilde yapılır.

Örnek olarak, mevcut buluşun varyant proteazlarının kullanıma sahip olduğu birtakım temizlik bileşimleri aşağıdaki paragraflarda daha ayrıntılı olarak tarif edilmektedir.

30 Mevcut buluşun temizlik bileşimlerinin çamaşır makinesi yıkama yöntemi (yöntemleri) için uygun bileşimler olarak formüle edildiği bazı düzenlemelerde, mevcut buluşun bileşimleri tercihen en az bir yüzey aktif ve en az bir yapıcı bileşik ve ayrıca organik polimerik bileşikler, ağartıcı maddeler, ilave enzimler, köpük baskılayıcılar, dağıtıcılar, kalsiyum sabunu dağıtıcıları, kir süspansiyonu ve yeniden tortulaşmayı önleyici

35 maddeler ve korozyon inhibitörlerinden seçilen bir veya daha fazla ek temizlik

materyalini içerir. Bazı düzenlemelerde, çamaşır yıkama bileşimleri ayrıca bir veya daha fazla yumuşatıcı madde (yani ilave ek temizlik materyalleri olarak) içerir. Mevcut buluşun bileşimleri ayrıca katı veya sıvı formdaki deterjan katkı maddesi ürünleri olarak kullanıma sahiptir. Bu katkı maddesi ürünlerinin konvansiyonel deterjan bileşimlerinin performansını desteklemesi ve/veya pekiştirmesi amaçlanır ve bu ürünler temizleme işleminin herhangi bir aşamasında ilave edilebilir. Burada açıklandığı üzere, buradaki çamaşır deterjanı bileşimlerinin yoğunluğu 20°C'de ölçüldüğü üzere yaklaşık 400 ila yaklaşık 1200 g/litre arasında değişir, ayrıca açıklandığı üzere ise yaklaşık 500 ila yaklaşık 950 g/litre arasında değişir.

10

Burada açıklandığı üzere U.S. Patent No. 6,605,458'de açıklananlar gibi çeşitli temizlik bileşimleri, mevcut buluşun varyant proteazları ile kullanılır. Dolayısıyla bazı düzenlemelerde mevcut buluşun en az bir varyant proteazını içeren bileşimler, bir kompakt granüler kumaş temizleme bileşimidir, diğer düzenlemelerde bileşim, renkli kumaşların yıkanması için faydalı bir granüler kumaş temizleme bileşimidir; diğer düzenlemelerde bileşim, yıkama kapasitesi boyunca yumuşama sağlayan bir granüler kumaş temizleme bileşimidir, ilave düzenlemelerde bileşim, bir ağır hizmet tipi sıvı kumaş temizleme bileşimidir. Bazı düzenlemelerde, mevcut buluşun en az bir varyant proteazını içeren bileşimler, U.S. Patent No. 6,610,642 ve 6,376,450'de tarif edilenler gibi kumaş temizleme bileşimleridir. Ayrıca, mevcut buluşun varyant proteazları, Avrupa veya Japon yıkama koşulları altında belirli kullanımlara sahip granüler çamaşır deterjanı bileşimlerinde kullanılır (bkz. örneğin U.S. Patent No. 6,610,642).

15

20

25

Burada açıklandığı üzere mevcut buluş, burada sağlanan en az bir varyant proteaz içeren sert yüzey temizleme bileşimlerini sağlar. Burada açıklandığı üzere mevcut buluşun en az bir varyant proteazını içeren bileşimler, U.S. Patent No. 6,610,642, 6,376,450 ve 6,376,450'de açıklananlar gibi sert yüzey temizleme bileşimidir.

30

Burada, burada sağlanan en az bir varyant proteazı içeren bulaşık yıkama bileşimleri açıklanır. Burada açıklanan mevcut buluşun en az bir varyant proteazını içeren bileşimler, U.S. Patent No. 6,610,642 ve 6,376,450'dekiler gibi sert yüzey temizleme bileşimidir. Burada, burada sağlanan en az bir varyant proteazı içeren bulaşık yıkama bileşimleri açıklanır. Burada açıklanan mevcut buluşun en az bir varyant proteazını içeren bileşimler, U.S. Patent No. 6,376,450 ve 6,376,450'dekiler gibi ağız bakımı

35

bileşimlerini içerir. Yukarıda bahsedilen US Patent No. 6,376,450, 6,605,458, 6,605,458 ve 6,610,642'de yer alan bileşiklerin ve yardımcı temizlik materyallerinin formülasyonları ve açıklamaları, burada sağlanan varyant proteazlar ile birlikte kullanılır.

5

Mevcut buluşun temizlik bileşimleri, uygun olan herhangi bir formda formüle edilir ve formül yapan kişi tarafından seçilen herhangi bir proses ile hazırlanır, bunların sınırlayıcı olmayan örnekleri, U.S. Patent No. 5,879,584, 5,691,297, 5,574,005, 5,569,645, 5,565,422, 5,516,448, 5,489,392

10 ve 5,486,303'te açıklanır. Düşük pH değerli bir temizlik bileşimi istendiğinde bu bileşimin pH değeri, monoetanolamin gibi bir materyalin veya HCl gibi asidik bir materyalin eklenmesi yoluyla ayarlanır.

Burada açıklanan temizlik bileşimleri, bir yerin (örneğin bir yüzey, eşya, sofa takımı, 15 veya kumaş) temizlenmesinde kullanıma sahiptir. Tipik olarak, bir mevcut temizlik bileşiminin düzenlemesi yerin en azından bir kısmına katkısız veya bir yıkama çözeltisinde seyreltilmiş formda temas ettirilir ve akabinde yer isteğe bağlı olarak yıkanır ve/veya durulanır. Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda "yıkama" işlemi bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla ovalama ve mekanik çalkalamayı kapsar. Bazı 20 düzenlemelerde, temizlik bileşimleri solüsyonda tipik olarak yaklaşık 500 ppm ile yaklaşık 15000 ppm'lik konsantrasyonlarda kullanılır. Yıkama solventinin su olduğu durumlarda su sıcaklığı tipik olarak yaklaşık 5°C ile yaklaşık 90°C arasında değişir ve yerin bir kumaş içermesi halinde su:kumaş kütle oranı tipik olarak yaklaşık 1:1 ile yaklaşık 30:1 arasındadır.

25

Uygun temizleme ve/veya işlem yardımcı maddeleri ile ilgili daha fazla detay aşağıda verilir.

### **Kumaş Renklendirme Ajanları.**

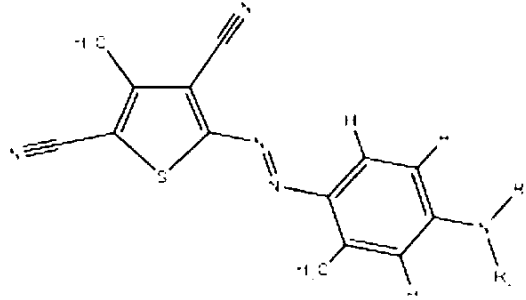
30

Tiyofen azo boyaya ek olarak ek kumaş tonlama boyalarının eklenmesi tercih edilmemesine rağmen bileşim, bir veya daha fazla ek kumaş renklendirme ajanlarını içerebilir. Uygun kumaş renklendirme ajanları boyalar, boya-kil konjugatları ve pigmentleri içerir. Uygun boyalar poliestere ve/veya naylon gibi sentetik dokuma 35 kumaşlar üzerindeki birikmeye kıyasla pamuk dokuma kumaşlar üzerinde daha fazla

- birikenleri içerir. İlave uygun boyalar, pamuğa kıyasla poliestester ve/veya naylon gibi sentetik lifler üzerinde daha fazla birikenleri içerir. Uygun boyalar küçük molekülü boyaları ve polimerik boyaları içerir. Uygun küçük molekülü boyalar, Direkt Mavi, Direkt Kırmızı, Direkt Viyole, Asit Mavi, Asit Kırmızı, Asit Viyole, Bazik Mavi, Bazik Viyole ve
- 5 Bazik Kırmızı Renk İndeksi (C.I.) sınıflandırmalarında bulunan boyalar veya karışımlarından oluşan gruptan seçilen küçük molekülü boyaları içerir. Küçük molekülü boyaların örnekleri Direkt Viyole 9, Direkt Viyole 35, Direkt Viyole 48, Direkt Viyole 51, Direkt Viyole 66, Direkt Viyole 99, Direkt Mavi 1, Direkt Mavi 71, Direkt Mavi 80, Direkt Mavi 279, Asit Kırmızı 17, Asit Kırmızı 73, Asit Kırmızı 88, Asit Kırmızı 150,
- 10 Asit Viyole 15, Asit Viyole 17, Asit Viyole 24, Asit Viyole 43, Asit Kırmızı 52, Asit Viyole 49, Asit Viyole 50, Asit Mavi 15, Asit Mavi 17, Asit Mavi 25, Asit Mavi 29, Asit Mavi 40, Asit Mavi 45, Asit Mavi 75, Asit Mavi 80, Asit Mavi 83, Asit Mavi 90 ve Asit Mavi 113, Asit Siyah 1, Bazik Viyole 1, Bazik Viyole 3, Bazik Viyole 4, Bazik Viyole 10, Bazik Viyole 35, Bazik Mavi 3, Bazik Mavi 16, Bazik Mavi 22, Bazik Mavi 47, Bazik Mavi 66,
- 15 Bazik Mavi 75, Bazik Mavi 159 Renk İndeksi (Society of Dyers and Colourists, Bradford, UK) numaralarından oluşan gruptan seçilenleri, Asit Viyole 17, Asit Viyole 43, Asit Kırmızı 52, Asit Kırmızı 73, Asit Kırmızı 88, Asit Kırmızı 150, Asit Mavi 25, Asit Mavi 29, Asit Mavi 45, Asit Mavi 113, Asit Siyah 1, Direkt Mavi 1, Direkt Mavi 71 Renk İndeksi (Society of Dyers and Colourists, Bradford, UK) numaralarından oluşan gruptan
- 20 seçilen küçük molekülü boyaları içerir. Direkt Viyole küçük molekülü boyalar tercih edilebilir. Asit Viyole 17, Direkt Mavi 71, Direkt Viyole 51, Direkt Mavi 1, Asit Kırmızı 88, Asit Kırmızı 150, Asit Mavi 29, Asit Mavi 113 ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen boyalar tercih edilebilir.
- 25 Uygun polimerik boyalar, kovalent olarak bağlı kromojenleri (boya-polimer konjugatları) içeren polimerler ve polimer omurgasında ko-polimerize edilen kromojenler ve karışımlarına sahip polimerlerden oluşan gruptan seçilen polimerik boyaları ve Liquitint® (Milliken, Spartanburg, South Carolina, USA) adı altında satılan kumaş-
- 30 substantif renklendiriciler, en az bir reaktif boyadan oluşturulan boya-polimer konjugatları ve bir hidroksil kısmı, bir primer amin kısmı, bir sekonder amin kısmı, bir tiyol kısmı ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen bir kısmı içeren polimerlerden oluşan gruptan seçilen bir polimerden oluşan gruptan seçilen polimerik boyaları içerir. Burada açıklandığı üzere uygun polimerik boyalar, Liquitint® (Milliken, Spartanburg, South Carolina, USA) Viyole CT, bir reaktif mavi ile konjuge edilen karboksimetil
- 35 selüloz (CMC), reaktif viyole veya reaktif kırmızı boya örneğinin ürün kodu S-ACMC olan,



- AZO-CM-SELÜLOZ ürün adı altında Megazyme, Wicklow, İrlanda tarafından satılan C.I. Reaktif Mavi 19 ile konjuge edilen CMC, alkoksile trifenil-metan polimerik renklendiriciler, alkoksile tiyofen polimerik renklendiriciler ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen polimerik boyaları içerir. Tercih edilen ek renklendirme boyaları WO 08/87497 A1'de bulunan beyazlatma ajanlarını içerir. Bu beyazlatma ajanları aşağıdaki yapı (I) ile karakterize edilebilir:

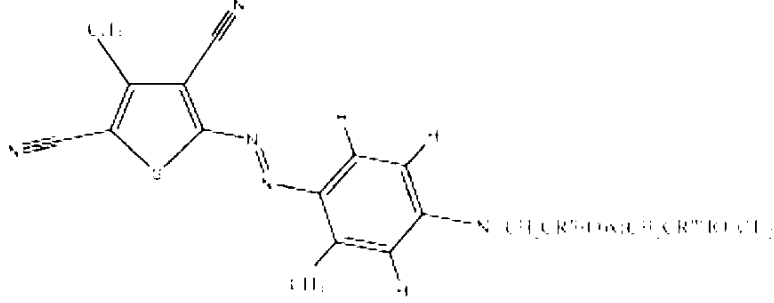


(I)

- 10 burada  $R_1$  ve  $R_2$  bağımsız olarak aşağıdakilerden seçilebilir:

- a)  $[(CH_2CR'HO)_x(CH_2CR''HO)_yH]$ , burada  $R'$  H,  $CH_3$ ,  $CH_2O(CH_2CH_2O)_zH$  ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada  $R''$  H,  $CH_2O(CH_2CH_2O)_zH$  ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada  $x + y \leq 5$ ; burada  $y \geq 1$ ; ve burada  $z = 0$  ila 5;
- 15 b)  $R_1 =$  alkil, aril veya aril alkil ve  $R_2 = [(CH_2CR'HO)_x(CH_2CR''HO)_yH]$  burada  $R'$  H,  $CH_3$ ,  $CH_2O(CH_2CH_2O)_zH$  ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada  $R''$  H,  $CH_2O(CH_2CH_2O)_zH$  ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada  $x + y \leq 10$ ; burada  $y \geq 1$ ; ve burada  $z = 0$  ila 5;
- 20 c)  $R_1 = [CH_2CH(OR_3)CH_2OR_4]$  ve  $R_2 = [CH_2CH(OR_3)CH_2OR_4]$  burada  $R_3$  H,  $(CH_2CH_2O)_zH$  ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir ve burada  $z = 0$  ila 10; burada  $R_4$  ( $C_1$ - $C_{16}$ )alkil, aril grupları ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; ve
- 25 d) burada  $R_1$  ve  $R_2$  1 ila 10 alkilen oksit biriminin ilavesini takiben bağımsız olarak stiren oksit, glisidil metil eter, izobütil glisidil eter, izopropilglisidil eter, t-bütil glisidil eter, 2-etilhekzilglisidil eter ve glisidilhekzadesil eter amino asit ürününden seçilebilir.

İstem 5'te tanımlandığı üzere buluşa ait bileşime eklenebilen tercih edilen ek bir kumaş renklendirme ajanı, aşağıdaki yapı (II) ile karakterize edilebilir:

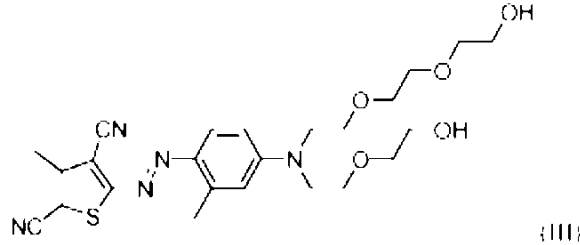


(II)

5

burada R' H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>z</sub>H ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada R'' H, CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>z</sub>H ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir; burada x + y ≤ 5; burada y ≥ 1; ve burada z = 0 ila 5.

- 10 Ayrıca tercih edilen ek bir renklendirme boyası, aşağıdaki yapı (III) ile karakterize edilebilir:



(III)

- 15 Bu boya tipik olarak ortalama 3-10 EO grubuna, tercihen molekül başına 5 EO grubuna sahip bileşiklerin bir karışımıdır.

Ek tonlama boyaları, USPN 2008 34511 A1'de (Unilever) açıklananlardır. Tercih edilen bir ajan "Solvent Viyole 13"tür.

20

Uygun boya kil konjugatları en az bir katyonik/bazik boya ve bir smektit kil ve karışımlarını içeren gruptan seçilen boya kil konjugatlarını içerir. Bir diğer açıda uygun boya kil konjugatları, C.I. Bazik Sarı 1 ila 108, C.I. Bazik Turuncu 1 ila 69, C.I. Bazik Kırmızı 1 ila 118, C.I. Bazik Viyole 1 ila 51, C.I. Bazik Mavi 1 ila 164, C.I. Bazik Yeşil 1

ila 14, C.I. Bazik Kahverengi 1 ila 23, CI Bazik Siyah 1 ila 11'den oluşan gruptan seçilen en az bir katyonik/bazik boyadan oluşan gruptan seçilen boya kil konjugatlarını ve Montmorillonit kil, Hektorit kil, Saponit kil ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen bir bili içerir. Yine bir diğer açıda uygun boya kil konjugatları aşağıdakilerden oluşan

5 gruptan seçilen boya kil konjugatlarını içerir: Montmorillonit Bazik Mavi B7 C.I. 42595 konjugat, Montmorillonit Bazik Mavi B9 C.I. 52015 konjugat, Montmorillonit Bazik Viyole V3 C.I. 42555 konjugat, Montmorillonit Bazik Yeşil G1 C.I. 42040 konjugat, Montmorillonit Bazik Kırmızı R1 C.I. 45160 konjugat, Montmorillonit C.I. Bazik Siyah 2 konjugat, Hektorit Bazik Mavi B7 C.I. 42595 konjugat, Hektorit Bazik Mavi B9 C.I.

10 52015 konjugat, Hektorit Bazik Viyole V3 C.I. 42555 konjugat, Hektorit Bazik Yeşil G1 C.I. 42040 konjugat, Hektorit Bazik Kırmızı R1 C.I. 45160 konjugat, Hektorit C.I. Bazik Siyah 2 konjugat, Saponit Bazik Mavi B7 C.I. 42595 konjugat, Saponit Bazik Mavi B9 C.I. 52015 konjugat, Saponit Bazik Viyole V3 C.I. 42555 konjugat, Saponit Bazik Yeşil G1 C.I. 42040 konjugat, Saponit Bazik Kırmızı R1 C.I. 45160 konjugat, Saponit C.I.

15 Bazik Siyah 2 konjugat ve karışımları.

Uygun pigmentler, flavantron, indantron, 1 ila 4 klorin atomu içeren klorlanmış indantron, pirantron, dikloropirantron, monobromodikloropiratron, dibromodikloropiratron, tetrabromopiratron, perilen-3,4,9,10-tetrakarboksilik asid

20 diimidden oluşan gruptan seçilen pigmentleri içerir, burada imid grupları süstitüe edilmeyebilir veya, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-alkil veya bir fenil veya heterosiklik radikali ile süstitüe edilebilir ve burada fenil ve heterosiklik radikalleri ek olarak suda çözünmeyen süstitüentleri, antrapirimidinkarboksilik asit amidleri, violantron, izoviolantron, dioksazin pigmentleri, molekül başına 2 klorin atomu içerebilen bakır ftalosiyanın,

25 polikloro-bakır ftalosiyanın veya molekül başına 14 bromin atomu içeren polibromokloro-bakır ftalosiyanın ve karışımlarını taşır. Pigment Mavisı 15 ila 20, özellikle Pigment Mavisı 15 ve/veya 16 özellikle tercih edilir. Diğer uygun pigmentler of Ultramarin Mavi (C.I. Pigment Mavi 29), Ultramarin Viyole (C.I. Pigment Viyole 15) ve karışımlarından oluşan gruptan seçilenleri içerir. Uygun renklendirme ajanları US

30 7,208,459 B2'de daha detaylı şekilde açıklanır.

**Enkapsülantlar.** Bileşim bir enkapsülant içerebilir. Bir açıda bir enkapsülant, bir iç ve dış yüzeye sahip bir dış katman, bir çekirdek içerir, söz konusu dış katman söz konusu çekirdeği kapsüller. Çekirdek tipik olarak aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen

35 materyali içerebilmesine rağmen herhangi bir çamaşır bakım yardımcı maddesini

- içerebilir: parfümler; patlatıcılar; boyalar; böcek uzaklaştırıcılar; silikonlar; vakslar; kokular; vitaminler; kumaş yumuşatıcı ajanlar; bir açıda cilt bakım ajanları, parafinler; enzimler; anti-bakteriyel ajanlar; ağartıcılar; sensatlar ve karışımları ve söz konusu dış katman, polietilenler; poliamidler; isteğe bağlı olarak diğer ko-monomerleri içeren
- 5 polivinilalkoller; polistirenler; poliizoprenler; polikarbonatlar; poliesterler; poliakrilatlar; aminoplastlardan oluşan gruptan seçilen bir materyali içerebilir, bir açıda söz konusu aminoplast bir poliüre, poliüretan ve/veya poliüreüretan içerebilir, bir açıda söz konusu poliüre polioksimetilenüre ve/veya melamin formaldehit; poliolefinler; polisakkaritleri içerebilir; bir açıda söz konusu polisakkarit aljinat ve/veya kitosan; jelatin; şelak; epoksi
- 10 reçineleri; vinil polimerler; suda çözünmeyen inorganikler; silikon ve karışımlarını içerebilir. Tercih edilen enkapsülantlar parfüm içerir. Tercih edilen enkapsülantlar, melamin formaldehit ve/veya çapraz bağlı melamin formaldehit içerebilen bir dış katman içerir. Tercih edilen enkapsülantlar bir çekirdek materyali ve bir dış katman içerir, söz konusu çekirdek materyali en azından kısmen çevreleyen söz konusu dış
- 15 katman açıklanır. Söz konusu enkapsülantların en az %75'i, %85'i veya hatta %90'nı 0.2 MPa ile 10 MPa arasında kırılma mukavemetine ve başlangıçtaki toplam enkapsüle faydalı ajana dayanan %0 ile %20 veya hatta %10 veya %5'ten daha az bir faydalı ajan sızıntıya sahip olabilir. söz konusu enkapsülantların en az %75'i, %85'i veya hatta %90'nının (i) 1 mikron ile 80 mikron, 5 mikron ile 60 mikron, 10 mikron ile 50 mikron
- 20 veya hatta 15 mikron ile 40 mikron arasında bir partikül boyutuna sahip olabilenler ve/veya (ii) söz konusu enkapsülantların en az %75'i, %85'i veya hatta %90'nının 30 nm ile 250 nm, 80 nm ile 180 nm, veya hatta 100 nm ile 160 nm arasında partikül duvar kalınlığına sahip olabilenler tercih edilir. Formaldehit tutucular, örneğin sulu bir kapsül karışımında enkapsülantlar ile kullanılabilir ve/veya enkapsülantlar bu tür bileşimine
- 25 eklenmeden önce, sırasında veya sonrasında bir bileşime eklenebilir. Uygun kapsüller USPA 2008/0305982 A1; ve/veya USPA 2009/0247449'a ait öğreti takip edilerek yapılabilir. Alternatif olarak uygun kapsüller Appleton Papers Inc. of Appleton, Wisconsin USA'dan satın alınabilir.
- 30 Tercih edilen bir açıda bileşim, tercihen enkapsülantlara ek olarak bir yardımcı çöktürme maddesi içerebilir. Tercih edilen yardımcı çöktürme maddeleri katyonik ve noniyonik polimerlerden oluşan gruptan seçilir. Uygun polimerler isteğe bağlı olarak akrilik asit ve akrilamid içeren gruptan seçilen bir veya daha fazla monomer ile katyonik nişastalar, katyonik hidroksietil selüloz, polivinil formaldehit, keçi boynuzu zıncı,

mannan, ksiloglukanlar, demirhindi zamkı, polietilenteraftalat ve dimetilaminoetil metakrilat içeren polimerleri içerir.

**Parfüm.** Buluşa ait tercih edilen bileşimler parfüm içerir. Tipik olarak bileşim, WO08/87497'de açıklanan gruptan seçilen bir veya daha fazla parfüm ham materyallerini içeren bir parfüm içerir. Ancak bir çamaşır bakım bileşiminde faydalı herhangi bir parfüm kullanılabilir. Parfümün buluşa ait bileşimlere eklenmesi için tercih edilen bir yöntem, suda çözünür hidroksilik bileşik veya melamin-formaldehit veya modifiye edilmiş polivinil alkol içeren enkapsüle bir parfüm partikülü vasıtasıyla gerçekleşir. Bir açıda enkapsülant (a) bir veya daha fazla suda çözünür hidroksilik bileşiği içeren en azından kısmen suda çözünen katı matriksi, tercihen nişasta ve (b) katı matriks ile kapsüllenen bir parfüm yağı içerir. İlave bir açıda parfüm, bir Schiff bazı oluşturmak amacıyla tercihen bir polietilenimin olmak üzere bir poliamin ile önceden kompleks hale getirilebilir.

15

**Polimerler.** Bileşim bir veya daha fazla polimer içerebilir. Örnekler isteğe bağlı olarak modifiye edilen karboksimetilseüloz, poli(vinil-pirolidon), poli (etilen glikol), poli(vinil alkol), poli(vinilpiridin-N-oksit), poli(vinilimidazol), polikarboksilatlar örneğin poliaakrilatlar, maleik/akrilik asit kopolimerler ve lauril metakrilat/akrilik asit kopolimerleri içerir.

20

Bileşim, aşağıdaki genel yapıya:  $\text{bis}((\text{C}_2\text{H}_5\text{O})(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n)(\text{CH}_3)\text{-N}^+\text{-C}_x\text{H}_{2x}\text{-N}^+(\text{CH}_3)\text{-bis}((\text{C}_2\text{H}_5\text{O})(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n)$ , burada  $n = 20$  ila  $30$ , ve  $x = 3$  ila  $8$ , veya sülfatlı veya sülfonlu varyantlarına sahip bileşik gibi bir veya daha fazla amfifilik temizleme polimerlerini içerebilir.

25

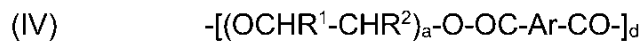
Bileşim tercihen kumaşlar ve yüzeylerden gres yağı partiküllerini uzaklaştıracakları şekilde dengeli hidrofilik ve hidrofobik özelliklere sahip amfifilik alkoksile gres yağı temizleme polimerlerini içerir. Tercih edilen amfifilik alkoksile gres yağı temizleme polimerleri, bir çekirdek yağı ve bu çekirdek yağıya bağlanan birçok alkoksilat grubu içerir. Bunlar tercihen bir iç polietilen oksit bloğu ve bir dış polipropilen oksit bloğuna sahip alkoksile polialkileniminleri içerebilir. Tipik olarak bunlar, ağırlıkça %0.005 ila 10, genellikle ağırlıkça %0.5 ila 8 olan miktarlarda buluşa ait bileşimlere eklenebilir.

30

Poliakrilatlardan hazırlananlar gibi alkoksile polikarboksilatlar, ek gres yağı uzaklaştırma performansı sağlamak üzere burada kullanışlıdır. Bu tür materyaller WO 91/08281 ve PCT 90/01815'te açıklanır. Kimyasal olarak bu materyaller, her 7-8 akrilat birim başına bir etoksi yan zincirine sahip poliakrilatları içerir. Yan zincirler, -  
 5  $(CH_2CH_2O)_m(CH_2)_nCH_3$  formülüne sahiptir burada m, 2-3'tür ve n, 6-12'dir. Yan zincirler, bir "kombinasyonel" polimer tipinde yapı sağlamak üzere poliakrilat "omurgasına" ester ile bağlanır. Moleküler ağırlık değişkenlik gösterebilir ancak tipik olarak yaklaşık 2000 ile yaklaşık 50,000 aralığındadır. Bu tür alkoksile polikarboksilatlar, buradaki bileşimin ağırlıkça yaklaşık %0.05'i ile yaklaşık %10'nunu  
 10 içerebilir.

Kosürfaktanların ve diğer yardımcı bileşenlerin karışımları bir amfifilik greft ko-polimeri ile kullanım için özellikle uygundur. Tercih edilen amfifilik greft ko-polimerleri (i) polietilen glikol omurgası ve (ii) polivinil asetat, polivinil alkol ve karışımlarından seçilen  
 15 en az bir pendatif kısım içerir. Tercih edilen bir amfifilik greft ko-polimer BASF'den tedarik edilen Sokalan HP22'dir. Uygun polimerler rastgele greft kopolimerleri, tercihen bir polietilen oksit omurgası ve çoklu polivinil asetat yan zincirine sahip bir polivinil asetat grefte edilmiş polietilen oksit kopolimeri içerir. Polietilen oksit omurgasının moleküler ağırlığı tercihen yaklaşık 600'dür ve polietilen oksidin polivinil asetata ağırlık  
 20 oranı 50 etilen oksit birimi başına yaklaşık 40 ila 60 ve en fazla 1 greft noktasıdır. Tipik olarak bunlar, ağırlıkça %0.005 ila 10, daha genel olarak ağırlıkça %0.05 ila 8 olan miktarlarda buluşa ait bileşimlere eklenir. Tercihen bileşim, maleat/akrilat rastgele kopolimer veya poliakrilat homopolimer gibi bir veya daha fazla karboksilat polimer içerir. Bir açıda karboksilat polimer, 4,000 Da ila 9,000 Da, veya 6,000 Da ila 9,000 Da  
 25 olan bir moleküler ağırlığa sahip bir poliakrilat homopolimerdir. Tipik olarak bunlar, ağırlıkça %0.005 ila 10 veya ağırlıkça %0.05 ila 8 olan miktarlarda buluşa ait bileşimlere eklenir.

Tercihen bileşim, bir veya daha fazla toprak salım polimeri içerir. Örnekler aşağıdaki  
 30 Formüllerin (IV), (V) veya (VI) biri ile tanımlanan bir yapıya sahip toprak salım polimerleri içerir:





burada:

5 a, b ve c, 1 ila 200'dür;

d, e ve f, 1 ila 50'dir;

Ar, bir 1,4-sübstitüe fenilendir;

sAr, SO<sub>3</sub>Me ile 5 pozisyonunda sübstitüe edilen 1,3-sübstitüe edilen fenilendir;

Me Li, K, Mg/2, Ca/2, Al/3, amonyum, mono-, di-, tri-, veya tetraalkilamonyum burada

10 alkil grupları C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> alkil veya C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> hidroksialkildir, veya karışımlardır;

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> ve R<sup>6</sup>, H veya C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> n- veya izo-alkilden bağımsız olarak seçilir; ve

R<sup>7</sup> bir lineer veya dallanmış C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> alkil veya bir lineer veya dallanmış C<sub>2</sub>-C<sub>30</sub> alkenil veya 5 ila 9 karbon atomu olan bir sikloalkil grubu veya bir C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> aril grubu veya bir C<sub>6</sub>-C<sub>30</sub> arilalkil grubudur.

15

Uygun toprak salım polimerleri, Rhodia tarafından tedarik edilen Repel-o-tex SF, SF-2 ve SRP6 dahil Repel-o-tex polimerleri gibi poliester toprak salım polimerleridir. Diğer uygun toprak salım polimerleri, Clariant tarafından tedarik edilen Texcare SRA100, SRA300, SRN100, SRN170, SRN240, SRN300 ve SRN325 dahil Texcare polimerlerini

20 içerir. Diğer uygun toprak salım polimerleri, Sasol tarafından tedarik edilen Marloquest SL gibi Marloquest polimerleridir.

Tercihen bileşim, alkil selüloz, alkil alkoksialkil selüloz, karboksialkil selüloz, alkil karboksialkil selülozdan seçilenler dahil bir veya daha fazla selülozik polimer içerir.

25

Tercih edilen selülozik polimerler karboksimetil selüloz, metil selüloz, metil hidroksietil selüloz, metil karboksimetil selüloz ve karışımlarını içeren gruptan seçilir. Bir açıda karboksimetil selüloz 0.5 ila 0.9 arasında bir karboksimetil sübstitüsyon derecesine ve 100,000 Da ila 300,000 Da arasında bir moleküler ağırlığa sahiptir.

30

**Enzimler.** Tercihen bileşim bir veya daha fazla enzim içerir. Tercih edilen enzimler, temizleme performansı ve/veya kumaş bakım faydaları sağlar. Uygun enzimlerin örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere hemiselülazlar, peroksidazlar, proteazlar, selülazlar, ksilanazlar, lipazlar, fosfolipazlar, esterazlar, kutinazlar, pektinazlar, mannanazlar, pektat liyazlar, keratinazlar, redüktazlar, oksidazlar, fenoloksidazlar,

35 lipoksijenazlar, ligninazlar, pullulanazlar, tannazlar, pentozanazlar, malanazlar, β-

glukanazlar, arabinozidazlar, hiyaluronidazlar, kondroitinazlar, lakkazlar ve amilazlar veya karışımlarını içerir. Tipik bir kombinasyon, örneğin amilaz ile bağlantılı şekilde bir proteaz ve lipaz içerebilen bir enzim çözeltisidir. Bileşim içinde bulunduğu yukarıda açıklanan ek enzimler bileşimin ağırlığında yaklaşık %0.00001 ila yaklaşık %2, yaklaşık 5 %0.0001 ila yaklaşık %1 veya hatta yaklaşık %0.001 ila yaklaşık %0.5 enzim proteini seviyelerinde bulunabilir.

**Proteazlar.** Tercihen bileşim, bir veya daha fazla proteaz içerir. Uygun proteazlar subtilisinler (EC 3.4.21.62) gibi, nötral veya alkalın mikrobiyal serin proteazlar dahil 10 metalloproteazlar ve serin proteazları içerir. Uygun proteazlar hayvan, bitkisel veya mikrobiyal kökenli olanları içerir. Bir açıda bu tür uygun proteaz mikrobiyal kökenli olabilir. Uygun proteazlar, yukarıda açıklanan uygun proteazların kimyasal olarak veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlarını içerir. Bir açıda uygun proteaz, bir alkalın mikrobiyal proteaz ve/veya bir tripsin tipinde proteaz gibi bir serin proteazı olabilir. 15 Uygun nötral veya alkalın proteaz örnekleri şunları içerir:

- (a) US 6,312,936 B1, US 5,679,630, US 4,760,025, US7,262,042 ve WO09/021867'de açıklanan *Bacillus lentus*, *B. alkalophilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus* ve *Bacillus gibsonii* gibi *Bacillus*'dan türetilenler 20 dahil subtilisinler (EC 3.4.21.62).
- (b) WO 89/06270'de açıklanan *Fusarium* proteazı ve WO 05/052161 ve WO 05/052146'da açıklanan *Cellumonas*'dan türetilen kemotripsin proteazları dahil tripsin (örneğin domuz veya bovin kökenli) gibi tripsin tipi veya kemotripsin tipi proteazlar.
- (c) WO 07/044993A2'de açıklanan *Bacillus amyloliquefaciens*'dan türetilenler dahil 25 metalloproteazlar.

Tercih edilen proteazlar, *Bacillus gibsonii* veya *Bacillus Lentus*'dan türetilenleri içerir.

30 Uygun ticari olarak temin edilebilir proteaz enzimleri Novozymes A/S (Danimarka) tarafından Alcalase®, Savinase®, Primase®, Durazym®, Polarzyme®, Kannase®, Liquanase®, Liquanase Ultra®, Savinase Ultra®, Ovozime®, Neutrase®, Everlase® ve Esperase® ticari adı altında satılanları, Genencor International tarafından Maxatase®, Maxacal®, Maxapem®, Properase®, Purafect®, Purafect Prime®, 35 Purafect Ox®, FN3®, FN®, Excellase® ve Purafect OXP® ticari adı altında satılanları,



Solvay Enzymes tarağından Opticlean® ve Optimase® ticari adı altında satılanları, - tümü Henkel/ Kemira'dan BLAP (aşağıdaki mutasyonlar S99D + S101 R + S103A + V104I + G159S ile US 5,352,604'te ait Şekil 29'da gösterilen dizi, buradan sonra BLAP olarak refere edilecektir), BLAP R (BLAP with S3T + V4I + V199M + V205I + L217D),  
 5 BLAP X (BLAP with S3T + V4I + V205I) ve BLAP F49 (BLAP with S3T + V4I + A194P + V199M + V205I + L217D) olarak adlandırılan Henkel/ Kemira'dan temin edilenleri ve Kao'dan alınan KAP (mutasyonlar A230V + S256G + S259N'ye sahip *Bacillus alkalophilus subtilisin* ) içerir.

10 **Amilazlar.** Tercihen bileşim bir amilaz içerebilir. Uygun alfa-amilazlar bakteriyel veya mantar kökenli olanları içerir. Kimyasal olarak veya genetik olarak modifiye edilmiş mutantlar (varyantlar) dahil edilir. Tercihen bir alkalın alfa-amilaz, bir *Bacillus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, veya diğer *Bacillus* sp., örneğin *Bacillus* sp. NCIB 12289, NCIB 12512, NCIB  
 15 12513, DSM 9375 (USP 7,153,818) DSM 12368, DSMZ no. 12649, KSM AP1378 (WO 97/00324), KSM K36 veya KSM K38 (EP 1,022,334) suşundan türetilir. Tercih edilen amilazlar şunları içerir:

(a) WO 94/02597, WO 94/18314, WO96/23874 ve WO 97/43424'te açıklanan varyantlar, özellikle WO 96/23874'te SEQ ID No. 2 olarak listelenen enzime karşı aşağıdaki pozisyonların bir veya daha fazlasında süstitüsyonlara sahip varyantlar: 15, 23, 105, 106, 124, 128, 133, 154, 156, 181 , 188, 190, 197, 202, 208, 209, 243, 264, 304, 305, 391, 408, ve 444.

(b) USP 5,856,164 ve WO99/23211, WO 96/23873, WO00/60060 ve WO  
 25 06/002643'te açıklanan varyantlar, özellikle WO 06/002643'te SEQ ID No. 12 olarak listelenen AA560 enzimine karşı aşağıdaki pozisyonlarda bir veya daha fazla süstitüsyonu sahip varyantlar: 26, 30, 33, 82, 37, 106, 118, 128, 133, 149, 150, 160, 178, 182, 186, 193, 203, 214, 231, 256, 257, 258, 269, 270, 272, 283, 295, 296, 298, 299, 303, 304, 305, 311, 314, 315, 318, 319, 339, 345, 361,  
 30 378, 383, 419, 421, 437, 441, 444, 445, 446, 447, 450, 461, 471, 482, 484, tercihen ayrıca D183\* ve G184\* delesyonlarını içeren.

(c) WO06/002643'te SEQ ID No. 4 ile en az %90 özdeşlik sergileyen varyantlar, *Bacillus* SP722'den doğal suş enzim, özellikle 183 ve 184 pozisyonlarında delesyonlara sahip varyantlar ve WO 00/60060'ta açıklanan varyantlar.

(d) *Bacillus sp.*707'den (US 6,093, 562'de SEQ ID NO:7) doğal suş enzim ile en az %95 özdeşlik sergileyen varyantlar, özellikle aşağıdaki mutasyonlar M202, M208, S255, R172, ve/veya M261'den bir veya daha fazlasını içerenler. Tercihen söz konusu amilaz bir veya daha fazla M202L, M202V, M202S, M202T, M202I, M202Q, M202W, S255N ve/veya R172Q içerir. M202L veya M202T mutasyonlarını içerenler özellikle tercih edilir.

(e) WO 09/149130'de açıklanan varyantlar, tercihen WO 09/149130'da SEQ ID NO: 1 veya SEQ ID NO:2 ile en az %90 özdeşlik sergileyenler, *Geobacillus Stearothermophilus*'dan doğal suş enzim veya bunun kesik versiyonu.

Uygun ticari olarak temin edilebilir alfa-amilazlar DURAMYL®, LIQUEZYME®, TERMAMYL®, TERMAMYL ULTRA®, NATALASE®, SUPRAMYL®, STAINZYME®, STAINZYME PLUS®, FUNGAMYL® and BAN® (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Danimarka), KEMZYM® AT 9000 Biozym Biotech Trading GmbH Wehlstrasse 27b A-1200 Wien Avusturya, RAPIDASE® , PURASTAR®, ENZYSE®, OPTISIZE HT PLUS®, POWERASE® and PURASTAR OXAM® (Genencor International Inc., Palo Alto, California) ve KAM® (Kao, 14-10 Nihonbashi Kayabacho, 1-chome, Chuo-ku Tokyo 103-8210, Japonya) içerir. Bir açıda uygun amilazlar NATALASE®, STAINZYME® ve STAINZYME PLUS® ve karışımlarını içerir.

**Lipazlar.** Tercihen buluş, U.S. Patent 6,939,702 B1 ve US PA 2009/0217464'te açıklananlar gibi "birinci döngü lipazları" dahil bir veya daha fazla lipaz içerir. Tercih edilen lipazlar birinci yıkama lipazlarıdır. Buluşa ait bir düzenlemede bileşim, bir birinci yıkama lipazı içerir. Birinci yıkama lipazları, bir amino asit dizisine sahip bir polipeptittir bu dizi: (a) *Humicola lanuginosa* suşu DSM 4109'dan türetilen doğal suş lipaz ile en az %90 özdeşliğe sahiptir; (b) söz konusu doğal suş lipaz ile karşılaştırıldığında pozitif olarak yüklü bir amino asit ile E1 ve Q249'a ait 15A içerisinde üç boyutlu yapı yüzeyinde elektriksel olarak nötral veya negatif olarak yüklü amino asit süstitüsyonunu içerir ve (c) C-terminalde bir peptit ilavesi içerir ve/veya (d) N-terminalde bir peptit ilavesi içerir ve/veya (e) aşağıdaki sınırlamaları karşılar: i) söz konusu doğal suş lipazın E210 pozisyonunda negatif bir amino asit içerir; ii) söz konusu doğal suş lipazın 90-101 pozisyonuna karşılık gelen bölgede negatif yüklü bir amino asit içerir ve iii) söz konusu doğal suş lipaza ait N94'e karşılık gelen bir pozisyonda nötral veya negatif bir amino asit içerir ve/veya söz konusu doğal suş lipazın 90-101 pozisyonlarına karşılık gelen bölgede negatif veya nötral net elektrik yüküne sahiptir. Bir veya daha fazla T231R ve

N233R mutasyonu içeren *Thermomyces lanuginosus*'dan doğal suş lipaz varyantları tercih edilir. Doğal suş dizi, Swissprot erişim numarası Swiss-Prot O59952 (*Thermomyces lanuginosus*'dan türetilen (*Humicola lanuginosa*)) olan 269 amino asittir. Tercih edilen lipazlar, Lipex® ve Lipolex® ve Lipoclean® ticari adları altında satılanları içerir.

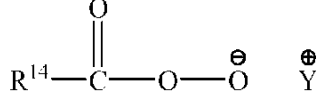
**Endoglukanazlar.** Diğer tercih edilen enzimler US7,141,403B2'de amino asit dizisi SEQ ID NO:2'ye en az %90, %94, %97 ve hatta %99 özdeşliği olan bir diziye sahip *Bacillus* cinsinden bir elemana endojenöz bir bakteriyel polipeptit ve karışımları dahil endo-beta-1,4-glukanaz aktivitesi (E.C. 3.2.1.4) sergileyen mikrobiyal türevli endoglukanazları içerir. Uygun endoglukanazlar Celluclean® ve Whitezyme® (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Danimarka) ticari adları altında satılır.

**Pektat Liyazlar.** Diğer tercih edilen enzimler Pectawash®, Pectaway®, Xpect® aticari adları altında satılan pektat liyazları ve Mannaway® (tümü Novozymes A/S'den, Bagsvaerd, Danimarka), ve Purabrite® (Genencor International Inc., Palo Alto, Kaliforniya) ticari adları altında satılan mannazları içerir.

**Ağartma Ajanları.** Bileşimin bir veya daha fazla ajanı içermesi tercih edilebilir. ağartma katalizörlerinden başka uygun ağartma ajanları foto ağartıcılar, ağartma aktivatörleri, hidrojen peroksit, hidrojen peroksit kaynağı, önceden oluşturulmuş perasitler ve karışımlarını içerir. Genellikle bir ağartma ajanı kullanıldığında mevcut buluşa ait bileşimler söz konusu bileşimin ağırlığınca yaklaşık %0.1 ila yaklaşık %50 veya hatta yaklaşık %0.1 ila yaklaşık %25 ağartma ajanı veya ağartma ajanı karışımlarını içerebilir. Uygun ağartma ajanlarının örnekleri şunları içerir:

- (1) foto ağartıcılar örneğin sülfonlu çinko ftalosiyanın sülfonlu alüminyum ftalosiyanın, ksanten boyalar ve karışımları;
- (2) önceden oluşturulan perasitler: Uygun önceden oluşturulmuş perasitler bunlarla sınırlı olmamak üzere önceden oluşturulmuş peroksiasitler veya tuzları, tipik olarak bir perkarboksilik asit ve tuzları, perkabonik asitler ve tuzları, perimidik asitler ve tuzları, peroksimonosülfürik asitler ve tuzları, örneğin Oxone® ve karışımlarından oluşan gruptan seçilen bileşikler içerir. Uygun örnekler peroksikarboksilik asitleri veya tuzları veya peroksisülfonik asitler veya tuzlarını içerir. Burada kullanım için

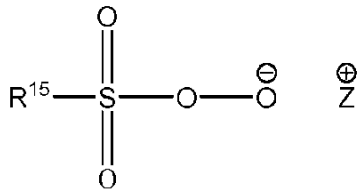
uygun tipik peroksikarboksilik asit tuzları, aşağıdaki kimyasal formüle karşılık gelen bir kimyasal yapıya sahiptir:



5

burada:  $\text{R}^{14}$  alkil, aralkil, sikloalkil, aril veya heterosiklik gruplarından seçilir;  $\text{R}^{14}$  grubu lineer veya dallanmış, sübstitüe veya sübstitüe edilmemiş olabilir: perasit hidrofobik olduğunda 6 ila 14 karbon atomuna veya 8 ila 12 karbon atomuna sahiptir ve perasit hidrofilik olduğunda 6'dan daha az karbon atomuna veya hatta 4'ten daha az karbon atomuna sahiptir ve Y, elektrik yük nötralliğini elde eden uygun herhangi bir karşı iyondur, tercihen Y hidrojen, sodyum veya potasyumdan seçilir. Tercihen  $\text{R}^{14}$  lineer veya dallanmış, sübstitüe edilmiş veya sübstitüe edilmemiş  $\text{C}_{6-9}$  alkildir. Tercihen peroksiasit veya tuzu peroksihekzanoik asit, peroksiheptanoik asit, peroksioktanoik asit, peroksinonanoik asit, peroksidekanoik asit, herhangi bir tuzu veya herhangi bir kombinasyonundan seçilir. Özellikle tercih edilen peroksiasitler ftalimido-peroksi-alkanoik asitler, özellikle  $\epsilon$ -ftalimido peroksi hekzanoik asittir (PAP). Tercihen peroksiasit veya tuzu, 30°C ila 60°C aralığında bir erime noktasına sahiptir. Önceden oluşturulan peroksiasit veya tuzu ayrıca tipik olarak aşağıdaki kimyasal formüle karşılık gelen bir kimyasal yapıya sahip bir peroksisülfonik asit veya tuzu olabilir:

20



25

burada:  $\text{R}^{15}$  alkil, aralkil, sikloalkil, aril veya heterosiklik gruplardan seçilir;  $\text{R}^{15}$  grubu lineer veya dallanmış, sübstitüe edilmiş veya sübstitüe edilmemiş olabilir ve Z, elektrik yük nötralliğini elde eden uygun herhangi bir karşı iyondur, tercihen Z hidrojen, sodyum veya potasyumdan seçilir. Tercihen  $\text{R}^{15}$  lineer veya dallanmış, sübstitüe edilmiş veya sübstitüe edilmemiş  $\text{C}_{4-14}$ , tercihen  $\text{C}_{6-14}$  alkildir. Tercihen bu tür ağartma bileşenleri buluş bileşimlerinde %0.01 ila 50, en çok tercih edildiği üzere %0.1 ila %20 miktarında bulunabilir.

30

(3) hidrojen peroksit kaynakları, örneğin perborat (genellikle mono- veya tetrahidrat), perkarbonat, persülfat, perfosfat, persilikat tuzları ve karışımları gibi alkali metal tuzları dahil inorganik perhidrat tuzları. Buluşun bir açısında inorganik perhidrat tuzları perborat, perkarbonat ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir.

5 Kullanıldığında inorganik perhidrat tuzları tipik olarak kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşiminin ağırlıkça %0.05 ila 40'ı veya ağırlıkça %1 ila 30'u olan miktarlarda bulunur ve tipik olarak kaplanabilen kristalin bir katı olarak kumaş ve ev bakım ürünleri gibi bu tür temizleme ve/veya işlem bileşimine eklenir. Uygun kaplamalar alkali metal silikat, karbonat veya borat tuzları veya karışımları gibi

10 inorganik tuzları veya suda çözünen veya dağılabilen polimerler, vakslar, yağlar veya yağlı sabunlar gibi organik materyalleri içerir; ve

(4)  $R-(C=O)-L$  formülüne sahip ağartma aktivatörleri burada R, bir alkil grubudur, isteğe bağlı olarak dallanmıştır, ağartma aktivatörü hidrofobik olduğunda 6 ila 14 karbon atomuna veya 8 ila 12 karbon atomuna ve ağartma aktivatörü hidrofilik olduğunda 6'dan daha az karbon atomuna veya hatta 4'ten daha az karbon atomuna sahiptir ve L, ayrılma grubudur. Uygun ayrılma grubu örnekleri benzoik asit veya türevleri – özellikle benzen sülfonattır. Uygun ağartma aktivatörleri dodekanoil oksibenzen sülfonat, dekanoil oksibenzen sülfonat, dekanoil oksibenzoik asit veya tuzları, 3,5,5-trimetil hekzanoiloksibenzen sülfonat, tetraasetil

15 etilen diamin (TAED) ve nonanoiloksibenzen sülfonat (NOBS) içerir. Uygun ağartma aktivatörleri ayrıca WO 98/17767'de açıklanır. Uygun herhangi bir ağartma aktivatörü kullanıldığında buluşun bir açısında söz konusu bileşim NOBS, TAED veya karışımlarını içerebilir.

(5) Ağartma Katalizörleri. Mevcut buluşa ait bileşimler ayrıca bir peroksiasit ve/veya

25 tuzundan bir oksijen atomunu kabul edebilen ve oksijen atomunu oksidize edilebilir bir substrata transfer edebilen bir veya daha fazla ağartma katalizörü içerebilir. Uygun ağartma katalizörleri bunlarla sınırlı olmamak üzere şunları içerir: iminyum katyonları ve poliyonlar; iminyum zwitterionlar; modifiye edilmiş aminler; modifiye edilmiş amin oksitler; N-sülfonil iminler; N-fosforil iminler; N-asil iminler; tiyadiazol dioksitleri perfloroiminler; siklik şeker ketonları ve alfa amino ketonlar ve karışımları.

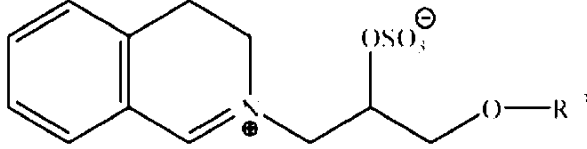
30 Uygun alfa amino ketonlar örneğin WO 2012/000846 A1, WO 2008/015443 A1, ve WO 2008/014965 A1'de açıklanır. Uygun karışımlar USPA 2007/0173430 A1'de açıklanan şekildedir.

Teoriye bağlı kalınmak istenmeksizin buluşçular, yukarıda açıklanan şekilde

35 elektrofili ve hidrofobisitenin kontrol edilmesinin, ağartma bileşeninin sadece

büyük ölçüde daha hidrofobik olan ve oldukça elektrofilik oksidanlar aracılığıyla ağartmaya duyarlı olan, görünür kromoforlar dahil, elektron bakımından zengin toprakları içeren kumaş alanlarına dağıtılmasını sağladığını düşünür.

Burada açıklandığı üzere ağartma katalizörü, aşağıdaki genel formüle göre bir yapıya sahiptir:



burada R<sup>13</sup> 2-etilhekzil, 2-propilheptil, 2-bütüloktil, 2-pentiloktil, 2-hekzildesil, n-dodesil, n-tetradesil, n-hekzadesil, n-oktadesil, izo-nonil, izo-desil, izotridesil ve izo-pentadesilden oluşan gruptan seçilir;

(6) Bileşim tercihen katalitik metal komplekslerini içerebilir. Metal içeren ağartma katalizörünün tercih edilen bir türü, bakır, demir, titanyum, rutenyum, tungsten, molibdenum veya manganez katyonları gibi tanımlanmış katalitik ağartma aktiviteye sahip bir geçiş metal katyonu, çinko ve alüminyum katyonları gibi az veya sıfır katalitik ağartma aktivitesine sahip yardımcı bir metal katyonu ve katalitik ve yardımcı metal katyonları, özellikle etilendiaminetetraasetik asit, etilendiaminetetra(metilenfosfonik asit) ve suda çözünen tuzları için tanımlanmış stabilite sabitlerine sahip bir tecrit edici madde içeren bir katalizör sistemidir. Bu tür katalizörler U.S. 4,430,243'te açıklanır.

İstenmesi halinde buradaki bileşim, bir manganez bileşiği yoluyla katalize edilebilir. Bu tür bileşikler ve kullanım seviyeleri teknikte iyi bilinir ve örneğin U.S. 5,576,282'de açıklanan manganez bazlı katalizörleri içerir.

Burada faydalı olan kobalt ağartma katalizörleri bilinir ve örneğin U.S. 5,597,936; U.S. 5,595,967'de açıklanır. Bu tür kobalt katalizörleri örneğin U.S. 5,597,936, ve U.S. 5,595,967'de öğretilenler gibi bilinen prosedürler ile kolay bir şekilde hazırlanabilir.

Buradaki bileşimler ayrıca uygun şekilde bispidonlar gibi ligandların (WO 05/042532 A1) ev/veya "MRL" olarak kısaltılan makrolisilik sert ligandların bir geçiş metali kompleksini içerebilir. Pratik bir konu olarak ve sınırlama olmaksızın buradaki bileşimler ve prosesler, aköz yıkama ortamında yüz milyon aktif MRL türü başına en az bir parça

sirasını sağlamak üzere ayarlanabilir ve tipik olarak yıkama çözeltisinde yaklaşık 0.005 ppm ile yaklaşık 25 ppm, yaklaşık 0.05 ppm ile yaklaşık 10 ppm, veya hatta yaklaşık 0.1 ppm ile yaklaşık 5 ppm MRL sağlayacaktır.

- 5 Mevcut geçiş metali ağartma katalizöründeki uygun geçiş metalleri örneğin manganez, demir ve kromyum içerir. Uygun MRL'ler 5,12-dietil-1,5,8,12-tetraazabisisiklo[6.6.2]hekzadekan içerir.

- 10 Uygun geçiş metali MRL'ler örneğin WO 00/32601, ve U.S. 6,225,464'te öğretilenler gibi bilinen prosedürler ile kolay bir şekilde hazırlanır.

- 15 Mevcut olduğunda hidrojen peroksit/perasit ve/veya ağartma aktivatörü kaynağı genellikle kumaş ve ev bakım ürünü gibi temizlik ve/veya işlem bileşimine dayanarak ağırlıkça yaklaşık %0.1 ile yaklaşık 60, ağırlıkça yaklaşık %0.5 ile yaklaşık 40 veya hatta ağırlıkça yaklaşık %0.6 ile yaklaşık 10 olan miktarda bileşimde bulunur. Bir veya daha fazla hidrofobik perasitler veya prekürsörleri bir veya daha fazla hidrofilik perasit veya prekürsörü ile kombinasyon halinde kullanılabilir.

- 20 Tipik olarak hidrojen peroksit kaynağı ve ağartma aktivatörü, birlikte eklenecektir. hidrojen peroksit kaynağı ve perasit veya ağartma aktivatörünün miktarları, temin edilebilir oksijenin (peroksit kaynağından alınan) peraside molar oranı 1:1 ile 35:1, veya hatta 2:1 ile 10:1 arasında olacak şekilde seçilebilir.

- 25 **Sürfaktan.** Tercihen bileşim, bir sürfaktan veya sürfaktan sistemi içerir. Sürfaktan noniyonik, aniyonik, katyonik, amfoterik, amfolitik, amfililik, zwitteriyonik, semi-polar noniyonik sürfaktanlar ve karışımlarından seçilebilir. Tercih edilen bileşimler, sürfaktanların karışımı/sürfaktan sistemi içerir. Tercih edilen sürfaktan sistemleri, en çok tercih edildiği üzere bir ko-sürfaktan, en çok tercihen bir noniyonik ve/veya amfoterik ve/veya zwitteriyonik sürfaktan ile kombinasyon halinde bir veya daha fazla aniyonik sürfaktan içerir. Tercih edilen sürfaktan sistemleri tercihen 90:1 ile 1:90 arasında ağırlık oranlarında anyonik ve noniyonik sürfaktan içerir. Bazı örneklerde en az 1:1 olan anyonik ile noniyonik sürfaktan ağırlık oranı tercih edilir. Mevcut olduğunda toplam sürfaktan seviyesi tercihen söz konusu bileşimin ağırlığında %0.1 ile %60, %1 ile %50 veya %5 ile %40 arasındadır.

Tercihen bileşim, bir anyonik temizleyici sürfaktan, tercihen sülfat ve/veya sülfonat sürfaktanları içerir. Tercih edilen örnekler alkil benzen sülfonatlar, alkil sülfatlar ve alkil alkoksile sülfatları içerir. Tercih edilen sülfonatlar C<sub>10-13</sub> alkil benzen sülfonattır. Uygun alkil benzen sülfonat (LAS), ticari olarak temin edilebilir lineer alkil benzenin (LAB) sülfonlanması ile elde edilebilir; uygun LAB Isochem® ticari adı altında Sasol tarafından tedarik edilenler veya Petrelab® ticari adı altında Petresa tarafından tedarik edilenler gibi düşük 2-fenil LAB'yi içerir, diğer uygun LAB, Hyblene® ticari adı altında Sasol tarafından tedarik edilenler gibi yüksek 2-fenil LAB içerir. Uygun anyonik temizleyici bir sürfaktan, HF gibi diğer sentez yolları da uygun olabilmesine rağmen

5

10 DETAL katalize proses ile elde edilen alkil benzen sülfonattır. Bir açıda bir LAS magnezyum tuzu kullanılır.

Tercih edilen sülfat temizleyici sürfaktanlar, alkil sülfat, tipik olarak C<sub>8-18</sub> alkil sülfat veya büyük bir çoğunlukla C<sub>12</sub> alkil sülfat içerir. Tercih edilen ilave bir alkil sülfat alkil alkoksile sülfat, tercihen bir C<sub>8-18</sub> alkil alkoksile sülfattır. Tercihen alkoksilleme grubu bir etoksileme grubudur. Tipik olarak alkil alkoksile sülfat, 0.5 ila 30 veya 20, veya 0.5 ila 10 arasında ortalama bir alkoksilasyon derecesine sahiptir. 0.5 ila 10, 0.5 ila 7, 0.5 ila 5 veya hatta 0.5 ila 3 arasında ortalama bir etoksilasyon derecesine sahip C<sub>8-18</sub> alkil etoksile sülfat özellikle tercih edilir.

15

20

Alkil sülfat, alkil alkoksile sülfat ve alkil benzen sülfonatlar lineer veya dallanmış, sübstitüe edilmiş veya sübstitüe edilmemiş olabilir. Sürfaktan dallandığında tercihen sürfaktan, orta zincirli dallanmış sülfat veya sülfonat sürfaktan içerecektir. Tercihen dallanma grupları C<sub>1-4</sub> alkil grupları, tipik olarak metil ve/veya etil gruplarını içerir.

25

Tercihen bileşim, noniyonik temizleyici bir sürfaktan içerir. Uygun non-iyonik sürfaktanlar aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilir: C<sub>8</sub>-C<sub>18</sub> alkil etoksilatlar, örneğin, Shell'den NEODOL® non-iyonik sürfaktanlar; C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> alkil fenol alkoksilatlar burada alkoksilat birimleri etilenoksi birimleri, propilenoksi birimleri veya bir karışımı olabilir;

30

BASF'den Pluronic® gibi etilen oksit/propilen oksit blok polimerler ile C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub> alkol ve C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> alkil fenol kondensatlar; C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> orta zincirli dallanmış alkoller; C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> orta zincirli dallanmış alkil alkoksilatlar, tipik olarak 1 ila 30 arasında ortalama bir alkoksilasyon derecesine sahiptir; alkilpolisakkaritler, bir açıda alkilpoliglikosidler; polihidroksi yağ asidi amidleri; eter başlıklı poli(oksialkile) alkol sürfaktanlar ve

35

karışımları.



Uygun non-iyonik temizleyici sürfaktanlar alkil poliglukosit ve/veya bir alkil alkoksile alkol içerir.

- 5 Bir açıda non-iyonik temizleyici sürfaktanlar alkil alkoksile alkoller, bir açıda C<sub>8-18</sub> alkil alkoksile alkol, örneğin C<sub>8-18</sub> alkil etoksile alkol içerir, alkil alkoksile alkol 1 ila 80, tercihen 1 ila 50, en çok tercih edildiği üzere 1 ila 30, 1 ila 20 veya 1 ila 10 arasında ortalama bir alkoksilasyon derecesine sahip olabilir. Bir açıda alkil alkoksile alkol, 1 ila 10, 1 ila 7, 1 ila 5 veya 3 ila 7 veya hatta 3 veya 2'nin altında ortalama bir etoksilasyon derecesine sahip bir C<sub>8-18</sub> alkil etoksile alkol olabilir.

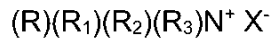
Alkil alkoksile alkol lineer veya dallanmış ve süstitüe edilmiş veya süstitüe edilmemiş olabilir.

- 15 Uygun noniyonik sürfaktanlar, BASF'den Lutensol® ticari adı olanları içerir.

Uygun katyonik temizleyici sürfaktanlar alkil piridinyum bileşikler, alkil kuaterner amonyum bileşikler, alkil kuaterner fosfonyum bileşimleri, alkil ternar sülfonyum bileşikler ve karışımlarını içerir.

20

Uygun katyonik temizleyici sürfaktanlar, aşağıdaki genel formüle sahip kuaterner amonyum bileşikleridir:



25

burada, R lineer veya dallanmış, süstitüe edilmiş veya süstitüe edilmemiş C<sub>6-18</sub>alkil veya alkenil kısmıdır, R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> bağımsız olarak metil veya etil kısımlarından seçilir, R<sub>3</sub> bir hidroksil, hidroksimetil veya bir hidroksietil kısmıdır, X yük nötralliği sağlayan bir anyondur, uygun anyonlar şunları içerir: halojenürler, örneğin klorid; sülfat ve sülfonat.

- 30 Uygun katyonik temizleyici sürfaktanlar mono-C<sub>6-18</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum kloridlerdir. Oldukça uygun katyonik temizleyici sürfaktanlar mono-C<sub>8-10</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum klorid, mono-C<sub>10-12</sub>alkil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum klorid ve mono-C<sub>10</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum kloriddir.

35

Uygun amfoterik/zwitteriyonik sürfaktanlar amin oksitleri ve betainleri içerir.

Amin-nötrale anyonik sürfaktanlar – Mevcut buluşa anyonik sürfaktanlar ve yardımcı anyonik kosürfaktanlar bir asit formunda bulunabilir ve söz konusu asit formu, mevcut deterjan bileşiminde kullanım için istenen bir sürfaktan tuzunu oluşturmak üzere nötrale edilebilir. Nötralizasyona yönelik tipik ajanlar, hidroksitler, örneğin NaOH veya KOH gibi metal karşı iyon bazını içerir. Mevcut buluşa ait anyonik sürfaktanlar ve asit formlarında yardımcı anyonik sürfaktanlar ve kosürfaktanların nötrale edilmesine yönelik ayrıca tercih edilen ajanlar amonyak, aminler veya alkalolaminleri içerir. Alkanolaminler tercih edilir. Uygun sınırlandırıcı olmayan örnekler teknikte bilinen monoetanolamin, dietanolamin, trietanolamin ve diğer lineer veya dallanmış alkanolaminleri içerir; örneğin oldukça tercih edilen alkanolaminler 2-amino-1-propanol, 1-aminopropanol, monoizopropanolamin, veya 1-amino-3-propanol içerir. Amin nötralizasyonu, tam veya kısmi ölçüde yapılabilir, örneğin anyonik sürfaktan karışımının parçası sodyum veya potasyum ile nötrale edilebilir ve anyonik sürfaktan karışımının parçası aminler veya alkanolaminler ile nötrale edilebilir.

**Yapıcı maddeler.** Tercihen bileşim, bir veya daha fazla yapıcı madde ve bir yapıcı madde sistemi içerir. Bir yapıcı madde kullanıldığında buluşa ait bileşim tipik olarak en az %1, %2 ila %60 yapıcı içerecektir. Bileşimin örneğin ağırlıkça %1 ila 10 veya 5 arasında düşük fosfat tuzu ve/veya zeolit seviyeleri içermesi tercihe denebilir. Bileşim hatta büyük ölçüde güçlü yapıcı madde içermeyebilir; büyük ölçüde güçlü yapıcı madde içermeme “kasıtlı olarak eklenen herhangi bir” zeolit ve/veya fosfat olmadığı anlamına gelir. Tipik zeolit yapıcı maddeler zeolit A, zeolit P ve zeolit MAP içerir. Tipik bir fosfat yapıcı madde sodyum tri-polifosfattır.

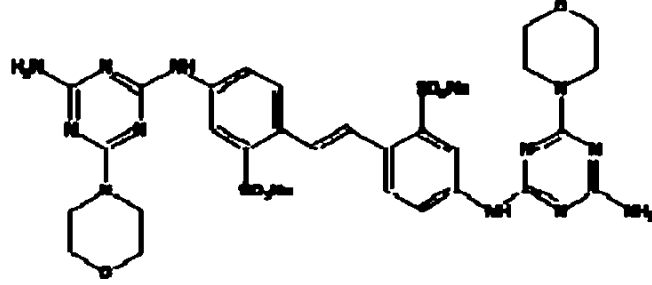
**Şelatlayıcı Ajan.** Tercihen bileşim, şelatlayıcı ajanlar ve/veya kristal büyüme inhibitörü içerir. Uygun moleküller bakır, demir ve/veya manganez şelatlayıcı ajanları ve karışımlarını içerir. Uygun moleküller aminokarboksilatlar, aminofosfonatlar, süksinatlar, tuzları ve karışımlarını içerir. Burada kullanıma yönelik uygun şelatlayıcıların sınırlandırıcı olmayan örnekleri etilendiamintetrasetatlar, N-(hidroksietil)etilendiamintriasetatlar, nitrilotriasetatlar, etilendiamin tetrapropionatlar, trietilentetraaminheksasetatlar, dietilentriamin-pentaasetatlar, etanoldiglisinler, etilendiamintetrakis (metilenfosfonatlar), dietilentriamin penta(metilen fosfonik asit) (DTPMP), etilendiamin disükssinat (EDDS), hidroksietandimetilenfosfonik asit (HEDP),

metilglisindiasetik asit (MGDA), dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA), tuzları, ve karışımlarını içerir. Mevcut buluşta kullanıma yönelik şelatlayıcıların diğer sınırlandırıcı olmayan örnekleri U.S. Patent No. 7445644, 7585376 ve 2009/0176684A1'de bulunur. Burada kullanıma yönelik diğer uygun şelatlayıcı ajanlar ticari DEQUEST serileri ve  
5 Monsanto, DuPont, ve Nalco, Inc'den alınan şelatlayıcılardır.

**Boya Transfer İnhibitörü (DTI).** Bileşim, bir veya daha fazla boya transferini Buluşa ait bir düzenlemede buluşçular şaşırtıcı şekilde belirtilen boyaya ek olarak polimerik boya transferini inhibe edici ajanlar içeren bileşimlerin gelişmiş performans sağladığını  
10 bulmuşlardır. Bu durum, bu polimerlerin boya tortulaşmasını önlemesi nedeniyle şaşırtıcıdır. Uygun boya transfer inhibitörleri bunlarla sınırlı olmamak üzere polivinilpirolidon polimerler, poliamin N-oksit polimerler, N-vinilpirolidon ve N-vinilimidazol kopolimerleri, poliviniloksazolidonlar ve polivinilimidazoller veya karışımlarını içerir. Uygun örnekler PVP-K15, PVP-K30, Ashland Aqualon'dan alınan  
15 ChromaBond S-400, ChromaBond S-403E ve Chromabond S-100, ve BASF'den alınan Sokalan HP165, Sokalan HP50, Sokalan HP53, Sokalan HP59, Sokalan® HP 56K, Sokalan® HP 66 içerir. Diğer uygun DTI'lar WO2012/004134'te açıklanan şekildedir. Söz konusu bir bileşimde bulunduğu boya transferini inhibe edici ajanlar, bileşimin ağırlığına yaklaşık %0.0001 ila yaklaşık %10, yaklaşık %0.01 ila yaklaşık %5 veya  
20 hatta yaklaşık % 0.1 ila yaklaşık %3 olan seviyelerde bulunabilir.

**Floresan Parlaticı.** Tercihen bileşim bir veya daha fazla floresan parlaticı içerir. Mevcut buluşta faydalı olabilen ticari optik parlaticılar, bunlarla sınırlı olmamak üzere stilben deriveleri, pirazolin, kumarin, karboksilik asit, metinsiyaninler, dibenzotiyofen-  
25 5,5-dioksit, azol, 5- ve 6-üyelî halka heterosikller, ve diğer çeşitli ajanları içeren alt gruplar halinde sınıflandırılabilir. Özellikle tercih edilen parlaticılar şunlardan seçilir: sodyum 2 (4-stiril-3-sülfofenil)-2H-naftol[1,2-d]triazol, disodyum 4,4'-bis{[(4-anilino-6-(N metil-N-2 hidroksietil) amino 1,3,5-triazin-2-il)]amino}stilben-2-2-disülfonat, disodyum 4,4'-bis{[(4-anilino-6-morpholino-1,3,5-triazin-2-il)]amino}stilben-2-2' disülfonat, ve  
30 disodyum 4,4'- bis (2-sulfostyryl) bifenil. Bu tür parlaticıların diğer örnekleri John Wiley & Sons tarafından yayınlanan "The Production and Application of Fluorescent Brightening Agents", M. Zahradnik, New York (1982) içerisinde açıklanır. Mevcut bileşimlerde faydalı olan optik parlaticıların spesifik sınırlandırıcı olmayan örnekleri .S. Patent No. 4,790,856 ve U.S. Patent No. 3,646,015'te tanımlananlardır.

Tercih edilen bir parlaticı aşağıdaki yapıya sahiptir:



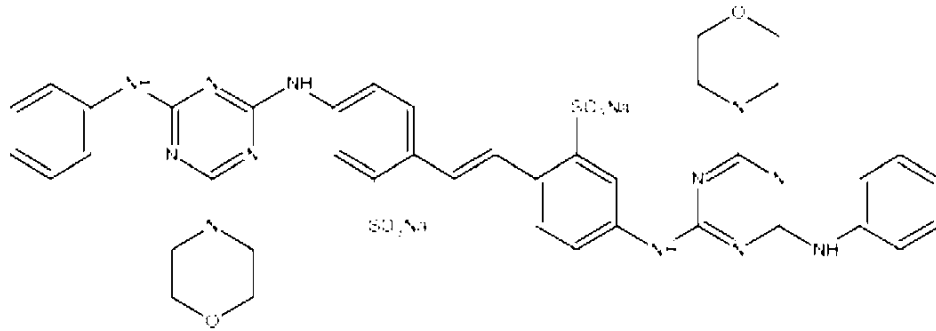
- 5 Uygun floresan parlaticı seviyeleri, ağırlıkça yaklaşık 0.01, yaklaşık 0.05, yaklaşık 0.1 veya hatta yaklaşık 0.2 alt seviyeleri ile ağırlıkça %0.5 veya hatta 0.75 üst seviyeleri içerir.

Bir açıda parlaticı, bir partikül oluşturmak üzere bir kile yüklenebilir.

10

Tercih edilen parlaticılar toplam olarak veya baskın şekilde (tipik olarak ağırlıkça en az %50, ağırlıkça en az %75, ağırlıkça en az %90, ağırlıkça en az %99) alfa-kristalin formundadır. Yüksek derecede tercih edilen bir parlaticı, tercihen aşağıdaki yapıya sahip C.I. floresan parlaticı 260 içerir:

15



Bu, örneğin 30 veya 25 veya hatta 20°C altında olan soğuk suda iyi derecede çözündüğünden özellikle faydalı olabilir.

20

Tercihen parlaticılar, en çok tercih edildiği üzere 3 ila 30 mikrometre, 3 mikrometre ile 20 mikrometre veya 3 ila 10 mikrometre arasında ağırlıkça ortalama bir primer partikül boyutuna sahip mikronize partikülat formunda bileşime eklenir.

Bileşim, beta-kristalin formunda C.I. floresan parlaticı 260 içerir ve (i) alfa-kristalin formunda C.I. floresan parlaticı 260'ın (ii) beta-kristalin formunda C.I. floresan parlaticı 260'a ağırlık oranı en az 0.1 veya en az 0.6 olabilir.

- 5 BE680847, alfa-kristalin formunda C.I floresan parlaticı 260 yapımına yönelik bir proses ile ilgilidir.

**Silikat Tuzları.** Bileşim tercihen ayrıca sodyum veya potasyum silikat gibi silikat tuzlarını içerebilir. Bileşim ağırlıkça %0 ila ağırlıkça %10'dan az silikat tuzu, ağırlıkça %9, veya ağırlıkça %8 veya ağırlıkça %7 veya ağırlıkça %6 veya ağırlıkça %5 veya ağırlıkça %4 veya ağırlıkça %3 veya hatta ağırlıkça %2 ve tercihen ağırlıkça %0'ın üzerinde veya ağırlıkça %0.5 veya hatta ağırlıkça %1 silikat tuzu içerebilir. Uygun bir silikat tuzu sodyum silikattır.

- 15 **Dağıtıcılar.** Bileşim tercihen ayrıca dağıtıcıları içerebilir. Uygun suda çözünabilir organik materyaller homo- veya ko-polimerik asitleri veya tuzlarını içerir, burada polikarboksilik asit, en fazla iki karbon atomu ile birbirinden ayrılan en az iki karboksil radikali içerir.

- 20 **Enzim stabilizörleri.** Bileşim tercihen enzim stabilizörleri içerebilir. Herhangi bir klasik enzim stabilizörü örneğin enzimlere bu tür iyonları sağlayan tamamlanmış kumaş ve ev bakım ürünlerinde kalsiyum ve/veya magnezyum iyonlarının suda çözünen kaynaklarının varlığı ile kullanılabilir. Proteaz içeren aköz bileşimler durumunda tersinir bir proteaz inhibitörü, örneğin borat içeren bir boron bileşiği veya tercihen 4-formül  
25 fenilboronik asit, fenilboronik asit ve deriveleri veya kalsiyum format, sodyum format ve 1,2-propan diol gibi bileşikler stabiliteyi geliştirmek üzere eklenebilir.

- Solvent Sistemi.** Mevcut bileşimlerdeki solvent sistemi, tek başına su veya su olmaksızın veya tercihen su ile organik solventlerin karışımlarını içeren bir solvent sistemi olabilir. Tercih edilen organik solventler 1,2-propanediol, etanol, gliserol, dipropilen glikol, metil propan diol ve karışımlarını içerir. Diğer düşük alkoller, C1-C4 alkanolaminler örneğin monoetanolamin ve trietanolamin, kullanılabilir. Solvent sistemleri örneğin buluşun anhidroz katı düzenlemelerinden bulunmayabilir ancak daha tipik olarak yaklaşık %0.1 ila yaklaşık %98, tercihen en az yaklaşık %1 ila yaklaşık  
35 %50, genellikle yaklaşık %5 ila yaklaşık %25 aralığındaki seviyelerde bulunur.

- Buluşun bazı düzenlemelerinde bileşim, yapısal bir sıvı formundadır. Bu yapısal sıvılar, içsel olarak yapısal olabilir, böylelikle yapı primer bileşenler (örneğin sürfaktan materyal) ile oluşturulur ve/veya örneğin kalınlaştırıcılar olarak kullanım için sekonder bileşenler (örneğin polimerler, kil ve/veya silikat materyal) kullanılarak üç boyutlu matris yapının sağlanması ile dıştan yapısal olabilir. Bileşim bir yapılandırıcı, tercihen ağırlıkça %0.01 ila ağırlıkça %5, ağırlıkça %0.1 ila ağırlıkça %2.0 yapılandırıcı içerebilir. Uygun yapılandırıcıların örnekleri US2006/0205631A1, US2005/0203213A1, US7294611, US6855680'de verilir.
- 10 Yapılandırıcı tipik olarak digliseritler ve trigliseridler, etilen glikol distearat, mikrokristalin selüloz, selüloz bazlı materyaller, mikrofiber selüloz, hidrofobik olarak modifiye edilmiş alkali-şişen emülsiyonlar örneğin Poligel W30 (3VSigma), biyopolimerler, ksantan zamkı, gellan zamkı, hidrojenize kastor yağı, hidrojenize kastor deriveleri örneğin etoksilenmemiş deriveleri ve karışımları, özellikle hidrojenize kastor yağı, hidrojenize
- 15 kastor yağı deriveleri, mikrofibüler selüloz, hidroksifonksiyonel kristalin materyaller, uzun zincirli yağ alkolleri, 12-hidroksistearik asitler, killer ve karışımlarından oluşan gruptan seçilenlerden oluşan gruptan seçilir. Tercih edilen bir yapılandırıcı, uygun hidroksifonksiyonel kristalin materyalleri detaylı şekilde tanımlayan US Patent No. 6,855,680'de açıklanır. Hidrojenize kastor yağı tercih edilir. Faydalı yapılandırıcıların
- 20 sınırlandırıcı olmayan örnekleri içerir. Bu tür yapılandırıcılar, bir görünüm açısı aralığına sahip ip şeklinde yapılandırma sistemine sahiptir. Diğer uygun yapılandırıcılar ve bunların yapılmasına yönelik prosesler WO2010/034736'da açıklanır.
- Mevcut buluşa ait bileşim, yüksek erime noktalı yağ bileşiği içerebilir. Burada faydalı
- 25 yüksek erime noktalı yağ bileşiği, 25°C veya daha yüksek bir erime noktasına sahiptir ve yağ alkolleri, yağ asitleri, yağ alkol deriveleri, yağ asidi deriveleri ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir. Düşük erime noktalı bu tür bileşiklerin bu bölüme dahil edilmesi tasarlanmaz. Yüksek erime noktalı bileşiklerin sınırlandırıcı olmayan örnekleri International Cosmetic Ingredient Dictionary, Fifth Edition, 1993, ve CTFA Cosmetic
- 30 Ingredient Handbook, Second Edition, 1992'de bulunur. Mevcut olduğunda yüksek erime noktalı yağ asidi tercihen bileşimin ağırlığınca %0.1 ila %40, tercihen %1 ila %30, daha çok tercihen %1.5 ila %16, ıslak saçta uygulama sırasında kayganlık hissi, kuru saçta yumuşaklık ve nemlilik hissi gibi geliştirilmiş iyileştirme faydalarının sağlanması bakımından %1.5 ila %8 seviyesinde bileşime dahil edilir.

**Katyonik Polimer.** Mevcut buluşa ait bileşimler bir katyonik polimer içerebilir. Bileşimdeki katyonik polimer konsantrasyonları tipik olarak %0.05 ila %3, bir diğer düzenlemede %0.075 ila %2.0 ve yine bir diğer düzenlemede %0.1 ila 1.0 aralığındadır. Uygun katyonik polimerler bileşimin tasarlanan kullanım pH değerinde en az 0.5 meq/gm'lik, bir diğer düzenlemede en az 0.9 meq/gm'lik, bir diğer düzenlemede en az 1.2 meq/gm'lik, yine bir diğer düzenlemede en az 1.5 meq/gm'lik, ancak bir düzenlemede 7 meq/gm'den daha az ve bir diğer düzenlemede 5 meq/gm'den daha az katyonik yük yoğunluğuna sahip olacaktır, pH değeri genellikle pH 3 ila pH 9, bir düzenlemede pH 4 ile pH 8 arasında olacaktır. Burada bir polimerin "katyonik yük yoğunluğu" polimerdeki pozitif yük sayısının polimerin moleküler ağırlığına oranına refere eder. Bu tür uygun katyonik polimerlerin ortalama moleküler ağırlığı genellikle 10,000 ile 10 milyon arasında, bir düzenlemede 50,000 ile 5 milyon arasında ve bir diğer düzenlemede 100,000 ile 3 milyon arasında olacaktır.

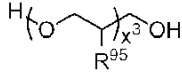
Mevcut buluşa ait bileşimlerde kullanıma yönelik uygun katyonik polimerler, kuaterner amonyum veya katyonik protonlu amino kısımları gibi katyonik nitrojen içeren kısımları içerir. Herhangi bir anyonik karşıt iyon, polimerler suda, bileşimde veya bileşimin koaserval fazında çözünür kaldığı sürece ve karşıt iyonların fiziksel olarak ve kimyasal olarak bileşimin gerekli bileşenleri ile uyumlu olduğu veya başka şekilde gereksiz yere ürün performansı, stabilitesi veya estetiğini bozmadığı sürece katyonik polimerler ile ilişkili şekilde kullanılabilir. Bu tür karşıt iyonların sınırlandırıcı olmayan örnekleri halojenürleri (örneğin klorid, florid, bromid, iyodid), sülfat ve metilsülfat içerir.

Bu tür polimerlerin sınırlandırıcı olmayan örnekleri CTFA Cosmetic Ingredient Dictionary, 3rd edition, edited by Estrin, Crosley, and Haynes, (The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Inc., Washington, D.C. (1982)) içinde açıklanır.

Bileşimde kullanıma yönelik diğer uygun katyonik polimerler polisakkarit polimerler, katyonik guar zamkı deriveleri, kuaterner nitrojen içeren selüloz eterler, sentetik polimerler, eterleşmiş selüloz kopolimerleri, guar ve nişasta içerir. Kullanıldığında buradaki katyonik polimerler bileşimde çözünürdür veya burada daha önce açıklanan katyonik polimer ve anyonik, amfoterik ve/veya zwitteriyonik sürfaktan bileşeni ile oluşturulan bileşimde kompleks koaserval bir fazda çözünürdür. Katyonik polimerin kompleks koaservalları bileşimdeki diğer yüklü materyaller ile oluşturulabilir.

Uygun katyonik polimerler U.S. Patent No. 3,962,418; 3,958,581; ve U.S. Yayın No. 2007/0207109A1'de açıklanır.

- Noniyonik Polimer.** Mevcut buluşa ait bileşim, bir şartlandırma ajanı olarak noniyonik bir polimer içerebilir. 1000'den daha fazla moleküler ağırlığa sahip polialkilen glikoller burada faydalıdır. Aşağıdaki genel formüle sahip olanlar faydalıdır:



- burada R<sup>95</sup>, H, metil ve karışımlarından oluşan gruptan seçilir. Şartlandırma ajanları ve özellikle silikonlar bileşime dahil edilebilir. Mevcut buluşa ait bileşimlerde faydalı şartlandırma ajanları tipik olarak emülsifiye edilmiş, sıvı partikülleri oluşturulan sıvı suda çözünmeyen, suda dağılabilir, uçucu olmayan, sıvı içerir. Bileşimde kullanıma yönelik uygun şartlandırma ajanları, genellikle silikonlar (örneğin silikon yağlar, katyonik silikonlar, silikon zamlar, yüksek refraktif silikonlar ve silikon reçineleri), organik şartlandırma yağları (örneğin hidrokarbon yağları, poliolefinler ve yağ esterleri) veya kombinasyonları olarak karakterize edilen şartlandırma ajanları veya diğer şekilde buradaki aköz sürfaktan matriksinde sıvı, dağınık partikülleri oluşturan şartlandırma ajanlarıdır. Bu tür şartlandırma ajanları, bileşimin esas bileşenleri ile fiziksel olarak ve kimyasal olarak uyumlu olmalıdır ve başka şekilde ürün stabilitesini, estetiğini veya performansını gereksiz şekilde bozmamalıdır.

- Şartlandırma ajanının bileşimdeki konsantrasyonu, istenilen şartlandırma faylarını sağlamak için yeterli olmalıdır. Bu tür konsantrasyon, şartlandırma ajanı, istenilen şartlandırma performansı, şartlandırma ajanı partiküllerinin ortalama boyutu, diğer bileşenlerin türü ve konsantrasyonu ve diğer benzeri faktörler ile değişkenlik gösterebilir.

- Silikon şartlandırma ajanının konsantrasyonu tipik olarak yaklaşık %0.01 ila yaklaşık %10 aralığındadır. Uygun silikon şartlandırma ajanları, ve silikon için isteğe bağlı süspanse edici ajanların sınırlandırıcı olmayan örnekleri U.S. Yeni Baskı Patent No. 34,584, U.S. Patent No. 5,104,646; 5,106,609; 4,152,416; 2,826,551; 3,964,500; 4,364,837; 6,607,717; 6,482,969; 5,807,956; 5,981,681; 6,207,782; 7,465,439; 7,041,767; 7,217,777; US Patent



Application No. 2007/0286837A1; 2005/0048549A1; 2007/0041929A1; İngiliz Patent No. 849,433; Alman Patent No. DE 10036533; Chemistry and Technology of Silicones, New York: Academic Press (1968); General Electric Silicone Rubber Product Data Sheets SE 30, SE 33, SE 54 and SE 76; Silicon Compounds, Petrarch Systems, Inc. (1984); and in Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, vol. 15, 2d ed., pp 204-308, John Wiley & Sons, Inc. (1989) içinde açıklanır.

**Organik Şartlandırma Yağı.** Mevcut buluşa ait bileşimler ayrıca tek başına veya diğer şartlandırma ajanları, örneğin silikonlar (burada açıklanan) ile kombinasyon halinde şartlandırma ajanı olarak yaklaşık %0.05 ila yaklaşık %3 en az bir organik şartlandırma yağı içerebilir. Uygun şartlandırma yağları hidrokarbon yağları, poliolefinler ve yağ esterlerini içerir. Burada bileşimde kullanım için ayrıca uygun olanlar Procter & Gamble Company in U.S. Patent No. 5,674,478, ve 5,750,122 ile açıklanan şartlandırma ajanlarıdır. Ayrıca burada kullanım için uygun olanlar U.S. Patent No. 4,529,586, 4,507,280, 4,663,158, 4,197,865, 4,217, 914, 4,381,919, ve 4,422, 853'te açıklanan şartlandırma ajanlarıdır.

**Hijyen Ajanı.** Mevcut buluşa ait bileşimler ayrıca bir veya daha fazla çinko risinoleat, timol, kuaterner amonyum tuzları örneğin Bardac®, polietilenimin (örneğin BASF'den Lupasol®) ve çinko kompleksi, gümüş ve gümüş bileşik, örneğin Ag<sup>+</sup> veya nano-gümüş dispersiyonları yavaş bir şekilde salgılamak üzere tasarlananlar gibi hijyen ve/veya kötü koku faydalarını dağıtmak üzere bileşenleri içerebilir.

**Probiyotikler.** Bileşim, WO2009/043709'da açıklananlar gibi probiyotikleri içerebilir.

25

**Köpük Pekiştiriciler.** Bileşim, yüksek köpürme istenmesi halinde tercihen köpük pekiştiricileri içerebilir. Uygun örnekler tercihen %1-%10 seviyelerinde eklenen C10-C16 alkanolamidler veya C10-C14 alkil sülfatlardır. C10-C14 monoetanol ve dietanol amidler, bu tür köpük pekiştiricilerin tipik bir sınıfını gösterir. Yukarıda belirtilen amin oksitler, betainler ve sultainler gibi yüksek köpüklemeye yardımcı sürfaktanlar ile bu tür köpük pekiştiricilerin kullanımı da avantajlıdır. İstenmesi halinde suda çözünür magnezyum ve/veya kalsiyum tuzları örneğin MgCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, CaSO<sub>4</sub> ve benzeri ek köpük sağlamak üzere ve yağ uzaklaştırma performansını arttırmak üzere tipik olarak %0.1-%2 seviyelerinde eklenebilir.

30

**Köpük Baskılayıcılar.** Köpük oluşmasının azaltılması veya baskılanmasına yönelik bileşikler, mevcut buluşa ait bileşimlere eklenebilir. Köpük baskılaması, U.S. Patent No. 4,489,455 ve 4,489,574'te açıklanan şekilde "yüksek konsantrasyonlu temizleme prosesinde" ve önden yüklemeli yıkama makinelerinde özel öneme sahip olabilir. geniş çeşitlilikte materyal, köpük baskılayıcısı olarak kullanılabilir ve köpük baskılayıcıları teknikte uzman kişilerce iyi bilinir. Bakınız örneğin Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Third Edition, Volume 7, pages 430-447 (John Wiley & Sons, Inc., 1979). Köpük baskılayıcıların örnekleri burada monokarboksilik yağ asidi ve çözünür tuzları, yüksek moleküler ağırlıklı hidrokarbonlar örneğin parafin, yağ asidi esterleri (örneğin yağ asidi trigliseritleri), monovalent alkollerin yağ asidi esterleri, alifatik C18-C40 ketonlar (örneğin stearon), N-alkile amino triazinler, tercihen yaklaşık 100°C'nin altında erime noktasına sahip mumsu hidrokarbonlar, silikon köpük baskılayıcılar ve sekonder alkoller içerir. Köpük baskılayıcılar U.S. Patent No. 2,954,347; 4,265,779; 4,265,779; 3,455,839; 3,933,672; 4,652,392; 4,978,471; 4,983,316; 5,288,431; 4,639,489; 4,749,740; ve 4,798,679; 4,075,118; Avrupa Patent Başvuru No. 89307851.9; EP 150,872; ve DOS 2,124,526'da açıklanır.

Otomatik çamaşır yıkama makinelerinde kullanılacak herhangi bir deterjan bileşimi için köpük, yıkama makinesinden taşacak ölçüde oluşmamalıdır. Köpük baskılayıcılar, kullanıldığında tercihen "köpük baskılayıcı miktarda" bulunur. "Köpük baskılayıcı miktar" ile bileşimin formülünü yapan kişinin otomatik çamaşır yıkama makinelerinde kullanım için düşük köpürücü çamaşır deterjanı ortaya çıkarmak üzere köpüğü yeterli derecede kontrol edecek bu köpük kontrol etme ajanı miktarını seçebildiği ifade edilir. Buradaki bileşimler genellikle %0 ila %10 köpük baskılayıcı içerecektir. Köpük baskılayıcılar olarak kullanıldığında monokarboksilik yağ asitleri ve buradaki tuzlar tipik olarak ağırlıkça %5 kadar miktarda deterjan bileşiminde bulunacaktır. Tercihen %0.5 ila %3 yağ monokarboksilat köpük baskılayıcı kullanılır. Silikon köpük baskılayıcılar tipik olarak daha yüksek miktarlar kullanılabilmesine rağmen ağırlıkça %2.0 olan miktarda deterjan bileşiminde kullanılabilir. Monostearil fosfat köpük baskılayıcılar genellikle ağırlıkça %0.1 ila %2 aralığında bileşim miktarlarında kullanılır. Hidrokarbon köpük baskılayıcılar tipik olarak daha yüksek seviyeler kullanılabilmesine rağmen %0.01 ila %5.0 aralığında miktarlarda kullanılır. Alkol köpük baskılayıcılar tipik olarak tamamlanmış bileşimlerin ağırlığına %0.2-%3 miktarında kullanılır.

**Sedef Görünümlü Ajanlar.** WO2011/163457 'de açıklanan sedef görünümlü ajanlar buluşa ait bileşimlere eklenebilir.

**Parfüm.** Tercihen bileşim, tercihen ağırlıkça %0.01 ila 3, en çok tercih edildiği üzere ağırlıkça %0.1 ila 1 aralığında bir parfüm içerir. birçok uygun parfüm örneği CFTA Publications tarafından yayınlanan CTFA (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) 1992 International Buyers Guide, ve Schnell Publishing Co. tarafından yayınlanan OPD 1993 Chemicals Buyers Directory 80<sup>th</sup> Annual Edition içinde sağlanır. Buluşa ait bileşimlerde örneğin dört, beş, altı, yedi veya daha fazla gibi çok sayıda parfüm bileşeninin bulunması normaldir. Parfüm karışımlarında tercihen ağırlıkça %15 ila 25 en üst notlardır. En üst notlar Poucher (Journal of the Society of Cosmetic Chemists 6(2):80 [1995]) tarafından tanımlanır. Tercih edilen en üst notlar rose oksit, turuncgil yağı, linalil asetat, lavanta, linalool, dihidromirsenol ve cis-3-hekzanol içerir.

#### 15 **Temizlik Bileşimlerinin Yapım ve Kullanım Prosesleri**

Mevcut buluş ayrıca istem 5'te açıklanan şekilde bir bileşimin yapımına yönelik bir yöntem sağlar.

Burada açıklandığı üzere, mevcut buluşun temizlik bileşimleri tabletler, kapsüller, şaşeler, keseler ve çok bölmeli keseler de dahil olmak üzere birim dozaj formunda sağlanır. Bazı düzenlemelerde, birim dozaj formu, birçok bölmeli kese (veya başka bir birim dozaj formu) içinde yer alan terkip maddelerinin kontrollü salımını sağlayacak şekilde tasarlanır. Uygun birim dozaj ve kontrollü salım formatları ilgili teknikte bilinir (birim dozaj ve kontrollü salım formatlarında kullanılmaya uygun materyaller için bkz. örneğin EP 2 100 949, WO 02/102955, U.S. Patent No. 4,765,916 ve 4,972,017 ve WO 04/111178). Bazı düzenlemelerde, birim dozaj formu, bir suda çözünür film veya suda çözünür kese ile sarılmış tabletler şeklinde sağlanır. Birim dozlara yönelik çeşitli formatlar EP 2 100 947'de verilir ve ilgili teknikte bilinir. Tercih edilen çok bölmeli kesede proteaz varyantı, diğer bir proteaz enzimi, birinci yıkama lipaz enzimi, selülaz enzimi, amilaz enzimi, ağartma bileşeni, pH modifiye edici, kumaş renklendirme boyası, optik parlatici ve iyonik olmayan sürfaktan veya karışımlarının bir veya daha fazlasından ayrı bir bölmededir.

#### 35 **Kullanım Yöntemi**

Burada yukarıda listelenen varyantlardan en az birini ve bir yardımcı materyali içeren aköz bir çözelti ile yüzeyin temas ettirilmesini içeren, özellikle bir kumaş gibi bir yüzeyin işlem görmesine yönelik bir yöntem açıklanır. Tipik olarak proteaz varyantı ve yardımcı

5 materyal, suya buluşa ait bileşimin eklenmesi ile yıkama çözeltisi oluşturmak üzere duya eklenir. Buluş yönteminde işlem görecektir yüzey, bulaşık, çamaşır, sert yüzeyler, kontakt lensler, vb. gibi temizlemeye yönelik herhangi bir kumaş veya ev bakım yüzeyi olabilir. Burada açıklandığı üzere yüzeyin en az bir parçası, mevcut buluşun temizlik bileşimlerinin en az bir düzenlemesi ile saf formda veya yıkama çözeltisinde

10 seyreltilmiş olarak temas ettirilir ve akabinde yüzey isteğe bağlı olarak yıkanır ve/veya durulanır. Mevcut buluşun amaçlarına yönelik olarak "yıkama" bunlarla sınırlı olmamak üzere ovalama ve mekanik yıkama işlemlerini içerir. Bazı düzenlemelerde mevcut buluşun temizlik bileşimleri, solüsyon içinde yaklaşık 500 ppm ile yaklaşık 15,000 ppm olan konsantrasyonlarda kullanılır. Yıkama solventinin su olduğu bazı düzenlemelerde

15 su sıcaklığı tipik olarak yaklaşık 5°C ile yaklaşık 90°C aralığındadır.

Mevcut buluş, istem 7'de tanımlandığı üzere temizlemeye yönelik yöntemleri sağlar.

Burada temizlenmesi gereken bir eşya, nesne veya yüzeyin temizlenmesine yönelik bir

20 yöntem açıklanır, yöntem, mevcut buluşun en az bir varyant subtilisin proteazının veya mevcut buluşun bir bileşiminin eşyayı, nesneyi veya yüzeyi arzu edilen bir dereceye kadar temizlemek için yeterli bir süre boyunca ve/veya uygun veya etkili koşullar altında nesneye veya yüzeye (veya temizlenmesi istenen nesne veya yüzeyin bir kısmına) temas ettirilmesini içerir. Bu tip bazı yöntemler ilaveten eşyanın, nesnenin veya yüzeyin

25 su ile durulanmasını içerir. Bu tip bazı yöntemler için temizlik bileşimi bir bulaşık yıkama deterjanı bileşimidir ve temizlenecek eşya veya nesne bir sofrta takımı eşyası veya yemek takımı eşyasıdır. Burada kullanıldığı üzere "bir sofrta takımı eşyası" genel olarak yemek servisinde veya yemek yerken kullanılan bir eşyadır. Bir sofrta takımı eşyası, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin bir yemek kabı, tabak, bardak, çanak

30 vs. olabilir. Burada kullanıldığı üzere "masa takımı" bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin yemek kapları, çatal-bıçak takımı, bıçaklar, çatallar, kaşıklar, çubuklar, züccaciye, sürahiler, sos kapları, içecek kapları, servis eşyaları ve benzerlerini kapsayan daha genel bir terimdir. Bir "yemek takımı eşyasının", yemek servisine veya yemek yemeye yönelik bu veya benzeri eşyaların herhangi birini kapsamaması amaçlanır.

35 Bu tip bazı yöntemler için temizlik bileşimi bir otomatik bulaşık yıkama deterjanı bileşimi

veya bir elde bulaşık yıkama deterjanı bileşimidir ve temizlenecek eşya veya nesne bir  
sofra takımı veya yemek takımı eşyasıdır. Bu tip bazı yöntemler için, temizlik bileşimi  
bir çamaşır deterjanı bileşimidir (örneğin güçlü bir çamaşır deterjanı bileşimi veya bir  
sıvı çamaşır deterjanı bileşimi) ve temizlenecek eşya bir kumaş eşyadır. Diğer bazı  
5 düzenlemelerde temizlik bileşimi, çamaşır ön işlem bileşimidir. Temizleme bileşimi sert  
bir yüzey temizleyici içerebilir.

Burada isteğe bağlı olarak temizlenmesi veya yıkanması gereken bir kumaş eşyanın  
sırasıyla temizlenmesine veya yıkanmasına yönelik yöntemler açıklanır. Bazı  
10 düzenlemelerde yöntemler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin bir kumaş veya  
çamaşır yıkama bileşimi de dahil varyant proteazı içeren bir bileşimin ve temizlenmesi  
gereken bir kumaş eşyanın veya çamaşırın sağlanmasını ve bileşimin, kumaşı veya  
çamaşırı arzu edilen bir dereceye kadar temizlemek veya yıkamak için yeterli veya  
etkili koşullar altında kumaş eşyaya veya çamaşıra (veya temizlenmesi istenen eşyanın  
15 bir kısmına) temas ettirilmesini içerir.

Burada isteğe bağlı olarak temizlenmesi gereken bir nesnenin veya yüzeyin (örneğin  
sert yüzeyin) temizlenmesine veya yıkanmasına yönelik bir yöntem açıklanır, yöntem,  
temizlenecek veya yıkanacak bir nesnenin veya yüzeyin sağlanmasını ve buluşun en  
20 az bir subtilisin varyantının veya böylesi en az bir subtilisin varyantı içeren buluşun bir  
bileşiminin nesneyi veya yüzeyi arzu edilen bir derecede temizlemek veya yıkamak için  
yeterli bir süre boyunca ve/veya yeterli veya etkili koşullar altında nesneye veya yüzeye  
(veya temizlenmesi veya yıkanması istenen nesnenin veya yüzeyin bir kısmına) temas  
ettirilmesini içerir. Bu tip bileşimler, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla, örneğin buluşun  
25 bir temizlik bileşimini veya deterjan bileşimini (örneğin elde bulaşık yıkama deterjanı  
bileşimi, elde bulaşık yıkama temizlik bileşimi, çamaşır deterjanı veya kumaş deterjanı  
veya çamaşır veya kumaş temizleme bileşimi, sıvı çamaşır deterjanı, sıvı çamaşır  
yıkama bileşimi, toz çamaşır deterjanı bileşimi, toz çamaşır yıkama bileşimi, otomatik  
bulaşık yıkama deterjanı bileşimi, performans artırıcı çamaşır yıkama veya deterjan  
30 bileşimi, çamaşır yıkama katkı maddesi ve çamaşır ön leke çıkarma bileşimi vs.)  
kapsar. Bazı düzenlemelerde yöntem, özellikle ilave temizleme veya yıkama  
işlemlerinin arzu edildiği durumlarda bir veya daha çok kez tekrarlanır. Örneğin yöntem,  
bazı durumlarda, isteğe bağlı olarak ilaveten nesnenin veya yüzeyin, nesneyi veya  
yüzeyi arzu edilen derecede temizlemek veya yıkamak için yeterli veya etkili bir süre  
35 boyunca en az bir varyant proteaz veya bileşim ile temas halinde kalmasını sağlamayı

içerir. Burada açıklandığı üzere yöntemler ilaveten eşyanın veya yüzeyin su ve/veya başka bir sıvı ile durulanmasını içerir. Bazı düzenlemelerde yöntemler ilaveten buluşun en az bir varyant proteazının veya buluşun bir bileşiminin nesneye veya yüzeye tekrar temas ettirilmesini ve nesnenin veya yüzeyin en az bir varyant proteaz veya bileşim ile nesneyi veya yüzeyi arzu edilen derecede temizlemek veya yıkamak için yeterli bir süre boyunca temas halinde kalmasının sağlanmasını içerir. Burada açıklandığı üzere temizlik bileşimi bir bulaşık yıkama deterjanı bileşimidir ve temizlenecek eşya bir sofratakimisi veya yemek takımı eşyasıdır. Burada açıklandığı üzere temizlik bileşimi bir otomatik bulaşık yıkama deterjanı bileşimi veya bir elde bulaşık yıkama deterjanı bileşimidir ve temizlenecek eşya bir sofratakimisi veya yemek takımı eşyasıdır. Burada açıklandığı üzere, temizlik bileşimi bir çamaşır yıkama deterjanı bileşimidir ve temizlenecek eşya bir kumaş eşyadır.

Burada açıklandığı üzere aynı zamanda, bir yemek takımı veya sofratakimisi eşyasının bir otomatik bulaşık yıkama makinesinde temizlenmesine yönelik yöntemleri sağlar, yöntem, bir otomatik bulaşık yıkama makinesinin sağlanmasını, mevcut buluşun en az bir subtilisin varyantını veya buluşun bir bileşimini içeren bir otomatik bulaşık yıkama bileşiminin yemek takımı veya sofratakimisi eşyasını temizlemek için yeterli bir miktarının makineye yerleştirilmesini (örneğin bileşimin makinede uygun veya sağlanan bir deterjan bölmesine veya dağıtıcıya yerleştirilmesi), bir sofratakimisi veya yemek takımı eşyasının makineye yerleştirilmesini ve yemek takımı veya sofratakimisi eşyasını temizlemek üzere makinenin çalıştırılmasını (örneğin üretici firmanın talimatları doğrultusunda) içerir. Burada açıklandığı üzere yöntemler, burada tarif edildiği üzere bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla burada açıklanan en az bir subtilisin varyantını içeren herhangi bir otomatik bulaşık yıkama bileşimini kapsayabilir. Otomatik bulaşık yıkama bileşiminin kullanılacak miktarı üretici firmanın talimatları veya önerileri doğrultusunda kolayca belirlenebilir ve burada tarif edilenlerin herhangi biri de dahil olmak üzere buluşun en az bir varyant proteazını içeren otomatik bulaşık yıkama bileşiminin herhangi bir formu (örneğin sıvı, toz, katı, jel, tablet vs.) kullanılabilir.

30

Burada, isteğe bağlı olarak temizlenmesi gereken bir yüzeyin, eşyanın veya nesnenin temizlenmesine yönelik yöntemler açıklanır, yöntem, katkısız veya bir yıkama çözültisinde seyreltilmiş formda bulunan mevcut buluşun en az bir subtilisin varyantının veya buluşun bir temizlik bileşiminin, nesneyi veya yüzeyi arzu edilen bir derecede temizlemek veya yıkamak için yeterli bir süre boyunca ve/veya yeterli veya etkili

35

koşullar altında nesneye veya yüzeye (veya temizlenmesi istenen nesnenin veya yüzeyin bir kısmına) temas ettirilmesini içerir. Yüzey, eşya veya nesne akabinde arzu edildiği takdirde (isteğe bağlı olarak) yıkanabilir ve/veya durulanabilir. Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda "yıkama" işlemi bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla örneğin ovalama ve mekanik çalkalamayı kapsar. Bazı düzenlemelerde, temizlik bileşimleri solüsyonda (örneğin sulu solüsyon) yaklaşık 500 ppm ile yaklaşık 15000 ppm'lik konsantrasyonlarda kullanılır. Yıkama solventinin su olduğu durumlarda su sıcaklığı tipik olarak yaklaşık 5°C ile yaklaşık 90°C arasında değişir ve yüzey, eşya veya nesnenin bir kumaş içermesi halinde su:kumaş kütle oranı tipik olarak yaklaşık 1:1 ile yaklaşık 30:1 arasındadır.

Burada, bir çamaşırın veya kumaş eşyanın bir çamaşır makinesinde temizlenmesine yönelik yöntemler açıklanır, yöntem, bir çamaşır makinesinin sağlanmasını, buluşun en az bir subtilisin varyantını içeren bir çamaşır deterjanı bileşiminin çamaşırı veya kumaş eşyayı temizlemek için yeterli bir miktarının makineye yerleştirilmesini (örneğin bileşimin makinede uygun veya sağlanan bir deterjan bölmesine veya dağıtıcıya yerleştirilmesi), çamaşırın veya kumaş eşyanın makineye yerleştirilmesini ve çamaşır veya kumaş eşyayı eşyasını temizlemek üzere makinenin çalıştırılmasını (örneğin üretici firmanın talimatları doğrultusunda) içerir. Mevcut buluşun yöntemleri, bunlarla sınırlı olmamak kaydıyla burada sağlanan herhangi bir subtilisin varyantından en az birini içeren herhangi bir çamaşır yıkama deterjanı bileşimini kapsayabilir. Çamaşır yıkama deterjanı bileşiminin kullanılacak miktarı üretici firmanın talimatları veya önerileri doğrultusunda kolayca belirlenebilir ve burada tarif edilenlerin herhangi biri de dahil olmak üzere buluşun en az bir varyant proteazını içeren çamaşır yıkama deterjanı bileşiminin herhangi bir formu (örneğin katı, toz, sıvı, tablet, jel vs.) kullanılabilir.

## DENEY

Mevcut buluş, talep edilen buluş kapsamını herhangi bir şekilde sınırlanmayan aşağıdaki örneklerde daha detaylı şekilde açıklanır.

Aşağıda yer alan deney açıklamasında aşağıdaki kısaltmalar kullanılır: PI (Performans İndeksi), ppm (milyonda bir parça); M (molar); mM (milimolar);  $\mu$ M (mikromolar); nM (nanomolar); mol (mol); mmol (milimol);  $\mu$ mol (mikromol); nmol (nanomol); gm (gram); mg (miligram);  $\mu$ g (mikrogram); pg (pikogram); L (litre); ml ve mL (mililitre);  $\mu$ l ve  $\mu$ L

(mikrolitre); cm (santimetre); mm (milimetre);  $\mu\text{m}$  (mikrometre); nm (nanometre); U (ünite); V (volt); MW (molekül ağırlığı); sec (saniye); min(s) (dakika/dakikalar); h(s) ve hr(s) (saat/saatler); °C (Santigrat derece); QS (gerektiği kadar); ND (yapılmamıştır); rpm (dakikada devir); GH (Alman sertlik derecesi); H<sub>2</sub>O (su); dH<sub>2</sub>O (deiyonize su); HCl

5 (hidroklorik asit); aa (amino asit); bp (baz çifti); kb (kilobaz çifti); kD (kilodalton); cDNA (kopya veya tamamlayıcı DNA); DNA (deoksiribonükleik asit); ssDNA (tek iplikli DNA); dsDNA (çift iplikli DNA); dNTP (deoksiribonükleotid trifosfat); RNA (ribonükleik asit); MgCl<sub>2</sub>(magnezyum klorid); NaCl (sodyum klorid); w/v (ağırlık ila hacim); v/v (hacim ila hacim); w/w (ağırlık ila ağırlık); g (yerçekimi); OD (optik yoğunluk); ppm (milyonda bir

10 parça); Dulbecco fosfat tamponlu solüsyon (DPBS); SOC (%2 Bacto-Trypton, %0.5 Bacto Maya Ekstraktı, 10 mM NaCl, 2.5 mM KCl); Terrific Besi Yeri (TB; 12 g/l Bacto-Trypton, 24 g/l gliserol, 2.31 g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 12.54 g/l K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); OD<sub>280</sub> (280 nm'deki optik yoğunluk); OD<sub>600</sub> (600 nm'deki optik yoğunluk); A<sub>405</sub> (405 nm'deki absorbans); V<sub>max</sub> (enzim katalizli bir reaksiyonun başlangıçtaki maksimum hızı); PAGE (poliakrilamid jel elektroforezi); PBS (fosfat tamponlu salin [150 mM NaCl, 10 mM sodyum fosfat

15 tamponu, pH 7.2]); PBST (PBS+0.25% TWEEN®-20); PEG (polietilen glikol); PCR (polimeraz zincir reaksiyonu); RT-PCR (revers transkripsiyon PCR); SDS (sodyum dodesil sülfat); Tris (tris(hidroksimetil)aminometan); HEPES (N-[2-Hidroksietil]piperazin-N-[2-etansülfonik asit]); HBS (HEPES tamponlu salin); Tris-HCl

20 (tris[Hidroksimetil]aminometan-hidroklorid); Tricine (N-[tris-(hidroksimetil)-metil]-glisin); CHES (2-(N-siklo-hekzilamino) etan-sülfonik asit); TAPS (3-[[tris-(hidroksimetil)-metil]-amino]-propansülfonik asit); CAPS (3-(siklo-hekzilamino)-propan-sülfonik asit); DMSO (dimetil sülfoksit); DTT (1,4-ditiyo-DL-treitol); SA (sinapinik asit (s,5-dimetoksi-4-hidroksi sinnamik asit); TCA (trikloroasetik asit); Glut ve GSH (indirgenmiş glutatyon);

25 GSSG (okside glutatyon); TCEP (Tris[2-karboksietil] fosfin); Ci (Küri); mCi (miliKüri);  $\mu\text{Ci}$  (mikroKüri); HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi); RP-HPLC (revers faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi); TLC (ince tabaka kromatografisi); MALDI-TOF (matriks destekli lazer dezorpsiyonu/iyonizasyonu—uçuş zamanı); Ts (tosil); Bn (benzil); Ph (fenil); Ms (mesil); Et (etil), Me (metil); *Taq* (*Thermus aquaticus* DNA

30 polimeraz); Klenow (DNA polimeraz I büyük (Klenow) fragmanı); EGTA (etilen glikol-bis( $\beta$ -aminoetil eter) N, N, N', N'-tetraasetik asit); EDTA (etilendiamintetrasetik asit); bla ( $\beta$ -laktamaz veya ampisilin-direnç geni); MJ Research (MJ Research, Reno, NV); Baseclear (Baseclear BV, Inc., Leiden, Hollanda); PerSeptive (PerSeptive Biosystems, Framingham, MA); ThermoFinnigan (ThermoFinnigan, San Jose, CA); Argo (Argo

35 BioAnalytica, Morris Plains, NJ);Seitz EKS (SeitzSchenk Filtersystems GmbH, Bad



Kreuznach, Almanya); Pall (Pall Corp., East Hills, NY and Bad Kreuznach, almanya); Spectrum (Spectrum Laboratories, Dominguez Rancho, CA); Molecular Structure (Molecular Structure Corp., Woodlands, TX); Accelrys (Accelrys, Inc., San Diego, CA); Chemical Computing (Chemical Computing Corp., Montreal, Kanada); New Brunswick  
5 (New Brunswick Scientific, Co., Edison, NJ); CFT (Center for Test Materials, Vlaardingen, Hollanda); P&G ve Procter & Gamble (Procter & Gamble, Inc., Cincinnati, OH); GE Healthcare (GE Healthcare, Chalfont St. Giles, Birleşik Krallık); DNA2.0 (DNA2.0, Menlo Park, CA); OXOID (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK); Megazyme (Megazyme International Ireland Ltd., Bray Business Park, Bray, Co., Wicklow,  
10 İrlanda); Finnzymes (Finnzymes Oy, Espoo, Finlandiya); Kelco (CP Kelco, Wilmington, DE); Corning (Corning Life Sciences, Corning, NY); (NEN (NEN Life Science Products, Boston, MA); Pharma AS (Pharma AS, Oslo, Norveç); Dynal (Dynal, Oslo, Norveç); Bio-Synthesis (Bio-Synthesis, Lewisville, TX); ATCC (Amerikan Tipi Kültü Koleksiyonu, Rockville, MD); Gibco/BRL (Gibco/BRL, Grand Island, NY); Sigma (Sigma Chemical  
15 Co., St. Louis, MO); Pharmacia (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ); NCBI (National Center for Biotechnology Information); Applied Biosystems (Applied Biosystems, Foster City, CA); BD Biosciences ve/veya Clontech (BD Biosciences CLONTECH Laboratories, Palo Alto, CA); Operon Technologies (Operon Technologies, Inc., Alameda, CA); MWG Biotech (MWG Biotech, High Point, NC); Oligos Etc (Oligos Etc.  
20 Inc, Wilsonville, OR); Bachem (Bachem Bioscience, Inc., Prusya Krallığı, PA); Difco (Difco Laboratories, Detroit, MI); Mediatech (Mediatech, Herndon, VA; Santa Cruz (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA); Oxoid (Oxoid Inc., Ogdensburg, NY); Worthington (Worthington Biochemical Corp., Freehold, NJ); GIBCO BRL veya Gibco BRL (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD); Millipore (Millipore, Billerica,  
25 MA); Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA); Invitrogen (Invitrogen Corp., San Diego, CA); NEB (New England Biolabs, Beverly, MA); Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO); Pierce (Pierce Biotechnology, Rockford, IL); Takara (Takara Bio Inc. Otsu, Japonya); Roche (Hoffmann-La Roche, Basel, İsviçre); EM Science (EM Science, Gibbstown, NJ); Qiagen (Qiagen, Inc., Valencia, CA); Biodesign (Biodesign Intl., Saco,  
30 Maine); Aptagen (Aptagen, Inc., Herndon, VA); Sorvall (Sorvall brand, from Kendro Laboratory Products, Asheville, NC); Molecular Devices (Molecular Devices, Corp., Sunnyvale, CA); R&D Systems (R&D Systems, Minneapolis, MN); Siegfried Handel (Siegfried Handel AG, Zofingen, İsviçre); Stratagene (Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA); Marsh (Marsh Biosciences, Rochester, NY); Geneart (Geneart GmbH,  
35 Regensburg, Almanya); Bio-Tek (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT); (Biacore

(Biacore, Inc., Piscataway, NJ); PeproTech (PeproTech, Rocky Hill, NJ); SynPep (SynPep, Dublin, CA); New Objective (New Objective brand; Scientific Instrument Services, Inc., Ringoes, NJ); Waters (Waters, Inc., Milford, MA); Matrix Science (Matrix Science, Boston, MA); Dionex (Dionex, Corp., Sunnyvale, CA); Monsanto (Monsanto Co., St. Louis, MO); Wintershall (Wintershall AG, Kassel, Almanya); BASF (BASF Co., Florham Park, NJ); Huntsman (Huntsman Petrochemical Corp., Salt Lake City, UT); Shell Chemicals (Shell Chemicals, Inc., London, UK); Stepan (Stepan, Northfield, IL); Clariant (Clariant, Sulzbach, Almanya); Industrial Zeolite (Industrial Zeolite Ltd., Grays, Essex, UK); Jungbunzlauer (Jungbunzlauer, Basel, İsviçre); Solvay (Solvay, Brussels, Belgium); 3V Sigma (3V Sigma, Bergamo, İtalya); Innospec (Innospec, Ellesmere Port, UK); Thermphos (Thermphos, Vlissingen-Ost, Hollanda); Ciba Specialty (Ciba Specialty Chemicals, Basel, İsviçre); Dow Corning (Dow Corning, Barry, UK); Enichem (Enichem Iberica, Barcelona, İspanya); Fluka Chemie AG (Fluka Chemie AG, Buchs, İsviçre); Gist-Brocades (Gist-Brocades, NV, Delft, Hollanda); Dow Corning (Dow Corning Corp., Midland, MI); Mettler-Toledo (Mettler-Toledo Inc, Columbus, OH); RB (Reckitt-Benckiser, Slough, UK); ve Microsoft (Microsoft, Inc., Redmond, WA).

Burada kullanıldığı haliyle, bazı listelerde, her bir bölge için üç basamaklı bir gösterim sağlamak amacıyla rakamların önüne "0" koyulur (örneğin "001" ile "1" eşdeğerdir, aynı şekilde "A001C" ile "A1C" eşdeğerdir). Bazı listelerde önde gelen "0" kullanılmaz. Ayrıca, burada kullanıldığı haliyle "X", herhangi bir amino asidi ifade eder.

Burada örnek olarak verilen deterjan bileşimlerinde enzim düzeyleri toplam bileşimin ağırlığı esasında saf enzim cinsinden ifade edilir ve deterjan terkip maddeleri aksi belirtilmedikçe toplam bileşimin ağırlığı esasında ifade edilir. Kısaltılmış bileşen tanımları aşağıdaki anlamlara sahiptir:

| Kısaltma     | Bileşen                                                              |
|--------------|----------------------------------------------------------------------|
| LAS          | : Lineer sodyum C <sub>11-13</sub> alkil benzen sülfonat             |
| NaC16-17HSAS | : Yüksek düzeyde çözünür sodyum C <sub>16-17</sub> alkil sülfat      |
| TAS          | : Sodyum don yağı alkil sülfat                                       |
| CxyAS        | : Sodyum C <sub>1x</sub> - C <sub>1y</sub> alkil sülfat              |
| CxyEz        | : Ortalama z mol etilen oksit ile kondenzasyona uğratılmış ağırlıklı |

|                 |                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 | olarak lineer $C_{1x} - C_{1y}$ primer alkol                                                                                                                                                                                              |
| CxyAEzS         | : Ortalama z mol etilen oksit ile kondenzasyona uğratılmış $C_{1x} - C_{1y}$ sodyum alkil sülfat. Örneklerde eklenen molekül ismi.                                                                                                        |
| İyonik olmayan  | : Karışık etoksillenmiş/propoksillenmiş yağ alkolü, örneğin Plurafac LF404, 3.8'lik bir ortalama etoksillenme derecesine ve 4.5'lik bir ortalama propoksillenme derecesine sahip bir alkoldür                                             |
| QAS             | : $R_2.N+(CH_3)_2(C_2H_4OH)$ with $R_2 = C_{12}-C_{14}$ .                                                                                                                                                                                 |
| Silikat         | : Amorf Sodyum Silikat ( $SiO_2:Na_2O$ oranı = 1.6-3.2:1)                                                                                                                                                                                 |
| Metasilikat     | : Sodyum metasilikat ( $SiO_2:Na_2O$ oranı = 1.0)                                                                                                                                                                                         |
| Zeolit A        | : $Na_{12}(AlO_2SiO_2)_{12} \cdot 27H_2O$ formülüne sahip hidratlanmış alüminosilikat                                                                                                                                                     |
| SKS-6           | : $\delta-Na_2Si_2O_5$ formülüne sahip kristalin tabakalı silikat                                                                                                                                                                         |
| Sülfat          | : Susuz sodyum sülfat.                                                                                                                                                                                                                    |
| STPP            | : Sodyum Tripolifosfat                                                                                                                                                                                                                    |
| MA/AA           | : 4:1'lik akrilat/maleat rastgele kopolimeri, ortalama molekül ağırlığı: yaklaşık 70000-80000                                                                                                                                             |
| AA              | : Ortalama molekül ağırlığı 4500 olan sodyum poliakrilat polimeri                                                                                                                                                                         |
| Polikarboksilat | : BASF firmasından temin edilebilen ve bir akrilik asit kopolimeri (MW: 4500) olan Sokolan gibi 2000-80000 arasında bir MW değerine sahip akrilat, maleat, metakrilat ve benzeri karboksillenmiş monomerlerin karışımını içeren kopolimer |
| BB1             | : 3-(3,4-Dihidroizokinolinyum)propan sülfonat                                                                                                                                                                                             |
| BB2             | : 1-(3,4-dihidroizokinolinyum)-dekan-2-sülfat                                                                                                                                                                                             |
| PB1             | : Sodyum perborat monohidrat                                                                                                                                                                                                              |
| PB4             | : Nominal $NaBO_3 \cdot 4H_2O$ formülüne sahip sodyum perborat tetrahidrat                                                                                                                                                                |
| Perkarbonat     | : Nominal $2Na_2CO_3 \cdot 3H_2O_2$ formülüne sahip sodyum perkarbonat                                                                                                                                                                    |
| TAED            | : Tetraasetil etilen diamin                                                                                                                                                                                                               |
| NOBS            | : Sodyum tuzu formunda nonanoiloksibenzen sülfonat                                                                                                                                                                                        |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DTPA             | : Dietilen triamin pentaasetik asit                                                                                                                                                                                                          |
| HEDP             | : 1,1-hidroksietan difosfonik asit                                                                                                                                                                                                           |
| DETPMP           | : Monsanto tarafından Dequest 2060 markası altında pazarlanan dietiltriemin penta (metilen) fosfonat                                                                                                                                         |
| EDDS             | : Sodyum tuzu formunda etilendiamin-N,N'-disüksinik asit, (S,S) izomeri                                                                                                                                                                      |
| Diamin           | : Dimetil aminopropil amin; 1,6-hezan diamin; 1,3-propan diamin; 2-metil-1,5-pentan diamin; 1,3-pentandiamin; 1-metil-diaminopropan                                                                                                          |
| DETBCHD          | 5,12-dietil-1,5,8,12-tetraazabisiklo[6,6,2]heksadekan, diklorür, Mn(II) TUZU                                                                                                                                                                 |
| PAAC             | : Pentaamin asetat kobalt(III) tuzu                                                                                                                                                                                                          |
| Parafin          | : Wintershall tarafından Winog 70 markası altında pazarlanan parafin yağı                                                                                                                                                                    |
| Parafin Sülfonat | : İçerisindeki hidrojen atomlarını bazıları sülfonat grupları ile ikame edilmiş olan bir parafin yağı veya vaksı                                                                                                                             |
| Aldoz oksidaz    | : Novozymes A/S tarafından Aldose Oxidase markası altında pazarlanan oksidaz enzimi                                                                                                                                                          |
| Galaktoz oksidaz | : Sigma firmasına ait galaktoz oksidaz                                                                                                                                                                                                       |
| nprE             | : <i>Bacillus subtilis</i> içinde ifade edilmiş nötr metalloproteazın rekombinant formu (bkz. örneğin WO 07/044993)                                                                                                                          |
| PMN              | : <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> kökenli saflaştırılmış nötr metalloproteaz                                                                                                                                                               |
| Amilaz           | : Uygun bir amylolitik enzim, örneğin Genencor tarafından PURAFECT® Ox markası altında pazarlananlar (bkz. WO 94/18314, WO96/05295); tümü Novozymes A/S tarafından NATALASE®, TERMAMYL®, FUNGAMYI® ve DURAMYL™ markası altında pazarlananlar |
| Lipaz            | : Uygun bir lipolitik enzim, örneğin Novozymes A/S tarafından LIPEX®, LIPOLASE®, LIPOLASE® Ultra markası ve Gist-                                                                                                                            |

|                            |                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                            | Brocades tarafından Lipomax™ markası altında pazarlananlar                                                                                                                                                    |
| Selülaz                    | : Uygun bir selülitik enzim, örneğin Novozymes A/S tarafından CAREZYME®, CELLUZYME® ve/veya ENDOLASE® markası altında pazarlananlar                                                                           |
| Pectin Liyaz               | : Uygun bir pektin liyaz, örneğin Novozymes A/S tarafından PECTAWAY® ve PECTAWASH® markası altında pazarlananlar                                                                                              |
| PVP                        | : 60000'lik bir ortalama molekül ağırlığına sahip polivinilpirrolidon                                                                                                                                         |
| PVNO                       | : 50000'lik bir ortalama molekül ağırlığına sahip polivinilpiridin-N-oksit                                                                                                                                    |
| PVPVI                      | : 20000'lik bir ortalama molekül ağırlığına sahip vinilimidazol ve vinilpirrolidon kopolimeri                                                                                                                 |
| Parlatıcı 1                | : Disodyum 4,4'-bis(2-sülfostiril)bifenil                                                                                                                                                                     |
| Silisyum köpük<br>önleyici | : dağıtıcı madde olarak siloksan-oksialkilen kopolimeri ile birlikte polidimetilsiloksan köpük denetleyici, bahsedilen köpük denetleyicinin bahsedilen dağıtıcı maddeye oranı 10:1 ila 100:1 arasında değişir |
| Köpük baskılayıcı          | : Granüler formda %12 Silisyum/silika, %18 stearyl alkol, %70 nişasta                                                                                                                                         |
| SRP 1                      | : Ucu anyonik olarak kapatılmış poliesterler                                                                                                                                                                  |
| PEG X                      | : Molekül ağırlığı X olan polietilen glikol                                                                                                                                                                   |
| PVP K60®                   | : Vinilpirrolidon homopolimeri (ortalama MW: 160000)                                                                                                                                                          |
| Jeffamin® ED-2001          | : Kapalı polietilen glikol (Huntsman)                                                                                                                                                                         |
| Isachem® AS                | : Bir dallanmış alkol alkil sülfat (Enichem)                                                                                                                                                                  |
| MME PEG (2000)             | : Monometil eter polietilen glikol (MW: 2000) (Fluka Chemie AG)                                                                                                                                               |
| DC3225C                    | : Silisyum köpük baskılayıcı, Silisyum yağı ve Silika karışımı (Dow Corning)                                                                                                                                  |
| TEPAE                      | : Tetraetilenpentaamin etoksilat                                                                                                                                                                              |
| BTA                        | : Benzotriazol                                                                                                                                                                                                |
| Betaine                    | : $(CH_3)_3N^+CH_2COO^-$                                                                                                                                                                                      |

|       |                                                                                                                                                                                                       |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Şeker | : Sanayi tipi D-glukoz veya gıda sınıfı şeker                                                                                                                                                         |
| CFAA  | : C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub> alkil N-metil glukamid                                                                                                                                             |
| TPKFA | : C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub> ile kapalı tam kesimli yağ asitleri                                                                                                                                |
| Kil   | : Genel formülü Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> SiO <sub>2</sub> ·xH <sub>2</sub> O olan bir hidratlanmış alüminyum silikat. Türleri: Kaolinit, montmorillonit, atapulgit, illit, bentonit, halloyisit |
| pH    | : 20°C'de damıtılmış su içinde %1'lik solüsyon olarak ölçülmüştür.                                                                                                                                    |

Kuzey Amerika (NA) ve Batı Avrupa (WE) ağır hizmet tipi sıvı çamaşır yıkama (HDL) deterjanları için, piyasadan temin edilebilen deterjanlarda bulunan enzimlerin ısı inaktivasyonu, önceden tartılmış sıvı deterjanın (bir cam şişede) 2 saatliğine 95°C'lik bir su banyosuna yerleştirilmesi yoluyla gerçekleştirilir. NA ve WE otomatik bulaşık yıkama (ADW) deterjanlarının ısı inaktivasyonu için inkübasyon süresi 8 saattir. Hem ısıtılmamış hem de ısıtılmış deterjanlar, pasifleşme yüzdesini doğru bir şekilde belirlemek amacıyla deterjan çözüldükten sonra 5 dakika içerisinde analiz edilir. Enzim aktivitesi AAPF analiziyle test edilir.

10

Isı ile inaktive edilmiş deterjanlardaki enzim aktivitesinin test edilmesine yönelik olarak deterjanların çalışma solüsyonları, ısı ile inaktive edilmiş stoklardan yapılır. Su sertliği (örneğin, 6 gpg veya 12 gpg) ve tamponun uygun miktarları, istenen koşullar ile eşleşmek üzere deterjan solüsyonlarına eklenir. Solüsyonlar, şişelerin vortekslenmesi veya ters çevrilmesi yoluyla karıştırılır. Aşağıdaki Tablo A, bazı deterjan bileşimleri ile ilgili bilgi sağlar. Bazı deneylerde ek ve/veya diğer ticari olarak temin edilebilir deterjanlar aşağıdaki Örneklerde kullanım bulur.

15

Tablo A, kumaşların yıkanmasına uygun buluş ile uyumlu olarak üretilen granüler çamaşır deterjanı bileşimlerini sağlar.

20

**Tablo A. Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen                          | Deterjan Bileşimleri |    |    |    |    |    |
|----------------------------------|----------------------|----|----|----|----|----|
|                                  | 1                    | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  |
| Alifatik karbon zinciri uzunluğu | 15                   | 12 | 20 | 10 | 12 | 13 |

**Tablo A. Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen                                                              | Deterjan Bileşimleri |       |       |        |        |        |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|
|                                                                      | 1                    | 2     | 3     | 4      | 5      | 6      |
| C <sub>11</sub> -C <sub>12</sub> olan lineer alkilbenzensülfonat     |                      |       |       |        |        |        |
| Diğer sürfaktanlar                                                   | 1.6                  | 1.2   | 1.9   | 3.2    | 0.5    | 1.2    |
| Fosfat geliştirici(ler)                                              | 2                    | 3     | 4     |        |        |        |
| Zeolit                                                               |                      | 1     |       | 1      | 4      | 1      |
| Silikat                                                              | 4                    | 5     | 2     | 3      | 3      | 5      |
| Sodyum Karbonat                                                      | 2                    | 5     | 5     | 4      | 0      | 3      |
| Poliakrilat (MW 4500)                                                | 1                    | 0.6   | 1     | 1      | 1.5    | 1      |
| Karboksimetil selüloz (Finnfix BDA önceden CPKelco)                  | 1                    | -     | 0.3   | -      | 1.1    | -      |
| Celluclean® (15.6mg/g)                                               | 0.23                 | 0.17  | 0.5   | 0.2    | 0.2    | 0.6    |
| Soğuk Su Proteazı*                                                   | 0.23                 | 0.17  | 0.05  | 0.2    | 0.03   | 0.1    |
| Stainzyme Plus® (14mg/g)                                             | 0.23                 | 0.17  | 0.5   | 0.2    | 0.2    | 0.6    |
| Mannaway 4.0T (4mg/g)                                                | 0.1                  |       |       | 0.1    |        | 0.1    |
| Lipex 100T (18.6mg/g)                                                | 0.2                  |       | 0.1   |        | 0.3    |        |
| Floresan Parlatıcı(lar)                                              | 0.16                 | 0.06  | 0.16  | 0.18   | 0.16   | 0.16   |
| Dietilentriamin pentaasetik asit veya Etilen diamin tetraasetik asit | 0.6                  |       | 0.6   | 0.25   | 0.6    | 0.6    |
| MgSO <sub>4</sub>                                                    | 1                    | 1     | 1     | 0.5    | 1      | 1      |
| Ağartıcı(lar) ve Ağartma aktivatörü(aktivatörleri)                   | 6.88                 |       | 6.12  | 2.09   | 1.17   | 4.66   |
| Etoksile tiyofen Renklendirme Boyası <sup>5</sup>                    | 0.002                | 0.001 | 0.003 | 0.003  | -      | -      |
| Direkt Viyole 9 önceden Ciba                                         |                      |       |       | 0.0006 | 0.0004 | 0.0006 |





| Bileşen                                                                                          | Deterjan Bileşimi |      |      |      |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------|------|------|-------|
|                                                                                                  | 7                 | 8    | 9    | 10   | 11    |
| <b>Süfaktanlar</b>                                                                               |                   |      |      |      |       |
| C <sub>16-17</sub> Dallanmış alkil sülfat                                                        | 3.55              | 15.8 |      |      |       |
| C <sub>12-14</sub> alkil sülfat                                                                  |                   |      | 1.5  |      |       |
| Alifatik zincir uzunluğu C <sub>11</sub> -C <sub>12</sub> olan sodyum lineer alkilbenzensülfonat | 9.6               |      | 10.6 | 7.5  | 9     |
| Sodyum C <sub>14/15</sub> alkol etoksi - 3 - sülfat                                              | 1.15              |      |      | 2.88 |       |
| Sodyum C <sub>14/15</sub> alkil sülfat                                                           | 2.37              |      |      |      |       |
| Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C <sub>14/15</sub> alkol etoksilat                             |                   |      |      | 1.17 | 1     |
| mono-C <sub>8-10</sub> alil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum klorid                  |                   |      |      |      | 0.45  |
| Di metil hidroksil etil lauril amonyum klorid                                                    |                   |      | 0.18 |      |       |
| Zeolit A                                                                                         | 13.9              | 4.7  | 0.01 | 2.9  | 1.8   |
| Sodyum Silikat 1.6.oran                                                                          | 4                 | 0.2  |      | 4    | 4     |
| Sodyum Silikat 2.35.oran                                                                         |                   |      | 8    |      |       |
| Sitrik Asit                                                                                      |                   |      |      | 2.5  | 1.4   |
| Sodyum tripolifosfat                                                                             |                   |      | 5    |      |       |
| Sodyum Karbonat                                                                                  | 24.1              | 30   | 16.9 | 24.4 | 21    |
| Nonanoiloksibenzensülfonat                                                                       | 5.78              | 2.81 | 0.96 |      |       |
| Oksaziridinyum-bazlı ağartma pekiştirici                                                         |                   |      |      | 0.03 | 0.017 |
| Tetrasodyum S,S,-etilendiamindisüksinat                                                          |                   |      |      | 0.2  |       |
| Dietilentriamin penta (metilen fosfonik asit), heptasodyum tuzu                                  | 0.61              |      |      |      | 0.33  |
| Hidroksietan dimetilen fosfonik asit                                                             |                   |      |      | 0.29 | 0.45  |
| Etilen diamin tetraasetat                                                                        |                   |      | 0.27 |      |       |

**Tablo B. Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen                                                                    | Deterjan Bileşimi |       |       |        |       |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------|-------|--------|-------|
|                                                                            | 7                 | 8     | 9     | 10     | 11    |
| <b>Sürfaktanlar</b>                                                        |                   |       |       |        |       |
| MgSO <sub>4</sub>                                                          |                   |       | 0.47  | 0.5994 | 0.782 |
| Sodyum Perkarbonat                                                         | 7                 | 4.4   |       | 15.9   | 19.1  |
| Tetra Asetil Etilen Diamin                                                 |                   |       |       | 3.3    | 4.6   |
| Sodyum Perborat Monohidrat                                                 |                   |       | 1.2   |        |       |
| Karboksimetil selüloz ( <i>örneğin</i> Finnfix BDA önceden CPKelco)        | 0.1               |       | 0.17  | 1.69   | 0.23  |
| Sodyum Akrilik asit /Maleik asit ko-polimeri (70/30)                       | 0.0236            | 3.8   |       | 2      | 2.5   |
| Sodyum poliakrilat (Sokalan PA30 CL)                                       | 4                 |       | 0.84  |        |       |
| Tereftalat polimeri                                                        |                   |       |       | 0.23   |       |
| Polietilen glikol/vinil asetat rastgele greft kopolimeri                   |                   |       | 0.89  | 0.89   | 0.91  |
| Fotoağartıcı- çinko ftalosiyenin tetrasülfonat                             |                   |       | 0.005 | 0.001  | 0.002 |
| C.I. Floresan Parlaticı 260                                                | 0.11              | 0.15  | 0.04  | 0.23   | 0.15  |
| C.I. Floresan Parlaticı 351 (Tinopal ® CBS)                                |                   |       | 0.1   |        |       |
| Köpük baskılayıcı granül                                                   |                   | 0.25  |       | 0.07   | 0.04  |
| Hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksimetil selüloz (Finnifix ® SH-1) |                   |       | 0.019 | 0.028  |       |
| Bentonit                                                                   |                   |       | 8.35  |        |       |
| Diğer (Boyalar, parfümler, proses yardımcıları, nem ve sodyum sülfat)      |                   | Denge | Denge | Denge  | Denge |

Tablo B'de sürfaktan bileşenleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere BASF (*örneğin*, LUTENSOL®), Shell Chemicals, Stepan, Huntsman ve Clariant (*örneğin*, PRAEPAGEN®) da dahil uygun olan herhangi bir tedarikçiden elde edilebilir. Zeolit,

- Industrial Zeolite gibi kaynaklardan elde edilebilir. Sitrik asit ve sodyum sitrat, Jungbunzlauer gibi kaynaklardan elde edilebilir. Sodyum perkarbonat, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat ve sodyum seskikarbonat, Solvay gibi kaynaklardan elde edilebilir. Akrilat/maleat kopolimerleri, BASF gibi kaynaklardan elde edilebilir.
- 5 Karboksimetilselüloz ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksimetil selüloz, CPKelco gibi kaynaklardan elde edilebilir. C.I. Floresan Parlaticı 260, 3V Sigma;’dan elde edilebilir (örneğin, OPTIBLANC®, OPTIBLANC® 2M/G, OPTIBLANC® 2MG/LT Extra veya OPTIBLANC® Ecobright). Tetrasodyum S,S-etilendiamin disüksinat, Innospec gibi kaynaklardan elde edilebilir. Tereftalat ko-polimeri Clariant’tan elde
- 10 edilebilir (örneğin, REPELOTEX SF 2). Ayrıca 1-Hidroksietan-1,1-difosfonik asit, Thermphos’tan elde edilebilir. Oksaziridinyum bazlı ağartma pekiştirici aşağıdaki yapıya sahiptir, burada R1 = 2-bütiloktildir ve US 2006/0089284A1’e göre üretilmiştir.



15

- NATALASE®, TERMAMYL®, STAINZYME PLUS®, CELLUCLEAN® ve MANNAWAY® enzimleri, Novozymes şirketinden elde edilebilir. Çinko ftalosiyanın tetrasülfonat, Ciba Specialty Chemicals şirketinden elde edilebilir (örneğin, TINOLUX® BMC). Köpük baskılayıcı granül, Dow Corning şirketinden elde edilebilir. Bu deterjan
- 20 bileşimlerinde rastgele greft kopolimer, polietilen oksit omurgasına ve birçok polivinil asetat yan zincirine sahip polivinil asetat greftli polietilen oksit kopolimeridir. Polietilen oksit omurgasının molekül ağırlığı yaklaşık 6000’dir ve polietilen oksit ile polivinil asetatın ağırlık oranı yaklaşık 40 ila 60’tır ve her 50 etilen oksit birimi için 1’den fazla olmayan sayıda greftleme noktası bulunur.

25

Tablolar C-E, yıkama makinelerine uygun ek granüler deterjan bileşimlerini (deterjanlar 36a-n) sağlar. Mevcut buluşun test edilen GG36 proteaz varyantı veya soğuk su proteazı, bu formülasyonlara ayrı olarak eklenir.

**Tablo C. Ek Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen | Deterjan Bileşimi |     |     |     |     |
|---------|-------------------|-----|-----|-----|-----|
|         | 36a               | 36b | 36c | 36d | 36e |

**Süpfaktanlar**

|                                                                                                  |       |       |       |        |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|
| C <sub>10</sub> İyonik olmayan                                                                   |       |       |       | 0.1843 |       |
| C <sub>16-17</sub> Dallanmış alkil sülfat                                                        | 3.53  | 3.53  | 3.53  |        |       |
| C <sub>12-14</sub> alkil sülfat                                                                  |       |       |       |        |       |
| Alifatik zincir uzunluğu C <sub>11</sub> -C <sub>12</sub> olan sodyum lineer alkilbenzensülfonat | 8.98  | 8.98  | 8.98  | 13.58  | 14.75 |
| Sodyum C <sub>14/15</sub> alkol etoksi - 3 - sülfat                                              | 1.28  | 1.28  | 1.28  |        |       |
| Sodyum C <sub>14/15</sub> alkil sülfat                                                           | 2.36  | 2.36  | 2.36  |        |       |
| Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C <sub>14/15</sub> alkol etoksilat                             |       |       |       |        |       |
| mono-C <sub>8-10</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil kuaterner amonyum klorid                 |       |       |       |        |       |
| Di metil hidroksil etil lauril amonyum klorid                                                    |       |       |       | 0.1803 |       |
| Zeolit A                                                                                         | 15.31 | 15.31 | 15.31 |        | 4.47  |
| Bentonit                                                                                         |       |       |       | 8.35   |       |
| Sodyum Silikat 1.6.oran                                                                          |       |       |       |        | 0.16  |
| Sodyum Silikat 2.0. oran                                                                         | 3.72  | 3.72  | 3.72  | 8.41   |       |
| Sodyum Silikat 2.35. oran                                                                        |       |       |       |        |       |
| Sitrik Asit                                                                                      |       |       |       | 0.0066 |       |
| Sodyum tripolifosfat                                                                             |       |       |       | 5.06   |       |
| Sodyum Karbonat                                                                                  | 26.1  | 26.18 | 26.1  | 15.9   | 29.0  |
| Nonanoiloksibenzensülfonat                                                                       | 5.78  | 5.78  | 5.78  | 1.17   | 1.86  |
| Oksaziridinyum-bazlı ağartma pekiştirici                                                         | 0.037 | 0.037 | 0.037 |        |       |
| Tetrasodyum S,S,-etilendiamindisüksinat                                                          |       |       |       |        |       |
| Dietilentriamin penta (metlen fosfonik asitd), heptasodyum tuzu                                  | 0.62  | 0.62  | 0.62  |        |       |
| Hidroksietan dimetilen fosfonik asit                                                             |       |       |       |        |       |

|                                                                             |        |        |        |       |        |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------|--------|--------|-------|--------|
| Etilen diamin tetraasetat                                                   |        |        |        |       | 0.2701 |
| MgSO <sub>4</sub>                                                           | 0.056  | 0.056  | 0.056  | 0.47  |        |
| Sodyum Perkarbonat                                                          |        | 7.06   | 7.06   |       | 3.64   |
| Tetra Asetil Etilen Diamin                                                  |        |        |        |       |        |
| Sodyum Perborat Monohidrat                                                  |        |        |        |       | 1.47   |
| Karboksimetil selüloz (örneğin Finnfix BDA önceden CPKelco)                 | 0.38   | 0.38   | 0.38   | 0.173 |        |
| Sodyum Akrilik asit/Maleik asit ko-polimeri (70/30)                         | 3.79   | 3.78   | 3.79   |       | 3.64   |
| Sodyum poliakrilat (Sokalan PA30 CL)                                        | 3.78   | 3.78   | 3.78   | 0.842 |        |
| Tereftalate polimeri                                                        |        |        |        |       |        |
| Polietilen glikol/vinil asetat rastgele greft kopolimeri                    |        |        |        |       | 0.89   |
| Fotoağartıcı- çinko ftalosiyanın tetrasülfonat                              |        |        |        |       |        |
| C.I.Floresan Parlaticı 260                                                  | 0.1125 | 0.1125 | 0.1125 | 0.043 | 0.15   |
| C.I. Floresan Parlaticı 351 (Tinopal ® CBS)                                 |        |        |        |       | 0.0952 |
| Köpük baskılayıcı granül                                                    | 0.015  | 0.015  | 0.015  |       | 0.031  |
| Hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksi metil selüloz (Finnifix ® SH-1) |        |        |        |       |        |
| Bentonit                                                                    |        |        |        |       |        |
| Diğer (Boyalar, parfümler, proses yardımcıları, nem ve sodyum sülfat)       |        | Denge  | Denge  | Denge | Denge  |

**Tablo D. Ek Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen                        | Deterjan Bileşimi |        |        |        |        |
|--------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|
|                                | 36f               | 36g    | 36h    | 36i    | 36j    |
| <b>Sürfaktanlar</b>            |                   |        |        |        |        |
| C <sub>10</sub> İyonik olmayan | 0.1142            | 0.2894 | 0.1885 | 0.1846 | 0.1885 |

C<sub>16-17</sub> Dallanmış alkil sülfat

C<sub>12-14</sub> alkil sülfat

Alifatik zincir uzunluğu C<sub>11</sub>-C<sub>12</sub> olan sodyum  
lineer alkilbenzensülfonat

12.94 15.69 9.01 8.42 9.51

Sodyum C<sub>14/15</sub> alkol etoksi - 3 - sülfat

Sodyum C<sub>14/15</sub> alkil sülfat

Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C<sub>12/14</sub> alkol  
etoksilat

2.9

Ortalama 3 mol etoksilasyonu olan C<sub>12/14</sub> alkol  
etoksilat

2.44

Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C<sub>14/15</sub> alkol  
etoksilat

0.97 1.17 0.97

mono-C<sub>8-10</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil  
kuaterner amonyum klorid

0.45

Di metil hidroksil etil lauril amonyum klorid

0.195

0.45

Zeolit A

2.01

0.39

1.83

2.58

0.59

Sodyum Silikat 1.6.oran

4.53

5.62

4.53

Sodyum Silikat 2.0. oran

10.1

Sodyum Silikat 2.35. oran

7.05

Sitrik Asit

1.4

1.84

1.0

Sodyum tripolifosfat

5.73

Sodyum Karbonat

12.65

15.93

21.0

27.31

20.2

Nonanoiloksibenzensülfonat

1.73

Oksaziridinyum-bazlı ağartma pekiştirici

0.0168

0.0333

0.024

Tetrasodyum S,S,-etilendiamindisüksinat

Dietilentriamin penta (metilen fosfonik asit),  
heptasodyum tuzu

0.327

0.3272

hidroksietan dimetilen fosfonik asit

0.45

0.2911

0.45

|                                                                            |        |       |        |        |        |
|----------------------------------------------------------------------------|--------|-------|--------|--------|--------|
| Etilen diamin tetraasetat                                                  | 0.28   |       | 0.1957 |        |        |
| MgSO <sub>4</sub>                                                          | 0.54   | 0.79  | 0.6494 | 0.793  |        |
| Sodyum Perkarbonat                                                         |        | 19.1  | 15.85  | 22.5   |        |
| Tetra Asetil Etilen Diamin                                                 |        | 4.554 | 3.71   | 5.24   |        |
| Sodyum Perborat Monohidrat                                                 | 5.55   |       |        |        |        |
| Karboksimetil selüloz (örneğin, Finnfix BDA önceden CPKelco)               | 0.62   | 0.21  | 0.23   | 1.07   | 0.2622 |
| Sodyum Akrilik asit/Maleik asit ko-polimeri (70/30)                        | 0.40   | 2.61  | 2.5    | 2.00   | 1.75   |
| Sodyum poliakrilat (Sokalan PA30 CL)                                       |        |       | 0.0055 | 0.011  | 0.008  |
| Tereftalat polimer                                                         |        |       |        | 0.231  |        |
| Polietilen glikol/vinil asetat rastgele greft kopolimeri                   | 0.55   | 1.40  | 0.911  | 0.8924 | 0.911  |
| Fotoağartıcı- çinko ftalosiyanın tetrasülfonat                             |        |       |        |        |        |
| C.I.Floresan Parlaticı 260                                                 | 0.1174 | 0.048 | 0.1455 | 0.2252 | 0.1455 |
| C.I. Floresan Parlaticı 351 (Tinopal ® CBS)                                | 0.1049 |       |        |        |        |
| Köpük baskılayıcı granül                                                   |        |       | 0.04   | 0.0658 | 0.04   |
| Hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksimetil selüloz (Finnifix ® SH-1) |        |       |        |        |        |
| Bentonit                                                                   |        |       |        |        |        |
| Diğer (Boyalar, parfümler, proses yardımcıları, nem ve sodyum sülfat)      |        | Denge | Denge  | Denge  | Denge  |

**Tablo E. Ek Granüler Çamaşır Deterjanı Bileşimleri ve Bileşenleri**

| Bileşen                        | Deterjan Bileşimi |        |        |        |
|--------------------------------|-------------------|--------|--------|--------|
|                                | 36k               | 36l    | 36m    | 36n    |
| <b>Sürfaktanlar</b>            |                   |        |        |        |
| C <sub>10</sub> İyonik olmayan | 0.1979            | 0.1979 | 0.1979 | 0.1979 |

C<sub>16-17</sub> Dallanmış alkil sülfat

C<sub>12-14</sub> alkil sülfat

Alifatik zincir uzunluğu C<sub>11</sub>-C<sub>12</sub> olan sodyum

|                            |      |      |      |      |
|----------------------------|------|------|------|------|
| lineer alkilbenzensülfonat | 8.92 | 8.92 | 11.5 | 11.5 |
|----------------------------|------|------|------|------|

|                                                     |      |      |       |       |
|-----------------------------------------------------|------|------|-------|-------|
| Sodyum C <sub>14/15</sub> alkol etoksi - 3 - sülfat | 1.62 | 1.62 | 1.125 | 1.125 |
|-----------------------------------------------------|------|------|-------|-------|

Sodyum C<sub>14/15</sub> alkil sülfat

|                                                                      |     |     |     |     |
|----------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C <sub>14/15</sub> alkol etoksilat | 1.0 | 1.0 | 1.5 | 1.5 |
|----------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|

mono-C<sub>8-10</sub> alkil mono-hidroksietil di-metil  
kuaterner amonyum klorid

Di metil hidroksil etil lauril amonyum klorid

|          |      |      |     |     |
|----------|------|------|-----|-----|
| Zeolit A | 1.63 | 1.63 | 2.0 | 2.0 |
|----------|------|------|-----|-----|

|                         |      |      |      |      |
|-------------------------|------|------|------|------|
| Sodyum Silikat 1.6.oran | 4.75 | 4.75 | 4.75 | 4.75 |
|-------------------------|------|------|------|------|

|                          |  |  |      |      |
|--------------------------|--|--|------|------|
| Sodyum Silikat 2.0. oran |  |  | 0.06 | 0.06 |
|--------------------------|--|--|------|------|

Sodyum Silikat 2.35. oran

|             |      |      |     |     |
|-------------|------|------|-----|-----|
| Sitrik Asit | 1.10 | 1.10 | 1.1 | 1.1 |
|-------------|------|------|-----|-----|

Sodyum tripolifosfat

|                 |      |      |      |      |
|-----------------|------|------|------|------|
| Sodyum Karbonat | 23.3 | 23.3 | 23.3 | 23.3 |
|-----------------|------|------|------|------|

Nonanoiloksibenzensülfonat

|                                          |       |       |       |       |
|------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Oksaziridinyum-bazlı ağartma pekiştirici | 0.021 | 0.021 | 0.015 | 0.015 |
|------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|

|                                          |      |      |      |      |
|------------------------------------------|------|------|------|------|
| Tetrasodyum S,S,-etilendiamindisuüksinat | 0.26 | 0.26 | 0.26 | 0.26 |
|------------------------------------------|------|------|------|------|

Dietilentriamin penta (metilen fosfonik asit),  
heptasodyum tuzu

|                                      |      |      |      |      |
|--------------------------------------|------|------|------|------|
| Hidroksietan dimetilen fosfonik asit | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.47 |
|--------------------------------------|------|------|------|------|

Etilen diamin tetraasetat

|                   |      |      |      |      |
|-------------------|------|------|------|------|
| MgSO <sub>4</sub> | 0.83 | 0.83 | 0.82 | 0.82 |
|-------------------|------|------|------|------|

|                    |       |       |       |       |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| Sodyum Perkarbonat | 19.35 | 19.35 | 19.35 | 19.35 |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|



|                                                                             |       |       |       |       |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Tetra Asetil Etilen Diamin                                                  | 4.51  | 4.51  | 4.51  | 4.51  |
| Sodyum Perborat Monohidrat                                                  |       |       |       |       |
| Karboksimetil selüloz (örneğin, Finnfix BDA önceden CPKelco)                | 1.01  | 1.01  | 1.01  | 1.01  |
| Sodyum Akrilik asit/Maleik asit ko-polimeri (70/30)                         | 1.84  | 1.84  | 1.84  | 1.84  |
| Sodyum poliakrilat (Sokalan PA30 CL)                                        | 0.007 | 0.007 | 0.005 | 0.005 |
| Tereftalate polimer                                                         | 0.179 | 0.179 | 0.179 | 0.179 |
| Polietilen glikol/vinil asetat rastgele greft kopolimeri                    | 0.96  | 0.96  | 0.96  | 0.96  |
| Fotoğartıcı- çinko ftalocsiyanin tetrasülfonat                              |       |       |       |       |
| C.I.Floresan Parlatıcı 260                                                  | 0.153 | 0.153 | 0.171 | 0.171 |
| C.I. Floresan Parlatıcı 351 (Tinopal ® CBS)                                 |       |       |       |       |
| Köpük baskılayıcı granül                                                    | 0.042 | 0.042 | 0.042 | 0.042 |
| Hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksi metil selüloz (Finnifix ® SH-1) |       |       |       |       |
| Bentonit                                                                    |       |       |       |       |
| Diğer (Boyalar, parfümler, proses yardımcıları, nem ve sodyum sülfat)       | Denge | Denge | Denge | Denge |

Tablolar C, D, E'deki deterjan bileşimlerine 36a-n yönelik notlar:

Sürfaktan bileşenleri, BASF, Ludwigshafen, Almanya (Lutensol®); Shell Chemicals, Londra, UK; Stepan, Northfield, Illinois, USA; Huntsman, Huntsman, Salt Lake City, Utah, USA; Clariant, Sulzbach, Almanya'dan (Praepagen®) elde edilebilir.

Zeolit, Industrial Zeolite (UK) Ltd, Grays, Essex, UK'den elde edilebilir.

Sitrik asit ve sodyum sitrat, Jungbunzlauer, Basel, İsviçre'den elde edilebilir.

Sodyum perkarbonat, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat ve sodyum seskikarbonat, Solvay, Brussels, Belçika'dan elde edilebilir.

Akrilat/maleat kopolimerleri, BASF, Ludwigshafen, Almanya'dan elde edilebilir.

Karboksimetilselüloz ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş karboksimetil selüloz, CPKelco, Amhem, Hollanda'dan elde edilebilir.

C.I. Floresan Parlaticı 260, Optiblanc® Optiblanc® 2M/G, Optiblanc® 2MG/LT Extra veya Optiblanc® Ecobright olarak 3V Sigma'dan elde edilebilir.

Terasodyum S,S-etilendiamin disüksinat, Innospec, Ellesmere Port, UK'den elde edilebilir. Tereftalat ko-polimer, Repelotex SF 2 markası ile Clariant'dan elde edilebilir. 1-Hidroksietan-1,1-difosfonik asit, Thermphos, Vlissingen-Oost, Hollanda'dan elde edilebilir.

Oksaziridinyum-bazlı ağartma pekiştirici, aşağıdaki yapıya sahiptir, burada R1 = 2-bütiloktildir ve 2006/0089284A1'e göre üretilmiştir.



Natalase ®, Termamyl ®, Stainzyme Plus®, Celluclean® ve Mannaway ® enzimleri, Novozymes, Bagsvaerd, Danimarka'dan elde edilebilir.

Çinko ftalosiyanın tetrasülfonat, Tinolux® BMC olarak Ciba Specialty Chemicals, Basel, İsviçre'den elde edilebilir.

Köpük baskılayıcı granül, Dow Corning, Barry, UK'den elde edilebilir.

Rastgele greft kopolimer, polietilen oksit omurgaya ve birçok polivinil asetat yan zincirine sahip polivinil asetat greftli polietilen oksit kopolimeridir. Polietilen oksit omurganın molekül ağırlığı yaklaşık 6000'dir ve polietilen oksit ile polivinil asetatın ağırlık oranı yaklaşık 40 ila 60'tır ve her 50 etilen oksit birimi için 1'den fazla olmayan sayıda greftleme noktası bulunur.

## ÖRNEK 1

### 5 Analizler ve Test Yöntemleri

Bu Örnek, mevcut buluşun geliştirilmesinde kullanılan çeşitli Test Yöntemlerini ve analizleri açıklar. Sağlanan protokollerden her türlü sapma ilgili Örneklerde gösterilir.

- 10 Analizler, Biomek FX Robot (Beckman Coulter) veya çok kanallı pipet (örneğin, Rainin PipetLite, Mettler-Toledo) ve SpectraMAX MTP Okuyucu (tip 340; Molecular Devices) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## A. TEST METHODS

### A. TEST YÖNTEMLERİ

5

#### Test Yöntemi 1

10 Bir boya veya pigment materyalinin, buluşun amacına yönelik kumaş renklendirme maddesi olup olmadığının tanımlanmasına yönelik bir protokol aşağıda sağlanmaktadır:

- 1) iki tergotometre kabı, 800 ml Newcastle upon Tyne, UK Şehir Suyu (US galonu başına ~12 grain toplam sertlik, Northumbrian Water, Pity Me, Durham, Co. Durham, UK tarafından tedarik edilmiştir) ile doldurulur.
- 15 2) Kaplar, tergotometreye yerleştirilir, deney süresinde su sıcaklığı 30°C'de kontrol edilir ve çalkalama işlemi, 40 rpm'e ayarlanır.
- 3) Her kaba wfk, Brüggem-Bracht, Almanya tarafından tedarik edilen 4.8g of IEC-B deterjanı (IEC 60456 Yıkama Makinesi Referans Baz Deterjan Tip B) eklenir.
- 20 4) İki dakika sonra birinci kaba 2.0 mg aktif renklendirici eklenir.
- 5) Bir dakika sonra her kaba, 5cm x 5cm'lik parçalar halinde kesilmiş 50 g düz pamuk atlet (Warwick Equest, Consett, County Durham, UK tarafından tedarik edilmiştir) eklenir.
- 25 6) 10 dakika sonra kapların suyu boşaltılır ve tekrar, 3:1 Kalsiyum ile Magnezyum molar oranı olan 14.4 Clark İngiliz Sertlik Derecesinde su sertliğine sahip soğuk Su (16°C) ile doldurulur.
- 7) 2 dakikalık durulama sonrasında kumaşlar çıkarılır.
- 8) Aynı işlemler kullanılarak adımlar 3-7 üç döngü daha tekrarlanır.
- 9) Kumaşlar toplanır ve iç mekanda 12 saat asarak kurutulur.
- 30 10) Hunter a (kırmızı-yeşil eksen) ve Hunter b (sarı-mavi eksen) değerlerini elde etmek üzere D65 aydınlatıcı ve UVA kesme filtresi olan Hunter Miniscan spektrometresi kullanılarak parçalar analiz edilir.
- 11) Her kumaş grubu için Hunter a ve Hunter b değerlerinin ortalaması alınır. Analiz edilen renklendirici ile işlenmiş kumaşların, renkolarak a ekseninde

veya b ekseninde 0.2 üniteden daha fazla ortalama farkı göstermesi halinde buluşun amacına yönelik kumaş renklendirme maddesi olarak kabul edilir.

### **Test Yöntemi 2**

5

Test Yöntemi 2 için aşağıda sağlanan BMI mikro-numune analizi, granüler deterjan bileşimi 10 (Bakınız Tablo D, yukarıda) kullanılarak gerçekleştirilir. Çamaşır deterjanı, 12gpg olan bir sertliğe sahip su içinde çözülür ve 16°C'lik sıcaklığa ayarlanır ve ilgili proteaz varyantı enzim eklenir. Proteaz varyantı enzimlerin performansı akabinde açıklanan BMI mikro-numune analizine göre belirlenir. Performans indeksi, proteaz varyantı enzimin performansının, SEQ ID NO:2'nin amino asit dizisine sahip *B. lentus* GG36 subtilisin enziminkine ile karşılaştırılması yoluyla belirlenir, tüm durumlarda enzim dozaj aralığı, 0.1 -5 ppm'dir. 1.1 veya daha yüksek performans indeksine sahip proteaz varyantı enzimler, soğuk su proteazları olarak incelenir.

15

### **Test Yöntemi 3**

Test Yöntemi 3 için aşağıda sağlanan BMI mikro-numune analizi, granüler çamaşır deterjanı bileşimi 7 (Bakınız Tablo D, yukarıda) kullanılarak gerçekleştirilir. Çamaşır deterjanı, 6gpg olan sertliğe sahip su içinde çözülür ve 16°C'lik sıcaklığa ayarlanır, ilgili GG36 proteaz varyantı enzim eklenir. GG36 proteaz varyantı enzimlerin performansı akabinde açıklanan BMI mikro-numune analizine göre belirlenir. Performans indeksi, GG36 proteaz varyantı enzimin performansının, SEQ ID NO:2'nin amino asit dizisine sahip *B. lentus* GG36 subtilisin enziminkine ile karşılaştırılması yoluyla belirlenir, tüm durumlarda enzim dozaj aralığı, 0.1 – 5 ppm'dir. 1.1 veya daha büyük performans indeksine sahip GG36 proteaz varyantı enzimler, soğuk su proteazları olarak incelenir.

25

### **Test Yöntemi 4**

Test Yöntemi 4 için BMI mikro-numune analizi, granüler çamaşır deterjanı bileşimi 7 (Bakınız Tablo D, yukarıda) kullanılarak gerçekleştirilir. Çamaşır deterjanı, 6gpg sertliğe sahip su içinde çözülür ve 16°C'lik sıcaklığa ayarlanır ve ilgili GG36 proteaz varyantı enzim eklenir.

30

GG36 proteaz varyantı enzimlerin performansı, açıklanan BMI mikro-numune analizine göre belirlenir. Performans indeksi, GG36 proteaz varyantı enzimin performansının, referans enzim GG36-A158E ile karşılaştırılması yoluyla belirlenir, söz konusu GG36-A158E referans enzim, 158. pozisyonda glutamik asidin alanin ile tek bir süstitüsyonuna (yani, A158E mutasyonu) sahip SEQ ID NO:2'nin *B. lentus* subtilisin GG36 proteaz amino asit dizisinden oluşur, tüm durumlarda enzim dozaj aralığı, 0.1 – 5 ppm arasındadır. 1.0 veya daha büyük performans indeksine sahip GG36 proteaz varyantı enzimler, soğuk su proteazları olarak incelenir.

#### 10 **Test Yöntemi 6**

Test Yöntemi 6 için BMI mikro-numune analizi, Tablo 1-2'deki deterjanlardan 36a-36n biri kullanılarak gerçekleştirilir. Deterjan, Tablo 1-2'de belirtilen sertliğe sahip su içinde çözülür ve 16°C'lik sıcaklığa ayarlanır. Varyant enzimlerin performansı akabinde, açıklanan BMI mikro-numune analizine göre belirlenir. Performans indeksi, varyant performansının, SEQ ID NO:2'nin enzimininki ile karşılaştırılması yoluyla belirlenir, enzim dozaj aralığı tüm durumlarda, 0.1 – 5 ppm'dir. 1.1 veya daha büyük performans indeksine sahip enzimler, soğuk su proteazları olarak incelenir.

#### 20 **Test Yöntemi 7**

Test Yöntemi 7 için BMI mikro-numune analizi, Tablo 1'deki deterjanlardan biri kullanılarak gerçekleştirilir. Deterjan, Tablo 1'de belirtilen sertliğe ve tampona sahip su içinde çözülür ve 16°C veya 25°C'lik bir sıcaklığa ayarlanır. Varyant enzimlerin performansı akabinde, açıklanan BMI mikro-numune analizine göre belirlenir. Performans indeksi, varyant performansının, SEQ ID NO:2'nin enzimininki ile karşılaştırılması yoluyla belirlenir, enzim dozaj aralığı tüm durumlarda, 0.1 – 5 ppm'dir. 1.1 veya daha büyük performans indeksine sahip enzimler, soğuk su proteazları olarak incelenir.

30

### **B. ANALİZLER**

#### **Protein İçeriği Tayinine yönelik TCA Analizi**

*B. subtilis* kültürleri, nemlendirilmiş havalandırma ile 250-300 rpm'de çalkalanarak 37°C'de 2-3 gün büyütülmüştür. Hücreler, santrifüj ve/veya filtrasyon ile enzim içeren kültür üst fazından uzaklaştırılmıştır. Proteaz/protein/enzim konsantrasyonu, TCA çöktürme analizi kullanılarak belirlenmiştir. Kültür üst fazından bir alikuot (20-25 µl), 100 µL/göz 0.25 N HCl içeren 96 gözlü düz tabanlı mikrotitre plakaya (MTP; Costar 9017 ortamını bağlayan temiz polistiren plaka) transfer edilmiştir. "Referans değer" okuması, 5 saniyelik karıştırma sonrasında 405 nm'de ışık saçılma/absorbans ile belirlenmiştir. 100 µL/göz %30 (w/v) trikloroasetik asit (TCA), HCl içeren plakaya eklenmiştir ve protein çökmesini kolaylaştırmak üzere oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Bu "test" plakasının 405 nm'deki ışık saçılması/absorbansı, 5 saniyelik karıştırma sonrasında belirlenmiştir. Numunelerdeki türbidite/ışık saçılması, kültür üst fazındaki çökebilir toplam protein miktarı ile koreledir. Hesaplamalar, bulunan toplam proteinin nispi ölçümünü sağlamak amacıyla "referans değer" okumasının (HCl eklendikten sonra elde edilen) "test" okumasından (TCA eklenmesinden sonra elde edilen) çıkarılması ile gerçekleştirilmiştir. Protein konsantrasyonu ile bir dönüşüm faktörü ilişkili protein çökmesi, bilinen konsantrasyonun GG36 standardı için belirlenmiştir. Bu dönüşüm faktörü, çökme konsantrasyon ile lineer olduğundan tüm varyantlar için kullanılabilir. İstenmesi halinde TCA okumalarının, bilinen spesifik aktivitesi olan klonların proteaz analizleri (aşağı bakınız) ile kalibre edilmesi yoluyla standart bir eğri oluşturulabilir. Ancak TCA sonuçları, 50 ila 500 milyonda bir parça (ppm) protein (burada 1 ppm, 1 mg/L'ye karşılık gelir) olan protein konsantrasyonu ile lineerdir ve bu nedenle istenen performansa sahip varyantların seçilmesi amacıyla enzim performansına karşı direkt olarak grafiklenebilir.

25

### **AAPF Proteaz Analizi**

Serin proteaz varyantlarının, daha spesifik olarak subtilisin varyantlarının proteaz aktivitesini belirlemek amacıyla N-süksinil-L-alanil-L-alanil-L-prolil-L-fenil-p-nitroanilid (suc-AAPF-pNA) hidrolizi ölçülmüştür. Kullanılan reaktif solüsyonları şunlardır: %0.005 TWEEN®-80 (Tris dilüzyon tamponu) içeren 100 mM Tris/HCl, pH 8.6; 1 mM CaCl<sub>2</sub> ve %0.005 TWEEN®-80 (Tris/Ca tamponu) içeren 100 mM Tris tamponu, pH 8.6 ve DMSO içindeki 160 mM suc-AAPF-pNA (suc-AAPF-pNA stok solüsyonu) (Sigma: S-7388). suc-AAPF-pNA çalışma solüsyonunu hazırlamak amacıyla 1 ml suc-AAPF-pNA stok solüsyonu, 100 ml Tris/Ca tamponuna eklenmiştir ve en az 10 saniye iyice

35

karıştırılmıştır. Analiz, 96 gözlü MTP'nin her gözüne 10 µl seyreltilmiş proteaz solüsyonu eklenmesi, hemen akabinde 190 µl 1 mg/ml suc-AAPF-pNA çalışma solüsyonu eklenmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Solüsyonlar 5 saniye karıştırılmıştır ve kinetik moddaki absorbans değişimi (5 dakikada 25 okuma), 25°C'de MTP okuyucuda 405 nm'de okunmuştur. Proteaz aktivitesi, AU olarak ifade edilmiştir (aktivite =  $\Delta\text{OD} \cdot \text{min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$ ).

### **BMI Mikro-numune Analizi (BMI analizi)**

96 gözlü mikrotitre plakalarda (MTP; Corning 3641) 5.5 milimetrelik dairesel çapı olan önceden durulanmış ve delinmiş kan, süt ve mürekkep (BMI) boyalı mikro-numuneler (EMPA116), Center for Testmaterials BV'den (Vlaardingen, Hollanda) elde edilmiştir.

Tablo 1'de deterjanlar, Tablo 1'de açıklandığı üzere deterjan bileşimleri 104 ve 105 için Milli-Q su içinde ve deterjan bileşimleri 101, 102, 103, 106 ve 107 için pH 10.3 2 mM sodyum karbonat tamponu içinde uygun sertlik seviyesindeki su (3:1 Ca:Mg. -  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ile en az 30 dakika karıştırılarak hazırlanmıştır. Deterjanlar santrifüjlenmiştir ve çökteltiyi uzaklaştırmak üzere filtrelenmiştir ve 16°C'de gerçekleştirilen analizler için kullanımdan önce 30 dakika buz üzerinde soğutulmuştur.

Enzim konsantrasyonları, saflaştırılmış GG36 standardına göre 20-50 ppm arasında değişen istenen sabit konsantrasyona eşitlenmiştir. Substrat olarak AAPF kullanılarak GG36'nın spesifik aktivitesi, referans değer in çıkartıldığı TCA değerlerinin ppm cinsinden enzim konsantrasyonuna dönüştürülmesi amacıyla kullanılmıştır. Enzim konsantrasyonu ppm cinsinden belirlendiğinde istenen stok enzim konsantrasyonunu elde etmek üzere tamponun sabit hacmine (300-600 µL) eklenmek için gerekli olan her varyant hacmini hesaplamak amacıyla basit bir formül kullanılmıştır:

$$x = (\text{hedef ppm}) (V_b) / (y - \text{hedef ppm})$$

Burada x=enzimin hacmi, y=enzim konsantrasyonu,  $v_b$ =tampon hacmi

Versispan 8 kanallı kolu olan Perkin-Elmer Janus robotu, değişken hacimdeki enzimi kaynak plakadan (Axygen TCA enzim konsantrasyonu analizinde kullanılan toplanmış, hasat edilmiş varyantları içeren yarı derin gözlü plaka) tampon dolu hedef plakaya iletken uçlar ile dağıtmak amacıyla kullanılmıştır. Numuneler, pipetle karıştırılarak üç

kez karıştırılmıştır. Enzim solüsyonlarının doğruluğu, doğru dilüzyonların yapılmış olduğunu doğrulamak amacıyla dengelenmiş plakanın AAPF aktivitesinin ölçülmesi ve bunun, kaynak plakanınki ile karşılaştırılması yoluyla doğrulanmıştır.

- 5 Dengeleme sonrasında ~200 µL'lik nihai hacme ulaşmak üzere deterjan dolu BMI mikro-numune plakasına 5-15 µL enzim solüsyonu eklenmiştir. Bazı durumlarda enzim numuneleri dengelenmemiştir ve bunun yerine tümü, 0.1 ila 5 ppm'lik çalışma aralığını vermek üzere stok plakadan eşit olarak seyreltilmiştir. Her analize yönelik ideal hedef konsantrasyonlar, belirli bir deterjan için bu aralık boyunca temizlik aktivitesinin
- 10 ölçülmesi ile doz yanıt eğrisinden belirlenmiştir.

- MTP folyo (Bio-Rad) ile kapatılmıştır ve 4°C'ye ayarlanmış soğuk odada önceden 16°C'ye ayarlanmış iEMS inkübatör/çalkalayıcıda (Thermo/Labsystems) veya 32°C'de
- 15 tezgah üzerinde 1400 rpm'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında 120 µL üst faz, yeni bir MTP'ye (Coming 9017) transfer edilmiştir ve SpectraMax okuyucu kullanılarak 600 nm'de okunmuştur. Doğru absorbans okumaları, kör kontrolün (enzim yok) her değerden çıkarılması yoluyla elde edilmiştir.

- Performans indeksi (PI), her varyant için hesaplanmıştır. Performans indeksi, varyant
- 20 enzim temizliği ile oluşturulan üst faz absorbansının sabit bir enzim konsantrasyonunda GG36 temizlemesi ile oluşturulan absorbansa oranıdır. PI değerleri, bir varyant absorbansının belirli bir plakadaki kontrolünkine bölünmesi ile hesaplanmıştır. Aynı varyantın çoklu versiyonlarının bir kütüphane görüntüsünde elde edilmesi halinde bunların PI değerlerinin tek bir temsili değeri türevlendirmek üzere ortalaması
- 25 alınmıştır. 1'den büyük olan (PI>1) performans indeksi (PI), standarda göre (örneğin GG36) bir varyant ile üstün temizlemeyi gösterirken 1 olan PI (PI=1), standart ile aynı performansı gösteren varyantı tanımlar ve 1'den az (PI<1) olan PI, standarttan daha kötü performans gösteren varyantı tanımlar.

**Tablo 1-1: Deterjan Bileşimleri**

| Deterjan Bileşimleri                   | 101 | 102 | 103  | 104  | 105  | 106 | 107 |
|----------------------------------------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|
| Sodyum C <sub>12-17</sub> alkil sülfat |     | 0.8 | 5.88 | 6.93 | 6.93 |     |     |



**Tablo 1-1: Deterjan Bileşimleri**

| <b>Deterjan Bileşimleri</b>                                                                      | <b>101</b> | <b>102</b> | <b>103</b> | <b>104</b> | <b>105</b> | <b>106</b> | <b>107</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Alifatik zincir uzunluğu C <sub>11</sub> -C <sub>12</sub> olan sodyum lineer alkilbenzensülfonat | 14.47      | 13.6       | 8.98       | 8.2        | 7.02       | 11.5       | 8.78       |
| Sodyum C <sub>12-17</sub> alkol etoksi sülfat                                                    |            | 2          | 1.28       | 1.51       | 1.51       | 1.12       |            |
| Ortalama 7 mol etoksilasyonu olan C <sub>10-15</sub> alkol etoksilat                             | 0.06       | 0.12       |            |            |            | 1.7        | 1.33       |
| Zeolit                                                                                           | 2.7        |            | 15.21      | 17.78      | 20.54      | 2.04       | 1.57       |
| Sodyum Silikat                                                                                   | 5.7        | 8          | 3.72       | 3.44       | 2.94       | 4.76       | 5.87       |
| Sitrik Asit                                                                                      |            |            | 0          | 0.5        | 0          | 1.08       | 1          |
| Sodyum tripolifosfat                                                                             |            |            |            |            |            |            |            |
| Sodyum Karbonat                                                                                  | 11.93      | 13.47      | 26.09      | 29.7       | 28         | 23.28      | 23.77      |
| Nonanoiloksibenzensülfonat                                                                       |            |            | 5.77       | 2.74       | 0.63       |            |            |
| Oksaziridinyum bazlı ağartma pekiştirici                                                         |            |            | 0.04       | 0          | 0          | 0.01       | 0.01       |
| Tetrasodyum S,S,-etilendiamindisüksinat                                                          |            |            |            |            |            | 0.26       | 0          |
| Dietilentriamin penta (metilen fosforik asit), heptasodyum salt (DTPA)                           |            |            | 0.61       | 0.49       | 1.6        |            |            |
| Hidroksietan dimetilen fosforik asit                                                             |            |            |            |            |            | 0.47       | 0.55       |
| Etilen diamin tetraasetat                                                                        |            |            |            |            |            |            |            |
| MgSO <sub>4</sub>                                                                                |            |            | 0.05       | 0          | 0          | 0.81       | 2          |
| Sodyum Perkarbonat                                                                               |            | 1.53       | 7.05       | 6.53       | 10.4       | 19.35      | 14.11      |
| Tetra Asetil Etilen Diamin                                                                       |            | 1.15       |            |            |            | 4.51       | 3.26       |
| Sodyum Perborat Monohidrat                                                                       |            |            |            |            |            |            |            |

**Tablo 1-1: Deterjan Bileşimleri**

| <b>Deterjan Bileşimleri</b>                                           | <b>101</b> | <b>102</b> | <b>103</b> | <b>104</b> | <b>105</b> | <b>106</b> | <b>107</b> |
|-----------------------------------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Karboksimetil selüloz (örneğin Finnfix BDA ex CPKelco)                | 0.21       | 0.21       | 0.38       | 0          | 0          | 1.01       | 0.91       |
| Sodyum akrilik asit/ akrilik-maleik asit kopolimer                    | 1.55       | 0.75       | 3.79       | 3.48       | 2.98       | 1.84       | 1.75       |
| Polietilen glikol/vinil asetat rastgele graft kopolimer               | 0.3        | 0.6        |            |            |            | 0.96       | 0.91       |
| Foto ağartma- çinko ftalosiyanın tetrasülfonat                        |            | 0.0066     |            |            |            | 0.0022     | 0.0012     |
| Floresan Parlatıcı                                                    | 0.2        | 0.13       | 0.11       | 0.11       | 0.11       | 0.11       | 0.11       |
| Köpük Baskılayıcı Granül                                              |            |            | 0.01       | 0.16       | 0.01       | 0.05       | 0.05       |
| Diğer (Boyalar, parfümler, proses yardımcıları, nem ve sodyum sülfat) | Denge      | Denge      | Denge      | Denge      | Denge      | Denge      | Denge      |

\* (3:1 Ca:Mg) Metinde detaylı şekilde açıklanan konsantrasyon.

**TABLE 1-2: BMI Mikro-numune Analizlerine yönelik Kullanılan Nihai Deterjan, Su Sertliği ve Tampon Konsantrasyonları**

| <b>Deterjan Bileşimi</b> | <b>Nihai Deterjan Bileşimi (g/L)</b> | <b>Nihai Sertliği* (gpg)</b> | <b>Su Nihai Tampon (mM)</b> | <b>Sodyum Karbonat Konsantrasyonu</b> |
|--------------------------|--------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| <b>1</b>                 | 1.2                                  | 12                           | 2                           |                                       |
| <b>2</b>                 | 2.25                                 | 12                           | 2                           |                                       |
| <b>3</b>                 | 0.719                                | 6                            | 2                           |                                       |
| <b>4</b>                 | 0.625                                | 6                            | 0                           |                                       |
| <b>5</b>                 | 0.625                                | 6                            | 0                           |                                       |
| <b>6</b>                 | 7.69                                 | 20                           | 2                           |                                       |
| <b>7</b>                 | 7.69                                 | 20                           | 2                           |                                       |

## **Performans İndeksi**

- 5 Performans indeksi, aynı protein konsantrasyonunda varyantın (ölçülen değer) ve standart enzimin (teorik değer) performansını karşılaştırır. Ayrıca teorik değerler, standart proteazın performans doz yanıt eğrisinin parametreleri kullanılarak hesaplanabilir.

## **ÖRNEK 2**

10

### **GG36'nın Varyantlarının ve Kombinasyonel Kütüphanelerinin Yapısı**

- Bu Örnek, pHPLT-GG36 *B. subtilis* ifade plazmidi kullanılarak *B. subtilis*'de yapılan GG36 varyantları ve kütüphanelerinin soğuk suda temizlenmesini açıklar. Bu *B. subtilis* ifade plazmidi, aşağıda gösterilen GG36 ifade kasetini, *B. licheniformis* LAT promotörünü (Plat), bir replikaz geni (reppUB), bir neomisin/kanamisin direnç geni (neo) ve bir bleomisin direnç markörü (bleo) (US Patent No. 6,566,112'de şekil 4) dahil pUB110'dan ek elemanları (McKenzie et al., Plasmid, 15:93-103, 1986) içerir. pHPLT-GG36 plazmid haritası, WO2011140364'te sağlanır. GG36 ifade kaset dizisi aşağıda sağlanır.
- 20

GG36'nın DNA dizisi (sinyal dizisi, küçük harflerle, propeptit küçük harf, altı çizgi metin halinde ve GG36 olgun dizi büyük harflerle gösterilir) aşağıda sağlanır:

- 25 gtgagaaagcaaaaaattgtggatggtggtggaacgcactacttatttctgtgtgtttcagttcattgagtcgacgggtctgtaagaaagcaaaaagaaaa  
atatttaatttggctttaatgagcaggaagctgtcactgagttgttagaacaagtagagccaatgacgagtgccattctctctgaggaaagaggaagtcg  
aaattgaattgcttcattgaattgaaacgattcctgttttatecgttgagttaagcccaagaagatgggacgcgcttgagctcgatccagcgattcttatattg

aaagaggatgcagaagtaacgacaatgCCGCAATCAGTGGCATGGGGAATTAGCCGTGTGCAAGCCCCAGC  
 TGCCCATAAACCGTGGATTGACAGGTTCTGGTGTAANAAGTTGCTGTCCTCGATACAGGTATTT  
 CCACTCATCCAGACTTAAATATTGCTGGTGGCCCTAGCTTTGTACCAGGGGAACCATCCACT  
 CAAGATGGGAAATGGGCATGGCACGCATGTGGCCGGGACGATTGGTGGCTTTAAACAATTCGA  
 TTGGCGTTCTTTGGCGTAGCGCCGAGCGCGGAACCTATACGCTGTAAAGTATTAGGGGCGAG  
 CGGTTTCAGGTTCCGTCAGCTCGATTGCCCAAGGATTGGAATGGGCAGGGAAACAATGGCATG  
 CACGTTGCTAAATTTGAGTTTAGGAAGCCCTTCGCCAAGTGGCACACTTGAAGCAAGCTGTAA  
 TAGCGCGACTTCTAGAGCGGTTCTTGTGTAGCGGCATCTGGAAATTCAGGTGCAGGCTCAA  
 TCAGCTATCCGGCCCGTTATGCGAAGCGAATGGCAGTCCGAGCTACTGACCAAAACAACAA  
 CCGCGCCAGCTTTTCACAGTATGGCGCAGGGCTTGACATGTGGCAACAGGTGTAAACGTGC  
 AGAGCACATACCCAGGTTCAACGTATGCCAGCTTAAACGGTACATCGATGGCTACTCCTCAT  
 GTTGCAGGTGCGAGCAGCCCTTGTAAACAAAAGAACCCATCTTGGTCCAATGTACAAATCCG  
 CAAATATCTAAAGAATAACGGCAACGAGCTTAGGAAGCACGAACCTGTATGGAAGCGGACTT  
 GTCAATGCAGAAGCTGCAACTCGTTAA (SEQ ID NO:3)

- GG36'nın protein dizisi (sinyal dizisi küçük harflerle, propeptit küçük harf, alttı çizili metin  
 5 halinde ve GG36 olgun proteaz dizisi büyük harflerle gösterilir) aşağıda sağlanır:

vrskkhwvstallsvafssstasarecaakelylgfnegaysvfveqveandevanlseeceveellhetetipvsvslspdydalekdpasy  
 lcgdaevnmAQSPWGISRVQAPAAHNRCITGSGVKVAATDTGISTHPDENIRGGASEVPGEPSIQD  
 GNGHGHIVAGTLAALNNSIGVLGVAPSALLYAVKVLGASGSGSVSSIAQGLEWAGNNGMHVA  
 NLSLGSPSPSATLEQAVNSATSRGVLYVAASGNSGAGSISYPARYANAMAAATDQNNNRASES  
 QYGAGLDIVAPGVNVQSTYPGSTYASLNGTSMATPHVAGAAALVKQKNPSWSNVQIRNHLKN  
 TATSIGSTNIYSGQLVNAFAATR (SEQ ID NO:4)

- DNA kütüphaneleri ve varyantları, PCR uzatması (WO2011140364), QuickChange  
 10 mutajenezi (Stratagene) ile oluşturulmuştur veya bunlar, DNA2.0, Inc. veya GeneArt'ta  
 sentezlenmiştir. pHPLT -GG36 plazmidi, GG36 varyant genlerinin klonlanması için veya  
 mutajenez reaksiyonları için kullanılmıştır. *B.subtilis*'te kütüphaneler ve varyantların  
 etkili transformasyonu için 1 mikrolitre bağlı kütüphane ürünü veya mutajenez  
 reaksiyonu, *Bacillus subtilis*'e transformasyon için multimerik DNA üretmek üzere  
 15 üreticinin talimatlarına (GE Healthcare) göre Illustra Templiphi kiti ile yuvarlanan  
 çember amplifikasyonu kullanılarak çoğaltılmıştır. Yuvarlanan çember amplifikasyonu  
 ürünleri, 100 kat seyreltilmiştir ve *B. subtilis* hücrelerini (genotip: ΔaprE, ΔnprE,  
 amyE::xylRPxylAcomK-phleo) transforme etmek üzere kullanılmıştır. Transformasyon  
 karışımının bir alikuotu, %1.6 yağsız süt ve 10 µg/mL neomisin içeren LB plakalarında  
 20 plakalanmıştır ve 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Daha sonra halolar ile koloniler,

plazmid DNA ekstraksiyonu için 10 µg/mL neomisin içeren 120 µl Luria besi yeri ortamında inoküle edilmiştir (QIAprep Spin Miniprep kit, Qiagen). Ekstrakte edilen plazmidler, istenen mutasyonların varlığını doğrulamak üzere dizilenmiştir. Varyantlar, Örnek 1'de açıklanan şekilde (TCA analizi) *B. subtilis* hücrelerinde (genotip: ΔaprE, ΔnprE, amyE::xylRPxylAcomK-phleo) ifade edilmiştir ve ayrıca Örnek 1'de açıklanan şekilde BMI mikro-numune temizleme analizi kullanılarak karakterize edilmiştir. aşağıdaki tablolarda deterjan bileşimleri ("Deterjanlar"), yukarıda Tablo 1'de gösterilenlere karşılık gelir. Ayrıca gösterildiği üzere amino asit pozisyonu BPN' numaralandırmasına göre listelenir.

10

**TABLO 2-1: Grup D1 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

**Tablo 1'de açıklandığı üzere bir Deterjan Bileşiminde PI> veya = 3, +++'dır; 2.9 ile 2 arasında PI = ++; 1.9 ile 1.1 arasında PI = +**

| <b>GG36 Varyantlarının Dizisi (BPN' GG36'ya göre PI; numaralandırma)</b> | <b>25°C'de BMI analizi</b> |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| G020R-N062E-S078G-G118S-S188D-N248D-H249R                                | +++                        |
| S024R-N062E-G118R-A158E-S188D                                            | +++                        |
| T022A-S024R-T033S-G118R-S166D-S188D                                      | +++                        |
| S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D                                | +++                        |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D                                | +++                        |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E                                      | +++                        |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D              | +++                        |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D                                | +++                        |
| S024R-N116L-A158E-S166D                                                  | +++                        |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D                   | +++ |
| S024R-G118R-S166D                                           | +++ |
| T022A-S024R-T033S-G118R-A158E-S166D-A273V                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| T022A-G118R-A158E-S166D                                     | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D       | +++ |
| T022A-S024R-G 118R-S166D-S188D                              | +++ |
| N062E-S078G-G118S-G159D                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248E-E271H | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-Q245R-N248D                   | +++ |
| S024R-T033S-N116L-A158E-S166D                               | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R                   | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-Q245R                               | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-A158E                               | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E                               | +++ |
| S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-S188D                         | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R             | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-S188D-H249R                         | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248D-E271T | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248H-E271T | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R                                     | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-A158E-S188D                         | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R                         | +++ |
| S024R-N062E-G118R-A158E                                     | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R                         | +++ |
| A098Q-S099T-G102A-S103G                                     | +++ |
| T022A-G118R-S166D-S188D                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-H249R                         | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S116D-S188D                         | +++ |
| T022A-N062E-G118R-A158E                                     | +++ |
| G020R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248E-E271F | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248E-E271F | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-N248D-H249R                   | +++ |
| S024R-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-H249R                         | +++ |
| T033S-N062E-G118R                                           | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248E-E271H | +++ |
| T033S-G118R-A158E-S166D                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248H       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| T022A-S024R-N062E                                           | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D-R247L             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248E-E271T | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248H       | +++ |



|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| P014S-G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245R-N248E-E271L | +++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-S188D-H249R                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248D-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248E-E271L | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248E-E271H | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-H249R                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248H-E271F | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248H-E271H | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-T213A-A232V       | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-S188D-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R             | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-H249R                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-H249R                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-                        | +++ |

N248D

S078D-G118S-G159D-Q245R +++

G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-  
G159D-N248D-H249R +++S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R-  
N248D +++G020R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-  
N248D +++

S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-Q245R +++

G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-P210L-  
A232T-Q245T-N248D-E271T +++

G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E +++

G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-  
S188D-H249R +++T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-  
Q245V-N248D-E271L +++A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-NI16L-S128N-  
Y209V-A232V +++T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-  
Q245T-N248H-E271H +++G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-  
H249R +++T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  
Q245R-N248E +++G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-  
Q245R +++S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-Q245R-  
N248D +++

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R                               | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245R-N248H-E271H       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-V244A-Q245R-N248H-E271H | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248D-E271F       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024R-N062E-S128I-A158E                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-N248D-H249R                               | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R-H249R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q236K-Q245T-N248E       | +++ |
| N062E-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D                               | +++ |
| T033S-G118R-S166D                                                 | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-L111V                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248E-E271H       | +++ |
| S024R-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D-V199I                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-H249R                               | +++ |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248E-E271T  | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-N248D-H249R                    | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D-E271T  | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-H249R                    | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-N248D                          | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V  | +++ |
| T022Q-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D-E271L | +++ |
| S024R-A048V-S078G-G118D-G159D-S188D-H249R                    | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D                                | +++ |
| G102A-S103G-V104I                                            | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-Q245R-N248D-H249R              | +++ |
| T022A-T033S-G118R-A158E                                      | +++ |
| T022A-S024R-N116L-S128I-S188D                                | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R        | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248E-E271F  | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R                          | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D                                | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R              | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248E-E271T | +++ |
| G020R-S078G-G118D-S188D-N248D-H249R                         | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-A158E-S166D-S188D             | +++ |
| S078G-G118S-G159D-S188D-H249R                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248H-E271F | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S240F-N248D-H249R             | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| N062E-S078D-G 118S-S188D-H249R                              | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248D-E271T | +++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-Q245R                         | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R                         | +++ |
| N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-H249R                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-H249R                   | +++ |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248H        | +++ |
| T022Q-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245V-N248H-E271L | +++ |
| G020R-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V  | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-H249R                    | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245R-N248D-E271H  | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-H249R                    | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245V-N248E-E271L  | +++ |
| G020K-T022L-S078G-G118S-P129E-G159D                          | +++ |
| S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D                                | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-A232V        | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-N248D                    | +++ |
| N062E-G118R-S166D-S188D                                      | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248E-E271T  | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248H-E271F  | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-H249R                          | +++ |
| S024R-N062E-N116L-A158E                                      | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R-N248D-H249R                    | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R             | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248D-E271H | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-N248D-H249R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248E-E271F | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248H-E271T | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D                               | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S128I-S188D                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248E-E271H | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-N248D-H249R       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248H-E271H | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248E-E271F | +++ |
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245R-N248D-E271F | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-N248D-<br>H249R                    | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-Q245R                              | +++ |
| S024R-N062E-G118R-A158E-S166D-S188D                              | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>N248D-H249R              | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-<br>A158T-G159D-Q245R-N248D  | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245R-N248E-E271L  | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-<br>H249R                    | +++ |
| S024R-S078G-G118S-S188D-N248D                                    | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245V-N248E-E271H  | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245T-N248H-E271H  | +++ |
| S099G-S101G                                                      | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245V-N248D-E271F  | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-<br>Q245R                    | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245T-N248H-E271H  | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-                       | +++ |



|                                            |     |
|--------------------------------------------|-----|
| Q245V-N248H-E271L                          |     |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V- |     |
| Q245R-N248E-E271T                          | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L- |     |
| Q245T-N248E-E271T                          | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L- |     |
| Q245V-N248E-E271H                          | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |     |
| Q245R-N248H-E271L                          | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-       |     |
| Q245R-N248D-H249R                          | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-       |     |
| N248D                                      | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D        | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N- |     |
| Y209V-G211Q-A232V                          | +++ |
| S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D-       |     |
| H249R                                      | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-       |     |
| Q245R-N248D-H249R                          | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V- |     |
| G211Q-T213A-A232V                          | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-H249R        | +++ |
| T022L-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E        | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S- |     |
| Q245R-N248E-E271H                          | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-N248D-H249R        | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-       |     |
| N248D                                      | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248H-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248H-E271H | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271L | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-H249R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248H-E271F | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-N248D-H249R | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248H-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248E-E271F | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-H249R                   | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248D-E271H | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248E       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D-E271H | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-                  | +++ |

|                                            |             |
|--------------------------------------------|-------------|
| Q245R-N248H-E271F                          |             |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S- |             |
| Q245T-N248H-E271T                          | +++         |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S- |             |
| Q245T-N248H-E271T                          | +++         |
| N062E-S078G-G118D-G159D-N248D-H249R        | +++         |
| G020R-S078G-G118S-S188D-N248D              | +++         |
| S024R-S078D-G118S-P129E-S188D              | +++         |
| G020R-S078G-G118D-P129E-S188D-H249R        | +++         |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D-       |             |
| H249R                                      | +++         |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |             |
| Q245T-N248D-E271L                          | +++         |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V- |             |
| Q245V-N248H-E271T                          | +++         |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-       |             |
| Q245R                                      | +++         |
| A001E-G020R-S024R-S078G-G                  | 118D-G159D- |
| S188D                                      | +++         |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S- |             |
| Q245T-N248E-E271L                          | +++         |
| G020R-S078D-G118S-G159D-N248D-H249R        | +++         |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T- |             |
| Q245V-N248E-E271L                          | +++         |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-H249R        | +++         |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S- |             |
| Q245R-N248E-E271F                          | +++         |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V- |             |
| A232V                                      | +++         |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E                         | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245V-N248D-E271L | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248E-E271H | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-N248D                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-S188D-H249R                         | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R                         | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-H249R                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248H-E271H | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D                         | +++ |
| S024R-T033S-G118R-A158E                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248D-E271T | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248H-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248D-E271H | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-N248D       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248D-E271H       | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R                               | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R                   | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248D             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245R-N248D-E271L       | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022A-S024R-T033S-S188D                                           | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-H249R                         | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248D-E271H       | +++ |
| N062E-S078G-G118S-N248D                                           | +++ |
| T022A-S024R-N062E-S 1281                                          | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-H249R                   | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078D-G118D-S188D-N248D-H249R                         | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D                                     | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-A232V                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248E-E271L       | +++ |
| T022A-S024R-T033 S-N062E-G118R-S188D                              | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D-T255M-E271T | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-N248D-H249R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248D-E271H       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245T-N248D-E271L       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-Q245R-N248D                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248H-E271F       | +++ |
| S024R-G118R-S128I-A158E-S188D                                     | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248H             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-                        | +++ |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| Q245T-N248E-E271H                                               |     |
| T022A-G118R-S128I-A158E-S188D                                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248E-E271T | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-<br>H249R                   | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D                             | +++ |
| N116L-G118R-S128I-A158E                                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245R-N248H-E271T | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-<br>S188D-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-<br>Q245R-N248D             | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-<br>H249R                   | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-G159D                                   | +++ |
| S024R-T033S-G118R-S188D                                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245R-N248H-E271L | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248E-E271L | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-S188D                                   | +++ |
| S078G-G118D-G159D-S188D-H249R                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245T-N248H-E271H | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245V-N248D-E271L | +++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-                      | +++ |

G211Q-T213A-A232V

T022A-S024R-N062E-N116L-S128I-A158E +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  
Q245T-N248H-E271F +++

S024R-G118R-S128I-S188D +++

G020R-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D-  
H249R +++

N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-  
Q245R +++

S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-  
S188D-Q245R-N248D +++

S024R-N062E-S078G-G118D-N248D-H249R +++

S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-  
N248D +++

S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-  
Q245R +++

T022A-T033S-G118R-S166D +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  
Q245R-N248E-E271T +++

S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D-H249R +++

T022A-S024R-G 118R-S128I +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  
Q245T-N248E-E271L +++

G020R-N062E-S078D-G118S-S188D +++

T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-  
S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-  
Q245V-N248HE271T +++

S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D- +++



H249R

G020R-S078G-G118S-G159D-N248D-H249R +++

G020R-N062E-S078G-G118S-S188D +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-  
Q245R-N248D-E271T +++T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-  
Q245T-N248H +++G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-  
G159D-Q245R-N248D +++

G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R +++

S024R-S128I-A158E +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  
Q245R-N248HE271H +++S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-N248D-  
H249R +++A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-  
L217S-A232V +++

S003T-S024R-N062E-S078D-G118S-N248D +++

G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-S188D +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-  
Q245V-N248D-E271H +++T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245V-N248D-E271H +++G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-  
Q245R +++T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245R-N248D-S265G-E271H +++G020R-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-  
H249R +++

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248E-E271L      | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-N248D                        | +++ |
| S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R                        | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D                        | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248HE271H       | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R            | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248E            | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248D-E271L      | +++ |
| G020K-T022L-S078N-S166D-T213A-L217E                              | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R                              | +++ |
| T022A-T033S-N116L-G118R-A158E                                    | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                  | +++ |
| A001G-T022A-S101G-S103A-V104I-G15D-S188D-A232L-Q245T-N248H-E271L | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R                                    | +++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E                        | +++ |
| S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R                                    | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248E            | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-                       | +++ |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| Q245V-N248E-E271F                                               |     |
| S188D                                                           | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-H249R                                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245T-N248HE271L  | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245V-N248E-E271F | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245T-N248H-E271L | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-H249R                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245V-N248D-E271H | +++ |
| G020R-S078G-G118D-G159D                                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248D-E271L | +++ |
| T022A-N062E-G 118R-S128I-S188D                                  | +++ |
| T022A-N116L-G118R-A158E-S166D-S188D                             | +++ |
| S024R-N062E-N116L                                               | +++ |
| T022A-S024R-N116L-S128I-S166D-S188D                             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245T-N248D-E271F | +++ |
| N116L-A158E-S166D                                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-N248D                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245R-N248D-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245R-N248E-E271H | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248H             | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-A158E-S166D                               | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-H120Q-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248E-E271F       | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248H-E271L       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248E-E271F       | +++ |
| N062E-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248H             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248E-E271L       | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248H-E271F       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248E-E271H       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248D-E271F       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-                        | +++ |

|                                            |     |
|--------------------------------------------|-----|
| Q245R-N248E-E271F                          |     |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S- |     |
| Q245T-N248E-E271H                          | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |     |
| Q245R-N248H-E271H                          | +++ |
| N062E-G118R-S128I-A158E                    | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T- |     |
| Q245T-N248H-E271H                          | +++ |
| S078D-G118S-G159D-Q245R-H249R              | +++ |
| S103A-V104I-S128N-L148I                    | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-       |     |
| S188D-H249R                                | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S- |     |
| Q245R-N248H-E271H                          | +++ |
| S024R-G118R-S188D                          | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L- |     |
| Q245V-N248E-E271F                          | +++ |
| T033S-N062E-G118R-A158E-S188D              | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N- |     |
| Y209V-G211Q-T213A-A232V                    | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-       |     |
| S188D-H249R                                | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-H249R              | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |     |
| Q245V-N248E-E271H                          | +++ |
| N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R  | +++ |
| G020K-S024F-S078N-L217E                    | +++ |
| S103A-S128N-L148I                          | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q- | +++ |

T213A-A232V

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-H249R                   | +++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R                         | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-N248D-H249R                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248E-E271L | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D                         | +++ |
| T033S-N116L-A158E                                           | +++ |
| G020K-S024F-S166D-L217E                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-N248D-H249R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248H-E271H | +++ |
| T022A-S024R-T033S-G118R-A158E-S166D                         | +++ |
| N062E-S078D-G 118D-G159D-Q245R                              | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-H249R                         | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248HE271F  | +++ |
| S078D-G118S-G159D-H249R                                     | +++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-H249R                               | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D                               | +++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248H       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248E-E271L | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248H       | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                   | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-                  | +++ |

|                                             |     |
|---------------------------------------------|-----|
| Q245V-N248H-E271L                           |     |
| S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-        |     |
| N248D-H249R                                 | +++ |
| 118D-P129E-Q245R-H249R                      | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-  |     |
| Q245V-N248D-E271F                           | +++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S166D-L217E         | +++ |
| S024F-G118R-S166D-T213A-L217E               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-        |     |
| Q245R-N248D-H249R                           | +++ |
| T022A-S024R-T033S-S078N-S166D-S188D         | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-Q245R               | +++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E   | +++ |
| G020K-T022L-S078G-G118S-G159D-S188D-H249R   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  |     |
| Q245T-N248D-E271L                           | +++ |
| S024R-T033S-G118R-A158E-S166D-S188D         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  |     |
| Q245T-N248D-E271L                           | +++ |
| T022V-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L- |     |
| Y209A-G211Q-T213A-A232V                     | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D         | +++ |
| S078N-G118R-S166D-L217E                     | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D         | +++ |
| T022A-S024R-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  |     |
| Q245R-N248H-E271H                           | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-  | +++ |



|                                            |                       |
|--------------------------------------------|-----------------------|
| Q245T-N248H-E271T                          |                       |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-N248D-       |                       |
| H249R                                      | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V- |                       |
| Q245V-N248D-E271F                          | +++                   |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104L-L148I        | +++                   |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-       |                       |
| N248D                                      | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T- |                       |
| Q245R-N248E-E271H                          | +++                   |
| S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R              | +++                   |
| S024R-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D        | +++                   |
| G020R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D        | +++                   |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-       |                       |
| S188D-Q245R                                | +++                   |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A- |                       |
| G211Q-T213A-A232V                          | +++                   |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V- |                       |
| Q245R-N248H-E271H                          | +++                   |
| T022A-S024R-T033S-S128I-S188D              | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V- |                       |
| Q245T-N248D-E271H                          | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L- |                       |
| Q245R-N248E-E271F                          | +++                   |
| S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-N248D        | +++                   |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-Q245R        | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |                       |
| Q245T-N248D-E271F                          | +++                   |
| T022Q-S101G-S103A-V                        | 104I-G159D-S188D- +++ |

A232T-Q245T-N248H

G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-Q245R +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-  
Q245T-N248E-E271L +++

S101A-N116L-P210I-T213A +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-  
Q245R-N248HE271F +++

G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-  
Q245R-N248D +++

T022A-S024R-N062E-A158E +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
Q245T-N248D-E271H +++

G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-  
S188D-Q245R-N248D-H249R +++

G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-  
Q245R-N248D +++

N062E-S078G-G 118S-S188D-H249R +++

A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-  
Y209V-G211Q-T213A-A232V +++

G020R-S078G-G118D-S188D-H249R +++

T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-  
Y209A-G211Q-A232V +++

G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-N248D-  
H249R +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-  
Q245T-N248D-E271H +++

T022A-S024R-N116L-G118R-A158E-S166D-S188D +++

G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-  
S188D-Q245R-N248D-H249R +++

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R       | +++ |
| N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248E-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248E-E271T | +++ |
| S024R-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-Q245R             | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-A158E                               | +++ |
| G020R-S078G-G118D-S188D-Q245R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248E-E271L | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248E-E271H | +++ |
| S024R-S166D-S188D                                           | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248D-E271F | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-A232V | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248D-E271F | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022A-N062E-N116L-G118R-A158E                               | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D                         | +++ |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248H       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-H249R                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245R-N248E-E271L | +++ |
| S024R-N062E-G118R-S128I-S188D                                   | +++ |
| N062E-S078G-G118S-G159D-N248D-H249R                             | +++ |
| G020K-T022L-N062E-S078D-G118S-G159D-H249R                       | +++ |
| N062E-S078G-G118D-Q245R-N248D                                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-<br>S188D-H249R             | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-<br>T213A-A232V       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245R-N248D-E271L | +++ |
| S024R-N116L-G118R-S128I-A158E                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248E-E271F | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245V-N248E-E271T | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248D-E271L | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104L-L148I                                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245T-N248HE271T  | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245V-N248E-E271H | +++ |
| S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D-                            | +++ |

H249R

G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-Q245R-  
N248D +++

G020R-S078G-G118D-G159D-S188D +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  
Q245T-N248E-E271T +++

G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-N248D-  
H249R +++

S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-  
Q245R-N248D +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  
Q245T-N248D-E271T +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
Q245R-N248E +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
Q245T-N248HE271F +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245T-N248E-E271F +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-  
Q245R-N248D-E271L +++

G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-  
N248D +++

S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-  
N248D-H249R +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-S212L-  
A232S-Q245V-N248D-E271T +++

S024R-S078G-G118D-G159D-H249R +++

T022A-N116L-G118R-S128I-S188D +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V- +++

Q245R-N248D

N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R +++

G020K-S078N-S166D-L217E +++

N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-  
Q245V-N248E-E271F +++

N062E-N116L-G118R-S166D-S188D +++

G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-N248D +++

T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-  
Y209V-A232V +++

S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R +++

T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  
G211Q-T213A-A232V +++S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-  
N248D-H249R +++S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-  
T213A-A232V +++

G097P-S101A-S103G +++

S024R-N062E-S078D-G118S-S188D +++

G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-  
H249R +++

S024R-N062E-S078G-G118S-G159D +++

A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-  
Y209A-A232V +++

T022A-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-  
Q245R-N248D-E271T +++

S024R-T033S +++

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-G118R-S128I                                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245T-N248E-E271L | +++ |
| S024R-N062E-A158E                                               | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E                                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-H249R             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245V-N248HE271F  | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248H-E271F | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D                             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248HE271L  | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-<br>N248D                   | +++ |
| N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D                             | +++ |
| N062E-N116L-G118R-S128I-S188D                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248D-E271F | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-<br>Q245R-N248D             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245T-N248D-E271T | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248E-E271T | +++ |
| T022A-T033S-N116L-G118R-S188D                                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-<br>S188D-N248D             | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-N248D                   | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| N062E-S078D-G118S-G159D-H249R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248D       | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245T-N248E-E271T | +++ |
| N062E-S078D-G118S-H249R                                     | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-A158E                         | +++ |
| T022L-S078N-G118R-S166D-L217E                               | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248H-E271L | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248D-E271L | +++ |
| S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R                               | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                         | +++ |
| S024F-T213A-L217E                                           | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248D-E271H | +++ |



|                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245T-N248E-E271T                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248H-E271H                     | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-<br>H249R                                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245R-N248D                           | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245R-N248D-E271T                     | +++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R                                                       | +++ |
| S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D-H249R                                                 | +++ |
| S101A-S103G-V104I-L148I                                                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245R-N248H-E271F                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245V-N248H-E271H                     | +++ |
| T022A-N116L-G118R-A158E                                                             | +++ |
| T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-I107V-<br>N116L-S128N-Y209A-G211 Q-T213A-A232V | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245R-N248HE271T                      | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D                                                       | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S                                                             | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-<br>Q245R                                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-<br>Q245V-N248E-E271T                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-                                          | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| Q245V-N248D-E271H                                           |     |
| S078G-G118S-G159D                                           | +++ |
| S024F-G118R-T213A-L217E                                     | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R                   | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-H249R                               | +++ |
| S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-H249R             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248D       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248E-E271H | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245V-N248D-E271T | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D             | +++ |
| N062E-S078G-G118D-P129E-H249R                               | +++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-T213A-L217E                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-                        | +++ |

S188D-H249R

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S024R-T033S-N116L-S166D-S188D                               | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-H249R                               | +++ |
| T033S-N116L-G118R-A158E-S188D                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248H             | +++ |
| S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-P129E-S188D                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245T-N248E             | +++ |
| S024R-S078G-G118S                                                 | +++ |
| N062E-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                         | +++ |
| N062E-S078G-G118D-G159D                                           | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                   | +++ |
| 118D-G159D-Q245R                                                  | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245R-N248E-E271H       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-V244I-Q245R-N248H-E271L | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-N248D                               | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-H249R                               | +++ |
| T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V      | +++ |

|                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-<br>G211Q-T213A-A232V       | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-S188D                                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245V-N248E-E271H       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245V-N248E-E271L       | +++ |
| G020K-S166D-L217E                                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245T-N248E-E271T       | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-Q245R                                         | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-<br>Q245R-N248D                   | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-<br>S128N-Y209A-G211Q-A232V | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-<br>A232V                   | +++ |
| T033S-G118R-S188D                                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245T-N248E-E271H       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245T-N248D-E271T       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-N248D                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245T-N248H-E271F       | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R                                   | +++ |
| G020R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D                         | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-S078G-G118D-P129E-N248D-H249R                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E                               | +++ |
| N062E-S078D-G 118S-S188D-Q245R                              | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245V-N248H-E271L | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245R-N248D-E271L | +++ |
| N062E-S078G-G118S-G159D-H249R                               | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248H       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-V244L-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-A232V       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-A272D             | +++ |
| N116L-G118R-S128I-A158E-S166D                               | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-H249R                               | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-N248D                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-N248D-                        | +++ |

H249R

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D-H249R             | +++ |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-<br>T213A-A232V       | +++ |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-T213A-<br>A232V             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245V-N248H       | +++ |
| N062E-S078G-G118S-N248D-H249R                                   | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D-<br>Q245R                   | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-<br>T213A-A232V       | +++ |
| N043F-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D                                   | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-Q245R-<br>N248D                   | +++ |
| S024R-S166D                                                     | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-N248D                                   | +++ |
| A016S                                                           | +++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-<br>Q245R             | +++ |
| G020K-L217E                                                     | +++ |
| G118R-S166D-S188D                                               | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-S188D                                   | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R                             | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-                      | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T213A-A232V                                                 |     |
| N116L-S166D                                                 | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-N248D-H249R                   | +++ |
| N062E-S078G-G 118S-G159D-S188D-Q245R                        | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248E-E271H | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-H249R                         | +++ |
| G118R-S166D-T213A                                           | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G115W-G118D-G159D-N248D                   | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-A232V             | +++ |
| S024R-N062E-N116L-S128I-A158E                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248D-E271L | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-H249R                         | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-N248D-H249R                   | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-L217E                         | +++ |
| S101G-G102A-S103A                                           | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D                         | +++ |
| G020K-S078N-S166D                                           | +++ |
| T022A-G118R-A158E                                           | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020K-T022L-S024F-S078N-S166D                               | +++ |
| T022A-T033S-N062E-N116L-G118R-A158E-S188D                   | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-H249R                         | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V                   | +++ |
| A015D-A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-S188D-H249R                   | +++ |
| G020K-S024F-S078N-S128D                                     | +++ |
| T033S-N116L-S166D-S188D                                     | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D                               | +++ |
| T022A-S024R-T033S-L082I-G118R-S128I-A158E-S188D             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-N248D                         | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| N062E-S078G-G 118D-Q245R                                    | +++ |
| G020K-T022L-S078N-L217E                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245V-N248E-E271L | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248E-E271H | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248E-E271T | +++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022Q-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245K-N248H      | +++ |
| N062E-S078D-G118D-Q245R                                     | +++ |



|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S024R-G118R-A158E-S166D                                   | +++ |
| A016S-S101A-S103A-S128N-L148I                                   | +++ |
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245R-N248E      | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D                                         | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>S188D                   | +++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R                             | +++ |
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248H      | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271H | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-H249R                             | +++ |
| S078D-G118S-P129E-G159D-H249R                                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S88E-A232S-<br>Q245T-N248D-E271H  | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-<br>Q245R                   | +++ |
| T022L-T213A-L217E                                               | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-N248D-H249R       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245R-N248HE271T  | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-Q245R                                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-N248D-<br>H249R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-                      | +++ |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| Q245R-N248HE271T                                                |     |
| S024R-S078D-G118D-P129E-H249R                                   | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S188D                                   | +++ |
| S024R-N062E-G118R                                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248E       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-H249R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245R-N248H       | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D                             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245V-N248D-E271T | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-Q245R-N248D-<br>H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-<br>S188D-Q245R-N248D       | +++ |
| A016S-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>Y209V-A232V      | +++ |
| G097P-A098Q-S099G-V104L                                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245T-N248D-E271F | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-N248D                             | +++ |
| A016S-S103A-S128N                                               | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R                                   | +++ |
| S078D-G118D-P129E-S188D-H249R                                   | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-A158E                             | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-<br>Y209V-T213A-A232V | +++ |

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R                                     | +++ |
| T033S-N062E-N116L-G118R-A158E-S188D                                     | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R-A272V                         | +++ |
| G118R-S128I-A158E-S166D                                                 | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S166D-D181E-L217E                               | +++ |
| N062E-G118R-S188D                                                       | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-T213A-A232V                   | +++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R                                     | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-N248D-H249R                               | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-N248D                                     | +++ |
| T022A-V068A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-N248D-H249R                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248HE271L              | +++ |
| T033S-N116L-G118R-S188D                                                 | +++ |
| N062E-S078G-G118S-S188D-N248D-H249R                                     | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-S128N-L148I                               | +++ |
| G020R-S078G-G118S-S188D-N248D-H249R                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D                         | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                   | +++ |

|                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N062E-G118R-S128I-A158E                                          | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D                                    | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-Q245R-<br>N248D-H249R                    | +++ |
| N062E-G118R-A158E-S166D                                                | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-S188D                                    | +++ |
| S078G-G118D-G159D                                                      | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-<br>S188D-Q245R-N248D              | +++ |
| G020R-S078G-G118D-S188D-N248D                                          | +++ |
| G020K-T022L-S078G-G118D-G159D-N248D-<br>H249R                          | +++ |
| S103G-L148I-M175T                                                      | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-Q245R-<br>N248D                          | +++ |
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245R-N248D-H249R-E271F | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-<br>Y209A-G211Q-T213A-A232V  | +++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-<br>G211Q-A232V              | +++ |
| T022A-S024R-N062E-S 166D                                               | +++ |
| G020R-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D-H249R                    | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-<br>Y209V-A232V              | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-A158E-S188D                                    | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245T-N248E-E271L        | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-T033S-N116L-G118R-A158E-S188D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248HE271H  | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-N248D                         | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-A158E                               | +++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R-L217E                               | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271L | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-N248D-H249R | +++ |
| N062E-G118R-S166D                                           | +++ |
| T022Q-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245R-N248D      | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D-H249R             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245V-N248HE271T  | +++ |
| T022L-S024F-G118R-S166D                                     | +++ |
| T022Q-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D      | +++ |
| G020K-S024F-S166D-T213A-L217E                               | +++ |
| N062E-S078G-G 118S-G159D-S188D                              | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-Q245R-N248D                         | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-T213A-L217E                         | +++ |
| T022A-V068A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-                  | +++ |

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F                             |     |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D                                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-<br>H249R                   | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S166D-T213A-<br>L217E             | +++ |
| T022A-N062E-N116L-A158E                                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245V-N248E-E271L | +++ |
| T022A-S024R-N062E-S128I-S166D                                   | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D-<br>H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-<br>G159D-H249R             | +++ |
| G020R-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D                             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-<br>S188D-Q245R-N248D-H249R | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R                                   | +++ |
| T022A-S024R-N062E-G118R-S128I-A158E                             | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-<br>Q245R                   | +++ |
| S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R                             | +++ |
| G118R-A158E-S188D                                               | +++ |
| G020K-S024F-G118R-S166D-L217E                                   | +++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-T213A-L217E                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245V-N248D-E271L | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-<br>Q245V-N248D       | +++ |

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N062E-S078G-G118S-H249R                             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-<br>Q245R-N248D-H249R | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209V-A232V | +++ |
| T033S-A158E-S166D                                         | +++ |
| S024R-S078D-G118S-S188D-N248D-H249R                       | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R-<br>N248D             | +++ |
| N062E-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D                       | +++ |
| N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D-<br>H249R             | +++ |
| S024R-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D                       | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-<br>Q245R-N248D       | +++ |
| S024R-N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-<br>A232V-Q245R | +++ |
| N062E-S078D-G 118S-P129E-H249R                            | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D                       | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-<br>T213A-A232V | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S166D-T213A-L217E                 | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-S188D-<br>N248D             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-<br>A272D             | +++ |
| T022A-S024R-A158E                                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-N248D                             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-                | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| Q245V-N248E-E271T                                                 |     |
| S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-T213A-A232V                   | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S166D-L217E                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-Q245R                                     | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-S188D-Q245R                               | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-N248D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248H             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R                               | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-S188D-Q245R                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022A-S128I-A158E-S188D                                           | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V-V244G | +++ |
| T022L-S078N-T213A-L217E                                           | +++ |
| S078D-G118S-P129E-H249R                                           | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-T213A-L217E                         | +++ |
| N062E-S078D-G118S-G159D-Q245R                                     | +++ |
| G020K-S024F-S166D                                                 | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-Q245R-N248D-H249R                         | +++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-L217E                                     | +++ |
| T022L-S024F-S078N-G118R-S166D-L217E                               | +++ |
| T022A-S024R-T033S-A158E-S188D                                     | +++ |



|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248D-E271H | +++ |
| S087R                                                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248H       | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D                         | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E                                     | +++ |
| S024R-N116L-G118R-S166D-S188D                               | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103G-V104I                                     | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S188D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245T-N248E-E271L | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-M119V-Y209V-G211Q-A232V       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248HE271L  | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248D-E271T | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-A232V             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-N248D-H249R                         | +++ |
| G020K-T022L-G118R-S128D                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248D-E271L | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248E-E271T | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020K-S024F-T213A-L217E                                     | +++ |
| G118R-S128I-S188D                                           | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-H249R                               | +++ |
| T022A-N062E-G118R-S188D                                     | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022A-S024R-N116L-A158E-S166D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248HE271T  | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248HE271L  | +++ |
| S024R-N062E-A158E-S188D                                     | +++ |
| G020K-S024F-G118R-S166D-T213A-L217E                         | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245T-N248HE271T  | +++ |
| S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R                               | +++ |
| S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                         | +++ |
| N062E-N116L-G118R-A158E                                     | +++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V       | +++ |
| T022L-S024F-G118R-S128D-T213A                               | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-A232V       | +++ |
| S078D-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R                         | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-S188D                               | +++ |
| T022A-T033S-N116L-S166D                                     | +++ |
| S024R-N062E-G118R-S188D                                     | +++ |
| S024R-T033S-N116L-G118R-S128I-A158E                         | +++ |
| S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-H249R                   | +++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D             | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248D-E271H | +++ |
| S078G-G118S-G159D-S188D-N248D-H249R                         | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245T-N248E-E271F | +++ |

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-N062E-S078D-G118D                                                     | +++ |
| S024R-T033S-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D                                   | +++ |
| T033S-N062E-N116L-G118R-S188D                                               | +++ |
| T022A-T033S-N116L-G118R-A158E-S188D                                         | +++ |
| S078N-G118R-S166D                                                           | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-<br>Q245T-N248E-E271L             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S18E-A232L-<br>Q245T-N248HE271L               | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-<br>T213A-A232V                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-<br>Q245R-N248D                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-<br>T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-G118R-A158E-S188D                                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-H249R                                               | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-A232V                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-<br>Q245V-N248E-E271F             | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-Q245R                                         | +++ |
| G020K-S024F-S078N-T213A-L217E                                               | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-<br>H249R                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-<br>N248D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F       | +++ |
| G020R-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D                                         | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248D-E271T       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248H             | +++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| S101G-S103A-L148I                                                 | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245T-N248D-E271L       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245T-N248D-S265G-E271L | +++ |
| V104I-L111V-L148I                                                 | +++ |
| T022A-G 118R-S128I                                                | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-N248D                         | +++ |
| G020K-T022L-G118R-S166D-T213A-L217E                               | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                               | +++ |
| G097P-S099A-S101A-S103A                                           | +++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| A016S-V104L-L111V                                                 | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248D-E271T       | +++ |
| N062E-S078G-G 118D-P129E-Q245R-N248D                              | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-                        | +++ |

Q245V-N248E

T022A-S024R-T033S-G118R-A158E-S188D +++

S078N-G118R-T213A-L217E +++

T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-  
G211Q-A232V +++G020R-S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-  
H249R +++T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128L-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +++

G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-L217E +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
Q245R-N248HE271T +++

T022A-S024R-T033S-N116L-A158E-S188D +++

S024R-N062E-S128I-S188D +++

S024R-S078G-G118S-S188D +++

T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
Q245T-N248D-E271L +++

G020K-S024F-G118R-T213A-L217E +++

T022A-S024R-S 101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V +++

S103A-V104I-L111V-L148I +++

T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L-  
Y209V-G211Q-T213A-A232V +++T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245V-N248HE271T +++

S078D-G118D-G159D-Q245R +++

G020K-T022L-S078D-G118D-P129E-G159D-  
Q245R-H249R +++

A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A- +++

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| Y209V-G211Q-T213A-A232V                                                     |     |
| T022A-S024R-T033S-S166D                                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-N248D-<br>H249R                               | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-<br>T213A-A232V                   | +++ |
| S024R-T033S-A158E                                                           | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-<br>S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245T-N248D-E271T             | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-S188D-Q245R-<br>N248D                               | +++ |
| S078G-G118D-S188D-Q245R                                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>Q245T-N248D-E271L             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-<br>G159D-S188D-N248D                   | +++ |
| S024R-N116L-S128I-S166D                                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-Q245R-N248D                                         | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-Q245V-N248E-<br>E271F                               | +++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S128D-T213A-L217E                                   | +++ |
| T022L-S024F-T213A-L217E                                                     | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-<br>Y209A-A232V                   | +++ |
| N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                                   | +++ |

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| T022A-N062E-A158E                                         | +++ |
| S024R-T033S-S128I-A158E-S188D                             | +++ |
| S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R                             | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245R-N248D | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-<br>H249R             | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-<br>H249R             | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-<br>S188D-N248D-H249R | +++ |
| S024R-T033S-A158E-S188D                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L148I                             | +++ |
| N116L-G118R-S128I-S166D                                   | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-N248D                       | +++ |
| S078G-G118S-P129E-H249R                                   | +++ |
| S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-Q245R                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209V-<br>T213A-A232V | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S166D                       | +++ |
| T022A-G118R-S128I-S188D                                   | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-N248D                             | +++ |
| G020R-S078D-G118D-S188D-H249R                             | +++ |
| N062E-S078G-G118D                                         | +++ |
| G020K-T022L-G118R-S166D-T213A                             | +++ |
| G061E-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-<br>T213A-A232V | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-                | +++ |



Q245V-N248E-E271L

T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116A-  
Y209V-T213A-A232V +++

T022A-S024R-N076D-S 101G-S103A-V104I-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-N269D-  
A270V-E271F-A272V +++

T022A-V068A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188D-  
A232V-Q245R-N248D-E271F +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  
Q245T-N248E-E271T +++

S078G-G118S-P129E-S188D-N248D-H249R +++

G020K-T022L-S166D-L217E +++

T213A-L217E +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245V-N248D-E271T +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245R-N248D +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-  
Q245V-N248H +++

G020R-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D-  
H249R +++

S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-A232V +++

T022L-S024F-G118R-S166D-L217E +++

S024R-T033S-S188D +++

G020R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-  
H249R-A272D +++

T033S-A158E-S188D +++

S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-  
A232V +++

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248E       | +++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-Q245R                               | +++ |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V | +++ |
| N062E-S078G-G 118S-S188D                                    | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R                   | +++ |
| A016S-S101G-S128N-L148I                                     | +++ |
| G118R-S128I-S166D-S188D                                     | +++ |
| N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-H249R                         | +++ |
| T022A-T033S-N062E-N116L                                     | +++ |
| N062E-S078G-G118D-P129E-Q245R                               | +++ |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-T213A-A232V | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245T-N248E-E271L | +++ |
| S078G-G118S-S188D-H249R                                     | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-H249R                               | +++ |
| S078G-G118S-P129E-S188D-N248D                               | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V             | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-A158E-S188D                   | +++ |
| G020K-S024F-S078N-S166D-L217E                               | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-H249R                               | +++ |
| T022A-S024R-S128I-A158E-S166D                               | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V             | +++ |

|                                             |     |
|---------------------------------------------|-----|
| T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V1041-N116L- |     |
| Y209A-G211Q-A232V                           | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-        |     |
| Q245R                                       | +++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-N248D-        |     |
| H249R                                       | +++ |
| A016S-V104I-S128N-L148I                     | +++ |
| T022A-S 101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T- |     |
| Q245V-N248E                                 | +++ |
| T022A-G023A-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116A- |     |
| Y209A-G211Q-T213A-A232V                     | +++ |
| T022A-N116L-S188D                           | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-        |     |
| S188D-Q245R                                 | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-H249R         | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  |     |
| T213A-A232V                                 | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-N248D         | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  |     |
| A232V                                       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-  |     |
| G211Q-A232V                                 | +++ |
| S024R-N062E-S166D-S188D                     | +++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-        |     |
| N248D                                       | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-T213A-A232V   | +++ |
| T022A-S024R-G118R-A158E-S166D-S188D         | +++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-  |     |
| A232V                                       | +++ |

|                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S128D                                                  | +++ |
| A016S-T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-T213A-A232V                    | +++ |
| S024R-N062E-N116L-S128I                                                              | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                                | +++ |
| T022A-V068A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | +++ |
| T022A-S024R-T033 S-N062E-G118R-A158E                                                 | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D-H249R                                      | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245R-N248D                                | +++ |
| T022A-S024R-A158E-S188D                                                              | +++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S166D-L217E                                                  | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E                                                              | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-A232V                                | +++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S166D-T213A-L217E                                            | +++ |
| G118R-T213A-L217E                                                                    | +++ |
| T022L-S024F-S166D-T213A-L217E                                                        | +++ |
| S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                                      | +++ |
| T022A-T033S-G118R-P129E                                                              | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-N248D                                            | +++ |
| T022A-S024R-S 101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-                                           | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T213A-A232V                                                 |     |
| T022A-S101A-S103G-V104I-S128N                               | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S166D                         | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V       | +++ |
| S024F-G118R-S128D-T213A-L217E                               | +++ |
| T022L-S024F-G118R-T213A-L217E                               | +++ |
| N062E-S078D-G 118S                                          | +++ |
| S024R-G118R-A158E-S188D                                     | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-A232V             | +++ |
| A088L                                                       | +++ |
| E271W                                                       | +++ |
| N062E-S078D-G118D-P129E-H249R                               | +++ |
| T022A-V104I-S128N-L148I                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A230V-A232V-Q245R-N248H | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-T213A-A232V             | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-H249R                         | +++ |
| G097P-A098F-S099A-V104I                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022L-S024F-S078N-G118R-S166D-T213A                         | +++ |
| N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D                         | +++ |
| T022A-S024R-T033S-S166D-S188D                               | +++ |

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-T033S-R045C-G118R-A158E-S188D                                         | +++ |
| T022A-S024R-N062E-S128I-S188D                                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F | +++ |
| T022A-S024R-N116L-S166D                                                     | +++ |
| S024R-N062E-S128I-A158E                                                     | +++ |
| S024R-G118R-A158E-S166D                                                     | +++ |
| G020K-T022L-S078N-T213A                                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-<br>N248D                               | +++ |
| G020K-T022L-S078N-T213A-L217E                                               | +++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-Q245R-H249R                                         | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209A-G211Q-T213A-A232V       | +++ |
| S024R-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                                   | +++ |
| S024R-N116L-G118R-A158E-S166D-S188D                                         | +++ |
| S024F-S166D-T213A                                                           | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-<br>Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| T022A-S024R-S128I-S166D-S188D                                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-N248D-<br>H249R                               | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-A158E-S166D-<br>S188D                         | +++ |
| T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209AT213A-A232V       | +++ |
| T022L-S024F-L217E                                                           | +++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-                                        | +++ |

N248D-H249R

T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-  
A232V-Q245R-N248D-E271F +++

S099T-S103G +++

S024R-S078D-G118D-P129E-N248D-H249R +++

S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-Q245R-  
N248D +++

T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-G118R-G159D-  
S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F +++

S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-  
N248D-H249R +++

S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R +++

A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-  
Y209A-A232V +++

S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-  
Q245R-N248D-H249R +++

T022A-S101G-S103A-V104I-G118R-S128L-G159D-  
S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F +++

G020R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D +++

S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R +++

T022L-G118R-T213A-L217E +++

G020R-S024R-S078G-G118S-S188D-N248D-  
H249R +++

G118R-A158E-S166D-S188D +++

A016S-T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-VI04I-  
N116L-Y209V-T213A-A232V +++

N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-  
N248D +++

T022Q-A088S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D- +++

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| A232T-Q245V-N248E                                           |     |
| S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D                         | +++ |
| G020K-S024F-S128D-N204K                                     | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-A232V             | +++ |
| S024R-S078D-G118S-S188D                                     | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V                         | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-A232V | +++ |
| S101G-S103A-V104L-L1481                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248D-E271L | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-S188D-H249R                   | +++ |
| R010H-T022L-S024F-L217E                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-Q245R-N248D       | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R                         | +++ |
| S024R-N116L-S128I-A158E-S166D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248H-E271F | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                   | +++ |
| S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R             | +++ |
| S078D-G118D-S188D-Q245R                                     | +++ |



|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| G020K-T022L-S024F-G118R-S166D-T213A                                               | +++ |
| S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R                                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245R-N248E-E271F                   | +++ |
| S056R-G065P                                                                       | +++ |
| S056K                                                                             | +++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-<br>P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E                                         | +++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-S188D                                                     | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-N248D-<br>H249R                                     | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-N248D                                                     | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-N248D                                               | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-<br>Q245R                                     | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D                                                           | +++ |
| T022A-S024R-T033S-G118R-S128I-S166D-S188D                                         | +++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209V-A232V                         | +++ |
| T022A-T033S-S188D                                                                 | +++ |
| G097P-S103A-V104L                                                                 | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E                                                           | +++ |
| N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-V203L-A232V-<br>Q245R                               | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-<br>N248D                                     | +++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-S188D                                                     | +++ |

|                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D                          | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-S188D                                      | +++ |
| G020R-S101A-P210I-G211Q                                            | +++ |
| T022A-T033S-N116L-S188D                                            | +++ |
| T022A-T033 S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248E-E271L        | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-N248D-H249R                                | +++ |
| T022A-S024R-N116L-A158E                                            | +++ |
| N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-A232V-Q245R              | +++ |
| S024R-S078G-G118S-S188D-N248D-H249R                                | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-S188D-N248D-H249R                          | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D                                      | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-A232V                    | +++ |
| S132D                                                              | +++ |
| N043K                                                              | +++ |
| G097P-V104L                                                        | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-A232V        | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D-H249R                          | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D                                      | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D                                | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-T213A-A232V                   | +++ |
| G020K-S078N-S166D-T213A-L217E                                     | +++ |
| S103A-L111V-L148I                                                 | +++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V | +++ |
| S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D                         | +++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-T213A-A232V             | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D                               | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-Q245R-H249R                         | +++ |
| T022A-G118R-S166D                                                 | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-A158E-S188D                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245V-N248D-E271F       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| A016S-T022A-V104I-S128N                                           | +++ |
| S024R-N062E-N076D-S 10 1A-S 103A-V104I-S188D-P210I-A232V-Q245R    | +++ |
| T022L-G118R-S166D-T213A-L217E                                     | +++ |
| S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-H249R                         | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G195W-N269E                                                       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-Q245V-N248E                         | +++ |
| N269W                                                             | +++ |
| T022A-T033S-G118R-A158E-S166D-S188D                               | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R                   | +++ |
| A016S-S101A-S103A                                                 | +++ |
| G097P-S099G-S103A-V104I                                           | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245R-N248E             | +++ |
| S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R                                     | +++ |
| T033S-N062E-G118R-A158E                                           | +++ |
| G020R-S078D-G118S-G159D-N248D                                     | +++ |
| A016S-T022A-S103G-V104I-S128N-L148I                               | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-A232V                         | +++ |
| S101A-S103A-V104I-S188D-M222S-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V       | +++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-T213A-A232V       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                   | +++ |
| G020R-S078D-G118S-S188D                                           | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-Q245R-N248D                               | +++ |

|                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022L-S166D-T213A                                                             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-N248D                               | +++ |
| S240G                                                                         | +++ |
| L217E                                                                         | +++ |
| S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D                                                 | +++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D                                     | +++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D                                                       | +++ |
| T022A-S024R-NO76D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | +++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R                               | +++ |
| S024F-S078N-G118R-S166D                                                       | +++ |
| S078G-G118S-P129E-N248D                                                       | +++ |
| N155W                                                                         | +++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V             | +++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                                     | +++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-S188D-Q236R-N248D-H249R                               | +++ |
| T022A-S024R-N116L-A158E-S188D                                                 | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V                         | +++ |
| S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D                                                 | +++ |
| T022L-S024F-S078N-L217E                                                       | +++ |
| S099A-S101A-G102A                                                             | +++ |

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S078D-G118D-G159D-N248D-H249R                                               | +++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T033S-N116L-G118R-S166D-S188D                                                     | +++ |
| S024R-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                               | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-<br>G159D-Q245R-N248D-H249R                   | +++ |
| N062E-S078G-G118D-N248D-H249R                                                     | +++ |
| S024R-N116L-A158E-S188D                                                           | ++  |
| G020K-S024F-S078N-G118R-T213A                                                     | ++  |
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-S128I                                               | ++  |
| G020R-S078D-G118D-S188D-Q245R                                                     | ++  |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-T213A-<br>A232V                               | ++  |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D                                               | ++  |
| T022A-N062E-N116L-G118R-A158E-S166D                                               | ++  |
| G020K-T022L-S078N-S166D-L217E                                                     | ++  |
| G020R-S078D-G118D-G159D                                                           | ++  |
| T022A-S024R-T033S-N116L                                                           | ++  |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D                                                     | ++  |
| S166D                                                                             | ++  |
| G020R-S078D-G118D-G159D-H249R                                                     | ++  |
| S024R-N062E-S078G-G118S                                                           | ++  |
| S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R-H249R                                               | ++  |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>Y209V-T213A-A232V                   | ++  |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-<br>Q245R                                     | ++  |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209V-<br>G211Q-A232V                                         | ++ |
| S024F-S166D-L217E                                                                                 | ++ |
| T022A-S024R-S166D                                                                                 | ++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-N248D                                                               | ++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-<br>A232V                                               | ++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-<br>G211Q-A232V                                         | ++ |
| S078D-G118S-G159D-N248D-H249R                                                                     | ++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D                                                               | ++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S188D                                                         | ++ |
| S103A-S128N                                                                                       | ++ |
| T022L-S078N-G118R-S166D-T213A                                                                     | ++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209A-T213A-A232V                                   | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V           | ++ |
| S024R-S078D-G118S-S128N-P129E                                                                     | ++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-<br>Q245R-H249R                                               | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-<br>E271F-A272V | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-<br>Q245T-N248D                                         | ++ |
| S024R-T033S-N116L-A158E                                                                           | ++ |
| S130E-N269K                                                                                       | ++ |
| S024R-T033S-N116L-S128I-A158E                                                                     | ++ |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| A016V-G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                               | ++ |
| S099G-S101A-G102A-S103G-V104I                                                 | ++ |
| A016S-T022A-S101A-V104L-S128N-L148I                                           | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-S188D                                           | ++ |
| S259W                                                                         | ++ |
| S259H                                                                         | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| N018D-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-T213A-A232V                         | ++ |
| G020K-S024F-S078N-S166D-T213A                                                 | ++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                                     | ++ |
| S078D-G118D-P129E-G159D-H249R                                                 | ++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-N248D                                           | ++ |
| S024R-N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                               | ++ |
| E271R                                                                         | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D                                     | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-H249R                               | ++ |
| Q012R-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-A232V                               | ++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                               | ++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-                                          | ++ |



|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| S188D-Q245R-H249R                                                             |    |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G118R-S128L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D                                     | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R                   | ++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-H249R                                                 | ++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-S166D                                           | ++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D                               | ++ |
| A016S-S103G-V104L                                                             | ++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-A232V                               | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-N248D                               | ++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S166D                                                 | ++ |
| G020K-T213A-L217E                                                             | ++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R                   | ++ |
| S078N-S166D-T213A-L217E                                                       | ++ |
| S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-H249R                                           | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | ++ |
| G020K-T022L-G118R-L217E                                                       | ++ |
| T022A-V104L-L111V                                                             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-P129E-G159D-                                    | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                       |    |
| S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-N248D                                           | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-N248D                                           | ++ |
| T022L-S078N-L217E                                                                   | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-S188D                                                       | ++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V                               | ++ |
| T022A-N116L-G118R-A158E-S166D                                                       | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R                               | ++ |
| T022A-V104I-S128N                                                                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V                         | ++ |
| S024R-S078G-G118D-Q245R                                                             | ++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-H249R                                           | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-1107V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V       | ++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R                               | ++ |
| T022A-T033S-G118R-A158E-S188D                                                       | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S024R-S166D-S188D                                                             | ++ |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-A232V                               | ++ |
| T022A-T033S-S128I-A158E                                                             | ++ |
| S024R-T033S-N116L-S188D                                                             | ++ |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                               | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | ++ |
| S130D                                                                         | ++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S166D-L217E                                     | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232S-Q245V-N248E                         | ++ |
| S024R-T033S-N116L-S166D-S188D                                                 | ++ |
| S024F-S078N-T213A-L217E                                                       | ++ |
| S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                                           | ++ |
| T022A-S024R-T033S-A158E-S166D-S188D                                           | ++ |
| N116L                                                                         | ++ |
| G020K-T022L-S024F-S166D-T213A-L217E                                           | ++ |
| T022A-N062E-N116L-G118R-S188D                                                 | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D                                                 | ++ |
| G020R-S078G-G118D-Q245R-N248D-H249R                                           | ++ |
| T022A-N116L-G118R-S128I                                                       | ++ |
| T022L-S078N-S166D                                                             | ++ |
| T022L-G118R-S128D                                                             | ++ |
| G097P-S099A                                                                   | ++ |
| T022L-S024F-G118R-S128D                                                       | ++ |
| S242K                                                                         | ++ |
| N062E-S078D-G118S-G159D                                                       | ++ |
| A016S-S103G-S128N-L148I                                                       | ++ |
| G097P-A098Q-S101A                                                             | ++ |
| T022A-S103A-V104L-S128N-L148I                                                 | ++ |

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-<br>T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| S099G-S101G-G102A                                                                 | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245T-N248D                         | ++ |
| G100S-S101G-V104I                                                                 | ++ |
| S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D                                                     | ++ |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-<br>Y209V-G211Q-T213A-A232V             | ++ |
| T022A-S024R-T033S-N116L-A158E                                                     | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | ++ |
| T022A-S024R-N116L-S128I-S166D                                                     | ++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-A232V                                         | ++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-A232V                                         | ++ |
| G020R-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D                                               | ++ |
| G020R-S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D                                               | ++ |
| S024F-S078N-G118R-S128D                                                           | ++ |
| T022L-S024F-S078N-G118R-S166D                                                     | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-Q245R-H249R                         | ++ |
| S103A-V104L-S128N                                                                 | ++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-S128I                                                     | ++ |
| T022A-N062E-N116L-G118R-A158E-S188D                                               | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-<br>S188D-Q245R-H249R                         | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D                                                 | ++ |
| T022A-S103A-L148I                                                                   | ++ |
| T022A-S024R-N116L-S128I-A158E-S188D                                                 | ++ |
| G097P-S099T-S101G-V104I                                                             | ++ |
| S166D-T213A-L217E                                                                   | ++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V                                     | ++ |
| N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                                           | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-G211Q-A232V                         | ++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-S166D-L217E                                           | ++ |
| T033S-S188D                                                                         | ++ |
| T033S-N116L-G118R-A158E                                                             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-V093I-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-Q245R-H249R                                                 | ++ |
| T022A-S024R-A158E-S166D-S188D                                                       | ++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D                                                       | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-S188D                                                 | ++ |
| S099T-G102A                                                                         | ++ |
| S024R-N116L-G118R-A158E-S188D                                                       | ++ |
| T033S-N116L-G118R-S166D                                                             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248H                               | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R                                                 | ++ |
| S078D-G118D-Q245R                                                                   | ++ |
| G020K-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E-A272D                                           | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A016S-T022A-V104L-L111V-L148I                                                       | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245V-N248H                               | ++ |
| N062E-N116L-G118R-S166D                                                             | ++ |
| N062E-S166D                                                                         | ++ |
| T022A-S024R-N062E-G118R-A158E-S188D                                                 | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-A232V                                     | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-Q245R                                                 | ++ |
| S024R-N116L-S128I-A158E-S188D                                                       | ++ |
| S024R-N062E-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                                     | ++ |
| A114T                                                                               | ++ |
| T022L-S024F-S078N-G118R-S128D                                                       | ++ |
| S024R-N116L-G118R-S166D                                                             | ++ |
| N062E-S078G-G118D-P129E                                                             | ++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-A232V                               | ++ |
| G020K-T022L-S078N-S166D                                                             | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R                         | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S101G-S103G                                                                   | ++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-S212L-A232V                   | ++ |

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| S024F-G118R-S166D-T213A                                                     | ++ |
| G100S-S101G                                                                 | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128L-G159D-S188D-<br>T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| A016S-T022A-S103A-V104L-S128N                                               | ++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S166D                                               | ++ |
| S099T-G102A-S103G                                                           | ++ |
| G020K-S024F-S128D-L217E                                                     | ++ |
| S078D-G118D-G159D-H249R                                                     | ++ |
| N062E-S078G-G118D-S188D                                                     | ++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                                   | ++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-N248D                                               | ++ |
| S078G-G118S-G159D-S188D                                                     | ++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-<br>G211Q-T213A-A232V             | ++ |
| G020K-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E                                         | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-P129S-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-<br>L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E                                                     | ++ |
| G020K-S024F-S128D-T213A                                                     | ++ |
| T022A-T033S-A158E-S188D                                                     | ++ |
| G020K-S024F-S128D-S166D-T274A                                               | ++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D-<br>S188D                         | ++ |
| S078G-G118S-P129E-S188D                                                     | ++ |
| T022A-S024R-S128I-A158E-S188D                                               | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024R-G118R-S128I-A158E                                                       | ++ |
| T022A-N116L-S166D                                                                   | ++ |
| G020K-G118R-S128D-S166D                                                             | ++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S128D-L217E                                           | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-N248D                                           | ++ |
| G020K-T022L-G118R-S128D-L217E                                                       | ++ |
| S024F-S078N-G118R-S128D-T213A                                                       | ++ |
| S024R-S078G-G118D-S188D-N248D                                                       | ++ |
| N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                                     | ++ |
| T033S-G118R-S128I-A158E-S166D                                                       | ++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-A232V                                     | ++ |
| T022L-S078N-G118R-S128D-L217E                                                       | ++ |
| S101G-V104I-L111V-S128N                                                             | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T-Q245V-N248E                               | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S128D                                                       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F       | ++ |
| V104I                                                                               | ++ |



|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-P131L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245T-N248E                               | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                         | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V                               | ++ |
| T022A-S024R-T033S-N062E-G118R-A158E-S188D                                           | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-N116L-G118R-S188D                                                             | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-T213A-A232V                                     | ++ |
| T022A-S128I-S188D                                                                   | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D                                                       | ++ |
| S024R-T033S-N116L-S128I-A158E-S188D                                                 | ++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-A232V                               | ++ |
| A016S-S101G-S103G-V104I-L148I                                                       | ++ |
| S024R-T033S-G118R-S166D-S188D                                                       | ++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-T213A-A232V                               | ++ |

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-N062E-N116L-S128I                                                 | ++ |
| A016S-S101G-S103G-V104L-L148I                                           | ++ |
| T022A-N116L-S166D-S188D                                                 | ++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S128D-T213A                                     | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V                         | ++ |
| S099G-G100S-V104L                                                       | ++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R-T253M                               | ++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-A232V                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248E                   | ++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-G159D-S188D-N248D-H249R                         | ++ |
| G118R-S166D-T213A-L217E                                                 | ++ |
| G020K-S024F-S128D                                                       | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V       | ++ |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| G020K-T022L-G118R-S128D-T213A-L217E                                     | ++ |
| S024F-G118R-S128D-T213A                                                 | ++ |
| T022A-S101A-S103A-V104I-S128N                                           | ++ |
| S024R-N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-S103A-S128N-L148I                                                 | ++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D                               | ++ |

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024R-T033S-G118R-S128I-S188D                                                       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V                                           | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T033S-S166D-S188D                                                                         | ++ |
| S078D-G118S-P129E-Q245R-N248D                                                             | ++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S166D-T213A                                                       | ++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S166D-S188D                                                       | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-N248D-H249R                                           | ++ |
| G020K-S078N-G118R-S128D                                                                   | ++ |
| T022A-N062E-S166D                                                                         | ++ |
| P014R                                                                                     | ++ |
| S240D                                                                                     | ++ |
| N155G                                                                                     | ++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-T213A-A232V                         | ++ |
| A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V                               | ++ |
| A016S-T022A-S024F-T033 S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-T213A-A232V                  | ++ |

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V                                     | ++ |
| G118R-S128I-S166D                                                                         | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-M119V-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| S024R-A158E-S188D                                                                         | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| N116L-G118R-S188D                                                                         | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-G118R-S128I-A158E                                                                   | ++ |
| G097P-S101A-V104L                                                                         | ++ |
| S103G-V104I-S128N-L148I                                                                   | ++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D                                                       | ++ |
| V026W                                                                                     | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D                                                       | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-N123S-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | ++ |
| S103G-S128N-L148I                                                                         | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-            | ++ |

N248D-E271F

T022A-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-  
L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-  
H249R ++

S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R ++

T022L-S078N ++

A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-  
Y209V-T213A-A232V ++

G020K-T022L-S128D-T213A ++

N062E-G118R-S128I-S188D ++

S024R-N116L-S128I-S166D-S188D ++

T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129E-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

S024R-T033S-N116L-G118R-A158E ++

T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022L-S024F-S166D-L217E ++

S024R-S078D-G118S-G159D-N248D-H249R ++

T022A-S101Q-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-  
A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-  
S128N-Y209A-A232V ++

S078G-G118D-P129E-Q245R-N248D ++

G020R-S078G-G118D-G159D-N248D ++

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| G020K-T022L-G118R-S128D-S166D                                                                   | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248D                                           | ++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-H249R                                                       | ++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                                                 | ++ |
| S024R-N062E-N076D-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R                                                 | ++ |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S128I-A158E                                                             | ++ |
| A098Q-S099T-S101A-V104L                                                                         | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| S099G-G102A                                                                                     | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F                         | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F-T274A | ++ |
| A016S-V104I-L148I                                                                   | ++ |
| G097P-S101A-S103A                                                                   | ++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S166D                                                       | ++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D                                           | ++ |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-T213A-A232V                   | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-N248D                                                       | ++ |
| G020R-S078D-G118S                                                                   | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| G097P-S101G-S103A-V104I                                                             | ++ |
| G020K-T022L-S166D-T213A-L217E                                                       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F                   | ++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| A016S-S101A-S103A-S128N                                                             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A098Q-S099T-G102A-S103A                                                                           | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | ++ |
| S078N-G118R-H120N-S128D-S166D                                                                     | ++ |
| S101G-S103G-L148I                                                                                 | ++ |
| T022A-S024R-T033S-A158E-S166D                                                                     | ++ |
| N116L-G118R-S166D                                                                                 | ++ |
| T022A-N062E-N116L-S166D                                                                           | ++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-M222S-<br>A232V-Q245R                                         | ++ |
| T022A-S101G-V104L-L148I                                                                           | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-Q245V-<br>N248D                                               | ++ |
| S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-<br>M222S-A232V-Q245R                                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F           | ++ |
| N116L-G118R                                                                                       | ++ |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-<br>G211Q-T213A-A232V                                   | ++ |
| T022L-G118R-S166D-T213A                                                                           | ++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-<br>A232V                                               | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F                 | ++ |
| T022A-S101G-S103G-V104L-L148I                                                                     | ++ |



|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S024R-S078G-G118D-S188D                                                                           | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-<br>N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V                 | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-S216G-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F           | ++ |
| S024R-N116L-S128I                                                                                 | ++ |
| P086T-G097P-S099T-S103A-V104I                                                                     | ++ |
| A098F-G102A                                                                                       | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-S128A-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | ++ |
| N062E-S078G-G118D-G159D-N248D                                                                     | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101G-S103A-<br>V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | ++ |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209V-G211Q-A232V                             | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-H249R                                                                     | ++ |
| G020K-S078N-G118R-S166D-T213A                                                                     | ++ |
| G020K-T022L-S024F-G118R                                                                           | ++ |
| S024R-S101A-S103A-V104I-P210I-A232V-Q245R                                                         | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | ++ |
| G097P-A098Q-S099G-S103A                                                                           | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | ++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-                                                        | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                 |    |
| G020K-G118R-S128D-L217E                                                             | ++ |
| A098F-S099T-G102A-S103A                                                             | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| G020R-S078D-G118S-Q245R                                                             | ++ |
| A098Q-S099T-S101A-S103A-V104L                                                       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| G020K-S024F-S078N-S128D-T213A-L217E                                                 | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| G020R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                                                 | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248E                               | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-A098E-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-                                          | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A232V-Q245R-N248D-E271F                                                             |    |
| G020K-T022L-S078N-S166D-T213A                                                       | ++ |
| S101G-S103A-V104L-S128N                                                             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128L-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245T-N248D                               | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| S099G-G100S                                                                         | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D-H249R                                     | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N116L-A158E-S188D                                                             | ++ |
| S099A-G102A-V104L                                                                   | ++ |
| T033S-N116L-A158E-A272D                                                             | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248E                               | ++ |
| S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-G211Q-A232V                                     | ++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-T213A-L217E                                           | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-                                          | ++ |

S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F  
 T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-S166D-S188D ++  
 T022L-S024F-G118R-S166D-T213A ++  
 T022A-S103A-V104I-L111V-S128N ++  
 T022A-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-P129S-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-  
 V244A-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V ++  
 T022A-T033S-N116L-G118R-S128I ++  
 T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101G-  
 S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-  
 N248D-E271F ++  
 S024R-S078G-G118S-T180N-Q245R-N248D ++  
 S099G-S103G-V104I ++  
 T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-  
 A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 N062E-N116L-A158E ++  
 T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
 T022L-S024F-S078N-S166D-T213A-L217E ++  
 T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V- ++

Q245R-N248D-E271F

T022A-S101N-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-  
A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-1107V-  
P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-  
A270V-E271F ++

S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D ++

A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  
G2110-A232V ++

T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V ++

T022A-S024G-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-  
G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-N062Q-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-  
L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

S024R-N062E-A158E-S166D-S188D ++

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-  
Q245V-N248E ++

N062E-N116L-G118R-S128I ++

T033S-N062E-N116L-G118R-A158E-S166D ++

G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-  
Q245R-H249R ++

T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

G020K-S166D-T213A ++

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T033S-N116L-G118R-A158E-S166D-S188D                                                       | ++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-N248D                                                       | ++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-G159D-N248D                                                       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022L-S024F-S078N-S166D-T213A                                                             | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-S188D-H249R                                                       | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| A016S-T022A-V104I-L111V                                                                   | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V                                           | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-N062E-N116L-G118R                                                                   | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| A016S-T022A-S101G-V104I-L111V-L148I                                                       | ++ |
| S024R-N116L-S128I-A158E                                                                   | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-A232V                                           | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V       | ++ |
| N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-K235R-                                                      | ++ |

## Q245R

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S103G-V104I-S128N-L148I                                                       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V                         | ++ |
| S024F-G118R-S128D                                                                   | ++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R                                                 | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T033S-S166D                                                                         | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| AI14L                                                                               | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-                                                | ++ |

K237E-N248D-H249R

G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-T213A-L217E ++

A016S-S101A-S103A-V104L-S128N-L148I ++

T022A-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-  
S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-P129S-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-P129E-  
G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  
A232V ++

T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-  
P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S024R-T033S-G118R-S188D ++

T022A-T033S-N116L-G118R-S128I-S188D ++

T022A-S024R-T033S-S128I-A158E-S188D ++

T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-  
L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

A016S-T022A-S103A-L148I ++

T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-  
S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

N018S-T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++



|                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                             | ++ |
| V104L-L111V                                                                                             | ++ |
| T066V                                                                                                   | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129S-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-<br>V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| S099T-S101A-S103G                                                                                       | ++ |
| T253L                                                                                                   | ++ |
| N076D-S101A-S103A-V104I-P210I-M222S-A232V-<br>Q245R                                                     | ++ |
| S099G-S101A-G102A                                                                                       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V                       | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R                                                                           | ++ |
| T022A-S103G-V104L-S128N                                                                                 | ++ |
| S024R-N116L-G118R                                                                                       | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-1107V-N123S-<br>P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-<br>N248D-A270V-E271F | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-                                                              | ++ |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                        |    |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S 101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V  | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F        | ++ |
| T033S-N062E                                                                                | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                    | ++ |
| A098Q-S099A-G102A                                                                          | ++ |
| G118R-S128I-A158E-S188D                                                                    | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F        | ++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| T022A-S103A-V104L-S128N                                                                    | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                    | ++ |
| T022A-T033S-A158E                                                                          | ++ |
| S024R-S188D                                                                                | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-Q245V-N248H-E271T                                | ++ |
| S024R-T033S-N062E                                                                          | ++ |
| S024R-T033S-S166D                                                                          | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024R-N062E-A158E-S166D-S188D                                                 | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| S024R-S101A-S103A-V104I-S188D-P210I-M222S-A232V-Q245R                               | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022L-G118R-S128D-T213A                                                             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248E                               | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| S056G                                                                               | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D-H249R                               | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| S024R-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-H249R                                           | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-R275H       | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S024G-R045S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N062D-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V             | ++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-Q245R-H249R                                           | ++ |
| T022A-S101G-S103A-S128N                                                             | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-N248D-H249R                                           | ++ |
| N116L-G118R-P129E-S188D                                                             | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D                                                 | ++ |
| T022A-T033S-G118R-S166D-S188D                                                       | ++ |
| S078G-G118D-P129E-G159D-S188D                                                       | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | ++ |
| T022A-S103A-V104I-L111V                                                             | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-A085T-S101G-103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| T022A-S024G-S078N-E089G-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-                                          | ++ |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                              |    |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                    | ++ |
| S101G-S103A                                                                                | ++ |
| L196S                                                                                      | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S 101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                    | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S 101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                          | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| E271S                                                                                      | ++ |
| A098Q-S099T-G100S-S101A                                                                    | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F  | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F              | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                    | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                          | ++ |

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| R019H-T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022L-S078N-S166D-T213A                                                                   | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-Q245R-N248D                                                       | ++ |
| N269K                                                                                     | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| G097P-V139A                                                                               | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-A232V                                     | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                                                 | ++ |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| N062E-S078D-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R                                                       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| S128I-S188D                                                                                     | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S166D-L217E                                                                                     | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| A098Q-S099G-S101A                                                                               | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V                   | ++ |
| T022A-V068A-S101G-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129E-G159D-                                                      | ++ |



|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                             |    |
| S128I-A158E-S166D                                                                         | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D                                                                   | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S024F-S078N-G118R-N204K-T213A-L217E                                                       | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-N248D                                                       | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| G097P-S099G-S101G-V104I                                                                   | ++ |
| S024R-N062E-S078D-G118D-N248D                                                             | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| S128I                                                                                     | ++ |
| G020K-T022L-S128D-T213A-L217E                                                             | ++ |
| G020K-G118R-S166D-T213A                                                                   | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A016S-T022A-L111V                                                                   | ++ |
| S078D-G118D-P129E-N248D-H249R                                                       | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S024R-S128I-A158E-S166D-A194T                                                       | ++ |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V       | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| G020R-S078D-G118D-P129E-S188D                                                       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I                                                             | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-R186H-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| G020K-S024F-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A                                           | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-S188D                                                 | ++ |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T033S-N116L-G118R-S128I-S166D                                                       | ++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-                                          | ++ |

A232V

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022L-S024F-S078N-G118R-T213A-L217E                                                 | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-S188D                                                       | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118D-G159D-Q245R-H249R                                           | ++ |
| T022A-G097S-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024R-T033 S-N062E-N116L-S166D-S188D                                          | ++ |
| G020R-S078G-G118S-S188D-Q245R-N248D-H249R                                           | ++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| G020R-N062E-S078G-G118D-Q245R-N248D-H249R                                           | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |

|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S078N-S101G-S103A-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S166D-T213A                                                       | ++ |
| A085T-G097P-A098Q                                                                         | ++ |
| N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R                                           | ++ |
| T022A-S024G-N076S-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| Q012R-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                                     | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| N116L-A158E-S166D-S188D                                                                   | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| S024R-T033S-S128I-A158E                                                                   | ++ |
| S024R-N116L-G118R-S128I-S188D                                                             | ++ |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| N062E-S078D-G118D-S188D-H249R                                                       | ++ |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D                                           | ++ |
| G020K-T022L-S078D-G118D-P129E-N248D-H249R                                           | ++ |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245V-N248D                               | ++ |
| N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R                                                 | ++ |
| S024R-N062E-G118R-S128I-A158E-S188D                                                 | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| G020K-T022L-S078N-S128D-L217E                                                       | ++ |
| T022A-N062E-N116L-A158E-S188D                                                       | ++ |
| T022A-S101A-V104I-L111V                                                             | ++ |
| S166D-T213A                                                                         | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022L-S024F-S166D-T213A                                                             | ++ |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F | ++ |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| S024R-S128I-A158E-S166D                                                                         | ++ |
| N062E-S078D-G118S-N248D-H249R                                                                   | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022L-S024F-S078N-S166D                                                                         | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                         | ++ |
| S078D-G118S-P129E-N243D-H249R                                                                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | ++ |
| T022A-S024R-N062E-G118R                                                                         | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                         | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S024R-S078G-G118S-Q245R                                                                         | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272T             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |

T022A-S024G-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-  
 P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 S078N-SI66D-L217E ++  
  
 T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-  
 G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-  
 A270V-E271F-A272V ++  
  
 Q236L ++  
  
 S078D-G118D-P129E-H249R ++  
  
 T022A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-  
 Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-S101A-S103A-V104I-L111V ++  
  
 T022L-S024F-S078N-S128D-T213A ++  
  
 T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-  
 S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 G020K-S024F-S078N-G118R-S128D-L217E ++  
  
 T022A-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-A232V-  
 Q245R-N248D-E271F-A272V ++  
  
 T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-S024G-S078N-S101G-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-P129E-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++  
  
 T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-  
 G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V ++

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| G020K-S128D-T213A-L217E                                                                           | ++ |
| S103A-V104I-L111V-S128N                                                                           | ++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F           | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V           | ++ |
| V104I-L111V                                                                                       | ++ |
| T022A-N062Q-S101Q-S103A-V104I-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| A016S-S101A-L111V-S128N                                                                           | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101G-<br>S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232L-<br>Q245V-N248E                                         | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F           | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-<br>Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-<br>E271F       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                             | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128L-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F-A272D                       | ++ |



|                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V                               | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-G211Q-A232V                                           | ++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-H249R                                                 | ++ |
| T022A-S103G-S128N-L148I                                                                   | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-N248D                                                             | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232S-Q245V-N248D-E271T                               | ++ |
| S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D                                                             | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| G118R-S128D-S166D-L217E                                                             | ++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-Q245R-H249R                                                 | ++ |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V                         | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-R145K-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | ++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | ++ |
| T022L-S078N-T213A                                                                   | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | ++ |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R-H249R                                           | ++ |
| A016S-S101G-V104I-S128N-L148I                                                       | ++ |
| T022A-G118R-S188D                                                                   | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | ++ |
| G020K-S024F-G118R-S128D-T213A                                                       | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-                                          | ++ |

A232V-Q245R-N248D-E271F

G020K-T022L-S024F-S078N-S128D-T213A-L217E ++

T022A-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-

Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-

N248D-E271F ++

A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-

A232V ++

T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-

G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-

G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

S099G-G100S-S103A ++

T022Q-S101G-S103A-V104I-S166D-S188E-A232T-

Q245T-N248E ++

T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-

S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-

N248D-E271F ++

A098F-S099T-S103A-V104I ++

G020K-T022L-N062E-S078D-G118D-P129E-

Q245R-N248D ++

T022L-S078N-G118R-S128D ++

T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-G211Q-

T213A-A232V ++

T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-S128A-P129S-

G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

G023A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-

A232V ++

T022A-S024R-N116L-G118R-S166D ++

S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-G159D- ++

Q245R-N248D-H249R

G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S128D-T213A ++

T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101Q-  
S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-  
N248D-E271F ++

T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-T274I ++

G097P-S099A-V104L ++

G097P-S099A-S103A ++

T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-V104L-L148I ++

T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-  
G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159S-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F ++

S103G ++

T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-  
Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-  
E271F ++

T022A-S024G-N076D-G097S-S101G-S103A-  
V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-  
N248D-E271F +

G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-T213A +

S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-  
H249R +

T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-  
L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +

T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D- +

L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F  
 T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-  
 A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T033S-G118R-S128I-A158E +  
 T022A-S103A-L111V-L148I +  
 T022A-N076D-A085T-S101G-S103A-V104I-P129E-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020K-T022L-S078N-S128D-T213A-L217E +  
 T022A-T033S-P129E-S166D +  
 T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020K-S078N-S166D-T213A +  
 T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129S-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
 Q245T-N248D +  
 A158E-S166D-S188D +  
 L021 S-T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-  
 S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-  
 N248D-E271F +  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A- +

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                                     |   |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F             | + |
| T022A-T033S-N062E-N116L-S188D                                                       | + |
| T022A-S024G-S049N-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| G097P-A098Q-S099A-S103G-V104I                                                       | + |
| G020K-S024F-G118R-S128D-S166D                                                       | + |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024R-T033S-G118R-S166D                                                       | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F | + |
| N062E-S078D-G118S-P129E-N248D-H249R                                                 | + |
| T022A-S024G-V026I-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G097P-A098Q-S099A-S101A                                                             | + |
| S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-H249R                                                 | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q236R-Q245R-N248D                   | + |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |

T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
 S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V +  
 T022A-N076D-N077D-S078N-G097S-S101N-  
 S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-  
 N248D-E271F +  
 T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-  
 A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F +  
 S099G-S101A-G102A-S103A +  
 A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-  
 S128N-Y209V-T213A-A232V +  
 T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-Q245R +  
 S056C +  
 S024R-T033S-N062E-N116L +  
 T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-  
 T213A-A232V +  
 A098Q-S099A-G100S-S101G-V104I +  
 T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V +  
 T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-  
 S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-L090I-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D- +

S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F  
 G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-  
 S188D-N248D-H249R +  
 A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-  
 Y209V-T213A-A232V +  
 G020R-S078G-G118D-N248D-H249R +  
 T022A-N062Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-  
 A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 S024R-N062E-N116L-A158E-S166D-S188D +  
 T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-  
 A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F +  
 T022A-N062Q-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-  
 Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101N-  
 S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-  
 E271F +  
 T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024R-N116L-G118R +  
 T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-S128I-  
 A158E-S188D +  
 T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-  
 S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +



T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-  
 S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 S024R-T033S-N062E-N116L-S128I-S188D +  
 T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-  
 V1041-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 S240V +  
 N062E-G118R +  
 T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-  
 Q245T-N248E +  
 S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-  
 Q245R-N248D +  
 A016S-S103A-V104I +  
 A088P +  
 T022A-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-  
 L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-  
 L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G097P-A098F-V104L +  
 T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020K-T022L-S128D +  
 T022A-S024G-S101G-S103A-V1041-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-  
 G159D-S188D-N248D-H249R +  
 S024F-S078N-G118R-L217E +  
 T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I- +

S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F  
 T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V +  
 S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S188D +  
 G118R-S128D-S166D-T213A +  
 T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128L-  
 G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-  
 G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109N-  
 S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-S128A-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 G020R-S078G-G118S-S188D-H249R +  
 T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-G159D-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +  
 T022A-S101A-S103A +  
 T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-  
 S188D-A232V-Q245R-N248D +  
 S024R-S078D-G118D-S188D-N248D-H249R +  
 S099A-V104I +  
 T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-  
 S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S024R-S078G-G118D-G159D-N248D                                                             | + |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| S078G-G118D-P129E                                                                         | + |
| S212W                                                                                     | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S101G-V104L                                                                               | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-N117S-<br>Y209A-G211Q-T213A-A232V                   | + |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-G211Q-<br>A232V                                     | + |
| T022A-N062E-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S024F-T213A                                                                             | + |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-<br>Q245R-H249R                                     | + |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S078N-G097A-S099G-S101G-S103A-V104I-<br>S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>L217Q-N218S-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109G-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-Q245R                                                           | + |
| T022A-S078N-I079V-S101N-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024R-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D                                               | + |
| S078G-G118D-S188D                                                                       | + |
| G097P-A098Q-S099G-G102A                                                                 | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S099A-S103G                                                                               | + |
| S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                                                             | + |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024R-N116L-S128I-A158E-S166D-S188D                                                 | + |
| A016S-T022A-S101A-S103G-V104I                                                             | + |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-R186H-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-S128I-S188D                                                 | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022L-S078N-G118R-S128D-T213A                                                             | + |
| T022A-N076D-G097A-A098T-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S103A-V104L                                                                               | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R                                                 | + |
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-N248D                                                 | + |
| T022A-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-S024R-G061W-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020R-N062E-S078D-G118S-S188D-N248D                                                       | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| G100S-V104I                                                                               | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G097P-A098F-S103A                                                                         | + |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| S024F-S078N-G118R-S128D-L217E                                                             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S024R-T033S-N116L-S128I-A158E-S166D                                                       | + |
| T022L-S024F-S128D                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104L                                                                   | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022L-S024F-S078N                                                                         | + |
| T022A-N062E-A158E-S188D                                                                   | + |
| G020K-T022L-S166D-T213A                                                                   | + |
| T022A-S024G-T071A-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-L148I                                                       | + |
| S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D-H249R                                                       | + |
| G020K-T022L-S128D-S166D                                                                   | + |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N062E-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-Q245R-H249R                                                 | + |
| G020R-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D                                                       | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S128D-S166D                                                 | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T255G                                                                                     | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T033S-G118R                                                                               | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F       | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S024R-T033S-N062E-G118R-S166D-S188D                                                       | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-H249R                                     | + |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| A098Q-G102A                                                                               | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F | + |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S024R-N116L                                                                               | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020K-S078N-S128D                                                                         | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-T213A-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |



|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S024R-T033S-N062E-N116L-S166D                                                       | + |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V                                     | + |
| G020K-S024F-S078N-S128D-S166D                                                       | + |
| G025A                                                                               | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G097P-S099T-V104I                                                                   | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R                                     | + |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| D041K                                                                               | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| A016S-T022A-S101A-V104I-L111V-L148I                                                       | + |
| A016S-T022A-S101A-V104L-L111V                                                             | + |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S078G-G118S-S188D-N248D                                                                   | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S128D                                                             | + |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-T213A                                                       | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S024F-S128D                                                                               | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V-T274A             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                     | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |

|                                                                                                         |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G020K-T022L-N062E-S078D-G118S-N248D                                                                     | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-<br>G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-<br>A270V-E271F       | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-<br>T213A-A232V                                               | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101Q-<br>S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N062E-N116L                                                                                       | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-<br>T213A-A232V                                               | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F                       | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-<br>N248D                                                           | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                             | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R-A270V                                               | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F-A272V                                   | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S099T                                                                               | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| A098F-S099T-G102A                                                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245T-N248D                               | + |
| D041L                                                                               | + |
| S024R-N062E-S128I-A158E-S188D                                                       | + |
| N062E-S078D-G118D-N248D-H249R                                                       | + |
| G020K-S024F-G118R-T213A                                                             | + |
| S101G-S103G-V104I-S128N                                                             | + |
| S078N-G118R-S128D-T213A-L217E                                                       | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N076D-G097S-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S078G-G118S-G159D-N248D                                                             | + |
| T033S-A158E                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S024R-T033S-S128I-S166D-S188D                                                 | + |
| A158E-S188D                                                                         | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S024R-N076S-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                   | + |
| S024R-G118R-S128I-S166D                                                                         | + |
| T033S-N116L-G118R-S128I-S188D                                                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V                         | + |
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-V139I-S188D                                                       | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                                                 | + |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N062Q-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| S101A-S103G                                                                                     | + |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-T213A-A232V                               | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                                                       | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D                                     | + |
| A108V-S128D-T213A                                                                   | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F             | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-A232V                                     | + |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-I107V-N116A-Y209V-T213A-A232V                         | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S024R-T033S-N116L-S128I-S166D-S188D                                                 | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A098Q-S099G-G102A                                                                   | + |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022L-G118R-S166D                                                                         | + |
| V011M-S024R-T033S-S128I-S166D                                                             | + |
| G020K-S078N-S128D-L217E                                                                   | + |
| V004M                                                                                     | + |
| N062E-N116L-G118R-S128I-S166D                                                             | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D-H249R                                     | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | + |
| T022A-T033S-N116L-S166D-S188D                                                             | + |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T033S                                                                                     | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G118R-T213A                                                                               | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| S024R-N116L-S188D                                                                         | + |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245V-N248E                                     | + |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-                                                | + |

G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F

T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

G097P-S099T-S101A-V104L +

T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F +

T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V +

G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D-H249R +

T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F +

L021F-T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +

N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D +

A098Q-S101A-S103A-V104L +

T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

N062E-G118R-A158E-S166D-S188D +

T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +

N116L-S128I +

T022A-N062E-S128I +

T022A-S024R-T033S-N116L-S128I-A158E-S188D +

T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +



|                                                                                                    |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T033S-N116L-A158E-S166D-S188D                                                                      | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S 101N-S103A-V104I-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | + |
| T022A-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                        | + |
| T022L-S078N-G118R-S128D-T213A-L217E                                                                | + |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209A-G211Q-A232V                                    | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                        | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V            | + |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F            | + |
| G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-S166D-L217E                                                          | + |
| N062E-G118R-S128I-A158E-S188D                                                                      | + |
| T022A-S024F-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-<br>A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V            | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F            | + |
| G097P-A098Q-S099T-S103G                                                                            | + |
| G097P-A098Q-S099T-S103A-V104I                                                                      | + |
| N062E-S078D-G 118S-S188D                                                                           | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V            | + |
| T134C                                                                                              | + |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-N248D                                                                | + |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-G211Q-                                                         | + |

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T213A-A232V                                                                             |   |
| T022A-S024R-T033S-N116L-A158E-S166D-S188D                                               | + |
| A016S-S101G-S103A                                                                       | + |
| A016S-S103G-V104I-L111V                                                                 | + |
| A098F-G100S                                                                             | + |
| S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R                                                           | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S078G-G118S-N248D-H249R                                                                 | + |
| T022L-S078N-A122V-S128D                                                                 | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S024F-S078N                                                                             | + |
| A016S-S101G-V104I-L111V-S128N                                                           | + |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-<br>Y209A-A232V                               | + |
| G097P-S099G-G100S                                                                       | + |
| A098Q-S099G-G100S-V104L                                                                 | + |
| S024R-S078D-G118S-L126I-P129E-N248D-H249R                                               | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G097P-A098Q-S103A                                                                       | + |
| S099A-S101A-S103A                                                                       | + |
| A016S-T022A-S101G-S103G-V104I-S128N                                                     | + |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G020K-S024F-G118R-S166D-T213A                                                                   | + |
| S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R-H249R                                                             | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| N116L-S128I-S166D                                                                               | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S160P-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T033S-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                                       | + |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| R019S-T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020K-S024F-S078N-S166D                                                                         | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-T213A-A232V                                     | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-A232V                                           | + |

|                                            |   |
|--------------------------------------------|---|
| G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-S166D-T213A  | + |
| T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-S128A- |   |
| G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F        | + |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G- |   |
| S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-       |   |
| N248D-E271F                                | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D- |   |
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I- |   |
| P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-       |   |
| N248D-E271F                                | + |
| S024R-T033S-S128I-S166D-S188D              | + |
| A098Q-S099A-G100S                          | + |
| S024R-T033S-N062E-N116L-A158E-S188D        | + |
| G020R-S078D-G118D-P129E-N248D-H249R        | + |
| T022A-S024R-N062E-N116L-S128I-S166D-S188D  | + |
| A098Q-S099G-S101G-V104L                    | + |
| A098F-S099A-V104I                          | + |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232T- |   |
| Q245T-N248E-E271F                          | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E- |   |
| G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V  | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E- |   |
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V        | + |
| S024F-G118R-S128D-S166D-A272V              | + |
| S099T-G100S-S103A-V104I                    | + |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-       |   |
| A232T-Q245T-N248E                          | + |
| S128D-T213A-L217E                          | + |

|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-T033S-N116L-S128I-S166D-S188D                                                               | + |
| T022L-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A                                                               | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-<br>A232V-S240F-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| S078N-G118R-S128D-L217E                                                                           | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V           | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F           | + |
| T022L-S024F-T213A                                                                                 | + |
| G097P-A098Q-S103A-V104L                                                                           | + |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-<br>S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F           | + |
| G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                                                     | + |
| T022A-N116L-S128I-A158E                                                                           | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>Y209V-T213A-A232V-A272D                             | + |
| T022A-G118R-A158E-S166D-S188D                                                                     | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                       | + |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-<br>Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                 | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| H039C                                                                                             | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-                                                        | + |

A232V

A016S-V104L-S128N-L148I +

A098F-S101G-V104I +

T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-Q109G-  
S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-  
Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-  
E271F +

T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-  
G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-  
A270V-E271F-A272V +

T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-  
S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F +

S078D-G118S-P129E +

A098Q-S103G-V104I +

A098F-S099T-S101G-G102A +

T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-  
G211Q-T213A-A232V +

T022A-N062E-S101N-S103A-V104I-P129E-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D +

S056H +

T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-  
G211Q-A232V +

G097P-A098Q-S101A-S103A-V104L +

T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-S128A-<br>P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-S166D-<br>S188D                                     | + |
| S024R-T033S-N062E-N116L-A158E-S166D                                                     | + |
| A098Q-S099T-V104L                                                                       | + |
| S099T-G102A-S103A                                                                       | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| N062E-S078D-G118D-G159D                                                                 | + |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-<br>S188D                                           | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109N-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S078D-G118D-H249R                                                                       | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-G097S-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124T-P129S-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                                               | + |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| S099G-S103A                                                                             | + |
| T022A-N062E-G097A-S101N-S103A-V104I-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |

|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G020R-S024R-S078G-G118D-N238D-N248D                                                               | + |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-<br>E271F-T274A | + |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                                                               | + |
| G097P-A098F-V104I                                                                                 | + |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-S188D-<br>Q245R-N248D                                               | + |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-<br>Q109G-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F       | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V04I-Q109G-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F  | + |
| F050S                                                                                             | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-S128N                                                               | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-L124V-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| S101A-V104I-L111V                                                                                 | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F                                   | + |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209A-A232V                                         | + |
| A098Q-S099T-G102A-S103G-V104I                                                                     | + |
| T022A-T033S-G118R-S128I-S188D                                                                     | + |
| S024R-N062E-S078G-G118S-Q245R                                                                     | + |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-                                                        | + |



|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                             |   |
| T022L-S024F-S128D-T213A                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | + |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-T213A-A232V                               | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F                   | + |
| G020K-T022L-S078N-S128D-A133V-T213A                                                             | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-G118R-S128I-S166D                                                                         | + |
| T022A-T033S-A158E-S166D                                                                         | + |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-N248D                                                                   | + |
| A098F-S099A-S103G                                                                               | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| G097P-S099T-S103A-V104L                                                                         | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-1107V-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| S024F-S128D-T213A                                                                               | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| S099A-G102A-V104I                                                                               | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-                                                      | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                 |   |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-I107V-N116A-Y209A-G211Q-T213A-A232V                         | + |
| G097P-S099A-S101A                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                               | + |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-Q245R-N248D-H249R                                           | + |
| G118R                                                                                     | + |
| S078N-G118R-S128D-T213A                                                                   | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S024R-N062E-S128I-A158E-S166D                                                       | + |
| S128D                                                                                     | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| T033S-N116L-S128I-S188D                                                                   | + |
| T022L-S024F-G118R-S128D-S166D-T213A-L217E                                                 | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-                                                | + |

|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F                                         |   |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-G159D-S188D-<br>L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| A016S-S101G-S103A-L148I                                                                           | + |
| S024R-S078G-G118D-N248D-H249R                                                                     | + |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-<br>S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F           | + |
| P055R                                                                                             | + |
| T022A-S024G-G025S-G097S-S101N-S103A-V104I-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124T-P129S-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| S078G-G118D-G159D-Q245R                                                                           | + |
| T022A                                                                                             | + |
| A016S-T022A-S101A-S103A-V104I-L111V                                                               | + |
| S078G-G118S-S188D-Q245R-H249R                                                                     | + |
| A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V                       | + |
| S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-N248D                                                               | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-A133V-<br>Y209A-G211Q-T213A-A232V                             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F-A272V                             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| T022L-S128D                                                                                       | + |
| T022A-T033S-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D                                                         | + |

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022L-G118R-S128D-T213A-L217E                                                           | + |
| T022A-N043R-N076D-S078P-S101G-S103A-V104I-<br>A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G097P-A098F-S101A                                                                       | + |
| Q002F                                                                                   | + |
| G097P-A098Q-S099A                                                                       | + |
| S024R-T033S-N062E-S166D-S188D                                                           | + |
| G020K-S078N-S128D-T213A                                                                 | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-L126I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G020R-N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-<br>S188D-N238S                                     | + |
| G097P-S099T-S103G-V104I                                                                 | + |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| D181C                                                                                   | + |
| G020K-G118R-S128D                                                                       | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-S128A-P129E-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124T-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022L-S078N-S128D-T213A-L217E-A272D                                                     | + |
| S099T-G102A-V104I                                                                       | + |

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S128I-S166D                                                                             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| G020R-S078D-G118S-Q245R-H249R                                                           | + |
| G097P-S099T-G100S                                                                       | + |
| G097P-S099G                                                                             | + |
| G020K-S024F-S078N-S128D-S166D-T213A                                                     | + |
| A098Q-S101A-G102A-S103A                                                                 | + |
| S024R                                                                                   | + |
| S024R-N116L-G118R-S128I                                                                 | + |
| T022A-S101G-S103G-V104I-S128N                                                           | + |
| T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-S153A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F       | + |
| S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-<br>H249R                                           | + |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| G020K-T022L-S024F                                                                       | + |
| G020K-T022L-S078N-S128D-T213A                                                           | + |
| S078G-G118D-P129E-S188D                                                                 | + |
| T022A-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A016S-S103G-V104L-S128N-L135I                                                           | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-                                              | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F                                                             |   |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209V-A232V                                                 | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| A016S-S103G-V104I-S128N-L148I                                                             | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F | + |
| G025S                                                                                     | + |
| G020R-S078D-G118D-G159D-S188D-N248D-H249R                                                 | + |
| S099T-S101G-G102A-S103A                                                                   | + |
| T033S-N116L-S188D                                                                         | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                         | + |
| G097P-A098Q-S103A-V104I                                                                   | + |
| T022A-N062E-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | + |
| N062E-N116L-S128I-A158E                                                                   | + |
| A016S-T022A-S103G-V104L                                                                   | + |
| T022A-T033S-N116L-S128I                                                                   | + |
| T022L-S024F-N043H-G118R-S128D-S166D                                                       | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| S101G-S103G-V104L                                                                         | + |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                                     | + |
| S099A-G100S-V104I                                                                         | + |

|                                                                                                         |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G097P-A098Q-S099G-S101A                                                                                 | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-<br>Q245R-H249R                                                     | + |
| A016S-S103G-V104I-S128N                                                                                 | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-<br>S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| G118R-S128D-L217E                                                                                       | + |
| S132H                                                                                                   | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V                             | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-<br>G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| S024R-S078D-G118D-S188D                                                                                 | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-<br>S188D-A215V-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                 | + |
| S024F-S078N-G118R                                                                                       | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                             | + |
| A016S-T022A-S101A-V104I                                                                                 | + |
| T022A-S166D-S188D                                                                                       | + |
| S078N-G118R-S128D-S166D-T213A                                                                           | + |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-<br>Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                                   | + |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-G159D-                                                                    | + |

S188D-N248D

G097P-S099T-S101A-S103G-V104I +

T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-  
V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

A016S-T022A-S101A-S103G-V104L-S128N +

G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-  
Q245R-H249R +

G020R-S078G-G118D +

G020R-S078G-G118S +

Q012Y-N018G +

T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-  
V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-  
N248D-E271F +

T033S-N062E-G118R-A158E-S166D +

T022A-N076D-A088V-S101Q-S103A-V104I-G159D-  
S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

G097P-A098Q-S099A-V104I +

S024R-N062E-N116L-S128I-S166D-S188D +

T022A-T033S-N116L-A158E +

T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-  
A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V +

T033S-N062E-N116L-A158E +

S024R-S078G-G118D-H249R +

T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-  
G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F +

T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-  
Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-  
E271F +

T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129E-G159D- +



|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                       |   |
| G020R-S078D-G118D-Q245R-H249R                                                       | + |
| G097P-S099G-V104L                                                                   | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| A016S-T022A-S101G-V104I-S128N-L148I                                                 | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| N062E-A158E-S188D                                                                   | + |
| T022A-N076D-S078N-S099R-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A016S-T022A-S103G-V104I-L148I                                                       | + |
| S024R-T033S-N116L-A158E-S166D-S188D                                                 | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-G118V-Y209A-T213A-A232V                               | + |
| G020R-N062E-S078D-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R                                     | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A                                     | + |
| T022A-S024R-T033S-N116L-S128I-S166D-S188D                                           | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| T022A-T033S-S101S-S103A-V104I-S128L-G159D-                                          | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F                                                       |   |
| T022A-T033S-S128I-S166D                                                                   | + |
| G097P-A098Q-S099T-S101G                                                                   | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| T022A-S024R-G118R                                                                         | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-V149I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A098Q-S101G-G102A-S103A-V104I                                                             | + |
| S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-N248D                                                       | + |
| G020K-S078N-S128D-S166D-T213A                                                             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| G097P-A098Q-S099T-S103A                                                                   | + |
| G020K-T022L-S024F-S128D-L217E                                                             | + |
| A098Q-G100S                                                                               | + |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-A232V                                     | + |
| A016S-S101A-L148I                                                                         | + |
| A016S-S101G-V104I                                                                         | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F             | + |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| V0301-S099T-G100S                                                                         | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S078D-G118S-P129E-Q245R-H249R                                                             | + |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-S128N-Y209V-A232V                                           | + |
| T022A-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| G020R-S078D-G118S-P129E-S188D-N248D                                                       | + |
| T022A-S024R-N062E-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                           | + |
| T022A-T033S-N062E-G118R-S128I                                                             | + |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G020R-S024R-S101A-S103N-V104I-G118S-P129E-Q245R                                           | + |
| S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R                                                             | + |
| G020R-S078D-G118D-S188D-Q245R-H249R                                                       | + |
| T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| N062E-S078D-G118D                                                                         | + |
| N062E-S078D-G118S-N248D                                                                   | + |
| T022A-S024R-T033S-N062E-G118R-S128I-S166D                                                 | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S056R                                                                                     | + |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R                               | + |
| G097P-A098Q-S099T-V104M                                                                   | + |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G097P-A098Q-S099T                                                                   | + |
| S128D-T213A                                                                         | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R                                           | + |
| T022A-V068A-S068G-S103A-V104I-G118R-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020K-T022L-S024F-G118R-T213A                                                       | + |
| S099G-S101G-G102A-S103A-V104I                                                       | + |
| S099A-G100S-S101A                                                                   | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| V104I-L111V-S128N-L148I                                                             | + |
| S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D                                                 | + |
| A016S-S101G-S103G-V104I-S128N                                                       | + |
| G102A-S103A                                                                         | + |
| S024F-S078N-S128D-T213A                                                             | + |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D                                                 | + |
| A232N                                                                               | + |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R                                     | + |
| A016S-S101A-S103A-V104I-L111V                                                       | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| A098Q-S099G-G100S                                                                   | + |
| S024R-G118R                                                                         | + |
| S101A-V104L-S128N                                                                   | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| S099A-G102A                                                                                     | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V                               | + |
| A098Q-S099T-G100S                                                                               | + |
| T033S-N062E-N116L-G118R-S128I-S188D                                                             | + |
| T022A-N062E-S101G-S103A-V104I-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| S024R-T033S-N062E-S128I-S166D                                                                   | + |
| A098Q-S099T-S103A                                                                               | + |
| T022A-S103G-L148I                                                                               | + |
| G097P-S101A-G102A-V104I                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V-R275S             | + |
| N062E-N116L-S128I                                                                               | + |
| G025P                                                                                           | + |
| G097P-S099T-G102A                                                                               | + |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209AT213A-A232V                                | + |
| S132V                                                                                           | + |
| T033S-S128I-A158E                                                                               | + |
| S099T-S101A-G102A-V104L                                                                         | + |
| T022A-S101A-V104L-L111V-S128N                                                                   | + |
| T022L-S078N-G118R                                                                               | + |

|                                                                                            |   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V        | + |
| S024R-N116L-S128I-A158E-S166D-S188D                                                        | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-A232V                                                  | + |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-S128I                                                        | + |
| G097P-S099T-S103A                                                                          | + |
| T022L-S024F-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A-L217E                                            | + |
| S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R-N248D                                                        | + |
| N062E-S078G-G118D-G159D-S188D-N248D-H249R                                                  | + |
| A098F-S099A-S101G-V104I                                                                    | + |
| T022A-N076D-S 101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F | + |
| S078G-G118S-S188D                                                                          | + |
| F050R                                                                                      | + |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-L217S-A232V                    | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V              | + |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F        | + |
| S024F-G118R-S128D-S166D-T213A                                                              | + |
| G097P-S099A-S101G                                                                          | + |
| G097P-S099A-G100S-V104I                                                                    | + |
| G047I                                                                                      | + |
| S099T-G100S                                                                                | + |

|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A                                                         | + |
| T033S-N062E-N116L-H120N                                                                           | + |
| S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D                                                                     | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>G159D-S188D-A215V-A232V-N238Y-Q245R-<br>N248D-E271F | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124T-S128A-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124T-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-G159D-<br>S188D-N248D                                               | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                             | + |
| S101A-V104I-L111V-S128N                                                                           | + |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-<br>G159D-S188D                                               | + |
| A016S-V104I-S128N                                                                                 | + |
| G020R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R                                                               | + |
| S099A-S101G-V104I                                                                                 | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124T-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| A098M                                                                                             | + |
| G097P-A098Q-G102A                                                                                 | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-<br>P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V           | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124T-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| A016S-S101A-V104I-L111V-S128N                                                                     | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G020R-S024R-S078G-G118S-N248D                                                             | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-L111V-S128N                                                       | + |
| T022L-S078N-G118R-S128D-S166D                                                             | + |
| A098Q                                                                                     | + |
| S024F-G118R                                                                               | + |
| N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D                                                 | + |
| W113Y                                                                                     | + |
| G020R-S078G-G118S-N248D                                                                   | + |
| G020K-T022L-S024F-S128D-S166D-T213A                                                       | + |
| G020R-S078D-G118D-N248D                                                                   | + |
| S078D-G118D-Q245R-N248D                                                                   | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V                                     | + |
| V051M                                                                                     | + |
| I035T                                                                                     | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-L126I-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| N062E-S078G-G118S-P129E-G159D-N248D                                                       | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V                         | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124T-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |



|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G097P-G102A                                                                                       | + |
| N062E-S078D-G118S-S188D-N248D                                                                     | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-<br>E271F-A272V | + |
| T022A-S101A-V104I-L148I                                                                           | + |
| A016S-T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-<br>N116A-Y209A-G211Q-A232V                             | + |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-<br>Q236R-Q245R-N248D                                         | + |
| T022L-S024F-S078N-S128D-S166D                                                                     | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-<br>S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-<br>E271F-A272V | + |
| V051C                                                                                             | + |
| A048T-N062E-G118R-A158E-S188D                                                                     | + |
| T022A-T033S-N116L-G118R-S128I-S166D-S188D                                                         | + |
| T022A-S101G-V104L-L111V-S128N                                                                     | + |
| S056V                                                                                             | + |
| G020K-T022L-S078N-S128D                                                                           | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S128D-S166D                                                               | + |
| T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-<br>A232V                                               | + |
| G097P-A098Q-S099T-S101A                                                                           | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128N                                                                     | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-<br>A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F                       | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159E-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F                             | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D                                                 | + |
| S024R-T033S-N116L-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                                 | + |
| G097P-A098F-S099T-S101A-S103A-V104I                                                             | + |
| A098Q-G102A-S103A-V104I                                                                         | + |
| T033S-S128I-S188D                                                                               | + |
| T033S-S128I                                                                                     | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| W006N                                                                                           | + |
| A098Q-S099A-S101A-V104I                                                                         | + |
| T033S-N062E-G118R-S128I                                                                         | + |
| G097S-A098Q-G100S                                                                               | + |
| T022L-S078N-S128D-L217E                                                                         | + |
| T022A-S024R-T033S-N116L-S128I-S188D                                                             | + |
| G020K-T022L-G118R-S128D-S166D-T213A-L217E                                                       | + |
| G102A                                                                                           | + |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| A098F-V104L                                                                                     | + |
| A016S-S101G-V104I-S128N                                                                         | + |
| A016S-T022A-V104L-L148I                                                                         | + |
| T022A-S101A-L111V                                                                               | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V                         | + |
| A016S-T022A-S101A-S103A-V104I                                                                   | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| A098Q-G102A-S103G                                                                         | + |
| A098Q-S099T-S101G-G102A                                                                   | + |
| T022A-N062E-S101Q-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| A098Q-G100S-S101A-V104I                                                                   | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| G097P-A098Q-S099A-S101A-S103A-V104I                                                       | + |
| T022L-S024F-S128D-S166D                                                                   | + |
| T022A-S099R-S101Q-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S024F-S128D-S166D-T213A                                                                   | + |
| G020K-T022L-S078N-S128D-S166D-T213A                                                       | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232T-Q245T-N248E                                     | + |
| G097P-S099G-G102A                                                                         | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V                               | + |
| A098Q-S099T-G102A                                                                         | + |
| T022A-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F       | + |

|                                            |   |
|--------------------------------------------|---|
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-N248D  | + |
| N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-       |   |
| Q245R-N248D-H249R                          | + |
| A016S-T022A-S101A-S103G-V104I-L148I        | + |
| G097P-A098F-S099T-S103A-V104I              | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-S128D-S166D-T213A  | + |
| G020K-T213A                                | + |
| S024R-T033S-N062E-A158E-S166D              | + |
| G020K-T022L-S078N-G118R-T213A              | + |
| S024F-G118R-S128D-S166D                    | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-G159D- |   |
| S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F        | + |
| S078N-S128D-S166D-T213A                    | + |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128L- |   |
| G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F  | + |
| S078D-G118S-P129E-G159D-N248D              | + |
| S099T-S101A-G102A-S103A                    | + |
| G097P-G100S                                | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E- |   |
| S188D-A232V-Q245R-N248D-N269S-E271F        | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124T-S128A-G159D- |   |
| S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F              | + |
| T022L-S024F-S078N-S128D-S166D-T213A        | + |
| G097P-A098S-S099G-G102A                    | + |
| T022A-S128N                                | + |
| G100S                                      | + |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-       |   |
| N248D                                      | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S078D-G118D-G159D-S188D                                                             | + |
| T033S-S128I-S166D                                                                   | + |
| A016S-T022A-S101G-S103G-V104I-L148I                                                 | + |
| D041N                                                                               | + |
| A098Q-S099T-G100S-S101A-A151V                                                       | + |
| A098Q-S099A-G100S-S101A                                                             | + |
| T022A-S128I-A158E-S166D-S188D                                                       | + |
| G020R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-N248D                                           | + |
| A098Q-S099T-S101A-G102A                                                             | + |
| S024R-T033S-N062E-N116L-S128I-A158E                                                 | + |
| T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-Q109N-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| G097P-S099A-G102A                                                                   | + |
| T022A-S024R-T033S-N062E-S128I-S188D                                                 | + |
| N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-N248D                                                 | + |
| S078D-G118D-G159D-Q245R-N248D                                                       | + |
| S024R-N062E-N116L-S128I-A158E-S188D                                                 | + |
| A098F-S099G                                                                         | + |
| A098F-G100S-V104I                                                                   | + |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-S128L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N                                                             | + |
| A098F-S099T-G100S-V104L                                                             | + |
| S024R-N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-M222S-A232V-Q245R                               | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T274F                                                                               | + |
| G118R-S128I-V139I-A158E-S166D-S188D                                                 | + |
| T022A-T033S-N062E-G118R-S166D-S188D                                                 | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-A232V                               | + |
| S024R-S078D-G118S-P129E-N248D                                                       | + |
| T022A-T033S-N116L-S128I-A158E                                                       | + |
| T022A-N062Q-G097A-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| N062E-N116L-S166D-S188D                                                             | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| S099A-G100S-S103A-V104I                                                             | + |
| G020K-S024F-S078N                                                                   | + |
| T022L-S024F-G118R-S128D-S166D-L217E                                                 | + |
| T022A-S101A-V104L                                                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L126I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209V-G211Q-A232V                         | + |
| A133T-N269E                                                                         | + |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R                                     | + |
| T022A-S024R-T033S-N062E-S128I-A158E                                                 | + |
| T022A-T033S-N062E-S128I                                                             | + |
| R275S                                                                               | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S024R-S078D-G118D-P129E-S188D-N248D-H249R                                                       | + |
| T022A-T033S-G118R-S128I                                                                         | + |
| T033S-N116L-G118R-S128I                                                                         | + |
| T022L-S024F-S078N-G118R-T213A                                                                   | + |
| L075G                                                                                           | + |
| S099T-G100S-V104I                                                                               | + |
| T033S-N062E-N116L-S128I                                                                         | + |
| S101A                                                                                           | + |
| A016S-T022A-S103A-V104I-L148I                                                                   | + |
| G097P-G102A-S103A                                                                               | + |
| G097P-S099T-G100S-S101A-S103A-V104I                                                             | + |
| T253Y                                                                                           | + |
| T022A-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D                                                             | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | + |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                                           | + |
| G097P-G102A-V104I                                                                               | + |
| S078N-G118R-S128D-S166D-L217E                                                                   | + |
| T022A-S024R-N076D-I079T-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V | + |
| T022A-S101A-V104L-S128N                                                                         | + |
| G097P-A098Q-S099T-G102A-V104I                                                                   | + |
| T022A-G047V-S103A-L148I                                                                         | + |
| T022A-N116L-S128I-S188D                                                                         | + |
| G097P-A098Q-S099T-S103A-V104L                                                                   | + |

|                                                                                         |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|---|
| N116L-S128I-A158E-S188D                                                                 | + |
| T022A-S024R-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-<br>G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A016S-T022A-S101A-S103G-S128N-L148I                                                     | + |
| G097P-A098Q-S099T-S101A-V104I                                                           | + |
| L257N                                                                                   | + |
| G097P-S099T-S101G-S103A-V104L                                                           | + |
| A098Q-S099G-G100S-V104I                                                                 | + |
| S056L                                                                                   | + |
| S099T-S101A-G102A-S103A-V104I                                                           | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S103G-V104I                                                                       | + |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-<br>Y209V-G211Q-T213A-A232V                   | + |
| S078N-S128D                                                                             | + |
| R170T                                                                                   | + |
| A098F-S099G-G100S                                                                       | + |
| G020K-T022L-S024F-S078N-T213A                                                           | + |
| S099T-S101A-S103A                                                                       | + |
| G020R-S078G-G118S-G159D-Q245R-H249R                                                     | + |
| G097P-S099G-S101G                                                                       | + |
| S078D-G118S-Q245R                                                                       | + |
| T022L-S078N-S128D-T213A                                                                 | + |
| T033S-N062E-N116L-S188D                                                                 | + |
| G097P-S099G-S101A                                                                       | + |
| G020R-N062E-S078D-G118D-S188D-Q245R-                                                    | + |



|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| H249R                                                       |   |
| S087W                                                       | + |
| A098Q-S099T-S101G-S103A                                     | + |
| A098Q-S099T-S101G-G102A-V104L                               | + |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-A232V | + |
| G020K-T022L-S024F-S128D-T213A-L217E                         | + |
| T022A-S103A-V104I                                           | + |
| G097P-A098Q-G100S                                           | + |
| G020K-T022L-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R             | + |
| G020K-S024F-S078N-T213A                                     | + |
| A098F-S099A-S103A                                           | + |
| S099T-G100S-S101G                                           | + |
| N076D-S101A-S103A-V104I-S188D-M222S-A232V-Q245R             | + |
| S049W                                                       | + |
| G020K-T022L-S024F-S128D-S166D-L217E                         | + |
| S024F-G118R-S128D-S166D-L217E                               | + |
| T022A-S103A-V104I-L148I                                     | + |
| T022A-S101A-S103A-V104I                                     | + |
| F050Q                                                       | + |
| S101G-S103A-V104I-N116A-G118V-Y209V-G211Q-A232V             | + |
| S078G-G118D-H120N-H249R                                     | + |
| A016S-S103G-L148I                                           | + |
| G097P-S101A                                                 | + |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S099T-S103A-V104I                                                                               | + |
| S078G-G118D-P129E-G159D                                                                         | + |
| T022L-S128D-S166D-T213A                                                                         | + |
| T022A-S024R-N116L-S128I                                                                         | + |
| N076D-S101A-S103A-V104I-M222S-A232V-Q245R                                                       | + |
| G097P-S099T-S101A-V104I                                                                         | + |
| A098Q-S099A-S101A-G102A                                                                         | + |
| T022A-S024R-G025S-Q059K-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-A158E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S132G                                                                                           | + |
| T022A-S101A-S103A-V104L-S128N                                                                   | + |
| A098F-G100S-S101A                                                                               | + |
| S024F-G118R-T213A                                                                               | + |
| G097P-S099T-G102A-S103A                                                                         | + |
| G097P-S099T-G102A-S103A-V104I                                                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209V-G211Q-T213A-A232V                                     | + |
| S024R-T033S-N116L                                                                               | + |
| A098Q-S099T                                                                                     | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104L-S128N-L148I                                                       | + |
| A098F-S099T-S101A                                                                               | + |
| A098Q-G100S-S103A                                                                               | + |
| T022A-N062E-N116L-S128I-S188D                                                                   | + |
| Q012E-S259N                                                                                     | + |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-G211Q-T213A-A232V                               | + |

|                                                                                                    |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-N076D-S 101G-S103A-V104I-I107V-<br>G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-<br>E271F-A272V | + |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109G-<br>S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F  | + |
| A016S-T022A-S101G-S103G-V104L-S128N                                                                | + |
| Q245D                                                                                              | + |
| G020K-T022L-S128D-S166D-T213A                                                                      | + |
| S099T-V104I                                                                                        | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>Y209A-A232V                                          | + |
| G020R-S078D-G118D-Q245R-N248D                                                                      | + |
| S099G-S101A-V104L                                                                                  | + |
| G097P-S099T                                                                                        | + |
| S078G-G118D-Q245R                                                                                  | + |
| G097P-A098Q-S099A-S103A                                                                            | + |
| A016S-T022A-S103A                                                                                  | + |
| G097P-A098Q-S101A-S103G-V104L                                                                      | + |
| S078N-G118R-S128D-S166D                                                                            | + |
| V026Q                                                                                              | + |
| G097P-A098F-S099T-S103A-V104L                                                                      | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V                  | + |
| S024R-T033S-G118R-S128I-S166D-S188D                                                                | + |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-S166D                                                                | + |
| A098F-S099T-G102A-S103G                                                                            | + |
| M119L                                                                                              | + |

|                                                                                   |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---|
| N062E-S078G-G118D-P129E-S188D                                                     | + |
| T022L-G118R-S128D-S166D                                                           | + |
| T022A-T033S-N116L-S128I-S188D                                                     | + |
| A098F-S099T-S101G-V104L                                                           | + |
| T033S-N116L                                                                       | + |
| V104L-L111V-S128N                                                                 | + |
| S024R-N062E-S078D-G118D-P129E-Q245R-<br>H249R                                     | + |
| G097P-S099A-G100S                                                                 | + |
| A016S-T022A-S103A-L111V                                                           | + |
| G097P-S099A-G102A-V104I                                                           | + |
| G097P-A098Q-S099A-S103A-V104I                                                     | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124T-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022L-S024F-S078N-S128D-T213A-L217E                                               | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-<br>A232V-Q245R-N248D-E271F-A272V       | + |
| P055V                                                                             | + |
| T022A-N062E-S101Q-S103A-V104I-S128A-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G097P-A098Q                                                                       | + |
| S101G-S103A-V104I-L111V-S128N                                                     | + |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>S128N-Y209A-A232V                   | + |
| G020R-S078D-G118D                                                                 | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L124T-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T033S-G118R-S128I-S166D-S188D                                                     | + |

|                                                                                            |   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| N062E-S078G-G118D-P129E-G159D-S188D-H249R                                                  | + |
| V051Y                                                                                      | + |
| G097P-G102A-S103A-V104I                                                                    | + |
| V030N                                                                                      | + |
| V104L                                                                                      | + |
| S024R-T033S-G118R-S128I-A158E-S166D                                                        | + |
| N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245V-N248E-E271T                                            | + |
| S024R-T033S-G118R-S128I-S166D                                                              | + |
| A016S-S101G-S103G-V104L                                                                    | + |
| S078N-S128D-L217E                                                                          | + |
| A016S-T022A-S101A-V104I-L111V                                                              | + |
| A016M                                                                                      | + |
| S099T-G102A-S103A-V104I                                                                    | + |
| T022A-S101A-V104I-L111V-S128N                                                              | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S078P-S 101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022L-S078N-S128D                                                                          | + |
| V051E                                                                                      | + |
| N062E-S078D-G118S-P129E-G159D                                                              | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124T-P129S-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F              | + |
| A015H                                                                                      | + |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-Q245R-H249R                                      | + |
| G020K-S024F-G118R-S128D-S166D-T213A-L217E                                                  | + |

|                                                                                   |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---|
| A016S-T022A-S101G-S103G-V104I                                                     | + |
| P014N                                                                             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124T-S128A-P129E-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109N-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-<br>A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F       | + |
| G097P-A098Q-S101A-G102A                                                           | + |
| T033S-A158E-S166D-S188D                                                           | + |
| I035C                                                                             | + |
| T033S-S128I-A158E-S188D                                                           | + |
| I008S                                                                             | + |
| S078N-T213A                                                                       | + |
| V028T-A215V                                                                       | + |
| G020K-T022L-S078N-S128D-S166D-T213A-L217E                                         | + |
| G146C-Q236L                                                                       | + |
| G020K                                                                             | + |
| S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-<br>A232V                               | + |
| S024R-S078D-G118D-G159D-K237E                                                     | + |
| S024R-T033S-N116L-S128I                                                           | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-<br>S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F | + |
| A048G                                                                             | + |
| S212D                                                                             | + |
| N062E-N116L-A158E-S188D                                                           | + |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-                                        | + |

Y209A-T213A-A232V

S024F-S078N-G118R-S128D-S166D-T213A-L217E +

A098F-S101G +

S132K +

T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-G118V-Y209V-  
T213A-A232V +

T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-  
G211Q-A232V +

G097P-A098Q-S099T-S101A-G102A-V104I +

G097P-S099T-S101A-S103A +

A016S-T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-  
N116L-S128N-Y209V-A232V +

A098Q-S099T-S101G-V104I +

G020K-T022L-S024F-G118R-S128D-S166D-T213A-  
L217E +

G097P-A098Q-S099G-S101G +

G097P-A098Q-S099A-G100S +

T033S-N062E-G118R-S166D-S188D +

A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-  
G118V-Y209V-T213A-A232V +

N062E-S078G-G118S-P129E-S188D-Q245R-  
H249R +

S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-  
Y209V-T213A-A232V +

G097P-S099G-S101G-S103A +

A098F-G102A-V104I +

S078D-G118S-Q245R-N248D +

G097P-A098Q-S099A-G102A +

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| G097P-A098Q-G100S-S103A                                                             | + |
| T022A-S024R-N062E-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | + |
| S078G-G118D-Q245R-H249R                                                             | + |
| G097P-S099A-G100S-S101A                                                             | + |
| G097P-S099G-S103G                                                                   | + |
| G020K-S024F-S128D-S166D-T213A-L217E                                                 | + |
| I008N                                                                               | + |
| N269A                                                                               | + |
| A088T                                                                               | + |
| T038S                                                                               | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-G118V-Y209A-T213A-A232V                         | + |
| G097P-A098F-S103A-V104I                                                             | + |
| A098F-S099A                                                                         | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F-A272V | + |
| A098Q-S099T-G100S-V104L                                                             | + |
| G097P-S099T-V104L                                                                   | + |
| A098Q-S099T-S103A-V104I                                                             | + |
| A016S-T022A-S103G-S128N                                                             | + |
| T022A-T033S-S166D-S188D                                                             | + |
| G097P-G100S-S103A                                                                   | + |
| T022L-S024F-S078N-T213A-A232T                                                       | + |
| A013S                                                                               | + |
| G097P-S101A-G102A-S103A                                                             | + |
| A016S-T022A-S101A-V104L-L111V-S128N                                                 | + |



|                                                                                   |   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---|
| G097P-A098Q-S099T-G102A                                                           | + |
| S024R-S078G-G118D-N248D                                                           | + |
| G020K-S078N-S128D-S166D-T213A-L217E                                               | + |
| G020R-S078G-G118D-N248D                                                           | + |
| A085S                                                                             | + |
| A016S-T022A-S128N                                                                 | + |
| S024F-S078N-G118R-S128D-S166D-L217E                                               | + |
| A098Q-S099A-G100S-V104L                                                           | + |
| S024R-S078D-G118D-G159D-N248D                                                     | + |
| A098Q-S103A                                                                       | + |
| N062E-A158E-S166D                                                                 | + |
| G020K-S024F-G118R-S128D-S166D-L217E                                               | + |
| G097P-A098F                                                                       | + |
| G080F                                                                             | + |
| G097P-S099A-S103A-V104I                                                           | + |
| T022A-S101A-L111V-S128N-L148I                                                     | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I                                                           | + |
| T022A-N062Q-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G097P-A098F-S099T-S101G-V104I                                                     | + |
| A073Q                                                                             | + |
| K251C                                                                             | + |
| A016S-T022A-S101A-S103A-V104L-L148I                                               | + |
| G097P-A098Q-G102A-S103G                                                           | + |
| G020R-S078G-G118D-Q245R-N248D                                                     | + |
| S099A-G100S-S103A                                                                 | + |
| T038A                                                                             | + |

|                                                                                           |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-A270V-E271F-A272V       | + |
| T022L-S078N-S128D-T213A-L217E                                                             | + |
| T022A-S024R-N043R-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-G159E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| N116L-S128I-A158E-S166D                                                                   | + |
| A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-P210Q-T213A-A232V                         | + |
| S049V-V199I                                                                               | + |
| T022A-S103G-V104I-L148I                                                                   | + |
| A016S-S101G-V104L                                                                         | + |
| A098F-S099T-S101G-G102A-V104I                                                             | + |
| T022A-A158E-S166D-S188D                                                                   | + |
| A016S-T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-A232V                         | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109G-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-T213A-A232V                               | + |
| N062E-N116L-G118R-S128I-A158E-S188D                                                       | + |
| N062E-S128I-S188D                                                                         | + |
| G097P                                                                                     | + |
| T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V                   | + |
| S024R-S078G-G118S-P129E-Q245R-H249R                                                       | + |
| S049D                                                                                     | + |
| G097P-A098Q-S099T-G100S                                                                   | + |

|                                                                                     |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-T033S-N116L-G118R-S128I-S188D                                           | + |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-T213A-A232V                               | + |
| T022L-S078N-G118R-S128D-S166D-L217E                                                 | + |
| S078G-G118D-P129E-N248D                                                             | + |
| S099A-V104L                                                                         | + |
| T022A-N043R-S101G-S103A-V104I-A158E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | + |
| A098Q-V104L                                                                         | + |
| T022A-T033S-G118R-S128I-S166D-S188D                                                 | + |
| G097P-S099T-S101A                                                                   | + |
| W006Y                                                                               | + |
| S024R-N062E-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-H249R                                     | + |
| S024R-S078D-G118D-Q245R-N248D                                                       | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-G159D-S188D-A232V-N238Y-Q245R-N248D-E271F | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-L126I-S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| B015T                                                                               | + |
| G097P-S099T-S101G-G102A-S103A-V104I                                                 | + |
| A016S-V104L-L111V-S128N                                                             | + |
| G097P-A098F-S099T                                                                   | + |
| S099G                                                                               | + |
| S049I                                                                               | + |
| A016S-S103G-V104L-L148I                                                             | + |
| N062E-S078G-G118D-S188D-N248D                                                       | + |
| G020R-N062E-S078D-G118S-G159D-S188D-                                                | + |

|                                                                               |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---|
| K235R-N248D                                                                   |   |
| T022A-S024R-N116L                                                             | + |
| S024R-T033S-S128I                                                             | + |
| N062E-S078D-G118D-Q245R-N248D-H249R                                           | + |
| A098F-S099A-S103A-V104I                                                       | + |
| V004Y                                                                         | + |
| T022L-S024F-S078N-T213A                                                       | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-G118V-Y209A-G211Q-A232V                         | + |
| G097P-A098Q-G102A-S103G-V104I                                                 | + |
| S078G-G118S-H249R                                                             | + |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-A232V                               | + |
| G097P-V104I                                                                   | + |
| S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209A-T213A-A232V                   | + |
| A098Q-S099G-V104L                                                             | + |
| N062E-S078D-G118D-P129E                                                       | + |
| L196K                                                                         | + |
| S078G-G118D-N248D-H249R                                                       | + |
| S087M                                                                         | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109G-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| S216N-T253C                                                                   | + |
| G097P-A098Q-S101G-G102A-V104I                                                 | + |
| G020K-T022L-G118R                                                             | + |
| A016S-T022A-S101A-S103G-V104I-L111V                                           | + |

|                                                                               |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---|
| A098F-S099A-G102A                                                             | + |
| T033S-N062E-G118R-S128I-A158E                                                 | + |
| A098Q-S099T-S101A                                                             | + |
| G020R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D                         | + |
| V011L                                                                         | + |
| S101A-L148I                                                                   | + |
| A098F-S099A-S101A                                                             | + |
| F050K                                                                         | + |
| N062E-S078G-G118S-G159D-S188D-N248D                                           | + |
| V051A                                                                         | + |
| T022A-T033S-G118R-S128I-A158E-S166D                                           | + |
| V051A-S212D                                                                   | + |
| P014W                                                                         | + |
| Q012E                                                                         | + |
| T022A-T033S-S128I-A158E-S188D                                                 | + |
| T022A-S024R-N062E-N076D-S101G-S103A-V104I-P129E-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| G097P-S103A                                                                   | + |
| S078G-G118D                                                                   | + |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-Q245R-H249R                               | + |
| G097P-A098Q-G102A-V104L                                                       | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124V-S128A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | + |
| A098Q-S099T-S101A-G102A-S103A-V104I                                           | + |
| A016S-L111V-S128N                                                             | + |

|                                                                               |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-N062E-N116L-S128I-A158E                                                 | + |
| G080C                                                                         | + |
| S024R-S078D-G118S                                                             | + |
| G097P-A098F-S099G                                                             | + |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-T213A-A232V             | + |
| G097P-S099G-G100S-S103A                                                       | + |
| S212A                                                                         | + |
| S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-G159D-S188D-N248D-H249R                         | + |
| T022A-S103G-V104L-S128N-L148I                                                 | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L124T-S128A-P129S-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | + |
| A016S-T022A-S103G-V104L-S128N-L148I                                           | + |
| G097P-A098Q-S101A-V 104I                                                      | + |
| A016S-S101A-V104I                                                             | + |
| V026D                                                                         | + |
| G097P-S101A-G102A-S103A-V104I                                                 | + |
| A016S-T022A-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-T213A-A232V       | + |
| T033S-A158E-S188D-A272D                                                       | + |
| A048V                                                                         | + |
| G020K-T022L-S078N                                                             | + |
| G020K-G118R-T213A                                                             | + |
| T022A-S103A-V104L-L148I                                                       | + |
| T022A-N062E-S128I-A158E-S166D                                                 | + |
| G097P-A098Q-S099G-G100S-V104I                                                 | + |

|                                                                                                   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| S049V                                                                                             | + |
| G097P-A098Q-S099T-S101A-S103G                                                                     | + |
| G097P-A098F-S099A-S101A-V104I                                                                     | + |
| S128I-A158E-S166D-S188D                                                                           | + |
| S128D-S166D                                                                                       | + |
| S099G-G102A-V104I                                                                                 | + |
| T022A-S166D                                                                                       | + |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-<br>T213A-A232V                                         | + |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-G118R-S128L-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| G097P-S099A-S103G                                                                                 | + |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-<br>Y209A-G211Q-T213A-A232V                             | + |
| S078G-G118S                                                                                       | + |
| T033S-G118R-S128I-A158E-S166D-S188D                                                               | + |
| S024R-N062E-S101A-S103A-V104I-S188D-M222S-<br>A232V-Q245R                                         | + |
| S099T-S101A-G102A-S103A-V104L                                                                     | + |
| S056F                                                                                             | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-L126I-<br>S128A-P129E-G159D-S188D-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F | + |
| T022L-S024F-S128D-L217E                                                                           | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-L126I-S128A-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                 | + |
| G020R-S078G-G118S-H249R                                                                           | + |

**TABLO 2-2: Grup D2 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

Tablo 1'de açıklandığı üzere Deterjan Bileşimi 104'te PI> veya = 3, +++'dır; 2.9 ile 2 arasında PI = ++; 1.9 ile 1.1 arasında PI = +

| GG36 numaralandırması)                                            | Varyantlarının Dizisi | (BPN' GG36'ya göre PI; BMI analizi, 25°C'de Deterjan 104 |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------|
| A016S-S024F-S101D-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V       |                       | +++                                                      |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-S130D-Y209V-T213A-A232V |                       | +++                                                      |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-S166D-Y209V-T213A-A232V |                       | +++                                                      |
| A016S-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-S188D-Y209V-T213A-A232V |                       | +++                                                      |
| A016S-S024F-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V       |                       | +++                                                      |
| A016S-S024R-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V       |                       | +++                                                      |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-A232V             |                       | +++                                                      |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-S128N-Y209V-T213A-A232V |                       | +++                                                      |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-T213A-A232V       |                       | +++                                                      |
| A016S-T033S-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209A-G211Q-A232V             |                       | +++                                                      |
| A098Q-G102A-S103G                                                 |                       | +++                                                      |
| A098Q-S099T-G102A-S103G                                           |                       | +++                                                      |
| G020K-N062E-N116L-T213A                                           |                       | +++                                                      |



|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| G020K-N062E-N116L-T213A-M222S                   | +++ |
| G020K-N062E-S188D-T213A-M222S                   | +++ |
| G020K-S024F-S166D-T213A-L217E                   | +++ |
| G020K-S166D-L217E                               | +++ |
| G020K-T022L-G118R-P129E-S188D                   | +++ |
| G020K-T022L-S024F-S078N-G118R-S166D-T213A-L217E | +++ |
| G020K-T022L-S078N-G118R-S128D-T213A-L217E       | +++ |
| G020R-G061W-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| G020R-G118R                                     | +++ |
| G020R-G118R-G159D-N248D-H249R                   | +++ |
| G020R-G118R-G159D-S188D-N248D                   | +++ |
| G020R-G118R-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-G118R-P129E                               | +++ |
| G020R-G118R-P129E-G159D-H249R                   | +++ |
| G020R-G118R-P129E-G159D-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-G118R-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-G118R-P129E-G159D-S188D                   | +++ |
| G020R-G118R-P129E-S188D                         | +++ |
| G020R-G118R-P129E-S188D-N248D                   | +++ |
| G020R-G118R-S188D-N248D                         | +++ |
| G020R-G118R-S188D-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-G118R-S188D-Q245R-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-G159D-N248D-H249R                         | +++ |
| G020R-G159D-Q245R-N248D                         | +++ |

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| G020R-G159D-S188D                         | +++ |
| G020R-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-G159D-S188D-Q245R                   | +++ |
| G020R-G159D-S188D-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-N043R-S101A-P210I-G211Q             | +++ |
| G020R-N062E-G118R                         | +++ |
| G020R-N062E-G118R-G159D-N248D             | +++ |
| G020R-N062E-G118R-S188D-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-G159D-S188D       | +++ |
| G020R-N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R       | +++ |
| G020R-N062E-S078R-P129E-S188D-N248D       | +++ |
| G020R-P129E                               | +++ |
| G020R-P129E-G159D-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-P129E-G159D-Q245R-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-P129E-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| G020R-P129E-H249R                         | +++ |
| G020R-P129E-N248D                         | +++ |
| G020R-P129E-Q245R                         | +++ |
| G020R-P129E-Q245R-N248D                   | +++ |
| G020R-P129E-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-P129E-S188D-N248D-H249R             | +++ |
| G020R-P129E-S188D-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-G118R-G159D-S188D-Q245R-N248D | +++ |
| G020R-S024R-G118R-P129E-G159D-N248D       | +++ |
| G020R-S024R-G118R-P129E-G159D-N248D-H249R | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-G118R-P129E-G159D-S188D-N248D-H249R       | +++ |
| G020R-S024R-G118R-S188D-N248D                         | +++ |
| G020R-S024R-N062E-P129E-S188D-N248D                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-Q245R-N248D-H249R | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118S-P129E-S188D-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-S188D-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-G159D-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-P129E                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-P129E-G159D                               | +++ |
| G020R-S024R-P129E-G159D-N248D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-P129E-G159D-S188D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-P129E-G159D-S188D-N248D                   | +++ |
| G020R-S024R-P129E-H249R                               | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-H249R       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D                         | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D             | +++ |

|                                                     |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S101A-P210I-G211Q                       | +++ |
| G020R-S024R-S188D                                   | +++ |
| G020R-S024R-S188D-Q245R-N248D                       | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-G159D-S240F-<br>N248D-H249R | +++ |
| G020R-S078R-G118R-P129E-S188D-N248D                 | +++ |
| G020R-S078R-G159D-S188D-Q245R-N248D                 | +++ |
| G020R-S078R-P129E-G159D-S188D-H249R                 | +++ |
| G020R-S188D-H249R                                   | +++ |
| G020R-S188D-Q245R-N248D-H249R                       | +++ |
| G061P-S078N-G097A-S101N-S128A-V203Y-L217Q           | +++ |
| G097A-S101N-S128A-L217Q                             | +++ |
| G097P-A098Q-S099A-V104I                             | +++ |
| G097P-A098Q-S099T-S101G                             | +++ |
| G097P-S099A-G102A                                   | +++ |
| G118R-P129E-G159D-Q245R-N248D                       | +++ |
| G118R-P129E-G159D-S188D-H249R                       | +++ |
| G118R-P129E-G159D-S188D-K237R-N248D-<br>H249R       | +++ |
| G118R-P129E-H249R                                   | +++ |
| G118R-S188D-N248D-H249R                             | +++ |
| G159D-S188D                                         | +++ |
| G159D-S188D-Q245R-N248D                             | +++ |
| N018K-G020R-S024R-R045T-S101A-P210I-G211Q-<br>T213A | +++ |
| N062E-G118R-P129E-S188D-Q245R                       | +++ |
| N062E-G159D-S188D-H249R                             | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| N062E-P129E-G159D-S188D-Q245R                                     | +++ |
| N062E-S078G-G118D-N248D-H249R                                     | +++ |
| N062E-S078R-G118R-G159D-S188D-P210L-N248D                         | +++ |
| N062E-S078R-G118R-P129E-N248D                                     | +++ |
| N062E-S078R-G159D                                                 | +++ |
| N062E-S078R-G159D-N248D                                           | +++ |
| N062E-S078R-P129E-G159D                                           | +++ |
| N062E-S078R-P129E-S188D-Q245R-N248D                               | +++ |
| N062E-S078R-Q245R-N248D                                           | +++ |
| P086S-S087G-A088V-G097A-N117S-S128A-L217Q                         | +++ |
| P129E-G159D                                                       | +++ |
| P129E-G159D-Q245R-N248D                                           | +++ |
| P129E-G159D-S188D-H249R                                           | +++ |
| P129E-Q245R-N248D-H249R                                           | +++ |
| S024F-G118R-S128D                                                 | +++ |
| S024F-S078N-T213A-L217E                                           | +++ |
| S024G-G061S-S078N-S101N-Q109G-S128A-L217Q-N243V                   | +++ |
| S024G-S078N-A088T-S101N-Q109G-N116T-S128A-A158S-L217Q-N218S-L257G | +++ |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-L217Q-N243V-N248A                         | +++ |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-N116T-S128A-L217Q-N243V-S256R             | +++ |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-S128A-L217Q                               | +++ |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-S128A-L217Q-S256R                         | +++ |
| S024G-S078N-S101N-S128A-A158S-L217Q-L257G                         | +++ |

|                                                     |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| S024G-S078N-S101N-S128A-L217Q                       | +++ |
| S024G-S078N-S101N-S128A-L217Q-N243V                 | +++ |
| S024R-G118R-G159D-S188D                             | +++ |
| S024R-G118R-G159D-S188D-N248D                       | +++ |
| S024R-G118R-P129E-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D       | +++ |
| S024R-G118R-P129E-G159D-S188D-Q245R-<br>N248D-H249R | +++ |
| S024R-G118R-P129E-S188D-H249R                       | +++ |
| S024R-G118R-S188D                                   | +++ |
| S024R-G118R-S188D-N248D                             | +++ |
| S024R-G159D-S188D-Q245R                             | +++ |
| S024R-N062E-G159D-S188D-Q245R                       | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-A158E                 | +++ |
| S024R-N062E-N116L-G118R-S128I-S166D                 | +++ |
| S024R-N062E-Q245R                                   | +++ |
| S024R-N062E-S078D-G118S-S188D-Q245R                 | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118D-N248D-H249R                 | +++ |
| S024R-N062E-S078G-G118S-S188D-Q245R-<br>N248D       | +++ |
| S024R-N062E-S078R-G159D-N248D                       | +++ |
| S024R-N062E-S078R-P129E-H249R                       | +++ |
| S024R-N062E-S188D-N248D                             | +++ |
| S024R-P129E-G159D-Q245R-N248D                       | +++ |
| S024R-P129E-G159D-S188D-Q245R-N248D-<br>H249R       | +++ |
| S024R-P129E-Q245R-N248D                             | +++ |

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-S078R-G118R-P129E-G159D-S188D                                               | +++ |
| S024R-S078R-G159D-S188D                                                           | +++ |
| S024R-S078R-G159D-S188D-Q245R-N248D-<br>H249R                                     | +++ |
| S024R-S188D-N248D                                                                 | +++ |
| S024R-S188D-Q245R-N248D                                                           | +++ |
| S078N-G118R-S166D-L217E-M222S                                                     | +++ |
| S078R-G118R-P129E                                                                 | +++ |
| S078R-G118R-P129E-S188D-N248D                                                     | +++ |
| S078R-L111I-N185I-I198L-L217E                                                     | +++ |
| S078R-P129E-G159D                                                                 | +++ |
| S078R-V084A-P129E-Q245R                                                           | +++ |
| S099T-S101A-G102A-S103A                                                           | +++ |
| S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F                         | +++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| S188D-Q245R-N248D                                                                 | +++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-L124V-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-<br>S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F       | +++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L124V-P129S-<br>G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-P129S-A232V-<br>Q245R                               | +++ |

|                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | +++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-G159D-S188D-L217Q-M222S-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209A-G211Q-T213A-A232V                   | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F       | +++ |
| T022A-S024R-N062E-N116L-G118R-A158E                                                 | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N062E-N116L-G118R-P129E-S188D                                     | +++ |
| T022A-S024R-T033S-N116L-A158E-S166D-S188D                                           | +++ |
| T022A-S101G-S103A-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-E271F                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-A270V-E271F             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-M222S-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | +++ |



|                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-Q245R-N248D-E271F                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188E-A232V-Q245R-N248D                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                                     | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-M119V-P129E-G159D-S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-E271F                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128N-Y209V-G211Q-T213A-A232V                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129S-L217Q-A232V-Q245R                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128L-G159D-S188D-T213A-A232V-Q245R-N248D-E271F       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S188D-A232V-Q245R-                                    | +++ |

N248D-E271F

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101G-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F                         | +++ |
| T022A-S101G-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-<br>A232V-Q245R                         | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-G159D-<br>S188D-L217Q-A232V-Q245R-N248D-E271F | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129S-L217Q-A232V-<br>Q245R                               | +++ |
| T022A-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-<br>N248D-E271F                         | +++ |
| T022A-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-<br>Q245R-N248D-E271F                   | +++ |
| T022A-T033S-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-<br>G211Q-T213A-A232V                   | +++ |
| T022L-S078N-G118R-S128D-L217E                                                     | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232L-<br>Q245R-N248E-E271H                   | +++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                                               | +++ |
| A098F-S099A-S101G-V104I                                                           | ++  |
| A098Q-S099G-S101G-V104L                                                           | ++  |
| A098Q-S099T-S101G-S103A                                                           | ++  |
| G020K-T022L-Q245R                                                                 | ++  |
| G020R-G118R-G159D-Q245R                                                           | ++  |
| G020R-P129E-G159D-N248D                                                           | ++  |
| G020R-S024R-G118R-P129E-G159D-H249R                                               | ++  |
| G020R-S024R-G159D-N248D                                                           | ++  |

|                                           |    |
|-------------------------------------------|----|
| G020R-S024R-S078D-G118S-Q245R             | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R | ++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-Q245R-H249R       | ++ |
| G020R-S078D-G118S-Q245R                   | ++ |
| G020R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R       | ++ |
| G020R-S078R-G159D-S188D                   | ++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q | ++ |
| G097A-S128A-L217Q                         | ++ |
| G100S                                     | ++ |
| G118R-H249R                               | ++ |
| G118R-P129E-N248D                         | ++ |
| P129E-S188D                               | ++ |
| P 129E-S188D-Q245R-H249R                  | ++ |
| S024G-N076D-S078N-S101N-H120Q-S128A-L217Q | ++ |
| S024G-S078N-S101N-L217Q                   | ++ |
| S024G-S078N-S101N-S128A-L217Q-S256R       | ++ |
| S024R-G118R-N248D-H249R                   | ++ |
| S024R-P129E-G159D-N248D                   | ++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R-H249R       | ++ |
| S024R-S078R-G118R-G159D                   | ++ |
| S078G-G118S-Q245R-H249R                   | ++ |
| S078G-G118S-S188D-Q245R-H249R             | ++ |
| S078R-G118R-G159D                         | ++ |
| S078R-G118R-G159D-N248D                   | ++ |
| S078R-P129E-N248D                         | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| S078R-P129E-Q245R                                           | ++ |
| S099T-G102A                                                 | ++ |
| S099T-S101G-G102A-S103A                                     | ++ |
| S188D                                                       | ++ |
| S188D-N248D                                                 | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129S-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022K-S101A-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022W-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                         | ++ |
| A098F-S099A                                                 | +  |
| A098F-S099A-V104I                                           | +  |
| A098Q-S099A-G100S                                           | +  |
| A098Q-V104L                                                 | +  |
| G020R-N248D                                                 | +  |
| G020R-S024R-Q245R                                           | +  |
| G020R-S024R-S078D-G118S-H249R                               | +  |
| G020R-S078D-G118S-Q245R-H249R                               | +  |
| G061E-G097A-S128A-P129E-G159K-L217Q                         | +  |
| G097P-S099G-G100S                                           | +  |
| N062E-P129E-G159D-N248D                                     | +  |
| P129E-G159D-N248D                                           | +  |
| P129E-G159D-S188D                                           | +  |
| Q245R                                                       | +  |
| Q245R-N248D-H249R                                           | +  |
| S024G-N076D-S078N-S101N-S128A-L217Q-N218S                   | +  |
| S024R                                                       | +  |

|                         |   |
|-------------------------|---|
| S024R-S078G-G118S-Q245R | + |
| S099T-G100S-S103A-V104I | + |
| S099T-S101A-S103A       | + |
| S099T-S103A-V104I       | + |
| V104I                   | + |

**TABLO 2-3: Grup D3 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

Tablo 1’de açıklandığı üzere Deterjan Bileşimi 105’te PI> veya = 3, +++’dır; 2.9 ile 2 arasında PI = ++; 1.9 ile 1.1 arasında PI = +

| <b>GG36 Varyantlarının Dizisi (BPN' GG36'ya göre PI; BMI numaralandırması)</b> | <b>analizi, Deterjan 105, 25°C</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| G020K-S101D-G102A-L217E-S240R                                                  | +++                                |
| N043R-G102A-L217E                                                              | +++                                |
| N062E-S078N-S101D-S240R                                                        | +++                                |
| G102A-L217E                                                                    | +++                                |
| G020K-S128L-L217E-S240R                                                        | +++                                |
| G020K-N062E-S078N-L217E-S240R                                                  | +++                                |
| N043R-S101D-S128L-L217E-S240R                                                  | +++                                |
| G020K-S078N-S101D-G102A-P210L                                                  | +++                                |
| N043R-S101D-L217E                                                              | +++                                |
| G020K-G100S-L217E-S240R                                                        | +++                                |
| S078N-G100S                                                                    | +++                                |
| G020K-N043R-S101D-G102A-L217E                                                  | +++                                |
| G100S-S240R                                                                    | +++                                |
| G020K-G102A-L217E                                                              | +++                                |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101N-Q109N-                                           | +++                                |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| N116L-S128A-S188D                                     |     |
| G020K-L217E-S240R                                     | +++ |
| N043R-S101D                                           | +++ |
| N043R-S078N-S101D-S128L-S240R                         | +++ |
| N043R-S078N-S101D-L217E-S240R                         | +++ |
| G020K-S078N-S101D                                     | +++ |
| N043R-S128L-S240R                                     | +++ |
| G020K-N062E-N116L-N123G-T213A                         | +++ |
| G020K-N062E-G097S-S101G-Q109G-N116L-S128A             | +++ |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101N-Q109N-N116L-S188D       | +++ |
| N043R-S078N-S101D-G102A-L217E                         | +++ |
| G020K-S078N-S099G-S128L-L217E                         | +++ |
| G020K-N062E-S101D                                     | +++ |
| G020K-S128L-L217E                                     | +++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101G-Q109G-N116L-L217Q | +++ |
| N043R-G097A-S101D-S128L                               | +++ |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109N-N116L-S128A             | +++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-L217Q       | +++ |
| S078N-G102A-S240R                                     | +++ |
| N043R-S078N-G100S-L217E-S240R                         | +++ |
| G020K-S078N-S128L-L217E-S240R                         | +++ |
| G020K-N062E-N116L-S128Q                               | +++ |
| G020K-S101G-L217E-S240R                               | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020K-S024G-N062E-S101N-Q109G-N116L-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101N-N116L-L217Q                         | +++ |
| G020K-N062E-G097S-S101N-Q109G-N116L-L217Q                         | +++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097A-S101Q-Q109N-N116L-M222S             | +++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109N-N116L-S128A-S188D-L217Q | +++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-Q109G-N116L-S188D-L217Q                   | +++ |
| G020K-N062E-S105G-N116L-S128L-T213A                               | +++ |
| G020K-N062E-G097A-S101Q-Q109G-N116L-S188D-L217Q                   | ++  |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101Q-Q109G-N116L                         | ++  |
| G020K-N062E-G097A-S101Q-Q109N-N116L-L217Q                         | ++  |
| N043R-S078N-G102A-S128L-L217E-S240R                               | ++  |
| S078N-G097S-S101Q                                                 | ++  |
| N043R-N062E-S078N-S101D-S128L-S240R                               | ++  |
| S128L-L217E-E271L                                                 | ++  |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A-L217Q             | ++  |
| G020K-N062E-N116L-S128L-T213A                                     | ++  |
| S078N-G097A-S101G-Q109G-S188D-L217Q                               | ++  |
| S101D-S128L-L217E-S240R                                           | ++  |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101Q-Q109G-                              | ++  |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| N116L-S128A                                                 |    |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A-S188D-L217Q | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101Q-Q109G-N116L-S128A-S188D-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A       | ++ |
| S024G-S078N-G097S-S101G-S128A-S188D-L217Q                   | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109G-S128A-S188D-L217Q             | ++ |
| G020K-N043R-G102A-S128L                                     | ++ |
| G020K-S078N-S101D-G102A-L217E-S240R                         | ++ |
| G020K-N062E-G100S                                           | ++ |
| S078N-S128L-L217E-E271L                                     | ++ |
| S128Q-L217E-E271L                                           | ++ |
| G020K-L217E                                                 | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097A-S101N-N116L-S128A-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101G-N116L-S128A-L217Q       | ++ |
| G020K-S078N-S101D-G102A-L217E                               | ++ |
| G020K-N062E-S128L                                           | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101G-Q109N-N116L                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S128A-L217Q       | ++ |
| S078N-S128L-L217E-S240R                                     | ++ |
| S101D-S128Q-L217E-S240R-E271L                               | ++ |



|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| N043R-G102A-S240R                                           | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-Q109N-N116L-M222S                   | ++ |
| G020K-N062E-S101N-Q109G-N116L-S128A-L217Q                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097A-S101G-N116L-L217Q             | ++ |
| G020K-N062E-S101G-N116L-S188D                               | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101Q-Q109N-N116L-S128A-S188D             | ++ |
| G020K-I035V-G100S-S128L-L217E                               | ++ |
| N043R-S101D-G102A-S240R                                     | ++ |
| N062E-S078N-G100S                                           | ++ |
| G020K-N043R-N062E-A215T                                     | ++ |
| N062E-S240R                                                 | ++ |
| N043R-S128L-L217E-S240R                                     | ++ |
| N062E-S101D-S240R                                           | ++ |
| G020K-S101D-N116L-T213A                                     | ++ |
| G020K-S101D-N116L-S128Q-P210S-T213A                         | ++ |
| G020K-S101D-T213A                                           | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109N-N116L-S128A       | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S128A-L217Q             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-G159D-S188D-A232V-Q245R-N248D-E271F | ++ |
| S024G-G097S-S101N-Q109G-S188D-L217Q                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S101N-Q109G-N116L-                        | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| L217Q                                                       |    |
| L217E-S240R                                                 | ++ |
| S101D-L217E-S240R-E271L                                     | ++ |
| N043R-N062E-S101D-S128L-S240R                               | ++ |
| G097A-S101N-S128A-S188D-L217Q                               | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-L217Q                   | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101G-Q109N-N116L-L217Q             | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101G-Q109G-N116L-S128A-S188D-L217Q | ++ |
| G020K-N062E-S101N-Q109N-N116L-S128A-S188D                   | ++ |
| S078N-G097S-S101N-Q109N-S128A-S188D-L217Q-W241L             | ++ |
| G020K-N043R-N062E-S078N-S101D                               | ++ |
| G020K-N062E-S101D-S240R                                     | ++ |
| G020K-S101D-S128Q                                           | ++ |
| G020K-N116L-S128Q-Y209H-T213A                               | ++ |
| G020K-N043R-S078N-G100S-L217E-N218D                         | ++ |
| S024G-S101N-Q109G-S128A-S188D-L217Q                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-S188D | ++ |
| S078N-S101N-Q109G-S188D-L217Q                               | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109G-N116L-S188D-L217Q | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| G020K-N062E-S078N-S101Q-Q109N-N116L-S128A-S188D-L217Q       | ++ |
| G020K-N062E-S101G-Q109G-N116L                               | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-S188D-M222S | ++ |
| S024G-G097A-S101G-S188D-L217Q                               | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101G-S128A-S188D                         | ++ |
| G097S-S101N-Q109G-S128A-S188D                               | ++ |
| G020K-S078N-S101D-I246T                                     | ++ |
| N043R-S128L-L217E                                           | ++ |
| G020K-S101D-L217E-S240R                                     | ++ |
| S128L-L217E-T224A-E271L                                     | ++ |
| G020K-S078N-S101D-S128Q-L217E-E271L                         | ++ |
| N062E-S078N-S101D-L217E-S240R                               | ++ |
| G020K-S101D-L217E-E271L                                     | ++ |
| G020K-S078N-S128Q-L217E-S240R                               | ++ |
| G020K-N062E-S101D-N116L-T213A                               | ++ |
| G100S-S101D                                                 | ++ |
| S078N-G097S-S101G-S128A-L217Q                               | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101N-N116L-S128A-L217Q                   | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101N-N116L-L217Q                         | ++ |
| S101N-Q109G-S188D                                           | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-Q109N-N116L-S128A-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-N116L                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S101N-N116L-S128A                         | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101Q-Q109N-N116L-S128A             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-Q109G-N116L-S188D                   | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-Q109G-N116L-S128A                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-M222S | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101G-N116L-S128A             | ++ |
| S024G-S078N-G097S-S101Q-Q109G-S128A-S188D-L217Q             | ++ |
| S024G-S078N-S101G-Q109N-S188D-L217Q                         | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101G-Q109G-S188D                         | ++ |
| S078N-S101D-S128Q-L217E-S240R-E271L                         | ++ |
| G020K-S128Q-L217E                                           | ++ |
| S128Q-L217E-S240R-E271L                                     | ++ |
| G020K-S078N-S101D-L217E                                     | ++ |
| G020K-S078N-S101D-L217E-E271L                               | ++ |
| G020K-N116L-S128Q-T213A                                     | ++ |
| G020K-N116L-N123G                                           | ++ |
| S101G-S188D-L217Q                                           | ++ |
| L217E                                                       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101G-N116L-L217Q                   | ++ |
| S078N-G097A-S101G-Q109N-S128A-S188D                         | ++ |
| G020K-S078N-S128L-L217E-E271L                               | ++ |
| G020K-N062E-S101Q-Q109G-N116L                               | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| G020K-S101D-L217E                                           | ++ |
| S024G-G097A-S101N-Q109N-S128A                               | ++ |
| G020K-S078N-S101D-S128L-L217E-S240R                         | ++ |
| G097A-S101G-L217Q                                           | ++ |
| S024G-S101Q-Q109G-S128A-L217Q                               | ++ |
| G020K-N062E-N116L-T213A-M222S                               | ++ |
| G020K-S024G-N062E-T071A-S078N-G097S-S101G-N116L-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101G-N116L-S128A                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097A-S101N-N116L                   | ++ |
| G020K-N062E-G097A-S101N-N116L                               | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101N-Q109G-N116L-S128A             | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101G-Q109N-N116L             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109G-N116L-S128A-S188D-L217Q | ++ |
| G020K-N062E-S101N-Q109G-N116L-L217Q                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101N-Q109G-N116L-S188D-L217Q       | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S101G-N116L                               | ++ |
| S078N-G097S-S101N-Q109G-G159D-L217Q                         | ++ |
| S024G-G097A-S101N-Q109G-S188D                               | ++ |
| S078N-S101G-S128A-L217Q                                     | ++ |
| S078N-G097A-S101N-S128A-S188D-L217Q                         | ++ |
| S024G-G097S-S101G-S128A-S188D-L217Q                         | ++ |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| S024G-S078N-G097S-S101Q-Q109G-S128A-S188D-L217Q-V227A | ++ |
| G020K-N062E-S078N                                     | ++ |
| S078N-S128L-L217E-S240R-E271L                         | ++ |
| G020K-N062E-I072N-S101D-N116L-S128Q                   | ++ |
| G020K-T057P-N062E-N116L-S128Q-T213A                   | ++ |
| G020K-N043R-S078N-S101D-S240R                         | ++ |
| S078N-G097S-S101N-Q109N-S128A-S188D-L217Q             | ++ |
| S024G-S101N-Q109N-S128A-S188D                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-N116L-S128A             | ++ |
| S024G-S078N-G097S-S101N-Q109N-S128A-S188D             | ++ |
| N043R-G100S                                           | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101Q-Q109G-N116L-S128A             | ++ |
| S078N-S101Q-Q109N-S188D-L217Q                         | ++ |
| G020K-N116L-S128L-T213A                               | ++ |
| G020K-S078N-S101D-L217E-S240R                         | ++ |
| G020K-N062E-S101N-Q109N-N116L-M222S                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101Q-Q109N-N116L-S128A       | ++ |
| S078N-G097S-S101G-S128A-S188D                         | ++ |
| G097S-S101G-Q109N-S128A-M222S                         | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101Q-S128A-M222S                   | ++ |
| G097A-S101G-Q109N-L217Q                               | ++ |
| S024G-S078N-S101G-S128A-S188D-L217Q                   | ++ |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| S024G-G097A-S101N-Q109G-S128A-S188D                   | ++ |
| G097S-S101N-Q109G-S128A                               | ++ |
| S078N-G097A-S101Q-L217Q                               | ++ |
| G020K-N043R-S078N-S101D                               | ++ |
| G020K-N043R-E054D-N062E-S078N-S240R                   | ++ |
| G020K-S101D-S240R                                     | ++ |
| S128Q-L217E-S240R                                     | ++ |
| G020K-S128Q-L217E-V244A-E271L                         | ++ |
| G020K-L217E-E271L                                     | ++ |
| G020K-S078N-S128L-L217E                               | ++ |
| S078N-S101D-S128Q-L217E-E271L                         | ++ |
| G020K-N062E-L217E-E271L                               | ++ |
| G020K-N062E-S101D-N116L-S128Q-T213A                   | ++ |
| G020K-N062E-S078N-N116L-S128I                         | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S128Q-T213A                         | ++ |
| S024G-G097A-S101G-Q109G-S128A                         | ++ |
| S024G-G097S-S101N-Q109N-S128A-L217Q                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-S188D-L217Q | ++ |
| G020K-S101D                                           | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S128A             | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101G-N116L-S188D                   | ++ |
| N043R-S078N-G100S-S128L-S240R                         | ++ |
| G097S-S101N-Q109N-S188D                               | ++ |
| G097S-S101Q-Q109N-S128A-L217Q                         | ++ |
| G020K-N062E-S101N-Q109G-N116L-S128A-                  | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| S188D-M222S                                                 |    |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109G-N116L             | ++ |
| G020K-N062E-M222S                                           | ++ |
| G097S-S101Q-Q109G-S188D                                     | ++ |
| G020K-N062E-N116L-T213A                                     | ++ |
| G020K-S078N-L217E-S240R                                     | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101N-Q109G-N116L-S188D             | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-Q109G-N116L-S188D             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101Q-N116L-S128A-M222S             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-N116L-S188D                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101G-N116L                         | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-S188D                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-S188D-L217Q | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L                         | ++ |
| G020K-N062E-S101G-N116L-S188D-L217Q                         | ++ |
| G097A-S101N-S128A                                           | ++ |
| S101G-Q109N-S128A-M222S                                     | ++ |
| S024G-G097S-S101Q-Q109G-S188D-L217Q                         | ++ |
| G097S-S101Q-Q109N-S128A-S188D                               | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101Q-S188D-L217Q                         | ++ |
| S024G-S078N-S101G-Q109G-S128A-L217Q                         | ++ |
| G020K-N062E-S128L-S240R                                     | ++ |



|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| N062E-S078N-S128L-S240R                                         | ++ |
| N043R-G102A-S128L-L217E-S240R                                   | ++ |
| N062E-S078N-L217E-S240R-E271L                                   | ++ |
| S078N-S128Q-L217E-N269S                                         | ++ |
| G020K-N062E-N123G-T213A                                         | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S099G-N116L-S128Q-<br>T213A-L217N             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S128I-L217N                                   | ++ |
| G097A-S101Q-S128A-S188D-L217Q                                   | ++ |
| G020K-N062E-N116L                                               | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109G-<br>N116L                   | ++ |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-<br>Q109G-N116L-S188D       | ++ |
| G020K-N043R-S128L-S240R                                         | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109N-S128A                             | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101Q-N116L-L217Q                             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S128I                                         | ++ |
| G020K-S024G-N062E-L090V-G097A-S101Q-<br>N116L-M222S             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-S101Q-Q109G-N116L-<br>S188D-L217Q             | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101G-N116L-<br>S128A-S188D-L217Q       | ++ |
| G020K-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L-<br>S188D-L217Q             | ++ |
| G020K-S024G-A048V-N062E-S078N-G097A-<br>S101N-N116L-S128A-L217Q | ++ |

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| G020K-N062E-S078N-S101Q-Q109G-N116L             | ++ |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101Q-Q109G-N116L-S188D | ++ |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101N-Q109N-N116L-N218D | ++ |
| S024G-S101N-Q109G-S128A-S188D-M222S             | ++ |
| S024G-G097A-S101Q-Q109N-S188D-L217Q             | ++ |
| S024G-S078N-G097S-S101Q-Q109N-S128A-S188D       | ++ |
| S101N-Q109G-M222S                               | ++ |
| S024G-I072V-G097S-S101N-S128A-L217Q             | ++ |
| S101G-S128A                                     | ++ |
| N043R-S078N-G102A-A215G                         | ++ |
| G020K-S101D-S128L-L217E-S240R                   | ++ |
| S078N-S101D-S128Q-L217E-S240R                   | ++ |
| G020K-N116L-S128L-M222S                         | ++ |
| G020K-N062E-S078N-N116L-T213A-M222S             | ++ |
| G020K-N062E-S078N-N116L-S128Q                   | ++ |
| G020K-N062E-T213A                               | ++ |
| G020K-N062E-S078N-N116L-N123G-M222S             | ++ |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109N-L217Q             | +  |
| G020K-G102A-S128L                               | +  |
| G020K-S078N-S101D-S128Q                         | +  |
| S024G-S078N-G097A-S101N-S128A                   | +  |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109G-N116L-S188D       | +  |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| G020K-S078N-S101D-S240R                                     | + |
| G020K-N043R-S128L-L217E-S240R                               | + |
| S078N-S101G-Q109N-L217Q                                     | + |
| S024G-G097S-S101N-S128A-S188D                               | + |
| S078N-L217E-E271L                                           | + |
| G097S-S101Q-Q109N-L217Q                                     | + |
| G020K-N062E-N116L-M222S                                     | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-S128Q-T213A                         | + |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109G-N116L-S188D-L217Q             | + |
| S024G-S078N-G097A-S101Q-S128A-L217Q                         | + |
| S078N-S101D-S128L-E271L                                     | + |
| G020K-N062E                                                 | + |
| G020K-N062E-S101N-N116L                                     | + |
| G020K-N062E-S101Q-Q109N-N116L-M222S                         | + |
| G020K-N062E-S101Q-Q109G-N116L-M222S                         | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101G-Q109G-N116L-L217Q-M222S | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-M222S             | + |
| G020K-N062E-S078N-S101N-Q109N-N116L-S188D-M222S             | + |
| G020K-S024G-N062E-S101N-Q109N-N116L-S188D-M222S             | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-N116L-L217Q                   | + |
| G020K-N062E-G097S-S101N-Q109G-N116L-S128A-S188D             | + |

|                                                 |   |
|-------------------------------------------------|---|
| S078N-G097A-S101Q-Q109G-S128A                   | + |
| S024G-G097A-S101N                               | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109N-S128A-S188D             | + |
| G097A-S101N-S128A-S188D                         | + |
| S024G-G097S-S101G-S128A-L217Q                   | + |
| S078N-G097A-S101G-Q109N-S128A-L217Q             | + |
| S024G-G097S-S101Q-Q109N-S128A                   | + |
| G097A-S101N-Q109G-S128A                         | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109G-L217Q                   | + |
| S024G-S078N-A085G-G097A-S101N-S128A-S188D-M222S | + |
| S024G-S078N-G097S-S101Q-L217Q                   | + |
| S024G-S101D-S128Q-L217E                         | + |
| S078N-G097A-S101N-M222S                         | + |
| S024G-N076K-S078N-G097A-S101G-S128A-S188D-M222S | + |
| S024G-S101G-S128A-M222S                         | + |
| S024G-S078N-G097A-S101G-S188D                   | + |
| G102A-L217E-N218D                               | + |
| S078N-G100S-S101D                               | + |
| G020K-N043R-N062E-S078N-S128L-L217E             | + |
| G020K-N043R-S101D-S128L                         | + |
| G020K-G100S-S101D-S128L-S240R                   | + |
| S078N-S128Q-L217E                               | + |
| G020K-S078N-L217E-E271L                         | + |
| N062E-S078N-L217E                               | + |
| N062E-L217E                                     | + |

|                                                       |   |
|-------------------------------------------------------|---|
| G020K-S078N-S101D-S128Q-L217E                         | + |
| G020K-S078N-S101D-S128L-S240R                         | + |
| S128L                                                 | + |
| G020K-N123G                                           | + |
| G020K-S128Q-T213A-M222S                               | + |
| S078N-L217E                                           | + |
| G020K-N062E-S128I-L217N                               | + |
| G020K-N062E-S078N-S128Q-L217N                         | + |
| G097S-S101N-Q109G-S128A-S188D-M222S                   | + |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109N-N116L-S188D             | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-S128I-L217N                   | + |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109G-S188D                   | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109N-L217Q                         | + |
| G020K-S101D-S128L                                     | + |
| S101N-Q109G-S128A                                     | + |
| S078N-S101D-L217E                                     | + |
| S024G-S078N-S101N-S128A-M222S                         | + |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101Q-N116L-S128A-S188D       | + |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109N-S128A-M222S             | + |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101N-N116L-S128A-S188D-L217Q | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S188D       | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101G-N116L-M222S             | + |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101N-N116L-M222S                   | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-N116L                         | + |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109G-N116L-S128A-S188D             | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A-S188D-L217Q | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101N-N116L                         | + |
| S024G-S078N-S101G-Q109G-M222S                               | + |
| S078N-G097A-S101G-Q109G-S128A                               | + |
| S078N-G097S-S101N-Q109N-S128A                               | + |
| S078N-G097A-S101N-Q109N-S188D                               | + |
| S024G-S101N-S128A-S188D-M222S                               | + |
| S101Q-Q109N-S188D-M222S                                     | + |
| S101D-G102A-L217E                                           | + |
| G020K-N062E-S078N-S101D-L217E                               | + |
| G020K-S078N-S101D-I107T-S128L-S240R                         | + |
| G020K-S078N-G100S-L217E-N218D                               | + |
| G020K-N043R-S101D                                           | + |
| N043R-G100S-S128L-L217E                                     | + |
| G020K-S078N-S101D-S128L-L217E-E271L                         | + |
| G020K-S101D-S128L-E271L                                     | + |
| G020K-S101D-N116L-S128L-T213A                               | + |
| G020K-N062E-S078N-T213A-L217N                               | + |
| G020K-N062E-N116L-L217N                                     | + |
| G020K-N062E-S128I-T213A                                     | + |
| N062E-S101D-S128L-S240R                                     | + |

|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| G097S-S101N-S128A                                                 | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-T213A-L217N                               | + |
| G020K-S101D-M222S                                                 | + |
| S024G-S101G-Q109G                                                 | + |
| G097A-S101Q-Q109G                                                 | + |
| G097S-S101Q-Q109N-S188D                                           | + |
| G020K-N062E-G097S-S101N-N116L-S128A-S188D-L217Q                   | + |
| S078N-S101Q-S128A-M222S                                           | + |
| S078N-G097A-S101Q-Q109N                                           | + |
| S024G-S078N-G097A-S101Q-S128A-S188D                               | + |
| S078N-S101D-G102A                                                 | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109G-N116L-S128A-S188D-M222S       | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109N-N116L-S188D-L217Q-M222S | + |
| G020K-N062E-G097S-S101Q-N116L-S128A                               | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-N116L-S128A-S188D-L217Q             | + |
| S024G-S101N-Q109N-S128A                                           | + |
| S024G-G097S-S101Q-S128A-S188D                                     | + |
| S024G-S101Q-L217Q                                                 | + |
| G097S-S101G-S128A                                                 | + |
| S024G-S078N-S101Q-S128A-L217Q                                     | + |
| S024G-S078N-G097S-S101N-S188D                                     | + |
| S024G-G097A-S101N-S128A-M222S                                     | + |
| G097A-S101Q-Q109N-S188D-M222S                                     | + |

|                                                 |   |
|-------------------------------------------------|---|
| S024G-S078N-G097S-S101Q                         | + |
| G020K-S101D-S128L-S212P-L217E-S240R             | + |
| G020K-S101D-S128L-L217E-N218S-S240R             | + |
| S101D-S128Q                                     | + |
| G020K-N062E-S078N-E271L                         | + |
| S101D-E271L                                     | + |
| S101D-S240R-E271L                               | + |
| G020K-S101D-E271L                               | + |
| G020K-N116L-S128L-T213A-M222S                   | + |
| G020K-N116L-S128Q-M222S                         | + |
| G020K-N062E-V084A-S128Q-M222S                   | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L                         | + |
| S078N-S101N-Q109G-S128A-M222S                   | + |
| S024G-G097S-S101Q-Q109G                         | + |
| G020K-N062E-T213A-L217N                         | + |
| G097S-S101G-S128A-S188D                         | + |
| G020K-S240R                                     | + |
| N062E-S078N                                     | + |
| G020K-S128Q-M222S                               | + |
| S078N-G097S-S101G-Q109G                         | + |
| G020R-S024G-N043R-S078N-S101Q                   | + |
| G097S-S101N-Q109G-S128A-M222S                   | + |
| S024G-G097S-S101G-Q109N                         | + |
| S024G-S078N-G097A-S101G-Q109N                   | + |
| G020K-N062E-S078N-S101N-N116L-S128A-S188D-L217Q | + |
| G020K-N062E-S101Q-Q109G-N116L-S128A-            | + |



M222S

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109N-N116L | + |
| S024G-S078N-S101Q-M222S             | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109G-S128A       | + |
| S101Q-Q109N-L217Q                   | + |
| S101Q-Q109G-S188D-L217Q             | + |
| S024G-G097A-S101N-S188D-M222S       | + |
| S024G-S078N-G097A-S101Q-Q109N       | + |
| G097A-S101Q-S128A                   | + |
| G097A-S101Q-Q109G-S128A             | + |
| S024G-G097S-S101Q-M222S             | + |
| S078N-S101D-L217E-S240R             | + |
| G020K-G100S-S128L                   | + |
| G020K-N043R-S078N-S128L-S240R       | + |
| G020K-N043R-S101D-S240R             | + |
| G020K-N043R-S078N-S128L             | + |
| N062E-S128L                         | + |
| G020K-S078N-S101D-S128L             | + |
| S078N-S101D                         | + |
| S101D                               | + |
| G020K-S101D-N116L-T213A-M222S       | + |
| G020K-T213A-M222S                   | + |
| G020K-N116L-T213A                   | + |
| G020K-N116L                         | + |
| G020K-N062E-S128Q-L217N             | + |
| S078N-G097S-S101G-Q109N-S128A       | + |

|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| S078N-S101Q-Q109G                                                 | + |
| N062E-S078N-S128L                                                 | + |
| G020K-N062E-N116L-S128Q-T213A-L217N                               | + |
| G020K-N116L-T213A-M222S                                           | + |
| G020K-S024G-N062E-S101Q-Q109H-N116L-M222S                         | + |
| G020K-N116L-S128Q-T213A-M222S                                     | + |
| S024G-G097S-S101N                                                 | + |
| G020K-P055T-N062E-N116L-L217N                                     | + |
| S024G-S101Q-S128A-S188D-M222S                                     | + |
| G020K-M222S                                                       | + |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101N-N116L-S188D-L217Q                   | + |
| G097S-S101G-Q109N-M222S                                           | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097A-S101N-N116L-S128A-L217Q-M222S       | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A-S188D-L217Q-M222S | + |
| G020K-N062E-S078N-S101Q-N116L-S128A                               | + |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-S188D-L217Q-M222S                         | + |
| S101N-Q109N-S128A-M222S                                           | + |
| S101Q-Q109G-S128A-S188D                                           | + |
| G097A-S101G-S188D-M222S                                           | + |
| S078N-G097S-S101N-Q109G-S128A-S188D-L217Q-M222S                   | + |
| S024G-G097A-S101Q-M222S                                           | + |
| S024G-G097S-S101N-Q109N-S128A-M222S                               | + |

|                                                       |   |
|-------------------------------------------------------|---|
| S024G-S078N-G097S-S101N-M222S                         | + |
| G020K-G102A-S240R                                     | + |
| S078N-S128Q-E271L                                     | + |
| G020K-N062E-S078N-S128Q                               | + |
| G020K-N062E-S078N-T213A-M222S                         | + |
| G020K-N062E-S078N-S128I-T213A-L217N                   | + |
| S078N-G097A-S101N                                     | + |
| G020K-N062E-N116L-S128I-T213A-L217N                   | + |
| S024G-G097A-S101Q-S128A-S188D-M222S                   | + |
| S024G-S078N-G097A-S101N                               | + |
| S024G-S078N-G097S-S101G-M222S                         | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-S128Q-T213A-M222S             | + |
| G020K-N062E-S128Q-M222S                               | + |
| G020K-N062E-S101Q-N116L                               | + |
| G020K-N062E-S101Q-Q109G-N116L-S188D-L217Q             | + |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101N-N116L-S128A-S188D       | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-S101Q-Q109G-N116L-S188D-M222S | + |
| S078N-G097S-S101N-Q109G-S128A-L217Q-M222S             | + |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-S128A-L217Q-M222S             | + |
| G097A-S101Q-S128A-S188D                               | + |
| S024G-S078N-G097A-S101N-Q109N-S128A-S188D-L217Q-M222S | + |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| S024G-S078N-G097A-S101G-L217E-M222S                         | + |
| S078N-G097S-S101Q-Q109G-T274I                               | + |
| G097A-S101G-M222S                                           | + |
| S101N-Q109N                                                 | + |
| G020K-L217E-S240R-E271L                                     | + |
| S128Q-S240R-E271L                                           | + |
| G020K-S101D-N116L-S128Q-M222S                               | + |
| G020K-P055L-N062E-N116L-S128I                               | + |
| G020K-N062E-S101G-N116L-S128A-M222S                         | + |
| G020K-S078N-S101D-S128L-S240R-E271L                         | + |
| G020K-T213A                                                 | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109N-N116L-L217Q-M222S       | + |
| S078N-S101D-S240R-E271L                                     | + |
| S024G-S078N-S101N-Q109G-L217Q-M222S                         | + |
| G097A-S101G-Q109G-L217Q-M222S                               | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-N116L-S128A-L217Q-M222S | + |
| G020K-S078N-S128L-E271L                                     | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-L217N                               | + |
| G097A-S101G-Q109G-S188D-L217Q-M222S                         | + |
| S024G-S078N-G097S-S101N-Q109G-S128A                         | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101N-N116L-S188D-M222S       | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101Q-N116L-S128A-M222S             | + |
| G020K-N062E-S078N-G097A-S101G-Q109G-N116L-S128A-S188D-L217Q | + |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| G020K-N062E-S101G-N116L-S128A-L217Q-M222S                   | + |
| S024G-G097A-S101Q-S188D-M222S                               | + |
| S024G-S101G                                                 | + |
| I072V-S101Q-S128A                                           | + |
| S078N-G097S-S101N-Q109N                                     | + |
| S024G-G097A-S101N-Q109N-S188D-L217Q-M222S                   | + |
| S078N-S101Q-Q109N-S188D-L217Q-M222S                         | + |
| G020K-N043R-N062E-S128L-L217E                               | + |
| N043R-G102A-S128L-S240R                                     | + |
| G020K-N116L-N123G-T213A-M222S                               | + |
| G020K-S101D-S128Q-T213A-M222S                               | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109G                                     | + |
| G020K-S078N                                                 | + |
| G020K-N062E-S101Q-N116L-S188D                               | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101N-Q109G-N116L-S188D-L217Q-M222S | + |
| G020K-S024G-N062E-G097S-S101G-N116L-S128A-L217Q-M222S       | + |
| G020K-N062E-G097A-S101N-N116L-S128A-L217Q-M222S             | + |
| S078N-G097S-S101G-Q109N-M222S                               | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109N                                     | + |
| S024G-G097S-S101N-Q109N-S128A-S188D-L217Q-M222S             | + |
| S078N-S101N-Q109N-S188D-L217Q-M222S                         | + |
| S078N-S101D-S128L-L217E-S240R                               | + |

|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| G020K-N062E-S101D-N116L-S128L                                     | + |
| G097S-S101N-S188D-M222S                                           | + |
| G020K-S078N-S128L-S240R-E271L                                     | + |
| G020K-N062E-N116L-S128I-T213A                                     | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S188D-M222S             | + |
| G020K-N062E-S101Q-Q109G-N116L-L217Q-M222S                         | + |
| G020K-S024G-N062E-G097A-S101Q-N116L-L217Q-M222S                   | + |
| G020K-N062E-S078N-G097S-S101Q-N116L-S128A-S188D-M222S-A232T       | + |
| G020K-S024G-N062E-S078N-G097S-S101Q-Q109N-N116L-S128A-L217Q-M222S | + |
| G020K-N062E-G097A-S101Q-N116L-S188D-M222S                         | + |
| S024G-S078N-G097S-S101N-Q109G-S128A-L217Q-M222S                   | + |
| S024G-G097A-S101Q-Q109N-S128A-S188D-L217Q-M222S                   | + |
| G020K-N043R                                                       | + |
| G020K-N043R-S078N-G102A-S128L                                     | + |
| G097R-S101D                                                       | + |
| G020K-N062E-S078N-I107V-N123G-S128I                               | + |
| G020K-N062E-S078N-N116L-N123G-T213A                               | + |
| G020K-N062E-N116L-S128I-M222S                                     | + |
| G020K-N043R-S240R                                                 | + |
| S078N-S101D-S128L                                                 | + |

|                                           |   |
|-------------------------------------------|---|
| G020K-S078N-S128Q-E271L                   | + |
| S078N-S101G-S128A-S188D-L217Q-M222S       | + |
| S078N-G097S-S101G-Q109N-S128A-L217Q-M222S | + |
| S240R                                     | + |
| G020K-N062E-N116L-S128Q-T213A-M222S       | + |

**TABLO 2-4: Grup C1 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

**Tablo 1’de açıklandığı üzere Deterjan Bileşimi 106’da PI> veya = 1.50, +++’dır; 1.49 ile 1.20 arasında PI = ++; 1.19 ile 1.1 arasında PI = +**

| <b>GG36 Varyantlarının Dizisi (BPN' GG36'ya göre PI; BMI numaralandırması)</b> | <b>analizi, 25°C’de Deterjan 106</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-N204S-G211Q                                      | +++                                  |
| T022W-S024R-S101A-P210I-T213A                                                  | +++                                  |
| G020R-S101A-G211Q                                                              | +++                                  |
| G020R-S024R-S101A-P210I-G211Q-T213A                                            | +++                                  |
| G020R-S101A-P210I-T213A                                                        | +++                                  |
| T022W-S024R-N043R-S101A-P210I                                                  | +++                                  |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q                                            | +++                                  |
| T022R-S101T-S103N-V104L-A232M-Q245R                                            | +++                                  |
| G020R-T022A-S024R-R045T-S101A-T213A                                            | +++                                  |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232M-Q245R                                            | +++                                  |
| G020R-T022W-S024R-S101A-N116L-G211Q-T213A                                      | +++                                  |
| G020R-T022W-N043R-S101A-N116L-G211Q                                            | +++                                  |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A                                                  | +++                                  |

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| T022W-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                       | +++ |
| G020R-S024R-R045T-S101A-Q109R-P210I-<br>G211Q-T213A       | +++ |
| S024R-N043K-S101A-N204D-P210I                             | +++ |
| G020R-S024R-R045T-S101A-P210I                             | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                       | +++ |
| G020R-S024R-R045T-S101A-T213A                             | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245R                       | +++ |
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-N204S-<br>P210I-G211Q       | +++ |
| T022W-N043R-S101A-P210I-G211Q                             | +++ |
| G020R-S024R-N043K-R045T-S101A-N116L-<br>P210I             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-I107V-L217Q-<br>A232V-Q245R       | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q-T213A                       | +++ |
| T022R-S101A-S103G-V104I-A232M-Q245R                       | +++ |
| T022R-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245R                       | +++ |
| S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R                       | +++ |
| S024R-N043R-S101A-P210I-T213A                             | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-T213A                       | +++ |
| T022K-S101N-S103A-V104I-A232T-Q245R                       | +++ |
| G020R-N043R-S101A-P210I-G211Q                             | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232M-Q245R                       | +++ |
| S024R-V026A-N043R-S101A-P210I-G211Q                       | +++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-<br>L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022K-S101T-S103G-V104I-A232L-Q245R                       | +++ |



|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-Q245R                         | +++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129S-A232V-Q245R       | +++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-N043R-S101A-G211Q-T213A                   | +++ |
| N018K-G020R-S024R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A       | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A                   | +++ |
| T022R-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S101A-T213A                               | +++ |
| T022R-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| G020R-T022W-S024R-S101A-G211Q-T213A                   | +++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104L-A232L-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S101A-G211Q-T213A                         | +++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-N043R-V051A-S101A-P210I-G211Q             | +++ |
| S024R-S078G-G118D-Q245R                               | +++ |
| N043R-S101A-P210I                                     | +++ |
| T022Y-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245R                   | +++ |
| G020R-T022W-N043R-S101A-T213A                         | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-F050L-S101A-G211Q-T213A                   | +++ |
| N018S-T022W-S024R-N043R-S101A-G211Q                         | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| S101A-P210I-G211Q-T213A                                     | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A                   | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232M-Q245S                         | +++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-G211Q                         | +++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-Q245R                               | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-S101A-P210I-G211Q-T213A             | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-V051A-S101A-P210I-G211Q             | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129S-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S078G-G118D-Q245R-N248D-H249R                         | +++ |
| T022K-S101A-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | +++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-N043R-R045T-S101A-P210I                               | +++ |
| T022A-S024G-G061R-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022Q-S101T-S103A-V104L-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-G211Q                         | +++ |
| P014R                                                       | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104L-A232M-Q245R                         | +++ |
| T022K-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-Q245R                               | +++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S101A-P210I-T213A                               | +++ |
| T022K-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022Y-S101T-S103A-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A             | +++ |
| G020R-R045T-S101A-P210I-T213A                               | +++ |
| G020R-S078D-G118S-Q245R-H249R                               | +++ |
| G020R-T022W-R045T-V051A-S101A                               | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| N043R-S101A                                                 | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q-                        | +++ |

T213A

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S101G-S103G-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |
| G020R-S101A-P210I                                           | +++ |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-N043R-V051A-S101A                               | +++ |
| G020R-T022W-N043R-S101A                                     | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-S101A-P210I                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A             | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-T213A                               | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | +++ |
| G020R-S101A-N116L-P210I-G211Q                               | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104L-A232L-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A                                     | +++ |
| T022R-S101G-S103A-V104L-A232T-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-S101A-G211Q                                     | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129S-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022K-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A                               | +++ |
| T022Y-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I-                        | +++ |

G211Q-T213A

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-N043R-S101A-P2101                                     | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| P055R                                                       | +++ |
| T022A-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-N076D-S101A-P210I-T213A             | +++ |
| G020R-T022W-S101A-P210I-T213A                               | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104L-A232L-Q245R                         | +++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022K-S101N-S103A-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                   | +++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-G097S-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-Q245R                         | +++ |
| T022K-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-P210I-T213A             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-S188D-Q245R                   | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245W                   | +++ |
| T022R-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | +++ |
| T022Q-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245R                   | +++ |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-P210I                   | +++ |
| T022R-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245R                   | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-N116L-G211Q-T213A             | +++ |
| T022Q-S101A-S103N-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I             | +++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S078D-G118D-Q245R-H249R                         | +++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-P210I-G211Q-T213A             | +++ |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245W                   | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101T-S103N-V104L-A232L-Q245R                               | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245R                               | +++ |
| G020R-N043R-S101A-P210I-T213A                                     | +++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-N116L-G211Q-T213A                         | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I-G211Q                         | +++ |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| E271R                                                             | +++ |
| T022K-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245R                               | +++ |
| N043R-S101A-P210I-G211Q                                           | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-Q245R                         | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245S                               | +++ |
| E271W                                                             | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I-T213A                         | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-E089G-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232L-Q245R                               | +++ |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245S                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232M-Q245R                               | +++ |
| G020R-T022W-S024R-S101A-T213A                                     | +++ |

|                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-P210I                                   | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-S101A-T213A                                   | +++ |
| T022A-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-<br>L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-<br>V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S101A-T213A                                                     | +++ |
| E271S                                                                 | +++ |
| G020R-S078G-G118S-Q245R-N248D-H249R                                   | +++ |
| N043K                                                                 | +++ |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245R                                   | +++ |
| T022Q-S101A-S103A-V104I-A232L-Q245R                                   | +++ |
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-T213A                                   | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D-<br>H249R                         | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101G-S103A-<br>V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101G-S103A-V104I-<br>L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-S101A-N116L-P210I                                   | +++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-T213A                                   | +++ |
| T022A-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-<br>L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-L217Q-<br>A232V-Q245R                   | +++ |
| T022R-S101N-S103G-V104L-A232V-Q245R                                   | +++ |



|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-T022W-S024R-S101A-P210I-T213A                             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R                             | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R                             | +++ |
| T022Y-S101T-S103A-V104I-A232M-Q245R                             | +++ |
| G020R-N043R-R045T-V051A-S101A-P210I-<br>G211Q-T213A             | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-<br>T213A                   | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101G-S103A-<br>V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-L217Q-<br>A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S101A-P210I-G211Q                                   | +++ |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245R                             | +++ |
| G020R-N043R-S101A-G211Q-T213A                                   | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-P129S-L217Q-<br>A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245R                             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-<br>N248D-H249R             | +++ |
| G020R-T022W-R045T-S101A-P210I-G211Q                             | +++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R                   | +++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-S105G-A232V-<br>Q245R                   | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-<br>A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245R                             | +++ |
| T022Q-S101N-S103N-V104L-A232V-Q245R                             | +++ |

|                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S101N-S103N-V104L-A232M-Q245R                         | +++ |
| T022Q-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022Q-S101A-S103A-V104L-A232L-Q245R                         | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-G211Q-T213A                         | +++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-P129S-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-R045T-S101A-G211Q-T213A                         | +++ |
| T022A-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A             | +++ |
| T022R-S101N-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | +++ |
| T022Y-S101G-S103A-V104I-A232M-Q245R                         | +++ |
| T022R-S101G-S103G-V104I-A232T-Q245R                         | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-N248D-H249R                         | +++ |
| T022A-S101A-S103N-V104L-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022W-S024R-S101A-N116L-G211Q                               | +++ |
| G020R-S024R-S101A-T208A-P210I-G211Q                         | +++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A             | +++ |
| T022Y-S101G-S103N-V104I-A232M-Q245R                         | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104L-A232T-Q245S                         | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-Q245R-N248D                   | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-S101A                                     | +++ |
| T022W-S024R-N043R-S101A-P210I-G211Q                   | +++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-P210I-G211Q                   | +++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-H249R                   | +++ |
| G020R-S024R-G047C-S101A-G211Q                         | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R             | +++ |
| T022A-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-S101T-S103N-V104L-A232M-Q245R                   | +++ |
| N018S-G020R-T022W-N043R-S101A-G211Q                   | +++ |
| T022Y-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245R                   | +++ |
| T022K-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104L-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-P129S-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S078G-G118S-P129E-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022A-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022Y-S101A-S103G-V104I-A232M-Q245R                   | +++ |
| S024R-S101A-G211Q                                     | +++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-S128A-                  | +++ |

A232V-Q245R

R045T-S101A-I107V-Q109R-P210I-G211Q-  
T213A +++

T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-L217Q-  
A232V-Q245R +++

T022K-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245R +++

Q012R-T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-  
Y209A-T213A-A232V +++

T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I +++

T022A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R +++

T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-  
V104I-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078G-G118S-G159D +++

T022Y-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245R +++

T022Q-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245R +++

S024R-S101A-P210I-T213A +++

T022A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-  
Q245R +++

T022A-S101G-S103N-V104L-A232L-Q245R +++

T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-  
S128A-A232V-Q245R +++

T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-P129S-  
A232V-Q245R +++

T022A-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245R +++

S024R-S101A-P210I +++

T022Y-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245R +++

G020R-T022W-N043R-S101A-N116L +++

T022Q-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245R +++

|                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|
| S024R-S101A                                                     | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-<br>Q109N-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-G211Q-<br>T213A                   | +++ |
| S212W                                                           | +++ |
| T022K-S101G-S103A-V104L-A232M-Q245R                             | +++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-L217Q-<br>A232V-Q245R             | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A                                         | +++ |
| G020R-S101A                                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-Q245R-<br>N248D-H249R             | +++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245R                             | +++ |
| S056K                                                           | +++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-<br>A232V-Q245R-A270V       | +++ |
| T022R-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245S                             | +++ |
| G020R-T022W-R045T-S101A-P210I-G211Q-<br>T213A                   | +++ |
| T022K-S101N-S103N-V104L-A232L-Q245R                             | +++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-V147I-<br>P210I-G211Q-T213A       | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-<br>A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-<br>L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-Q245R-<br>N248D-H249R             | +++ |

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| S078G-G118D-Q245R-H249R                                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-<br>Q245R-A272V       | +++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R             | +++ |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-<br>A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-S101A-P210I-<br>T213A             | +++ |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| S056R                                                     | +++ |
| T022Y-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245R                       | +++ |
| T022R-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245S                       | +++ |
| T022W-S101A-P210I-G211Q                                   | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104L-A232T-Q245S                       | +++ |
| T022Y-S101A-S103G-V104I-A232T-Q245R                       | +++ |
| T022R-S101T-S103A-V104L-A232T-Q245R                       | +++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-A232T-Q245R                       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-<br>H249R             | +++ |
| V030I-N043R-S101A-G211Q-T213A                             | +++ |
| T022A-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245R                       | +++ |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-S128A-<br>A232V-Q245R       | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-<br>Q245R             | +++ |
| G020R-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-<br>H249R             | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A270V             | +++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R       | +++ |
| T022A-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| G020R-T022W-S101A-T213A                               | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R             | +++ |
| T022Q-S101N-S103N-V104L-A232L-Q245R                   | +++ |
| N018S-G020R-S101A-P210I-G211Q                         | +++ |
| G020R-S078D-G118S-S188D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245R                   | +++ |
| T022R-S101T-S103G-V104L-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A270V-A272V | +++ |
| T022Q-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245S                   | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-G211Q                         | +++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245S                   | +++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R       | +++ |
| S024R-S078G-G118S-T180N-Q245R-N248D                   | +++ |
| V004M                                                 | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245R                   | +++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-A230T-A232V-Q245R       | +++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104I-A232L-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R-N248D             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R             | +++ |
| G020R-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                   | +++ |
| S024R-S078D-G118D-Q245R-H249R                         | +++ |
| G020R-S024R-N043R-R045T-S101A-Q109R-T213A             | +++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-N204D-G211Q-T213A             | +++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-N248D                         | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D             | +++ |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-H249R                   | +++ |
| T022K-S101T-S103N-V104L-A232V-Q245R                   | +++ |
| S024R-S078G-G118S-Q245R                               | +++ |
| T022A-S101A-S103G-V104I-A232L-Q245R                   | +++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | +++ |



|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S078D-G118S-Q245R                                           | +++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-Q245R-A270V-A272V | +++ |
| S101A-P210I-T213A                                                 | +++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| A114L                                                             | +++ |
| A016S-T022A-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-T213A-A232V       | +++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245S                               | +++ |
| T022Q-S101N-S103A-V104I-A232M-Q245W                               | +++ |
| T022W-S024R-S101A-N204S-G211Q-T213A                               | +++ |
| T022A-S101N-S103A-V104L-A232M-Q245R                               | +++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S078D-G118S-P129E-Q245R-H249R                               | +++ |
| T022Q-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245S                               | +++ |
| S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A                         | +++ |
| T022R-S101N-S103G-V104I-A232T-Q245R                               | +++ |
| S024R-S101A-P210I-G211Q-T213A                                     | +++ |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-S188D-N248D-H249R                         | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S024R-R045T-S101A-P210I-T213A                   | +++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245W                   | +++ |
| T022K-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | +++ |
| T022W-S024R-S101A-G211Q-T213A                         | +++ |
| S024R-N043R-S101A-P210I-G211Q                         | +++ |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245R                   | +++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A272V             | +++ |
| T022K-S101G-S103N-V104L-A232M-Q245R                   | +++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R | +++ |
| S078D-G118S-G159D-Q245R-H249R                         | +++ |
| G020R-T022W-S024R-A069T-S101A-P210I-T213A             | +++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q       | +++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R       | +++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D-                  | +++ |

H249R

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| T022W-R045T-S101A-T213A                                           | +++ |
| T022Y-S101N-S103A-V104I-A232T-Q245R                               | ++  |
| G020R-R045T-S101A-P210I-G211 Q-L267F                              | ++  |
| T022Y-S101N-S103N-V104L-A232M-Q245R                               | ++  |
| T022A-P052T-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                   | ++  |
| T022A-S101G-S103N-V104L-A232T-Q245R                               | ++  |
| T022Y-S101A-S103N-V104L-A232V-Q245R                               | ++  |
| T022A-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245R                               | ++  |
| T022Y-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245R                               | ++  |
| T022Y-S101G-S103A-V104I-A232T-Q245R                               | ++  |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | ++  |
| T022A-S101N-S103N-V104L-A232M-Q245R                               | ++  |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-A232V-Q245R                   | ++  |
| T022A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R                         | ++  |
| S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R-H249R                               | ++  |
| T022K-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245R                               | ++  |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245S                               | ++  |
| T022Q-S101N-S103N-V104I-A232M-Q245R                               | ++  |
| S024R-S078G-G118D-Q245R-H249R                                     | ++  |
| T022R-S101N-S103N-V104L-A232V-Q245R                               | ++  |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R                   | ++  |
| G020R-S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-                              | ++  |

N248D

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| T022Y-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101N-S103A-V104L-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101N-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022R-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245S                         | ++ |
| G020R-S078D-G118D-G159D-Q245R-H249R                         | ++ |
| T022R-S101N-S103A-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| T022R-S101G-S103N-V104L-A232T-Q245S                         | ++ |
| G020R-T022W-N043R-R045T-S101A-G211Q-T213A                   | ++ |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | ++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-N204D-T213A                         | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R             | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R-N248D-H249R             | ++ |
| S024R-N043R-S101A-P2101                                     | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A270V             | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-H249R                               | ++ |
| S024R-S078G-G118S                                           | ++ |
| T022R-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245S                         | ++ |
| S024R-N043K-R045T-S101A                                     | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-                        | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| A232V-Q245R-T274A                                           |    |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245W                         | ++ |
| S024R-S078G-G118S-P129E-Q245R-H249R                         | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| V026W                                                       | ++ |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245W                         | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-N248D                               | ++ |
| G020R-R045T-S101A-N204S-P210I                               | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-N248D-H249R                   | ++ |
| T022Y-S101A-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| S024R-S101A-P210I-G211Q                                     | ++ |
| T022R-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245S                         | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R       | ++ |
| G020R-S078G-G118S-H249R                                     | ++ |
| S078G-G118S-Q245R-H249R                                     | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| T022Y-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022K-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R-H249R                   | ++ |
| T022Q-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-Q245R-N248D                   | ++ |
| T022A-S024G-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104L-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104L-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R       | ++ |
| S024R-N043R-S101A-G211Q-T213A                               | ++ |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| S024R-S078G-G118S-Q245R-N248D                               | ++ |
| G020R-T022W-S024R-N043R-S101A-N204S-P210I-G211Q             | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-                        | ++ |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R                                     |    |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129S-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022R-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245S                               | ++ |
| T022A-S024G-I072V-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| T022K-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245W                               | ++ |
| G020R-T022W-S024R-R045T-S101A-N116L-P210I                         | ++ |
| T022R-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245W                               | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022Y-S101T-S103N-V104L-A232V-Q245R                               | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118S-N248D                               | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                               | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022R-S101N-S103A-V104I-A232L-Q245S                               | ++ |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-                              | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| L217Q-A232V-Q245R                                           |    |
| T022R-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245W                         | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022A-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-P129S-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S101T-S103A-V104I-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022A-A085T-G097S-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-S101T-S103N-V104L-S105G-A232M-Q245R                   | ++ |
| T022A-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245S                         | ++ |
| T022Q-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-H120Q-S128A-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-Q245R                         | ++ |
| T022K-S101G-S103G-VI041-A232V-Q245R                         | ++ |
| S078G-G118S-S188D-Q245R-H249R                               | ++ |
| T022W-N043R-S101A-G211Q-T213A                               | ++ |



|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Y-S101A-S103N-V104L-A232M-Q245R                               | ++ |
| G020R-T022W-S101A-N116L-G211Q-T213A                               | ++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-T213A                               | ++ |
| N043R-S101A-G211Q-T213A                                           | ++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104L-A232L-Q245R                               | ++ |
| T255G                                                             | ++ |
| T022A-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022W-S024R-N043R-S101A-P210I-T213A                               | ++ |
| N269K                                                             | ++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232L-Q245S                               | ++ |
| T022A-S024G-I072V-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| T022K-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| H017R-N043R-R045T-S101A-P210I-T213A                               | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-S024G-V026A-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232L-Q245R                               | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| T022W-S024R-S101A-P210I-G211Q-T213A                         | ++ |
| T022Q-S101N-S103A-V104I-A232M-Q245R                         | ++ |
| G020R-R045T-S101A                                           | ++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232L-Q245R                         | ++ |
| S024R-S078D-G118D-P129E-Q245R-H249R                         | ++ |
| T022R-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245S                         | ++ |
| G020R-S101A-P210I-G211Q                                     | ++ |
| T022W-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q                         | ++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232M-Q245S                         | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245S                         | ++ |
| T022Q-S101G-S103N-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022K-T038I-S101G-S103A-V104I-A232T-Q245S                   | ++ |
| N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q                               | ++ |
| T022K-S101T-S103A-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022Y-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | ++ |
| G020R-S024R-N043R-S101A-P210I-T213A                         | ++ |
| S099G-S101G                                                 | ++ |
| T022A-S101N-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R | ++ |
| T022R-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245W                         | ++ |
| T022W-N043R-R045T-S101A-P210I                               | ++ |
| T022K-S101A-S103G-V104I-A232T-Q245R                         | ++ |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| T022Q-S101N-S103A-V104I-A232T-Q245S                               | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-P129S-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |
| S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R                                     | ++ |
| T022K-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245R                               | ++ |
| A098F-S099A-V104I                                                 | ++ |
| G020R-R045T-S101A-G211Q-T213A                                     | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| S024R-S078D-G118S-G159D-Q245R                                     | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R             | ++ |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245S                               | ++ |
| A114T                                                             | ++ |
| T022Q-S101N-S103N-V104L-A232T-Q245R                               | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022K-S101T-S103A-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-G211Q-A232V                   | ++ |

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245W                             | ++ |
| G020R-T022W-S024R-S101A-N116L-G211Q                             | ++ |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-<br>L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| G020R-R045T-S101A-G211Q                                         | ++ |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101G-S103A-<br>V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| S024R-S101A-T213A                                               | ++ |
| T022A-S078N-S101G-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R                   | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-<br>Q245R-N248D-H249R       | ++ |
| T022Y-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245W                             | ++ |
| T022Y-S101A-S103G-V104I-A232V-Q245R                             | ++ |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-<br>A232V-N238Y-Q245R       | ++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-H249R                                   | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>A232V-Q245R-A272V       | ++ |
| T022R-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245S                             | ++ |
| G020R-S101A-P210I-G211Q-T213A                                   | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-S188D-<br>Q245R                   | ++ |
| S087R                                                           | ++ |
| G020R-S024R-R045T-A048T-S101A-G211Q                             | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-<br>A232V-Q245R             | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-S188D-<br>Q245R-N248D-H249R       | ++ |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-G097S-S101G-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R                   | ++ |
| L021S-T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | ++ |
| S242K                                                             | ++ |
| T022K-S101A-S103A-V104I-A232V-Q245R                               | ++ |
| T022K-S101N-S103A-V104L-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-Q245R-A270V-A272V       | ++ |
| T022R-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245S                               | ++ |
| T022Y-S101N-S103G-V104I-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022Q-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245R                               | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245W                               | ++ |
| T022R-S101A-S103A-V104I-A232L-Q245S                               | ++ |
| G020R-T022W-R045T-F050L-S101A-P210I-G211Q-T213A                   | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R                   | ++ |
| G020R-S101A-G211Q-T213A                                           | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-A272V                   | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-Q245R-A270V                   | ++ |
| T022A-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245R                               | ++ |
| G020R-S101A-T208P-P210I-G211Q                                     | ++ |
| D181S                                                             | ++ |
| S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V                               | ++ |
| T022Q-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245R                               | ++ |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S101G-S103N-V104L-G211S-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245S                               | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101A-S103G-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-N248D-H249R                               | ++ |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| T022A-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Q-S101A-S103A-V104I-A232T-Q245R                               | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238Y-V244I-Q245R-A270V-A272V | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-Q245R-N248D-H249R                   | ++ |
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232V-Q245W                               | ++ |
| T022Q-S101A-S103N-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| T022Q-S101A-S103N-V104L-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |
| T022Q-S101G-S103G-V104I-A232M-Q245R                               | ++ |
| G020R-S078G-G118S-G159D-Q245R-H249R                               | ++ |
| T022R-S101A-S103N-V104L-A232V-Q245S                               | ++ |
| T022A-S024V-G097S-S101N-S103A-V104I-H120N-S128A-A232V-Q245R       | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| T022A-A073V-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Q-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245R-T274I                   | ++ |
| T022A-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022W-S024R-R045P-S101A-P210I-G211Q-T213A                   | ++ |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D-Q245R-N248D                   | ++ |
| T022Q-S101A-S103N-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101T-S103G-V104L-A232T-Q245R                         | ++ |
| T022R-S101G-S103N-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| S024R-S101A-G211Q-T213A                                     | ++ |
| T022R-S101N-S103N-V104L-A232T-Q245S                         | ++ |
| G020R-R045T-S101A-P210I                                     | ++ |
| T022R-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245W                         | ++ |
| T022A-S101N-S103N-V104I-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022A-S101G-S103G-V104I-A232M-Q245R                         | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R-N248D                   | ++ |
| S099T-S103G                                                 | ++ |
| T022W-N043R-S101A-P210I                                     | ++ |
| T022W-A029V-N043R-S101A-P210I                               | ++ |
| F050R                                                       | ++ |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022R-S101G-S103N-V104L-A232L-Q245R                               | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R                   | ++ |
| S024R-R045T-S101A                                                 | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-A232M-Q245S                               | ++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q-T213A                         | ++ |
| G020R-S078G-G118S                                                 | ++ |
| T022W-N043R-G046C-S101A-P210I-G211Q                               | ++ |
| S101A-G211Q-T213A                                                 | ++ |
| T022A-N076D-S078N-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| T022A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-A232V-Q245R                   | ++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245W                               | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-Q245R-A270V-A272V             | ++ |
| S078G-G118D-Q245R                                                 | ++ |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238Y-Q245R-A270V       | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-                              | ++ |



|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Q109G-S128A-A232V-Q245R                                     |    |
| T022W-S024R-R045T-S101A-N116L-P210I-T213A                   | ++ |
| T022R-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245S                         | ++ |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-S106L-P210I-G211Q             | ++ |
| T022A-E089G-G097A-S101Q-S103A-V104I-P129S-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| V104I                                                       | ++ |
| T022A-S101A-S103G-V104I-A232L-Q245S                         | ++ |
| N043R-S101A-P210I-T213A                                     | ++ |
| N043R-R045T-S101A-T213A                                     | ++ |
| S078G-G118D-H120N-H249R                                     | ++ |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245R-R275H                   | ++ |
| T022Y-S101A-S103A-V104I-A232T-Q245S                         | ++ |
| T022K-S101N-S103N-V104I-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022R-S101T-S103N-V104L-A232V-Q245S                         | ++ |
| T022A-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| M119L                                                       | ++ |
| A098F-S099A-S101G-V104I                                     | ++ |
| S078D-G118S-Q245R                                           | ++ |
| T022Y-S101N-S103A-V104I-A232L-Q245S                         | ++ |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | ++ |
| G020R-S078G-G118D-N248D-H249R                               | ++ |
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245S                         | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| T022R-S 101G-S103N-V104I-A232L-Q245S                        | ++ |
| S024R-S078D-G118D-S188D-Q245R-H249R                         | ++ |
| S132H                                                       | ++ |
| A098Q-S099G-S101G-V104L                                     | ++ |
| N043R-S101A-P210I-G211Q-T213A                               | ++ |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-A232M-Q245W                         | ++ |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L126I-P129S-A232V-Q245R             | ++ |
| T022K-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245S                         | ++ |
| T022W-N043R-R045T-S101A-G211Q-T213A                         | ++ |
| T022Q-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245W                         | ++ |
| D181T                                                       | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-H249R             | ++ |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-Q245R                   | ++ |
| T022A-S101T-S103N-V104L-A232L-Q245S                         | ++ |
| T022A-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245S                         | ++ |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | ++ |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | ++ |
| T022Y-S101T-S103A-V104L-A232M-Q245R                         | ++ |
| T022Q-S101T-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | ++ |
| F050S                                                       | ++ |
| T022Y-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245R                         | ++ |
| G020R-R045T-S101A-T213A                                     | ++ |
| T022K-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245W                         | ++ |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-Q245R-H249R                   | ++ |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245W                         | ++ |
| S049W                                                       | ++ |
| T022A-S101A-S103N-V104L-A232L-Q245R                         | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129G-A232V-Q245R-A270V | ++ |
| S099A-V104I                                                 | ++ |
| T022Q-S101A-S103G-V104I-A232V-Q245W                         | ++ |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-N238Y-Q245R             | ++ |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-L217Q-A232V-Q245R             | ++ |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-H249R                         | +  |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D-H249R       | +  |
| T022A-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245S                         | +  |
| T022A-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245R                         | +  |
| T022Q-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245W                         | +  |
| T022W-N043R-S101A-T213A                                     | +  |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | +  |
| T022A-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | +  |
| T022K-S101N-S103N-V104L-A232T-Q245R                         | +  |
| T022A-S024G-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | +  |
| G020R-S024R-N062E-S078G-G118D                               | +  |

|                                                                 |   |
|-----------------------------------------------------------------|---|
| G020R-S078G-G118D                                               | + |
| T022Y-S101T-S103G-V104L-A232T-Q245R                             | + |
| R010H-T022A-S101G-S103A-V104I-A232V-<br>Q245R-A272V             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-<br>A232V-Q245R-A270V-A272V | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-<br>V104I-Q109G-A232V-Q245R | + |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-Q245R                             | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-<br>N238Y-Q245R-A272V       | + |
| T022K-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245W                             | + |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245S                             | + |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-<br>L217Q-A232V-Q245R       | + |
| W113Y                                                           | + |
| T022A-S101A-S103N-V104I-A232M-Q245S                             | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-<br>Q245R                   | + |
| G020R-S024R-S078G-G118D-G159D-S188D-<br>H249R                   | + |
| T022A-S101N-S103G-V104I-A232T-Q245R                             | + |
| T022K-S101G-S103G-V104I-A232L-Q245R                             | + |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-<br>S128A-A232V-Q245R       | + |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245S                             | + |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-<br>Y209V-T213A-A232V       | + |
| T022A-S101N-S103G-V104L-A232T-Q245R                             | + |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238Y-Q245R       | + |
| T022A-N076D-G097S-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R             | + |
| S259W                                                       | + |
| A016S-T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116A-Y209V-G211Q-A232V | + |
| T022W-S101A-P210I-G211Q-T213A                               | + |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | + |
| V028T-A215V                                                 | + |
| S024R-S078D-G118S-S188D-Q245R                               | + |
| T022Q-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245W                         | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-Q109G-L217Q-A232V-Q245R             | + |
| T022A-S024G-T071A-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | + |
| H120P                                                       | + |
| G020R-S024R-N062E-S078D-G118D-Q245R                         | + |
| T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | + |
| T022Q-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245W                         | + |
| T022Q-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245R                         | + |
| T022W-S024R-N043R-R045T-S101A-N116L-P210I-G211Q             | + |

|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| T022A-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | + |
| G020R-S078G-G118S-G159D-S188D-H249R                               | + |
| A013S                                                             | + |
| A232N                                                             | + |
| T022A-N076D-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | + |
| I035T                                                             | + |
| V051M                                                             | + |
| N123A                                                             | + |
| G020R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D                               | + |
| T022Y-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245W                               | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R-A270V             | + |
| G020R-S078D-G118S                                                 | + |
| T022R-S101N-S103N-V104L-A232M-Q245W                               | + |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R | + |
| T022A-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245R                               | + |
| T022A-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-I107V-P129E-A232V-Q245R       | + |
| S024R-R045T-S101A-P210I-G211Q                                     | + |
| T022A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R             | + |

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-Q109N-A232V-Q245R | + |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-G159D-H249R                   | + |
| G020R-S078G-G118D-P129E-S188D-Q245R-H249R                   | + |
| P014W                                                       | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-N248D             | + |
| T022R-S101G-S103N-V104I-A232M-Q245W                         | + |
| T022R-A098V-S101G-S103N-V104L-A232T-Q245R                   | + |
| T022A-S101T-S103A-V104I-A232V-Q245W                         | + |
| G020R-T022W-R045T-S101A-T213A                               | + |
| N043R-R045T-S101A                                           | + |
| T022K-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                         | + |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245S                         | + |
| S056V                                                       | + |
| G020R-T022W-R045T-S101A-G211Q                               | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-Q245R-N248D                         | + |
| G020R-S024R-S078D-G118S-G159D-V244L-Q245R-N248D             | + |
| T022A-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R       | + |
| T022A-N076D-G097S-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R             | + |
| G020R-T022W-R045T-S101A-N116L-P2101                         | + |
| T022Q-S101N-S103N-V104I-A232M-Q245S                         | + |

|                                                                               |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---|
| T022Y-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245W                                           | + |
| A114V                                                                         | + |
| S141C                                                                         | + |
| T022A-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R                               | + |
| S056H                                                                         | + |
| S078D-G118D-Q245R                                                             | + |
| S024R-N043R-R045T-S101A-T213A                                                 | + |
| T022Y-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245S                                           | + |
| T022A-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R                   | + |
| N269W                                                                         | + |
| S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R                                           | + |
| T022W-S024R-R045T-S101A                                                       | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-N238Y-Q245R-A270V-A272V             | + |
| T022A-S024R-S101G-S103A-V104I-P129E-A232V-Q245R                               | + |
| T022A-S024R-N076D-S101G-S103A-V104I-1107V-P129E-A232V-N238Y-Q245R-A270V-A272V | + |
| A122F                                                                         | + |
| S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R-H249R                                     | + |
| S099G                                                                         | + |
| T022K-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245S                                           | + |
| S009G-T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | + |



|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| A098Q                                                       | + |
| T022A-S101N-S103A-V104L-A232L-Q245R                         | + |
| T022A-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245W                         | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R       | + |
| S024R-S078G-G118D-G159D-H249R                               | + |
| T022A-S024G-N076D-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101Q-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-L124V-S128A-P129S-A232V-Q245R       | + |
| T022R-S101N-S103A-V104I-A232M-W241R-Q245W                   | + |
| R045T-S101A-P210I-G211Q                                     | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-Q245V-N248E                   | + |
| T022Q-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245W                         | + |
| T022A-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-L217Q-A232V-Q245R | + |
| T022A-S024G-G097A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A223S-A232V-Q245R | + |
| T022K-S101T-S103A-V104I-A232T-Q245W                         | + |
| N043R-S101A-G211Q                                           | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R             | + |
| T022A-G097A-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | + |
| G020R-S078G-G118S-P129E-H249R                               | + |

|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R                               | + |
| N043R-R045T-S101A-N204S-P210I-T213A                               | + |
| T022R-S101N-S103A-V104L-A232V-Q245S                               | + |
| T022R-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245S                               | + |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232M-Q245S                               | + |
| T022A-N076D-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                   | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R | + |
| G020R-T022W-R045T-S101A-P210I-T213A                               | + |
| T022A-N076D-G097A-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R             | + |
| T022W-S101A-P210I                                                 | + |
| T022A-G097A-S101N-S103A-V104I-L126I-P129S-A232V-Q245R             | + |
| T022A-S078D-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R                   | + |
| Q236L                                                             | + |
| T022Y-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245S                               | + |
| A200D                                                             | + |
| G020R-S078G-G118S-S188D-H249R                                     | + |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245W                               | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | + |
| G157I                                                             | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-P129E-G159D-S188D-Q245R                   | + |
| T022Y-S101A-S103G-V104L-A232T-Q245R                               | + |

|                                                                 |   |
|-----------------------------------------------------------------|---|
| S024R-S078G-G118D-H249R                                         | + |
| T022Q-S101A-S103N-V104L-A232T-Q245S                             | + |
| T022Y-S101A-S103N-V104I-A232T-Q245W                             | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109N-<br>L217Q-A232V-Q245R       | + |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232M-Q245S                             | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-S101G-S103A-<br>V104I-S128A-A232V-Q245R | + |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232M-Q245W                             | + |
| I008N                                                           | + |
| T022A-S101N-S103G-V104I-A232M-Q245S                             | + |
| V026A                                                           | + |
| T022R-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245W                             | + |
| T022A-S101A-S103N-V104I-A232L-Q245S                             | + |
| T022A-S101N-S103A-V104I-A232T-Q245R                             | + |
| N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-T213A                             | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-<br>V104I-S128A-A232V-Q245R | + |
| A098F-S099T-S101A                                               | + |
| A098F-S099T-S101G-V104L                                         | + |
| P014N                                                           | + |
| A098Q-S103G-V104I                                               | + |
| S099T-S103A-V104I                                               | + |
| S087W                                                           | + |
| S024R-N062E-S078G-G118S-H249R                                   | + |
| S024R-N043R-R045T-S101A-G211Q                                   | + |
| N043R-R045T-S101A-G211Q                                         | + |

|                                                                         |   |
|-------------------------------------------------------------------------|---|
| G020R-S078G-G118S-N248D                                                 | + |
| T022Q-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245W                                     | + |
| S078D-G118S-P129E-Q245R-H249R                                           | + |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232T-Q245S                                     | + |
| T022A-S024G-S101N-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R                   | + |
| S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209A-T213A-A232V                         | + |
| S101A-N116L-P210I-T213A                                                 | + |
| T022R-S101N-S103N-V104L-A232L-Q245S                                     | + |
| B015T                                                                   | + |
| S099T                                                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-L124V-A232V-Q245R                               | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-G159D-Q245R                                     | + |
| A114I                                                                   | + |
| S212A                                                                   | + |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232L-Q245S                                     | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-T143I-L217Q-A232V-Q245R | + |
| S024R-S078G-G118S-G159D-S188D-Q245R-H249R                               | + |
| T022K-S101A-S103N-V104L-A232L-Q245S                                     | + |
| T022W-S101A-T213A                                                       | + |
| T022A-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | + |
| S132V                                                                   | + |
| S024R-S078G-G118D-S188D-Q245R-N248D-                                    | + |

H249R

A098Q-S101A-S103A-V104L +

A098Q-S099T-S103A +

T022R-S101T-S103N-V104L-A232T-Q245W +

T022A-N076D-S101Q-S103A-V104I-S128A-  
A232V-Q245R +

V051A-S101A-P210I-T213A +

A098Q-S099T-S101A-V104L +

T022R-S101N-S103N-V104I-A232M-Q245W +

S099A-S101A-S103A +

G020R-S078G-G118D-S188D-Q245R +

G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-  
S188D-Q245R-H249R +T022A-N076D-S078N-G097A-S101Q-S103A-  
V104I-L217Q-A232V-Q245R +

S024R-S078G-G118D +

T022Q-S101N-S103N-V104L-A232M-Q245R +

T022A-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245S +

A048G +

T022Q-S099G-S101A-S103N-V104I-A232V-  
Q245R +

S024R-R045T-S101A-G211Q-T213A +

S024R-R045T-S101A-I107V-A114T-N116L-  
P210I-G211Q-T213A +

T022R-S101T-S103G-V104I-A232L-Q245S +

S099G-S103A +

A098F-S099A +

T022R-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245W +

|                                                             |   |
|-------------------------------------------------------------|---|
| T022A-S103A-V104I-L124T-A232V-Q245R                         | + |
| T022A-S024F-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-A232V             | + |
| T022K-S101N-S103N-V104L-A232V-Q245S                         | + |
| T022K-S101A-S103A-V104L-A232M-Q245R                         | + |
| T022Q-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245W                         | + |
| T022A-S101T-S103A-V104L-A232T-Q245W                         | + |
| T022A-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245S                         | + |
| T022A-N076D-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R | + |
| A098M                                                       | + |
| T022A-S101G-S103G-V104I-A232L-Q245R                         | + |
| G020R-S101A-S207G-P210I-T213A                               | + |
| T022A-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-G159D-Q245R-N248D-H249R             | + |
| G020R-S024R-S078D-G118S-P129E-G159D-Q245R                   | + |
| T022Y-S101G-S103N-V104I-A232L-Q245S                         | + |
| V026Q                                                       | + |
| S240G                                                       | + |
| G020R-S024R-S078G-G118S-S188D                               | + |
| G020R-S024R-S078G-G118D-N238D-N248D                         | + |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232T-Q245S                         | + |
| T022W-S024R-R045T-S101A-P210I-G211Q                         | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R | + |

|                                                                             |   |
|-----------------------------------------------------------------------------|---|
| T022W-S024R-R045T-S101A-T213A                                               | + |
| A200F                                                                       | + |
| T022R-S101T-S103G-V104L-A232T-Q245S                                         | + |
| T022A-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-<br>Q109N-L217Q-A232V-Q245R             | + |
| T022A-S101G-S103N-V104I-A232T-Q245S                                         | + |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245S                                         | + |
| T022A-S101A-S103A-V104L-A232V-Q245S                                         | + |
| S099G-S101A-V104L                                                           | + |
| H017R-T022A-S024V-N076D-G097S-S101N-<br>S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R | + |
| T022A-S101A-S103N-V104L-A232M-Q245S                                         | + |
| T022A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-L217Q-<br>A232V-Q245R                         | + |
| T022A-S024G-N076D-S101Q-S103A-V104I-<br>S128A-A232V-Q245R                   | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-<br>V104I-S128A-S212P-L217Q-A232V-Q245R | + |
| S056L                                                                       | + |
| T253L                                                                       | + |
| T022W-R045T-S101A-G211Q-T213A                                               | + |
| T022A-G097A-S      01Q-S103A-V104I-S128A-<br>L217Q-A232V-Q245R              | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097A-S101N-<br>S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R       | + |
| G020R-T022W-R045T-S101A-G211Q-T213A                                         | + |
| S101A-G211Q                                                                 | + |
| N123D                                                                       | + |

|                                                                       |   |
|-----------------------------------------------------------------------|---|
| T022R-S101A-S103N-V104I-A232M-Q245W                                   | + |
| T022Y-S101T-S103N-V104L-A232T-Q245R                                   | + |
| T022A-S101G-S103A-V104I-N116L-Y209V-<br>G211Q-T213A-A232V             | + |
| G020R-S024R-S078D-G118D-N248D                                         | + |
| A098Q-S099G-S101A                                                     | + |
| S099T-V104I                                                           | + |
| T022Q-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245S                                   | + |
| T022R-S101A-S103G-V104I-A232T-Q245S                                   | + |
| T022K-S101T-S103N-V104I-A232T-Q245W                                   | + |
| A016M                                                                 | + |
| T022A-S024G-N076D-S101N-S103A-V104I-<br>Q109G-A232V-Q245R             | + |
| T022K-S101N-S103N-V104I-A232T-Q245S                                   | + |
| G020R-N043R-R045T-S101A-N204D-P210I-<br>G211Q                         | + |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245S                                   | + |
| T022Y-S101G-S103N-V104L-A232V-Q245R                                   | + |
| T022A-S101T-S103N-V104I-A232V-Q245W                                   | + |
| T022A-S024G-S078N-G097S-S101N-S103A-<br>V104I-Q109G-L217Q-A232V-Q245R | + |
| A088T                                                                 | + |
| T022Y-S101A-S103A-V104I-A232M-Q245S                                   | + |
| T022W-S024R-R045T-S101A-N116L-P210I-<br>G211Q                         | + |
| T022W-N043R-R045T-S101A-P210I-G211Q-<br>T213A                         | + |
| T038A                                                                 | + |



|                                                                   |   |
|-------------------------------------------------------------------|---|
| S078D-G118S-G159D-Q245R                                           | + |
| T022K-S101T-S103A-V104L-A232V-Q245W                               | + |
| T022A-S024G-N076D-S078N-G097S-S101N-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R | + |
| T022A-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-L217Q-A232V-Q245R             | + |
| G025S                                                             | + |
| G025T                                                             | + |
| A016S-S101G-S103A-V104I-N116L-M119V-Y209V-G211Q-A232V             | + |
| T022A-N076D-V084A-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R                   | + |
| V011L                                                             | + |
| T022Y-S101T-S103G-V104I-A232M-Q245S                               | + |
| T022R-S101N-S103A-V104L-A232T-Q245S                               | + |
| S240V                                                             | + |
| G020R-S024R-S078G-G118D-P129E-S188D-H249R                         | + |
| T022W-S024R-R045T-S101A-G211Q-T213A                               | + |
| T022A-S024G-N076D-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R       | + |
| V004Y                                                             | + |
| V051A                                                             | + |
| G195W-N269E                                                       | + |
| S024R-S078G-G118D-N248D-H249R                                     | + |
| T022A-S099G-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245S                         | + |
| T022Q-S101T-S103G-V104I-A232L-Q245W                               | + |

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| T022Q-S101N-S103N-V104I-A232V-Q245W | + |
| T022A-S101T-S103G-V104I-A232V-Q245W | + |
| T022K-S101N-S103G-V104I-A232V-Q245R | + |
| T022Q-S101G-S103N-V104I-A232V-Q245S | + |

**TABLO 2-5: Grup C2 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

Tablo 1’de açıklandığı üzere Deterjan Bileşimi 107’de  $PI >$  veya  $= 1.50$  +++’dır; 1.49 ile 1.20 arasında  $PI = ++$ ; 1.19 ile 1.1 arasında  $PI = +$

**GG36 Varyantlarının Dizisi (BPN’ GG36’ya göre PI; BMI numaralandırması) analizi, 25°C’de Deterjan 107**

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101A-Q109N-N116L-L217Q | +++ |
| T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101Q-S128A-L217Q       | +++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H       | +++ |
| G020R-S024R-S101G-N116L-S128A                   | +++ |
| G020R-S024R-S101A-Q109N-N116L-S128A             | +++ |
| T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-T260M | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101N-N116L-S128A             | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101A-Q109G-N116L             | +++ |
| G020R-S024R-S101N-S128A                         | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101G-S128A-L217Q             | +++ |
| T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-            | +++ |

Q245R

T022R-S078N-G097S-S101Q-S103A-V104I-  
Q109N-N116L-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-G097A-S101A-Q109N-N116L-  
S128A +++

G020R-S024R-G097S-S101N-Q109N-S128A +++

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-P239G-  
Q245R +++

G020R-S024R-G097S-S101A-S128A +++

G020R-S024R-S101G-Q109N-N116L-A215V +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101Q-Q109G-  
N116L-S128A +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101N-Q109N +++

G020R-S024R-S101G-S128A +++

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-  
T260K-L267N +++

T022R-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-  
Q245R +++

T022R-S024G-G097S-S101N-S103A-V104I-  
A232V-Q245R +++

T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-V121F-  
A232V-Q245R +++

G020R-S024R-G097A-S101Q-N116L-S128A-  
L217Q +++

T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R +++

T022R-G097A-S101N-S103A-V104I-N116L-  
A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101A-N116L-  
S128A +++

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-G097A-S101G-S128A-L217Q                               | +++ |
| T022R-S078N-S101G-S103A-V104I-N116L-A232V-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S078N-S101Q-Q109G-N116L-S128A-Q206R-L217Q       | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101Q-N116L-S128A                         | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101N-Q109N-N116L-S128A                   | +++ |
| G020R-S024R-S101N-Q109G-N116L                                     | +++ |
| G020R-S024R-S101Q-N116L-S128A-L217Q                               | +++ |
| G020R-N043R-S078N-S101G-Q109G-N116L                               | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S078N-G097S-S101G-S128A                         | +++ |
| T022R-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-N116L-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-P239G-Q245R-E271I                   | +++ |
| G020R-S024R-S101Q-S128A                                           | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101N-Q109G-N116L                               | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S078N-G097A-S101G-Q109G-N116L                   | +++ |
| G020R-S024R-G097S-S101Q-Q109N-N116L-L217Q                         | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101G-Q109N-S128A                               | +++ |

|                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------|-----|
| G020R-S024R-G097S-S101A-Q109N-S128A                               | +++ |
| T022R-G097S-S101Q-S103A-V104I-Q109G-A232V-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101N-S128A-L217Q                         | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S078N-G097S-S101G-N116L                         | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101G-Q109N-N116L-L217Q                   | +++ |
| T022R-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-N116L-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101A-Q109N-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101G-Q109N-N116L-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S078N-S101Q                                     | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101Q-Q109G-N116L                         | +++ |
| G020R-N043R-G097A-S101N-N116L-S128A                               | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101G-Q109G-N116L-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101Q-Q109G-N116L-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101G-Q109N-N116L-S128A                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097S-S101N-Q109N-N116L                         | +++ |
| T022R-S101N-S103A-V104I-Q109N-N116L-S128A-A232V-Q245R             | +++ |

|                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-<br>Q109G-N116L-S128A-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S024G-S078N-S101G-S103A-V104I-<br>N116L-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101N-Q109N-N116L                                         | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101A-Q109N-N116L-<br>S128A                               | +++ |
| T022R-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-<br>N116L-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-<br>A232V-Q245R                         | +++ |
| T022R-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-<br>A232V-Q245R                         | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-<br>V104I-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-<br>N116L-S128A-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-S101G-Q109G-N116L-L217Q                                         | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101Q-Q109N-N116L                                         | +++ |
| G020R-S024R-S101G-N116L-S128A-L217Q                                         | +++ |
| G020R-S024R-S101A-Q109G-N116L-S128A                                         | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097A-S101G-S103A-<br>V104I-N116L-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097S-S101Q-S103A-<br>V104I-Q109G-N116L-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-N043R-G097A-S101N-S128A-L233I                                         | +++ |
| T022R-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R                                         | +++ |
| G020R-N043R-G097S-S101Q-Q109G-N116L-<br>S128A                               | +++ |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S078N-S101Q-S103A-V104I-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-G097S-S101N-Q109G-N116L                   | +++ |
| T022R-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S024G-S101N-S103A-V104I-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101N-Q109G-S128A                   | +++ |
| G020R-N043R-S101Q-N116L-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101Q-Q109N-S128A             | +++ |
| G020R-S024R-E089D-S101A-Q109N-N116L                   | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101G-Q109G-S128A                   | +++ |
| G020R-S024G-N043R-S101G-N116L-S128A-L217Q             | +++ |
| G020R-N043R-S078N-S101Q-Q109G-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024G-N043R-G097A-S101N-Q109N-N116L-L217Q       | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101G-N116L-S128A             | +++ |
| G020R-S024R-G097S-S101A-Q109N-N116L                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-S101A-Q109G-S128A                   | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101A-Q109G-N116L-S128A             | +++ |
| G020R-N043R-G097A-S101Q-N116L-S128A                   | +++ |
| G020R-N043R-G097S-S101Q-S128A-L217Q                   | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097A-S101G-Q109G-N116L-L217Q       | +++ |
| G020R-N043R-G097A-S101G-Q109N-N116L-                  | +++ |

S128A

G020R-N043R-S078N-G097S-S101N-Q109N-  
L217Q +++

G020R-S024R-G097S-A098E-S101A-N116L-  
S128A +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101A-Q109G-  
S128A +++

T022R-S024G-S078N-G097S-S101G-S103A-  
V104I-Q109N-N116L-L217Q-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078N-G097A-S101Q-Q109N-  
N116L-L217Q +++

T022R-S024G-G097S-S101Q-S103A-V104I-  
S128A-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S101A-Q109N-N116L-S128A-  
L217Q +++

G020R-S024R-S101G-Q109G-N116L-S128A-  
L217Q +++

T022R-S078N-G097A-S101N-S103A-V104I-  
S128A-A232V-Q245R +++

G020R-S024G-N043R-S101N-N116L-S128A-  
L217Q +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101A-Q109N-  
N116L +++

G020R-S024R-S078N-G097A-S101N-Q109N-  
N116L-S128A +++

G020R-S024R-S078N-S101Q-Q109N-N116L-  
L217Q +++

T022R-S024G-S078N-S101N-S103A-V104I-  
N116L-S128A-A232V-Q245R +++

G020R-N043R-S101G-Q109N-N116L-S128A- +++



L217Q

T022R-S101N-S103A-V104I-L217Q-A232V-  
Q245R +++

T022R-G097A-S101N-S103A-V104I-N116L-  
S128A-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-G097A-S101A-S128A-L217Q +++

T022R-S024G-S078N-G097A-S101N-S103A-  
V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101N-Q109G-  
N116L-S128A-L217Q +++

T022R-S024G-S101G-S103A-V104I-N116L-  
L217Q-A232V-Q245R +++

T022R-G097A-S101Q-S103A-V104I-N116L-  
S128A-A232V-Q245R +++

G020R-N043R-S101Q-S128A-L217Q +++

G020R-S024R-S078N-S101N-Q109G-S128A-  
L217Q +++

G020R-S024R-S078N-G097A-S101N-Q109N-  
N116L-S128A-L217Q +++

T022R-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-  
N116L-L217Q-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101G-S128A-  
N204S-L217Q +++

T022R-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-  
N116L-S128A-A232V-Q245R +++

G020R-S024R-S078N-G097S-S101Q-Q109N-  
N116L-L217Q +++

G020R-S024R-S078N-S099G-S101Q-Q109N-  
N116L-L217Q +++

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022R-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109G-N116L-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-G097A-S101G-S103A-V104I-Q109G-N116L-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101N-Q109N-S128A-L217Q                               | +++ |
| T022R-G097S-S101N-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R                   | +++ |
| G020R-S024R-K094R-S101N-N116L-S128A-L217Q                               | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-S024R-G097A-S101A-N116L-S128A-L217Q                               | +++ |
| G020R-S024R-S078N-G097W-S101Q-Q109N-N116L-L217Q                         | +++ |
| T022R-G097S-S101N-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S101Q-S103A-V104I-N116L-L217Q-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| G020R-N043R-G097S-S101Q-Q109G-N116L-S128A-L217Q                         | +++ |
| T022R-S024G-G097A-S101G-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| T022R-G097S-S101G-S103A-V104I-L217Q-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022R-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109G-N116L-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S024G-S078N-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S101Q-S103A-V104I-Q109G-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R       | +++ |
| T022R-S024G-T071A-S078N-S101N-S103A-V104I-Q109N-N116L-S128A-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-S024G-G097A-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R                         | +++ |
| T022R-S024G-G097S-S101G-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R             | +++ |
| T022R-S024G-S078N-S101Q-S103A-V104I-Q109N-N116L-S128A-L217Q-A232V-Q245R | +++ |
| T022R-G097S-S101Q-S103A-V104I-S128A-L217Q-A232V-Q245R                   | ++  |
| T022R-G097A-S101Q-S103A-V104I-Q109N-S128A-A232V-Q245R                   | ++  |
| R010A-T022R-S024F-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-L267N-E271H             | ++  |
| G020R-S024G-N043R-S078N-S101G-Q109N-N116L-L217Q-M222S                   | ++  |
| T022R-S078N-G097S-S101G-S103A-V104I-Q109G-S128A-A232V-Q245R             | +   |

|                                                 |   |
|-------------------------------------------------|---|
| T022R-S101G-S103A-V104I-M222S-A232V-Q245R-E271H | + |
| G020R-S024R-S101N-Q109G-N116L-M222S             | + |

**TABLO 2-6: Grup C3 varyantlarının BMI temizleme performansı.**

**PI = Performans İndeksi**

**Deterjan Bileşimi 107'de PI> veya = 1.50, +++'dır; 1.49 ile 1.20 arasında PI = ++; 1.19 ile 1.1 arasında PI = +**

| <b>GG36 Varyantlarının Dizisi (BPN' GG36'ya göre PI; BMI numaralandırması)</b> | <b>analizi, 25°C'de Deterjan 107</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| T022R-S101G-S103A-A232V-Q245R                                                  | +++                                  |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271A                                      | +++                                  |
| T022R-S103A-V104I-A232V-Q245R                                                  | +++                                  |
| T022R-S101G-V104I-A232V-Q245R                                                  | +++                                  |
| T022R-S101G-S103A-V104I-Q245R                                                  | +++                                  |
| G020R-N043R-E271A                                                              | +++                                  |
| G020R-S024R-I035T-S101A-N116L                                                  | +++                                  |
| G020R-N043R-P239G                                                              | +++                                  |
| G020R-N043R-S242L                                                              | +++                                  |
| G020R-N043R-V234F                                                              | +++                                  |
| G020R-N043R-E271H                                                              | ++                                   |
| G020R-N043R-E271I                                                              | ++                                   |
| G020R-S024R-S101A-N116L-N269I                                                  | ++                                   |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271F                                      | ++                                   |
| G020R-N043R-E271F                                                              | ++                                   |
| G020R-N043R-N269I                                                              | ++                                   |

|                                           |    |
|-------------------------------------------|----|
| G020R-S024R-S101A-N116L-E271H             | ++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R-E271H | ++ |
| G020R-I035T-N043R                         | ++ |
| G020R-S024R-S101A-A114T-N116L             | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-E271I             | ++ |
| G020R-N043R-A114T                         | ++ |
| S101G-S103A-V104I-A232V-Q245R             | ++ |
| G020R-N043R-L267N                         | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-L267N             | ++ |
| G020R-S024R-V028A-S101A-N116L             | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-G258R             | ++ |
| G020R-N043R-G258R                         | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-S242L             | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-P239G             | ++ |
| I008N-G020R-S024R-S101A-N116L             | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-V234F             | ++ |
| T022R-S101G-S103A-V104I-A232V             | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-E271A             | ++ |
| R010A-G020R-N043R                         | ++ |
| G020R-S024R-S101A-N116L-E271F             | ++ |
| G020R-V028A-N043R                         | ++ |
| I008N-G020R-N043R                         | ++ |
| G020R-S024F-S101A-N116L                   | ++ |
| R010A-G020R-S024R-S101A-N116L             | +  |
| G020R-N043R-M222S                         | +  |

## Şekil 1

Şekil 1.1. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)

Şekil 1.2. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)

Şekil 1.3. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)

Şekil 1.4. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)

Şekil 1.5. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)

Şekil 1.6. 1990-2000 yılları arasında Türkiye'de nüfus artış hızı (Yüzde) (Kaynak: TÜRKİYE İSTATİSTİK YILI 2001)